



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΥΠΟΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΗ ΜΑΖΑ ΤΗΣ Lp-PLA<sub>2</sub>  
ΚΑΙ ΣΕ ΑΛΛΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ  
ΥΠΕΡΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ**

**Βασίλειος Σαούγκος**

**ΙΑΤΡΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2011**









**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΥΠΟΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΗ ΜΑΖΑ ΤΗΣ Lp-PLA<sub>2</sub>  
ΚΑΙ ΣΕ ΑΛΛΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ  
ΥΠΕΡΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ**

**Βασίλειος Σαούγκος**

**ΙΑΤΡΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2011**



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





**Ημερομηνία αίτησης του κ. Σαούγκου Βασιλείου:** 3-12-2003

**Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:** 524<sup>α</sup>/27-1-2004

**Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:**

Επιβλέπων

Ελισάφ Μωυσής, Καθηγητής Παθολογίας

Μέλη

Τσιάρα Σταυρούλα Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας

Μπαϊρακτάρη Ελένη Επίκουρη Καθηγήτρια Βιολογικής Χημείας

**Ανασύσταση Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:** Αριθμ Συνεδρ. 529<sup>α</sup>/23-3-2004

Επιβλέπων

Ελισάφ Μωυσής, Καθηγητής Παθολογίας

Μέλη

Τσελέπης Αλέξανδρος Αναπληρωτής Καθηγητής Βιολογικής Χημείας Τμήματος Χημείας

Μπαϊρακτάρη Ελένη Επίκουρη Καθηγήτρια Βιολογικής Χημείας

**Ημερομηνία ορισμού θέματος:** 26-4-2004

*«Επίδραση υπολιπιδαιμικών φαρμάκων στη μάζα της PAF-AH και σε άλλους δείκτες φλεγμονής σε ασθενείς με πρωτοπαθή υπερλιπιδαιμία »*

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

1. Γουδέβενος Ιωάννης Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
2. Δρόσος Αλέξανδρος Καθηγητής Παθολογίας-Ρευματολογίας Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
3. Ελισάφ Μωυσής, Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
4. Τσελέπης Αλέξανδρος Καθηγητής Βιοχημείας Τμήματος Χημείας Παν/μίου Ιωαννίνων
5. Μπαϊρακτάρη Ελένη Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Κλινικής Χημείας Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
6. Λιάμης Γεώργιος Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων

7. Τσιμιχόδημος Βασίλειος Λέκτορας Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Παν/μίου  
Ιωαννίνων

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

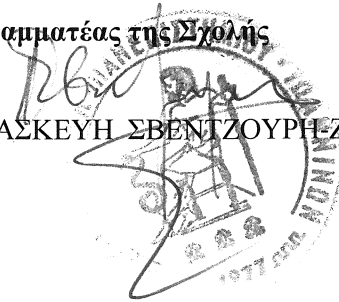
**ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ**

**Τσαφλίδου Μαργαρίτα**

Καθηγήτρια Ιατρικής Φυσικής

**Η Γραμματέας της Σχολής**

**ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΒΕΝΤΖΟΥΡΗ-ΖΩΗ**



Στους γονείς μου Γιώργο και Ανθούλα



Στη σύζυγό μου Ειρήνη



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Βιοχημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων σε συνεργασία με το Ιατρείο Μελέτης των διαταραχών του Μεταβολισμού των Λιπιδίων του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.

Κύριος καθοδηγητής μου σε όλη αυτή την προσπάθεια, αλλά και πολύ καλός φίλος ήταν ο καθηγητής Παθολογίας κος Μωυσής Ελισάφ, ένας άνθρωπος που μπορεί να χαρακτηριστεί δάσκαλος με την γενικότερη έννοια του όρου και του οποίου η συναναστροφή ήταν για εμένα πραγματική τύχη.

Σημαντικότατος επίσης ήταν ο ρόλος του καθηγητή Βιοχημείας κου Αλέξανδρου Τσελέπη μιας και χάρη στις άοκνες προσπάθειές του έγινε δυνατή η κατανόηση διαφόρων εννοιών της βιοχημείας αλλά και η διενέργεια των απαραίτητων για τη διδακτορική διατριβή πειραμάτων στους χώρους των εργαστηρίων που διευθύνει.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την αναπληρώτρια καθηγήτρια κα Ελένη Μπαϊρακτάρη για τη συμβολή της σε τεχνικά θέματα που αφορούν το εργαστήριο και την προθυμία της να απαντά σε κάθε ερώτημα που μπορεί να ανέκυπτε κατά τη διεξαγωγή των διαφόρων πειραματικών διαδικασιών.

Πολύ σημαντική ήταν η συμβολή της δρος Αφροδίτης Ταμπάκη στη διενέργεια ιδιαίτερα απαιτητικών και περίπλοκων πειραμάτων, απαραίτητων για την ολοκλήρωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής και για το λόγο αυτό την ευχαριστώ πολύ.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερω τη σύζυγό μου και συνάδελφο δρα Ειρήνη Γαζή για την πολύ σημαντική βοήθεια και στήριξη που μου παρείχε καθόλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Οι συμβουλές της αλλά και τα σχόλιά της ήταν ανεκτίμητα.





## **ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ**

| <b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>  | <b>Σελίδα</b> |
|--|---------------|
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1</b>  |               |
| 1. ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ                 | 1             |
| 1.1 Μικρά πυκνά (small dense, sd) LDL σωματίδια            | 3             |
| 1.1.1 Σχηματισμός των sdLDL σωματιδίων                     | 3             |
| 1.1.2 Μέθοδοι προσδιορισμού                                | 5             |
| 1.1.3 Αθηρογόνος δυνατότητα των sdLDL σωματιδίων           | 6             |
| 1.1.4 Συσχέτιση με την εμφάνιση της ΚΑΝ                    | 6             |
| 1.1.4.1 Στεφανιαία νόσος (ΣΝ)                              | 6             |
| 1.1.4.2 Άλλες μορφές αθηροσκληρωτικής νόσου (εκτός από ΣΝ) | 9             |
| 1.2 Υποκλάσματα των HDL                                    | 10            |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2</b>  |               |
| 2. ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΙΣ ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΕΣ                              | 11            |
| 2.1 Οικογενής υπερχοληστερολαιμία                          | 12            |
| 2.1.1 Γενικά σχόλια  | 12            |
| 2.1.2 Κλινική εικόνα                                       | 14            |
| 2.1.3 Διάγνωση   | 16            |
| 2.1.4 Θεραπεία   | 17            |
| 2.2 Οικογενής ανεπάρκεια της apoB                          | 18            |
| 2.3 Οικογενής συνδυασμένη (μικτή) δυσλιπιδαιμία            | 18            |
| 2.3.1 Γενικά σχόλια  | 18            |
| 2.3.2 Κλινική εικόνα                                       | 19            |
| 2.3.3 Διάγνωση   | 20            |
| 2.3.4 Θεραπεία   | 20            |
| 2.4 Πολυγονική υπερχοληστερολαιμία                         | 21            |
| 2.5 Οικογενής χυλομικροναιμία                              | 21            |
| 2.5.1 Γενικά σχόλια  | 21            |

|  |    |
|--|----|
| 2.5.2 Κλινική εικόνα   | 22 |
| 2.5.3 Διάγνωση   | 23 |
| 2.5.4 Θεραπεία   | 24 |
| 2.6 Οικογενής υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου III (δυσβηταλιποπρωτεϊναιμία) | 24 |
| 2.6.1 Γενικά σχόλια  | 24 |
| 2.6.2 Κλινική εικόνα   | 25 |
| 2.6.3 Διάγνωση   | 26 |
| 2.6.4 Θεραπεία   | 27 |
| 2.7 Οικογενής υπερτριγλυκεριδαιμία (υπερλιπιδαιμία τύπου IV)           | 27 |
| 2.7.1 Γενικά σχόλια  | 27 |
| 2.7.2 Κλινική εικόνα   | 27 |
| 2.7.3 Διάγνωση   | 28 |
| 2.7.4 Θεραπεία   | 29 |

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3**

|   |    |
|---|----|
| 3. ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΟΠΑΘΩΝ ΥΠΕΡΛΙΠΙΔΑΙΜΙΩΝ :  | 31 |
| ΓΕΝΙΚΑ  |    |
| 3.1 Στατίνες  | 31 |
| 3.1.1 Πλειοτροπικές δράσεις των στατινών  | 34 |
| 3.1.1.1 Αντιοξειδωτική δράση των στατινών   | 36 |
| 3.1.1.2 Ευνοϊκή επίδραση των στατινών στο ενδοθήλιο   | 37 |
| 3.1.1.3 Αντιφλεγμονώδης δράση των στατινών  | 37 |
| 3.1.1.4 Αντιθρομβωτικές δράσεις των στατινών  | 39 |
| 3.1.1.5 Επίδραση των στατινών στη σταθερότητα των αθηρωματικών<br>πλακών  | 40 |
| 3.1.1.6 Επίδραση των στατινών στη μη αλκοολική λιπώδη νόσο του<br>ήπατος (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) | 41 |
| 3.2 Ρητίνες δέσμευσης χολικών οξέων   | 41 |
| 3.3 Φιμπράτες   | 42 |
| 3.3.1 Πλειοτροπικές δράσεις των φιμπρατών   | 45 |
| 3.3.1.1 Αντιοξειδωτικές δράσεις των φιμπρατών   | 45 |

|                   |   |    |
|-------------------|---|----|
| 3.3.1.2           | Ευνοϊκή επίδραση των φιμπρατών στο ενδοθήλιο  | 46 |
| 3.3.1.3           | Αντιφλεγμονώδεις δράσεις των φιμπρατών  | 46 |
| 3.3.1.4           | Αντιθρομβωτικές δράσεις των φιμπρατών   | 47 |
| 3.4               | Εξετιμίμηση   | 48 |
| 3.4.1             | Πλειοτροπικές δράσεις της εξετιμίμησης  | 49 |
| 3.4.1.1           | Επίδραση της εξετιμίμησης στα επίπεδα της CRP   | 49 |
| 3.4.1.2           | Επίδραση της εξετιμίμησης στην ενδοθηλιακή λειτουργία   | 50 |
| 3.4.1.3           | Επίδραση της εξετιμίμησης στη συγκόλληση των αιμοπεταλίων   | 50 |
| 3.4.1.4           | Άλλες δράσεις της εξετιμίμησης  | 50 |
| 3.5               | Νικοτινικό οξύ  | 51 |
| 3.6               | Ωμέγα-3 λιπαρά οξέα   | 52 |
| 3.7               | Επιμέρους φάρμακα που συμμετείχαν στη μελέτη  | 53 |
| 3.7.1             | Ροσουβαστατίνη  | 53 |
| 3.7.2             | Φαινοφιμπράτη   | 55 |
| 3.7.3             | Εξετιμίμηση   | 57 |
| <br>              |   |    |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4</b> |   |    |
| 4.1               | Η ΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΗ ΜΕ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΗ A <sub>2</sub><br>(LIPOPROTEIN ASSOCIATED PHOSPHOLIPASE A <sub>2</sub> , Lp-PLA <sub>2</sub> ): ΓΕΝΙΚΑ | 61 |
| 4.1.1             | Ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF)   | 61 |
| 4.1.2             | Εκκρινόμενη μορφή της PAF-AH (Lp-PLA <sub>2</sub> του πλάσματος)  | 63 |
| 4.1.2.1           | Δομή  | 63 |
| 4.1.2.2           | Κυτταρική προέλευση, φυσικοχημικές ιδιότητες και εξειδίκευση<br>υποστρώματος  | 65 |
| 4.1.2.3           | Ρύθμιση της έκφρασης της Lp-PLA <sub>2</sub>  | 73 |
| 4.2               | ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ Lp-PLA <sub>2</sub> ΜΕ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗΣ<br>ΝΟΣΟΥ   | 75 |
| 4.2.1             | Παθοφυσιολογία  | 75 |
| 4.2.2             | Κλινικές μελέτες  | 79 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ</b>  | 91  |
| <b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>  |     |
| <b>ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b>   | 93  |
| Ασθενείς της μελέτης   | 93  |
| Αναλυτικές μέθοδοι   | 95  |
| Απομόνωση των λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας από πλήρες πλάσμα  | 96  |
| Προσδιορισμός της ενζυμικής ενεργότητας της Lp-PLA <sub>2</sub>  | 96  |
| Απομόνωση των λιποπρωτεϊνικών υποκλασμάτων με ισοπυκνική υπερφυγοκέντρωση βαθμίδωσης πυκνοτήτων (isopycnic density gradient ultracentrifugation) | 98  |
| Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών με τη μέθοδο BCA  | 101 |
| Προσδιορισμός της μάζας της Lp-PLA <sub>2</sub>  | 101 |
| Προσδιορισμός της ειδικής ενεργότητας της Lp-PLA <sub>2</sub>  | 103 |
| Ανάλυση των υποκλασμάτων των LDL με τη χρησιμοποίηση του Lipoprint LDL System  | 103 |
| Στατιστική ανάλυση   | 105 |
| <b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>  | 107 |
| Επίδραση της υπολιπιδαιμικής θεραπείας στο λιπιδαιμικό προφίλ του ορού   | 107 |
| Επίδραση της υπολιπιδαιμικής θεραπείας στα επίπεδα της χοληστερόλης των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB   | 109 |
| Επίδραση της υπολιπιδαιμικής αγωγής στα λιποπρωτεϊνικά υποκλάσματα που περιέχουν apoA-I  | 111 |
| Επίδραση της υπολιπιδαιμικής αγωγής στην ενεργότητα, τη μάζα και την ειδική ενεργότητα της Lp-PLA <sub>2</sub> του ορού                          | 112 |
| Επίδραση της υπολιπιδαιμικής αγωγής στην ενεργότητα, τη μάζα και την ειδική ενεργότητα της Lp-PLA <sub>2</sub> στα λιποπρωτεϊνικά υποκλάσματα    | 117 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>  | 125 |
| Επίδραση των φαρμάκων της μελέτης στις λιπιδαιμικές παραμέτρους του ορού των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη | 125 |
| Επίδραση των φαρμάκων της μελέτης στις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB  | 126 |
| Επίδραση των φαρμάκων της μελέτης στις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoA-I                                      | 127 |
| Επίδραση των φαρμάκων της μελέτης στην ενεργότητα, στη μάζα και στην ειδική ενεργότητα της Lp-PLA <sub>2</sub> | 129 |
| <br>   |     |
| <b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>  | 135 |
| <br>   |     |
| <b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>  | 137 |
| <br>   |     |
| <b>SUMMARY</b>   | 139 |
| <br>   |     |
| <b>ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ</b>  | 141 |
| <br>   |     |
| <b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>  | 143 |



| <b>ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ</b>   | <b>Σελίδα</b> |
|--|---------------|
| <b>Πίνακας 1.</b> Ταξινόμηση των δυσλιπιδαιμιών κατά Fredrickson   | 11            |
| <b>Πίνακας 2.</b> Ταξινόμηση των συχνότερων πρωτοπαθών δυσλιπιδαιμιών  | 12            |
| <b>Πίνακας 3.</b> Στόχοι της θεραπείας για την LDL-C (σε mg/dL) ανάλογα με τον κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ   | 94            |
| <b>Πίνακας 4.</b> Σημαντικοί παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ οι οποίοι τροποποιούν το στόχο θεραπείας για την LDL-C   | 94            |
| <b>Πίνακας 5.</b> Επίδραση των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων (εξετιμίμπη, ροσουβαστατίνη και φαινοφιμπράτη) στα επίπεδα των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών του ορού στα άτομα της μελέτης                 | 108           |
| <b>Πίνακας 6.</b> Επίδραση των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων της μελέτης στα επίπεδα της χοληστερόλης των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB και apoA-I   | 110           |
| <b>Πίνακας 7.</b> Επίδραση των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων στην ενεργότητα, τη μάζα και την ειδική ενεργότητα της Lp-PLA <sub>2</sub> του πλάσματος και των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB και apoA-I | 114           |
| <b>Πίνακας 8.</b> Επίδραση των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων στους λόγους ενεργότητας ή και μάζας της Lp-PLA <sub>2</sub> προς τη συγκέντρωση της apoB και της apoA-I                                     | 116           |





## ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

## Σελίδα

|   |     |
|---|-----|
| <b>Εικόνα 1.</b> Οι δύο μεταβολικές οδοί της χοληστερόλης   | 2   |
| <b>Εικόνα 2.</b> Λεπτομερής σχηματική απεικόνιση του μεταβολισμού της χοληστερόλης  | 3   |
| <b>Εικόνα 3.</b> Μηχανισμός δράσης των στατινών   | 32  |
| <b>Εικόνα 4.</b> Μηχανισμός δράσης των φιμπρατών  | 44  |
| <b>Εικόνα 5.</b> Μηχανισμός δράσης της εζετιμίμπης  | 49  |
| <b>Εικόνα 6.</b> Προτεινόμενος μηχανισμός της αντιαθηρογόνου δράσης της εζετιμίμπης   | 60  |
| <b>Εικόνα 7.</b> Σχηματική επεξήγηση της εκλεκτικής σύνδεσης της Lp-PLA <sub>2</sub> με τα sdLDL σωματίδια  | 67  |
| <b>Εικόνα 8.</b> Σχηματική απεικόνιση των κυριότερων θέσεων του γονιδιώματος της Lp-PLA <sub>2</sub>  | 68  |
| <b>Εικόνα 9.</b> Απλοποιημένη απεικόνιση των υποστρωμάτων και των αντιδράσεων που καταλύει η Lp-PLA <sub>2</sub>  | 72  |
| <b>Εικόνα 10.</b> Σχηματική απεικόνιση της παθοφυσιολογικής συσχέτισης της Lp-PLA <sub>2</sub> με το σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας   | 82  |
| <b>Εικόνα 11.</b> Πρόσφατες οδηγίες για την χρησιμοποίηση των επιπέδων της Lp-PLA <sub>2</sub> στην εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης ΚΑΝ   | 89  |
| <b>Εικόνα 12Α.</b> Τα ραβδογράμματα δείχνουν την επίδραση της εζετιμίμπης και της ροσουβαστατίνης στην ενεργότητα της Lp-PLA <sub>2</sub> που συσχετίζεται με τα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ        | 119 |
| <b>Εικόνα 12Β.</b> Τα ραβδογράμματα δείχνουν την επίδραση της εζετιμίμπης και της ροσουβαστατίνης στη μάζα της Lp-PLA <sub>2</sub> που συσχετίζεται με τα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ               | 119 |
| <b>Εικόνα 12C.</b> Τα ραβδογράμματα δείχνουν την επίδραση της εζετιμίμπης και της ροσουβαστατίνης στην ειδική ενεργότητα της Lp-PLA <sub>2</sub> που συσχετίζεται με τα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ | 120 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Εικόνα 13Α.</b> Τα ραβδογράμματα δείχνουν την επίδραση της φαινοφιμπράτης στην ενεργότητα της Lp-PLA <sub>2</sub> που συσχετίζεται με τα υποκλάσματα VLDL+IDL καθώς και με το πυκνό LDL-5 σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IV                        | 121 |
| <b>Εικόνα 13Β.</b> Τα ραβδογράμματα δείχνουν την επίδραση της φαινοφιμπράτης στη μάζα της Lp-PLA <sub>2</sub> που συσχετίζεται με τα υποκλάσματα VLDL+IDL καθώς και με το πυκνό LDL-5 σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IV                               | 121 |
| <b>Εικόνα 13C.</b> Τα ραβδογράμματα δείχνουν την επίδραση της φαινοφιμπράτης στην ειδική ενεργότητα της Lp-PLA <sub>2</sub> που συσχετίζεται με τα υποκλάσματα VLDL+IDL καθώς και με το πυκνό LDL-5 σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IV                 | 122 |
| <b>Εικόνα 14Α.</b> Τα ραβδογράμματα δείχνουν την επίδραση της εξετιμίμης, της ροσουβαστατίνης και της φαινοφιμπράτης στην ενεργότητα της Lp-PLA <sub>2</sub> που συσχετίζεται με το υποκλάσμα HDL-3c σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIA και IV        | 123 |
| <b>Εικόνα 14Β.</b> Τα ραβδογράμματα δείχνουν την επίδραση της εξετιμίμης, της ροσουβαστατίνης και της φαινοφιμπράτης στη μάζα της Lp-PLA <sub>2</sub> που συσχετίζεται με το υποκλάσμα HDL-3c σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIA και IV               | 123 |
| <b>Εικόνα 14C.</b> Τα ραβδογράμματα δείχνουν την επίδραση της εξετιμίμης, της ροσουβαστατίνης και της φαινοφιμπράτης στην ειδική ενεργότητα της Lp-PLA <sub>2</sub> που συσχετίζεται με το υποκλάσμα HDL-3c σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIA και IV | 124 |
| <b>Εικόνα 15.</b> Συσχέτιση των αυξημένων επιπέδων της Lp-PLA <sub>2</sub> με τον κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ   | 134 |

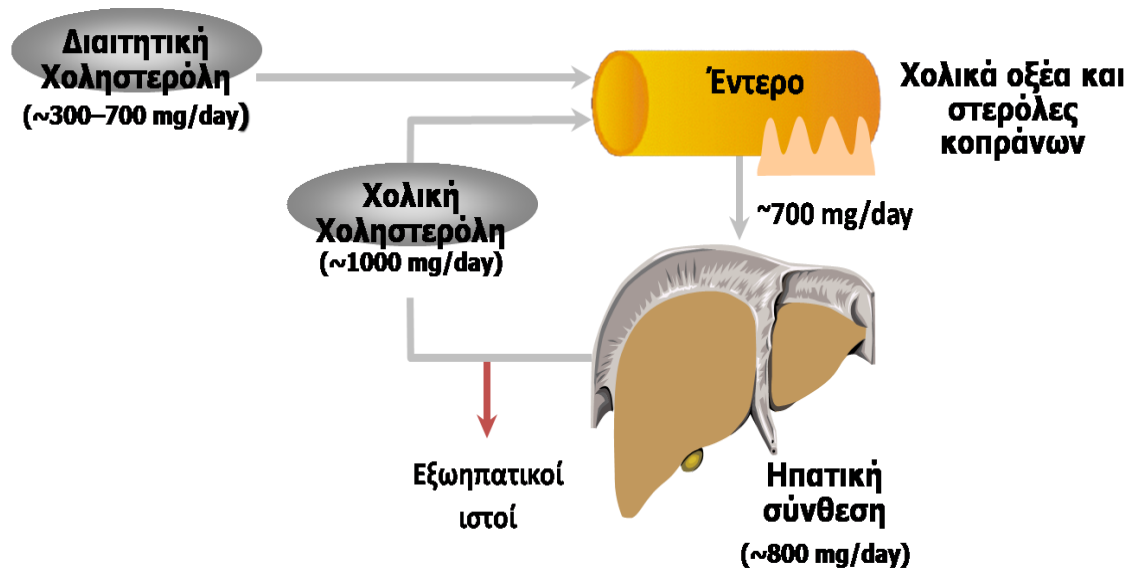
## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

#### 1. ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ (εικόνα 1)

Το διαιτητικό λίπος, μετά την απορρόφησή του από το γαστρεντερικό σωλήνα, ενσωματώνεται στα πλούσια σε τριγλυκερίδια (TG) χυλομικρά (1), τα οποία στην κυκλοφορία προσλαμβάνουν την απολιποπρωτεΐνη (apo) C-II από τις υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (high-density lipoprotein, HDL) (2). Τα χυλομικρά καταβολίζονται με τη βοήθεια της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (lipoprotein lipase, LPL), η οποία εντοπίζεται στα τριχοειδή των σκελετικών μυών και του λιπώδους ιστού (3). Το ένζυμο αυτό 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 (4). Τα κύτταρα αυτά έχουν μία πρωτεΐνη, η οποία συσχετίζεται με τον υποδοχέα των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (low-density lipoprotein, LDL) [LRP ή chylomicron remnant receptor] και η οποία συνδέεται με την apoE. Το λιπιδιακό συστατικό των καταλοίπων των χυλομικρών μετά την είσοδό τους στα ηπατοκύτταρα είτε αποθηκεύεται είτε καταβολίζεται είτε επανακρίνεται από τα ηπατοκύτταρα ως ουσιαστικό συστατικό των ενδογενών πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών, δηλαδή των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (very low-density lipoprotein, VLDL) (5). Η ηπατική παραγωγή λιποπρωτεϊνών εξαρτάται από την παροχή γλυκόζης και λιπαρών οξέων στα ηπατοκύτταρα και επηρεάζεται σημαντικά από ορμονικούς παράγοντες, κυρίως από την ινσουλίνη (5). Όπως και τα χυλομικρά, οι VLDL καταβολίζονται στην κυκλοφορία από την LPL. Το ένζυμο αυτό ενεργοποιείται από την apoC-II, ενώ η apoC-III αναστέλλει τη δραστηριότητά του (6). Με την επίδραση της LPL, οι VLDL μετατρέπονται στις ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (IDL), οι οποίες αναφέρονται και ως κατάλοιπα των VLDL. Οι IDL είναι σχετικά πλούσιες σε χοληστερόλη και ένα μέρος τους προσλαμβάνεται άμεσα από τα ηπατοκύτταρα διαμέσου υποδοχέων που συνδέονται με την apoE (κατά πάσα πιθανότητα πρόκειται για τους ίδιους υποδοχείς που αναγνωρίζουν την apoB των LDL). Οι υπόλοιπες IDL υφίστανται την επίδραση της ηπατικής λιπάσης (HL) (7) και μετατρέπονται σε LDL (8). Οι LDL είναι πλούσιες σε χοληστερόλη και πτωχές σε TG, έχουν ως κύρια πρωτεΐνη την apoB-100 και χρησιμεύουν για τη μεταφορά της χοληστερόλης στο πλάσμα.

**Εικόνα 1. Οι δύο μεταβολικές οδοί της χοληστερόλης**

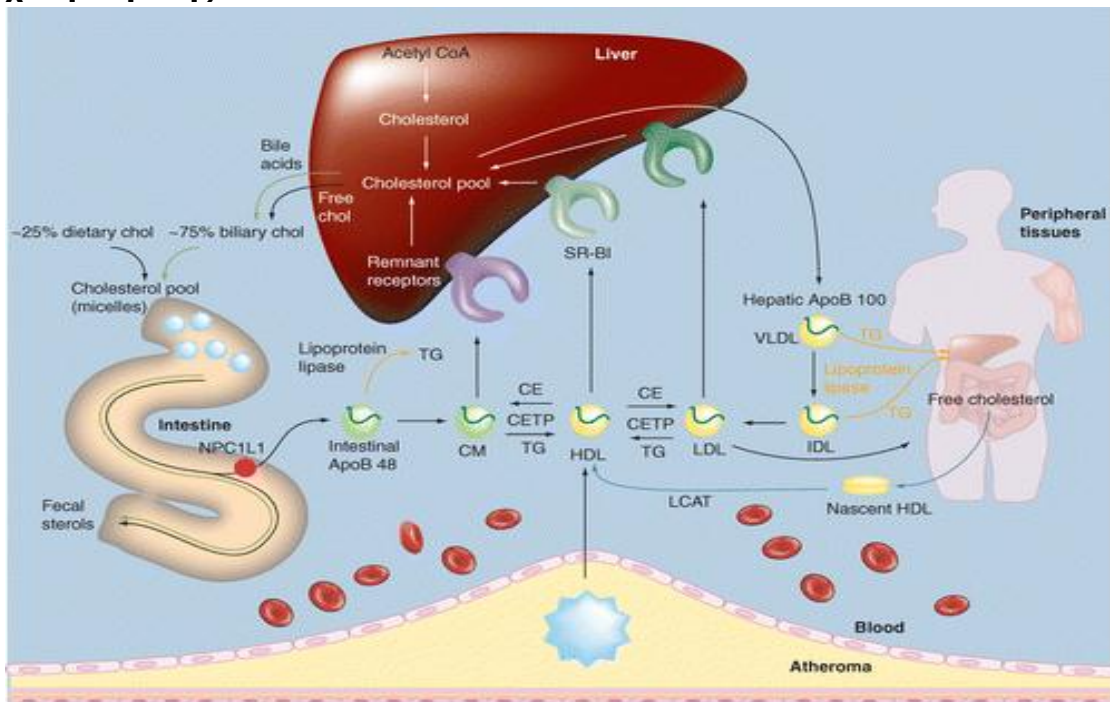


Οι LDL μεταβολίζονται διαμέσου των LDL υποδοχέων, οι οποίοι υπάρχουν κυρίως στα ηπατοκύτταρα και αναγνωρίζουν την apoB-100, δηλαδή την πρωτεΐνη που υπάρχει στην επιφάνεια των LDL (9). Ο αριθμός και η δραστηριότητα των LDL υποδοχέων είναι καθοριστικής σημασίας για τη ρύθμιση της συγκέντρωσης των LDL στο 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 σύνθεσής τους από τα κατάλοιπα των VLDL (IDL), αφού μικρότερο κλάσμα αυτών των σωματιδίων καταβολίζεται διαμέσου των LDL υποδοχέων. Ο αριθμός και η δραστηριότητα των LDL υποδοχέων εξαρτώνται από τα επίπεδα της ελεύθερης χοληστερόλης στα ηπατοκύτταρα (10). Πράγματι, η μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης χοληστερόλης που οφείλεται στη χορήγηση υπολιπιδαιμικών φαρμάκων (είτε στατινών που μειώνουν την ενδοκυττάρια σύνθεση χοληστερόλης είτε ρητινών δέσμησης χολικών οξέων που διακόπτουν τον εντεροηπατικό κύκλο των χολικών οξέων και αυξάνουν τη μετατροπή της χοληστερόλης σε χολικά οξέα, είτε εξετιμίμπης που μειώνει την απορρόφηση της χοληστερόλης από το γαστρεντερικό σωλήνα), 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 (11). Σύμφωνα με αυτή τη θεώρηση, οι HDL δεσμεύουν την πλεονάζουσα χοληστερόλη των κυττάρων ή και των αθηρωματικών πλακών. Η μετακίνηση της χοληστερόλης από τα κύτταρα στις αρχέγονες HDL γίνεται διαμέσου των ABCA1 μεταφορέων που εκφράζονται στην επιφάνεια των κυττάρων. Η ελεύθερη χοληστερόλη στη συνέχεια εστεροποιείται με την επίδραση του ενζύμου ακυλοτρανσφεράση της χοληστερόλης (LCAT) (12). Η εστεροποιημένη χοληστερόλη μεταφέρεται διαμέσου της πρωτεΐνης μεταφοράς εστέρων 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 (13). Νεότερες μελέτες έδειξαν ότι οι υποδοχείς SR-B1 διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην άμεση μεταφορά εστέρων χοληστερόλης από τις HDL στα ηπατοκύτταρα (14). **(Εικόνα 2)**

**Εικόνα 2. Λεπτομερής σχηματική απεικόνιση του μεταβολισμού της χοληστερόλης**



## 1.1 Μικρά πυκνά (small dense, sd) LDLωματίδια

### 1.1.1 Σχηματισμός των sdLDL σωματιδίων

Οι LDL είναι ένας ετερογενής πληθυσμός σωματιδίων όσον αφορά το μέγεθος, την πυκνότητα και τη χημική τους σύσταση (15). Αν και μπορούν να διακριθούν έως 7 LDL υποκλάσματα, μια πιο πρακτική προσέγγιση χωρίζει τον πληθυσμό των LDL

σωματιδίων σε 3 υποκλάσματα, ανάλογα με την πυκνότητά τους: LDL-I ( $d=1.025 - 1.034$  g/mL), LDL-II ( $d=1.034 - 1.044$  g/mL) και LDL-III ( $d=1.044 - 1.060$  g/mL) (15). Το 1988, οι *Austin και συν* (16) αναγνώρισαν δύο φαινότυπους των LDL ανάλογα με το μέγεθος των LDL σωματιδίων: ο φαινότυπος A, που χαρακτηρίζεται από επικράτηση των μεγάλων LDL σωματιδίων ( $>255$  Å) και ο φαινότυπος B, που χαρακτηρίζεται από επικράτηση των μικρών πυκνών sdLDL σωματιδίων ( $<255$  Å).

Η επίπτωση του φαινότυπου B είναι 30-35% σε ενήλικες άνδρες, αλλά είναι πολύ χαμηλότερη σε νεαρούς άνδρες ( $<20$  ετών) και σε προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες (5-10%) (17, 18). Η επίπτωση του φαινότυπου B σε μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες είναι 15-25% (19). Επιπρόσθετα, οι *Austin και συν* (20) έδειξαν ότι ο φαινότυπος B συσχετίζεται με αυξημένα επίπεδα TG. Συγκεκριμένα, οι συγγραφείς έδειξαν ότι ο φαινότυπος A ανευρίσκεται πάντα όταν τα επίπεδα των TG είναι  $<45$  mg/dL ( $<0.5$  mmol/L), ενώ ο φαινότυπος B ανευρίσκεται σχεδόν πάντα όταν η συγκέντρωση των TG στον ορό είναι  $>177$  mg/dL ( $>2.0$  mmol/L). Μια άλλη μελέτη (21) έδειξε ότι η συγκέντρωση των LDL-I μειώνονταν όσο αυξάνονταν τα TG του ορού, η συγκέντρωση των LDL-II αυξάνονταν όσο αυξάνονταν τα TG έως την τιμή των 133 mg/dL (1.5 mmol/L) και στη συνέχεια μειώνονταν, ενώ τα επίπεδα των LDL-III παρέμεναν σε σταθερή συγκέντρωση για επίπεδα TG  $\leq 133$  mg/dL, ενώ αυξάνονταν δραματικά όταν η συγκέντρωση των TG ξεπερνούσε την τιμή των 133 mg/dL. Το εύρημα αυτό συμφωνεί με τη μελέτη των *Austin και συν* που έδειξε ότι ο φαινότυπος B παρατηρείται όταν τα επίπεδα των TG είναι  $>133$  mg/dL. Η ολική συγκέντρωση των LDL σωματιδίων ωστόσο παρέμενε σχετικά αμετάβλητη για τιμές TG από 88 mg/dL έως 265 mg/dL. Φαίνεται λοιπόν ότι όταν τα TG ξεπερνούν τα 133 mg/dL είτε οι LDL-II μετατρέπονται σε LDL-III στην κυκλοφορία είτε ο μεταβολισμός των VLDL οδηγεί στο σχηματισμό κυρίως LDL-III και όχι LDL-II (21). Αρκετές άλλες μελέτες επιβεβαίωσαν την υπόθεση ότι ο φαινότυπος B δεν παρατηρείται όταν η συγκέντρωση των TG στον ορό είναι  $<133$  mg/dL (17, 22-27). Περίπου το 50% της μεταβλητότητας του μεγέθους των LDL σωματιδίων καθορίζεται από τη συγκέντρωση των TG στον ορό (22, 28, 29). 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 (30-32) και οδηγεί στο σχηματισμό πλούσιων σε TG και πτωχών σε χοληστερόλη LDL σωματιδίων. Τα TG αυτών των LDL

στη συνέχεια υδρολύονται από την ηπατική λιπάση με τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό των sdLDL σωματιδίων (25, 30, 32, 33). Η δραστηριότητα της ηπατικής λιπάσης επηρεάζεται από τις ορμόνες του φύλου (15) και έτσι πιθανά εξηγείται η πολύ μικρή επίπτωση του φαινοτύπου B σε προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες (25).

Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι υπάρχει γενετική προδιάθεση για την εμφάνιση sdLDL (34-43). Ωστόσο, η γενετική προδιάθεση μπορεί να εξηγήσει το 30-50% της μεταβλητότητας του μεγέθους των LDL σωματιδίων (36, 44). Για παράδειγμα, το κάπνισμα επηρεάζει την έκφραση των γονιδίων που στη συνέχεια μεταβάλλουν τη συγκέντρωση των TG και το μέγεθος των LDL σωματιδίων (45, 46). Άλλοι παράγοντες που πιθανά επηρεάζουν το μέγεθος των LDL σωματιδίων είναι διαιτητικοί παράγοντες (47-49), τα επίπεδα της HDL-CHOL (50), πολυμορφισμοί της CETP (51-54), της HL (51, 54, 55), της LPL (54, 56) και της apoA-V (57, 58), καθώς και ο γονότυπος του LDL υποδοχέα (59) σε ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία.

### **1.1.2 Μέθοδοι προσδιορισμού**

Υπάρχουν αρκετοί μέθοδοι προσδιορισμού της συγκέντρωσης των sdLDL και του μεγέθους των LDL σωματιδίων. Τέτοιες μέθοδοι είναι η υπερφυγοκέντρωση βαθμίδωσης πυκνοτήτων (60), η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (nuclear magnetic resonance, NMR) (61, 62) και η ηλεκτροφόρηση πυκνοτήτων σε γέλη (gradient gel electrophoresis, GGE) (63). Ωστόσο, όλες αυτές οι μέθοδοι είναι χρονοβόρες, δαπανηρές ή απαιτούν ειδική τεχνική εκπαίδευση για τη χρήση τους με αποτέλεσμα να μην είναι κατάλληλες στην κλινική πράξη. Οι *Hirano και συν* ανέπτυξαν πρόσφατα μια νέα τεχνική καταβύθισης για τη μέτρηση της χοληστερόλης των sdLDL σωματιδίων (sdLDL-CHOL) (64, 65), η οποία εμφανίζει καλή συσχέτιση με τη μέθοδο αναφοράς που είναι η υπερφυγοκέντρωση. Μία άλλη νέα μέθοδος ηλεκτροφόρησης χρησιμοποιεί σωληνάρια με γέλη πολυακρυλαμιδίου και παρέχει πληροφορίες τόσο για τη συγκέντρωση της sdLDL-CHOL όσο και για το μέγεθος των LDL σωματιδίων (66).

Εκτός από τις μεθόδους άμεσης εκτίμησης των sdLDL σωματιδίων που προαναφέρθηκαν, έμμεσες ενδείξεις για το μέγεθος των LDL σωματιδίων παρέχει ο λόγος LDL-CHOL/apoB (60, 67). Το μέγεθος των LDL σωματιδίων εξαρτάται σε σημαντικό ποσοστό από την περιεκτικότητα σε χοληστερόλη (τα sdLDL σωματίδια είναι πτωχά σε χοληστερόλη). Περισσότερο από το 90% της apoB του πλάσματος

μεταφέρεται από τις LDL. Έτσι, η συγκέντρωση της apoB παρέχει μια καλή εκτίμηση του αριθμού των LDL σωματιδίων (68). Ο λόγος LDL-CHOL/apoB δείχνει την περιεκτικότητα σε χοληστερόλη κάθε LDL σωματιδίου (60) και κατά συνέπεια ένας χαμηλός λόγος υποδεικνύει την ύπαρξη sdLDL σωματιδίων. Μελέτες έδειξαν ότι ένας λόγος LDL-CHOL/apoB ίσος με 1.2 αντιστοιχεί σε μέγεθος LDL σωματιδίου ίσο με 255 Å (60). Τέλος, ένας άλλος δείκτης παρουσίας των sdLDL αποτελεί ο λόγος TG/HDL-CHOL (69). Ένας λόγος TG/HDL-CHOL >0.9 (σε mmol/L) ή 2 (σε mg/dL) αναγνωρίζει περίπου το 75% των ατόμων με sdLDL.

### **1.1.3 Αθηρογόνος δυνατότητα των sdLDL σωματιδίων**

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των sdLDL σωματιδίων τους προσδίδουν αυξημένη αθηρογόνο δυνατότητα. Τα sdLDL σωματίδια διεισδύουν εύκολα στον υπενδοθηλιακό χώρο του αρτηριακού τοιχώματος και συνδέονται με τις πρωτεογλυκάνες του έσω χιτώνα (70, 71). Επιπρόσθετα, τα sdLDL σωματίδια εμφανίζουν αυξημένη ευαισθησία στην οξειδωση με αποτέλεσμα την πρόσληψή τους από τα μακροφάγα και τη διευκόλυνση του σχηματισμού αφρωδών κυττάρων (72). Τα οξειδωμένα LDL σωματίδια αναστέλλουν την αγγειοδιαστολή που εξαρτάται από το ενδοθήλιο και προάγουν τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου (73, 74). Τα sdLDL σωματίδια δεν αναγνωρίζονται εύκολα από τον LDL υποδοχέα με αποτέλεσμα μεγαλύτερη παραμονή τους στην κυκλοφορία (75-78). Ο φαινότυπος B συσχετίζεται με αυξημένες συγκεντρώσεις ινωδογόνου (ενός παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου, KAN) (79, 80). Τέλος, υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους των LDL σωματιδίων και του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου -1 (plasminogen activator inhibitor, PAI-1), ενός παράγοντα που συσχετίζεται με διαταραχή της ινωδολύσης και πρόωμη αθηροσκλήρωση (81).

### **1.1.4 Συσχέτιση με την εμφάνιση της KAN**

#### **1.1.4.1 Στεφανιαία νόσος (ΣΝ)**

Η συσχέτιση μεταξύ των sdLDL σωματιδίων και της KAN έχει εκτιμηθεί σε αρκετές μελέτες, οι περισσότερες από τις οποίες έδειξαν ότι υπάρχει σημαντική θετική συσχέτιση (82, 83).

Η επικράτηση των sdLDL συσχετίζεται με 2-5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ [έμφραγμα του μυοκαρδίου (EM) ή αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ] σε αρκετές συγχρονικές μελέτες (16, 84-89). Επιπρόσθετα, αρκετές προοπτικές μελέτες έδειξαν



ότι το μικρό μέγεθος των LDL σωματιδίων αποτελεί προγνωστικό δείκτη για την εμφάνιση ΣΝ (90-93). Τα αποτελέσματα της Physicians' Health Study έδειξαν ότι μία κατά 8 Å μείωση της μέγιστης διαμέτρου των LDL σωματιδίων συσχετίζεται με μια κατά 38% αύξηση του 7-ετούς κινδύνου εμφάνισης ΕΜ, ανεξάρτητα από την ηλικία και το κάπνισμα (92). Ωστόσο, η συσχέτιση αυτή έπαψε να υπάρχει όταν ελήφθησαν υπόψη τα επίπεδα των TG στον ορό. Στην Quebec Cardiovascular Study, μια μέγιστη διάμετρος των LDL σωματιδίων <25.4 nm συσχετιζόνταν με μία κατά 3.6 φορές αύξηση του κινδύνου εμφάνισης ΣΝ (95% CI 1.5-8.8) (91) στους άνδρες. Η συσχέτιση αυτή ήταν ανεξάρτητη από τα επίπεδα των TG, της HDL-CHOL και της LDL-CHOL, αλλά γίνονταν μικρότερη μετά τη διόρθωση για τα επίπεδα της apoB και του λόγου TC/HDL-CHOL. Ένα σημαντικό εύρημα αυτής της μελέτης αποτελεί το γεγονός ότι ασθενείς με μειωμένο μέγεθος LDL σωματιδίων και αυξημένα επίπεδα apoB είχαν ιδιαίτερα αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ (OR 6.2, 95% CI 2.2-17.4) (91). Μία ανάλυση των αποτελεσμάτων της ίδιας μελέτης έδειξε ότι ασθενείς με αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης, apoB και sdLDL είχαν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ (OR 5.9, 95% CI 2.3-15.7,  $p < 0.001$ ) σε σύγκριση με ασθενείς που είχαν φυσιολογικές τιμές για δυο από τις τρεις αυτές παραμέτρους (94). Περαιτέρω ανάλυση των αποτελεσμάτων της Quebec Cardiovascular Study έδειξε ότι μεταξύ όλων των χαρακτηριστικών των LDL σωματιδίων, εκείνο το χαρακτηριστικό που καθόριζε κυρίως τον κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ ήταν η συγκέντρωση της χοληστερόλης στα LDL σωματίδια με διάμετρο <25.5 nm (RR 4.6 για το 3<sup>ο</sup> έναντι του 1<sup>ου</sup> τριτημορίου της κατανομής,  $p < 0.001$ ) και αυτή η συσχέτιση ήταν ανεξάρτητη από όλες τις λιπιδαιμικές και μη λιπιδαιμικές παραμέτρους (ακόμη και από τη συγκέντρωση των TG) (95). Αυτή η συσχέτιση διατηρήθηκε και στην παράταση της μελέτης (13 χρόνια παρακολούθησης) (96). Τέλος, η συγκέντρωση της sdLDL-CHOL συσχετιζόνταν με τη σοβαρότητα της ΣΝ ανεξάρτητα από τα επίπεδα της LDL-CHOL, της HDL-CHOL και της apoB ( $p < 0.05$ ) (97). Το εύρημα αυτό επιβεβαιώθηκε και σε νεότερες μελέτες (98). Ωστόσο, η προοπτική μελέτη EPIC-Norfolk έδειξε ότι η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της sdLDL-CHOL και της εμφάνισης ΣΝ δεν ήταν ανεξάρτητη από τις άλλες λιπιδαιμικές παραμέτρους (99).

Το μέγεθος των LDL σωματιδίων συσχετίζεται με την εμφάνιση ΣΝ σε Ιαπωνικό ανδρικό πληθυσμό ανεξάρτητα από την ύπαρξη ή όχι ΣΔ (100). Το εύρημα αυτό επιβεβαιώθηκε από τους ίδιους ερευνητές και σε μια άλλη μελέτη στην οποία συμμετείχαν άνδρες (OR 3.5, 95% CI 2.1-5.7) και γυναίκες (OR 2.9, 95% CI 1.5-5.6)

( $p < 0.005$ ) (87). Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι το μέγεθος των LDL σωματιδίων συσχετιζόταν με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ σε Ασιάτες ασθενείς (OR 9.59; 95% CI 2.92-31.54) (101). Μια πρόσφατη μελέτη σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο έδειξε ότι το μικρό μέγεθος των LDL σωματιδίων συσχετιζόταν με την εμφάνιση ΚΑΝ (OR 11.7,  $p < 0.001$ ) (102). Ωστόσο, σε μία προοπτική μελέτη σε 258 ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες (65-74 ετών) δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στο μέγεθος των LDL σωματιδίων μεταξύ ασθενών (86 ασθενείς που εμφάνισαν ΕΜ ή θάνατο από ΕΜ μετά από 3.5 έτη παρακολούθησης) και ομάδας ελέγχου (χωρίς ΣΝ) (103). Παρόμοια, μια μελέτη σε γυναίκες ηλικίας 18-44 ετών έδειξε ότι το μέγεθος των LDL σωματιδίων δεν ήταν προγνωστικός δείκτης για την εμφάνιση ΕΜ ανεξάρτητα από το δείκτη μάζας σώματος (Body mass index, BMI) και τις συγκεντρώσεις της HDL-CHOL και των TG (104).

Μία πρόσφατη μελέτη σε Ασιάτες ασθενείς που υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφία για την εκτίμηση θωρακικού άλγους έδειξε ότι οι ασθενείς με εκτεταμένη νόσο είχαν μικρότερο μέγεθος LDL σωματιδίων (105). Πράγματι, μία μικρή μελέτη με 38 ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ) έδειξε ότι το μέγεθος των LDL σωματιδίων ήταν ο καλύτερος προγνωστικός δείκτης για την παρουσία ΣΝ, ενώ το μικρό μέγεθος των LDL σωματιδίων συσχετιζόταν με αύξηση του πάχους του έσω-μέσου χιτώνα των καρωτίδων (carotid intima-media thickness, IMT) (106).

Αρκετές μελέτες εκτίμησαν τη συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των LDL σωματιδίων και την εμφάνιση ΚΑΝ. 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 ΚΑΝ (68, 107-111). Μία μελέτη έδειξε ότι ο αριθμός των LDL σωματιδίων και όχι το μέγεθός τους συσχετιζόταν με την εμφάνιση ΕΜ και στηθάγχης σε γυναίκες, ανεξάρτητα από τα επίπεδα των TG και της HDL-CHOL (112). Μία άλλη ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης του Framingham σε 3000 ασθενείς έδειξε ότι ένα σημαντικό ποσοστό των καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς με μειωμένα επίπεδα HDL-CHOL εξηγείται από τον αυξημένο αριθμό των LDL σωματιδίων σε ασθενείς με φυσιολογικές συγκεντρώσεις LDL-CHOL (62).

Παρά την πληθώρα των ενδείξεων για την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ των sdLDL σωματιδίων και του κινδύνου εμφάνισης ΚΑΝ, υπάρχουν δεδομένα που δεν υποστηρίζουν την ύπαρξη μιας τέτοιας συσχέτισης. Για παράδειγμα, μια μελέτη ασθενών/μαρτύρων έδειξε ότι νορμολιπιδαιμικοί ασθενείς με ΣΝ είχαν αυξημένο

μέγεθος LDL σωματιδίων σε σύγκριση με υγιείς εθελοντές και ότι η συσχέτιση των μεγάλων LDL σωματιδίων με τη ΣΝ ήταν ανεξάρτητη από την ηλικία, το BMI, καθώς και από τα επίπεδα της HDL-CHOL και της VLDL-CHOL (113). Μία άλλη μελέτη δεν έδειξε διαφορά στο μέγεθος των LDL σωματιδίων μεταξύ των ασθενών με ΣΝ και της ομάδας ελέγχου (114). Το αυξημένο μέγεθος των LDL σωματιδίων ήταν ανεξάρτητος δείκτης για την εμφάνιση νέων οξέων στεφανιαίων συνδρόμων (ΟΣΣ) σε ασθενείς με ΣΝ (115). Τέλος, μία πρόσφατη ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης AMORIS (Apolipoprotein-related Mortality Risk Study) (116) έδειξε ότι το μέγεθος των LDL σωματιδίων (που εκτιμήθηκε με το λόγο LDL-CHOL/apoB) δεν εμφάνιζε σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο θανάτου από ΕΜ ανεξάρτητα από την ηλικία, το φύλο και τη συγκέντρωση των TG στον ορό.

#### *1.1.4.2 Άλλες μορφές αθηροσκληρωτικής νόσου (εκτός από ΣΝ)*

Αρκετές μελέτες έδειξαν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των sdLDL σωματιδίων και της αθηροσκληρωτικής νόσου των καρωτίδων (117, 118). Στις μελέτες αυτές συμμετείχαν υγιείς εθελοντές (119, 120), ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία (121) και οικογενή μικτή δυσλιπιδαιμία (122), καθώς και ασθενείς με αγγειακή άνοια ή νόσο του Alzheimer (123). Μια μελέτη με 94 άνδρες 50 ετών έδειξε ότι η συγκέντρωση των sdLDL σωματιδίων στον ορό συσχετιζόταν με το IMT των καρωτίδων ανεξάρτητα από τους άλλους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ (124). Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι το μέγεθος των LDL σωματιδίων ήταν ο πιο ισχυρός προγνωστικός δείκτης του IMT από όλες τις λιπιδαιμικές παραμέτρους και ο δεύτερος πιο ισχυρός (μετά το κάπνισμα) παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ (106).

Το προφίλ των LDL υποκλασμάτων έχει επίσης εκτιμηθεί σε λίγες μελέτες με ασθενείς με περιφερική αρτηριακή νόσο (peripheral arterial disease, PAD) με αντίθετα αποτελέσματα. Μία μελέτη με 72 ασθενείς (125) έδειξε ότι η παρουσία PAD συσχετιζόταν με την παρουσία sdLDL σωματιδίων ανεξάρτητα από την ύπαρξη ΣΔ, ενώ σε μια μικρότερη μελέτη (32 ασθενείς) δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση (126). Ωστόσο, μια πρόσφατη μελέτη με 31 ασθενείς με διαλείπουσα χλωτότητα και 13 υγιή άτομα έδειξε ότι η παρουσία PAD συσχετιζόταν με τα αυξημένα επίπεδα sdLDL (OR 6.7,  $p=.0497$ ) και μάλιστα ανεξάρτητα από τους άλλους παράγοντες κινδύνου (κάπνισμα OR 7.2,  $p=.0099$ , αρτηριακή υπέρταση OR 6.5,  $p=.0362$  και ΣΔ OR 5.5,  $p=.0450$ ) (127). Τέλος, ασθενείς με ανεύρυσμα κοιλιακής αορτής έχουν

μειωμένο μέγεθος LDL σωματιδίων σε σύγκριση με υγιή άτομα της ίδιας ηλικίας και φύλου (117).

### **1.2 Υποκλάσματα των HDL**

Οι HDL αποτελούν μια ετερογενή ομάδα δισκοειδών και σφαιρικών σωματιδίων πυκνότητας 1.063– 1.21 g/mL (128). Οι πρόδρομες μορφές των HDL σωματιδίων προσλαμβάνουν ευχερώς χοληστερόλη και φωσφολιπίδια από τις κυτταρικές μεμβράνες διαμέσου του μεταφορέα ATP-binding cassette A1 (128). Στη συνέχεια με τη βοήθεια του ενζύμου LCAT, πραγματοποιείται η εστεροποίηση της χοληστερόλης και σχηματίζονται τα μικρά, σφαιρικά HDL3 σωματίδια, τα οποία στη συνέχεια μετατρέπονται στα μεγαλύτερα HDL2 σωματίδια.

Τα αποτελέσματα των μελετών όσον αφορά τη συσχέτιση των υποκλασμάτων των HDL με την εμφάνιση ΚΑΝ είναι αντικρουόμενα. Πρέπει να αναφερθεί ότι οι περισσότερες μελέτες έδειξαν ότι τα μεγάλα HDL σωματίδια συσχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ (129-131). Ωστόσο, θεωρείται ότι τα μικρά, πτωχά σε λιπίδια HDL σωματίδια είναι καλύτεροι αποδέκτες της περίσσειας χοληστερόλης κατά τη διαδικασία της ανάστροφης μεταφοράς χοληστερόλης σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα HDL σωματίδια (132). Επιπρόσθετα, μελέτες έδειξαν ότι τα μικρά HDL3 σωματίδια διαθέτουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα HDL2 σωματίδια, ένα εύρημα που αποδίδεται στην εκλεκτική κατανομή των απολιποπρωτεϊνών και των ενζύμων με αντιοξειδωτική δράση στα μικρά HDL σωματίδια (133), όπως έδειξαν πειράματα με υπερφυγοκέντρωση.

Ωστόσο, πρέπει να επισημανθεί ότι αυτές οι αθηροπροστατευτικές δράσεις των μικρών HDL3 σωματιδίων περιορίζονται ή και χάνονται σε καταστάσεις που συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ, όπως σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμίες που συνοδεύονται από χαμηλά επίπεδα HDL-CHOL. Αυτά τα μικρά, μη λειτουργικά HDL3 σωματίδια είναι πλούσια σε TG και αμυλοειδές A και πτωχά σε εστέρες χοληστερόλης και apoA-I, πιθανά εξαιτίας της αυξημένης ενεργότητας της CETP (128).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### 2. ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΙΣ ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΕΣ

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

**Πίνακας 1. Ταξινόμηση των δυσλιπιδαιμιών κατά Fredrickson**

| Φαινότυπος | Λιποπρωτεΐνη σε αυξημένη συγκέντρωση | Συγκέντρωση TCHOL στον ορό | Συγκέντρωση TG στον ορό | Αθηρογόνος δυνατότητα | Σχετική συχνότητα εμφάνισης |
|------------|--------------------------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------------|
| <b>I</b>   | Χυλομικρά                            | Φυσιολογική ή ↑            | ↑↑↑↑                    | –                     | <1%                         |
| <b>IIa</b> | LDL                                  | ↑↑                         | Φυσιολογική             | +++                   | 10%                         |
| <b>IIb</b> | LDL και VLDL                         | ↑↑                         | ↑↑                      | +++                   | 40%                         |
| <b>III</b> | IDL                                  | ↑↑                         | ↑↑↑                     | +++                   | <1%                         |
| <b>IV</b>  | VLDL                                 | Φυσιολογική ή ↑            | ↑↑                      | +                     | 45%                         |
| <b>V</b>   | VLDL και χυλομικρά                   | ↑ ή ↑↑                     | ↑↑↑↑                    | +                     | 5%                          |

**ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Ταξινόμηση των συχνότερων πρωτοπαθών δυσλιπιδαιμιών**

|   |
|---|
| <b>A. Αύξηση της LDL-CHOL</b>   |
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Οικογενής υπερχοληστερολαιμία</li> <li>2. Οικογενής διαταραχή της apoB-100</li> <li>3. Οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία</li> <li>4. Πολυγονική υπερχοληστερολαιμία</li> </ol> |
| <b>B. Ήπια ή μέτρια υπερτριγλυκεριδαιμία</b>  |
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία</li> <li>2. Υπερλιπιδαιμία τύπου III</li> <li>3. Οικογενής υπερτριγλυκεριδαιμία</li> </ol>   |
| <b>Γ. Σοβαρή υπερτριγλυκεριδαιμία</b>   |
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Οικογενής ανεπάρκεια της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης</li> <li>2. Οικογενής ανεπάρκεια της apoC-II</li> </ol>  |
| <b>Δ. Μείωση της HDL-CHOL</b>   |
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Οικογενής υποαλφαλιποπρωτεϊναιμία</li> </ol>  |

**2.1 Οικογενής υπερχοληστερολαιμία****2.1.1 Γενικά σχόλια**

Πρόκειται για την πιο συχνή γενετική διαταραχή του μεταβολισμού. Μεταδίδεται με τον αυτοσωμικό επικρατούντα χαρακτήρα. Η συχνότητα των ετεροζυγωτών στο γενικό πληθυσμό είναι 1:500 άτομα, ενώ των ομοζυγωτών 1:10<sup>6</sup> (134). Η κύρια διαταραχή αφορά μεταλλάξεις του γονιδίου που κωδικοποιεί τον LDL (B100/E) υποδοχέα και εδράζεται στο χρωμόσωμα 19. Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί περισσότερες από 700 διαφορετικές μεταλλάξεις, οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα τη διαταραχή της λειτουργίας των LDL υποδοχέων. Οι μεταλλάξεις αυτές μπορούν να ταξινομηθούν σε πέντε κύριες κατηγορίες (134):

1. Μεταλλάξεις που επηρεάζουν τη σύνθεση του υποδοχέα.

2. Μεταλλάξεις που επηρεάζουν τη μεταφορά του υποδοχέα από το ενδοπλασματικό δίκτυο στη συσκευή Golgi.
3. Μεταλλάξεις που επηρεάζουν την ικανότητα σύνδεσης του υποδοχέα με την LDL.
4. Μεταλλάξεις που επηρεάζουν την ενδοκύττωση του συμπλέγματος, ενώ η σύνδεση υποδοχέα-LDL γίνεται κανονικά.
5. Μεταλλάξεις που επηρεάζουν την ανακύκλωση του υποδοχέα στην κυτταρική μεμβράνη μετά την απελευθέρωση της LDL στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων.

Οι μεταλλάξεις αυτές έχουν ως αποτέλεσμα είτε την παρουσία ενός τελείως ανενεργού υποδοχέα ( $R^{b0}$ ), είτε ενός υποδοχέα που διατηρεί μια μικρή ικανότητα σύνδεσης με την LDL ( $R^{b-}$ ), είτε, τέλος, ενός υποδοχέα με φυσιολογική ικανότητα σύνδεσης με την LDL αλλά ανεπαρκή για την ενδοκυττάρια μεταφορά της ( $R^{b+;i^0}$ ).

Οι ετεροζυγώτες έχουν ένα φυσιολογικό και ένα μεταλλαγμένο αλληλίο του LDL υποδοχέα, με αποτέλεσμα να διατηρούν τη μισή περίπου ικανότητα σύνδεσης των LDL με τους υποδοχείς σε σύγκριση με τα φυσιολογικά άτομα. Οι ομοζυγώτες έχουν δύο μεταλλαγμένα αλληλόμορφα γονίδια και συνεπώς καμία ικανότητα σύνδεσης των LDL με τους αντίστοιχους υποδοχείς.

Σε ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία εκτός από το μειωμένο καταβολισμό παρατηρείται και αύξηση της σύνθεσης των LDL. Η αύξηση αυτή οφείλεται στο μειωμένο καταβολισμό των καταλοίπων των VLDL (IDL) από το ήπαρ, που επίσης προσλαμβάνονται διαμέσου των LDL (apoB100/E) υποδοχέων (135). Έτσι, περισσότερα IDL σωματίδια μετατρέπονται σε LDL. Το τελικό αποτέλεσμα είναι μια μεγάλη αύξηση των LDL στο πλάσμα. Επιπρόσθετα, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι LDL υποδοχείς ενδέχεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ηπατικής παραγωγής των VLDL. Πράγματι, πειραματόζωα τα οποία υπερεκφράζουν το μεταγραφικό παράγοντα SREBP-1a (sterol regulatory element-binding protein-1a) εμφανίζουν αυξημένη ηπατική σύνθεση TG και χοληστερόλης, καθώς και ηπατική στεάτωση. Ωστόσο, οι διαταραχές αυτές δεν συνοδεύονται από αύξηση των λιπιδίων του πλάσματος (136). Η αναστολή της έκφρασης του γονιδίου του LDL υποδοχέα σε αυτά τα πειραματόζωα συνοδεύεται από σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των λιπιδίων του πλάσματος εξαιτίας της αυξημένης απελευθέρωσης λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB από το ήπαρ (136). Τέλος, μελέτες σε καλλιέργειες ηπατοκυττάρων ποντικού έδειξαν ότι οι LDL υποδοχείς μειώνουν την απελευθέρωση της apoB από το ήπαρ αυξάνοντας τον ενδοκυττάριο καταβολισμό της (137).

### **2.1.2 Κλινική εικόνα**

Η κλινική εικόνα της οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας χαρακτηρίζεται από υψηλές συγκεντρώσεις TCHOL και LDL-CHOL, την παρουσία των χαρακτηριστικών τενόντιων ξανθωμάτων και την σημαντικά αυξημένη επίπτωση πρώιμης ΚΑΝ.

Τα επίπεδα της TCHOL του πλάσματος είναι αυξημένα κατά τη γέννηση στους ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία (134). Ωστόσο, η μέτρηση της TCHOL στο αίμα του ομφάλιου λώρου σε όλα ανεξαιρέτως τα νεογνά δεν συνιστάται ως δοκιμασία ελέγχου για την έγκαιρη διάγνωση της οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας, αφού η αύξηση της HDL-CHOL, η οποία παριστά τη βασική λιποπρωτεΐνη του νεογνικού πλάσματος, οδηγεί συχνότερα σε αύξηση της TCHOL στα νεογνά σε σύγκριση με την οικογενή υπερχοληστερολαιμία (134). Επιπρόσθετα, η εφαρμογή αυτής της μεθόδου σε όλα τα νεογνά μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη επίπτωση ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων (138). Έτσι, η μέτρηση των επιπέδων της TCHOL στο αίμα του ομφάλιου λώρου συνιστάται μόνο στα νεογνά γονέων με γνωστή οικογενή υπερχοληστερολαιμία.

Το παθογνωμονικό γνώρισμα της οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας είναι η παρουσία των τενόντιων ξανθωμάτων (134). Πρόκειται για λευκωπές οζώδεις διογκώσεις, που τυπικά αφορούν τον αχίλλειο τένοντα, καθώς και τους τένοντες της κνήμης, του αγκώνα και της ραχιαίας επιφάνειας των άκρων χειρών. Οφείλονται στη συσσώρευση ινών κολλαγόνου και μακροφάγων πλούσιων σε εστέρες χοληστερόλης και η ιστολογική εικόνα τους μοιάζει με την αντίστοιχη του αθηρώματος. Τα τενόντια ξανθώματα εμφανίζονται στους ομοζυγώτες στην παιδική ηλικία, ενώ στους ετεροζυγώτες εμφανίζονται στην ηλικία των 20 ετών. Η συχνότητά τους αυξάνει με την πάροδο του χρόνου και τελικά το 75% των ασθενών εμφανίζει τενόντια ξανθώματα. Συχνά τα ξανθώματα φλεγμαίνουν, ιδίως τα ξανθώματα του αχίλλειου τένοντα, ενώ οι ασθενείς εμφανίζουν συμπτώματα τενοντοελυτρίτιδας ή ακόμη και ρήξη των τενόντων. Σε ορισμένους ασθενείς με την έναρξη της υπολιπιδαιμικής θεραπείας παρατηρείται αίσθημα δυσανεξίας στους τένοντες ή και τενοντοελυτρίτιδα. Άλλα χαρακτηριστικά γνωρίσματα της οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας είναι η εναπόθεση χοληστερόλης στα βλέφαρα και στον κερατοειδή, με αποτέλεσμα την εμφάνιση ξανθελασμάτων και γεροντότοξου, αντίστοιχα. Τα ξανθελάσματα και το γεροντότοξο δεν αποτελούν ειδικά γνωρίσματα της οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας, αλλά παρατηρούνται και σε δυσλιπιδαιμίες άλλης αιτιολογίας ή ακόμη και σε νορμολιπιδαιμικά άτομα. Μεγαλύτερη αξία έχει η ανεύρεση γεροντότοξου σε νεαρά



άτομα, αφού στις περισσότερες περιπτώσεις οφείλεται σε οικογενή υπερχοληστερολαιμία.

Στους ομοζυγώτες εκτός από τα τενόντια ξανθώματα παρατηρείται ένας άλλος μοναδικός τύπος ξανθωμάτων. Πρόκειται για τα υποδερματικά επίπεδα ή οζώδη ξανθώματα. Είναι υπερυψωμένες κιτρινωπές πλάκες, οι οποίες παρατηρούνται στα γόνατα, στους αγκώνες, στους γλουτούς και στις μεσοδακτύλιες επιφάνειες των δακτύλων των χεριών. Τέλος, σε ασθενείς με ομόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία είναι δυνατόν να παρατηρηθεί αρθρίτιδα των γονάτων, των αγκώνων, των καρπών και των εγγύς μεσοφαλαγγικών αρθρώσεων. Στο αρθρικό υγρό συχνά ανευρίσκονται κρύσταλλοι χοληστερόλης.

Το βασικότερο κλινικό χαρακτηριστικό της οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας είναι η αυξημένη επίπτωση πρώιμης ΚΑΝ. Χωρίς θεραπεία το 50% των ετεροζυγωτών ανδρών, καθώς και το 15% των ετεροζυγωτών γυναικών πεθαίνουν από ΣΝ πριν την ηλικία των 60 ετών (139, 140). Συνήθως, οι γυναίκες με οικογενή υπερχοληστερολαιμία εμφανίζουν ΚΑΝ 10 έτη αργότερα σε σύγκριση με τους άνδρες ασθενείς της ίδιας οικογένειας (141). Η πρόγνωση είναι πολύ χειρότερη για τους ομοζυγώτες, οι οποίοι συνήθως εμφανίζουν ΣΝ κατά τα πρώτα χρόνια της ζωής. Ο λόγος για τον οποίο ορισμένες οικογένειες με οικογενή υπερχοληστερολαιμία εμφανίζουν αυξημένη επίπτωση ΚΑΝ σε σύγκριση με κάποιες άλλες δεν είναι γνωστός. Ο τύπος των μεταλλάξεων του LDL υποδοχέα φαίνεται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη βαρύτητα της ΚΑΝ στους ομοζυγώτες. Ωστόσο, μέχρι σήμερα δεν είναι ξεκάθαρο αν κάτι παρόμοιο ισχύει και για τους ετεροζυγώτες (142). Άλλοι παράγοντες που μπορεί να συμβάλλουν στην αύξηση της επίπτωσης και της βαρύτητας της αθηρωματικής νόσου στους ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία είναι η παχυσαρκία (143), οι χαμηλές συγκεντρώσεις της HDL-CHOL (144), (145), οι αυξημένες συγκεντρώσεις των TG (144) και της λιποπρωτεΐνης (a) ([Lp(a)] (146),(147) καθώς και η παρουσία του E4 αλληλίου της apoE που συνδυάζεται με αυξημένη απορρόφηση της χοληστερόλης από το έντερο (144).

Εκτός από την πρώιμη ΣΝ οι ασθενείς με ομόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία, καθώς και οι ετεροζυγώτες με πολύ υψηλά επίπεδα TCHOL, εμφανίζουν συχνά υπερβαλβιδική στένωση της αορτικής βαλβίδας (148). Αυτή η στένωση οφείλεται σε εναπόθεση χοληστερόλης στο τοίχωμα της αορτής και μπορεί να οδηγήσει σε αιφνίδιο θάνατο. Οι ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία εμφανίζουν σπάνια αθηρωμάτωση των καρωτίδων και των εγκεφαλικών αρτηριών, ενώ περιφερική

αρτηριακή νόσος παρατηρείται σχεδόν αποκλειστικά σε καπνιστές με οικογενή υπερχοληστερολαιμία (134).

### **2.1.3 Διάγνωση**

Σε κάθε ασθενή με μεμονωμένη αύξηση της TCHOL και LDL-CHOL (φαινότυπος IIA) και φυσιολογική συγκέντρωση TG νηστείας πρέπει να τίθεται η υποψία της οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας. Εντούτοις, οι περισσότεροι ασθενείς με φαινότυπο τύπου IIA έχουν πολυγονική ή οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία ή νοσήματα που συνδυάζονται με αύξηση των επιπέδων της LDL-CHOL, όπως ο υποθυρεοειδισμός, η αποφρακτική ηπατική νόσος και το νεφρωσικό σύνδρομο. Αφού αποκλεισθούν τα δευτεροπαθή αίτια υπερχοληστερολαιμίας με τον κατάλληλο εργαστηριακό έλεγχο, η διαφορική διάγνωση ανάμεσα στην οικογενή υπερχοληστερολαιμία και τα άλλα αίτια πρωτοπαθούς υπερχοληστερολαιμίας βασίζεται στα ακόλουθα (149):

1. Στις υψηλές τιμές TCHOL (350-400 mg/dL) και LDL-CHOL, οι οποίες καθιστούν πιο πιθανή τη διάγνωση της οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας, ενώ μέτρια αυξημένες τιμές (TCHOL 280-350 mg/dL) δεν μπορούν να αποκλείσουν τις άλλες πρωτοπαθείς διαταραχές.
2. Στην παρουσία τενόντιων ξανθωμάτων, η οποία είναι σχεδόν παθολογική για την οικογενή υπερχοληστερολαιμία.
3. Στον έλεγχο των λιπιδίων των πρώτου βαθμού συγγενών. Στην οικογενή υπερχοληστερολαιμία οι μισοί πρώτου βαθμού συγγενείς παρουσιάζουν επίσης αυξημένη TCHOL. Η διάγνωση της οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας καθίσταται ακόμη πιο πιθανή με την ανεύρεση στο συγγενικό περιβάλλον του ασθενή ενός παιδιού με υπερχοληστερολαιμία.
4. Στην ηλικία έναρξης της υπερχοληστερολαιμίας. Οι ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία αναφέρουν μακροχρόνιο ιστορικό υπερλιπιδαιμίας ήδη από την παιδική ηλικία, ενώ οι υπόλοιπες διαταραχές συνήθως κάνουν την εμφάνισή τους κατά την 3<sup>η</sup> ή 4<sup>η</sup> δεκαετία της ζωής.

Στο 10% των ασθενών με ετερόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία παρατηρείται ταυτόχρονη αύξηση των τιμών των TG του πλάσματος (φαινότυπος τύπου IIB). Σε αυτή την περίπτωση η νόσος πρέπει να διαφοροδιαγνωσθεί από την οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία.

Η διάγνωση της ομόζυγης οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας συνήθως δεν παρουσιάζει ιδιαίτερη δυσκολία. Πολύ συχνά τα παιδιά αυτά εξετάζονται από δερματολόγο εξαιτίας των δερματικών ξανθωμάτων. Αργότερα, η διάγνωση γίνεται όταν εμφανισθεί

στηθάγχη ή συγκοπτικό επεισόδιο που οφείλεται σε αορτική στένωση. Οι ασθενείς έχουν πολύ υψηλά επίπεδα TCHOL (>600 mg/dL), ενώ τα επίπεδα των TG είναι φυσιολογικά.

Σε εξειδικευμένα εργαστήρια η χρήση PCR αποκαλύπτει την υπεύθυνη μετάλλαξη του LDL υποδοχέα, ενώ η διάγνωση μπορεί επίσης να στηριχθεί στην άμεση μέτρηση του αριθμού των LDL υποδοχέων σε καλλιέργειες ινοβλαστών δέρματος ή λεμφοκυττάρων περιφερικού αίματος.

#### **2.1.4 Θεραπεία**

Ο στόχος της θεραπείας της οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας είναι η μείωση των επιπέδων της LDL-CHOL, με σκοπό την επιβράδυνση της εξέλιξης της αθηρωματικής νόσου. Όλοι οι ασθενείς πρέπει να τίθενται σε δίαιτα πτωχή σε χοληστερόλη και κεκορεσμένα λίπη και πλούσια σε μονοακόρεστα λίπη και τροφές με υπόλειμμα.

Σε όλους πρακτικά τους ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία πρέπει να χορηγείται υπολιπιδαιμική φαρμακοθεραπεία με σκοπό τη μείωση των επιπέδων της TCHOL και της LDL-CHOL. Τα φάρμακα πρώτης επιλογής είναι οι αναστολείς της HMG-CoA αναγωγάσης (στατίνες) (150). Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις οι συγκεντρώσεις της TCHOL παραμένουν αυξημένες παρά τη χρήση των μέγιστων επιτρεπόμενων δόσεων των στατινών. Η προσθήκη ρητινών δέσμευσης των χολικών οξέων (π.χ. της colesvelam) μπορεί να οδηγήσει σε περαιτέρω μείωση της LDL-CHOL κατά 10%-15% (151). Η προσθήκη φυτικών στερολών (2g/ημέρα) με τη μορφή μαργαρίνης, γάλακτος ή γιαουρτιού οδηγεί σε μείωση της εντερικής απορρόφησης της χοληστερόλης και έχει ως αποτέλεσμα περαιτέρω μείωση της LDL-CHOL κατά 10-15% (152). Παρόμοια αποτελέσματα επιτυγχάνονται και με το συνδυασμό των στατινών με την εξετιμίμπη, η οποία δρα στην ψηκτροειδή παρυφή του εντέρου και αναστέλλει την απορρόφηση της χοληστερόλης της τροφής και της χολής (153). Πρόσφατα εκτιμήθηκε η προσθήκη colesvelam στο συνδυασμό στατίνης με εξετιμίμπη σε 86 ασθενείς με FH (154). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, η προσθήκη colesvelam είχε ως αποτέλεσμα μία κατά 19% επιπρόσθετη μείωση της LDL-CHOL σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο μετά από 6 εβδομάδες θεραπείας.

Σε ασθενείς με ομόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία η φαρμακοθεραπεία είναι γενικά αναποτελεσματική, εξαιτίας της αδυναμίας αύξησης του αριθμού των LDL υποδοχέων. Η θεραπεία εκλογής είναι η LDL-αφαίρεση (155), ενώ σε λίγες περιπτώσεις έχει επιχειρηθεί μεταμόσχευση ήπατος (156) ή πυλαιοσυστηματική αναστόμωση.

Η οικογενής υπερχοληστερολαιμία είναι πιθανά μια από τις πρώτες γενετικές διαταραχές που θα αντιμετωπισθεί με γονιδιακή θεραπεία (157).

## **2.2 Οικογενής ανεπάρκεια της apoB**

Το 4% περίπου των ασθενών με κλινικοεργαστηριακή εικόνα οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας έχει φυσιολογικούς LDL υποδοχείς, αλλά εμφανίζει μειωμένη σύνδεση των LDL σωματιδίων με τους LDL υποδοχείς (158). Σε αυτές τις περιπτώσεις η υπεύθυνη διαταραχή συνίσταται σε διαταραχές της apoB 100, οι οποίες εμποδίζουν τη σύνδεσή της με τους LDL υποδοχείς (159). Στις περισσότερες περιπτώσεις η διαταραχή αυτή οφείλεται σε μετάλλαξη στη θέση 3500, όπου η γουανίνη αντικαθίσταται από αδενίνη (159), ενώ σπανιότερα μπορεί να παρατηρηθούν μεταλλάξεις και σε άλλες θέσεις του γονιδίου της apoB-100 (159).

Οι ασθενείς με ανεπάρκεια της apoB εμφανίζουν φυσιολογικά επίπεδα λιπιδαιμικών παραμέτρων ή ποικίλου βαθμού υπερλιπιδαιμία. Πολλοί ασθενείς εμφανίζουν τα τυπικά κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα της οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας. Ωστόσο, η κλινική εικόνα είναι συνήθως πιο ήπια και οι επιπλοκές είναι λιγότερο σοβαρές σε σύγκριση με τους ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία. Η διαφορά αυτή οφείλεται εν μέρει στο γεγονός ότι τα αθηρογόνα κατάλοιπα των λιποπρωτεϊνών καταβολίζονται κανονικά, αφού συνδέονται διαμέσου της apoE με τους ηπατικούς υποδοχείς (160). Επιπρόσθετα, κινητικές μελέτες έδειξαν ότι σε αυτούς τους ασθενείς ο ρυθμός παραγωγής της LDL είναι μικρότερος σε σύγκριση με τους ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία (160).

Η αντιμετώπιση αυτών των ασθενών δεν διαφέρει από την αντίστοιχη των ασθενών με οικογενή υπερχοληστερολαιμία.

## **2.3 Οικογενής συνδυασμένη (μικτή) δυσλιπιδαιμία**

### **2.3.1 Γενικά σχόλια**

Η μικτή δυσλιπιδαιμία, δηλαδή η συνύπαρξη υπερχοληστερολαιμίας και υπερτριγλυκεριδαιμίας, οφείλεται συνηθέστερα στην ταυτόχρονη αύξηση των συγκεντρώσεων των LDL και των VLDL. Πρόκειται για μια συχνή διαταραχή του μεταβολισμού των λιπιδίων, η οποία απαντάται στο 30% των ασθενών με EM, καθώς και στο 2% του γενικού πληθυσμού (161). Η μικτή δυσλιπιδαιμία εμφανίζει συχνά οικογενή κατανομή και σε αυτές τις περιπτώσεις αναφέρεται ως οικογενής

συνδυασμένη δυσλιπιδαιμία. Αν και η οικογενής συνδυασμένη δυσλιπιδαιμία θεωρούνταν κλασσικά ως μια μονογονική διαταραχή του μεταβολισμού των λιπιδίων (162), σήμερα είναι γνωστό ότι η νόσος οφείλεται στη συνύπαρξη διαταραχών πολλών γονιδίων ή στην αλληλεπίδραση των διαταραχών ενός γονιδίου με παράγοντες του περιβάλλοντος (163). Γονίδια τα οποία ενδέχεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου είναι το γονίδιο της LPL, τα γονίδια των apoC-II και C-III, το γονίδιο της CETP, καθώς και τα γονίδια που ρυθμίζουν το μεταβολισμό των ελεύθερων λιπαρών οξέων (free fatty acids, FFA) στο λιπώδη ιστό και τους μύες (163). Οι διαταραχές του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών που παρατηρούνται στους ασθενείς με οικογενή συνδυασμένη δυσλιπιδαιμία συμπεριλαμβάνουν την αυξημένη παραγωγή των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB (VLDL-1 και VLDL-2), καθώς και διαταραχές της μεταβολικής κάθαρσης των υπολειμμάτων των VLDL (IDL) και των χυλομικρών (164). Επιπρόσθετα, εξαιτίας της διαταραχής του καταβολισμού των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών, καθώς και εξαιτίας της υπερέκφρασης του γονιδίου της CETP, οι ασθενείς με οικογενή συνδυασμένη δυσλιπιδαιμία εμφανίζουν χαμηλή συγκέντρωση HDL-CHOL και υψηλές συγκεντρώσεις sdLDL (165), (166). Τέλος, εκτός από τις διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων, αυτοί οι ασθενείς εμφανίζουν συχνά και αντίσταση των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης, καθώς και άλλα χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου (κεντρικού τύπου παχυσαρκία, υπέρταση) (167). Η οικογενής συνδυασμένη δυσλιπιδαιμία εκδηλώνεται κλινικά με ένα από τους ακόλουθους φαινότυπους: μεμονωμένη αύξηση της TCHOL και LDL-CHOL (τύπος IIA), μεμονωμένη αύξηση των TG (τύπος IV) ή συνύπαρξη υπερχοληστερολαιμίας και υπερτριγλυκεριδαιμίας (τύπος IIB). Πρέπει να αναφερθεί ότι στον ίδιο ασθενή συχνά παρατηρείται μεταβολή της φαινοτυπικής έκφρασης της νόσου στο χρόνο, ακόμη και χωρίς φαρμακευτική παρέμβαση. Οι μισοί πρώτου βαθμού συγγενείς των ασθενών εμφανίζουν επίσης υπερλιπιδαιμία. Η επίπτωση KAN στους ασθενείς με οικογενή συνδυασμένη δυσλιπιδαιμία είναι σχεδόν διπλάσια από αυτή των υγιών μαρτύρων (168). Η αύξηση αυτή οφείλεται τόσο στις διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων όσο και στη συνύπαρξη και άλλων χαρακτηριστικών του μεταβολικού συνδρόμου σε αυτούς τους ασθενείς (169).

### ***2.3.2 Κλινική εικόνα***

Η υπερλιπιδαιμία δεν ανιχνεύεται στην παιδική ηλικία, αλλά εμφανίζεται στο τέλος της εφηβείας. Παρατηρείται συνήθως ήπια ή μέτρια αύξηση των λιπιδαιμικών παραμέτρων,

ενώ ο φαινότυπος μπορεί να μεταβάλλεται από εξέταση σε εξέταση ή μετά την έναρξη διαιτητικής ή φαρμακευτικής θεραπείας. Επιπρόσθετα, σε ασθενείς με οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία δεν παρατηρούνται τενόντια ξανθώματα (134).

Οι ασθενείς έχουν ένα ιδιαίτερα βεβαρημένο οικογενειακό ιστορικό πρώιμης ΣΝ, ενώ το 10% των ασθενών με οξύ ΕΜ πάσχει από οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία. Τα επίπεδα της apoB-100 του ορού είναι αυξημένα (134).

### **2.3.3 Διάγνωση**

Η διάγνωση της νόσου δεν είναι εύκολη, εξαιτίας του φαινοτυπικού πολυμορφισμού. Εντούτοις, η διάγνωση της οικογενούς συνδυασμένης υπερλιπιδαιμίας είναι πιθανή σε ενήλικες ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό πρώιμης ΚΑΝ και αυξημένα επίπεδα λιπιδαιμικών παραμέτρων, ιδιαίτερα όταν παρατηρείται μεταβολή των λιπιδίων κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης και υπερλιπιδαιμία στο 50% των πρώτου βαθμού ενήλικων συγγενών. Η διαφορική διάγνωση πρέπει να γίνει από την οικογενή υπερχοληστερολαιμία, την πολυγονική υπερχοληστερολαιμία και την οικογενή υπερτριγλυκεριδαιμία. Σε ασθενείς με οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία πολύ συχνά παρατηρείται αύξηση της apoB-100, της ινσουλίνης και του ουρικού οξέος, καθώς και ΣΔ.

### **2.3.4 Θεραπεία**

Η αντιμετώπιση της οικογενούς συνδυασμένης υπερλιπιδαιμίας περιλαμβάνει:

1. Την αναγνώριση και αντιμετώπιση εκείνων των καταστάσεων που επιδεινώνουν την υπερλιπιδαιμία (ΣΔ, υποθυρεοειδισμός, παχυσαρκία, φάρμακα που επηρεάζουν το μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών).
2. Υπολιπιδαιμική δίαιτα και σωματική άσκηση
3. Φαρμακευτική αγωγή, ανάλογα με τη διαταραχή που επικρατεί κατά τη στιγμή της διάγνωσης. Συγκεκριμένα, συνιστάται η χορήγηση φιμπρατών για την αντιμετώπιση της υπερτριγλυκεριδαιμίας (170) και στατινών για τη θεραπεία της υπερχοληστερολαιμίας (171). Σε ασθενείς με μικτή δυσλιπιδαιμία μπορεί να χορηγηθούν φιμπράτες (ιδιαίτερα τα νεότερα φάρμακα αυτής της ομάδας, που παράλληλα με τη μείωση των TG μειώνουν και τα επίπεδα της LDL-CHOL) ή στατίνες σε υψηλές δόσεις (που προκαλούν σημαντική μείωση των TG) ή ακόμη και συνδυασμός των παραπάνω φαρμάκων. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι τόσο οι στατίνες όσο και οι φιμπράτες προκαλούν σημαντική μείωση της ενεργότητας της

CETP και κατά συνέπεια μείωση των συγκεντρώσεων των sdLDL (170),(172). Η ανάπτυξη ειδικών αναστολέων της CETP αποτελεί αντικείμενο εντατικής έρευνας και οι ουσίες αυτές ενδέχεται να αποτελέσουν τη θεραπεία του μέλλοντος για τους ασθενείς με οικογενή συνδυασμένη δυσλιπιδαιμία (173).

## **2.4 Πολυγονική υπερχοληστερολαιμία**

Πρόκειται για την πιο συχνή αιτία αύξησης της TCHOL και LDL-CHOL στο γενικό πληθυσμό. Υπολογίζεται ότι το 5% του πληθυσμού έχει επίπεδα TCHOL που ξεπερνούν την 95<sup>η</sup> θέση της καμπύλης κατανομής των επιπέδων της. Από τα άτομα αυτά το 5% έχει οικογενή υπερχοληστερολαιμία, το 10% οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία και το υπόλοιπο 85% πολυγονική υπερχοληστερολαιμία (134).

Η πολυγονική υπερχοληστερολαιμία δεν οφείλεται σε μεταλλάξεις σε ένα συγκεκριμένο γονίδιο, αλλά σε μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση πολλαπλών γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Έτσι, σε ένα συγκεκριμένο γενετικό υπόστρωμα (που χαρακτηρίζεται από υπερπαραγωγή apoB-100, από την παρουσία του αλληλόμορφου γονιδίου E4, από ελαττωμένο καταβολισμό των LDL κ.α.) δρουν συγκεκριμένοι περιβαλλοντικοί παράγοντες (δίαιτα πλούσια σε κεκορεσμένα λίπη, παχυσαρκία κ.α.) με αποτέλεσμα την αύξηση της TCHOL και LDL-CHOL (134).

Η διαφορική διάγνωση της πολυγονικής υπερχοληστερολαιμίας από την οικογενή υπερχοληστερολαιμία και την οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία θα στηριχθεί: 1) Στην απουσία τενόντιων ξανθωμάτων, τα οποία ανευρίσκονται στην πλειοψηφία των ασθενών με οικογενή υπερχοληστερολαιμία και 2) στη μελέτη των πρώτου βαθμού συγγενών των ασθενών. Στην πολυγονική υπερχοληστερολαιμία μόνο το 10% αυτών των συγγενών εμφανίζει αυξημένες τιμές λιπιδίων, ενώ αντίθετα το 50% των συγγενών των ασθενών με οικογενή υπερχοληστερολαιμία ή οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία εμφανίζει αύξηση των λιπιδίων του ορού.

Σε όλους τους ασθενείς με πολυγονική υπερχοληστερολαιμία πρέπει να δίνονται σαφείς υγιεινοδιαιτητικές οδηγίες. Εάν τα επίπεδα των λιπιδίων παραμείνουν αυξημένα, πρέπει να χορηγούνται υπολιπιδαιμικά φάρμακα (συνήθως στατίνες) πάντα βέβαια σε συνδυασμό με την εκτίμηση του συνολικού κινδύνου για την εμφάνιση πρώιμης ΚΑΝ.

## **2.5 Οικογενής χυλομικροναϊμία**

### **2.5.1 Γενικά σχόλια**

Πρόκειται για μια σπάνια γενετική διαταραχή (η συχνότητά της είναι περίπου 1/10<sup>6</sup>), η οποία κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα. Η κύρια υποκείμενη

γενετική διαταραχή αφορά την ανεπάρκεια ή την πλήρη απουσία είτε της LPL (174), η οποία είναι απαραίτητη για τον καταβολισμό των TG των χυλομικρών και των VLDL, είτε σπανιότερα της apoC-II (175), (134), η οποία είναι το απαραίτητο συνένζυμο για την ενεργοποίηση της LPL. Στα φυσιολογικά άτομα, τα χυλομικρά καταβολίζονται γρήγορα από τη LPL και έτσι δεν υπάρχουν στο πλάσμα μετά από 12ωρη νηστεία. Αντίθετα, σε ασθενείς που είναι ομοζυγώτες όσον αφορά την ανεπάρκεια αυτού του ενζύμου, τα χυλομικρά ανευρίσκονται στο πλάσμα αρκετές ημέρες μετά την κατανάλωση ενός λιπαρού γεύματος. Η οικογενής χυλομικροναϊμία χαρακτηρίζεται από την παρουσία πολύ υψηλών συγκεντρώσεων TG πλάσματος νηστείας (άνω των 1000 mg/dL). Στην παιδική ηλικία η αύξηση αυτή οφείλεται αποκλειστικά στη συσσώρευση χυλομικρών (φαινότυπος τύπου I), δεδομένου ότι η HL καταβολίζει τις μικρές συγκεντρώσεις των VLDL που παρατηρούνται στα παιδιά (134). Με την πάροδο της ηλικίας οι συγκεντρώσεις των VLDL αυξάνονται και έτσι η υπερτριγλυκεριδαιμία στους ενήλικες με ανεπάρκεια της LPL οφείλεται στην αύξηση τόσο των χυλομικρών όσο και των VLDL (φαινότυπος τύπου V) (176).

### ***2.5.2 Κλινική εικόνα***

Η νόσος εκδηλώνεται συνήθως στην παιδική ηλικία με υποτροπιάζοντα κοιλιακά άλγη, τα οποία οφείλονται σε επεισόδια οξείας παγκρεατίτιδας. Κατά τη διέλευση των χυλομικρών από τη μικροκυκλοφορία του παγκρέατος, τα χυλομικρά εκτίθενται σε μικρές ποσότητες παγκρεατικής λιπάσης με αποτέλεσμα την απελευθέρωση τοπικά FFA και λυσολεκθίνης. Αυτά τα λιπαρά οξέα δρουν τοξικά στις κυτταρικές μεμβράνες και αυξάνουν την τοπική απελευθέρωση λιπάσης με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός φαύλου κύκλου που οδηγεί σε φλεγμονή του παγκρεατικού ιστού (177). Τη στιγμή της διάγνωσης ο ορός του ασθενούς είναι λιπαιμικός και η συγκέντρωση των TG συνήθως υπερβαίνει τα 1000 ή 2000 mg/dL. Πρέπει να αναφερθεί ότι πολλές φορές η αμυλάση του ορού είναι μέσα στα φυσιολογικά όρια ή είναι οριακά αυξημένη, πιθανά εξαιτίας παρεμβολής των λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων στον εργαστηριακό προσδιορισμό της (178). Σε αυτές τις περιπτώσεις η μέτρηση της αμυλάσης σε διαδοχικές αραιώσεις του ορού ή στα ούρα βοηθά σημαντικά στη διάγνωση. Εξάλλου, η παρουσία λιπαιμικού ορού σε ασθενή με οξύ κοιλιακό άλγος πρέπει πάντα να εγείρει την υποψία ύπαρξης οξείας παγκρεατίτιδας ανεξάρτητα από τα επίπεδα της αμυλάσης του ορού. Υποτροπιάζοντα επεισόδια οξείας παγκρεατίτιδας μπορούν να οδηγήσουν στη δημιουργία ψευδοκύστης ή και ανεπάρκειας της εξωκρινούς και της ενδοκρινούς μοίρας του παγκρέατος (177).



Το άλλο χαρακτηριστικό κλινικό γνώρισμα της νόσου είναι η εμφάνιση των εξανθηματικών (eruptive) ξανθωμάτων. Πρόκειται για μικρές κιτρινωπές κηλίδες που περιβάλλονται από ερυθματώδη άλω και ανευρίσκονται στους γλουτούς, στη ράχη και στις εκτατικές επιφάνειες των άκρων (σημεία πίεσης). Οφείλονται στην εναπόθεση μεγάλων ποσοτήτων λιπιδίων στα ιστικά μακροφάγα του δέρματος και συνήθως συνδυάζονται με τιμές TG ορού μεγαλύτερες από 2000 mg/dL (134).

Η εναπόθεση χυλομικρών στα μακροφάγα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος μπορεί να προκαλέσει ηπατομεγαλία, σπληνομεγαλία και διήθηση του μυελού των οστών από μακροφάγα γεμάτα με λίπος. Η ξαφνική αύξηση του μεγέθους του ήπατος ή του σπλήνα, καθώς και η δημιουργία σπληνικών εμφράκτων είναι δυο άλλα αίτια κοιλιακού άλγους σε ασθενείς με χυλομικροναιμία, ενώ επίσης έχουν περιγραφεί περιπτώσεις πανκυτταροπενίας εξαιτίας υπερσπληνισμού (134).

Κατά την οφθαλμοσκόπηση ο βυθός των οφθαλμών παρουσιάζεται ωχρός, ενώ τα αγγεία του αμφιβληστροειδούς λευκά (lipaemia retinalis).

Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι η δυσλιπιδαιμία τύπου I δεν συνδυάζεται με αυξημένη επίπτωση πρώιμης αθηρωματικής αγγειακής νόσου.

### **2.5.3 Διάγνωση**

Η διάγνωση της οικογενούς χυλομικροναιμίας τίθεται, όπως αναφέρθηκε, από την παρουσία λιπαιμικού ορού ή πλάσματος σε αιμοληψία μετά νηστεία τουλάχιστον 12 ωρών. Αν μάλιστα η συλλογή του δείγματος γίνει παρουσία EDTA ως αντιπηκτικού και το δείγμα διατηρηθεί στους 4°C όλη τη νύχτα, μια λευκωπή κρεμώδης στοιβάδα εμφανίζεται στο άνω μέρος, ενώ το υποκείμενο πλάσμα είναι διαυγές. Κατά την ηλεκτροφόρηση των λιποπρωτεϊνών σε γέλη αγαρόζης παρατηρείται η χαρακτηριστική μπάντα των χυλομικρών (φαινότυπος τύπου I). Η διάγνωση επιβεβαιώνεται με την αδυναμία αύξησης της ενεργότητας της LPL μετά ενδοφλέβια έγχυση ηπαρίνης. Η ηπαρίνη, σε φυσιολογικά άτομα, απελευθερώνει τη LPL από τις θέσεις δέσμευσής της στα τριχοειδή, με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης και της ενεργότητάς της στο πλάσμα.

Η ηλεκτροφόρηση των απολιποπρωτεϊνών της VLDL με την οποία ανιχνεύεται η φυσιολογική μπάντα της apoC-II μπορεί να αποκλείσει ή να επιβεβαιώσει την ανεπάρκεια αυτής της απολιποπρωτεΐνης. Στην τελευταία περίπτωση η μετάγγιση φυσιολογικού πλάσματος στον ασθενή έχει ως αποτέλεσμα τη δραματική μείωση των συγκεντρώσεων των TG του ορού (134).

Επίσης πρέπει να σημειωθεί η παρεμβολή της σοβαρής υπερτριγλυκεριδαιμίας στις βιοχημικές μετρήσεις στον ορό. Τυπικό παράδειγμα είναι η ψευδοϋπονατριαιμία αυτών των ασθενών, που παρατηρείται συχνότερα όταν ο προσδιορισμός του νατρίου γίνεται με φασματοφωτομετρία.

#### **2.5.4 Θεραπεία**

Στους ασθενείς με οικογενή χυλομικροναιμία πρέπει να καταβάλλεται κάθε προσπάθεια για να διατηρηθούν τα TG νηστείας κάτω από 1000mg/dL, ώστε να μειωθεί ο κίνδυνος εμφάνισης οξείας παγκρεατίτιδας. Έτσι, συνιστάται ο σημαντικός περιορισμός της κατανάλωσης λίπους (<20 gr ημερησίως), που πρακτικά σημαίνει μια ελεύθερη λίπους διαίτα, προκειμένου να αποφευχθεί η δημιουργία χυλομικρών. Οι υδατάνθρακες και οι πρωτεΐνες πρέπει να υποκαταστήσουν τα λίπη ως πηγή ενέργειας σε μη παχύσαρκους ασθενείς. Επίσης, η διαίτα πρέπει να συμπληρώνεται με λιποδιαλυτές βιταμίνες. Σε περίπτωση πλήρους ανεπάρκειας της LPL η φαρμακευτική αγωγή δεν έχει κανένα ρόλο. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η χορήγηση υψηλών δόσεων αντιοξειδωτικών ουσιών σε ασθενείς με χυλομικροναιμία, αν και δεν επηρεάζει σημαντικά τις συγκεντρώσεις των TG, μπορεί να μειώσει την πιθανότητα εμφάνισης οξείας παγκρεατίτιδας (179).

## **2.6 Οικογενής υπερλιποπρωτεΐναιμία τύπου III (δυσβηταλιποπρωτεΐναιμία)**

### **2.6.1 Γενικά σχόλια**

Πρόκειται για μια γενετική διαταραχή του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών, η οποία χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση λιποπρωτεϊνικών καταλοίπων στο πλάσμα και την εμφάνιση πρώιμης αθηρωματικής νόσου. Οι ασθενείς με δυσβηταλιποπρωτεΐναιμία εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα TCHOL και TG στο πλάσμα. Το κύριο διαγνωστικό χαρακτηριστικό της νόσου είναι η παρουσία στην ηλεκτροφόρηση των λιποπρωτεϊνών σε αγαρόζη μιας ευρείας ζώνης (β-VLDL) που αντιστοιχεί στις πλούσιες σε χοληστερόλη και TG παθολογικές λιποπρωτεΐνες, εξαιτίας της συσσώρευσης των καταλοίπων των χυλομικρών και των VLDL στο πλάσμα (180).

Η κύρια μοριακή διαταραχή της νόσου αφορά την παρουσία ελαττωματικής όσον αφορά την ικανότητα σύνδεσης με τους λιποπρωτεϊνικούς υποδοχείς apoE. Η apoE βρίσκεται φυσιολογικά στα κατάλοιπα των χυλομικρών και των VLDL (IDL) και συνδέεται με τους ηπατικούς υποδοχείς με αποτέλεσμα την πρόσληψη αυτών των καταλοίπων από το ήπαρ. Υπάρχουν τρεις κύριες ισομορφές της apoE (E2,E3,E4) που

διαφέρουν ως προς την ικανότητα σύνδεσής τους με τους υποδοχείς (181, 182). Οι ισομορφές αυτές προκύπτουν από την απλή αντικατάσταση αμινοξέων στις θέσεις 112 και 158 του μορίου της. Από τις ισομορφές αυτές, η E2 έχει μειωμένη ικανότητα σύνδεσης με τον υποδοχέα. Έτσι, οι ασθενείς που εκφράζουν την υπερλιπιδαιμία τύπου III είναι ομοζυγώτες ως προς την E2 (E2E2). Η παρουσία αυτής της γενετικής διαταραχής έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη πρόσληψη των καταλοίπων των χυλομικρών και των IDL από το ήπαρ και συνεπώς τη συσσώρευσή τους στο πλάσμα (181).

Πρέπει να αναφερθεί ότι η συχνότητα του γονοτύπου E2E2 στο γενικό πληθυσμό είναι 1:100, ενώ η επίπτωση της υπερλιπιδαιμίας τύπου III εκτιμάται σε 1:10000. Δηλαδή μόνο το 1% των ομοζυγωτών E2E2 εκφράζουν κλινικά τη νόσο (183). Στην πραγματικότητα μάλιστα οι περισσότεροι από τους ομοζυγώτες E2E2 έχουν φυσιολογικά ή και μειωμένα επίπεδα λιπιδαιμικών παραμέτρων. Χρειάζεται δηλαδή η παρουσία μιας επιπρόσθετης διαταραχής που θα αυξήσει την παραγωγή των λιποπρωτεϊνικών καταλοίπων και η οποία σε συνδυασμό με τον ελαττωμένο καταβολισμό τους θα προκαλέσει τη φαινοτυπική εκδήλωση της νόσου. Οι πιο συχνές διαταραχές που διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην κλινική εμφάνιση της υπερλιπιδαιμίας τύπου III είναι η παχυσαρκία, η αυξημένη πρόσληψη θερμίδων, ο ΣΔ, ο υποθυρεοειδισμός, η εμμηνόπαυση, ο αλκοολισμός, καθώς και άλλες γενετικές διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων (184).

### **2.6.2 Κλινική εικόνα**

Η νόσος εκδηλώνεται κλινικά μετά την ηλικία των 20 ετών και μάλιστα πολύ νωρίτερα στους άνδρες σε σύγκριση με τις γυναίκες, στις οποίες η νόσος μπορεί να εμφανισθεί μετά την εμμηνόπαυση.

Το χαρακτηριστικό κλινικό γνώρισμα είναι η παρουσία δυο χαρακτηριστικών τύπων ξανθωμάτων: τα ταινιοειδή ξανθώματα των παλαμών και τα οζώδη ξανθώματα. Τα ταινιοειδή παλαμιαία (striata palmaris) ξανθώματα αντιστοιχούν σε κιτρινωπό ή πορτοκαλόχρωμο αποχρωματισμό των πτυχών των παλαμών και των δακτύλων των χεριών και μπορεί να είναι επίπεδα ή υπεγεγμένα (134) .

Τα οζώδη (tuberous) και τα οζώδο-εξανθηματικά (tuberoeruptive) είναι μεγάλα (>2 cm) δερματικά ξανθώματα, που συνήθως εμφανίζονται στους αγκώνες και στα γόνατα, χωρίς να είναι ασυνήθιστη η παρουσία τους στις θέσεις πίεσης των ποδιών από τα υποδήματα. Στην τελευταία αυτή περίπτωση και όταν ανευρίσκονται στην πτέρνα

πρέπει να διαφοροδιαγνωσθούν από τα υποδερματικά ξανθώματα του αχίλλειου τένοντα που εμφανίζονται στην οικογενή υπερχοληστερολαιμία. Τα οζώδη ξανθώματα μπορούν επίσης να εμφανισθούν στη ραχιαία επιφάνεια των αρθρώσεων των δακτύλων των χεριών, ιδίως σε χειρώνακτες και σπάνια στο μυελό των οστών ή στο θώρακα, οπότε αποτελούν τυχαίο ακτινολογικό εύρημα (134).

Παρόμοια ξανθώματα μπορούν επίσης να εμφανισθούν σε ορισμένες δευτεροπαθείς διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων, όπως σε αποφρακτική ηπατική νόσο, παραπρωτεϊναιμίες και συστηματικό ερυθματώδη λύκο.

Οι ασθενείς με υπερλιπιδαιμία τύπου III παρά τα σχετικά χαμηλά επίπεδα της LDL-CHOL έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης πρώιμης ΚΑΝ, εξαιτίας της παρουσίας των εξαιρετικά αθηρογόνων β-VLDL (185). Η αθηρωμάτωση σε αυτούς τους ασθενείς δεν αφορά μόνο τα στεφανιαία αγγεία, αλλά κυρίως τα περιφερικά αγγεία, όπως τις έσω καρωτίδες, την κοιλιακή αορτή και τους κλάδους της Έτσι, η νόσος συχνά επιπλέκεται με οξύ ΕΜ, αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, διαλείπουσα χλωρότητα και γάγγραινα των κάτω άκρων (185).

Τέλος, όπως ήδη αναφέρθηκε, στους ασθενείς αυτούς συχνά συνυπάρχει παχυσαρκία, ΣΔ και υποθυρεοειδισμός.

### **2.6.3 Διάγνωση**

Ο γιατρός πρέπει να υποψιασθεί τη νόσο σε ασθενείς με υπερλιπιδαιμία, που εμφανίζουν τα χαρακτηριστικά ξανθώματα. Επίσης, η διάγνωση της νόσου είναι πιθανή σε ασθενείς με αυξημένα επίπεδα TCHOL και TG του πλάσματος, όταν οι απόλυτες συγκεντρώσεις τους σε mmol/L είναι ίσες (σε mg/dL η συγκέντρωση των TG είναι σχεδόν διπλάσια από τη συγκέντρωση της TCHOL). Όπως ήδη αναφέρθηκε, κατά την ηλεκτροφόρηση των λιποπρωτεϊνών παρατηρείται μια ευρεία προ-β ζώνη (β-VLDL). Οι ασθενείς με υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου III είναι ομοζυγώτες E2/E2, ενώ η διάγνωση επιβεβαιώνεται με τον προσδιορισμό του λόγου της VLDL-CHOL προς τα ολικά TG του ορού. Ένας λόγος μεγαλύτερος από 0.3 (όταν οι μονάδες μέτρησης των λιπιδίων εκφράζονται σε mg/dL) ή 0.68 (όταν οι μονάδες μέτρησης των λιπιδίων εκφράζονται σε mmol/L) επιβεβαιώνει τη διάγνωση της υπερλιπιδαιμίας τύπου III, ενώ ένας λόγος μεγαλύτερος από 0.25 ή 0.57, αντίστοιχα, θεωρείται σχεδόν διαγνωστικός. Πρέπει να σημειωθεί ότι για τον προσδιορισμό της VLDL-CHOL απαιτείται απομόνωση των VLDL με υπερφυγοκέντρηση (134). Τέλος, πρέπει πάντα να προσδιορίζονται τα επίπεδα της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (thyroid-stimulating hormone, TSH) και της γλυκόζης για την αποκάλυψη δευτερογενών αιτίων που οδηγούν στην κλινική έκφραση της νόσου.

### **2.6.4 Θεραπεία**

Μεγάλη έμφαση πρέπει να δοθεί στην αντιμετώπιση των παραγόντων που συμβάλλουν στην κλινική εκδήλωση της νόσου. Έτσι, είναι ουσιαστικής σημασίας η απώλεια βάρους σε παχύσαρκους ασθενείς, η ρύθμιση του σακχάρου σε διαβητικούς ασθενείς και η χορήγηση θυροξίνης σε ασθενείς με υποθυρεοειδισμό.

Αν παρά τα παραπάνω μέτρα η υπερλιπιδαιμία επιμένει, τότε πρέπει να χορηγηθεί υπολιπιδαιμική αγωγή. Τα φάρμακα πρώτης επιλογής είναι οι φιβράτες, που βελτιώνουν σημαντικά το λιπιδαιμικό προφίλ αυτών των ασθενών, ενώ συχνά συμβάλλουν και στην υποστρόφη των ξανθωμάτων. Εναλλακτικά φάρμακα αποτελούν οι στατίνες και το νικοτινικό οξύ, ενώ σε ορισμένους ασθενείς με βαριά υπερλιπιδαιμία απαιτείται η χορήγηση συνδυασμού υπολιπιδαιμικών φαρμάκων.

## **2.7 Οικογενής υπερτριγλυκεριδαιμία (υπερλιπιδαιμία τύπου IV)**

### **2.7.1 Γενικά σχόλια**

Πρόκειται για μια σχετικά συχνή διαταραχή του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών, η οποία χαρακτηρίζεται από αύξηση της συγκέντρωσης των VLDL και των TG και κληρονομείται με τον αυτοσωμικό επικρατούντα χαρακτήρα (186).

Η παθογένεια αυτής της διαταραχής δεν είναι γνωστή. Η αύξηση των TG πιθανά οφείλεται σε διάφορες γενετικά ετερογενείς διαταραχές. Κινητικές μελέτες του μεταβολισμού των λιπιδίων σε ασθενείς με υπερλιπιδαιμία τύπου IV έδειξαν μειωμένο καταβολισμό των VLDL, που δεν οφείλεται απαραίτητα σε μειωμένη δραστηριότητα της LPL (187). Η μείωση αυτή σε συνδυασμό με μια αύξηση της ηπατικής παραγωγής των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών (188), που παρατηρείται συχνά σε ασθενείς με αυξημένο σωματικό βάρος, ΣΔ ή αλκοολισμό, έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης των VLDL και των TG στο πλάσμα. Η αύξηση αυτή οφείλεται κυρίως σε αύξηση του μεγέθους των VLDL, παρά σε αύξηση του αριθμού των VLDL σωματιδίων. Έτσι, η συγκέντρωση της apoB, η οποία αποτελεί ένα αξιόπιστο δείκτη του αριθμού των σωματιδίων, δεν είναι αυξημένη.

### **2.7.2 Κλινική εικόνα**

Η νόσος αποκαλύπτεται συνήθως μετά την ενηλικίωση, όταν σε τυχαίο εργαστηριακό έλεγχο ρουτίνας ανευρίσκεται μεμονωμένη μέτρια αύξηση των TG του ορού, συνήθως της τάξης των 200-500 mg/dL. Συχνά η διαταραχή αυτή εντάσσεται στα πλαίσια του μεταβολικού συνδρόμου. Σε αυτές τις περιπτώσεις συνυπάρχουν και άλλες μεταβολικές

διαταραχές και συγκεκριμένα διαταραχή της ανοχής γλυκόζης, υπερινσουλιναίμια, υπερούριχαιμία και υπέρταση.

Η παρουσία ξανθωμάτων δεν αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα αυτής της διαταραχής. Αν και η οικογενής υπερτριγλυκεριδαιμία θεωρούνταν αρχικά ως μια σχετικά αθώα κατάσταση, η οποία δεν συνδέεται με αυξημένη επίπτωση αθηρωμάτωσης (189), μελέτες έδειξαν ότι οι ασθενείς με αυτή τη διαταραχή εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο ΚΑΝ (169). Συγκεκριμένα, ο κίνδυνος για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων στους ασθενείς με οικογενή υπερτριγλυκεριδαιμία ήταν παρόμοιος με τον αντίστοιχο των ασθενών με οικογενή συνδυασμένη δυσλιπιδαιμία, ενώ τα επίπεδα των TG συσχετιζόνταν με την καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα (169). Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και σε μεταγενέστερες μελέτες, οι οποίες όμως απέδωσαν τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο των ασθενών με οικογενή υπερτριγλυκεριδαιμία στη συνύπαρξη και των άλλων χαρακτηριστικών του μεταβολικού συνδρόμου (169).

Σε ασθενείς με ήπια ή μέτρια υπερτριγλυκεριδαιμία, η παρουσία περιβαλλοντικών παραγόντων, που είτε αυξάνουν την ηπατική παραγωγή των VLDL είτε μειώνουν ακόμη περισσότερο τον καταβολισμό τους, μπορεί να προκαλέσει σημαντική αύξηση των TG σε επίπεδα μεγαλύτερα των 1000 mg/dL. Τέτοιοι παράγοντες είναι ο αρρυθμιστός ΣΔ, η παχυσαρκία, η κατάχρηση οινοπνεύματος, ο υποθυρεοειδισμός και φάρμακα, όπως τα οιστρογόνα, η ταμοξιφαίνη, η ιντερφερόνη και οι β-αποκλειστές. Στις περιπτώσεις αυτές παρατηρείται μετάπτωση της υπερλιπιδαιμίας τύπου IV σε τύπου V, με αύξηση τόσο των VLDL όσο και των χυλομικρών. Οι ασθενείς με υπερλιπιδαιμία τύπου V έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης οξείας παγκρεατίτιδας. Η διόρθωση του υπεύθυνου προδιαθεσικού παράγοντα έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των TG στα αρχικά μέτρια αυξημένα επίπεδα.

### **2.7.3 Διάγνωση**

Η διάγνωση της οικογενούς υπερτριγλυκεριδαιμίας τίθεται σε ασθενή με μέτρια αύξηση των TG του ορού, φυσιολογικά επίπεδα LDL-CHOL και οικογενειακό ιστορικό υπερτριγλυκεριδαιμίας. Η γνώση του λιπιδαιμικού προφίλ των πρώτου βαθμού συγγενών μπορεί να βοηθήσει σημαντικά στη διαφορική διάγνωση από την οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία. Πράγματι, σε αντίθεση με την τελευταία, στην οποία παρατηρείται σημαντική φαινοτυπική μεταβλητότητα, οι μισοί πρώτου βαθμού συγγενείς ασθενών με οικογενή υπερτριγλυκεριδαιμία εμφανίζουν υψηλά επίπεδα TG, αλλά φυσιολογικά επίπεδα LDL-CHOL.

Η ηλεκτροφόρηση των λιποπρωτεϊνών αποκαλύπτει αύξηση της προ-β ταινίας (τύπος IV), ενώ δεν παρατηρούνται χυλομικρά στο υπερκείμενο του πλάσματος που έχει μείνει στο ψυγείο όλη τη νύχτα.

#### ***2.7.4 Θεραπεία***

Το πρώτο βήμα για την αντιμετώπιση αυτής της διαταραχής είναι η διόρθωση όλων εκείνων των παραγόντων που συμβάλλουν στην αύξηση των TG. Συγκεκριμένα, ουσιαστικής σημασίας είναι η μείωση της κατανάλωσης οινοπνεύματος, η ρύθμιση του σακχάρου, η υποθερμιδική διαίτα στους παχύσαρκους ασθενείς, η χορήγηση θυρεοειδικών ορμονών σε ασθενείς με υποθυρεοειδισμό, η υπολιπιδαιμική διαίτα και η διακοπή των φαρμάκων που επηρεάζουν το μεταβολισμό των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών.

Συνιστάται η χορήγηση φαρμάκων σε ασθενείς με σημαντικού βαθμού υπερτριγλυκεριδαιμία, οι οποίοι έχουν αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση οξείας παγκρεατίτιδας, καθώς και σε ασθενείς υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ΣΝ (οικογενειακό ιστορικό πρώιμης ΚΑΝ, χαμηλή HDL-CHOL κ.τ.λ.). Οι φιμπράτες είναι τα φάρμακα πρώτης επιλογής, ενώ εναλλακτικό φάρμακο είναι το νικοτινικό οξύ.





## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### 3. ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΟΠΑΘΩΝ ΥΠΕΡΛΙΠΙΔΑΙΜΙΩΝ: ΓΕΝΙΚΑ

Για τη διάγνωση των δυσλιπιδαιμιών απαιτείται ο επανειλημμένος προσδιορισμός των τιμών των λιπιδαιμικών παραμέτρων μετά από νηστεία τουλάχιστον 12 ωρών. Σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία πρέπει να αποκλεισθεί η πιθανότητα ύπαρξης δευτεροπαθών διαταραχών του μεταβολισμού των λιπιδίων με τη λήψη προσεκτικού ιστορικού και τον κατάλληλο εργαστηριακό έλεγχο. Οι ασθενείς με διαταραχές των τιμών των λιπιδαιμικών παραμέτρων εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα TCHOL και LDL-CHOL (υπερχοληστερολαιμία), αυξημένα επίπεδα TG (υπερτριγλυκεριδαιμία), ή μικτές διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων με αυξημένα επίπεδα TG και LDL-CHOL, υπερτριγλυκεριδαιμία και μείωση των επιπέδων της HDL-CHOL.

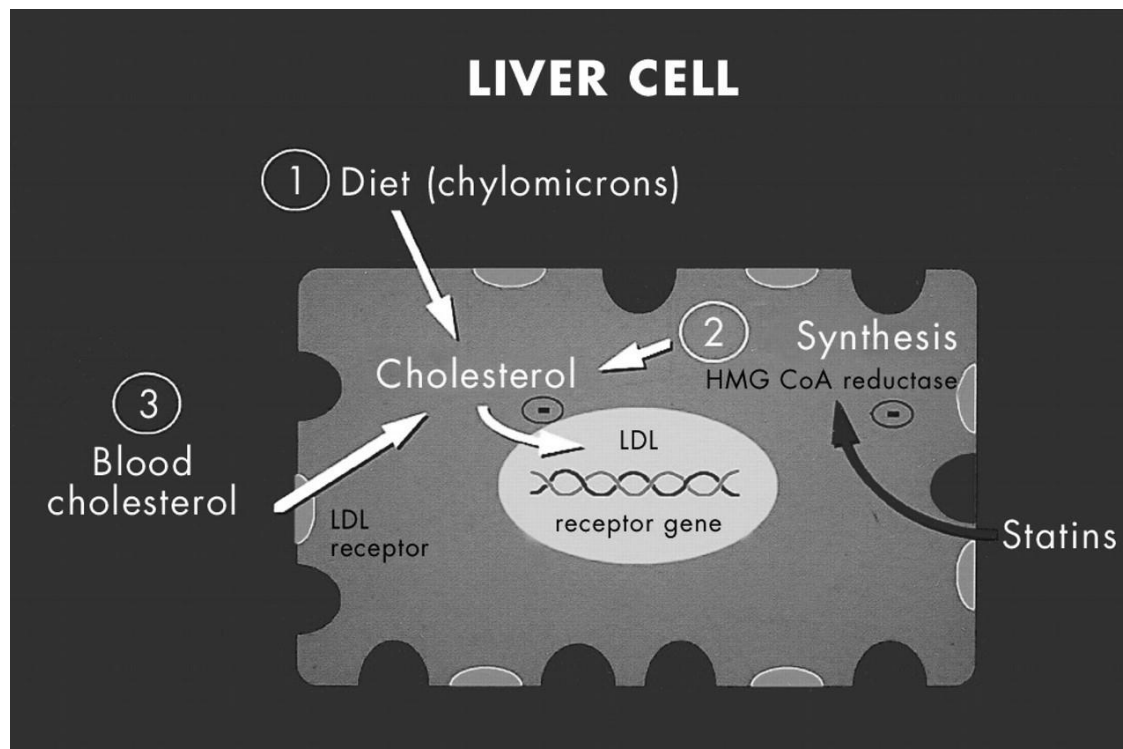
Τα μη φαρμακευτικά μέτρα αποτελούν τον ακρογωνιαίο λίθο για την αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας, ακόμη και στις περιπτώσεις εκείνες στις οποίες κρίνεται απαραίτητη η χορήγηση υπολιπιδαιμικών φαρμάκων.

#### 3.1 Στατίνες (εικόνα 3)

Οι στατίνες αναστέλλουν συναγωνιστικά τη δραστηριότητα του ενζύμου HMG-CoA αναγωγάση και έτσι μειώνουν την ενδοκυττάρια σύνθεση χοληστερόλης. Η μείωση της σύνθεσης της χοληστερόλης και κατ' επέκταση η μείωση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού και της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων και επομένως την αύξηση του καταβολισμού των LDL σωματιδίων (190). Τα φάρμακα αυτά προκαλούν σημαντική μείωση της TCHOL και LDL-CHOL (30-60%, ανάλογα με το φάρμακο και τη δοσολογία), μια μικρότερη αλλά δοσοεξαρτώμενη μείωση των TG και μια μικρή αύξηση της HDL-CHOL (κατά 5-10%) (191, 192). Η μείωση των TG οφείλεται στη μείωση της σύνθεσης των VLDL από τα ηπατοκύτταρα, καθώς και στην αύξηση του καταβολισμού των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών εξαιτίας της αύξησης του αριθμού και της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων. Ο μηχανισμός διαμέσου του οποίου οι στατίνες αυξάνουν τα επίπεδα της HDL-CHOL δεν είναι απόλυτα ξεκαθαρισμένος. Ωστόσο, είναι πιθανό ότι τα φάρμακα αυτά επάγουν τη φωσφορυλίωση των πυρηνικών υποδοχέων PPAR-α και έτσι επηρεάζουν την έκφραση

διαφόρων γονιδίων τα οποία σχετίζονται με το μεταβολισμό των HDL (193). Τέλος, η επίδραση των στατινών στην κατανομή των υποκλασμάτων της LDL ποικίλει ανάλογα

### Εικόνα 3. Μηχανισμός δράσης των στατινών



με το φάρμακο, καθώς επίσης και ανάλογα με το είδος της υποκείμενης διαταραχής του μεταβολισμού των λιπιδίων (171). Είναι γνωστό ότι η σύνθεση της χοληστερόλης εμφανίζει κίρκαδιανό ρυθμό και αυξάνεται τις πρώτες πρωινές ώρες. Έτσι, οι στατίνες πρέπει να χορηγούνται σε μία δόση πριν τη νυχτερινή κατάκλιση, εκτός από τη λοβαστατίνη η οποία χορηγείται σε 1-2 δόσεις με τα γεύματα δεδομένου ότι η τροφή αυξάνει την απορρόφησή της από το έντερο (190). Τα φάρμακα αυτά είναι καλά ανεκτά και έχουν πολύ λίγες ανεπιθύμητες ενέργειες. Συγκεκριμένα προκαλούν μια μικρή παροδική ασυμπτωματική δοσοεξαρτώμενη αύξηση της τρανσαμινασών σε ένα μικρό ποσοστό ασθενών (2-5%) (194). Στις περισσότερες περιπτώσεις τα επίπεδα της τρανσαμινασών επιστρέφουν στα φυσιολογικά επίπεδα με τη διακοπή των φαρμάκων ή τη μείωση της δόσης χωρίς να παρατηρηθεί μόνιμη βλάβη του ήπατος. Οι μικρές αυξήσεις των τρανσαμινασών φαίνεται ότι οφείλονται σε μεταβολές του ηπατικού μεταβολισμού και όχι σε τοξική επίδραση των φαρμάκων, αφού παρόμοιες μεταβολές των ηπατικών ενζύμων παρατηρούνται μετά τη χορήγηση όλων των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων. Εξάλλου, πρέπει να αναφερθεί ότι οι ασθενείς με υπερλιπιδαιμία και

ιδιαίτερα οι ασθενείς με αυξημένο σωματικό βάρος εμφανίζουν πολύ συχνά λιπώδη διήθηση του ήπατος και απρόβλεπτες διακυμάνσεις των ηπατικών ενζύμων (194). Η μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα δεν αποτελεί αντένδειξη για τη χορήγηση των στατινών, αφού η βελτίωση της δυσλιπιδαιμίας μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της εναπόθεσης λίπους στα ηπατοκύτταρα και τη μείωση των τρανσαμινασών. Σημαντικές αυξήσεις των τρανσαμινασών μετά τη χορήγηση των στατινών [ $>3$  φορές τις ανώτερες φυσιολογικές τιμές (upper limit of normal, ULN)] είναι εξαιρετικά σπάνιες και παρατηρούνται συχνότερα σε ασθενείς που καταναλώνουν μεγάλη ποσότητα αλκοολούχων ποτών ή έχουν υποκείμενη ηπατική νόσο. Σε αυτές τις περιπτώσεις απαιτείται η άμεση διακοπή της χορήγησης των στατινών. Πρέπει να αναφερθεί ότι η χορήγηση αυτών των φαρμάκων αντενδείκνυται σε άτομα με οξεία ή χρόνια ηπατική νόσο ή σε αλκοολικούς ασθενείς. Σε ασθενείς που παίρνουν στατίνες συνιστάται τακτικός έλεγχος των ηπατικών ενζύμων. Όπως αναφέρθηκε οι σημαντικές αυξήσεις των τρανσαμινασών ( $>3$  φορές τις ULN) απαιτούν άμεση διακοπή της θεραπείας. Μετά την αποκατάσταση στα φυσιολογικά επίπεδα των παραμέτρων της ηπατικής βιολογίας είναι δυνατόν να χορηγηθεί προσεκτικά ένα άλλο φάρμακο της ίδιας κατηγορίας σε μικρές δόσεις (194).

Η μυοσίτιδα είναι η πιο σημαντική ανεπιθύμητη ενέργεια των στατινών. Πράγματι, οι στατίνες προκαλούν πολύ σπάνια μυοσίτιδα που χαρακτηρίζεται από σημαντική αύξηση του μυϊκών ενζύμων ή και ραβδομύωση (195). Η μυοσίτιδα φαίνεται ότι συσχετίζεται με τη δόση του φαρμάκου και πιθανά με το βαθμό μείωσης των τιμών των λιπιδαιμικών παραμέτρων. Οι ασθενείς πρέπει να ενημερώνονται να διακόπτουν το φάρμακο και να προσέρχονται στο γιατρό σε περιπτώσεις εμφάνισης πόνου, αδυναμίας και ευαισθησίας στους μυς. Σε περιπτώσεις σημαντικής αύξησης των μυϊκών ενζύμων, ( $>5-10$  φορές τις ULN) η θεραπεία με στατίνες πρέπει να διακόπτεται. Ο κίνδυνος είναι ιδιαίτερα αυξημένος σε άτομα με έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας, σε ασθενείς με υποθυρεοειδισμό, σε ασθενείς με ηλεκτρολυτικές διαταραχές (π.χ. υποκαλιαιμία που οφείλεται στη χορήγηση διουρητικών), καθώς και σε άτομα που ταυτόχρονα λαμβάνουν άλλα φάρμακα και συγκεκριμένα κυκλοσπορίνη, ιτρακοναζόλη, μακρολίδια, κουμαρινικά αντιπηκτικά και φιμπράτες (ιδιαίτερα γεμφιμπροζίλη) (195).

Σε όλους τους ασθενείς που παίρνουν στατίνες πρέπει να προσδιορίζονται τα μυϊκά ένζυμα [κυρίως η κινάση της κρεατίνης (CK)] ανά τακτά χρονικά διαστήματα και να διακόπτεται άμεσα η χορήγησή τους όταν παρατηρηθεί σημαντική αύξηση της CK,

καθώς και συμπτώματα που συσχετίζονται με βλάβη των μυών (ευαισθησία, αδυναμία ή πόνος στους μυς) (195).

Άλλες ανεπιθύμητες ενέργειες των στατινών είναι γαστρεντερικές διαταραχές, πονοκέφαλος, εξανθήματα και διαταραχές του ύπνου. Οι στατίνες δεν πρέπει να χορηγούνται σε παιδιά <8 ετών, καθώς και σε έγκυες γυναίκες ή γυναίκες που θηλάζουν (196). Επίσης, δεν πρέπει να χορηγούνται σε γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας, εκτός εάν εξασφαλισθεί αποτελεσματική μέθοδος αντισύλληψης.

Τα βιοχημικά και φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά των στατινών ποικίλουν ανάλογα με το φάρμακο (190). Η ατορβαστατίνη και η ροσουβαστατίνη (RSV) έχουν μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής σε σύγκριση με τα υπόλοιπα φάρμακα και η ιδιότητα αυτή μπορεί να συσχετίζεται με τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητά τους. Η πραβαστατίνη, η RSV και λιγότερο η φλουβαστατίνη είναι υδρόφιλα φάρμακα. Οι υδρόφιλες στατίνες δεν περνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι τα φάρμακα αυτά (και κυρίως η πραβαστατίνη) έχουν λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες από το ΚΝΣ (π.χ. λιγότερες αϋπνίες). Η ατορβαστατίνη και η φλουβαστατίνη έχουν ελάχιστη νεφρική απέκκριση. Έτσι, τα φάρμακα αυτά μπορούν να χορηγηθούν σε ασθενείς με έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας. Ιδιαίτερη αναφορά πρέπει να γίνει στον διαμέσου του κυτοχρώματος P450 3A4 μεταβολισμό των περισσότερων φαρμάκων αυτής της ομάδας (εκτός της φλουβαστατίνης που μεταβολίζεται διαμέσου του κυτοχρώματος P450 2C9, της ροσουβαστατίνης η οποία μεταβολίζεται με γλυκουρονίωση και της πραβαστατίνης που μεταβολίζεται διαμέσου άλλων οδών). Η ταυτόχρονη χορήγηση στατινών και άλλων φαρμάκων που μεταβολίζονται επίσης διαμέσου του κυτοχρώματος P450 3A4 έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του ηπατικού μεταβολισμού των στατινών, την αύξηση των επιπέδων τους στο πλάσμα και επακόλουθα την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών και κυρίως μυοπάθειας. Φάρμακα που μεταβολίζονται επίσης διαμέσου αυτής της οδού και προκαλούν αύξηση των επιπέδων των στατινών στο πλάσμα είναι το νικοτινικό οξύ, η ερυθρομυκίνη και τα υπόλοιπα μακρολίδια, η σιμεθιδίνη, η μεθοτρεξάτη, ορισμένα αντιμυκητιασικά φάρμακα (π.χ. ιτρακοναζόλη) και η κυκλοσπορίνη (190).

### ***3.1.1 Πλειοτροπικές δράσεις των στατινών***

Οι μελέτες πρωτογενούς και δευτερογενούς πρόληψης της ΚΑΝ έδειξαν ότι η χορήγηση φαρμακευτικής υπολιπιδαιμικής αγωγής και συγκεκριμένα η χορήγηση στατινών είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση της καρδιαγγειακής νοσηρότητας και

θνητότητας. Η μείωση αυτή οφείλεται κυρίως στη μείωση των επιπέδων της LDL-CHOL δηλαδή στη μείωση των LDL, που θεωρούνται οι κατεξοχήν αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες. Ωστόσο, υπάρχουν βάσιμες ενδείξεις ότι η μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων που παρατηρείται μετά τη χορήγηση των στατινών οφείλεται επίσης σε επιπρόσθετες δράσεις αυτών των φαρμάκων που δεν συσχετίζονται άμεσα με την υπολιπιδαιμική τους δράση (197). Οι δράσεις αυτές ονομάζονται πλειοτροπικές (198, 199). Πράγματι, η ανάλυση των αποτελεσμάτων ορισμένων μελετών παρέμβασης, όπως της μελέτης WOSCOPS (200), της μελέτης CARE (201) και της μελέτης AFCAPS (202), έδειξε ότι η μείωση της καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας ήταν εμφανής ήδη από τον πρώτο χρόνο της φαρμακευτικής αγωγής. Αντίθετα, όταν επιχειρήθηκε μείωση των επιπέδων της TCHOL με άλλες μεθόδους, π.χ. με χειρουργική παράκαμψη του ειλεού, σημαντική μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων παρατηρήθηκε 5 τουλάχιστον έτη μετά τη χειρουργική επέμβαση. Επίσης, στη μελέτη LRC η χορήγηση χολεστυραμίνης είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της LDL-CHOL και των καρδιαγγειακών συμβαμάτων, η οποία ήταν στατιστικά σημαντική 4-5 έτη μετά την έναρξη της θεραπευτικής αγωγής (203). Η γρήγορη επομένως μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων μετά τη χορήγηση στατινών μπορεί να οφείλεται σε επιπρόσθετες δράσεις αυτών των φαρμάκων. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώνονται και από τα αποτελέσματα της μελέτης MIRACL (Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering), η οποία έδειξε ότι η θεραπεία με στατίνες μετά από οξύ στεφανιαίο επεισόδιο μειώνει την πιθανότητα υποτροπής ήδη από την 16η εβδομάδα της αγωγής (204). Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα της μελέτης RIKS-HIA (Swedish Registry study) (205). Επιπρόσθετα, η μελέτη ASCOT-LLA (206) έδειξε όφελος όσον αφορά τον κίνδυνο εμφάνισης ενός ΟΣΣ σε υπερτασικούς ασθενείς με 3 ή περισσότερους παράγοντες κινδύνου ήδη κατά τις πρώτες 30 ημέρες μετά την τυχαιοποίηση ( $p = 0.058$ ). Επίσης, η προσεκτική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης WOSCOPS έδειξε 1) ότι η επίπτωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων που παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια της μελέτης ήταν σαφώς μικρότερη από αυτή που αναμένονταν από τα δεδομένα της μελέτης του Framingham και 2) ότι οι ασθενείς που πήραν αγωγή με πραβαστατίνη και οι οποίοι είχαν παρόμοια επίπεδα LDL-CHOL με ασθενείς που πήραν θεραπεία με εικονικό φάρμακο είχαν πολύ λιγότερα καρδιαγγειακά συμβάματα κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης. Τα δεδομένα αυτά ενισχύουν την άποψη ότι οι στατίνες ασκούν την ευεργετική τους επίδραση και διαμέσου άλλων μηχανισμών (200).

Η Επιτροπή Εθνικής Καταγραφής των OEM-4 (National Registry of Myocardial Infarction 4) (207) συμπεριέλαβε περίπου 175000 άτομα που είχαν ήδη υποστεί ένα OEM. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης οι ασθενείς που έλαβαν στατίνη το πρώτο 24ωρο της νοσηλείας είχαν σημαντικά μικρότερο κίνδυνο (κατά ~25%,  $p < 0.0001$ ) εμφάνισης επιπλοκών και ενδονοσοκομειακής θνητότητας, ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες. Η καρδιοπροστατευτική δράση των στατινών φαίνεται ότι συσχετίζεται, τουλάχιστον ως ένα βαθμό, με αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα του μονοξειδίου του αζώτου (nitric oxide, NO) (208). Επιπρόσθετα, η χορήγηση στατινών μειώνει την αναδιαμόρφωση (remodeling) των κοιλιών τις πρώτες 28 ημέρες μετά από ένα OEM (209). Άλλοι μηχανισμοί που μπορεί να εμπλέκονται στο πρώιμο όφελος από τη χορήγηση στατινών μετά από ένα ΟΣΣ είναι η ικανότητά τους να μειώνουν τη συσσώρευση των φλεγμονωδών κυττάρων και το οξειδωτικό stress (210). Τέλος, υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η χορήγηση στατινών πριν από μια επέμβαση επαναγγείωσης μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης OEM (211-214) και μυοκαρδιακής νέκρωσης (215).

Οι πλειοτροπικές δράσεις των στατινών περιλαμβάνουν:

#### *3.1.1.1 Αντιοξειδωτική δράση των στατινών*

Όπως είναι γνωστό, η οξείδωση των LDL στο αγγειακό τοίχωμα διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην παθογένεια της αθηρωματικής νόσου. Οι στατίνες μειώνουν την ευαισθησία στην οξείδωση των LDL (216). Η αντιοξειδωτική δράση τους μπορεί να συσχετίζεται με την υπολιπιδαιμική τους δράση, αφού τα φάρμακα αυτά μειώνουν τη χοληστερόλη και τα λιπαρά οξέα των λιποπρωτεϊνών και επομένως μειώνουν το υπόστρωμα που είναι διαθέσιμο για οξείδωση (216). Επιπρόσθετα, η αύξηση της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων έχει ως αποτέλεσμα το γρήγορο και αποτελεσματικό καταβολισμό των LDL και επομένως και των sdLDL σωματιδίων που είναι ευαίσθητα στην οξειδωτική τροποποίηση (217).

Η αντιοξειδωτική δράση των στατινών μπορεί επίσης να οφείλεται σε μεταβολίτες που έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση (ατορβαστατίνη/ φλουβαστατίνη) (218, 219), καθώς και στην ικανότητά τους να συνδέονται με φωσφολιπίδια των LDL (φλουβαστατίνη/λοβαστατίνη) και να εμποδίζουν τη διάχυση των ελευθέρων ριζών που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια του οξειδωτικού stress (220). Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι οι στατίνες μειώνουν την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου από τα ενδοθηλιακά κύτταρα.

### *3.1.1.2 Ευνοϊκή επίδραση των στατινών στο ενδοθήλιο*

Είναι γνωστό ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αποτελεί μια από τις πρώτες εκδηλώσεις της δυσλιπιδαιμίας και της αθηρωμάτωσης και παρουσιάζεται πριν η νόσος γίνει εμφανής αγγειογραφικά (221, 222). Ένα βασικό χαρακτηριστικό της δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου είναι η μειωμένη σύνθεση, απελευθέρωση και δραστικότητα του NO που παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η ουσία αυτή διαδραματίζει σαφή αντιαθηρογόνο ρόλο δεδομένου ότι προκαλεί χάλαση του αγγειακού τοιχώματος (223), αναστέλλει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (224) και τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος (225) και παρεμποδίζει τις αλληλεπιδράσεις των λευκοκυττάρων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα (226). Σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία η διαταραχή της αγγειοκινητικής λειτουργίας του ενδοθηλίου συσχετίζεται με τα επίπεδα της TCHOL και LDL-CHOL. Η πλασμαφαίρεση βελτιώνει την εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο χάλαση του αγγειακού τοιχώματος υποδηλώνοντας έτσι ότι η μείωση της LDL-CHOL αντιπροσωπεύει το βασικό μηχανισμό διαμέσου του οποίου οι στατίνες βελτιώνουν την ενδοθηλιακή λειτουργία (227). Ωστόσο, σε κάποιες μελέτες η χορήγηση των στατινών βελτίωσε την λειτουργία του ενδοθηλίου πριν επηρεάσει σημαντικά τα επίπεδα των λιπιδίων του πλάσματος (228). Κατά συνέπεια, πιθανά οι στατίνες βελτιώνουν τη λειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων και διαμέσου μηχανισμών που δεν συσχετίζονται άμεσα με την υπολιπιδαιμική τους δράση. Πράγματι, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι στατίνες αυξάνουν άμεσα την έκφραση της συνθετάσης του NO (NOS) από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και επομένως την παραγωγή του NO του ενδοθηλίου (208), ενώ ταυτόχρονα αναστέλλουν το σχηματισμό ελεύθερων ριζών οξυγόνου από τα ενδοθηλιακά κύτταρα (229). Επιπρόσθετα, οι στατίνες αναστέλλουν την παραγωγή της ενδοθηλίνης-I (230) και της αγγειοτενσίνης-II (231), ουσίες που ανταγωνίζονται τη δράση του NO.

### *3.1.1.3 Αντιφλεγμονώδης δράση των στατινών*

Πολλές κλινικές και πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η φλεγμονή στο αγγειακό τοίχωμα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της αθηρωματικής νόσου (232, 233). Η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-reactive protein, CRP) είναι μια πρωτεΐνη οξείας φάσης, που παράγεται στο ήπαρ σε απάντηση στην αυξημένη συγκέντρωση φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως η ιντερλευκίνη-6 [interleukin-6 (IL-6)] και αποτελεί αξιόπιστο δείκτη της αγγειακής φλεγμονής, ενώ παράλληλα συσχετίζεται και με τον κίνδυνο εμφάνισης KAN (234, 235). Υπάρχουν βάσιμες κλινικές και

πειραματικές ενδείξεις ότι οι στατίνες έχουν ισχυρές αντιφλεγμονώδεις δράσεις με αποτέλεσμα σημαντική μείωση των επιπέδων της CRP (199, 236). Καθοριστικό ρόλο στις φλεγμονώδεις διεργασίες του αγγειακού τοιχώματος διαδραματίζουν τα γεμάτα με λίπος μακροφάγα τα οποία εκκρίνουν φλεγμονώδεις διαβιβαστές [π.χ. tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), IL-6, interferon  $\gamma$  (INF- $\gamma$ )] που επηρεάζουν τη λειτουργία των παρακείμενων ενδοθηλιακών κυττάρων και T λεμφοκυττάρων (233). Τα κύτταρα αυτά προέρχονται από τα περιφερικά μονοκύτταρα, τα οποία συνδέονται με τα ενδοθηλιακά κύτταρα διαμέσου των CD11 $\beta$  υποδοχέων που εκφράζονται στην επιφάνεια των μονοκυττάρων και των προσκολλητικών μορίων που εκφράζονται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων [P-σελεκτίνη, inter-cellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)] (233). Οι στατίνες μειώνουν την έκφραση και λειτουργία αυτών των υποδοχέων και την ικανότητα σύνδεσης των λευκοκυττάρων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα (237, 238). Αν και η μείωση της συγκέντρωσης της LDL-CHOL μπορεί να αντιπροσωπεύει το βασικό μηχανισμό διαμέσου του οποίου οι στατίνες μειώνουν τη φλεγμονή του αγγειακού τοιχώματος, πρόσφατες πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η επίδραση των στατινών στις παραμέτρους της φλεγμονής είναι ανεξάρτητη από τις υπολιπιδαιμικές τους δράσεις (239).

Η άμεση εκτίμηση της βαρύτητας της φλεγμονής του αγγειακού τοιχώματος είναι ιδιαίτερα δύσκολη και απαιτεί ιστολογική εξέταση. Έτσι, πρόσφατα προτάθηκε η χρησιμοποίηση διαφόρων πρωτεϊνών οξείας φάσης [high-sensitivity CRP (hs-CRP), IL-6, serum amyloid-A (SAA)] ως δεικτών του βαθμού της υποξείας φλεγμονής του αγγειακού τοιχώματος (240-242). Πράγματι, μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα της hs-CRP αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων, τόσο σε ασθενείς με ήδη εγκατεστημένη στεφανιαία νόσο (235), όσο και σε ασυμπτωματικά άτομα (243, 244). Κατά συνέπεια, η ικανότητα των στατινών να μειώνουν τα επίπεδα της hs-CRP αποτελεί έμμεση ένδειξη για τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες αυτών των φαρμάκων. Για παράδειγμα, η ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης CARE έδειξε ότι ασθενείς με αυξημένα επίπεδα CRP και SAA είχαν αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση μείζονων καρδιαγγειακών συμβαμάτων (μη θανατηφόρο EN ή θάνατος που οφείλεται σε ΣΝ) (235). Η χορήγηση πραβαστατίνης είχε ως αποτέλεσμα μια εντυπωσιακή μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων κατά 52% στην ομάδα των ασθενών με αυξημένα επίπεδα αυτών των φλεγμονωδών δεικτών πριν την έναρξη της υπολιπιδαιμικής αγωγής. Αντίθετα, η χορήγηση του φαρμάκου



προκάλεσε μία πολύ μικρότερη μείωση των καρδιαγγειακών επεισοδίων κατά 25% σε άτομα με φυσιολογικά επίπεδα CRP και SAA (235). Η διαφορά αυτή δεν οφείλονταν στα διαφορετικά επίπεδα των λιπιδαιμικών παραμέτρων πριν την έναρξη της αγωγής, αλλά πολύ πιθανά στην ικανότητα των στατινών να μειώνουν τα επίπεδα της CRP, μια μείωση που δεν συσχετίζεται με τις μεταβολές των τιμών των λιπιδαιμικών παραμέτρων. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχουν τα αποτελέσματα της μελέτης JUPITER (Justification for the Use of statins in Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin) (245, 246), η οποία διακόπηκε μετά από μόλις 1.9 έτη παρακολούθησης. Σε αυτή τη μελέτη πρωτογενούς πρόληψης συμμετείχαν άτομα με χαμηλά επίπεδα LDL-CHOL (<130 mg/dL) και αυξημένα επίπεδα hs-CRP ( $\geq 2$  mg/L) τα οποία τυχαιοποιήθηκαν σε RSV 20 mg την ημέρα ή εικονικό φάρμακο. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης JUPITER, η RSV μείωσε κατά 44% το πρωτογενές καταληκτικό σημείο (μη θανατηφόρο EM, μη θανατηφόρο AEE, νοσηλεία για ασταθή στηθάγχη, επέμβαση επαναιμάτωσης και θάνατο από καρδιαγγειακά αίτια) σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Αναλυτικά, η RSV μείωσε κατά 54% την εμφάνιση OEM, κατά 48% την εμφάνιση ισχαιμικού AEE, κατά 47% τις επεμβάσεις επαναιμάτωσης ή την πιθανότητα εμφάνισης ασταθούς στηθάγχης και κατά 20% τη θνητότητα οποιασδήποτε αιτιολογίας. Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι η αντιφλεγμονώδης δράση των στατινών πιθανά μεταφράζεται σε κλινικό όφελος.

#### *3.1.1.4 Αντιθρομβωτικές δράσεις των στατινών*

Κατά τη διάρκεια της ρήξης των αθηρωματικών πλακών παρατηρείται ενεργοποίηση των μηχανισμών πήξης με αποτέλεσμα θρόμβωση. Πολλές μελέτες έδειξαν ότι τα αιμοπετάλια ασθενών με υπερχοληστερολαιμία έχουν αυξημένη ικανότητα συσσώρευσης (247). Τα αιμοπετάλια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση ΚΑΝ (248). Τα αιμοπετάλια της κυκλοφορίας συσχετίζονται με το σχηματισμό νέου θρόμβου στο σημείο της ρήξης της αθηρωματικής πλάκας και του τραυματισμού του τοιχώματος του αγγείου (249). Οι στατίνες επηρεάζουν τη λειτουργία των αιμοπεταλίων, χωρίς ωστόσο να είναι γνωστός ο ακριβής μηχανισμός δράσης τους (250). Για παράδειγμα, η χορήγηση στατινών είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της ικανότητας συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και της παραγωγής θρομβοξάνης, η οποία συσχετιζόταν με τη μείωση των επιπέδων της LDL-CHOL (251). Πράγματι, οι στατίνες μειώνουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, αφού μεταβάλλουν τη συγκέντρωση της χοληστερόλης στις μεμβράνες των αιμοπεταλίων, με αποτέλεσμα τη μεταβολή της ρευστότητας των κυτταρικών μεμβρανών (252).

Αν και οι στατίνες δεν φαίνεται να επηρεάζουν τα επίπεδα του ινωδογόνου, αυξάνουν την ινωδολυτική δραστηριότητα, αφού αυξάνουν τη δραστηριότητα του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA) (253) και μειώνουν τη δραστηριότητα του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1) (254).

Όπως είναι γνωστό, ο ιστικός παράγοντας (TF), ο οποίος ανιχνεύεται στα γεμάτα με λίπος μακροφάγα των αθηρωματικών πλακών, διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη διαδικασία της ενεργοποίησης του μηχανισμού της πήξης. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι λιπόφιλες στατίνες μειώνουν την έκφραση και την ενεργότητα του ιστικού παράγοντα σε καλλιέργειες ανθρώπινων μακροφάγων (255). Επιπρόσθετα, οι στατίνες μπορεί να επηρεάζουν άμεσα τη διαδικασία της πήξης δεδομένου ότι επηρεάζουν το ρυθμό ενεργοποίησης του ινωδογόνου, της προθρομβίνης και των παραγόντων V και VII (256). Τέλος, η σταθεροποίηση των αθηρωματικών πλακών μετά τη χορήγηση στατινών αποτελεί έναν σημαντικό ανασταλτικό παράγοντα για την ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης.

#### *3.1.1.5 Επίδραση των στατινών στη σταθερότητα των αθηρωματικών πλακών*

Η ρήξη των ασταθών αθηρωματικών πλακών μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση ενός ΟΣΣ ή ενός ΑΕΕ (199, 257, 258). Δεδομένα από ιστολογικές μελέτες έδειξαν ότι η σταθερότητα μιας αθηρωματικής πλάκας εξαρτάται από τη χημική της σύσταση (259). Συγκεκριμένα, οι πλάκες αυτές περιέχουν μεγάλη ποσότητα λίπους, λεπτή ινώδη κάψα και μεγάλο αριθμό ενεργοποιημένων μακροφάγων. Η μείωση των επιπέδων της LDL-CHOL μετά τη χορήγηση στατινών ενδεχόμενα συμβάλλει στη σταθερότητα των αθηρωματικών πλακών μειώνοντας το μέγεθός τους και μεταβάλλοντας τις φυσικοχημικές ιδιότητες του λιπιδιακού πυρήνα τους (260). Ωστόσο, οι μεταβολές στο μέγεθος των πλακών μετά από τη χορήγηση αυτών των φαρμάκων είναι μικρές, απαιτούν μεγάλο διάστημα θεραπείας (261) και κατά συνέπεια δεν μπορούν να εξηγήσουν επαρκώς την ταχεία και πολύ σημαντική μείωση των οξέων στεφανιαίων συμβαμάτων που παρατηρείται μετά τη χορήγηση στατινών. Διάφορες πρωτεΐνες που προάγουν τη φλεγμονή (όπως η CRP, η IL-6 και οι μεταλλοπρωτεϊνάσες) συσχετίζονται με διαταραχές της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της πήξης με αποτέλεσμα το σχηματισμό και τη ρήξη των αθηρωματικών πλακών (262). Έτσι, φαίνεται ότι η αύξηση της σταθερότητας των αθηρωματικών πλακών μετά τη χορήγηση στατινών οφείλεται κατά κύριο λόγο στη μείωση του αριθμού των μακροφάγων της πλάκας,

καθώς και στη μείωση της δραστηριότητας των μεταλλοπρωτεϊνών, δηλαδή των πρωτεολυτικών ενζύμων που παράγονται από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα του αγγειακού τοιχώματος και διασπούν την ινώδη κάψα που περιβάλλει την αθηρωματική πλάκα (255), (263).

### *3.1.1.6 Επίδραση των στατινών στη μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)*

Αρκετές μελέτες εκτίμησαν τη επίδραση των στατινών σε ασθενείς με NAFLD (264-267). Η ατορβαστατίνη φαίνεται ότι βελτιώνει τις παραμέτρους της ηπατικής βιολογίας και την περιεκτικότητα του ήπατος σε λίπος σε σύγκριση με το ουρσοδεοξυχολικό οξύ και με τα ω-3 λιπαρά οξέα σε χαμηλή δόση (268, 269). Μία πιο πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η χορήγηση της ατορβαστατίνης (10-80 mg/ημέρα) σε 25 ασθενείς με NAFLD οδήγησε περισσότερους από τους μισούς ασθενείς της μελέτης σε φυσιολογικά επίπεδα τρανσαμινασών μετά από 1 έτος θεραπείας, χωρίς ωστόσο να παρατηρηθούν μεταβολές στα υπερηχογραφικά ευρήματα (270). Τέλος, μία υποανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης GREACE έδειξε ότι η χορήγηση ατορβαστατίνης σε ασθενείς με διαταραχή της ηπατικής βιολογίας (που πιθανότατα οφείλονταν σε NAFLD) οδήγησε σε μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου κατά 68% και επιπρόσθετα σε μείωση της ενεργότητας των τρανσαμινασών κατά 35%- 47% μετά από 3 χρόνια θεραπείας (271).

## **3.2 Ρητίνες δέσμησης των χολικών οξέων**

Οι ρητίνες δέσμησης των χολικών οξέων (χολεστυραμίνη, κολεστιπόλη και η νεότερη κολεσεβελάμη) δεσμεύουν τα χολικά οξέα στο γαστρεντερικό σωλήνα (151). Έτσι, διακόπτεται ο εντεροηπατικός κύκλος των χολικών οξέων και η επανείσοδος τους διαμέσου της πυλαίας κυκλοφορίας στα ηπατοκύτταρα. Με αυτό το μηχανισμό τα φάρμακα μειώνουν τη συγκέντρωση των χολικών οξέων στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων. Η μείωση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της μετατροπής της χοληστερόλης σε χολικά οξέα και τη μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης χοληστερόλης. Η μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης χοληστερόλης στη συνέχεια είναι υπεύθυνη για την αύξηση του αριθμού και της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την

αύξηση του καταβολισμού των αθηρογόνων LDL και επομένως τη μείωση των επιπέδων της TCHOL και LDL-CHOL (272, 273).

Τα φάρμακα αυτά προκαλούν μια σημαντική δοσοεξαρτώμενη μείωση των τιμών της TCHOL και LDL-CHOL. Αν και οι ρητίνες δέσμησης χολικών οξέων είναι φθηνά και αποτελεσματικά φάρμακα, δεν γίνονται καλά ανεκτές από την πλειοψηφία των ασθενών, ιδιαίτερα όταν χορηγηθούν σε σχετικά υψηλές δόσεις, διότι προκαλούν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες από το γαστρεντερικό σωλήνα (μετεωρισμό, δυσκοιλιότητα, ναυτία, αίσθημα πλήρωσης στο επιγάστριο) (274). Επιπρόσθετα, τα φάρμακα αυτά αυξάνουν τα επίπεδα των TG (275) και μειώνουν την απορρόφηση πολλών φαρμάκων που χορηγούνται ταυτόχρονα (διουρητικά, προπρανολόλη, δακτυλίτιδα, κουμαρινικά αντιπηκτικά, θυρεοειδικές ορμόνες, στατίνες, κ.λπ.). Οι ρητίνες δέσμησης χολικών οξέων συνδυάζονται με άλλα υπολιπιδαιμικά φάρμακα και κυρίως με στατίνες και εζετιμίμη. Η χορήγηση αυτών των συνδυασμών προκαλεί σημαντική μείωση των τιμών της TCHOL και LDL-CHOL. Αυτά τα φάρμακα δεν πρέπει να χορηγούνται σε ασθενείς με πλήρη απόφραξη των χοληφόρων, σε ασθενείς με υπερλιπιδαιμία τύπου III, καθώς και σε ασθενείς με βαριά υπερτριγλυκεριδαιμία (TG>500 mg/dL).

Το νεότερο φάρμακο της ομάδας, η κολεσεβελάμη, εμφανίζει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα σε μικρότερες δόσεις σε σύγκριση με τις παλαιότερες ρητίνες δέσμησης χολικών οξέων και για αυτό το λόγο η χορήγησή της δεν συνοδεύεται από ανεπιθύμητες ενέργειες (151). Η κολεσεβελάμη συσχετίζεται με μείωση της LDL-CHOL κατά 10-19% και με αύξηση των επιπέδων της HDL-CHOL κατά 3-11%. Επιπρόσθετα, μελέτες έδειξαν ότι η χορήγηση της κολεσεβελάμης συσχετίζεται με βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου σε διαβητικούς ασθενείς (μείωση της HbA1C κατά 0,5%) και με μείωση των επιπέδων της hsCRP (151, 276).

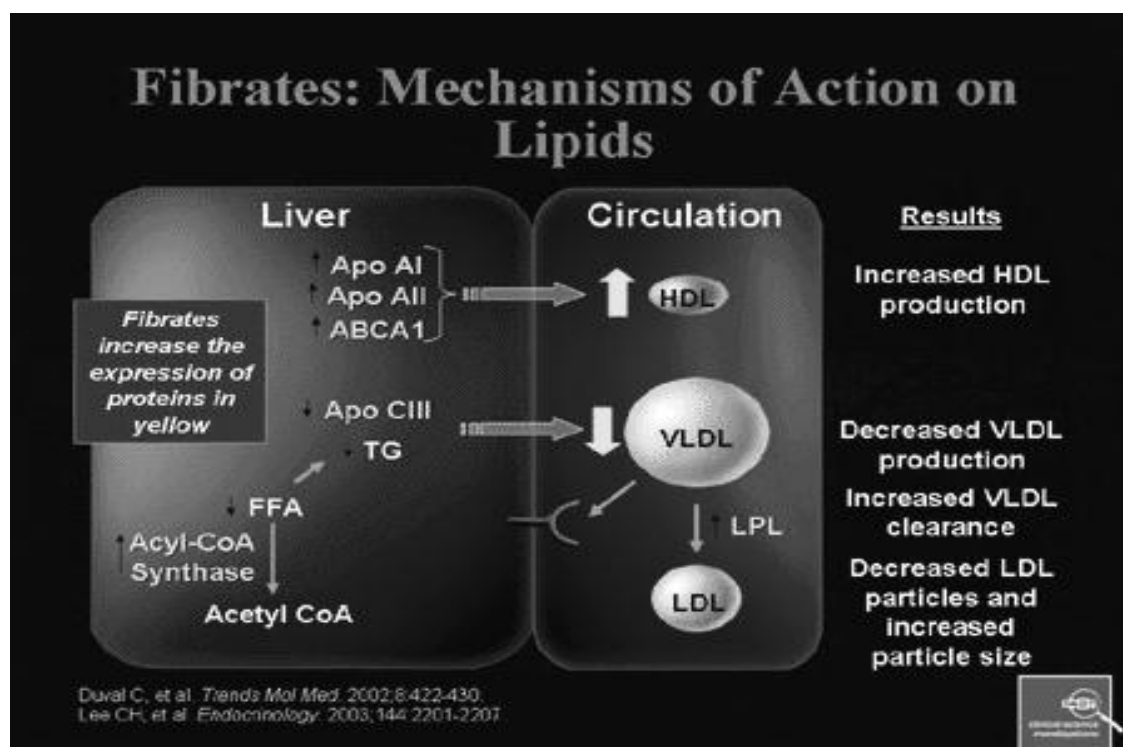
### **3.3 Φιμπράτες (εικόνα 4)**

Οι φιμπράτες αποτελούν τα φάρμακα πρώτης επιλογής για την αντιμετώπιση της υπερτριγλυκεριδαιμίας. Τα φάρμακα αυτά μειώνουν τα επίπεδα των TG (κατά 20-50%) και αυξάνουν τα επίπεδα της HDL-CHOL (κατά 2-20%) (277-279). Οι φιμπράτες μειώνουν σε μικρό βαθμό τα επίπεδα της LDL-CHOL σε ασθενείς με αυξημένα επίπεδα LDL-CHOL πριν την έναρξη της θεραπείας (277). Μεγαλύτερες μειώσεις των τιμών της LDL-CHOL παρατηρούνται μετά τη χορήγηση των νεωτέρων φαρμάκων αυτής της ομάδας και κυρίως μετά τη χορήγηση της φαινοφιμπράτης και της σιπροφιμπράτης και

όχι μετά τη χορήγηση της γεμφιμπροζίλης (277). Ωστόσο, οι φιμπράτες αυξάνουν τα επίπεδα της LDL-CHOL σε ασθενείς με πρωτοπαθή υπερτριγλυκεριδαιμία που εμφανίζουν χαμηλά επίπεδα LDL-CHOL (277). Τα φάρμακα αυτά αυξάνουν τη διάμετρο των LDL σωματιδίων, δηλαδή μειώνουν τα sdLDL σωματίδια, τα οποία έχουν μεγάλη αθηρογόνο δυνατότητα (280). Οι φιμπράτες προκαλούν αυτές τις μεταβολές στα επίπεδα των λιπιδίων επιδρώντας στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών με 5 τουλάχιστον διαφορετικούς μηχανισμούς:

1. αύξηση του ενδαγγειακού καταβολισμού των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών. Αυτή η αύξηση οφείλεται τόσο στην αύξηση της δραστηριότητας της LPL (281), όσο και στη μειωμένη ηπατική παραγωγή της apoC-III, η οποία αναστέλλει τη δραστηριότητα αυτού του ενζύμου (282)
2. αύξηση της πρόσληψης και της οξειδωσης των λιπαρών οξέων από τα ηπατοκύτταρα, η οποία οδηγεί σε μείωση της ηπατικής σύνθεσης των TG και κατά συνέπεια σε μείωση της παραγωγής των VLDL (283)
3. αύξηση του καταβολισμού των LDL σωματιδίων. Η χορήγηση των φιμπρατών προκαλεί μείωση της συγκέντρωσης των sdLDL σωματιδίων, καθώς και αύξηση των μεγαλύτερων σωματιδίων που καταβολίζονται αποτελεσματικότερα από τους LDL υποδοχείς (280)
4. μείωση της ετεροανταλλαγής εστέρων χοληστερόλης και TG μεταξύ των HDL και των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών. Αυτή η μείωση οφείλεται στη μείωση της συγκέντρωσης των VLDL, καθώς και στη μείωση της ενεργότητας της CETP (165)
5. αύξηση της παραγωγής των HDL και ενεργοποίηση της οδού της ανάστροφης μεταφοράς χοληστερόλης (284)

Η επίδραση των φιμπρατών στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών οφείλεται, τουλάχιστον έως ένα βαθμό, σε μεταβολές στη μεταγραφή γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, οι οποίες επηρεάζουν το μεταβολισμό των λιπιδίων. Συγκεκριμένα, οι φιμπράτες ενεργοποιούν ειδικούς μεταγραφικούς παράγοντες που ανήκουν στην ομάδα των ορμονικών πυρηνικών υποδοχέων, οι οποίοι ονομάζονται PPAR-α (peroxisomal proliferative-activated receptors-α) (285). Σε αυτούς τους υποδοχείς δρουν οι φιμπράτες και ελαττώνουν την έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί την apoC-III (η οποία αναστέλλει τη δράση της LPL) (286) και παράλληλα αυξάνουν την έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν τη LPL (287) καθώς και τις apoA-I και apoA-II (288), (289). Έτσι τα φάρμακα αυτά αυξάνουν τα

**Εικόνα 4. Μηχανισμός δράσης των φιβρατών**

επίπεδα των HDL και τον καταβολισμό των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών. Τέλος, οι φιβράτες επάγουν την έκφραση των γονιδίων ειδικών διαμεμβρανικών μεταφορέων στα μακροφάγα και τα ηπατοκύτταρα (SR-B1/CLA-1 και ABCA1) αυξάνοντας έτσι την ανάστροφη μεταφορά της χοληστερόλης (290), (291).

Οι φιβράτες αυξάνουν τη συγκέντρωση της χοληστερόλης στα ηπατοκύτταρα και πιθανά την επίπτωση της χολολιθίασης, ένα εύρημα που δεν επιβεβαιώνεται από τα αποτελέσματα πρόσφατων μελετών όπως η μελέτη FIELD (Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes) καθώς και η μελέτη ACCORD (Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes) (292-294). Προκαλούν επίσης μία μικρή αύξηση των ηπατικών ενζύμων σε ένα μικρό ποσοστό ασθενών. Η πιο σημαντική ανεπιθύμητη ενέργεια είναι η μυοσίτιδα, η οποία παρατηρείται κυρίως σε ηλικιωμένα άτομα με έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας καθώς και όταν οι φιβράτες (κυρίως η γεμφιπροζίλη) χορηγούνται σε συνδυασμό με στατίνες. Χρειάζεται μεγάλη προσοχή στη χορήγηση αυτών των φαρμάκων (κυρίως της φαινοφιμπράτης) σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια, διότι οι φιβράτες απεκκρίνονται από τους νεφρούς με αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων τους στο πλάσμα. Οι φιβράτες εκτοπίζουν την βαρφαρίνη από τις θέσεις σύνδεσής της με αλβουμίνη. Έτσι, σε ασθενείς στους οποίους χορηγούνται ταυτόχρονα φιβράτες και κουμαρινικά αντιπηκτικά συνιστάται η

μείωση της δόσης της βαρφαρίνης κατά 30%. Οι φιμπράτες δεν πρέπει να χορηγούνται σε ασθενείς με νεφρική ή ενεργό ηπατική νόσο, ενώ η χορήγησή τους συνοδεύεται από μια μικρή αύξηση των επιπέδων της κρεατινίνης του ορού, χωρίς ιδιαίτερη κλινική σημασία.

Πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι ορισμένα από τα φάρμακα αυτής της ομάδας έχουν επιπρόσθετες μεταβολικές δράσεις (292). Συγκεκριμένα όλα τα φάρμακα (εκτός από τη γεμφιπροζίλη) μειώνουν τα επίπεδα του ινωδογόνου, ενώ η φαινοφιμπράτη μειώνει σημαντικά τα επίπεδα του ουρικού οξέος προκαλώντας μία σημαντική αύξηση της κλασματικής απέκκρισής του. Τέλος, υπάρχουν περιορισμένες αναφορές ότι ορισμένα από τα φάρμακα αυτής της ομάδας μειώνουν τα επίπεδα της Lp(a), ιδιαίτερα σε άτομα με αυξημένα επίπεδα πριν από την έναρξη της θεραπείας.

### ***3.3.1 Πλειοτροπικές δράσεις των φιμπρατών***

Οι φιμπράτες, εκτός από την ευνοϊκή επίδρασή τους στα επίπεδα των λιπιδαιμικών παραμέτρων του ορού, διαθέτουν και μια σειρά από επιπρόσθετες δράσεις που ενδεχόμενα συμβάλλουν στην ικανότητά τους να αναστέλλουν την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης και να μειώνουν την καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα. Οι δράσεις αυτές ονομάζονται πλειοτροπικές και δεν είναι τόσο καλά μελετημένες όσο οι αντίστοιχες των στατινών.

#### ***3.3.1.1 Αντιοξειδωτικές δράσεις των φιμπρατών***

Η οξειδωση των λιποπρωτεϊνών διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της αθηρωματικής νόσου. Μελέτες έδειξαν ότι η χορήγηση φιμπρατών αυξάνει την αντίσταση των λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων (τόσο των VLDL, όσο και των LDL) στην οξειδωτική τροποποίηση. Αυτή η δράση των φιμπρατών οφείλεται στην ικανότητά τους να μειώνουν τα επίπεδα των λιπιδίων περιορίζοντας έτσι τη συγκέντρωση του υποστρώματος που είναι διαθέσιμο για οξειδωση. Επιπρόσθετα, η μείωση των μικρών πυκνών LDL σωματιδίων, τα οποία εμφανίζουν μειωμένη αντίσταση στην οξειδωση, καθώς και η μεταβολή της σύστασης των λιπαρών οξέων των λιποπρωτεϊνών (αύξηση των μονοακόρεστων και μείωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων) μετά τη χορήγηση φιμπρατών πιθανά συμβάλλουν στην ικανότητα αυτών των φαρμάκων να μειώνουν την οξειδωση των VLDL και των LDL.

Μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι τα HDL σωματίδια διαδραματίζουν σημαντικό αντιαθηρογόνο ρόλο. Αυτή η ιδιότητά τους οφείλεται τόσο στη συμμετοχή τους στο μηχανισμό της ανάστροφης μεταφοράς χοληστερόλης, όσο και στην

ικανότητά τους να προστατεύουν τα LDL σωματίδια από την οξειδωτική τροποποίηση. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των HDL οφείλονται εν μέρει σε δύο ένζυμα που μεταφέρονται συνδεδεμένα με αυτά τα σωματίδια: την παραοξονάση (PON) και την ακετυλοϋδρολάση του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF-AH ή συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A<sub>2</sub>, Lp-PLA<sub>2</sub>). Σε συνθήκες οξειδωτικού stress η ενεργότητα αυτών των δύο ενζύμων μειώνεται σημαντικά, ενώ τα HDL σωματίδια χάνουν τις αντιοξειδωτικές τους ικανότητες και μετατρέπονται σε σωματίδια που επάγουν τη φλεγμονή του αγγειακού τοιχώματος. Μελέτες έδειξαν ότι η χορήγηση των φιμπρατών αυξάνει την ενεργότητα της PON1 των HDL βελτιώνοντας έτσι την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Επιπρόσθετα, αυτά τα φάρμακα προστατεύουν τα HDL σωματίδια από την οξειδωτική τροποποίηση, συμβάλλοντας έτσι στη διατήρηση της ικανότητάς τους να αναστέλλουν την αθηρωματική διαδικασία.

#### *3.3.1.2 Ευνοϊκή επίδραση των φιμπρατών στο ενδοθήλιο*

Είναι γνωστό ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αντιπροσωπεύει μια από τις πρωιμότερες εκδηλώσεις της αθηρωμάτωσης και εκδηλώνεται πριν η νόσος γίνει εμφανής αγγειογραφικά. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι φιμπράτες βελτιώνουν όλες τις παραμέτρους της ενδοθηλιακής λειτουργίας τόσο σε πειραματόζωα, όσο και σε ασθενείς με πρωτοπαθείς δυσλιπιδαιμίες (295). Η επαγωγή της παραγωγής του νιτρικού οξειδίου, καθώς και η αναστολή της σύνθεσης της ενδοθηλίνης-1 είναι οι βασικότεροι μηχανισμοί διαμέσου των οποίων οι φιμπράτες βελτιώνουν τη λειτουργία του ενδοθηλίου (296). Επιπρόσθετα, η αύξηση της ευαισθησίας στη δράση της ινσουλίνης, η μείωση του οξειδωτικού stress και της φλεγμονής του αγγειακού τοιχώματος, καθώς και η μείωση των κυκλοφορούντων ελεύθερων λιπαρών οξέων που παρατηρούνται μετά τη χορήγηση των φιμπρατών πιθανά διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ικανότητα των φιμπρατών να αναστέλλουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Πράγματι, σε μια πρόσφατη μελέτη, η βελτίωση των παραμέτρων της λειτουργίας του ενδοθηλίου μετά τη χορήγηση φαινοφιμπράτης συσχετιζόταν με τη μείωση των επιπέδων της ινσουλίνης και της hs-CRP (297).

#### *3.3.1.3 Αντιφλεγμονώδεις δράσεις των φιμπρατών*

Μελέτες των τελευταίων δεκαετιών έδειξαν ότι η αθηρωμάτωση είναι μία φλεγμονώδης νόσος. Η ικανότητα των φιμπρατών να τροποποιούν τη φλεγμονώδη αντίδραση του αγγειακού τοιχώματος αντιπροσωπεύει την καλύτερα μελετημένη πλειοτροπική δράση αυτών των φαρμάκων. Πρέπει να αναφερθεί ότι έκφραση υποδοχέων PPAR- $\alpha$ ,



διαμέσου των οποίων οι φιμπράτες ασκούν τις περισσότερες βιολογικές δράσεις τους, έχει παρατηρηθεί σε όλους τους τύπους των κυττάρων που συμμετέχουν στο σχηματισμό των αθηρωματικών πλακών. Έτσι, η ενεργοποίηση των PPAR-α στα αφρώδη κύτταρα των αθηρωματικών πλακών οδηγεί σε επαγωγή της έκφρασης των υποδοχέων ABC-A1 και SR-B1 και κατά συνέπεια σε έξοδο της χοληστερόλης από αυτά τα κύτταρα. Η μείωση της χοληστερόλης των μακροφάγων της αθηρωματικής πλάκας πιστεύεται ότι οδηγεί σε μείωση της ενεργοποίησής τους (μείωση της παραγωγής κυτταροκινών, μεταλλοπρωτεϊνών κτλ), με αποτέλεσμα τη μείωση του βαθμού της φλεγμονής του αγγειακού τοιχώματος. Επιπρόσθετα, οι φιμπράτες αναστέλλουν την έκφραση των προσκολλητικών μορίων ICAM-1, VCAM-1 και MCP-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα, μειώνοντας έτσι τη διείσδυση των λευκοκυττάρων στον υπενδοθηλιακό χώρο, ενώ παράλληλα παρεμποδίζουν την επαγόμενη από τη θρομβίνη βιοσύνθεση της ενδοθελίνης-1, η οποία διαθέτει πολυάριθμες ιδιότητες που προάγουν της αθηρωματική διαδικασία. Τέλος, η χορήγηση των φιμπρατών σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία συνοδεύεται από σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων των πρωτεϊνών οξείας φάσης (ινωδογόνο, hs-CRP, IL-6), ένα γεγονός που αντικατοπτρίζει τη μείωση του βαθμού της φλεγμονής του αγγειακού τοιχώματος.

#### *3.3.1.4 Αντιθρομβωτικές δράσεις των φιμπρατών*

Είναι γνωστό ότι η διαδικασία της θρόμβωσης διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην παθογένεια των οξέων στεφανιαίων συμβαμάτων. Μελέτες έδειξαν ότι οι φιμπράτες προκαλούν σημαντική μείωση της συγκέντρωσης του ινωδογόνου, η οποία συνοδεύεται από μείωση του ιξώδους του αίματος, καθώς και περιορισμό της ικανότητας προσκόλλησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Επιπρόσθετα, τα φάρμακα αυτής της κατηγορίας μειώνουν την παραγωγή του ιστικού παράγοντα από τα μακροφάγα των αθηρωματικών πλακών με αποτέλεσμα την αναστολή της ενεργοποίησης της διαδικασίας της πήξης. Τέλος, οι φιμπράτες μειώνουν της έκφραση των υποδοχέων του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και του ιστικού παράγοντα στα αιμοπετάλια και έτσι μειώνουν σημαντικά τη συγκολλητικότητα αυτών των κυττάρων.

Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν σαφή δεδομένα αναφορικά με το ρόλο που διαδραματίζουν οι φιμπράτες στην παραγωγή του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1). Ωστόσο, μια πρόσφατη μελέτη σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών

κυττάρων έδειξε ότι η φαινοφιμπράτη προκαλεί σημαντική αναστολή της παραγωγής αυτού του μορίου.

### 3.4 Εξετιμίμψη

Η εξετιμίμψη είναι το πρώτο φάρμακο μιας νέας κατηγορίας υπολιπιδαιμικών φαρμάκων, των αναστολέων της απορρόφησης της χοληστερόλης (298). Η δράση της συνοψίζεται στην αναστολή της απορρόφησης της χοληστερόλης από το γαστρεντερικό σωλήνα διαμέσου του αποκλεισμού των μεταφορέων των στερολών στην ψυκτροειδή παρυφή των ενδοθηλιακών κυττάρων του εντέρου (299) (**εικόνα 5**). Ο μεταφορέας αυτός ονομάζεται πρωτεΐνη Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1). Η χορήγηση της εξετιμίμψης οδηγεί διαμέσου της αναστολής της απορρόφησης της χοληστερόλης σε μείωση της ποσότητας της χοληστερόλης που μεταφέρεται στο ήπαρ (διαμέσου των χυλομικρών και των καταλοίπων των χυλομικρών) και τελικά σε μείωση της περιεκτικότητας σε χοληστερόλη των αθηρογόνων χυλομικρών, VLDL και LDL. Επιπρόσθετα, η μειωμένη συγκέντρωση της χοληστερόλης στα ηπατοκύτταρα οδηγεί σε αύξηση του αριθμού και της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων και σε αύξηση του καταβολισμού των LDL σωματιδίων με τελικό αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων της LDL-CHOL.

Η εξετιμίμψη ελαττώνει την απορρόφηση της χοληστερόλης από το γαστρεντερικό σωλήνα κατά περίπου 50% (300). Η εξετιμίμψη είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική όταν συγχρηγείται με φάρμακα που αναστέλλουν την ηπατική παραγωγή χοληστερόλης, δηλ. τις στατίνες. Πράγματι, η αναστολή της εντερικής απορρόφησης της χοληστερόλης από την εξετιμίμψη οδηγεί σε αυξημένη ηπατική παραγωγή χοληστερόλης, η οποία αναστέλλεται αποτελεσματικά από τις στατίνες. Η μέγιστη συγκέντρωση του φαρμάκου στον ορό επιτυγχάνεται κατά προσέγγιση 1-2 ώρες μετά τη χορήγησης του, ενώ ο χρόνος ημίσειας ζωής της εξετιμίμψης είναι 22 ώρες.

Η εξετιμίμψη χορηγείται σε μία δόση των 10 mg το πρωί ή και το βράδυ χωρίς να επηρεάζεται από τη συγχρηγήγηση φαγητού (300). Η εξετιμίμψη δεν επηρεάζει την απορρόφηση των λιπαρών οξέων, των TG, των λιποδιαλυτών βιταμινών ή των χολικών οξέων, ούτε τα επίπεδα άλλων συγχρηγούμενων φαρμάκων. Ωστόσο, πρέπει να επισημανθεί ότι η γεμφιμπροζίλη και η φαινοφιμπράτη αυξάνουν τα επίπεδα της εξετιμίμψης στον ορό.

Η επίδραση της μονοθεραπείας με εξετιμίμψη στα επίπεδα των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών στον ορό θα συζητηθεί στη συνέχεια. Η προσθήκη εξετιμίμψης σε ασθενείς υπό αγωγή με στατίνες έχει ως αποτέλεσμα μείωση της LDL-CHOL κατά

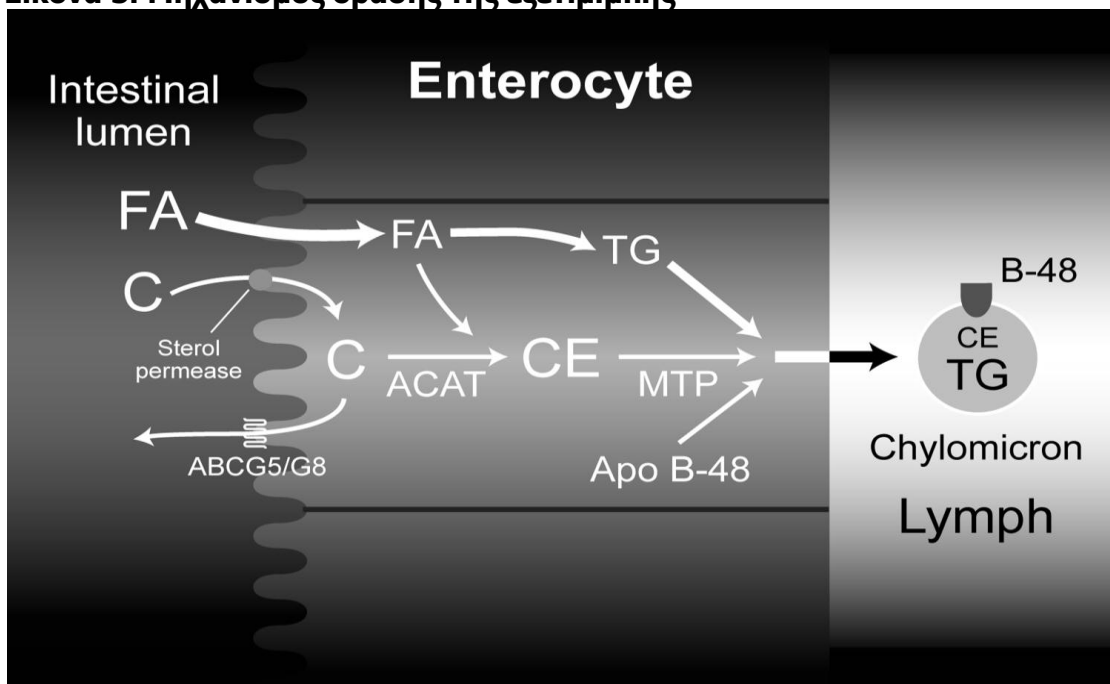
14% - 25%, μείωση των επιπέδων των TG κατά 7% - 14% και μικρή αύξηση της HDL-CHOL κατά ~3% (301-310).

### 3.4.1 Πλειοτροπικές δράσεις της εξετιμίμης

#### 3.4.1.1 Επίδραση της εξετιμίμης στα επίπεδα της CRP

Όλες οι μελέτες συγχροήγησης της εξετιμίμης με διάφορες στατίνες έδειξαν σημαντικά μεγαλύτερη μείωση της hsCRP στην ομάδα που πήρε συνδυασμένη αγωγή σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με στατίνες (301, 311-315). Αντίθετα, η μονοθεραπεία με εξετιμίμη δεν φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά τη συγκέντρωση της hsCRP (298, 316). Τα παραπάνω ευρήματα επιβεβαιώθηκαν και από μία πρόσφατη μετα-ανάλυση σε 1372 ασθενείς που βρίσκονταν σε μονοθεραπεία με εξετιμίμη, καθώς και σε 3899 ασθενείς που πήραν εξετιμίμη ενώ βρίσκονταν ήδη σε θεραπεία με στατίνη (317). Συγκεκριμένα, η μονοθεραπεία με εξετιμίμη οδήγησε σε

#### Εικόνα 5. Μηχανισμός δράσης της εξετιμίμης



μία κατά 6% μεγαλύτερη μείωση της CRP σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο, ωστόσο αυτή η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική ( $p:0.09$ ). Αντίθετα, η προσθήκη της εξετιμίμης στη θεραπεία με στατίνη οδήγησε σε μία κατά 10% μεγαλύτερη μείωση της hsCRP σε σύγκριση με την ομάδα της μονοθεραπείας με στατίνη ( $p<0.001$ ).

#### *3.4.1.2 Επίδραση της εξετιμίμπης στην ενδοθηλιακή λειτουργία*

Τα αποτελέσματα όσον αφορά την επίδραση της εξετιμίμπης στους δείκτες της ενδοθηλιακής λειτουργίας δεν είναι σαφή (318, 319). Για παράδειγμα, μία μελέτη σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο έδειξε ότι ο συνδυασμός εξετιμίμπης με ατορβαστατίνη (10 mg/ημέρα) είχε καλύτερα αποτελέσματα στην αιματική ροή του βραχίονα σε σύγκριση με τη χορήγηση υψηλότερης δόσης ατορβαστατίνης (40 mg/ημέρα) (320). Ωστόσο, αυτό το εύρημα δεν επιβεβαιώθηκε σε μία μελέτη σε στεφανιαίους ασθενείς που έπαιρναν σιμβαστατίνη (20 mg/ημέρα) μαζί με εξετιμίμπη ή εξετιμίμπη ως μονοθεραπεία (321). Ωστόσο, πρέπει να επισημανθεί ότι η ευνοϊκή επίδραση της εξετιμίμπης στο ενδοθήλιο είναι μεγαλύτερη σε ασθενείς με διαταραχή του μεταβολισμού της γλυκόζης (318). Όπως είναι γνωστό, αυτοί οι ασθενείς εμφανίζουν ενδοθηλιακή δυσλειτουργία πιθανά εξαιτίας της παρουσίας άλλοτε άλλου βαθμού αντίστασης των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης. Πράγματι, μία μελέτη σε 100 ασθενείς έδειξε ότι ο συνδυασμός εξετιμίμπης με πραβαστατίνη 10 mg βελτίωσε την ινσουλινοαντίσταση σε μεγαλύτερο βαθμό σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με πραβαστατίνη 40 mg (322). Επιπρόσθετα, σε ένα πειραματικό μοντέλο του μεταβολικού συνδρόμου σε ποντίκια, η χορήγηση εξετιμίμπης οδήγησε σε σημαντική βελτίωση της ευαισθησίας των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης και στη λιπώδη διήθηση του ήπατος (323). Ωστόσο, μία άλλη μελέτη έδειξε ότι η μονοθεραπεία με εξετιμίμπη δεν βελτίωσε την ινσουλινοαντίσταση σε 6 παχύσαρκα άτομα με δυσλιπιδαιμία, όπως αυτή εκτιμήθηκε με το ευγλυκαιμικό-υπερινουλιναϊμικό clamp (324).

#### *3.4.1.3 Επίδραση της εξετιμίμπης στη συγκόλληση των αιμοπεταλίων*

Μελέτες έδειξαν ότι η χορήγηση στατινών μειώνει τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων. Αρκετές μελέτες εκτίμησαν την επίδραση των στατινών στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων ως μονοθεραπεία ή σε συγχορήγηση με εξετιμίμπη (325-327). Στις μελέτες αυτές δεν παρατηρήθηκε επιπρόσθετο όφελος όσον αφορά τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων με τη συνδυασμένη αγωγή σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με στατίνες.

#### *3.4.1.4 Άλλες δράσεις της εξετιμίμπης*

Η χορήγηση της εξετιμίμπης δεν επηρεάζει τα επίπεδα της λεπτίνης, της αδιπονεκτίνης, της ρεσιστίνης και της βισφατίνης (318). Τέλος, μία πρόσφατη μελέτη

έδειξε ότι η χορήγηση της εξετιμίμπης έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της μεταγευματικής λιπαιμίας, ένα εύρημα που έχει ιδιαίτερη σημασία σε ασθενείς με μικτή δυσλιπιδαιμία. (318).

### 3.5 Νικοτινικό οξύ

Το νικοτινικό οξύ (ή νιασίνη) ήταν το πρώτο διαθέσιμο υπολιπιδαιμικό φάρμακο (328). Ο μηχανισμός δράσης του νικοτινικού οξέος δεν είναι απόλυτα ξεκαθαρισμένος. Το νικοτινικό οξύ συνδέεται με τον υποδοχέα του στο λιπώδη ιστό με αποτέλεσμα μειωμένη λιπόλυση και τελικά μειωμένη απελευθέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων από το λιπώδη ιστό. Η μειωμένη προσφορά ελεύθερων λιπαρών οξέων στο ήπαρ οδηγεί σε ελαττωμένη παραγωγή TG και VLDL σωματιδίων (329). Το νικοτινικό οξύ μειώνει επίσης και τη συγκέντρωση των LDL σωματιδίων που σχηματίζονται στην κυκλοφορία από το μεταβολισμό των VLDL. Επιπρόσθετα, μεταβάλλει την κατανομή των LDL σωματιδίων με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης των μεγάλων LDL σωματιδίων. Το νικοτινικό οξύ αυξάνει τα επίπεδα της HDL-CHOL διαμέσου τριών τουλάχιστον μηχανισμών: α) αύξηση του ρυθμού παραγωγής της apoA-I, χωρίς ωστόσο να επηρεάζεται ο καταβολικός ρυθμός της και χωρίς να επηρεάζεται η συγκέντρωση της apoA-II, β) μείωση της ενεργότητας της CETP διαμέσου της επίδρασης του νικοτινικού οξέος στη γονιδιακή έκφραση του ενζύμου και γ) μείωση της ηπατικής πρόσληψης των HDL σωματιδίων (330). Τέλος, το νικοτινικό οξύ είναι το μοναδικό προς το παρόν διαθέσιμο φάρμακο που μειώνει τη συγκέντρωση της Lp(a), με άγνωστο ωστόσο μηχανισμό.

Η επίδραση του νικοτινικού οξέος στα επίπεδα των λιπιδίων στον ορό εξαρτάται τόσο από τη δόση του φαρμάκου όσο και από την υποκείμενη δυσλιπιδαιμία. Συνήθως απαιτείται δόση τουλάχιστον 2 g/ημέρα ώστε να επιτευχθεί η μέγιστη αποτελεσματικότητα του φαρμάκου. Γενικά, το νικοτινικό οξύ ελαττώνει τις συγκεντρώσεις της TCHOL, της LDL-CHOL, των TG και της Lp(a) κατά περίπου 20% ενώ αυξάνει τη συγκέντρωση της HDL-CHOL κατά επίσης 20% («κανόνας των 20») (328). Το νικοτινικό οξύ χορηγείται σε συνδυασμό με στατίνες για τη βελτίωση του συνολικού λιπιδαιμικού προφίλ.

Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες του φαρμάκου είναι η έξαψη, οι γαστρεντερικές διαταραχές (διάρροιες, ναυτία, ανορεξία), καθώς και οι διαταραχές του μεταβολισμού των υδατανθράκων [αύξηση της γλυκόζης κατά 4-5% και της γλυκοζυλιωμένης

αιμοσφαιρίνης (HbA1C%) κατά περίπου 0.3%, καθώς και του ουρικού οξέος κατά 10%] (331). Η έξαψη οφείλεται στη δερματική αγγειοδιαστολή εξαιτίας της απελευθέρωσης της προσταγλανδίνης D2 (PGD2) (332). Το ακετυλοσαλικυλικό οξύ και άλλα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα μειώνουν σε κάποιο βαθμό την έξαψη διαμέσου της αναστολής της παραγωγής των προσταγλανδινών (333). Πρόσφατα βρέθηκε μια νέα ουσία, ένας ειδικός αναστολέας του υποδοχέα DP1 των προσταγλανδινών, η lagoriprant (334), που όταν χορηγείται σε συνδυασμό με το νικοτινικό οξύ μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης της έξαψης χωρίς να επηρεάζει τις υπολιπιδαιμικές ιδιότητες του νικοτινικού οξέος.

Μία πολύ πρόσφατη μελέτη, η μελέτη AIM-HIGH (Atherothrombosis Intervention in Metabolic Syndrome with Low HDL Cholesterol/High Triglyceride and Impact on Global Health Outcomes) εκτίμησε την επίδραση της συγχορήγησης στατινών με υψηλές δόσεις νιασίνης παρατεταμένης αποδέσμευσης σε ασθενείς με γνωστή αγγειακή νόσο και υψηλά επίπεδα TG και χαμηλά επίπεδα της HDL-CHOL (335). Ωστόσο, η μελέτη αυτή διακόπηκε πρόωρα το Μάιο του 2011 (μετά από περίπου 18 μήνες παρακολούθησης) εξαιτίας της αναποτελεσματικότητας του φαρμάκου όσον αφορά τα καρδιαγγειακά συμβάματα, ενώ παρατηρήθηκε μία μικρή αύξηση του κινδύνου εμφάνισης AEE στην ομάδα της νιασίνης (<http://www.medscape.com/viewarticle/743456>, National Institutes of Health. NIH stops clinical trial on combination cholesterol treatment [press release]. May 26, 2011). Περισσότερα δεδομένα σχετικά με την αποτελεσματικότητα της νιασίνης στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης ΚΑΝ αναμένονται από τη μελέτη HPS2-THRIVE (Treatment of HDL to Reduce the Incidence of Vascular Events) (<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00461630?term=HPS2+thrive&rank=1>).

### **3.6 Ωμέγα-3 λιπαρά οξέα**

Τα ωμέγα-3 ( $\omega$ -3) λιπαρά οξέα είναι φυσικά πολυακόρεστα λιπαρά οξέα τα οποία βρίσκονται κυρίως στα λιπαρά ψάρια. Τα πιο σημαντικά είναι το εικοσαπεντανοϊκό (EPA) και το δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA). Υπάρχουν ολοένα και περισσότερα στοιχεία που δείχνουν ότι τα  $\omega$ -3 λιπαρά οξέα εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη, αντιθρομβωτική, αντιαρρυθμική και αντιαθηρογόνο δράση (336, 337). Οι αποτελεσματικές δόσεις των  $\omega$ -3 λιπαρών οξέων όσον αφορά τη μείωση των επιπέδων των TG κυμαίνονται από 2 έως 4 gr την ημέρα. Μια τέτοια πρόσληψη είναι δυνατόν να επιτευχθεί με τη χορήγηση κεκαθαρωμένων συμπληρωμάτων. Συγκεκριμένα, τα  $\omega$ -3 λιπαρά οξέα μειώνουν τα

επίπεδα των TG κατά 25 με 30% (337, 338). Συγκεκριμένα η μελέτη COMBOS (COMBination of prescription Omega-3 with Simvastatin) έδειξε ότι τα ω-3 λιπαρά οξέα σε δόση 4 g/ημέρα μειώνουν τα επίπεδα των TG κατά περίπου 30%, ενώ αυξάνουν τη συγκέντρωση της HDL-CHOL κατά 3.5% (338). Επιπρόσθετα, η μελέτη JELIS (Japan EPA Lipid Intervention Study) έδειξε ότι η συγχορήγηση 1800 mg EPA με στατίνη είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης KAN κατά 19% ( $p=0.011$ ) σε σύγκριση με την ομάδα μονοθεραπείας με στατίνη (339).

Παρά το γεγονός ότι τα αποτελέσματα πρόσφατων μετααναλύσεων δεν κατέληξαν σε κοινό συμπέρασμα, οι περισσότερες μελέτες έδειξαν ότι η χορήγηση ω-3 λιπαρών οξέων σε δόση 1 gr ημερησίως (δηλαδή μικρότερη αυτής που απαιτείται για τη μείωση των TG) οδηγεί σε σημαντική μείωση του κινδύνου εμφάνισης KAN σε διαφορετικούς πληθυσμούς (340). Αυτή η δράση των ω-3 λιπαρών οξέων πιθανά οφείλεται στην ικανότητά τους να μειώνουν τη συγκέντρωση των TG, να ελαττώνουν την επίπτωση των κοιλιακών αρρυθμιών, στην αντιθρομβωτική τους δράση, καθώς και στην επίδραση τους στη διαμέσου του NO αγγειοδιαστολή και στην αντιφλεγμονώδη δράση τους (341).

### **3.7 Επιμέρους φάρμακα που συμμετείχαν στη μελέτη**

#### ***3.7.1 Ροσουβαστατίνη***

Η ροσουβαστατίνη είναι μια συνθετική στατίνη που έχει μεγαλύτερη ικανότητα σύνδεσης με το ενεργό κέντρο της HMG-CoA αναγωγάσης. Η ροσουβαστατίνη είναι σχετικά υδρόφιλο μόριο, έχει το μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής σε σύγκριση με τις άλλες στατίνες και μεταβολίζεται ελάχιστα διαμέσου του κυτοχρώματος P450 (CYP450) χωρίς σημαντική συμμετοχή του CYP3A4 (342). Η ροσουβαστατίνη απεκκρίνεται σχεδόν αμετάβλητη, ενώ οι συγκεντρώσεις των μεταβολιτών της δεν επηρεάζονται από φάρμακα που αναστέλλουν το CYP450. Ωστόσο, η ροσουβαστατίνη εμφανίζει κλινικά σημαντική αλληλεπίδραση με την κυκλοσπορίνη και τη γεμφιπροζίλη (343), με αποτέλεσμα αύξηση του κινδύνου εμφάνισης μυοτοξικότητας. Επιπρόσθετα, η συγχορήγηση ροσουβαστατίνης με αμιοδαρόνη αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης υπερτρανσαμινασαιμίας (344).

Η ροσουβαστατίνη αποτελεί την πιο αποτελεσματική στατίνη όσον αφορά τη μείωση της LDL-CHOL (345). Η ροσουβαστατίνη σε δόση 10 mg/ημέρα μειώνει την LDL-

CHOL κατά περίπου 45%, ενώ στη δόση των 40 mg/ημέρα μειώνει τα επίπεδα της LDL-CHOL περίπου κατά 60% (342, 346). Η μέγιστη συνιστώμενη ημερήσια δόση της ροσουβαστατίνης δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 40 mg. Η ροσουβαστατίνη σε δόση 40 mg/ημέρα μειώνει επίσης τα TG περίπου κατά 20-30%, την nonHDL-CHOL κατά 42-51% και την apoB κατά 37-45%, ενώ αυξάνει σημαντικά τα επίπεδα της HDL-CHOL κατά περίπου 10% (342).

Εκτός από την επίδραση της ροσουβαστατίνης στα επίπεδα των λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών, έχει εκτιμηθεί και η αποτελεσματικότητά της σε κλινικές μελέτες με καρδιαγγειακά καταληκτικά σημεία. Έτσι, η μελέτη METEOR (Measuring Effects on intima-media Thickness: an Evaluation of Rosuvastatin) (347) εκτίμησε την επίδραση της ροσουβαστατίνης (40 mg/ημέρα) μετά από 2 έτη στο πάχος του έσω-μέσου χιτώνα του τοιχώματος των καρωτίδων (carotid intima-media thickness, CIMT) σε περίπου 1000 μέσης ηλικίας ασθενείς με χαμηλό έως μέτριο κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ σε σύγκριση με εικονικό φάρμακο. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, τα άτομα που πήραν ροσουβαστατίνη εμφάνισαν μία σημαντική μείωση του CIMT σε σύγκριση με τα άτομα της ομάδας του εικονικού φαρμάκου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης ORION (348), η ροσουβαστατίνη τόσο σε χαμηλή (5 mg/ημέρα) όσο και σε υψηλή δόση (40 ή και 80 mg/ημέρα) οδήγησε σε σταθεροποίηση του μεγέθους των αθηρωματικών πλακών των καρωτίδων (όπως εκτιμήθηκαν με τεχνικές MRI) μετά από 2 έτη παρακολούθησης. Η μελέτη ASTEROID (A Study to Evaluate the Effect of Rosuvastatin on Intravascular Ultrasound-Derived Coronary Atheroma Burden) έδειξε ότι η χορήγηση ροσουβαστατίνης 40 mg/ημέρα είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση του μεγέθους της αθηρωματικής πλάκας των στεφανιαίων αγγείων, όπως αυτή εκτιμήθηκε με ενδαγγειακό υπερηχογράφημα [intravascular ultrasound (IVUS)] (349). Συγκεκριμένα, οι ασθενείς που πήραν ροσουβαστατίνη εμφάνισαν σημαντική μείωση της στένωσης του αγγείου από  $37.3 \pm 8.4\%$  [ $35.7\%$  (26% - 73%)] σε  $36.0 \pm 10.1\%$  [ $34.5\%$  (8% - 74%)],  $p < 0.001$ . Επιπρόσθετα, η χορήγηση της ροσουβαστατίνης είχε ως αποτέλεσμα σημαντικό όφελος όσον αφορά την περιεγχειρητική θνητότητα και νοσηρότητα σε ασθενείς με ΟΣΣ που υποβλήθηκαν σε αγγειοπλαστική των στεφανιαίων αγγείων (350).

Η μελέτη JUPITER (Justification for the Use of statins in Primary prevention: an Intervention trial Evaluating Rosuvastatin) ήταν μια διπλά, τυφλή, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη πρωτογενούς πρόληψης σε 17000 άτομα με χαμηλά έως μέτρια επίπεδα LDL-CHOL ( $< 130$  mg/dL) και υψηλά επίπεδα της hs-CRP



(>2 mg/L) (351). Η μελέτη αυτή διακόπηκε πρόωρα (μετά από περίπου 2 έτη παρακολούθησης) εξαιτίας του σημαντικού καρδιαγγειακού οφέλους (μείωση του κινδύνου εμφάνισης του κύριου καταληκτικού σημείου της μελέτης κατά 44%,  $p < 0.0001$ ) που παρατηρήθηκε στη ομάδα της ροσουβαστατίνης σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Επιπρόσθετα, μία ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης JUPITER έδειξε ότι οι ασθενείς που πέτυχαν επίπεδα LDL-CHOL <50 mg/dL με τη χορήγηση ροσουβαστατίνης είχαν κατά 65% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης του κύριου καταληκτικού σημείου σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου ( $p < 0.0001$ ) (352).

### **3.7.2 Φαινοφιμπράτη**

Η φαινοφιμπράτη είναι εστέρας του φαινοφιμπρικού οξέος, του δραστικού της συστατικού. Η φαινοφιμπράτη μετά την πρόσληψή της από το στόμα υδρολύεται στο γαστρεντερικό σωλήνα και στο ήπαρ σε φαινοφιμπρικό οξύ (353). Το φαινοφιμπρικό οξύ βρίσκεται κατά 99% συνδεδεμένο με πρωτεΐνες στον ορό. Ο χρόνος ημίσειας ζωής είναι ~16h και έτσι το φάρμακο χορηγείται σε μία ημερήσια δόση.

Η επίδραση της φαινοφιμπράτης στο μεταβολισμό των λιπιδίων πραγματοποιείται διαμέσου της ενεργοποίησης των πυρηνικών μεταγραφικών παραγόντων peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) (353).

Οι κύριες ανεπιθύμητες δράσεις της φαινοφιμπράτης αφορούν γαστρεντερικές διαταραχές. Σπανιότερα έχουν παρατηρηθεί διαταραχές της ηπατικής βιολογίας και των μυϊκών ενζύμων (353). Η χορήγηση φαινοφιμπράτης αντενδείκνυται σε άτομα με σοβαρή ηπατική ή νεφρική νόσο, καθώς και σε άτομα με ιστορικό χολολιθίασης. Χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή στη συγχορήγηση της φαινοφιμπράτης με κουμαρινικά αντιπηκτικά (απαιτείται συχνός έλεγχος του INR), με κυκλοσπορίνη, καθώς και με ρητίνες δέσμησης χολικών οξέων (μειώνουν την απορρόφηση της φαινοφιμπράτης). Παλαιότερα δεδομένα υποστήριζαν την ύπαρξη αυξημένου κινδύνου εμφάνισης μυοπάθειας και ραβδομυόλυσης σε περίπτωση συγχορήγησης φαινοφιμπράτης με στατίνες. Ωστόσο, η μελέτη ACCORD που δημοσιεύθηκε πρόσφατα, στην οποία χορηγήθηκε συνδυασμός σιμβαστατίνης 20/40 mg/ημέρα με φαινοφιμπράτη 54/160 mg/ημέρα, δεν έδειξε διαφορά στην επίπτωση αυξημένων (10πλάσιων της ανώτερης φυσιολογικής τιμής) επιπέδων κρεατινικής κινάσης στην ομάδα του συνδυασμού σιμβαστατίνης/φαινοφιμπράτης σε σύγκριση με την ομάδα της μονοθεραπείας με σιμβαστατίνη (0.4% και 0.3%, αντίστοιχα,  $p$ : NS) (294).

Η φαινοφιμπράτη μειώνει τα TG του ορού κατά 20%-50% και αυξάνει την HDL-CHOL κατά 10%-50%. Παράλληλα μπορεί να μειώνει σε πολύ μικρό βαθμό τα επίπεδα της LDL-CHOL (279). Ωστόσο, η φαινοφιμπράτη μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα της LDL-CHOL σε άτομα με σοβαρή υπερτριγλυκεριδαιμία, εξαιτίας του αυξημένου καταβολισμού των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών με τελικό αποτέλεσμα την αυξημένη σύνθεση των LDL σωματιδίων (354). Επιπρόσθετα, η φαινοφιμπράτη τροποποιεί την κατανομή των LDL και των HDL υποκλασμάτων (279). Συγκεκριμένα, η φαινοφιμπράτη μειώνει τα μικρά πυκνά LDL σωματίδια, που θεωρούνται αθηρογόνα, και τα μικρά, πυκνά HDL σωματίδια, που θεωρούνται τα σωματίδια με τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική και αντιαθηρογόνο δυνατότητα

Στη μελέτη DAIS (Diabetes Atherosclerosis Intervention Study) συμμετείχαν 418 ασθενείς με ΣΔ που πήραν φαινοφιμπράτη 200 mg/ημέρα ή εικονικό φάρμακο για τουλάχιστον 3 έτη (355). Πρόκειται για μια αγγειογραφική μελέτη της εξέλιξης της αθηροσκλήρωσης των στεφανιαίων αγγείων. Ως πρωταρχικά καταληκτικά σημεία είχαν ορισθεί η μεταβολή της ελάχιστης διαμέτρου του αυλού των αγγείων και η μέση ποσοστιαία στένωση των στεφανιαίων αγγείων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, στην ομάδα της φαινοφιμπράτης παρατηρήθηκε επιβράδυνση της εξέλιξης της αθηρωματικής νόσου σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Ωστόσο, τα αποτελέσματα της μελέτης FIELD (356) δεν ήταν ενθαρρυντικά. Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν περίπου 9500 ασθενείς με ΣΔ, οι οποίοι πήραν φαινοφιμπράτη 200 mg/ημέρα ή εικονικό φάρμακο για 5 έτη. Ως πρωτογενές καταληκτικό σημείο είχε ορισθεί το μη θανατηφόρο OEM ή ο καρδιαγγειακός θάνατος. Η χορήγηση της φαινοφιμπράτης είχε ως αποτέλεσμα ένα κατά 24% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης μη θανατηφόρου OEM ( $p < 0.001$ ) και ένα κατά 11% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης θανατηφόρου ή μη KAN ( $p = NS$ ). Το όφελος από τη χορήγηση της φαινοφιμπράτης ήταν πολύ σημαντικότερο όταν το φάρμακο χορηγήθηκε σε ασθενείς που χαρακτηρίζονταν από αθηρογόνο δυσλιπιδαιμία, δηλαδή από υψηλά επίπεδα TG ή/και από χαμηλά επίπεδα HDL-CHOL. Οι ασθενείς με αυτό το λιπιδαιμικό προφίλ διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων και στην περίπτωση αυτή η χορήγηση φαινοφιμπράτης μείωσε τον κίνδυνο εμφάνισης KAN κατά 27% ( $p = 0.005$ ). Πρέπει να επισημανθεί ότι μεγαλύτερο ποσοστό ατόμων που πήραν εικονικό φάρμακο (17%) έλαβαν κάποια στιγμή στη διάρκεια της παρακολούθησης στατίνη σε σύγκριση με τα άτομα που πήραν μόνο

φαινοφιμπράτη (8%) και αυτό το γεγονός πιθανά οδήγησε σε υποεκτίμηση της αποτελεσματικότητας της φαινοφιμπράτης.

Η μελέτη ACCORD εκτίμησε την επίδραση της φαινοφιμπράτης (54 ή 160 mg/ημέρα, ανάλογα με τη νεφρική λειτουργία) σε 5518 ασθενείς με ΣΔ οι οποίοι ήδη έπαιρναν σιμβαστατίνη 20 ή 40 mg/ημέρα σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο στον ΚΑΝ κίνδυνο σε περίπου 5 χρόνια παρακολούθησης (294). Δεν υπήρχε διαφορά στις δύο ομάδες όσον αφορά το πρωτεύον καταληκτικό σημείο της μελέτης (μη θανατηφόρο ΟΕΜ, μη θανατηφόρο ΑΕΕ και καρδιαγγειακός θάνατος) (2.2% για την ομάδα της φαινοφιμπράτης και 2.4% για την ομάδα του εικονικού φαρμάκου,  $p:NS$ ), που μεταφράζεται σε ένα σχετικό κίνδυνο ίσο με 0.92 (95% CI 0.79-1.08) (357). Πρέπει να επισημανθεί ότι παρατηρήθηκε μια σημαντική διαφορά στον κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ στους άνδρες που πήραν φαινοφιμπράτη (16% μικρότερος ΚΑΝ κίνδυνος σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο), ενώ στις γυναίκες ο κίνδυνος εμφάνισης ΚΑΝ ήταν κατά 38% μεγαλύτερος σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (357).

Τέλος, διάφορες μελέτες εκτίμησαν την επίδραση της φαινοφιμπράτης στις μικροαγγειακές επιπλοκές του ΣΔ. Για παράδειγμα, η μελέτη FIELD έδειξε σημαντική μείωση (κατά 31%,  $p<0.0001$ ) της εξέλιξης της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου (358). Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα της μελέτης ACCORD (359). Τέλος, η μελέτη FIELD έδειξε ότι η φαινοφιμπράτη μείωσε την αλβουμινουρία και καθυστέρησε την εξέλιξη της νεφρικής βλάβης (όπως αυτή εκτιμήθηκε από το ρυθμό σπειραματικής διήθησης, glomerular filtration rate, GFR) σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου (360).

### **3.7.3 Εξετιμίμηση (Εικόνα 6)**

Η μονοθεραπεία με εξετιμίμηση μειώνει τη συγκέντρωση της LDL-CHOL κατά 7-18% (361, 362). Ωστόσο, πρέπει να επισημανθεί ότι υπάρχει σημαντική διαφορά από άτομο σε άτομο όσον αφορά την αποτελεσματικότητα της εξετιμίμησης. Π.χ. σε δύο πρόσφατες μελέτες η επίδραση της εξετιμίμησης στα επίπεδα της LDL-CHOL κυμάνθηκε από -60% έως +13% και από -45% έως +11% (318). Το γεγονός αυτό πιθανά οφείλεται στη διαφορετική απορρόφηση της χοληστερόλης από το ΓΕΣ (363). Η εξετιμίμηση αυξάνει τη συγκέντρωση της HDL-CHOL κατά 1% - 6% (298), ενώ τα επίπεδα των TG στον ορό μειώνονται κατά 2% - 9%. Πρέπει να επισημανθεί ότι η μείωση των TG είναι μεγαλύτερη σε άτομα με αυξημένα επίπεδα TG πριν από την έναρξη της θεραπείας (298, 364).

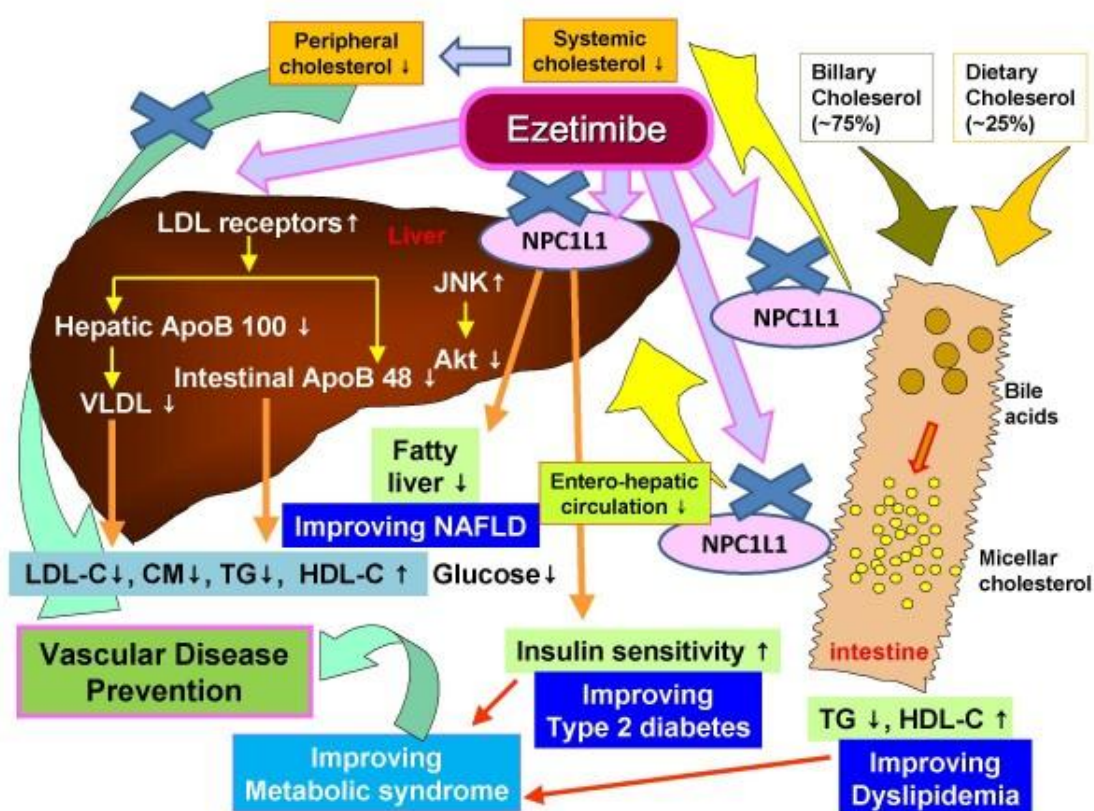
Παρά τα θετικά αποτελέσματα της εξετιμίμπης όσον αφορά τη βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ, τα αποτελέσματα των κλινικών μελετών δεν ήταν πάντα τα αναμενόμενα. Η μελέτη ENHANCE (Ezetimibe and Simvastatin in Hypercholesterolemia Enhances Atherosclerosis Regression) εκτίμησε την αποτελεσματικότητα της συγχορήγησης της εξετιμίμπης με σιμβαστατίνη σε ασθενείς με ετερόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία (365). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, ο συνδυασμός των δύο φαρμάκων δεν οδήγησε σε σημαντική μείωση του CIMT σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με σιμβαστατίνη. Μία υποανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης SANDS (Stop Atherosclerosis in Native DiabeticS) (366) απέτυχε να αναδείξει υπεροχή του συνδυασμού στατινών με εξετιμίμπη σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με στατίνες όσον αφορά την υποστροφή της πάχυνσης του CIMT σε διαβητικούς ασθενείς. Πρέπει ωστόσο να επισημανθεί ότι η ομάδα του συνδυασμού είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερου βαθμού μείωση του CIMT (κατά 0.025 mm σε 36 μήνες παρακολούθησης) που όμως δεν ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από τη μείωση κατά 0.012 mm που παρατηρήθηκε στην ομάδα της μονοθεραπείας με στατίνη. Επιπρόσθετα, η μελέτη VYCTOR (Vytorin on Carotid intima-media Thickness on Overall arterial Rigidity) έδειξε ότι η συγχορήγηση εξετιμίμπης με σιμβαστατίνη είχε παρόμοια αποτελέσματα στη μεταβολή του CIMT με τη χορήγηση υψηλών δόσεων πραβαστατίνης και σιμβαστατίνης (367). Πρέπει να επισημανθεί ότι μία πρόσφατη μελέτη, η μελέτη ARBITER 6–HALTS (Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing cholesterol 6 – HDL And LDL Treatment Strategies), που συνέκρινε το συνδυασμό στατίνης με εξετιμίμπη με το συνδυασμό στατίνης με νικοτινικό οξύ έδειξε ότι ενώ η χορήγηση του νικοτινικού οξέος μείωσε το CIMT, η εξετιμίμπη αύξησε το CIMT παρά το γεγονός ότι η μείωση της LDL-CHOL ήταν μεγαλύτερη με τη χορήγηση εξετιμίμπης σε σύγκριση με τη χορήγηση νικοτινικού οξέος (368). Αντίθετα, η μελέτη SEAS (Simvastatin and Ezetimibe in Aortic Stenosis) έδειξε ότι ο συνδυασμός εξετιμίμπης με σιμβαστατίνη 40 mg μείωσε τις επεμβάσεις επαναγγείωσης σε ασθενείς με στένωση της αορτικής βαλβίδας. Ωστόσο, δεν είχε καμία επίδραση στο πρωτογενές καταληκτικό σημείο, που ήταν ο συνδυασμός καρδιαγγειακών συμβαμάτων και επεμβάσεων αντικατάστασης της αορτικής βαλβίδας (369). Συγκεκριμένα, μετά από 52 μήνες παρακολούθησης ο σχετικός κίνδυνος εμφάνισης του πρωτογενούς καταληκτικού σημείου ήταν 0.96 (95% CI 0.83-1.12, p: NS) για την ομάδα της σιμβαστατίνης-εξετιμίμπης σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου, ενώ ο σχετικός κίνδυνος επέμβασης για την

αντικατάσταση της αορτικής βαλβίδας ήταν 1.00 (95% CI 0.84-1.18, p:NS). Ωστόσο, ο σχετικός κίνδυνος εμφάνισης ΚΑΝ στην ομάδα της σιμβαστατίνης-εζετιμίμης ήταν 0.78 (95% CI 0.68-0.97, p:0.02) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (μείωση κατά 22%).

Η μελέτη SHARP, που δημοσιεύθηκε πολύ πρόσφατα, συνέκρινε την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού σιμβαστατίνης 20 mg με εζετιμίμη σε 9000 ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο στον κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ (318). Στα περίπου 5 χρόνια παρακολούθησης, οι ασθενείς της ομάδας του συνδυασμού είχαν κατά 17% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης του πρωτογενούς καταληκτικού σημείου (σημαντικό αθηροσκληρωτικό σύμβαμα) (σχετικός κίνδυνος 0.83, 95% CI 0.74-0.94, p:0.0021) σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου (370).

Περισσότερα και πιο ξεκάθαρα δεδομένα για την επίδραση της εζετιμίμης στην καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα θα προκύψουν με την ολοκλήρωση της μελέτης IMPROVE-IT (IMProved Reduction of OuTCHOLomes: Vytorin Efficacy International Trial) σε 18000 ασθενείς με ΟΣΣ που συγκρίνει τη μονοθεραπεία με σιμβαστατίνη 40 mg με το συνδυασμό σιμβαστατίνης 40 mg με εζετιμίμη (371).

Εικόνα 6. Προτεινόμενος μηχανισμός της αντιαθηρογόνου δράσης της εξετιμίμπης. LDL-CHOL, χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών; ox-LDL, οξειδωμένη LDL; VEGF, αυξητικός παράγοντας του αγγειακού ενδοθηλίου; LPS, λιποπολυσακχαρίδη; MCP-1, χημειοτακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων-1; CM, χυλομικρά; TG, τριγλυκερίδια; HDL-CHOL, χοληστερόλη των υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών; NAFLD, μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος; NPC1L1, Nieman-Pick C1-like 1; apoB, απολιποπρωτεΐνη B; VLDL, πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες; JNK, τυροσινική κινάση της οικογένειας janus



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### 4.1 Η συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A<sub>2</sub> (lipoprotein associated phospholipase A<sub>2</sub>): γενικά

#### 4.1.1 Ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF)

Ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (platelet activating factor, PAF) είναι ένα αιθερικό φωσφολιπίδιο με πολυάριθμες βιολογικές δράσεις. Περιγράφηκε για πρώτη φορά στις αρχές της δεκαετίας του '70 ως ένας φλεγμονώδης μεσολαβητής, ο οποίος εκκρίνεται από τα ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα κατά τη διάρκεια της αλλεργικής αντίδρασης (372). Οφείλει την ονομασία του στην ιδιότητα του να επάγει την έκκριση βιοδραστικών ουσιών από τα αιμοπετάλια, καθώς και τη συσσώρευση αυτών των κυττάρων (373). Η χημική δομή του PAF, που προσδιορίστηκε από τους Δημόπουλο και συνεργάτες (374), είναι η εξής: 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη.

*In vitro* πειράματα έδειξαν ότι διάφοροι τύποι ανθρώπινων κυττάρων έχουν την ικανότητα να παράγουν PAF τόσο σε βασικές συνθήκες όσο και μετά από κατάλληλα ερεθίσματα. Τέτοια κύτταρα είναι τα ενδοθηλιακά κύτταρα (375), τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα (376), τα ηωσινόφιλα, τα μακροφάγα, τα μονοκύτταρα (376), τα αιμοπετάλια, τα μαστοκύτταρα, καθώς και τα σπερματοζώαρια (377). Η παραγωγή του PAF σε αυτά τα κύτταρα γίνεται διαμέσου δύο βασικών ενζυμικών οδών: της οδού ανάπλασης (remodeling pathway) και της οδού που είναι υπεύθυνη για την «εκ νέου» σύνθεση του PAF (de novo pathway). Η οδός της ανάπλασης του PAF περιλαμβάνει τις παρακάτω αντιδράσεις: αρχικά με τη δράση μιας ενδοκυττάριας φωσφολιπάσης A<sub>2</sub> ή μιας ανεξάρτητης από το συνένζυμο A ακυλοτρανσφεράσης υδρολύεται ο εστερικός δεσμός στη θέση 2 της 1-O-αλκυλο-2-ακυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνης με αποτέλεσμα το σχηματισμό 1-O-αλκυλο-2-λυσσο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνης (lyso-PAF). Ο lyso-PAF που παράγεται με αυτό τον τρόπο ακετυλιώνεται με τη δράση μιας acetylCoA-lysoPAF ακετυλοτρανσφεράσης με αποτέλεσμα το σχηματισμό 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνης (PAF) (378, 379). Η οδός αυτή θεωρείται υπεύθυνη για την παραγωγή του PAF μετά από κατάλληλη κυτταρική ενεργοποίηση, ενώ αντίθετα δεν συνεισφέρει σημαντικά στη βασική, συνεχή παραγωγή του μορίου. Η δεύτερη ενζυμική οδός, η οποία είναι υπεύθυνη για την «εκ νέου» σύνθεση του PAF περιλαμβάνει τις εξής αντιδράσεις: το αρχικό υπόστρωμα 1-O-αλκυλο-2-λυσσο-sn-γλυκερο-3-φωσφορικό οξύ ακετυλιώνεται

στη θέση 2 με τη δράση μιας acetylCoA ακετυλοτρανσφεράσης με αποτέλεσμα τη δημιουργία 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφορικού οξέος. Στη συνέχεια, με τη δράση μιας φωσφοϋδρολάσης, απομακρύνεται η φωσφορική ομάδα από τη θέση 3 της γλυκερόλης και στη θέση της τοποθετείται μια ομάδα φωσφοχολίνης. Η τελευταία αντίδραση καταλύεται από μια CDP-φωσφοχολινοτρανσφεράση, η οποία μεταφέρει την ομάδα της φωσφοχολίνης από την CDP-χολίνη στη θέση 3 της γλυκερόλης (380). Αυτή η οδός είναι υπεύθυνη για τη βασική, συνεχή παραγωγή του PAF χωρίς να απαιτείται κυτταρική ενεργοποίηση.

Ο PAF, ο οποίος παράγεται από τα διάφορα κύτταρα είτε παραμένει στο κυτταρόπλασμα, όπου δρα ως ενδοκυττάριος αγγελιοφόρος (381), είτε εκκρίνεται στο μεσοκυττάριο υγρό. Εκεί, δρώντας ως παρακρινές μόριο ενεργοποιεί τα γειτονικά κύτταρα (π.χ. τα αιμοπετάλια, τα μακροφάγα, τα λεία μυϊκά κύτταρα κτλ) επάγοντας βιολογικά φαινόμενα, όπως την προσκόλληση των αιμοπεταλίων, τη βιοσύνθεση εικοσανοειδών, την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου κ.τ.λ. (382, 383). Εξαιρέση σε αυτό τον κανόνα αποτελούν τα ενδοθηλιακά κύτταρα (384). Ο PAF που παράγεται σε αυτά τα κύτταρα δεν εκκρίνεται στο μεσοκυττάριο υγρό, αλλά μεταφέρεται στην επιφάνεια του κυττάρου όπου αλληλεπιδρώντας με τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα επάγει την προσκόλλησή τους στο ενδοθήλιο και στη συνέχεια το χημειοτακτισμό τους, με αποτέλεσμα τη διείσδυση τους στον υπενδοθηλιακό χώρο (385).

Ο PAF ασκεί τις βιολογικές του δράσεις διαμέσου ενός ειδικού διαμεμβρανικού υποδοχέα (386), ο οποίος εμφανίζει 7 διαμεμβρανικές περιοχές. Εξαιτίας αυτής της διαμόρφωσης, η οποία προσομοιάζει με σερπαντίνα, ο υποδοχέας του PAF κατατάσσεται στην οικογένεια των υποδοχέων «σερπαντίνων». Η σύνδεση του PAF με τον υποδοχέα του έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση G πρωτεϊνών, διαμέσου των οποίων εξασφαλίζεται η ενδοκυττάρια μετάδοση του ερεθίσματος. Διάφορα φωσφολιπίδια (κυρίως οξειδωμένα φωσφολιπίδια, τα οποία προέρχονται από την οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων των λιποπρωτεϊνών και των κυτταρικών μεμβρανών), εξαιτίας της δομικής τους ομοιότητας με τον PAF, έχουν την ικανότητα να συνδέονται με τον υποδοχέα του και έτσι να αναπαράγουν αρκετές από τις βιολογικές του δράσεις (PAF-like phospholipids) (387). Η μεγάλη βιολογική δραστηριότητα του PAF και των PAF-like οξειδωμένων φωσφολιπιδίων, καθώς και η ικανότητα τους να ασκούν τις δράσεις τους σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (της τάξης των  $10^{-12}$  ως  $10^{-9}$  M) επιβάλλει την



ακριβή ρύθμιση των επιπέδων τους στο πλάσμα και τους ιστούς. Η διατήρηση των επιπέδων του PAF στα φυσιολογικά επίπεδα γίνεται με τη ρύθμιση τόσο του ρυθμού παραγωγής του όσο και του ρυθμού του καταβολισμού του. Αντίθετα τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια παράγονται με ανεξέλεγκτο τρόπο, ένα γεγονός που καθιστά τον καταβολισμό τους ως το μοναδικό τρόπο ρύθμισης της βιολογικής τους δραστηριότητας. Ο καταβολισμός του PAF και των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων γίνεται κυρίως με τη δράση της PAF-ακετυλοϋδρολάσης (PAF-AH).

Ο όρος PAF-AH περιγράφει μια οικογένεια ενζύμων τα οποία έχουν την ικανότητα να αποικοδομούν τόσο τον PAF όσο και διάφορα οξειδωμένα φωσφολιπίδια υδρόλυοντας τον εστερικό δεσμό στη θέση 2 της γλυκερόλης. Η οικογένεια αυτή περιλαμβάνει διάφορα ενδοκυττάρια ισοένζυμα, καθώς και την PAF-AH του πλάσματος (Lp-PLA<sub>2</sub>) (388).

#### **4.1.2 Εκκρινόμενη μορφή της PAF-AH (Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος)**

##### *4.1.2.1 Δομή*

Η Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους Farr και συνεργάτες (389), οι οποίοι παρατήρησαν ότι ο PAF χάνει τη βιολογική του δραστηριότητα όταν επωασθεί παρουσία ορού κουνελιού. Στη συνέχεια οι Blank και συνεργάτες (390) διαπίστωσαν ότι η απενεργοποίηση του PAF οφείλεται στην υδρόλυση του εστερικού δεσμού στη θέση 2 του σκελετού της γλυκερόλης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία του βιολογικά αδρανούς lyso-PAF. Το ένζυμο που καταλύει την αντίδραση αυτή ονομάστηκε ακετυλοϋδρολάση του παράγοντα των αιμοπεταλίων (PAF-AH ή Lp-PLA<sub>2</sub>). Η πρωτοταγής δομή του ενζύμου προσδιορίστηκε για πρώτη φορά το 1995, οπότε και έγινε δυνατή η κλωνοποίηση του (391, 392). Το cDNA της Lp-PLA<sub>2</sub> κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη μεγέθους 441 αμινοξέων. Τα πρώτα 17 αμινοξέα (Met-1 ως Ala-17) αποτελούν πιθανά το σηματοδοτικό πεπτίδιο που είναι υπεύθυνο για την έκκριση του ενζύμου δεδομένου ότι δεν έχουν βρεθεί στην ώριμη πρωτεΐνη αλλά ούτε και στα ενδοκυττάρια ισοένζυμα. Στην ώριμη πρωτεΐνη δεν ανευρίσκονται επίσης ούτε τα επόμενα 24 αμινοξέα (Val-18 ως Lys-41), τα οποία είτε αποτελούν προπεπτίδιο είτε η απομάκρυνση τους αποτελεί πειραματικό σφάλμα που συντελείται κατά την απομόνωση του ενζύμου. Το υπολογιζόμενο με βάση την αλληλουχία των αμινοξέων μοριακό βάρος είναι 45,4 kDa και συμφωνεί απόλυτα με το μοριακό βάρος που υπολογίσθηκε για το απομονωμένο ένζυμο σε SDS-PAGE (393). Η αλληλουχία των αμινοξέων της Lp-PLA<sub>2</sub> είναι μοναδική και δεν παρουσιάζει

ομοιότητες με την αλληλουχία άλλων γνωστών πρωτεϊνών. Εξαίρεση αποτελεί το πενταπεπτιδίο GX SXG, το οποίο παρατηρείται σε ουδέτερες λιπάσες και εστεράσες (394, 395), με την κεντρική σερίνη να αποτελεί το πυρηνόφιλο αμινοξύ του ενεργού κέντρου.

Το ενεργό κέντρο του ενζύμου, όπως προσδιορίστηκε με θέση κατευθυνόμενη μεταλλαξιγένεση (site directed mutagenesis), αποτελείται από τρία αμινοξέα που συνδέονται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου: την Ser-273 (η οποία αποτελεί το κεντρικό αμινοξύ στο πενταπεπτιδίο GX SXG), το Asp-296 και την His-351 (396). Το 2008 οι Samanta και συν (397) ανέλυσαν την κρυσταλλική δομή της Lp-PLA<sub>2</sub> με διάθλαση με ακτίνες χ έως το μέγεθος του 1.5 angstrom (Å). Με αυτό τον τρόπο φάνηκε ότι η Lp-PLA<sub>2</sub> έχει την κλασική δομή μιας άλφα/βήτα υδρολάσης και περιέχει την καταλυτική τριάδα των αμινοξέων Ser273, His351, and Asp296.

Η τριτοταγής δομή της Lp-PLA<sub>2</sub> δεν είναι γνωστή με ακρίβεια. Με βάση τα χαρακτηριστικά του ενεργού κέντρου (πενταπεπτιδίο GX SXG), καθώς και την ομοιότητα των καταλυτικών χαρακτηριστικών της Lp-PLA<sub>2</sub> με τις διάφορες ουδέτερες λιπάσες και σερίνεστεράσες, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι η δευτεροταγής δομή του ενζύμου μοιάζει με την αντίστοιχη των ουδέτερων λιπασών (398). Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο, η πολυπεπτιδική αλυσίδα του ενζύμου συνίσταται από μία κεντρική β-πτυχωτή επιφάνεια, η οποία αποτελείται από παράλληλα διατεταγμένα β-φύλλα που συνδέονται μεταξύ τους με α-έλικες. Το ενεργό κέντρο βρίσκεται στο καρβοξυλικό άκρο ενός β-φύλλου και αποτελείται από 3 αμινοξέα που συνδέονται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου. Πιο συγκεκριμένα, το πυρηνόφιλο αμινοξύ του ενεργού κέντρου (δηλ. η Ser-273) βρίσκεται στο καρβοξυτελικό άκρο ενός από τα κεντρικά β-φύλλα. Στη συνέχεια ακολουθεί μια απότομη αναδίπλωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, η οποία συνεχίζεται σε μία α-έλικα. Η αναδίπλωση αυτή είναι γνωστή στην βιβλιογραφία ως πυρηνόφιλος «αγκώνας» και σχηματίζεται από το πενταπεπτιδίο GX SXG (399). Η υπόλοιπη πολυπεπτιδική αλυσίδα αναδιπλώνεται κατά τέτοιο τρόπο ώστε τα άλλα δύο αμινοξέα της καταλυτικής τριάδας (το Asp-296 και η His-351) να έρθουν κοντά στην Ser-273 και να συνδεθούν μαζί της με δεσμούς υδρογόνου. Στα ένζυμα της ομάδας των ουδέτερων λιπασών (π.χ. παγκρεατική λιπάση) το ενεργό κέντρο βρίσκεται σε μια υδρόφοβη πτυχή του μορίου, η οποία καλύπτεται από α-έλικες ή θηλιές όταν το ένζυμο βρίσκεται σε ανενεργό μορφή. Κατά την επαφή του ενζύμου με μια λιπιδιακή επιφάνεια η διαμόρφωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας αλλάζει και έτσι το ενεργό κέντρο εκτίθεται στο υπόστρωμα. Υπέρ του μοντέλου

αυτού της δευτεροταγούς δομής της Lp-PLA<sub>2</sub>, σύμφωνα με το οποίο το μεγαλύτερο μέρος της πολυπεπτιδικής αλυσίδας συμμετέχει στη διαμόρφωση του κεντρικού πυρήνα του ενζύμου, συνηγορεί η παρατήρηση ότι η απομάκρυνση 21 αμινοξέων από το καρβοξυτελικό άκρο του μορίου ή 54 αμινοξέων από το αμινοτελικό άκρο (στα οποία δεν περιλαμβάνονται τα αμινοξέα της καταλυτικής τριάδας) οδηγεί σε πλήρη απώλεια της ενζυμικής δραστηριότητας (396). Επιπρόσθετα, τα αμινοξέα στις θέσεις 189-239 του καρβοξυτελικού άκρου του κεντρικού β-πτυχωτού φύλλου φαίνεται ότι καθορίζουν την εξειδίκευση του υποστρώματος και την ικανότητα σύνδεσης με τις λιποπρωτεΐνες (400). Τέλος, υπάρχουν ενδείξεις ότι το αμινοξύ Tyr-205, που εντοπίζεται στον πυρηνόφιλο «αγκώνα», είναι απαραίτητο για τη σύνδεση της Lp-PLA<sub>2</sub> με τις LDL (400).

#### *4.1.2.2 Κυτταρική προέλευση, φυσικοχημικές ιδιότητες και εξειδίκευση υποστρώματος*

Οι αρχικές μελέτες στις οποίες εξετάστηκε η προέλευση της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος έδειξαν ότι μια σειρά από κύτταρα, όπως τα μακροφάγα (401), τα αιμοπετάλια (402, 403), τα ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα (404) και τα ηπατοκύτταρα (405) έχουν την ικανότητα να παράγουν και να εκκρίνουν το ένζυμο του πλάσματος. Έτσι, αν και η συμβολή του κάθε κυτταρικού τύπου στη διαμόρφωση της συνολικής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος δεν ήταν γνωστή με ακρίβεια, με βάση τα αποτελέσματα αυτών των μελετών θεωρήθηκε ότι τα μακροφάγα και τα ηπατοκύτταρα αποτελούν τις βασικές πηγές προέλευσης του ενζύμου. Ωστόσο, μελέτες σε ασθενείς με ετερόλογη μεταμόσχευση του μυελού των οστών έδειξαν ότι το σύνολο της συγκέντρωσης της Lp-PLA<sub>2</sub> στο πλάσμα προέρχονταν από τα αιμοποιητικά κύτταρα και όχι από τα ηπατοκύτταρα (406). Κατά συνέπεια, φαίνεται ότι η Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος παράγεται κυρίως από τα μακροφάγα, τα οποία ωστόσο διατηρούν ένα μικρό μέρος από την ενεργότητα του ενζύμου (395). Παρά το γεγονός ότι δεν έχουν πραγματοποιηθεί αναλύσεις της κατανομής της Lp-PLA<sub>2</sub> στα διάφορα όργανα του σώματος, αυτή μπορεί να προβλεφθεί από την κατανομή του mRNA των κυττάρων των αντίστοιχων οργάνων. Για παράδειγμα, τα δεδομένα από τη βάση δεδομένων Gene Expression Omnibus δείχνουν ότι υπάρχει σημαντική έκφραση της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος στον εγκέφαλο, στο λευκό λιπώδη ιστό και στον πλακούντα (395). Τέλος, πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι υπάρχει έκφραση της Lp-PLA<sub>2</sub> στην ανθρώπινη αορτή (407), καθώς και σε άλλους ιστούς. Όσον αφορά την παραγωγή του ενζύμου από τα

ηπατοκύτταρα, μελέτες έδειξαν ότι τα κύτταρα αυτά παράγουν σημαντικές ποσότητες Lp-PLA<sub>2</sub> μετά από κατάλληλο ερεθισμό αλλά το μεγαλύτερο μέρος αυτής της ενζυμικής ενεργότητας εκκρίνεται στη χολή και όχι στο πλάσμα (408). Αντίθετα τα κύτταρα Kirpffer του ήπατος (τα οποία ανήκουν στο σύστημα μονοκυττάρων-μακροφάγων) μετά από ερεθισμό με ενδοτοξίνη εκκρίνουν το μεγαλύτερο ποσοστό του παραγόμενου ενζύμου στο πλάσμα (408).

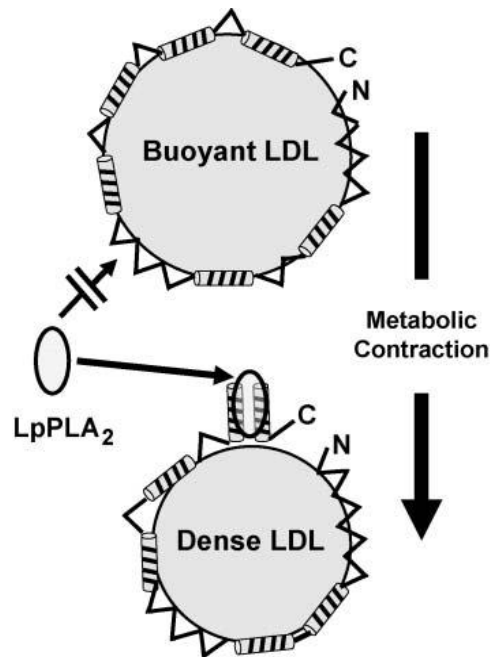
Η Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος είναι ένα υδρόφοβο μόριο, το οποίο κυκλοφορεί συνδεδεμένο με τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια (393). Ενζυμική ενεργότητα που υδρολύει τον PAF έχει βρεθεί σε όλες τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν την απολιποπρωτεΐνη B<sub>100</sub> (apoB<sub>100</sub>) (VLDL, IDL και LDL), καθώς και στις HDL (409). Συγκεκριμένα, το 70-80% της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> ανιχνεύεται στις LDL και το υπόλοιπο 20-30% στις HDL (400). Η ενεργότητα αυτή εάν εκφρασθεί ανά mg ολικής πρωτεΐνης είναι υψηλότερη στις LDL σε σύγκριση με τις VLDL και IDL. Αντίθετα, αν η ενεργότητα εκφραστεί ανά mg apoB<sub>100</sub>, τότε όλες αυτές οι λιποπρωτεΐνες έχουν παραπλήσια ενζυμική ενεργότητα (409). Τέλος, πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι η ειδική ενεργότητα του ενζύμου (δηλαδή, η ενεργότητα ανά μονάδα μάζας του ενζύμου) είναι παρόμοια σε όλο το φάσμα των λιποπρωτεϊνών (410). Η κατανομή του ενζύμου στα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών δεν είναι ομοιόμορφη. Έτσι, τόσο στις LDL όσο και στις HDL το μεγαλύτερο μέρος της ενεργότητας του ενζύμου ανιχνεύεται στα μικρά, πυκνά λιποπρωτεϊνικά σωματίδια (411, 412). Επιπρόσθετα, πρέπει να επισημανθεί ότι δεν περιέχουν όλα τα LDL σωματίδια Lp-PLA<sub>2</sub>. Συγκεκριμένα, 1/10000 μεγάλα και 1/100 sdLDL περιέχει Lp-PLA<sub>2</sub> (412), δηλ. τα περισσότερα LDL σωματίδια δεν περιέχουν Lp-PLA<sub>2</sub>.

Όπως αναφέρθηκε, η Lp-PLA<sub>2</sub> είναι εκλεκτικά συνδεδεμένη με τα sdLDL σωματίδια, τα οποία είναι πλούσια σε TG, apoCIII και κεκορεσμένα λιπαρά οξέα. Η εκλεκτική αυτή σύνδεση πιθανά δεν επηρεάζεται από το γεγονός ότι τα sdLDL σωματίδια είναι αρνητικά φορτισμένα ή επειδή περιέχουν μεγάλες ποσότητες TG, γιατί και τα μεγαλύτερα LDL σωματίδια, που περιέχουν σχετικά μεγάλες ποσότητες αυτών των λιπιδίων και είναι επίσης αρνητικά φορτισμένα, εκφράζουν ελάχιστη ενεργότητα Lp-PLA<sub>2</sub>. Πιθανά αυτή η διαφορά οφείλεται στη σύνδεση της Lp-PLA<sub>2</sub> με περιοχές της apoB<sub>100</sub> που δεν είναι εύκολα προσπελάσιμες ή εκτεθειμένες στα μεγάλα LDL σωματίδια (412) **(εικόνα 7)**.

Ο τρόπος με τον οποίο η Lp-PLA<sub>2</sub> συνδέεται με τις LDL δεν ήταν γνωστός μέχρι πρόσφατα. Παρόλα αυτά το γεγονός ότι κατά την απομόνωση του ενζύμου

απομονώνεται και ένα τμήμα από το καρβοξυτελικό άκρο της apoB<sub>100</sub>, καθώς και το εύρημα ότι σε άτομα με υπο- ή α-βηταλιποπρωτεϊναιμία το ένζυμο συνδέεται αποκλειστικά με τις HDL συνηγορούν υπέρ μιας αλληλεπίδρασης του ενζύμου με την

**Εικόνα 7. Σχηματική επεξήγηση της εκλεκτικής σύνδεσης της Lp-PLA<sub>2</sub> με τα sdLDL σωματίδια**

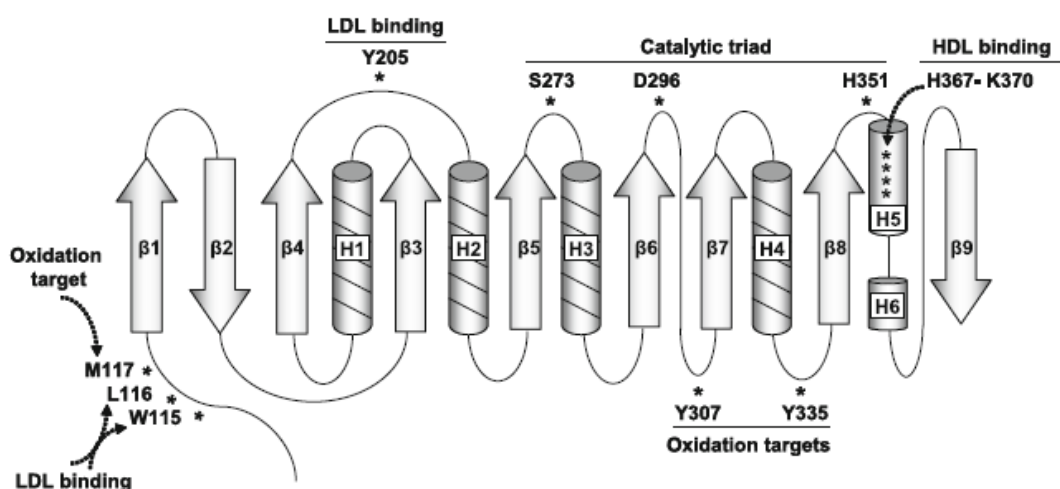


apoB<sub>100</sub>. Με θέση-κατευθυνόμενη μεταλλαξιγένεση (site mutagenesis) διαπιστώθηκε ότι τα αμινοξέα του ενζύμου που παίρνουν μέρος σε αυτή τη σύνδεση είναι η Tyr-205, καθώς και η Try-115 και η Leu-116 (**εικόνα 8**) (413). Ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση ότι η εισαγωγή των δύο τελευταίων αμινοξέων στις αντίστοιχες θέσεις της Lp-PLA<sub>2</sub> του ποντικού, η οποία συνδέεται αποκλειστικά με την HDL, οδηγεί στο σχηματισμό ενός ενζύμου το οποίο έχει την ικανότητα να συνδέεται με την ανθρώπινη LDL.

Μια άλλη λιποπρωτεΐνη η οποία περιέχει υψηλά επίπεδα ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> είναι η λιποπρωτεΐνη Lp(a) (414). Το σωματίδιο της Lp(a) αποτελείται βασικά από ένα σωματίδιο LDL, η apoB του οποίου είναι συνδεδεμένη με ένα δισουλφιδικό δεσμό με την απολιποπρωτεΐνη (a) (415). Έχει αναφερθεί ότι η Lp(a) περιέχει 7 φορές μεγαλύτερη ενεργότητα Lp-PLA<sub>2</sub> ανά mg πρωτεΐνης και 1.5 με 2 φορές περισσότερη μάζα Lp-PLA<sub>2</sub> σε σύγκριση με την LDL (414, 415). Ωστόσο, η

ενεργότητα του ενζύμου στην 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 (416). Ανοσοκαταβύθιση της Lp(a) με αντισώματα έναντι της apoB οδηγεί σε πλήρη απώλεια της ενζυμικής ενεργότητας.

### Εικόνα 8. Σχηματική απεικόνιση των κυριότερων θέσεων του γονιδιώματος της Lp-PLA<sub>2</sub>



Αντίθετα, η χρησιμοποίηση αντισωμάτων έναντι της apo(a) δεν επηρεάζει την δραστηριότητα της Lp-PLA<sub>2</sub>, ένα εύρημα που υποδηλώνει ότι και στην Lp(a) το ένζυμο συνδέεται με την apoB. Φαίνεται ότι το καρβοξυτελικό άκρο της apoB<sub>100</sub> και ειδικότερα τα αμινοξέα 4119-4279 συμμετέχουν στη σύνδεση με την Lp-PLA<sub>2</sub> (413). Έτσι λοιπόν μέχρι σήμερα ο μόνος πειραματικά επιβεβαιωμένος τρόπος σύνδεσης της Lp-PLA<sub>2</sub> με τα σωματίδια της LDL είναι διαμέσου της apoB. Παρόλα αυτά, διάφορες παρατηρήσεις δείχνουν ότι πιθανά αυτός ο τρόπος σύνδεσης δεν είναι ο μοναδικός. Οι παρατηρήσεις αυτές προέρχονται από πειράματα ενσωμάτωσης απομονωμένου ενζύμου Lp-PLA<sub>2</sub> σε LDL σωματίδια των οποίων η ενδογενής Lp-PLA<sub>2</sub> είχε απενεργοποιηθεί με DFP (diisopropylfluorophosphate), ένα αναστολέα, ο οποίος συνδέεται μη αντιστρεπτά στο ενεργό κέντρο και εμποδίζει την υδρόλυση του υποστρώματος. Στα πειράματα αυτά το απομονωμένο ένζυμο συνδέθηκε στα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια παρά την ύπαρξη του ενδογενούς (απενεργοποιημένου) ενζύμου (417). Κατά συνέπεια, είτε η apoB περιέχει περισσότερες της μίας θέσεις πρόσδεσης του ενζύμου είτε το απομονωμένο ένζυμο συνδέεται σε κάποιο άλλο σημείο του σωματιδίου. Η ικανότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> να συνδέεται (και μάλιστα μη

αντιστρεπτά) σε κυστίδια φωσφολιπιδίων οδηγεί στην υπόθεση ότι το ένζυμο μπορεί να συνδεθεί με τη στιβάδα των φωσφολιπιδίων της LDL (418).

Μια άλλη κατηγορία λιποπρωτεϊνών που περιέχουν σημαντικά ποσά Lp-PLA<sub>2</sub> είναι οι HDL (HDL-Lp-PLA<sub>2</sub>). Ποσοτικά οι HDL εκφράζουν το 30% της ενεργότητας του πλάσματος (395), αν και η κατανομή του ενζύμου φαίνεται ότι επηρεάζεται από τον τρόπο απομόνωσης των λιποπρωτεϊνών. Συγκεκριμένα, εάν η απομόνωση γίνει με υπερφυγοκέντρηση βαθμίδωσης πυκνοτήτων ένα τμήμα της Lp-PLA<sub>2</sub> των LDL αποσυνδέεται από τα LDL σωματίδια και μεταναστεύει στην περιοχή πυκνοτήτων των HDL με αποτέλεσμα την υπερεκτίμηση της ενζυμικής ενεργότητας των HDL (419). Επιπρόσθετα, μελέτες έδειξαν ότι σε χαμηλές συγκεντρώσεις PAF (που προσομοιάζουν με τις φυσιολογικές τιμές), το ένζυμο που είναι συνδεδεμένο με τις HDL είναι ανενεργό (395). Η ανικανότητα της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> να υδρολύει τον PAF δεν συσχετίζεται με το ίδιο το ένζυμο αλλά μάλλον επηρεάζεται από το λιποπρωτεϊνικό περιβάλλον το οποίο περιορίζει την πρόσβαση του PAF στο ενεργό κέντρο του ενζύμου (395). Πρόσφατα δεδομένα έδειξαν ότι για να πραγματοποιηθεί η σύνδεση της Lp-PLA<sub>2</sub> στις HDL είναι απαραίτητα ορισμένα αμινοξέα (**εικόνα 8**), τα οποία είναι μοναδικά στην ανθρώπινη Lp-PLA<sub>2</sub> (420).

Η ταυτόχρονη παρουσία της Lp-PLA<sub>2</sub> στις HDL και τις LDL αποτελεί ένα περίεργο φαινόμενο δεδομένου ότι τα δύο σωματίδια δεν έχουν κοινή μεταβολική πορεία. Παρόλα αυτά, μελέτες έδειξαν ότι το ένζυμο μπορεί να ανταλλάσσεται μεταξύ των δύο σωματιδίων και μάλιστα κατά τρόπο εξαρτώμενο από το pH (417). Συγκεκριμένα σε όξινο pH το μεγαλύτερο ποσοστό του ενζύμου μεταφέρεται στις HDL (και μάλιστα σε ένα υποπληθυσμό των HDL που περιέχει apoE), ενώ σε αλκαλικό περιβάλλον συμβαίνει το αντίθετο, δηλαδή παρατηρείται μεταφορά της Lp-PLA<sub>2</sub> στις LDL. Ωστόσο, η μεταφορά αυτή φαίνεται ότι επηρεάζεται από τον τρόπο απομόνωσης των λιποπρωτεϊνών. Έτσι, σε όξινο pH οι HDL περιέχουν σχεδόν όλη την ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος όταν ο διαχωρισμός των λιποπρωτεϊνών γίνει με υπερφυγοκέντρηση βαθμίδωσης πυκνοτήτων. Αντίθετα, όταν ο διαχωρισμός αυτός γίνει με υγρή χρωματογραφία (fast protein liquid chromatography, FPLC), οι HDL περιέχουν το 25% περίπου της συνολικής ενζυμικής ενεργότητας του πλάσματος (419). Με βάση αυτές τις παρατηρήσεις, καθώς και το γεγονός ότι αντισώματα έναντι του ενζύμου της LDL αναγνωρίζουν και το ένζυμο της HDL (421), διατυπώθηκε η άποψη ότι οι ενεργότητες των δύο σωματιδίων οφείλονται στο ίδιο ένζυμο.

Το βέλτιστο pH για τη λειτουργία της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος είναι 7-7.5, χωρίς ωστόσο η ενεργότητα του ενζύμου να μεταβάλλεται σημαντικά όταν το pH του διαλύματος κυμαίνεται μεταξύ 5 και 9 (393). Σε αντίθεση με τις άλλες φωσφολιπάσες, το ένζυμο δεν χρειάζεται ιόντα ασβεστίου για τη δράση του και δεν επηρεάζεται από την παρουσία EDTA στο διάλυμα της αντίδρασης (393). Η Lp-PLA<sub>2</sub> αναστέλλεται μη αντιστρεπτά από τον αναστολέα των σερινοεστερασών DFP, το DENP (diethyl p nitrophenyl phosphate) και το PMSF (phenylmethylsulphonyl fluoride) (393), ενώ πιο πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι ένας νέος υδατοδιαλυτός αναστολέας των σερινοεστερασών, το Pefabloc (4-[2-aminoethyl]benzenesulfonyl fluoride), αναστέλλει επίσης την ενεργότητα του ενζύμου με μη αντιστρεπτό τρόπο (422). Αντίθετα, το ένζυμο δεν επηρεάζεται από τον κλασικό αναστολέα των φωσφολιπασών A<sub>2</sub> pBPB (p-bromophenylbromide), ούτε από το αντιδραστήριο Ellman το οποίο αναστέλλει την LCAT (lecithin-cholesterol acyltransferase) (393). Τα παραπάνω χαρακτηριστικά αποδεικνύουν ότι η Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος είναι ένα ξεχωριστό ένζυμο και ότι η ενζυμική ενεργότητα που βρίσκεται στα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια και υδρολύει τον PAF δεν οφείλεται σε κάποια από τις γνωστές φωσφολιπάσες A<sub>2</sub> ή την LCAT.

Ωστόσο, το βασικό χαρακτηριστικό της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος που την ξεχωρίζει από τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας των φωσφολιπασών A<sub>2</sub> και την καθιστά μοναδική είναι η εξειδίκευση της απέναντι στα διάφορα υποστρώματα (substrate specificity) (**εικόνα 9**). Πράγματι, οι πρώτες μελέτες έδειξαν ότι το ένζυμο, σε αντίθεση με τις άλλες φωσφολιπάσες A<sub>2</sub>, παρουσιάζει σημαντική εξειδίκευση για τα φωσφολιπίδια τα οποία περιέχουν λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας στη θέση 2 του σκελετού της γλυκερόλης. Έτσι, το καλύτερο υπόστρωμα για το ένζυμο είναι ο PAF, ο οποίος περιέχει ακετυλομάδα στη θέση 2 (2 άτομα άνθρακα), ενώ η διαδοχική αύξηση του αριθμού των ατόμων άνθρακα στο λιπαρό οξύ της θέσης 2 προκαλεί προοδευτική μείωση της ταχύτητας υδρόλυσης του υποστρώματος, αν και φωσφολιπίδια με σχετικά μακρά sn-2 άλυσσο (έως και 9 μεθυλομάδες) επίσης αναγνωρίζονται από το ένζυμο (400). Ωστόσο, μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι η προσθήκη μιας πολικής ομάδας (καρβοξυλικής ή αλδεϋδικής) στο ω- άκρο των λιπαρών οξέων με περισσότερα από 6 άτομα άνθρακα που βρίσκονται εστεροποιημένα στη θέση 2 οδηγεί στο σχηματισμό φωσφολιπιδίων, τα οποία αποτελούν κατάλληλο υπόστρωμα για την Lp-PLA<sub>2</sub> (400). Τα φωσφολιπίδια αυτά, τα οποία περιέχουν πολικές ομάδες στη θέση 2, διαθέτουν αξιοσημείωτη βιολογική



δραστικότητα και σχηματίζονται *in vivo* κατά την οξειδωση των φωσφολιπιδίων των λιποπρωτεϊνών και των κυτταρικών μεμβρανών που περιέχουν πολυακόρεστα λιπαρά οξέα στη θέση 2. Έτσι, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι η αυστηρή εξειδίκευση υποστρώματος της Lp-PLA<sub>2</sub> της δίνει τη δυνατότητα να κυκλοφορεί στο πλάσμα σε ενεργό μορφή και να συμμετέχει στο μεταβολισμό του PAF και των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων, χωρίς ωστόσο να διασπά τα ακέραια φωσφολιπίδια των λιποπρωτεϊνών και των κυτταρικών μεμβρανών που δεν έχουν υποστεί οξειδωτική τροποποίηση (423).

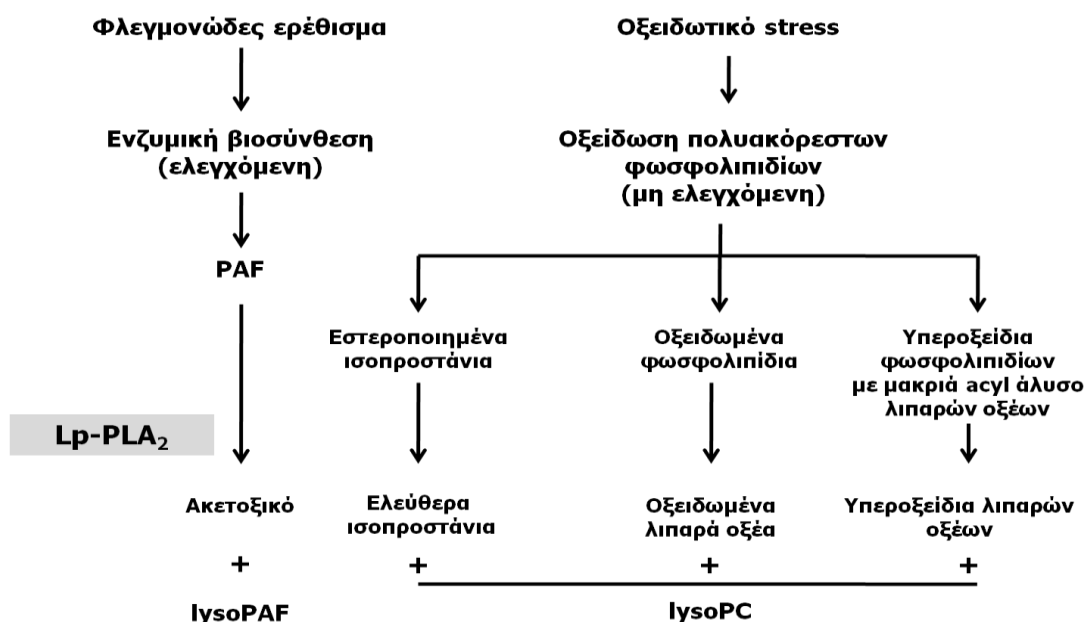
Σε αντίθεση με την εξειδίκευση της Lp-PLA<sub>2</sub> για τα λιπαρά οξέα της θέσης 2, το ένζυμο δεν επηρεάζεται από το είδος του δεσμού στη θέση 1 (αιθερικός ή εστερικός) ή το είδος της πολικής ομάδας στη θέση 3, αφού η αντικατάσταση της χολίνης από αιθανολαμίνη, γλυκερόλη, σερίνη ή υδρογόνο δεν επηρεάζει σημαντικά την ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης (393). Σύμφωνα με τους ίδιους ερευνητές, ένα άλλο χαρακτηριστικό της Lp-PLA<sub>2</sub> είναι ότι υδρολύει αποτελεσματικότερα το υπόστρωμα (π.χ. PAF), όταν αυτό είναι σε μυκηλιακή παρά σε μονομερή μορφή, ένα εύρημα που τονίζει την αναγκαιότητα ύπαρξης μιας διαχωριστικής επιφάνειας λιπιδίων-νερού για την παρουσίαση του υποστρώματος στο ενεργό κέντρο του ενζύμου (417). Η θεώρηση αυτή εξηγεί και την παρατήρηση ότι η ταχύτητα της ενζυμικής αντίδρασης αυξάνεται όταν αυτή γίνεται παρουσία λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων.

Επιπρόσθετα, πειράματα με απομονωμένη LDL και HDL, καθώς και μελέτες σε ασθενείς με συγγενείς διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων (αβηταλιποπρωτεϊναιμία και νόσο Tangier) έδειξαν ότι η Lp-PLA<sub>2</sub> των LDL υδρολύει αποτελεσματικότερα τον PAF σε σύγκριση με το ένζυμο των HDL, καθώς και ότι η ενζυμική ενεργότητα των LDL είναι σχεδόν αποκλειστικά υπεύθυνη για την *in vivo* διάσπαση του φλεγμονώδους αυτού μεσολαβητή (417). Σε αντίθεση με τα παραπάνω, μελέτες έδειξαν ότι η Lp-PLA<sub>2</sub> υδρολύει υποστρώματα που βρίσκονται στην υδατική φάση του διαλύματος (και όχι σε κάποια λιπιδιακή επιφάνεια) (418) και η ιδιότητα της αυτή εξηγεί σε σημαντικό βαθμό την εξειδίκευσή της έναντι των φωσφολιπιδίων που περιέχουν στη θέση 2 λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας ή λιπαρά οξέα με πολική ομάδα στο ω- άκρο, δεδομένου ότι αυτά τα φωσφολιπίδια έχουν μεγαλύτερη διαλυτότητα στο νερό. Έτσι, με βάση αυτή τη θεώρηση, τα απαραίτητα χαρακτηριστικά που πρέπει να έχει ένα φωσφολιπίδιο για να αποτελεί υπόστρωμα της Lp-PLA<sub>2</sub> είναι η ικανή διαλυτότητα στο νερό, καθώς και μια σχετικά υδρόφοβη ομάδα στη θέση 1 (όσο αυτό επιτρέπεται από την προϋπόθεση για καλή διαλυτότητα

στο νερό) (410). Σε αντίθεση με τα ευρήματα των προηγούμενων μελετών, άλλοι ερευνητές έδειξαν ότι η αύξηση του μήκους της αλυσίδας του λιπαρού οξέος στη θέση 2 δεν μεταβάλλει σημαντικά το ρυθμό της υδρόλυσης, καθόσον η αύξηση του μήκους της αλυσίδας του λιπαρού οξέος στη θέση 2 συνοδεύεται από την ύπαρξη μιας σχετικά υδρόφοβης ομάδας στη θέση 1 του σκελετού της γλυκερόλης, καθώς και ότι η σύνδεση του ενζύμου στις λιποπρωτεΐνες δεν επηρεάζει τα καταλυτικά του χαρακτηριστικά.

Παρά το γεγονός ότι μια από τις δράσεις της Lp-PLA<sub>2</sub> είναι η αδρανοποίηση των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων που παράγονται σε συνθήκες οξειδωτικού stress, το ένζυμο υπόκειται και το ίδιο οξειδωτική απενεργοποίηση (400). Η αναστολή αυτή φαίνεται να αφορά μη αντιστρεπτή τροποποίηση και μπορεί να οδηγεί στη συσσώρευση του υποστρώματος. Τόσο φυσικές [π.χ. ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και βαρέα μέταλλα (424, 425)] όσο και μη φυσικές [π.χ. καπνός τσιγάρων (426)] οξειδωτικές ουσίες έχει αναφερθεί ότι έχουν την ικανότητα να απενεργοποιούν την Lp-PLA<sub>2</sub>. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι τα αμινοξέα που συμμετέχουν και αποτελούν τους στόχους της οξειδωτικής αδρανοποίησης της Lp-PLA<sub>2</sub> είναι τα Tyr307, Tyr335 και Met117 (**εικόνα 8**). Επιπρόσθετα, τα πειραματικά δεδομένα έδειξαν ότι η οξειδωτική τροποποίηση του Met117 όχι μόνο οδηγεί στην απενεργοποίηση του ενζύμου αλλά και επηρεάζει την ικανότητα σύνδεσής του με τις LDL πιθανότατα εξαιτίας της γειτνίασης με την περιοχή σύνδεσης με τις LDL (427).

### Εικόνα 9. Απλοποιημένη απεικόνιση των υποστρωμάτων και των αντιδράσεων που καταλύει η Lp-PLA<sub>2</sub>



#### 4.1.2.3 Ρύθμιση της έκφρασης της Lp-PLA<sub>2</sub>

Η παραγωγή της Lp-PLA<sub>2</sub> ρυθμίζεται από διάφορους εξωγενείς παράγοντες, όπως τα υποστρώματα και μια ποικιλία κυτταροκινών και στεροειδών ορμονών, καθώς και από την κυτταρική διαφοροποίηση (428). Για παράδειγμα η δεξαμεθαζόνη, ένα γλυκοκορτικοειδές με αντιφλεγμονώδη δράση, αυξάνει την έκκριση της Lp-PLA<sub>2</sub>, ενώ οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες IL-1α, IL-1β και ο TNF-α μειώνουν την παραγωγή του ενζύμου από τα μακροφάγα (429). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και σε άλλες μελέτες που έδειξαν μειωμένη έκκριση της Lp-PLA<sub>2</sub> από ανθρώπινα μακροφάγα μετά την επίδραση με INF-γ, IL-1, IL-4, IL-6, TNF-α, καθώς και με τους αυξητικούς παράγοντες GM-CSF και M-CSF (428). Αντίθετα, άλλες μελέτες έδειξαν σημαντική αύξηση της έκκρισης της Lp-PLA<sub>2</sub> από λιγότερα καλά διαφοροποιημένα κύτταρα, όπως τα μονοκύτταρα, μετά την επίδραση των φλεγμονωδών παραγόντων G-CSF, IL-1β και ο TNF-α (430, 431). Φαίνεται δηλαδή ότι η ικανότητα φλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών παραγόντων να ρυθμίζουν την έκκριση της Lp-PLA<sub>2</sub> καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από το βαθμό της διαφοροποίησης των κυττάρων. Πράγματι, μελέτες έδειξαν, ότι, ενώ τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος συνθέτουν αμελητέα ποσά ενζυμικής ενεργότητας, η ανάπτυξη τους σε καλλιέργεια και η προοδευτική διαφοροποίηση τους σε μακροφάγα προκαλεί σημαντική αύξηση του mRNA της Lp-PLA<sub>2</sub>, καθώς και της ενδοκυττάριας και εκκρινόμενης ενζυμικής ενεργότητας (432).

*In vivo* μελέτες σε ποντίκια έδειξαν ότι η προγεστερόνη και η δεξαμεθαζόνη επάγουν την έκκριση της Lp-PLA<sub>2</sub>, ενώ τα οιστρογόνα έχουν αντίθετη δράση (433). Μάλιστα, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι οι ορμονικές αυτές επιδράσεις διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην κύηση και την έναρξη του τοκετού δεδομένου ότι μια από τις φυσιολογικές δράσεις του PAF είναι η αύξηση της συσπαστικότητας του μυομητρίου. Έτσι, ενώ σε όλη τη διάρκεια της κύησης τα επίπεδα της Lp-PLA<sub>2</sub> είναι αυξημένα, η απότομη μείωση της ενεργότητας του ενζύμου πριν τον τοκετό οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων του PAF, σύσπαση του μυομητρίου και έναρξη του τοκετού (434).

Δεδομένου ότι τα αιμοποιητικά κύτταρα, τα οποία αποτελούν τη βασική πηγή προέλευσης του ενζύμου του πλάσματος, δεν παράγουν λιποπρωτεΐνες, είναι προφανές ότι η Lp-PLA<sub>2</sub> παράγεται ανεξάρτητα από τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια και ενσωματώνεται σε αυτά σε κάποια φάση του μεταβολισμού τους. Μελέτες σε ασθενείς με συγγενείς διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων έδειξαν ότι η παρουσία των λιποπρωτεϊνών δεν είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την παραγωγή του ενζύμου.

Έτσι, τόσο οι ασθενείς με αβηταλιποπρωτεϊναιμία, όσο και οι ασθενείς με νόσο Tangier (οι οποίοι παρουσιάζουν σχεδόν πλήρη έλλειψη των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB και των HDL, αντίστοιχα) έχουν φυσιολογική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> στο πλάσμα (421). Παρόλα αυτά, η παραγωγή και η έκκριση του ενζύμου από τα μακροφάγα αυξάνεται όταν αυτά επωασθούν παρουσία ανθρώπινου ορού (401). Αν και το ακριβές στοιχείο του ορού που διεγείρει την παραγωγή του ενζύμου δεν είναι γνωστό, πιθανολογείται ότι πρόκειται για τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια (435). Η άποψη αυτή υποστηρίζεται από το γεγονός ότι ο ορός που προέρχεται από ασθενείς με δυσλιπιδαιμία προκαλεί σημαντικά μεγαλύτερη αύξηση της παραγωγής του ενζύμου σε σύγκριση με ορό από νορμολιπιδαιμικά άτομα (436).

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 του πλάσματος επηρεάζοντας τον καταβολισμό του ενζύμου. Πράγματι, μια 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 (437).

Τέλος, αν και οι μηχανισμοί που ρυθμίζουν την κατανομή της Lp-PLA<sub>2</sub> μεταξύ των διάφορων λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς, φαίνεται ότι ο βαθμός γλυκοζυλίωσης της πρωτεΐνης του ενζύμου διαδραματίζει σημαντικό ρόλο, δεδομένου ότι το γλυκοζυλιωμένο ένζυμο συνδέεται αποκλειστικά με τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB και όχι με τις HDL (438).

## 4.2 Συσχέτιση της Lp-PLA<sub>2</sub> με την εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου

### 4.2.1 Παθοφυσιολογία

Κεντρικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της αθηροσκλήρωσης διαδραματίζει η συσσώρευση των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών στο τοίχωμα των αγγείων η οποία οδηγεί στην προσέλκυση μονοκυττάρων/μακροφάγων (400). Σε μια προσπάθεια απομάκρυνσης των λιπιδίων που συσσωρεύονται στα αγγειακό τοίχωμα σχηματίζονται τα αφρώδη κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά είναι στην πραγματικότητα μακροφάγα του αγγειακού τοιχώματος (ή και λεία μυϊκά κύτταρα) που έχουν φαγοκυτταρώσει λιποπρωτεϊνικά σωματίδια (κυρίως LDL σωματίδια) και τα οποία εκκρίνουν στη συνέχεια μια πληθώρα διαβιβαστών, οι οποίοι επάγουν τη φλεγμονώδη διαδικασία στο τοίχωμα των αρτηριών (233). Μελέτες έδειξαν ότι στο φαινόμενο της φαγοκυττάρωσης των λιποπρωτεϊνών από τα μακροφάγα δεν συμμετέχει ο κλασσικός LDL υποδοχέας, άλλα ένας διαφορετικός υποδοχέας, ο οποίος ονομάστηκε υποδοχέας-καθαριστής (scavenger receptor)(439). Ένα παράδοξο φαινόμενο που παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια της μελέτης του μηχανισμού του σχηματισμού των αφρωδών κυττάρων είναι ότι οι LDL δεν προσλαμβάνονται από τα μακροφάγα στη φυσική τους μορφή. Το γεγονός αυτό οδήγησε στη διατύπωση της άποψης ότι τα σωματίδια της LDL πρέπει να υποστούν κάποια μετατροπή για να αναγνωρισθούν από τον υποδοχέα-καθαριστή (440). Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί αρκετοί τρόποι χημικής τροποποίησης της LDL, οι οποίοι αυξάνουν τη συγγένειά της για τους υποδοχείς-καθαριστές των μακροφάγων *in vitro* (441). Ωστόσο, η *in vivo* παρουσία αυτών των τροποποιημένων μορφών των LDL σωματιδίων, καθώς και η σημασία τους στην παθογένεια της αθηρωματικής νόσου αποτελούν αντικείμενο αμφισβήτησης. Εξαιρεση σε αυτό τον κανόνα αποτελεί η οξειδωμένη LDL (oxLDL). Με αυτό τον όρο περιγράφονται τα σωματίδια της LDL τα οποία έχουν υποστεί την επίδραση διαφόρων οξειδωτικών παραγόντων και τα οποία εμφανίζουν συγκεκριμένα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά (κατακερματισμός της apoB<sub>100</sub>, αύξηση της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας, αύξηση της πυκνότητας κ.τ.λ.) (442). Οι ενδείξεις για την *in vivo* παρουσία αυτών των σωματιδίων, ο αυξημένος καταβολισμός τους από τα μακροφάγα, καθώς και η αξιοσημείωτη βιολογική τους δραστηριότητα οδήγησαν στη διατύπωση της οξειδωτικής υπόθεσης της αθηρωμάτωσης, δηλαδή της υπόθεσης σύμφωνα με τη οποία η οξείδωση των λιποπρωτεϊνών, καθώς και των λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών, αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα πρώιμα στάδια στη διαδικασία του

σχηματισμού της αθηρωματικής πλάκας (443). Συγκεκριμένα, η oxLDL δρα χημειοτακτικά για τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα και τα T-λεμφοκύτταρα (444, 445), αναστέλλει την εξαρτώμενη από τα ενδοθηλιακά κύτταρα αγγειοδιαστολή (endothelial cell-dependent relaxation) (446), διεγείρει την παραγωγή κυτταροκινών από τα κύτταρα της αθηρωματικής πλάκας (447), προάγει το σχηματισμό αυτοαντισωμάτων (448), διεγείρει την παραγωγή ενζύμων που καταστρέφουν τη διάμεση ουσία της πλάκας (matrix) (449) και τέλος είναι άμεσα τοξική για τα κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος (450).

Ο ρόλος της Lp-PLA<sub>2</sub> της LDL ως ένας παράγοντας που ευοδώνει τη φλεγμονή και επιταχύνει την αθηρωματική διαδικασία βασίσθηκε στην παρατήρηση ότι με τη δράση της Lp-PLA<sub>2</sub> να υδρολύει οξειδωμένα φωσφολιπίδια παράγονται lysoPC (451), ένα φωσφολιπίδιο που συμμετέχει στο σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας (452), καθώς και οξειδωμένα λιπαρά οξέα (oxidised nonesterified fatty acids, oxNEFA) με αθηρογόνες δράσεις (453).

Συγκεκριμένα, η Lp-PLA<sub>2</sub> συνδέεται με την apoB των LDL και αυτό το σύμπλοκο μεταφέρεται σε τμήματα του αγγειακού τοιχώματος που έχουν αυξημένη ευαισθησία για τη δημιουργία της αθηρωματικής πλάκας (**εικόνα 10**) (454). Η οξείδωση της LDL έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό φωσφολιπιδίων με βραχείς αλύσους στην sn-2 θέση, ένα γεγονός που ευνοεί την υδρόλυση τους από την Lp-PLA<sub>2</sub>. Η αντίδραση αυτή οδηγεί στο σχηματισμό δυο ομάδων βιοενεργών ουσιών, της lysoPC και των oxNEFA. Η lysoPC ασκεί τις φλεγμονώδεις και αθηρογόνες δράσεις της στα ενδοθηλιακά κύτταρα [ενεργοποίηση μορίων προσκόλλησης (VCAM-1, ICAM-1) και της χημειοτακτικής πρωτεΐνης των μονοκυττάρων (MCP-1), απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος, μείωση της εξαρτώμενης από το NO αγγειοδιαστολής], στα λεία μυϊκά κύτταρα (ενεργοποίηση της MCP-1, προαγωγή του οξειδωτικού stress, κατακράτηση των LDL), στα μονοκύτταρα/μακροφάγα (απελευθέρωση κυτταροκινών και κυρίως της IL-1β, απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος και αύξηση της χημειοταξίας τους), στα T-λεμφοκύτταρα (παραγωγή INF-γ και αύξηση της χημειοταξίας τους) και στα ουδετερόφιλα κύτταρα (παραγωγή μυελοϋπεροξειδάσης και ελαστάσης και αύξηση της χημειοταξίας τους) (454).

Η άποψη ότι η lysoPC ευθύνεται σε μεγάλο βαθμό για την ικανότητα της oxLDL να επάγει την αθηρωματική διαδικασία υποστηρίζεται έμμεσα και από την παρατήρηση ότι τα κατεξοχήν αθηρογόνα sdDL σωματίδια περιέχουν σημαντικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αυτού του μορίου σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα και λιγότερο

αθηρογόνα υποκλάσματα της LDL (455). Ο μηχανισμός διαμέσου του οποίου η lysoPC ασκεί τις βιολογικές δράσεις της δεν είναι γνωστός. Κάποιες από τις ιδιότητες του μορίου έχουν αποδοθεί στην ικανότητά του να συνδέεται και να ενεργοποιεί τον υποδοχέα του PAF (456). Ωστόσο, η σύνδεση αυτή της lysoPC με τον υποδοχέα του PAF (παρά το γεγονός ότι η lysoPC εξαιτίας της έλλειψης της ακετυλομάδας στη θέση 2 δεν διαθέτει τα απαραίτητα δομικά χαρακτηριστικά για τη σύνδεση με αυτό τον υποδοχέα), σε συνδυασμό με την παρατήρηση ότι η Lp-PLA<sub>2</sub> καταστρέφει τη βιολογική δραστηριότητα του μορίου, οδήγησαν στη διατύπωση της άποψης ότι η lysoPC δεν εμφανίζει σημαντική βιολογική δραστηριότητα και ότι η ικανότητά της να ευοδώνει τη φλεγμονώδη διαδικασία *in vitro* οφείλεται ουσιαστικά στην παρουσία προσμίξεων οξειδωμένων φωσφολιπιδίων κατά τη διαδικασία της απομόνωσης του μορίου (457). Επιπρόσθετα, ο εμπλουτισμός των sdLDL σωματιδίων με Lp-PLA<sub>2</sub> έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή lysoPC κατά τη διάρκεια της οξείδωσης αυτών των σωματιδίων σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα LDL σωματίδια τόσο σε νορμολιπιδαιμικά άτομα όσο και σε υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς (455, 458). Πρόσφατα *in vitro* δεδομένα έδειξαν ότι η απενεργοποίηση της ενδογενούς Lp-PLA<sub>2</sub> πριν από την οξείδωση της LDL εμποδίζει την αύξηση της lysoPC στην oxLDL και καταργεί την κυτταροτοξική δράση της oxLDL στα μακροφάγα (459).

Τα oxNEFA, το δεύτερο προϊόν της αντίδρασης που καταλύεται από την Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος, με τη σειρά τους δρουν χημειοτακτικά για τα μονοκύτταρα/μακροφάγα (454). Επιπρόσθετα, φαίνεται ότι τόσο η lysoPC όσο και τα oxNEFA πιθανά εμπλέκονται και στη μετατροπή μιας σταθερής αθηρωματικής πλάκας σε ασταθή (454, 460). Συγκεκριμένα, η απόπτωση των μακροφάγων, που προκαλείται από τη lysoPC και τα oxNEFA, προάγει τη μεγέθυνση του νεκρωτικού πυρήνα, τη λέπτυνση της ινώδους κάψας και τη διήθησή της από φλεγμονώδη κύτταρα, που είναι χαρακτηριστικά των ασταθών αθηρωματικών πλακών. Μία πρόσφατη μελέτη (461) έδειξε ότι υπάρχει αυξημένη έκφραση της Lp-PLA<sub>2</sub> στις αθηρωματικές πλάκες καρωτίδων σε συμπτωματικούς ασθενείς σε σύγκριση με ασυμπτωματικούς ασθενείς, υποδεικνύοντας το σημαντικό ρόλο του ενζύμου στην παθογένεση της αγγειακής εγκεφαλικής νόσου.

Σε αντίθεση με τα παραπάνω πειραματικά δεδομένα που υποδεικνύουν έναν αθηρογόνο ρόλο για την Lp-PLA<sub>2</sub> υπάρχουν ορισμένα δεδομένα ότι τόσο ο PAF όσο και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια συσχετίζονται με την αθηρωματική διαδικασία (435). Ο PAF ενεργοποιεί τα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια και επάγει τη συσσώρευση των λευκών αιμοσφαιρίων στο αγγειακό τοίχωμα. Επιπρόσθετα, ο PAF είναι ένας

αγγειοδραστικός μεσολαβητής που πιθανά συντίθεται τοπικά στο σημείο που υπάρχει βλάβη του ενδοθηλίου κατά τη δημιουργία θρόμβου. Μελέτες έδειξαν ότι ο PAF συσσωρεύεται στις αθηρωματικές πλάκες ασθενών με ΣΝ, ένα εύρημα που υποδεικνύει τη συσχέτιση αυτού του παράγοντα με την αθηρωματική διαδικασία (462). Τόσο ο PAF όσο και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια σχηματίζονται κατά την οξείδωση των LDL. Φαίνεται, λοιπόν, ότι και οι δυο αυτοί παράγοντες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αθηρωματική διαδικασία. Κατά συνέπεια, η Lp-PLA<sub>2</sub> μπορεί να δρα ως αντιαθηρογόνος παράγοντας εφόσον έχει την ικανότητα να διασπά αυτά τα μόρια. Αρκετές *in vitro* μελέτες έδειξαν ότι η Lp-PLA<sub>2</sub> αναστέλλει την οξειδωτική τροποποίηση των apoB των LDL με την υδρόλυση των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων (463). Επιπρόσθετα, φαίνεται ότι ένα σημαντικό μέρος της ενεργότητας του ενζύμου που συσχετίζεται με τις LDL χάνεται κατά την οξείδωση των LDL (464), ένα εύρημα που δείχνει ότι η απενεργοποίηση του ενζύμου πιθανά προάγει τη συσσώρευση οξειδωμένων φωσφολιπιδίων στις LDL.

Σε αντιδιαστολή με την Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος, (ο όρος αντικατοπτρίζει κυρίως το ποσοστό της ενζυμικής ενεργότητας που βρίσκεται συνδεδεμένο στις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB), της οποίας ο ρόλος στην αθηρωματική διαδικασία δεν είναι γνωστός με ακρίβεια, η Lp-PLA<sub>2</sub> των HDL (HDL-Lp-PLA<sub>2</sub>) διαθέτει σημαντικές αντιαθηρογόνες ιδιότητες και προστατεύει από την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου. Έτσι, αν και ποσοτικά η ενεργότητα των HDL σωματιδίων αποτελεί μικρό μόνο ποσοστό της συνολικής ενζυμικής ενεργότητας του πλάσματος (435), μελέτες έδειξαν ότι η ικανότητα της HDL να προστατεύει την LDL από την οξείδωση (463), καθώς και να μειώνει τη βιολογική δραστηριότητα της ήδη οξειδωμένης LDL (465) οφείλεται σε πολύ μεγάλο βαθμό στην ιδιότητά της να υδρολύει τον PAF και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια. 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 (466). Πρέπει ωστόσο να σημειωθεί, ότι ο όρος Lp-PLA<sub>2</sub> των HDL περιλαμβάνει δυνητικά τρία διαφορετικά ένζυμα, τα οποία έχουν την ικανότητα να υδρολύουν τον PAF και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια *in vitro*: την παραοξονάση-1 (PON-1) (467), την LCAT (392) και τέλος την ίδια την Lp-PLA<sub>2</sub>. Η συνεισφορά του καθενός από αυτά τα ένζυμα στην διάσπαση των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων τόσο σε *in vivo* συνθήκες όσο και στα *in*



*in vitro* πειράματα στα οποία χρησιμοποιείται πλήρως απομονωμένη HDL δεν είναι γνωστή. Πρόσφατα διατυπώθηκε η άποψη ότι οι HDL δεν περιέχουν πραγματική Lp-PLA<sub>2</sub> και ότι η ικανότητά τους να υδρολύουν τον PAF οφείλεται αποκλειστικά στην PON-1(467). Η θεώρηση αυτή υποστηρίζεται έμμεσα και από δεδομένα σύμφωνα με τα οποία οι πολυμορφισμοί της PON-1 επηρεάζουν σημαντικά την υδρολυτική ικανότητα των HDL έναντι του PAF (468). Σε πλήρη αντιδιαστολή με τα παραπάνω δεδομένα βρίσκεται η μελέτη του Marathe και των συνεργατών του σύμφωνα με την οποία η PON-1 δεν έχει ιδιότητες ακετυλοϋδρολάσης του PAF και ότι η ικανότητά της να υδρολύει αυτό το φλεγμονώδη διαβιβαστή οφείλεται σε πειραματικό σφάλμα και συγκεκριμένα στην παρουσία προσμίξεων Lp-PLA<sub>2</sub> κατά την πειραματική απομόνωση της PON-1(469). Υπέρ αυτής της άποψης συνηγορεί το γεγονός ότι διαγονιδιακά ποντίκια τα οποία έχουν υποστεί καταστροφή του γονιδίου της PON-1 εμφανίζουν φυσιολογική ενεργότητα HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> (470). Η πιο πειστική όμως απόδειξη της παραπάνω θεωρίας προέρχεται από Ιάπωνες ασθενείς ομόζυγους για τη μετάλλαξη Val<sup>279</sup>→Phe, η οποία προκαλεί πλήρη εξάλειψη της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> τόσο στο πλάσμα όσο και στις HDL. Συγκεκριμένα, τα HDL σωματίδια αυτών των ασθενών, αν και έχουν φυσιολογική ενεργότητα της PON-1, δεν έχουν καμία υδρολυτική δράση τόσο έναντι του PAF όσο και έναντι των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων(435).

#### **4.2.2 Κλινικές μελέτες**

Ο σημαντικός παθοφυσιολογικός ρόλος της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος στα πειραματικά μοντέλα της αθηρωμάτωσης οδήγησε στο σχεδιασμό κλινικών δοκιμών, οι οποίες είχαν ως στόχο να αποσαφηνίσουν το ρόλο του ενζύμου στην παθογένεια της καρδιαγγειακής νόσου στον άνθρωπο. Μελέτες σε υγιή άτομα έδειξαν ότι η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος αυξάνεται προοδευτικά με την πάροδο της ηλικίας και ότι οι άνδρες εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερη ενεργότητα του ενζύμου σε σύγκριση με τις γυναίκες της ίδιας ηλικιακής ομάδας (471-473). Αυτές οι διαφορές μεταξύ των δύο φύλων, οι οποίες αποδίδονται στην κατασταλτική επίδραση των οιστρογόνων στην παραγωγή του ενζύμου (474), τείνουν να εξαλειφθούν μετά την ηλικία των 50 ετών και έτσι οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες παρουσιάζουν παραπλήσια ενζυμική ενεργότητα με τους άνδρες της ίδιας ηλικίας. Η Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος εμφανίζει σημαντική συσχέτιση με τα επίπεδα των λιπιδαιμικών παραμέτρων. Έτσι, στις περισσότερες μελέτες η ενεργότητα του ενζύμου στο πλάσμα εμφάνιζε θετική συσχέτιση με τα επίπεδα της ολικής και LDL-CHOL, καθώς και με τις συγκεντρώσεις

της apoB (437, 472, 475, 476). Οι παράγοντες που συμβάλλουν στη διαμόρφωση των επιπέδων της Lp-PLA<sub>2</sub> *in vivo* δεν είναι γνωστοί με ακρίβεια. Ωστόσο, η σύγκριση των ενζυμικών ενεργοτήτων των παιδιών με τις αντίστοιχες των γονέων τους σε μια μελέτη στην οποία συμμετείχαν 60 οικογένειες έδειξε ότι το 60% της διακύμανσης της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> που παρατηρείται σε υγιή άτομα οφείλεται σε γενετικούς παράγοντες (437). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, οι κληρονομικοί παράγοντες οι οποίοι καθορίζουν την ενεργότητα του ενζύμου του πλάσματος είναι τελείως ανεξάρτητοι από αυτούς που καθορίζουν τα επίπεδα της LDL-CHOL. Τέλος, στη διαμόρφωση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος συμβάλλει σημαντικά και ο ρυθμός απομάκρυνσης του ενζύμου από την κυκλοφορία, ο οποίος εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από την ταχύτητα της μεταβολικής κάθαρσης των LDL σωματιδίων (437). Αυτή η υπόθεση υποστηρίζεται από το γεγονός ότι 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 (455, 477), καθώς και από την παρατήρηση ότι το ένζυμο συσχετίζεται εκλεκτικά με τα sdLDL σωματίδια (458, 477, 478), τα οποία παρουσιάζουν μειωμένη συγγένεια για τους LDL υποδοχείς και κατά συνέπεια εμφανίζουν μεγαλύτερο χρόνο παραμονής στην κυκλοφορία.

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει μελέτες που έδειξαν ότι τα αυξημένα επίπεδα της μάζας ή/και της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> στο πλάσμα συσχετίζονται με διάφορα καρδιαγγειακά τελικά σημεία. Στις μελέτες αυτές συμμετείχαν τόσο υγιή άτομα που στη συνέχεια εμφάνισαν ΚΑΝ, καθώς και ασθενείς με ήδη εγκατεστημένη ΚΑΝ.

Τα πρώτα δεδομένα για μια ενδεχόμενη συσχέτιση μεταξύ της Lp-PLA<sub>2</sub> και του κινδύνου εμφάνισης ΚΑΝ προέρχονται από μια ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study) (479). Στην υπομελέτη αυτή συμμετείχαν 508 μέσης ηλικίας άνδρες με υπερχοληστερολαιμία οι οποίοι εμφάνισαν ΣΝ σε μια περίοδο παρακολούθησης 4.9 ετών και οι οποίοι συγκρίθηκαν με 1160 υγιείς μάρτυρες. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, η κατά μία σταθερή απόκλιση αύξηση της συγκέντρωσης της Lp-PLA<sub>2</sub> συσχετιζονταν με ένα κατά 18% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ. Ωστόσο, τα αποτελέσματα αυτά δεν επιβεβαιώθηκαν σε μια υποανάλυση της μελέτης WHS (Women's Health Study) (480), στην οποία συμμετείχαν 123 γυναίκες με ΣΝ και 123 γυναίκες χωρίς ΣΝ (ομάδα ελέγχου). Ωστόσο, πρέπει να επισημανθεί ότι αυτή η μελέτη ήταν σχεδιασμού ασθενών/μαρτύρων και αφορούσε ένα πληθυσμό χαμηλού

κινδύνου για την εμφάνιση ΣΝ (γυναίκες μέσης ηλικίας με φυσιολογικά επίπεδα λιπιδίων στον ορό).

Τα αποτελέσματα μιας υποανάλυσης της μελέτης ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) (481) με 608 άνδρες και γυναίκες που εμφάνισαν ΣΝ και 740 άτομα ίδιας ηλικίας και φύλου χωρίς ΣΝ, οι οποίοι παρακολούθηθηκαν για 6-8 έτη, έδειξαν ότι τα άτομα με την υψηλότερη συγκέντρωση της Lp-PLA<sub>2</sub> εμφάνιζαν έναν κατά 78% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ σε σύγκριση με τα άτομα που είχαν συγκέντρωση Lp-PLA<sub>2</sub> στα χαμηλότερα επίπεδα. Ωστόσο, αυτή η συσχέτιση δεν παρέμενε σημαντική όταν λαμβάνονταν υπόψη οι κλασικοί παράγοντες κινδύνου. Πρέπει ωστόσο να επισημανθεί το εύρημα ότι σε άτομα με LDL-CHOL < 130 mg/dL, τα επίπεδα της Lp-PLA<sub>2</sub> συσχετιζόνταν σημαντικά και ανεξάρτητα με τον κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ, (HR 1.99, 95% CI 1.17 - 3.38).

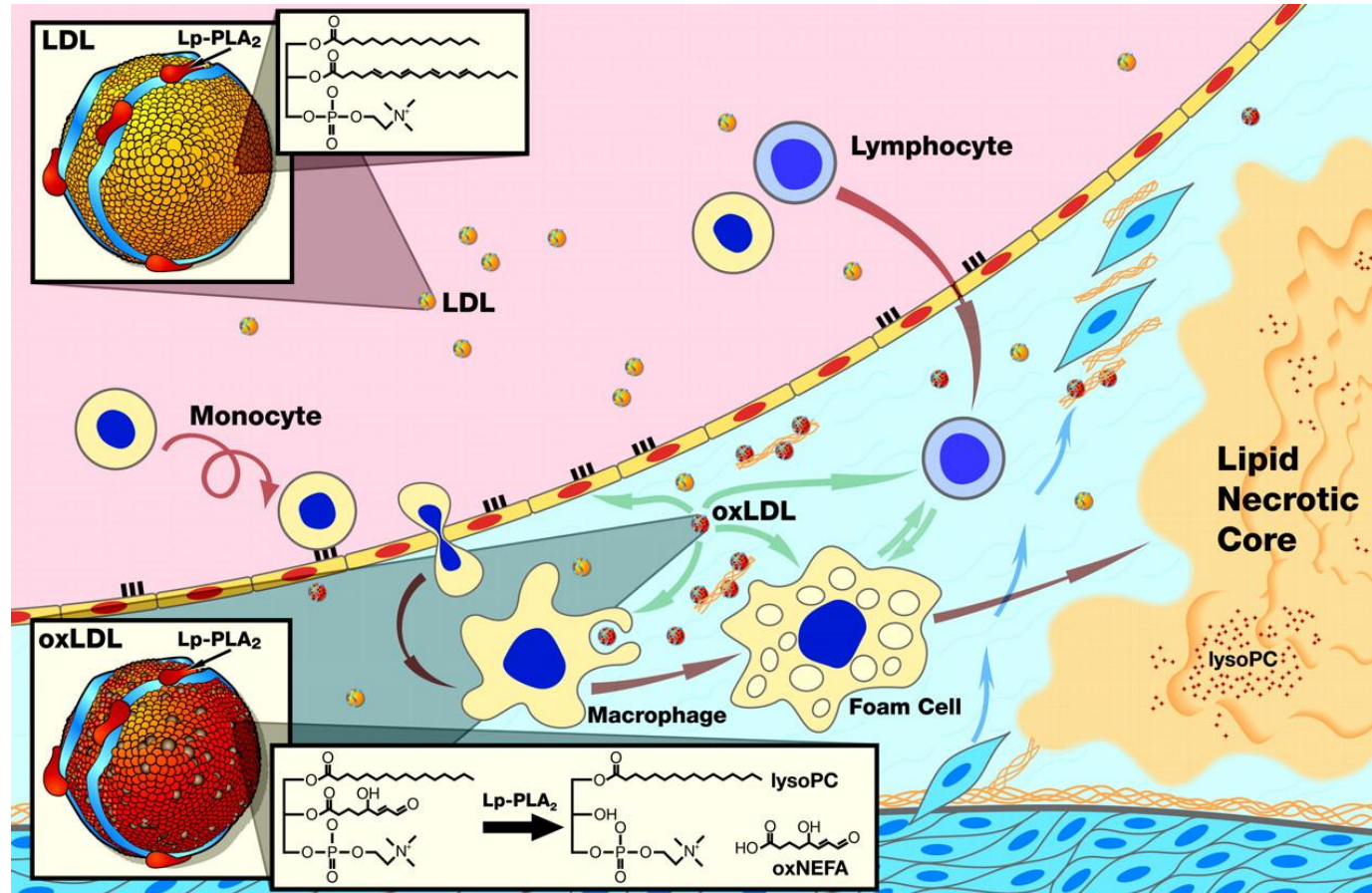
Στη μελέτη MONICA (MONitoring of trends and determinants In Cardiovascular Disease)-Augsburg συμμετείχαν 934 υγιείς άνδρες μέσης ηλικίας με μέτρια υπερχοληστερολαιμία. Η διάρκεια παρακολούθησης ήταν 14 χρόνια (482). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, η κατά μία σταθερή απόκλιση αύξηση της συγκέντρωσης της Lp-PLA<sub>2</sub> συσχετιζόνταν, ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου, με ένα κατά 28% μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση ΣΝ.

Η μελέτη Rotterdam (483) εκτίμησε την ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> σε 308 ασθενείς με ΣΝ και 1820 υγιείς μάρτυρες και έδειξε ότι η κατά μία σταθερή απόκλιση αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου συσχετιζόνταν με ένα κατά 20% μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση ΣΝ, ανεξάρτητα από τους παράγοντες κινδύνου.

Στην πρόσφατη μελέτη του Bruneck (484) συμμετείχαν 765 άνδρες και γυναίκες ηλικίας από 40-79 ετών (διάρκεια παρακολούθησης 10 χρόνια). Και αυτή η μελέτη έδειξε ότι η αύξηση κατά μια σταθερή απόκλιση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> συσχετιζόνταν με ένα κατά 40% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ. Επιπρόσθετα, ο συνδυασμός αυξημένης ενεργότητας του ενζύμου και αυξημένου λόγου οξειδωμένων φωσfolιπιδίων/αποΒ συσχετιζόνταν με 4-πλάσιο κίνδυνο για την εμφάνιση ΚΑΝ.

Τα επίπεδα της Lp-PLA<sub>2</sub> φαίνεται ότι αποτελούν ένα καλό προγνωστικό δείκτη για την εμφάνιση ΚΑΝ ακόμη και όταν οι κλασικοί παράγοντες κινδύνου χάνουν την προγνωστική τους ικανότητα, π.χ. σε ηλικιωμένους ασθενείς (485, 486). Ωστόσο, αυτή η συσχέτιση είναι μικρότερη από την αντίστοιχη που παρατηρείται σε

Εικόνα 10. Σχηματική απεικόνιση της παθοφυσιολογικής συσχέτισης της Lp-PLA<sub>2</sub> με το σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας



μέσης ηλικίας ασθενείς. Μία από τις μελέτες σε ηλικιωμένους ασθενείς ήταν η μελέτη του Rancho Bernardo (485), στην οποία συμμετείχαν 1077 υγιείς άνδρες και γυναίκες μέσης ηλικίας 72 ετών χωρίς ιστορικό ΣΝ κατά την έναρξη της μελέτης. Η διάρκεια της παρακολούθησης ήταν 16 χρόνια. Τα άτομα με την υψηλότερη συγκέντρωση Lp-PLA<sub>2</sub> είχαν περίπου διπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ σε σύγκριση με τα άτομα με τη χαμηλότερη συγκέντρωση του ενζύμου. Τέλος, όταν η μάζα του ενζύμου συμπεριλήφθηκε στην ανάλυση μαζί με τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου και με τα επίπεδα της CRP παρατηρήθηκε μία σημαντική αύξηση της προγνωστικής ικανότητας για την εμφάνιση ΣΝ.

Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα μιας προκαταρκτικής ανάλυσης των δεδομένων της CHS (Cardiovascular Health Study) σε 4318 άνδρες και γυναίκες ηλικίας άνω των 65 ετών (486). Συγκεκριμένα, η αύξηση της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> συσχετιζόταν με αύξηση του 10ετή κινδύνου εμφάνισης OEM ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου, ενώ η συσχέτιση της ενεργότητας του ενζύμου με τον κίνδυνο εμφάνισης OEM ήταν οριακά στατιστικά σημαντική. Τα προκαταρκτικά αυτά αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν και με το πέρας της μελέτης. Συγκεκριμένα, ο σχετικός κίνδυνος εμφάνισης ενός OEM ήταν 1.49 (95% CI 1.19-1.85), ενός AEE 1.21 (0.98-1.49) και για καρδιακό θάνατο 1.11 (0.92-1.33) για τα άτομα που είχαν μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> στο ανώτερο τριτημόριο σε σύγκριση με την ομάδα του κατώτερου τριτημορίου. Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα της μελέτης PROSPER (486) σε 5657 άτομα ηλικίας 70-82 ετών. Συγκεκριμένα, και σε αυτή τη μελέτη η μάζα και όχι η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> συσχετιζόταν με την εμφάνιση ΣΝ.

Αν και η συσχέτιση των επιπέδων της Lp-PLA<sub>2</sub> με την εμφάνιση ΚΑΝ στην πρωτογενή πρόληψη είναι ξεκάθαρη, δεν ισχύει το ίδιο και σε ασθενείς με ΟΣΣ. Η μελέτη PROVE IT-TIMI (Pravastatin Or atorVastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction) (487) ήταν η πρώτη μελέτη που εκτίμησε την προγνωστική ικανότητα του ενζύμου σε ασθενείς με ΟΣΣ. Συγκεκριμένα, η μάζα και η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> μετρήθηκαν σε 3625 ασθενείς αμέσως μετά από ένα ΟΣΣ καθώς και 30 ημέρες μετά. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, ούτε η μάζα ούτε η ενεργότητα του ενζύμου είχαν προγνωστική αξία για την εμφάνιση ενός νέου ΟΣΣ όταν αυτά μετρήθηκαν αμέσως μετά το ΟΣΣ. Ωστόσο, η εκτίμηση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> 30 ημέρες μετά το ΟΣΣ είχε σημαντική προγνωστική αξία. Συγκεκριμένα, η αυξημένη ενεργότητα του ενζύμου συσχετιζόταν με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ενός νέου ΟΣΣ τους επόμενους 24 μήνες, ανεξάρτητα από τα επίπεδα της LDL-CHOL

και της CRP. Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα δυο μελετών από τη Σουηδία (488). Στη μελέτη FRISC II συμμετείχαν 1362 ασθενείς με ΟΣΣ. Η μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> δεν συσχετιζόταν με την εμφάνιση θανατηφόρου ή μη ΟΣΣ στα 2 χρόνια της παρακολούθησης, ενώ παρόμοια αποτελέσματα είχε και η μελέτη GUSTO IV ACS σε 904 ασθενείς. Ωστόσο, αντίθετα ήταν τα αποτελέσματα μιας μελέτης σε 271 ασθενείς με ΟΕΜ, τα οποία έδειξαν ότι η μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> αμέσως μετά από ένα ΟΣΣ συσχετιζόταν ισχυρά και ανεξάρτητα με τη θνητότητα στον 1 χρόνο παρακολούθησης (489). Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα της μελέτης NOBIS-II (North Wuerttemberg and Berlin Infarction Study-II) από τη Γερμανία (490). Η μελέτη αυτή έδειξε ότι η εκτίμηση της μάζας του ενζύμου αμέσως μετά την εμφάνιση ενός ΟΣΣ συμβάλλει σημαντικά στην πρόγνωση όσον αφορά τον κίνδυνο εμφάνισης ενός νέου ΟΣΣ, ιδιαίτερα σε ασθενείς με αρνητική τροπονίνη και μέτρια αυξημένα επίπεδα της πρόδρομης μορφής του BNP (pro-brain natriuretic peptide).

Αν και ο ρόλος της Lp-PLA<sub>2</sub> στην εκτίμηση του ΚΑΝ κινδύνου σε ασθενείς με ΟΣΣ δεν είναι ακόμη σαφής, τα δεδομένα είναι πιο σαφή όσον αφορά το ρόλο της σε ασθενείς με σταθερή ΣΝ. Μία μελέτη με 466 ασθενείς από την κλινική Mayo (491) έδειξε ότι η αύξηση κατά μια σταθερή απόκλιση της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> συσχετιζόταν με μία κατά 30% αύξηση του κινδύνου εμφάνισης ενός νέου ΟΣΣ, ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου. Επιπρόσθετα, στη μελέτη KAROLA (492) (langzeiterfolge der KARdiOLOGischen Anschlussheilbehandlung) συμμετείχαν 1051 ασθενείς με ΣΝ ηλικίας 30-70 ετών στους οποίους μετρήθηκε η μάζα και η ενεργότητα του ενζύμου περίπου 43 ημέρες μετά από ένα ΟΣΣ (διάρκεια παρακολούθησης 4 χρόνια). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, η μάζα περισσότερο και λιγότερο η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> είχαν σημαντική - ανεξάρτητη από της παράγοντες κινδύνου - προγνωστική ικανότητα για την εμφάνιση ΣΝ. Η μελέτη THROMBO (493) (Thrombogenic Factors and Recurrent Coronary Events) με 766 μετεμφραγματικούς ασθενείς που παρακολουθήθηκαν για περίπου 2 χρόνια έδειξε ότι τα αυξημένα επίπεδα της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> συσχετιζόταν με διπλάσιο κίνδυνο για την εμφάνιση ενός νέου ΟΣΣ. Επιπρόσθετα, η μάζα του ενζύμου ήταν ισχυρότερος δείκτης για την εμφάνιση ενός νέου ΟΣΣ σε σύγκριση με τα επίπεδα της αροΒ. Η μεγαλύτερη μελέτη όσον αφορά το ρόλο της Lp-PLA<sub>2</sub> στη δευτερογενή πρόληψη είναι η μελέτη PEACE (494) (Prevention of Events with Angiotensin-Converting Enzyme inhibition) στην οποία συμμετείχαν 3766 ασθενείς με ΣΝ (διάρκεια παρακολούθησης 5 χρόνια). Οι ασθενείς με τα υψηλότερα

επίπεδα μάζας του ενζύμου είχαν ένα κατά 40% μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση του πρωταρχικού καταληκτικού σημείου (θανατηφόρο ή μη καρδιαγγειακό σύμβαμα). Η μελέτη LURIC (495) (Ludwigshafen Risk and Cardiovascular health study) στην οποία συμμετείχαν 2513 ασθενείς με ΣΝ και 719 άτομα χωρίς ΣΝ έδειξε ότι η ενεργότητα του ενζύμου ήταν σημαντικός προγνωστικός παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής και ολικής θνητότητας σε 5.5 χρόνια. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς με τα υψηλότερα επίπεδα της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> είχαν διπλάσια καρδιακή θνητότητα σε σύγκριση με τους ασθενείς με τα χαμηλότερα επίπεδα μάζας του ενζύμου. Τέλος, τα υψηλά επίπεδα της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> (άνω τεταρτημόριο σε σύγκριση με το κατώτερο τεταρτημόριο) συσχετιζόνταν με κατά 2.5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ σε ασθενείς με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ.

Ενδιαφέροντα ήταν και τα αποτελέσματα της μελέτης VA-HIT (Veterans Affairs HDL Intervention Trial) (496), στην οποία συμμετείχαν 1451 άνδρες ασθενείς με χαμηλά επίπεδα HDL-CHOL (μέση τιμή 32 mg/dL) και LDL-CHOL (μέση τιμή 110 mg/dL). Συγκεκριμένα, η αύξηση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> κατά μια σταθερή απόκλιση συσχετιζόνταν με ένα κατά 17% υψηλότερο κίνδυνο για την εμφάνιση ενός αγγειακού επεισοδίου, ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ.

Μία πρόσφατη μελέτη εκτίμησε την προγνωστική ικανότητα της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> σε περίπου 1500 άτομα με ΣΔ χωρίς όμως οποιαδήποτε εκδήλωση αγγειακής νόσου (497). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, τα άτομα με ενεργότητα του ενζύμου στο άνω τριτημόριο είχαν κατά 75% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ μετά από 10-14 χρόνια παρακολούθησης.

Η συσχέτιση της Lp-PLA<sub>2</sub> με την εμφάνιση αγγειακής εγκεφαλικής νόσου έχει εκτιμηθεί σε αρκετές μελέτες. Η μελέτη Rotterdam (483) έδειξε ότι οι ασθενείς με τα υψηλότερα επίπεδα ενεργότητας Lp-PLA<sub>2</sub> είχαν ένα κατά 97% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΑΕΕ σε σύγκριση με τους ασθενείς με τα χαμηλότερα επίπεδα ενεργότητας του ενζύμου, ενώ η αύξηση της ενεργότητας κατά μία σταθερή απόκλιση συσχετιζόνταν με ένα κατά 27% μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση ΑΕΕ. Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα της μελέτης ARIC (498) που έδειξε ότι οι ασθενείς με τα υψηλότερα επίπεδα Lp-PLA<sub>2</sub> είχαν διπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης ΑΕΕ σε σύγκριση με τους ασθενείς με τα χαμηλότερα επίπεδα του ενζύμου, ανεξάρτητα από τους παράγοντες κινδύνου συμπεριλαμβανομένου και του ΣΔ. Επιπρόσθετα, ασθενείς

με αυξημένα επίπεδα τόσο της Lp-PLA<sub>2</sub> όσο και της CRP είχαν κατά 11 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση ενός ΑΕΕ. Τέλος, ο κίνδυνος εμφάνισης ισχαιμικού ΑΕΕ εκτιμήθηκε σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη Women's Health Initiative (WHI) Observational Study (499). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, οι γυναίκες με την υψηλότερη συγκέντρωση του ενζύμου είχαν ένα κατά 8% μόνο αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση ΑΕΕ σε σύγκριση με τα άτομα που είχαν τα χαμηλότερα επίπεδα του ενζύμου. Μία πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι υψηλή συγκέντρωση της Lp-PLA<sub>2</sub> στις αθηρωματικές πλάκες των καρωτίδων (πάνω από τη διάμεση τιμή) συσχετίζεται με 3-πλάσιο κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ (500).

Η προγνωστική ικανότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> στη δευτερογενή πρόληψη σε ασθενείς με ιστορικό ΑΕΕ εκτιμήθηκε στη μελέτη NOMAS (501, 502) (Northern Manhattan Study). Στη μελέτη συμμετείχαν 467 ασθενείς με ΑΕΕ και η διάρκεια παρακολούθησης ήταν 4 χρόνια. Οι ασθενείς με τα υψηλότερα επίπεδα της μάζας και της ενεργότητας του ενζύμου είχαν 2 και 2.5 φορές, αντίστοιχα, μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση ενός νέου ισχαιμικού ΑΕΕ (HR 2.08 [95%CI 1.04-4.18] και HR 2.54 [95%CI 1.01-6.39], αντίστοιχα) σε σύγκριση με τους ασθενείς με τα χαμηλότερα επίπεδα μάζας και ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub>.

Μία πρόσφατη μελέτη (503) εκτίμησε την προγνωστική ικανότητα της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> σε 508 ασθενείς με περιφερική αγγειακή νόσο (διάρκεια παρακολούθησης 7 έτη). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, η αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου κατά μια σταθερή απόκλιση συσχετιζόταν με ένα κατά 40% μεγαλύτερο κίνδυνο καρδιαγγειακής θνητότητας. Ωστόσο, όταν ελήφθησαν υπόψη τα επίπεδα των TG, της LDL-CHOL και της HDL-CHOL, αυτή η συσχέτιση δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Τα αυξημένα επίπεδα της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> συσχετίστηκαν με ένα κατά 2.4 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο αγγειοπάθειας του καρδιακού μοσχεύματος και θνητότητας σε 112 ασθενείς με μεταμόσχευση καρδιάς σε 5 χρόνια παρακολούθησης (504).

Τέλος, μια μετα-ανάλυση (505) των αποτελεσμάτων 14 μελετών (περίπου 20.500 ασθενείς) έδειξε ότι υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης της Lp-PLA<sub>2</sub> και του κινδύνου εμφάνισης ΚΑΝ. Συγκεκριμένα, η αύξηση των επιπέδων του ενζύμου – ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου – οδηγεί σε ένα κατά 60% αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση ΚΑΝ.

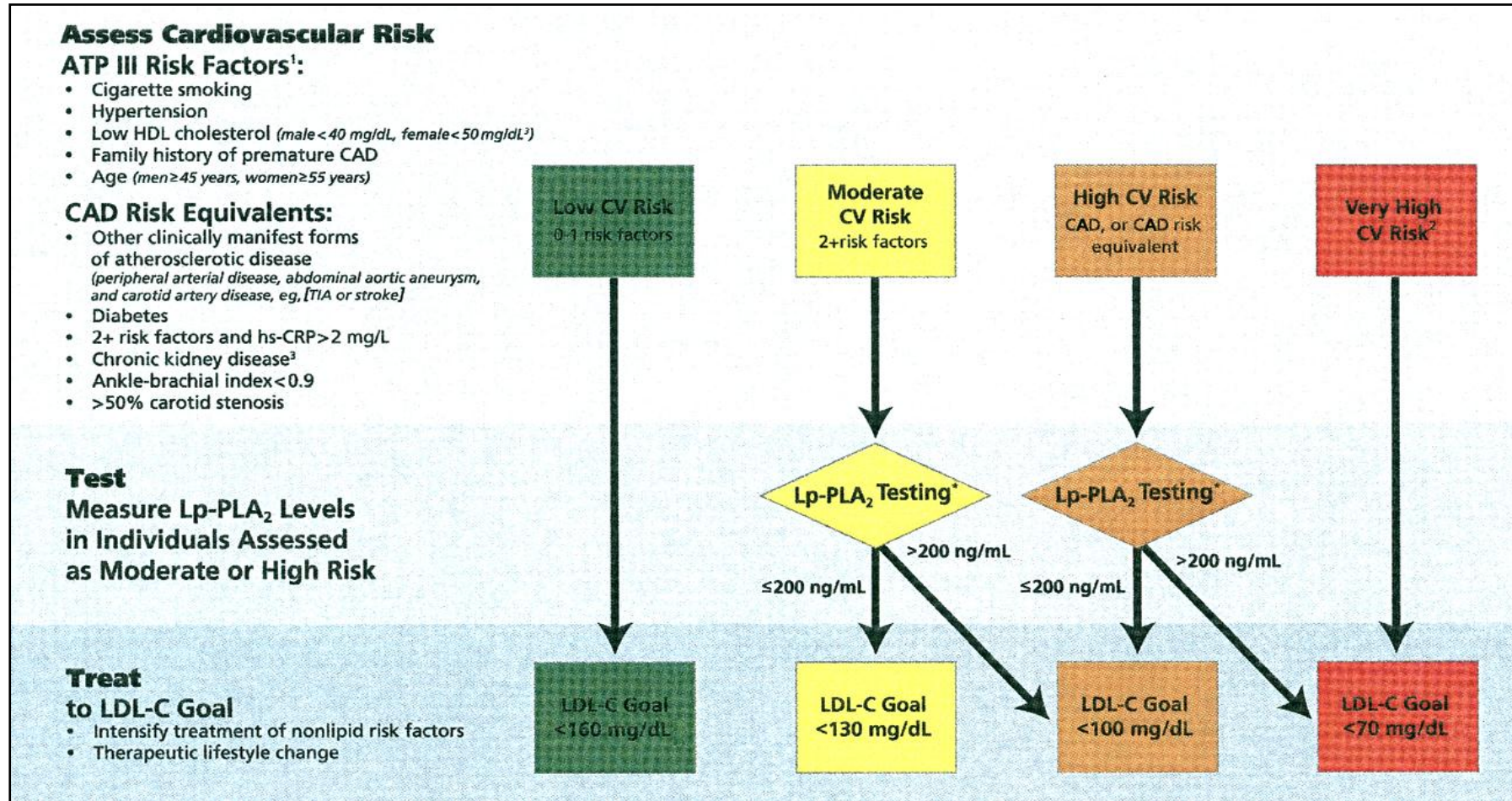


Ένα πρόβλημα που έχει ανακύψει στη βιβλιογραφία είναι ότι δεν υπάρχει μία ενιαία μέθοδος εκτίμησης της Lp-PLA<sub>2</sub>. Έτσι, υπάρχουν μελέτες που χρησιμοποιούν την ενεργότητα και μελέτες που χρησιμοποιούν τη μάζα του ενζύμου, ενώ η συσχέτιση μεταξύ αυτών των δύο παραμέτρων είναι σχετικά χαμηλή ( $r=0.36$ ) (460). Ωστόσο, πολύ πρόσφατα (506) η συγκέντρωση της Lp-PLA<sub>2</sub> συμπεριλήφθηκε στις κατευθυντήριες οδηγίες για τον καθορισμό του καρδιαγγειακού κινδύνου, κυρίως σε ασθενείς μέτριου ή και υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ. Η ανάγκη αυτή δημιουργήθηκε από τη συνεχώς αυξανόμενη βιβλιογραφία σχετικά με αυτό το δείκτη αγγειακής φλεγμονής. Οι οδηγίες αυτές (**εικόνα 11**) βασίσθηκαν στις κατευθυντήριες οδηγίες του ATP III και της AHA για την εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Η συγκέντρωση της Lp-PLA<sub>2</sub> προτείνεται να χρησιμοποιείται ως ένας επιπρόσθετος δείκτης για την εκτίμηση του 10ετούς καρδιαγγειακού κινδύνου σε συνδυασμό με τους υπόλοιπους κλασικούς παράγοντες κινδύνου. Η παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων Lp-PLA<sub>2</sub> (>200 ng/mL) έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του εκτιμώμενου 10ετή κινδύνου εμφάνισης ΚΑΝ, δηλ. 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 ΚΑΝ [αυτοί οι παράγοντες συμπεριλαμβάνουν το κάπνισμα, την αρτηριακή υπέρταση, τα χαμηλά επίπεδα HDL-CHOL (<40 mg/dL για της άνδρες, <50 mg/dL για της γυναίκες), το οικογενειακό ιστορικό πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου, καθώς και την ηλικία ( $\geq 45$  έτη για τους άνδρες,  $\geq 55$  για τις γυναίκες)] είχαν ως στόχο επίπεδα LDL-CHOL < 130 mg/dL. Όταν αυτά τα άτομα έχουν συγκέντρωση της Lp-PLA<sub>2</sub> >200 ng/mL, ο στόχος όσον αφορά την LDL-CHOL γίνεται <100 mg/dL. Παρόμοια άτομα με ΚΑΝ ή ισοδύναμο ΚΑΝ [ισοδύναμο ΚΑΝ θεωρούνται η παρουσία περιφερικής αγγειακής νόσου, ανευρύσματος κοιλιακής αορτής, ΑΕΕ (εγκτεστημένου ή παροδικού), ο ΣΔ, η ΧΝΝ, η στένωση των καρωτίδων >50%, η παρουσία 2 ή περισσότερων παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ σε συνδυασμό με επίπεδα hsCRP >2 mg/L, καθώς και η παρουσία κνημοβραχιόνιου δείκτη πίεσης <0.9] είχαν ως στόχο επίπεδα LDL-CHOL <100 mg/dL. Όταν αυτά τα άτομα έχουν συγκέντρωση της Lp-PLA<sub>2</sub> >200 ng/mL, ο στόχος όσον αφορά την LDL-CHOL γίνεται <70 mg/dL.

Πρόσφατα, δημοσιεύτηκε μία μελέτη (507), στην οποία συμμετείχαν 959 ασθενείς με ΣΝ ή ισοδύναμο ΣΝ, που εκτίμησε την επίδραση του darapladib, ενός εκλεκτικού αναστολέα της Lp-PLA<sub>2</sub>, στα επίπεδα διαφόρων δεικτών καρδιαγγειακού κινδύνου.

Εκτός από μία δοσοεξαρτώμενη μείωση της μάζας του ενζύμου, το darapladib μείωσε σημαντικά τα επίπεδα της hsCRP και της IL-6.

Εικόνα 11. Πρόσφατες οδηγίες για την χρησιμοποίηση των επιπέδων της Lp-PLA<sub>2</sub> στην εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης ΚΑΝ





## ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι Lp-PLA<sub>2</sub> διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στη φλεγμονώδη διεργασία που χαρακτηρίζει την αθηροσκλήρωση. Πρέπει να επισημανθεί ότι πρόσφατες μεγάλες πολυκεντρικές μελέτες έδειξαν ότι η μάζα και η ενεργότητα του ενζύμου αποτελεί προγνωστικό παράγοντα για τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου τόσο σε υγιείς πληθυσμούς όσο και σε ασθενείς με ΣΝ.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να εκτιμηθεί για πρώτη φορά η επίδραση τριών υπολιπιδαιμικών φαρμάκων, που δρουν με διαφορετικό τρόπο, της ροσουβαστατίνης 10mg/ημέρα, της εζετιμίμπης 10mg/ημέρα και της φαινοφιμπράτης 200mg/ημέρα, στις λιπιδαιμικές παραμέτρους και στην ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> στον ορό και στις λιποπρωτεΐνες του ορού ασθενών με δυσλιπιδαιμία τύπου IIA και IV.



## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### Ασθενείς της μελέτης

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 150 ασθενείς που παρακολουθούνταν στο ιατρείο μελέτης των διαταραχών του μεταβολισμού των λιπιδίων του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Τα κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη ήταν: προηγούμενο ιστορικό αθηροσκληρωτικής νόσου (OEM, ασταθής στηθάγχη, ισχαιμικό AEE, περιφερική αγγειακή νόσος, επέμβαση στεφανιαίας αγγειοπλαστικής (percutaneous trans luminal coronary angioplasty, PTCA), προηγηθείσα αορτοστεφανιαία παράκαμψη, διαγνωσμένος ΣΔ (γλυκόζη νηστείας >125 mg/dL), διαταραχή ηπατικής, νεφρικής ή θυρεοειδικής λειτουργίας (συγκέντρωση αμινοτρανσφερασών στον ορό του ασθενή μεγαλύτερη από το τριπλάσιο της ανώτερης φυσιολογικής τιμής (upper limit normal, ULN), δηλαδή >120 IU/L, φυσιολογικές τιμές 5-40 IU/L, κρεατινίνη ορού >1.7 mg/dL και TSH >5μIU/L, φυσιολογικές τιμές 0.5-4.8 μIU/L). Επιπλέον, από την παρούσα μελέτη αποκλείστηκαν άτομα που έπαιρναν φάρμακα τα οποία θα μπορούσαν να επηρεάσουν τόσο το μεταβολισμό των λιπιδίων όσο και την ηπατική ή τη νεφρική λειτουργία. Τέλος, από τη μελέτη αποκλείστηκαν και οι ασθενείς με επίπεδα Lp(a) ορού μεγαλύτερα από 8 mg/dL, αφού μελέτες έδειξαν ότι υψηλότερες συγκεντρώσεις Lp(a) στον ορό επηρεάζουν σημαντικά την κατανομή της Lp-PLA<sub>2</sub> ανάμεσα στα λιποπρωτεϊνικά υποκλάσματα του πλάσματος όπως αυτά διαχωρίζονται διαμέσου της υπερφυγοκέντρωσης βαθμιδωσης πυκνοτήτων (βλ. «αναλυτικές μέθοδοι»). Μετά τον αρχικό έλεγχο, στα άτομα της μελέτης δόθηκαν υγιεινοδιαιτητικές οδηγίες για 3 μήνες. Στο τέλος αυτής της περιόδου πραγματοποιήθηκε ένας πλήρης αρχικός εργαστηριακός έλεγχος και ανάλογα με τα επίπεδα των λιπιδίων τα άτομα της μελέτης διαχωρίστηκαν στις παρακάτω υποομάδες: 1. Ασθενείς με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία [Τύπου IIA δυσλιπιδαιμία: LDL-CHOL ορού >160 mg/dL (4.1 mmol/L) και TG ορού <200 mg/dL (2.3 mmol/L), n= 50; Σε αυτά τα άτομα χορηγήθηκε ροσουβαστατίνη (10 mg ημερησίως)]. 2. Ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIA, n= 50, με ιστορικό δυσανεξίας στη χορήγηση στατίνης [δηλ. άτομα που εμφάνισαν αύξηση των επιπέδων της κινάσης της κρεατίνης (CK) του ορού >5 φορές από τις ανώτερες φυσιολογικές τιμές ή αύξηση των επιπέδων των ηπατικών ενζύμων ορού >120 IU/L, στους οποίους χορηγήθηκε εξετιμίμπη (10 mg ημερησίως)]. 3. Ασθενείς με πρωτοπαθή υπερτριγλυκεριδαιμία [Τύπου IV δυσλιπιδαιμία: LDL-CHOL ορού <160 mg/dL (4.1 mmol/L) και TG ορού ≥200 mg/dL (2.3 mmol/L), n= 50, στους οποίους

χορηγήθηκε φαινοφιμπράτη (200 mg ημερησίως)]. Στόχος της αγωγής ήταν η επίτευξη των στόχων που έχουν καθοριστεί από την Εθνική Επιτροπή για τη Χοληστερόλη (National Cholesterol Education Program, NCEP Adult Treatment Panel III) για την LDL-CHOL (**πίνακες 3 και 4**). Μετά από 2 μήνες φαρμακευτικής αγωγής επαναλαμβάνονταν ο εργαστηριακός έλεγχος.

**Πίνακας 3. Στόχοι της θεραπείας για την LDL-CHOL (σε mg/dL) ανάλογα με τον κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ**

|  |            |
|--|------------|
| ΚΑΝ και ισοδύναμα ΚΑΝ  | <100 mg/dL |
| Περισσότεροι από 2 παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ ( <b>πίνακας 4</b> ) | <130 mg/dL |
| Ένας ή κανένας παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ                          | <160 mg/dL |

**Πίνακας 4. Σημαντικοί παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ οι οποίοι τροποποιούν το στόχο θεραπείας για την LDL-CHOL\***

|  |
|--|
| Κάπνισμα   |
| Αρτηριακή υπέρταση (>140/90 mmHg ή λήψη αντιυπερτασικής αγωγής)  |
| Χαμηλά επίπεδα HDL-CHOL (<40 mg/dL)**  |
| Οικογενειακό ιστορικό πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου [καρδιαγγειακή νόσος σε 1 <sup>ου</sup> βαθμού συγγενή σε ηλικία <55 έτη (άνδρας), καρδιαγγειακή νόσος σε 1 <sup>ου</sup> βαθμού συγγενή σε ηλικία <65 έτη (γυναίκα)] |
| Ηλικία (άνδρες >45 έτη, γυναίκες >55 έτη)  |

\*Στις οδηγίες σύμφωνα με τη NCEP ATP III, ο ΣΔ θεωρείται ισοδύναμο ΚΑΝ

\*\*Τα υψηλά επίπεδα της HDL-CHOL (>60 mg/dL) θεωρούνται αρνητικός παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ και σε αυτές τις περιπτώσεις μπορεί να αφαιρείται ένας παράγοντας κινδύνου



### **Αναλυτικές μέθοδοι**

Τα δείγματα αίματος συλλέχθηκαν μετά από 12ωρη νηστεία. Ο διαχωρισμός του ορού έγινε μετά από φυγοκέντρηση στις 3000 στροφές για 15 λεπτά και ένα δείγμα καταψύχθηκε στους -80°C για την ανάλυση των απολιποπρωτεϊνών (apo) του ορού.

Ο προσδιορισμός της γλυκόζης και των λιπιδαιμικών παραμέτρων του ορού έγινε σε αυτόματο αναλυτή OLYMPUS AU 640 (Olympus Diagnostica, Hamburg, Germany). Η γλυκόζη προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της εξοκινάσης: Παρουσία εξοκινάσης και ATP, η γλυκόζη μετατρέπεται αρχικά σε 6-P-γλυκόζη και στη συνέχεια παρουσία αφυδρογονάσης της 6-P-γλυκόζης και NADP<sup>+</sup> σε 6-P-γλυκονικό. Μετράται η αύξηση της απορρόφησης στα 340nm (NADH).

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

Η μέθοδος προσδιορισμού της χοληστερόλης των HDL λιποπρωτεϊνών περιλαμβάνει 2 στάδια. Στο πρώτο στάδιο αντισώματα ανθρώπινης απολιποπρωτεΐνης-β 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-CHOL υπολογίστηκε από τον τύπο του Friedewald:

$$\text{LDL-CHOL} = \text{TCHOL} - (\text{HDL-CHOL} + \text{TG}/5)$$

σε δείγματα τα οποία συλλέχθηκαν μετά από 12ωρη νηστεία και η τιμή των τριγλυκεριδίων ήταν <400 mg/dL. Οι συγκεντρώσεις της LDL-CHOL ατόμων με TG >400 mg/dL δεν προσδιορίστηκαν.

Επίσης υπολογίστηκε η τιμή της nonHDL-CHOL από την εξίσωση: nonHDL-CHOL = TCHOL-HDL-CHOL.

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

Για τον έλεγχο της ακρίβειας και της αξιοπιστίας των μεθόδων προσδιορισμού (εσωτερικός ποιοτικός έλεγχος) της TCHOL, των TG και της HDL-CHOL χρησιμοποιήθηκαν οι οροί ελέγχου Decision<sup>®</sup> (Levels 1,2,3) της Beckman (Fullerton, CA).

### **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 MgCl<sub>2</sub>, σχηματίζει γρηγορότερα σύμπλοκα με τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν αροΒ σε σύγκριση με τις HDL.

#### **Υλικά και όργανα:**

- φυγόκεντρος πάγκου (1500 rpm)
- αντιδραστήριο καταβύθισης (Sigma Diagnostics)

**Πειραματική πορεία:** 500 μL πλάσματος αναμιγνύονται με 50 μL 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 αροΒ και έτσι τα HDL σωματίδια απομονώνονται στο υπερκείμενο, το οποίο αναρροφάται προσεκτικά με αυτόματη πιπέτα.

### **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 TCHOLA (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 nmol 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 αποσταγμένου νερού. Το διάλυμα φυλάσσεται στους -20°C.
- BSA 100 mg/mL: 1 g BSA διαλύεται σε 10 mL αποσταγμένου νερού. Το διάλυμα φυλάσσεται στους -20°C.
- [<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.
- TCHOLA 20%: 20 g TCHOLA διαλύονται σε 100 mL αποσταγμένου 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 HEPES pH 7.4). Για τη μέτρηση της ενζυμικής ενεργότητας των λιποπρωτεϊνικών υποκλασμάτων χρησιμοποιείται συνήθως τέτοιος όγκος δείγματος ώστε να περιέχει 4 μg πρωτεΐνης του υποκλάσματος. Σε κάθε περίπτωση τα δείγματα τοποθετούνται σε πλαστικό σωληνάκι erpendorf και ο όγκος συμπληρώνεται με HEPES 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 TCHOLA 20% τα δείγματα αναδεύονται και πάλι με vortex και τοποθετούνται σε πάγο για άλλα 30 min. Στη συνέχεια τα σωληνάκια φυγοκεντρώνονται σε μικροφυγόκεντρο για erpendorfs (5 min στις 10.000 rpm) προκειμένου να καταβυθισθούν οι πρωτεΐνες. 100 μL από το υπερκείμενο που προκύπτει μετά την καταβύθιση τοποθετούνται σε ειδικό σωληνάκι μαζί με 2 mL υγρού σπινθηρισμού και αφού αναδευθούν ισχυρά μεταφέρονται στο μετρητή σπινθηρισμού για μέτρηση της β

ακτινοβολίας που εκπέμπουν. Ίδια πειραματική διαδικασία με αυτή που ακολουθείται στα προς μέτρηση δείγματα εφαρμόζεται και για δύο σωληνάκια τα οποία περιέχουν 90  $\mu\text{L}$  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 nmol [ $^3\text{H}$ ]-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 nmol [ $^3\text{H}$ ]-PAF 100  $\mu\text{M}$  στις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες. Η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> εκφράζεται ως nmol του ραδιενεργού PAF που διασπάται στη μονάδα του χρόνου (min) από μία δεδομένη ποσότητα δείγματος και υπολογίζεται από τον παρακάτω γενικό τύπο:

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

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

$cpm_{\tau}$  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 λιποπρωτεϊνικών υποκλασμάτων με ισοπυκνική υπερφυγοκέντρηση βαθμίδωσης πυκνοτήτων (isopycnic density gradient ultracentrifugation)**

**Αρχή της μεθόδου:** με την υπερφυγοκέντρηση επιτυγχάνεται η δημιουργία μιας συνεχούς βαθμίδωσης πυκνοτήτων. Έτσι, οι λιποπρωτεΐνες διαχωρίζονται στα επιμέρους υποκλάσματά τους τα οποία κατανέμονται ανάλογα με την πυκνότητά τους στο σωληνάκι της υπερφυγοκέντρου.

#### **Υλικά και όργανα:**

- Πυκνόμετρο.
- Υπερφυγόκεντρος (Beckman L7 με ρότορα SW 41).

- Garamycin (Gentamycin sulfate, Schering Plough). Το διάλυμα περιέχει 40 mg θειικής γενταμυκίνης ανά mL.
- KBr. Το KBr ξηραίνεται στους 100°C για 24 ώρες και διατηρείται σε ξηραντήρα.
- Μembrάνη διαπίδυσης (Sigma). Η μεμβράνη έχει όριο αποκλεισμού μεγαλύτερο από 12.000 και ενεργοποιείται με τοποθέτηση σε αποσταγμένο νερό για 3 ώρες.
- Φίλτρα διήθησης 0.20 μ (Corning)

### **Διαλύματα εργασίας:**

- EDTA 10%. Titriplex III, pH 7.0. 12.8247 g EDTANa<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O διαλύονται σε 90 mL απεσταγμένο νερό. Το pH ρυθμίζεται στο 7.4 και ο όγκος συμπληρώνεται με αποσταγμένο νερό μέχρι τα 100 mL. Το διάλυμα διατηρείται στους 4°C.
- Διάλυμα NaCl 1.006 g/mL: 9 g NaCl, 0.4 g EDTA και 100 μL Garamycin διαλύονται σε 1 L απεσταγμένου νερού. Το pH ρυθμίζεται στο 7.4 και το διάλυμα διηθείται υπό κενό σε φίλτρα διήθησης 20 μ. Η ακριβής πυκνότητα επιβεβαιώνεται με μέτρηση σε πυκνόμετρο και το διάλυμα διατηρείται στους 4°C.
- Διάλυμα NaCl-KBr 1.357 g/mL: παρασκευάζεται με τη διάλυση 153 g NaCl, 354 g KBr, 0.4 g EDTA και 10 μL Garamycin σε 1 L απεσταγμένου νερού. Το pH ρυθμίζεται στο 7.4 και το διάλυμα διηθείται υπό κενό σε φίλτρα διήθησης 20 μ. Η ακριβής πυκνότητα επιβεβαιώνεται με μέτρηση σε πυκνόμετρο και το διάλυμα διατηρείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- Διαλύματα NaCl-KBr 1.019 g/mL, 1.063 g/mL και 1.240 g/mL: παρασκευάζονται με την ανάμιξη κατάλληλων όγκων των διαλυμάτων NaCl 1.006 g/mL και NaCl-KBr 1.357 g/mL με βάση την παρακάτω εξίσωση:

$$d_x * (V_A + V_B) = (V_A * d_A) + (V_B * d_B)$$

όπου:  $d_x$  η επιθυμητή πυκνότητα του τελικού διαλύματος

$V_A$  και  $d_A$  ο όγκος και η ακριβής πυκνότητα του διαλύματος NaCl 1.006 g/mL

$V_B$  και  $d_B$  ο όγκος και η ακριβής πυκνότητα του διαλύματος NaCl-KBr 1.357 g/mL

Μετά την παρασκευή του διαλύματος ακολουθεί η μέτρηση της ακριβούς πυκνότητάς του σε πυκνόμετρο. Τυχόν αποκλίσεις από την επιθυμητή τελική πυκνότητα διορθώνονται με την προσθήκη κατάλληλων όγκων των διαλυμάτων NaCl 1.006 g/mL και NaCl-KBr 1.357 g/mL. Τα διαλύματα φυλάσσονται στους 4°C.

**Πειραματική πορεία:** 10 mL αίματος από ασθενείς με συγκεντρώσεις Lp(a) μικρότερες από 8 mg/dL (μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αυτής της λιποπρωτεΐνης επηρεάζουν την κατανομή της Lp-PLA<sub>2</sub> στα λιποπρωτεϊνικά υποκλάσματα) τοποθετούνται σε πλαστικό

σωληνάκι το οποίο περιέχει 1.2 ml ACD ως αντιπηκτικό. Τα σωληνάκια φυγοκεντρώνονται στις 3100 rpm για 15 min σε θερμοκρασία δωματίου προκειμένου να διαχωρισθεί το πλάσμα από τα έμμορφα συστατικά του αίματος. Στο πλάσμα που αναρροφάται με αυτόματη πιπέτα από το υπερκείμενο προστίθενται EDTA 10% και Garamycin σε τελικές συγκεντρώσεις 5 και 1.25  $\mu\text{L}/\text{mL}$  πλάσματος, αντίστοιχα. Το EDTA δρα ως χηλικός παράγοντας δεσμεύοντας τα δισθενή κατιόντα και έτσι αποτρέπει την οξειδωση των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος, ενώ η γενταμικίνη εμποδίζει την ανάπτυξη μικροβιακών παραγόντων. 3 mL από το πλάσμα που έχει απομονωθεί με αυτό τον τρόπο αναμιγνύονται με 0.966 g στερεού KBr. Ακριβώς 3 mL από το διάλυμα που προκύπτει από την παραπάνω ανάμιξη μεταφέρονται με πιπέτα Pasteur στο σωλήνα της υπερφυγοκέντρου, στον πυθμένα του οποίου έχουν ήδη τοποθετηθεί 2 mL διαλύματος NaCl-KBr 1.240 g/mL. Μετά το πλάσμα επιστοιβάζονται διαδοχικά με όργανο αυτόματης ροής (Autodensity flow, Buchler Instruments) 2 mL διαλύματος NaCl-KBr 1.063 g/mL, 2.5 ml διαλύματος NaCl-KBr 1.019 g/mL και τέλος 2.5 ml διαλύματος NaCl-KBr 1.006 g/mL. Οι σωλήνες της φυγοκέντρου, αφού πρώτα ζυγοσταθμισθούν, τοποθετούνται στο ρότορα και ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 44.000 rpm για 44 ώρες. Αμέσως μετά το τέλος της φυγοκέντρησης συλλέγονται διαδοχικά από την κορυφή προς τον πυθμένα κάθε σωλήνα 30 κλάσματα όγκου 400 mL το καθένα. Τέλος, αφού προσδιορισθεί πρώτα η συγκέντρωση της πρωτεΐνης κάθε υποκλάσματος, ακολουθεί ανασύσταση των κλασμάτων προκειμένου να σχηματισθούν τα λιποπρωτεϊνικά υποκλάσματα. Η ανασύσταση γίνεται με τον παρακάτω τρόπο: κλάσματα 1 και 2 (VLDL+IDL,  $d < 1.019$  g/mL), 3 και 4 (LDL-1,  $d = 1.019-1.023$  g/mL), 5 και 6 (LDL-2,  $d = 1.023-1.029$  g/mL), 7 και 8 (LDL-3,  $d = 1.029-1.039$  g/mL), 9 και 10 (LDL-4,  $d = 1.039-1.050$  g/mL), 11 και 12 (LDL-5,  $d = 1.050-1.063$  g/mL), 13 έως 16 (HDL-2,  $d = 1.063-1.100$  g/mL), 17 έως 22 (HDL-3,  $d = 1.100-1.167$  g/mL), 23 και 24 (VHDL,  $d = 1.167-1.190$  g/mL).

Προκειμένου να επιτευχθεί η απομάκρυνση της περίσσειας των αλάτων τα λιποπρωτεϊνικά υποκλάσματα υποβάλλονται σε διαπίδυση έναντι 2x5 L PBS 10 mM + EDTA 0.05%, pH 7.4 για 24 ώρες, με αλλαγή του διαλύματος διαπίδυσης κάθε 6 ώρες.

Παρόμοια πειραματική πορεία ακολουθείται και όταν για το διαχωρισμό των υποκλασμάτων των λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας χρησιμοποιείται απομονωμένη HDL και όχι πλήρες πλάσμα. Η ανασύσταση των υποκλασμάτων σε αυτή την περίπτωση μπορεί να γίνει με τον παρακάτω τρόπο: κλάσματα 13 έως 15 (HDL2b,  $d = 1.063-1.091$  g/mL), 16 και 17 (HDL2a,  $d = 1.091-1.100$  g/mL), 18 και 19 (HDL3a,  $d = 1.100-1.133$  g/mL), 20 και 21 (HDL3b,  $d = 1.133-1.156$  g/mL), 22 και 23 (HDL3c,  $d = 1.156-1.179$  g/mL).

### **Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών με τη μέθοδο BCA**

**Αρχή της μεθόδου:** τα ιόντα του  $\text{Cu}^{2+}$  ανάγονται με την επίδραση των πρωτεϊνών σε αλκαλικό περιβάλλον σε ιόντα  $\text{Cu}^+$ . Κάθε ιόν  $\text{Cu}^+$  σχηματίζει έγχρωμο υδατοδιαλυτό σύμπλοκο με 2 μόρια δισιχρονικού οξέος, το οποίο απορροφά το φως στα 560 nm.

#### **Υλικά και όργανα:**

- Μετρητής Microelisa.
- Πλάκα αντίδρασης 96 θέσεων.
- Πρότυπο διάλυμα BSA 2 mg/mL σε NaCl 0.9% και  $\text{NaN}_3$  0.05%.
- Αντιδραστήριο A: είναι μίγμα ανθρακικού νατρίου, διπτανθρακικού νατρίου, δισιχρονικού οξέος και ταταρικού οξέος σε NaOH 0.2N.
- Αντιδραστήριο B: είναι διάλυμα  $\text{CuSO}_4$  4%

**Διάλυμα εργασίας:** παρασκευάζεται αμέσως πριν τη χρήση του με την ανάμιξη των αντιδραστηρίων A και B σε αναλογία 50:1.

**Πειραματική πορεία:** στην πλάκα αντίδρασης 96 θέσεων τοποθετούνται 10  $\mu\text{L}$  δείγματος. Παράλληλα σε ξεχωριστή στήλη της πλάκας τοποθετούνται τα πρότυπα διαλύματα BSA (20  $\mu\text{L}$ ), τα οποία σχηματίζονται με την ανάμιξη κατάλληλων όγκων αποσταγμένου νερού και BSA 2  $\mu\text{g/mL}$  έτσι ώστε η συγκέντρωσή τους να κυμαίνεται μεταξύ 0.25 και 1.5  $\mu\text{g BSA/mL}$ . Στη συνέχεια, στα δείγματα προστίθενται 200  $\mu\text{L}$  διαλύματος εργασίας και η πλάκα, αφού ανακινηθεί ήπια, μεταφέρεται σε κλίβανο όπου επωάζεται στους 37°C για 30 min. Μετά την επώαση η πλάκα μεταφέρεται στο μετρητή microelisa όπου φωτομετρείται στα 560 nm. Στη συνέχεια, με βάση τις απορροφήσεις των προτύπων διαλυμάτων κατασκευάζεται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή η πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης-απορρόφησης. Τέλος, με τη βοήθεια της εξίσωσης η οποία περιγράφει αυτή την καμπύλη γίνεται η αναγωγή της απορρόφησης των δειγμάτων σε συγκέντρωση πρωτεΐνης.

### **Προσδιορισμός της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub>**

Το diaDexus PLAC™ test είναι ένας κλασικός ανοσοπροσδιορισμός ELISA τύπου sandwich, στον οποίο χρησιμοποιούνται δύο ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα (Ab) για τον άμεσο προσδιορισμό της συγκέντρωσης της Lp-PLA<sub>2</sub> στο ολικό πλάσμα.

#### **Υλικά και όργανα:**

- Μετρητής Microelisa.
- Πλάκα αντίδρασης 96 θέσεων.
- 12 ταινίες επικαλυμμένες με το ειδικό Ab
- Standards (0, 50, 100, 250, 100 ng/mL)

- Buffer προσδιορισμού (23 mL, άχρωμο)
- Conjugate (23 mL, κόκκινο χρώμα)
- TMB (11 mL, 3,3',5,5' -τετραμεθυλβενζιδίνη)
- Διάλυμα HCl 1N (11 mL, stop solution)

**Πειραματική πορεία:** Ο προσδιορισμός γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου. Όλα τα αντιδραστήρια αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου πριν τη χρήση τους.

1. Τοποθετούμε 200  $\mu$ L από το ρυθμιστικό διάλυμα σε κάθε φρεάτιο.
2. Τοποθετούμε 10  $\mu$ L των standards, των δειγμάτων και των controls στα φρεάτια και αναμιγνύουμε με την πιπέτα.
3. Τοποθετούμε τις πλάκες σε πλακέτα ανάδευσης για να αναμιχθούν.
4. Επώαζουμε στους 20-26°C για 2 h.
5. Στο τέλος του χρόνου επώασης αποχύνουμε τα δείγματα. Ξεπλένουμε τα φρεάτια 4 φορές με 300  $\mu$ L/φρεάτιο απιονισμένο νερό.
6. Στραγγίζουμε την πλάκα πάνω σε καθαρή πετσέτα και στη συνέχεια προχωρούμε στο επόμενο βήμα (δεν επιτρέπεται να στεγνώσουν τα φρεάτια).
7. Τοποθετούμε 200  $\mu$ L conjugate σε κάθε φρεάτιο.
8. Αναδεύουμε την πλάκα για 15-20 sec.
9. Επώαζουμε σε θερμοκρασία δωματίου για 60 min.
10. Τα τελευταία 15 min της επώασης βγάζουμε το TMB από το ψυγείο σε θερμοκρασία δωματίου.
11. Στο τέλος της επώασης αποχύνουμε τα δείγματα και ξεπλένουμε την πλάκα 4 φορές με απιονισμένο νερό.
12. Στραγγίζουμε το πλακίδιο προσέχοντας να μη στεγνώσουν τελείως τα φρεάτια.
13. Προσθέτουμε 100  $\mu$ L από το TMB σε κάθε φρεάτιο.
14. Αναδεύουμε ελαφρά για 10-15 sec.
15. Επώαζουμε σε θερμοκρασία δωματίου για 20 min στο σκοτάδι.
16. Σταματάμε την αντίδραση με την προσθήκη 100  $\mu$ L HCl 1N (το μπλε χρώμα γίνεται κόκκινο).
17. Μετράμε την απορρόφηση στα 450 nm μέσα σε 15 min από τη διακοπή της αντίδρασης.

Με βάση τις απορροφήσεις των πρότυπων δειγμάτων σχεδιάζουμε με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή μία καμπύλη από σημείο σε σημείο (point-to-point) που στον άξονα χ έχει τη συγκέντρωση της Lp-PLA<sub>2</sub> των προτύπων (σε ng/mL) και στον άξονα ψ έχει τις απορροφήσεις των προτύπων. Με βάση αυτή την καμπύλη και τις απορροφήσεις



των δειγμάτων το πρόγραμμα του υπολογιστή υπολογίζει κάθε φορά τη συγκέντρωση της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> (σε ng/mL).

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

Ως ειδική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> ορίζεται το πηλίκο της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> προς τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> (nmol/ng/min).

### **Ανάλυση των υποκλασμάτων των LDL με τη χρησιμοποίηση του Liporprint 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 μέγεθός τους. Συγκεκριμένα, το Liporprint LDL system περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, σωληνάρια γέλης πολυακρυλαμιδίου υψηλής ανάλυσης και loading gel σε υγρή μορφή που περιέχει λιπόφιλη χρωστική ουσία. Η χρωστική ουσία συνδέεται με τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια ανάλογα με τη συγκέντρωση της χοληστερόλης κάθε σωματιδίου. Τα λιποπρωτεϊνικά αυτά σωματίδια στη συνέχεια υποβάλλονται σε ηλεκτροφόρηση. Κατά την πρώτη φάση της ηλεκτροφόρησης, τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια συγκεντρώνονται σε μία λεπτή μπάντα στο άνω μέρος του 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 Liporprint LDL σωληνάρια γέλης πολυακρυλαμιδίου (Quantimetrix Catalog No. 48-7002)
- 24 mL Liporprint LDL loading gel (Quantimetrix Catalog No. 48-7002)
- 6 vials Liporprint LDL ρυθμιστικά άλατα [tris (hydroxymethyl) aminomethane, βορικό οξύ) (Quantimetrix Catalog No. 48-7002)
- Απιονισμένο νερό

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

- Υπολογιστή (περιλαμβάνει το λογισμικό Lipoware Analysis Program)
- Έγχρωμο εκτυπωτή
- Ψηφιακό σαρωτή
- Θάλαμο ηλεκτροφόρησης

- Τροφοδοτικό (120V/220V)
- Υποδοχή προετοιμασίας 12 θέσεων
- Πηγή φωτός

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

**Πειραματική πορεία:** 25  $\mu\text{L}$  δείγματος (ορός ή πλάσμα) αναμειγνύεται με 200  $\mu\text{L}$  loading gel και τοποθετείται προσεκτικά με αυτόματη πιπέτα στο άνω μέρος του σωληναρίου που περιέχει γέλη πολυακρυλαμιδίου 3%. Στη συνέχεια, τα δείγματα φωτοπολυμερίζονται για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας του φωτοπολυμερισμού, τα σωληνάρια τοποθετούνται στο θάλαμο ηλεκτροφόρησης και η ηλεκτροφόρηση πραγματοποιείται για 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 σωληνάρια 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 (LLDL) 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 TCHOL του δείγματος (η μέτρηση της συγκέντρωσης της TCHOL του δείγματος γίνεται ανεξάρτητα). Το ποσοστό της χοληστερόλης των sdLDL (sdLDL-CHOL %) ορίζεται ως το ποσοστό της LDL-CHOL 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 Å.

### Στατιστική ανάλυση

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). Οι συσχετίσεις μεταξύ των μεταβλητών της μελέτης εκτιμήθηκαν με τη χρησιμοποίηση του Pearson product-moment correlation coefficient ( $r$ ) ή του Spearman's rank order correlation ( $\rho$ ) για τις κανονικές και μη-κανονικές μεταβλητές, αντίστοιχα. Οι συγκρίσεις των παραμέτρων της μελέτης πριν και μετά τη θεραπεία πραγματοποιήθηκαν με τη χρησιμοποίηση του Student's t-test για εξαρτημένες μεταβλητές. Η ανάλυση της μεταβλητότητας σε μία διεύθυνση (one-way analysis of variance, ANOVA), η οποία συνοδεύονταν από τη δοκιμασία των ελαχίστων διαφορών (LSD test, least significance differences test) χρησιμοποιήθηκε για τις συγκρίσεις ανάμεσα στις 3 ομάδες της μελέτης. Για να συγκριθούν οι ποσοστιαίες μεταβολές των παραμέτρων που επιτεύχθηκαν με τη ροσουβαστατίνη και την εξετιμίμπη (αφού αυτές οι δύο ομάδες είχαν πληθυσμούς με συγκρίσιμες τιμές λιπιδαιμικών παραμέτρων) χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία ANCOVA (analysis of covariance, ανάλυση της συμμεταβλητότητας). Η δοκιμασία  $\chi^2$  (chi-square) με διόρθωση κατά Yates χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση των ποσοστών. Η σημαντικότητα ορίστηκε για τιμή του  $p < 0.05$ . Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με προσωπικό υπολογιστή και τη χρησιμοποίηση του λογισμικού SPSS 13.0.



## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### Επίδραση της υπολιπιδαιμικής θεραπείας στο λιπιδαιμικό προφίλ του ορού

Όπως φαίνεται και στον **πίνακα 5**, η εξετιμίμπη ελάττωσε σημαντικά την TCHOL, την LDL-CHOL, την non-HDL-CHOL καθώς και τα επίπεδα της apoB στον ορό. Επιπλέον, η εξετιμίμπη προκάλεσε μια πολύ μικρή αλλά σημαντική μείωση των επιπέδων της HDL-CHOL του ορού, ενώ δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή των επιπέδων της apoA-I. Η ροσουβαστατίνη μείωσε σημαντικά τα επίπεδα της TCHOL, της LDL-CHOL, της non-HDL-CHOL και της apoB στον ορό και οι μεταβολές αυτές ήταν μεγαλύτερες σε σύγκριση με τις αντίστοιχες που παρατηρήθηκαν στην ομάδα της εξετιμίμπης (**πίνακας 5**). Η φαινοφιμπράτη είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση των επιπέδων των TG, της TCHOL, της LDL-CHOL, της non-HDL-CHOL καθώς και της apoB. Επιπλέον, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των επιπέδων της HDL-CHOL και της apoA-I στον ορό, ένα εύρημα που δεν παρατηρήθηκε στις δυο προηγούμενες ομάδες. Τέλος, σε καμία από τις ομάδες δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή των επιπέδων της Lp(a).

**Πίνακας 5. Επίδραση των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων (εξετιμίμπη, ροσουβαστατίνη και φαινοφιμπράτη) στα επίπεδα των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών του ορού στα άτομα της μελέτης**

| Παράμετρος               | Εξετιμίμπη (n=50) |                     |             | Ροσουβαστατίνη (n=50) |                     |                      | Φαινοφιμπράτη (n=50) |                     |             |
|--------------------------|-------------------|---------------------|-------------|-----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|---------------------|-------------|
|                          | Πριν τη θεραπεία  | Μετά τη θεραπεία    | Μεταβολή, % | Πριν τη θεραπεία      | Μετά τη θεραπεία    | Μεταβολή, %          | Πριν τη θεραπεία     | Μετά τη θεραπεία    | Μεταβολή, % |
| Φύλο (Α/Γ)               | 23/27             |                     |             | 19/31                 |                     |                      | 20/30                |                     |             |
| Ηλικία (έτη)             | 48.1±19.5         |                     |             | 54.6±14.6             |                     |                      | 55.9±11              |                     |             |
| BMI (Kg/m <sup>2</sup> ) | 24.5±7.9          |                     |             | 25.8±4.2              |                     |                      | 34.3±7               |                     |             |
| TCHOL (mg/dL)            | 263±35            | 220±35 <sup>‡</sup> | -15±7       | 297±50                | 201±35 <sup>‡</sup> | -33±12 <sup>#</sup>  | 236±35               | 205±39 <sup>+</sup> | -13±6       |
| TG (mg/dL)               | 142±44            | 133±53              | -4±2        | 142±53                | 124±35 <sup>*</sup> | -15±8                | 239±53               | 150±53 <sup>‡</sup> | -33±12      |
| HDL-CHOL (mg/dL)         | 62±15             | 58±15 <sup>*</sup>  | -8±5        | 58±12                 | 59±8                | 2±1                  | 50±12                | 58±12 <sup>+</sup>  | 20±5        |
| LDL-CHOL (mg/dL)         | 170±31            | 139±23 <sup>‡</sup> | -17±9       | 208±42                | 112±35 <sup>‡</sup> | -45±8 <sup>#</sup>   | 147±35               | 127±39 <sup>*</sup> | -11±7       |
| NonHDL-CHOL (mg/dL)      | 201±27            | 166±23 <sup>‡</sup> | -17±10      | 239±50                | 143±42 <sup>‡</sup> | -41±7 <sup>#</sup>   | 185±35               | 154±35 <sup>+</sup> | -16±8       |
| apoA-I (mg/dL)           | 140±30            | 139±20              | -2±1        | 130±30                | 130±40              | 1±2                  | 120±30               | 140±30 <sup>*</sup> | 13±6        |
| apoB (mg/dL)             | 120±20            | 100±20 <sup>+</sup> | -19±8       | 130±40                | 90±20 <sup>+</sup>  | -31±11 <sup>**</sup> | 110±30               | 80±30 <sup>+</sup>  | -25±10      |
| Lp(a), mg/dL             | 4.2(2.0-6.1)      | 4.0(2.0-5.8)        | -1 [(-7)-5] | 4.0(2.0-7.4)          | 4.0(2.0-6.5)        | 1[(-5)-4]            | 3.8(2.0-7.9)         | 3.9(2.0-7.5)        | 1[(-5)-5]   |

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση (SD), εκτός από τις τιμές της Lp(a) οι οποίες εκφράζονται ως διάμεση τιμή (εύρος). \*p<0.05, <sup>+</sup>p<0.01 και <sup>‡</sup>p<0.001 σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές πριν τη θεραπεία. \*\*p<0.05 και <sup>#</sup>p<0.01 σε σύγκριση με τις αντίστοιχες μεταβολές της ομάδας της εξετιμίμπης.

### **Επίδραση της υπολιπιδαιμικής θεραπείας στα επίπεδα της χοληστερόλης των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB**

Οι ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IV που πήραν φαινοφιμπράτη είχαν υψηλότερα επίπεδα VLDL-CHOL και χαμηλότερα επίπεδα IDL-CHOL και LLDL-CHOL ορού πριν την έναρξη της αγωγής σε σύγκριση με τους ασθενείς με δυσλιπιδαιμία IIA που πήραν αγωγή με εξετιμίμπη ή ροσουβαστατίνη (**πίνακας 6**). Επιπρόσθετα, οι ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IV είχαν σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις sdLDL-CHOL, καθώς και μεγαλύτερο ποσοστό sdLDL%, ενώ η μέση διάμετρος των LDL σωματιδίων ήταν μικρότερη σε σύγκριση με τους ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIA. Η χορήγηση εξετιμίμπης και ροσουβαστατίνης οδήγησε σε σημαντική μείωση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης όλων των λιποπρωτεϊνικών υποκλασμάτων που περιέχουν apoB, με εξαίρεση την VLDL-CHOL, η οποία δεν μειώθηκε στους ασθενείς που πήραν εξετιμίμπη. Η ροσουβαστατίνη οδήγησε σε σημαντική μεγαλύτερη μείωση της VLDL-CHOL, της IDL-CHOL και της LLDL-CHOL σε σύγκριση με την ομάδα της εξετιμίμπης. Πάντως κανένα από αυτά τα δύο φάρμακα δεν μετέβαλε το ποσοστό των sdLDL ούτε και τη μέση διάμετρο των LDL. Η φαινοφιμπράτη μείωσε σημαντικά τα επίπεδα της VLDL-CHOL, αλλά δεν είχε καμία σημαντική επίδραση στα επίπεδα της IDL-CHOL ή της LLDL-CHOL. Πρέπει ωστόσο να επισημανθεί ότι η φαινοφιμπράτη μείωσε σημαντικά τα επίπεδα της sdLDL-CHOL και κατά συνέπεια το ποσοστό των sdLDL, ενώ αύξησε τη μέση διάμετρο των LDL σωματιδίων (**πίνακας 6**).

**Πίνακας 6. Επίδραση των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων της μελέτης στα επίπεδα της χοληστερόλης των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB και apoA-I**

| Παράμετρος                               | Εξετιμίμνη<br>(n=50) |                       |                | Ροσουβαστατίνη<br>(n=50) |                      |                     | Φαινοφιμπράτη<br>(n=50) |                      |                |
|--|----------------------|-----------------------|----------------|--------------------------|----------------------|---------------------|-------------------------|----------------------|----------------|
|  | Πριν τη<br>θεραπεία  | Μετά τη<br>θεραπεία   | Μεταβολή,<br>% | Πριν τη<br>θεραπεία      | Μετά τη<br>θεραπεία  | Μεταβολή,<br>%      | Πριν τη<br>θεραπεία     | Μετά τη<br>θεραπεία  | Μεταβολή,<br>% |
| VLDL-CHOL (mg/dL)                        | 50 ± 8               | 46 ± 8                | -8±2           | 50 ± 8                   | 39 ± 8 <sup>+</sup>  | -22±6 <sup>#</sup>  | 62 ± 12 <sup>‡</sup>    | 46 ± 12 <sup>+</sup> | -26±9          |
| IDL-CHOL (mg/dL)                         | 62 ± 12              | 54 ± 12 <sup>*</sup>  | -13±4          | 69 ± 15                  | 42 ± 12 <sup>+</sup> | -39±12 <sup>#</sup> | 46 ± 12 <sup>‡</sup>    | 50 ± 15              | 9±3            |
| LDL-CHOL (mg/dL)                         | 135 ± 31             | 112 ± 23 <sup>*</sup> | -17±6          | 151 ± 31                 | 97 ± 27 <sup>‡</sup> | -36±8 <sup>**</sup> | 100 ± 39 <sup>‡</sup>   | 100 ± 39             | 5±2            |
| sdLDL-CHOL<br>(mg/dL)                    | 8 ± 3                | 5 ± 3 <sup>*</sup>    | -37±10         | 9 ± 4                    | 6 ± 2 <sup>*</sup>   | -33±10              | 20 ± 12 <sup>‡</sup>    | 9 ± 1 <sup>+</sup>   | -55±21         |
| Ποσοστό sdLDL (%)                        | 5 ± 2                | 4 ± 2                 | -20±4          | 4 ± 2                    | 4 ± 2                | 2±1                 | 12 ± 4 <sup>‡</sup>     | 6 ± 2 <sup>+</sup>   | -51±6          |
| Μέση διάμετρος των<br>LDL σωματιδίων (Å) | 269 ± 4              | 269 ± 3               | -4±1           | 266 ± 3                  | 267 ± 4              | 3±1                 | 258 ± 4 <sup>‡</sup>    | 270 ± 3 <sup>+</sup> | 7±2            |
| HDL-2-CHOL<br>(mg/dL)                    | 22 ± 9               | 25 ± 9                | 14±3           | 21 ± 7                   | 20 ± 6               | -5±1 <sup>**</sup>  | 11 ± 6 <sup>‡</sup>     | 13 ± 6 <sup>*</sup>  | 18±7           |
| HDL-3-CHOL<br>(mg/dL)                    | 46 ± 12              | 42 ± 8 <sup>*</sup>   | -9±2           | 46 ± 8                   | 46 ± 8               | 4±2 <sup>**</sup>   | 39 ± 8 <sup>‡</sup>     | 42 ± 8 <sup>+</sup>  | 8±2            |

VLDL-CHOL: χοληστερόλη των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, IDL-CHOL: χοληστερόλη των ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, LDL-CHOL: χοληστερόλη των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, sdLDL-CHOL: χοληστερόλη των μικρών πυκνών LDL σωματιδίων, HDL: υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση. \*p<0.05, <sup>+</sup>p<0.01 και <sup>‡</sup>p<0.001 σε σύγκριση με τις τιμές πριν τη θεραπεία. \*\*p<0.05 και <sup>#</sup>p<0.01 σε σύγκριση με τις αντίστοιχες μεταβολές της ομάδας της εξετιμίμνης. <sup>‡</sup>p<0.05 σε σύγκριση με τις αρχικές τιμές αυτών των παραμέτρων των ασθενών που πήραν εξετιμίμνη και ροσουβαστατίνη.



**Επίδραση της υπολιπιδαιμικής αγωγής στα λιποπρωτεϊνικά υποκλάσματα που περιέχουν apoA-I (πίνακας 6)**

Οι λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoA-I διαχωρίστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε δύο υποκλάσματα, το υποκλάσμα με τα μεγάλα HDL-2 σωματίδια (μπάντες 1 ως 3) και το υποκλάσμα με τα μικρότερα HDL-3 σωματίδια (μπάντες 4 ως 9). Οι ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IV είχαν μικρότερη συγκέντρωση χοληστερόλης της HDL-2 (HDL-2-CHOL) και της HDL-3 (HDL-3-CHOL) σε σύγκριση με τους ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IIA που πήραν εξετιμίμπη ή ροσουβαστατίνη. Η εξετιμίμπη μείωσε σημαντικά τη συγκέντρωση της HDL-3-CHOL, ενώ δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή της HDL-2-CHOL. Αντίθετα δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των υποκλασμάτων των HDL μετά τη χορήγηση της ροσουβαστατίνης. Τέλος, η φαινοφιμπράτη αύξησε σημαντικά τα επίπεδα τόσο της HDL-2-CHOL όσο και της HDL-3-CHOL.

### **Επίδραση της υπολιπιδαιμικής αγωγής στην ενεργότητα, τη μάζα και την ειδική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> του ορού (πίνακας 7)**

Η εξετιμίμψη ελάττωσε σημαντικά τόσο την ολική ενεργότητα και μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> του ορού όσο και τη non-HDL Lp-PLA<sub>2</sub> ενεργότητα και μάζα. Όμως, το φάρμακο δεν μετέβαλε την ειδική ενεργότητα του ενζύμου ούτε το λόγο της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> προς τη συγκέντρωση της apoB (**πίνακας 8**) ( $0.58 \pm 0.13$  πριν τη θεραπεία σε σύγκριση με  $0.60 \pm 0.15$  μετά τη θεραπεία), καθώς και το λόγο της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> προς τη συγκέντρωση της apoB ( $3.75 \pm 0.51$  πριν τη θεραπεία σε σύγκριση με  $3.83 \pm 0.98$  μετά τη θεραπεία) (**πίνακας 8**). Επιπλέον η εξετιμίμψη είχε ως αποτέλεσμα μια μικρή αλλά σημαντική μείωση της ενεργότητας και της μάζας της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> χωρίς όμως να παρατηρηθεί σημαντική μεταβολή της ειδικής ενεργότητας της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> ή του λόγου της ενεργότητας της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> προς την apoA-I ( $0.021 \pm 0.005$  πριν τη θεραπεία σε σύγκριση με  $0.021 \pm 0.006$  μετά τη θεραπεία), καθώς και στο λόγο της μάζας της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> προς την apoA-I ( $0.52 \pm 0.17$  πριν τη θεραπεία σε σύγκριση με  $0.49 \pm 0.18$  μετά τη θεραπεία) (**πίνακας 8**). Η ροσουβαστατίνη ελάττωσε σημαντικά την ενεργότητα και τη μάζα του ενζύμου στον ορό, καθώς και τη non-HDL ενεργότητα και μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> και αυτές οι μεταβολές ήταν μεγαλύτερες σε σύγκριση με αυτές που παρατηρήθηκαν μετά τη χορήγηση της εξετιμίμψης. Παρόλα αυτά η χορήγηση της ροσουβαστατίνης δεν προκάλεσε σημαντική μεταβολή της ειδικής ενεργότητας του ενζύμου. Η ροσουβαστατίνη δεν επηρέασε την ενεργότητα της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub>, ένα εύρημα που τη διαφοροποιεί από την εξετιμίμψη που προκάλεσε σημαντική μείωση της ενεργότητας του ενζύμου. Επιπρόσθετα δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές του λόγου της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> προς την apoB ή του λόγου της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> προς την apoB (**πίνακας 8**). Η φαινοφιμπράτη είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> στο ολικό πλάσμα, καθώς και της ενεργότητας της non-HDL Lp-PLA<sub>2</sub>. Η φαινοφιμπράτη μείωσε τη μάζα του ενζύμου και αυτή η μείωση ήταν δυσανάλογα μεγάλη σε σύγκριση με τη μείωση της ενεργότητας του ενζύμου με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση της ειδικής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> στο ολικό πλάσμα και της ειδικής ενεργότητας της non-HDL Lp-PLA<sub>2</sub>. Επιπρόσθετα η φαινοφιμπράτη αύξησε την ενεργότητα και τη μάζα της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub>, χωρίς όμως να παρατηρηθεί σημαντική μεταβολή της ειδικής ενεργότητας, ούτε επίσης μεταβολή των λόγων της ενεργότητας της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> προς την apoA-I ( $0.019 \pm 0.008$  πριν τη θεραπεία σε σύγκριση με  $0.030 \pm 0.009$  μετά τη θεραπεία) ή της μάζας της HDL-Lp-

PLA<sub>2</sub> προς την apoA-I ( $0.48 \pm 0.1$  πριν τη θεραπεία σε σύγκριση με  $0.69 \pm 0.21$  μετά τη θεραπεία) (**πίνακας 8**).

**Πίνακας 7. Επίδραση των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων στην ενεργότητα, τη μάζα και την ειδική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> του πλάσματος και των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB και apoA-I**

| Παράμετρος   | Εξετιμίμνη<br>(n=50) |                     |                | Ροσουβαστατίνη<br>(n=50) |                        |                     | Φαινοφιμπράτη<br>(n=50) |                        |                |
|--|----------------------|---------------------|----------------|--------------------------|------------------------|---------------------|-------------------------|------------------------|----------------|
|  | Πριν τη<br>θεραπεία  | Μετά τη<br>θεραπεία | Μεταβολή,<br>% | Πριν τη<br>θεραπεία      | Μετά τη<br>θεραπεία    | Μεταβολή,<br>%      | Πριν τη<br>θεραπεία     | Μετά τη<br>θεραπεία    | Μεταβολή,<br>% |
| Ενεργότητα Lp-PLA <sub>2</sub><br>πλάσματος<br>(nmol/mL/min)         | 59.7±10.5            | 50.7±8.9*           | -15±5          | 66.0±15.4                | 44.6±11.5 <sup>‡</sup> | -32±10 <sup>#</sup> | 59±13.8                 | 48.2±12.4 <sup>‡</sup> | -18±5          |
| Μάζα Lp-PLA <sub>2</sub><br>πλάσματος<br>(ng/mL)                     | 397±72               | 325±68*             | -18±4          | 449±59                   | 320±74 <sup>‡</sup>    | -29±8**             | 456±73                  | 310±77 <sup>‡</sup>    | -32±8          |
| Ειδική ενεργότητα Lp-<br>PLA <sub>2</sub> πλάσματος<br>(nmol/ng/min) | 0.15±0.04            | 0.16±0.06           | 7±2            | 0.15±0.03                | 0.14±0.04              | -7±3                | 0.13±0.05               | 0.17±0.06 <sup>+</sup> | 30±8           |
| Non-HDL Lp-PLA <sub>2</sub><br>ενεργότητα<br>(nmol/mL/min)           | 56.7±10.3            | 48.1±8.8*           | -15±7          | 63.5±21.4                | 42.2±16.7 <sup>‡</sup> | -33±4 <sup>#</sup>  | 55.7±14.0               | 44.9±12.8 <sup>‡</sup> | -19±5          |
| Non-HDL Lp-PLA <sub>2</sub><br>μάζα<br>(ng/mL)                       | 324±71               | 264±54*             | -19±8          | 386±77                   | 260±52 <sup>‡</sup>    | -33±11 <sup>#</sup> | 411±65                  | 234±73 <sup>‡</sup>    | -43±12         |
| Non-HDL Lp-PLA <sub>2</sub><br>ειδική ενεργότητα<br>(nmol/ng/min)    | 0.17±0.05            | 0.18±0.08           | 6±1            | 0.16±0.04                | 0.16±0.05              | 4±1                 | 0.13±0.06               | 0.17±0.08*             | 31±11          |
| HDL Lp-PLA <sub>2</sub><br>ενεργότητα<br>(nmol/mL/min)               | 2.95±0.82            | 2.57±0.64*          | -13±3          | 2.41±0.72                | 2.40±0.61              | 3±1**               | 2.10±0.80               | 3.23±0.74 <sup>+</sup> | 53±8           |
| HDL Lp-PLA <sub>2</sub> μάζα<br>(ng/mL)                              | 72.7±21.5            | 61.1±19.8*          | -16±9          | 63.0±24.3                | 57.2±19.8              | -9±4                | 49.5±16.5               | 76.4±30.6 <sup>+</sup> | 54±22          |
| HDL Lp-PLA <sub>2</sub> ειδική<br>ενεργότητα<br>(nmol/ng/min)        | 0.04±0.01            | 0.04±0.02           | 3±1            | 0.04±0.01                | 0.04±0.01              | 6±3                 | 0.04±0.02               | 0.04±0.01              | 5±2            |

Lp-PLA<sub>2</sub>: συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A<sub>2</sub>, HDL: υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες.

Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση. \* $p < 0.05$ , <sup>†</sup> $p < 0.01$  και <sup>‡</sup> $p < 0.001$  σε σύγκριση με τις τιμές πριν τη θεραπεία. \*\* $p < 0.05$  και # $p < 0.01$  σε σύγκριση με τις αντίστοιχες μεταβολές των ασθενών που πήραν εξετιμίμη.

**Πίνακας 8. Επίδραση των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων στους λόγους ενεργότητας ή και μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> προς τη συγκέντρωση της apoB και της apoA-I**

| Παράμετρος                                       | Εζετιμίμπη<br>(n=50) |                  | Ροσουβαστατίνη<br>(n=50) |                  | Φαινοφιμπράτη<br>(n=50) |                  |
|--|----------------------|------------------|--------------------------|------------------|-------------------------|------------------|
|  | Πριν τη θεραπεία     | Μετά τη θεραπεία | Πριν τη θεραπεία         | Μετά τη θεραπεία | Πριν τη θεραπεία        | Μετά τη θεραπεία |
| Ενεργότητα Lp-PLA <sub>2</sub><br>πλάσματος/apoB | 0.58±0.13            | 0.60±0.15        | 0.51±0.23                | 0.50±0.30        | 0.54±0.26               | 0.60±0.23        |
| Μάζα Lp-PLA <sub>2</sub><br>πλάσματος/apoB       | 3.75±0.51            | 3.83±0.98        | 3.45±1.48                | 3.56±1.70        | 4.15±1.43               | 3.88±1.87        |
| HDL Lp-PLA <sub>2</sub><br>ενεργότητα/apoA-I     | 0.021±0.005          | 0.021±0.006      | 0.021±0.008              | 0.018±0.005      | 0.019±0.008             | 0.030±0.009      |
| HDL Lp-PLA <sub>2</sub> μάζα/apoA-I              | 0.52±0.17            | 0.49±0.18        | 0.48±0.28                | 0.44±0.21        | 0.48±0.10               | 0.69±0.21        |

Lp-PLA<sub>2</sub>: συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A<sub>2</sub>, HDL: υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση.

### **Επίδραση της υπολιπιδαιμικής αγωγής στην ενεργότητα, τη μάζα και την ειδική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> στα λιποπρωτεϊνικά υποκλάσματα**

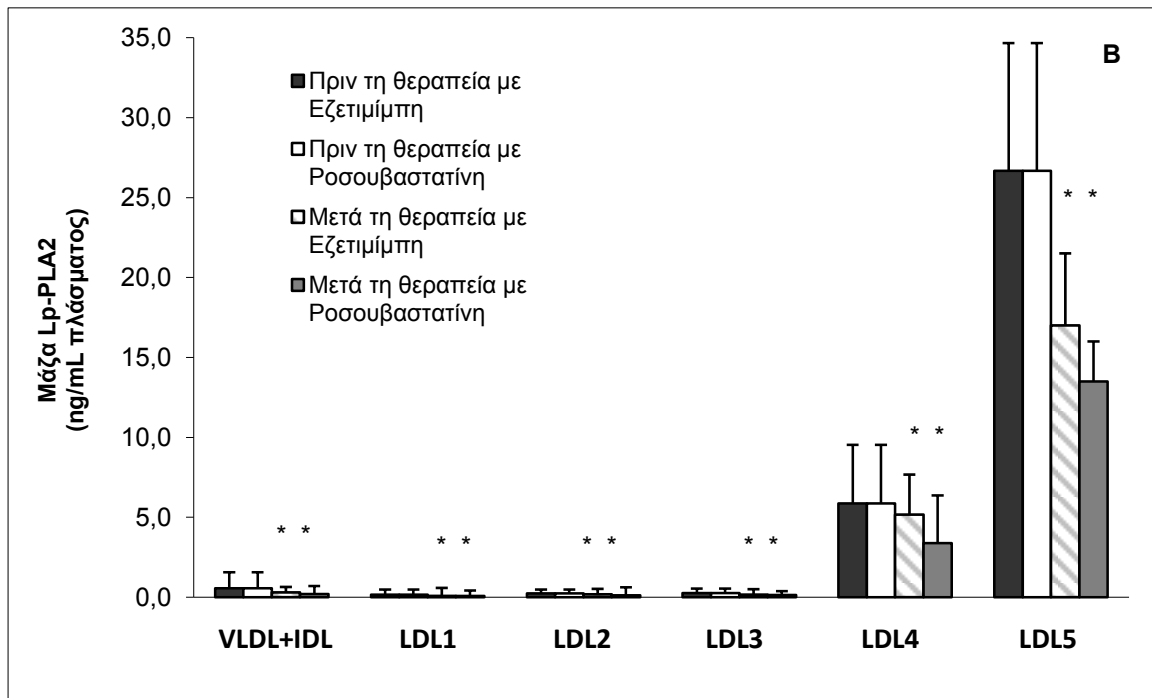
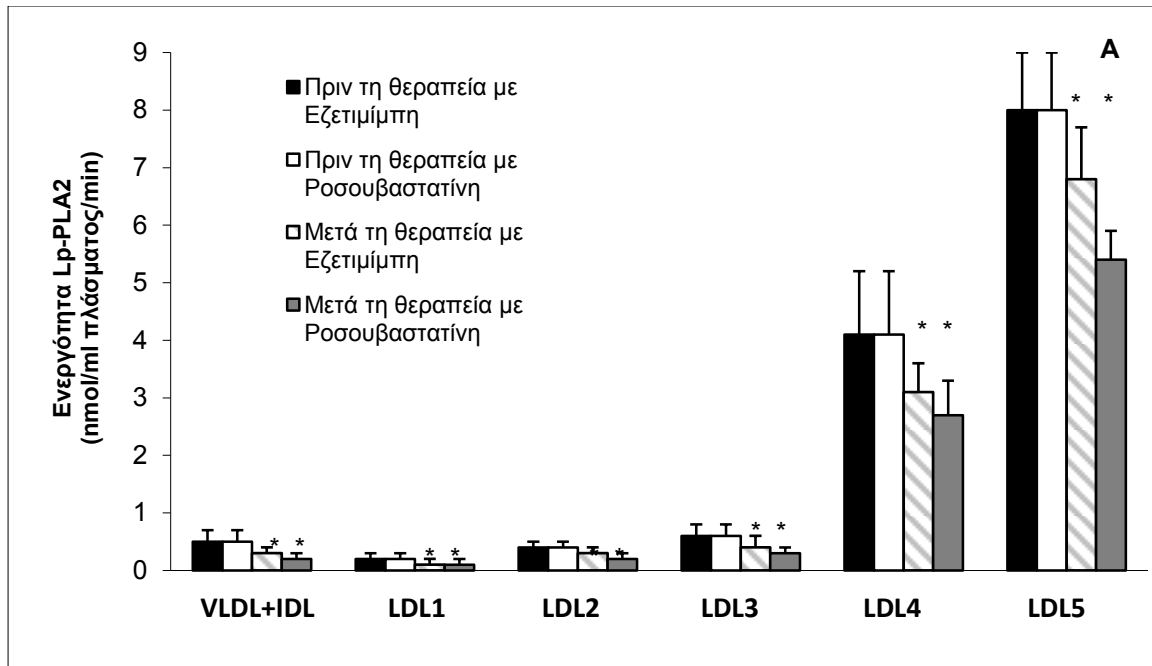
Στη συνέχεια διερευνήσαμε περαιτέρω την επίδραση των υπολιπιδαιμικών φαρμάκων στην ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> που σχετίζεται με τα λιποπρωτεϊνικά υποκλάσματα που περιέχουν apoB και apoA-I, όπως αυτά απομονώθηκαν κατά την υπερφυγοκέντρηση βαθμίδωσης πυκνοτήτων. Μεταξύ των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB, το μεγαλύτερο μέρος της ενεργότητας και της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> πριν τη χορήγηση υπολιπιδαιμικής αγωγής βρισκονταν κατά κύριο λόγο στο υποκλάσμα LDL-5 (μικρές πυκνές LDL) σε όλες τις ομάδες των ασθενών (**εικόνα 12 A,B**), σύμφωνα και με τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών μας (26, 508, 509). Η εξετιμίμπη μείωσε σημαντικά την ενεργότητα και τη μάζα του ενζύμου (ανά mL πλάσματος) σε όλα τα λιποπρωτεϊνικά υποκλάσματα που περιέχουν apoB (**12A,B**), ενώ δεν είχε καμία επίδραση στην ενεργότητα ή στη μάζα του ενζύμου όταν αυτή η παράμετρος εκφραζόταν σε mg πρωτεΐνης. Η ροσουβαστατίνη μείωσε σημαντικά την ενεργότητα και τη μάζα του ενζύμου (ανά mL πλάσματος) που συσχετιζόταν με όλα τα λιποπρωτεϊνικά υποκλάσματα που περιέχουν apoB (**εικόνα 12A,B**). Κατά κύριο όμως λόγο ελάττωσε σημαντικά την ενεργότητα και τη μάζα του ενζύμου (ανά mg πρωτεΐνης) στο υποκλάσμα LDL-5 (ενεργότητα Lp-PLA<sub>2</sub> πριν τη θεραπεία 38±13 nmol/mg/min σε σύγκριση με 20±9 nmol/mg/min μετά τη θεραπεία, μάζα Lp-PLA<sub>2</sub> 95±29 ng/mg πριν τη θεραπεία σε σύγκριση με 50±18 ng/mg μετά τη θεραπεία), ένα εύρημα που δεν παρατηρήθηκε στα υπόλοιπα λιποπρωτεϊνικά υποκλάσματα που περιέχουν apoB. Πρέπει να επισημανθεί ότι ούτε η εξετιμίμπη, ούτε η ροσουβαστατίνη είχαν κάποια επίδραση στην ειδική ενεργότητα του ενζύμου σε οποιοδήποτε από τα λιποπρωτεϊνικά υποκλάσματα που περιέχουν apoB (**εικόνα 12C**). Η φαινοφιμπράτη ελάττωσε σημαντικά την ενεργότητα και τη μάζα του ενζύμου που συσχετίζεται με το υποκλάσμα VLDL+IDL (εκφραζόμενο ανά mL πλάσματος) (**εικόνα 13A,B**) ενώ δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή της ειδικής ενεργότητας του ενζύμου σε αυτό το υποκλάσμα (**εικόνα 13C**). Επίσης η φαινοφιμπράτη δεν επηρέασε την ενεργότητα, τη μάζα ή την ειδική ενεργότητα του ενζύμου που συσχετίζεται με τα μεγάλα και τα ενδιάμεσα σωματίδια των LDL (LDL-1 ως LDL-4). Παρόλα αυτά μείωσε σημαντικά την ενεργότητα και τη μάζα του ενζύμου (ανά mL πλάσματος) που σχετίζεται με το υποκλάσμα LDL-5 (**εικόνα 13A,B**). Η μείωση της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> από τη φαινοφιμπράτη στο υποκλάσμα LDL-5 ήταν δυσανάλογα μεγαλύτερη από την αντίστοιχη μείωση της ενεργότητας του ενζύμου

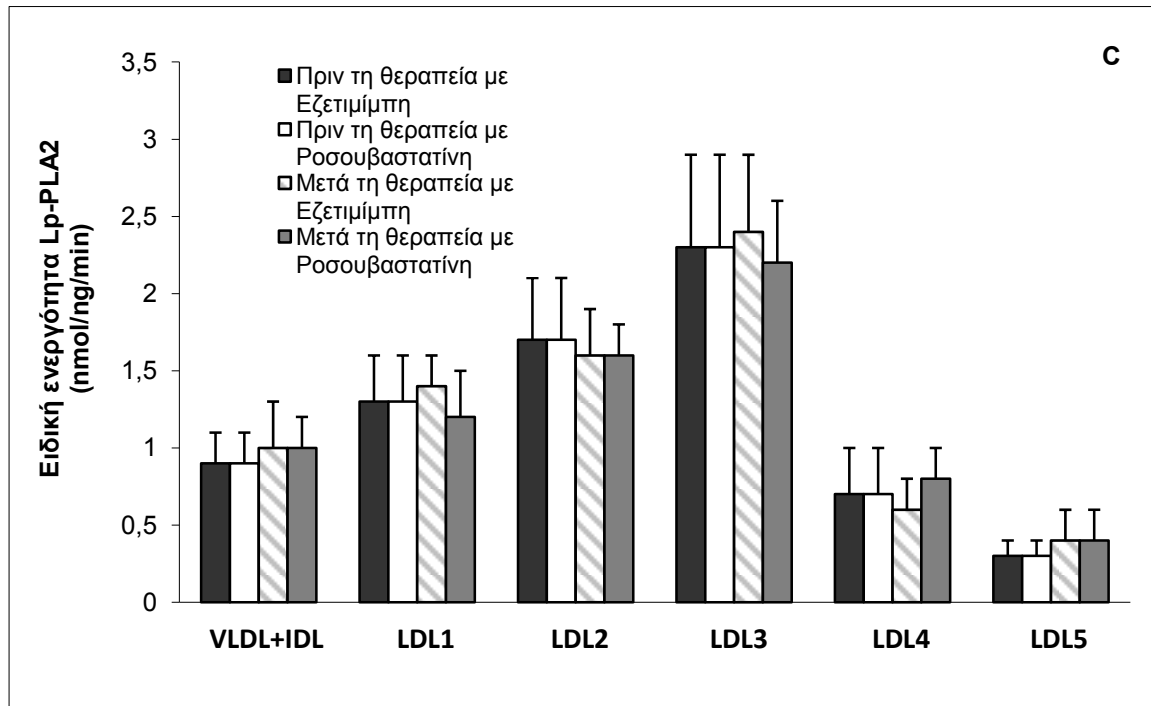
στο ίδιο υποκλάσμα (μείωση κατά 45.2% για την ενεργότητα έναντι μείωσης κατά 63.3% για τη μάζα), με αποτέλεσμα σημαντική αύξηση της ειδικής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με αυτό το υποκλάσμα (**εικόνα 13C**).

Μεταξύ των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoA-I, το μεγαλύτερο μέρος της ενεργότητας και της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> στην έναρξη της μελέτης βρίσκονταν κυρίως στο υποκλάσμα HDL-3c σε όλες τις ομάδες των ασθενών, όπως έχουν δείξει και προηγούμενες μελέτες (26, 508, 509). Η εξετιμίμπη είχε ως αποτέλεσμα μια μικρή αλλά στατιστικά σημαντική μείωση της ενεργότητας ( $0.40 \pm 0.08$  nmol/mL/min πριν τη θεραπεία σε σύγκριση με  $0.30 \pm 0.05$  nmol/mL/min μετά τη θεραπεία,  $p < 0.05$ ) και της μάζας ( $6.8 \pm 2.0$  ng/mL πριν τη θεραπεία σε σύγκριση με  $4.4 \pm 1.6$  ng/mL μετά τη θεραπεία,  $p < 0.01$ ) της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με το υποκλάσμα HDL-3c, ένα εύρημα που δεν παρατηρήθηκε μετά τη χορήγηση της ροσουβαστατίνης (ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub>  $0.33 \pm 0.05$  nmol/mL/min πριν τη θεραπεία σε σύγκριση με  $0.38 \pm 0.05$  nmol/mL/min,  $p$ :NS, μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub>  $6.0 \pm 2.0$  ng/mL πριν τη θεραπεία σε σύγκριση με  $6.2 \pm 2.0$  ng/mL μετά τη θεραπεία,  $p$ :NS) (**εικόνα 14A,B**). Κανένα από τα παραπάνω φάρμακα δεν επηρέασε την ενεργότητα ή τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με όλα τα υπόλοιπα υποκλάσματα των HDL, ούτε και επηρέασε την ειδική ενεργότητα του ενζύμου σε οποιοδήποτε από τα HDL υποκλάσματα. Η **εικόνα 14C** δείχνει τις τιμές της ειδικής ενεργότητας του ενζύμου κατά την έναρξη της μελέτης και μετά τη χορήγηση φαρμακευτικής υπολιπιδαιμικής αγωγής στο υποκλάσμα HDL-3c. Η φαινοφιμπράτη αύξησε σημαντικά την ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με το υποκλάσμα HDL-3c (ενεργότητα Lp-PLA<sub>2</sub>  $0.32 \pm 0.10$  nmol/mL/min πριν τη θεραπεία σε σύγκριση με  $0.44 \pm 0.12$  nmol/mL/min μετά τη θεραπεία, μάζα Lp-PLA<sub>2</sub>  $5.3 \pm 1.9$  ng/mL πριν τη θεραπεία σε σύγκριση με  $7.3 \pm 2.0$  ng/mL μετά τη θεραπεία), ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στις αντίστοιχες παραμέτρους του ενζύμου που συσχετίζονταν με τα υπόλοιπα υποκλάσματα των HDL. Τέλος, η φαινοφιμπράτη δεν επηρέασε την ειδική ενεργότητα του ενζύμου σε κανένα από τα υποκλάσματα των HDL.

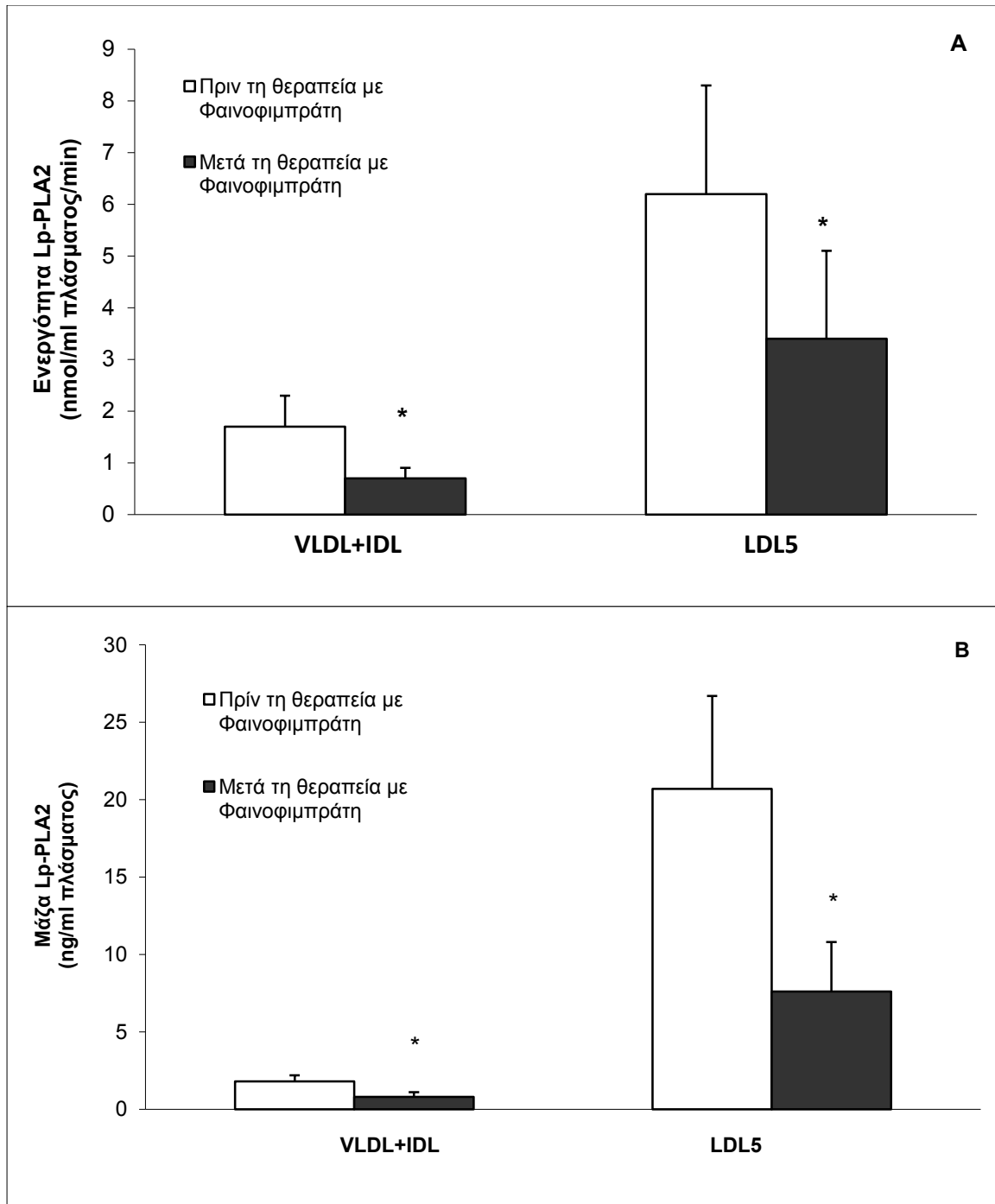


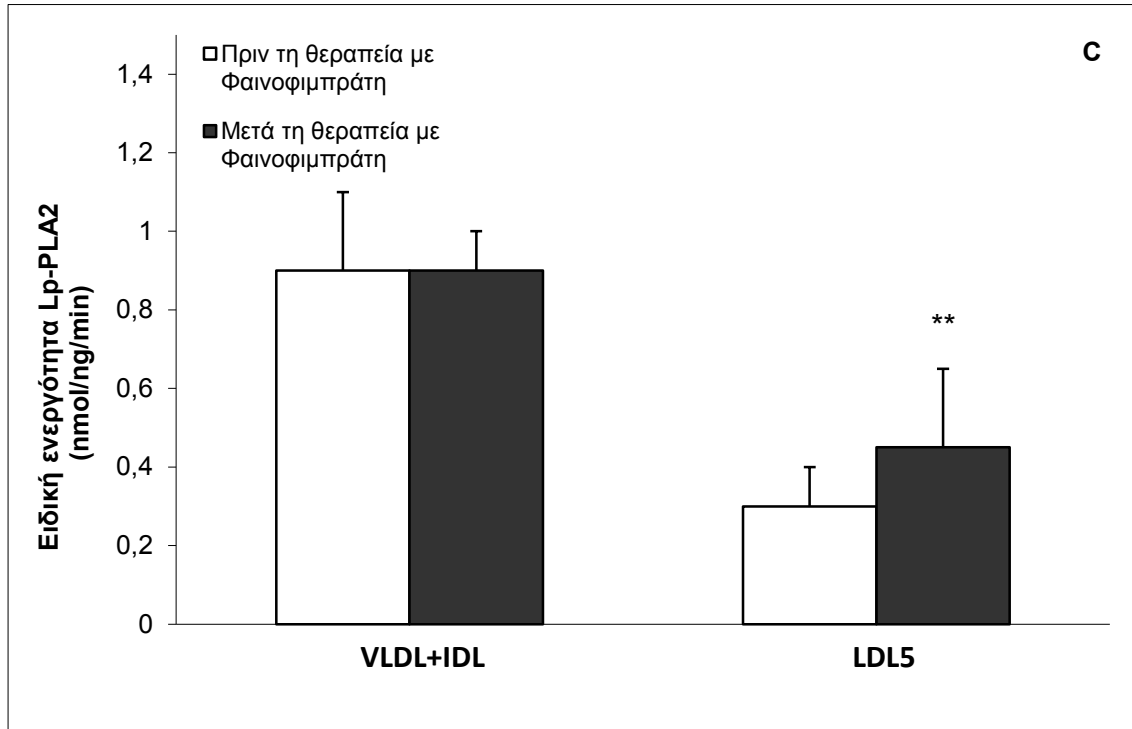
**Εικόνα 12.** Τα ραβδογράμματα δείχνουν την επίδραση της εξετιμίμπης και της ροσουβαστατίνης στην ενεργότητα (A), τη μάζα (B), και την ειδική ενεργότητα (C) της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με τα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση. \* $p < 0.01$  σε σύγκριση με τις τιμές πριν τη θεραπεία.



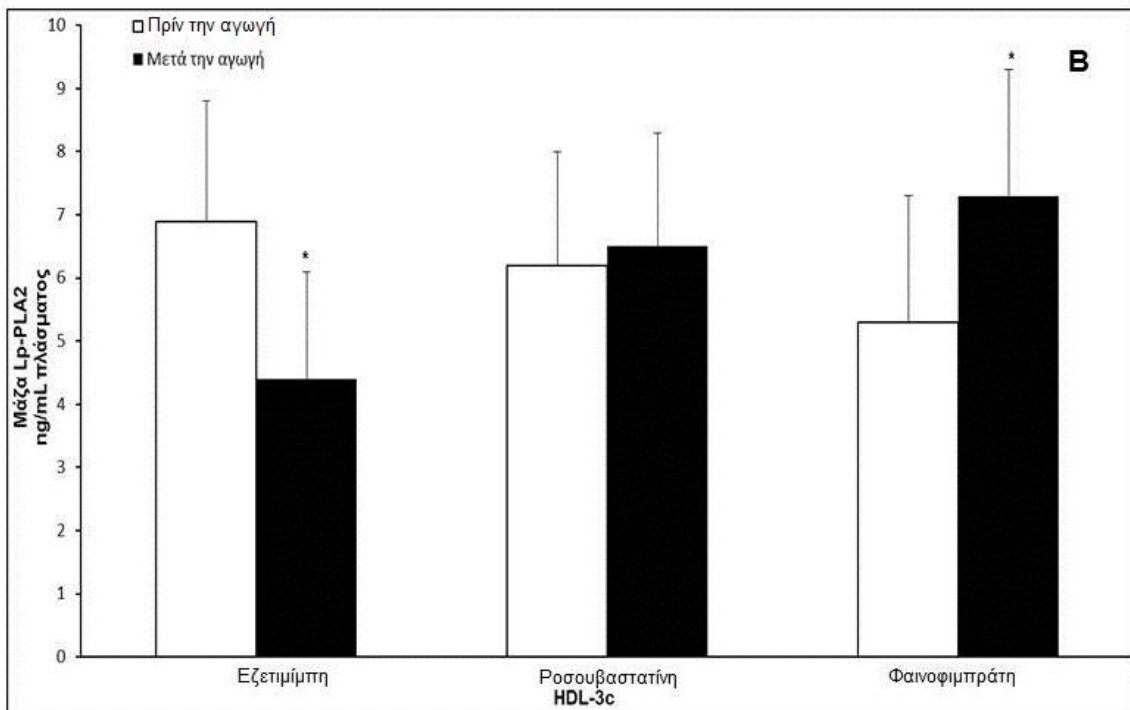
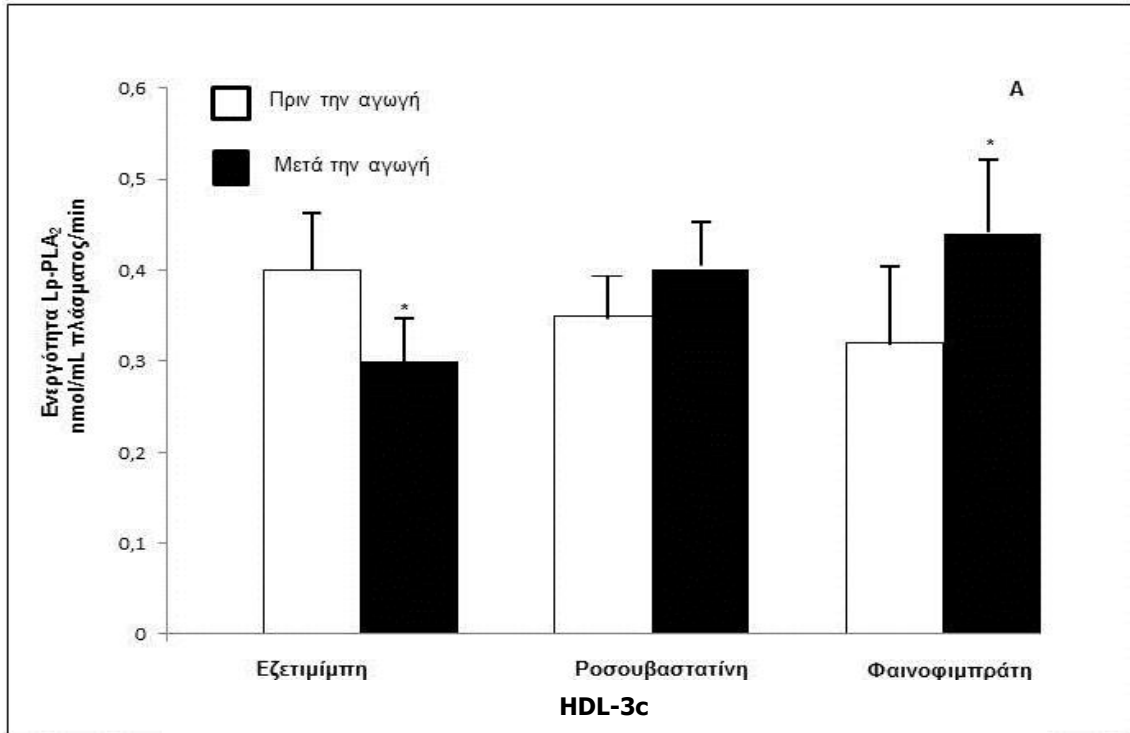


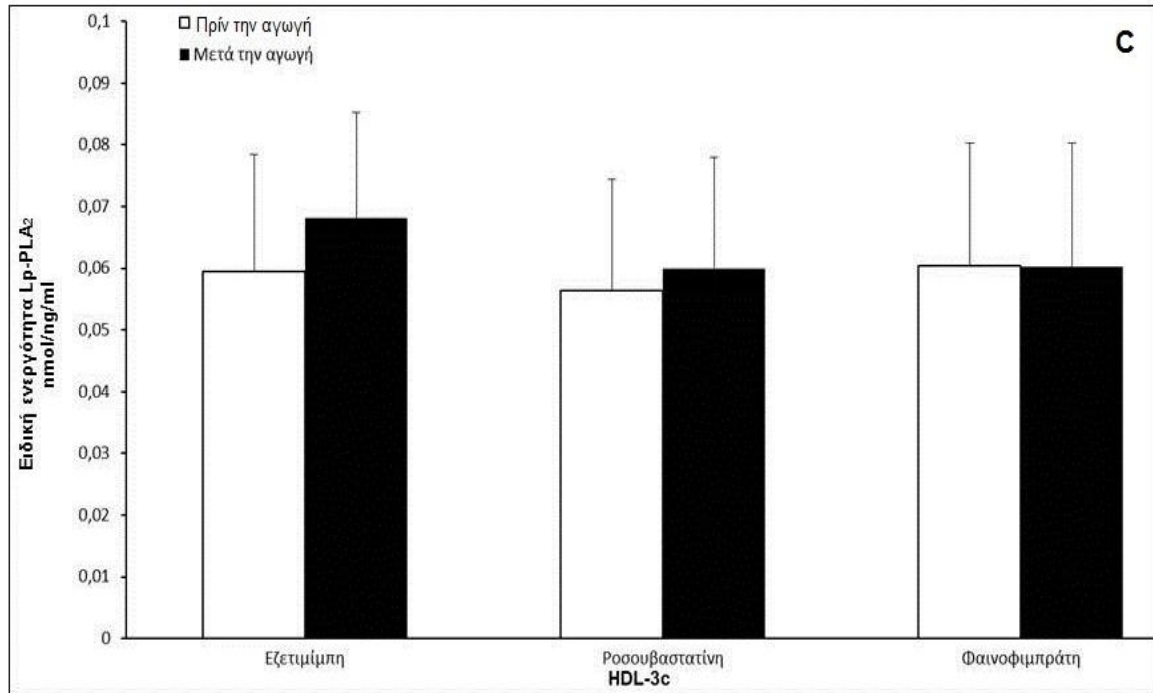
**Εικόνα 13.** Τα ραβδογράμματα δείχνουν την επίδραση της φαινοφιμπράτης στην ενεργότητα (A), τη μάζα (B), και την ειδική ενεργότητα (C) της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με τα υποκλάσματα VLDL+IDL καθώς και με το πυκνό LDL-5 σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου IV . Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση. \* $p < 0.001$  και \*\* $p < 0.01$  σε σύγκριση με τις τιμές πριν τη θεραπεία.





**Εικόνα 14.** Τα ραβδογράμματα δείχνουν την επίδραση της εξετιμίμπης, της ροσουβαστατίνης και της φαινοφιμπράτης στην ενεργότητα (A), τη μάζα (B), και την ειδική ενεργότητα (C) της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με το υποκλάσμα HDL-3c σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ και ΙV. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση. \* $p < 0.01$  σε σύγκριση με τις τιμές πριν τη θεραπεία.





## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη εκτίμησε για πρώτη φορά στη διεθνή βιβλιογραφία την επίδραση τριών υπολιπιδαιμικών φαρμάκων (της εξετιμίμπης, της ροσουβαστατίνης και της φαινοφιμπράτης), τα οποία δρουν διαμέσου διαφορετικών μηχανισμών, στην ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub>. Όλα τα παραπάνω φάρμακα φαίνεται ότι μειώνουν την ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με τις αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB. Επιπρόσθετα, η φαινοφιμπράτη αυξάνει την ειδική ενεργότητα του ενζύμου που συσχετίζεται με αυτές τις λιποπρωτεΐνες και κυρίως την ενζυμική ενεργότητα που συνδέεται με το πλέον αθηρογόνο υποκλάσμα των apoB λιποπρωτεϊνών, το πυκνό LDL-5 υποκλάσμα.

### *Επίδραση των φαρμάκων της μελέτης στις λιπιδαιμικές παραμέτρους του ορού των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη*

Στο πρώτο μέρος της μελέτης εκτιμήθηκε η επίδραση των τριών φαρμάκων στα επίπεδα των λιπιδαιμικών παραμέτρων του ορού σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ (οι οποίοι πήραν ροσουβαστατίνη ή εξετιμίμπη) και σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου ΙV (οι οποίοι πήραν φαινοφιμπράτη). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης επιβεβαιώνουν τα ευρήματα παλαιότερων μελετών, σύμφωνα με τα οποία η ροσουβαστατίνη προκαλεί σημαντική μείωση των επιπέδων της LDL-CHOL και της apoB και μικρότερη μείωση των TG στον ορό, χωρίς να έχει καμία επίδραση στα επίπεδα της HDL-CHOL (510, 511). Επιπρόσθετα, η χορήγηση της εξετιμίμπης οδήγησε σε σημαντική μείωση της LDL-CHOL και της apoB, χωρίς να επηρεάζει σημαντικά τα επίπεδα των TG, ενώ παρατηρήθηκε μία μικρή μείωση της συγκέντρωσης της HDL-CHOL, ευρήματα που συμφωνούν με παλαιότερες μελέτες (361, 368). Πρέπει να επισημανθεί ότι το εύρημα της μείωσης της συγκέντρωσης της HDL-CHOL δεν είναι σταθερό σε όλες τις μελέτες που χρησιμοποίησαν εξετιμίμπη (512). Τέλος, η φαινοφιμπράτη μείωσε σημαντικά την LDL-CHOL, την apoB και τα TG στον ορό, ενώ οδήγησε σε σημαντική αύξηση των επιπέδων της HDL-CHOL και της apoA-I, ευρήματα παρόμοια με παλαιότερες μελέτες (353, 513, 514). Πρέπει να επισημανθεί ότι κανένα από τα φάρμακα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη δεν μετέβαλε τα επίπεδα της Lp(a), η οποία θεωρείται ένας από τους αναδυόμενους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ (515).

*Επίδραση των φαρμάκων της μελέτης στις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB*

Στην παρούσα μελέτη εκτιμήσαμε επιπρόσθετα την επίδραση της ροσουβαστατίνης, της εξετιμίμπης και της φαινοφιμπράτης στην κατανομή των υποκλασμάτων των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB. Όπως ήδη αναφέρθηκε στην εισαγωγή, τα sdLDL σωματίδια θεωρούνται περισσότερο αθηρογόνα σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα LDL σωματίδια εξαιτίας ορισμένων φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους (516). Κατά συνέπεια, η μείωση των sdLDL σωματιδίων και η αύξηση του μεγέθους των LDL σωματιδίων είναι ιδιαίτερα σημαντική. Στην παρούσα μελέτη δείξαμε ότι η ροσουβαστατίνη προκαλεί σημαντική μείωση όλων των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB, χωρίς ωστόσο να επηρεάζει την κατανομή τους και χωρίς να μεταβάλλει το μέγεθος των LDL σωματιδίων. Τα αποτελέσματα άλλων μελετών όσον αφορά την επίδραση της ροσουβαστατίνης στα επίπεδα των sdLDL σωματιδίων και στο μέγεθος των LDL σωματιδίων είναι αντικρουόμενα (510, 517, 518). Για παράδειγμα, μία πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η ροσουβαστατίνη σε δόση 20 mg/ημέρα μεταβάλλει την κατανομή των LDL σωματιδίων με αποτέλεσμα ένα λιγότερο αθηρογόνο προφίλ μόνο σε άτομα με επίπεδα TG >150 mg/dL πριν την έναρξη της θεραπείας (519). Στην παρούσα μελέτη, τα άτομα που πήραν ροσουβαστατίνη είχαν TG πριν τη χορήγηση του φαρμάκου <150 mg/dL και όπως είναι γνωστό ασθενείς με χαμηλά επίπεδα TG έχουν συνήθως χαμηλά επίπεδα sdLDL σωματιδίων (516). Μία άλλη μελέτη έδειξε, ότι η ροσουβαστατίνη μειώνει τη συγκέντρωση της sdLDL-CHOL, αλλά δεν αυξάνει σημαντικά το μέγεθος των LDL σωματιδίων (520).

Επιπρόσθετα, δείξαμε ότι η εξετιμίμπη προκαλεί μείωση των επιπέδων της sdLDL-CHOL χωρίς να επηρεάζει το μέγεθος των LDL σωματιδίων. Πράγματι, η χορήγηση της εξετιμίμπης όπως φαίνεται και από τα αποτελέσματα άλλων μελετών δεν επηρεάζει το μέγεθος των LDL σωματιδίων, παρότι μειώνει σημαντικά τη συγκέντρωση των sdLDL σωματιδίων (364, 521-524). Αυτό το εύρημα οφείλεται στο γεγονός ότι η εξετιμίμπη μειώνει σχεδόν κατά ισότιμο τρόπο τα υποκλάσματα των LDL. Ωστόσο, μία μελέτη με 50 ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία έδειξε μία μικρή (κατά 0.4%) αλλά στατιστικά σημαντική αύξηση της μέσης διαμέτρου των LDL σωματιδίων, η οποία μάλιστα ήταν μεγαλύτερη σε ασθενείς με επίπεδα TG >150 mg/dL (362). Πρέπει επίσης να επισημανθεί ότι τα αποτελέσματα μιας πρόσφατης μελέτης σε 72 ασθενείς έδειξαν ότι η χορήγηση της εξετιμίμπης οδήγησε σε αύξηση



των sdLDL σωματιδίων 14 ημέρες μετά την έναρξη της θεραπείας, χωρίς ωστόσο να παρατηρηθεί μεταβολή του μεγέθους των LDL σωματιδίων (525).

Το φάρμακο που επηρεάζει ευνοϊκότερα την κατανομή των LDL σωματιδίων είναι η φαινοφιμπράτη. Συγκεκριμένα, η χορήγηση της φαινοφιμπράτης σε δόση 200 mg/ημέρα οδήγησε σε σημαντική μείωση της sdLDL-CHOL (κατά περίπου 50%) και σε σημαντική αύξηση του μεγέθους των LDL σωματιδίων (κατά περίπου 5%). Η επίδραση της φαινοφιμπράτης στα υποκλάσματα των LDL είναι γνωστή από παλαιότερες μελέτες και της δικής μας ερευνητικής ομάδας (521, 523, 526). Μία πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η χορήγηση φαινοφιμπράτης 145 mg/ημέρα μόνη της ή σε συνδυασμό με εζετιμίμη σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του μεγέθους των LDL σωματιδίων κατά 1.9% και κατά 2.1%, αντίστοιχα, σε σύγκριση με τις τιμές πριν τη θεραπεία (527). Επιπρόσθετα, μία μελέτη με 43 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε PTCHOLA έδειξε ότι η χορήγηση φαινοφιμπράτης είχε ως αποτέλεσμα σημαντική αύξηση του μεγέθους των LDL σωματιδίων και αυτή η αύξηση συσχετιζόταν με τη μείωση της ενεργότητας της CETP που παρατηρήθηκε μετά τη χορήγηση του φαρμάκου (528). Τέλος, μία μελέτη σε υπέρβαρα ή παχύσαρκα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο έδειξε ότι η φαινοφιμπράτη οδήγησε σε μία κατά 2.3% αύξηση της μέσης διαμέτρου των LDL σωματιδίων και αυτή η αύξηση συσχετιζόταν με τη μείωση της συγκέντρωσης των TG στον ορό (529).

#### *Επίδραση των φαρμάκων της μελέτης στις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoA-I*

Η αντιαθηρογόνος δράση των HDL είναι δεδομένη (530). Είναι επίσης γνωστό ότι τα HDL σωματίδια δεν είναι πανομοιότυπα όσον αφορά το μέγεθος, την πυκνότητα και τις φυσικοχημικές ιδιότητές τους. Δεν υπάρχει απόλυτη συμφωνία όσον αφορά το ερώτημα εάν τα μεγάλα (HDL-2) ή τα μικρά (HDL-3) υποκλάσματα είναι περισσότερο αντιαθηρογόνα. Πιθανά αυτές οι διαφορές να οφείλονται στο γεγονός ότι υπάρχουν διαφορετικές μεθοδολογίες για τον προσδιορισμό των υποκλασμάτων των HDL (128). Επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι ασθενείς με ΣΝ έχουν αυξημένη συγκέντρωση των μικρών HDL σωματιδίων σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (531). Ωστόσο, η μελέτη VA-HIT έδειξε ότι η μείωση του κινδύνου εμφάνισης ΚΑΝ με τη χορήγηση της γεμφιμπροζίλης οφείλονταν στην αύξηση των μικρών HDL σωματιδίων (532). Τελικά φαίνεται ότι σε καταστάσεις με χαμηλά επίπεδα HDL-CHOL, καθώς και όταν υπάρχουν συνθήκες φλεγμονής του αγγειακού τοιχώματος, όπως σε άτομα με

μεταβολικό σύνδρομο και εγκατεστημένη αγγειακή νόσο, προέχουν τα μικρά, πυκνά HDL υποκλάσματα (530). Τα σωματίδια αυτά είναι δυσλειτουργικά και εμφανίζουν μικρότερη αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα HDL σωματίδια (533).

Στην παρούσα μελέτη εκτιμήσαμε την επίδραση της ροσουβαστατίνης, της εζετιμίμπης και της φαινοφιμπράτης στην κατανομή των HDL υποκλασμάτων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, η ροσουβαστατίνη δεν επηρέασε σημαντικά τα επίπεδα είτε της HDL-2-CHOL είτε της HDL-3-CHOL. Μία άλλη μελέτη έδειξε ότι η χορήγηση της ροσουβαστατίνης οδήγησε σε δοσοεξαρτώμενη αύξηση των μεγάλων HDL σωματιδίων χωρίς να επηρεάσει τη συγκέντρωση των μικρών HDL σωματιδίων (534). Επιπρόσθετα, η ροσουβαστατίνη οδήγησε σε μία σημαντική αύξηση του μεγέθους των HDL σωματιδίων σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο και αυτή η αύξηση ήταν δοσοεξαρτώμενη φτάνοντας το 8% στα άτομα που πήραν ροσουβαστατίνη 40 mg/ημέρα (535). Τέλος, η ροσουβαστατίνη προκάλεσε μεγαλύτερη μείωση των μικρών HDL σωματιδίων και μεγαλύτερη αύξηση των μεγάλων HDL σωματιδίων σε σύγκριση με την ατορβαστατίνη σε άτομα με χαμηλά (<40 mg/dL) επίπεδα HDL-CHOL (536).

Επιπρόσθετα, δείξαμε ότι η μείωση της HDL-CHOL μετά τη χορήγηση εζετιμίμπης οφείλονταν κατά κύριο λόγο σε μία κατά 9% μείωση της HDL-3-C. Παρόμοια, μία άλλη μελέτη σε 30 υπέρβαρα ή παχύσαρκα άτομα έδειξε ότι η εζετιμίμπη είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των μικρών HDL σωματιδίων (537). Επιπρόσθετα, μία πρόσφατη μελέτη σε ασθενείς με ΧΝΑ τελικού σταδίου (υπό αιμοκάθαρση) έδειξε ότι η εζετιμίμπη οδήγησε σε μείωση των μικρών HDL σωματιδίων (538). Τέλος, δείξαμε ότι η φαινοφιμπράτη είχε ως αποτέλεσμα σημαντική αύξηση τόσο της HDL-2-C όσο και της HDL-3-C, όπως έχει παρατηρηθεί και σε μελέτες από άλλους ερευνητές (521). Μία παλαιότερη μελέτη έδειξε ότι η χορήγηση φαινοφιμπράτης είχε ως αποτέλεσμα σημαντική αύξηση του αριθμού των HDL σωματιδίων (539), ενώ μία άλλη μελέτη με 50 ασθενείς με αυξημένα επίπεδα TG στον ορό (>150 mg/dL) έδειξε αύξηση της συγκέντρωσης των μικρών HDL σωματιδίων (540). Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα μιας μελέτης σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο (541). Ωστόσο, μία πολύ πρόσφατη μελέτη με 20 υπέρβαρους και παχύσαρκους ασθενείς έδειξε ότι η φαινοφιμπράτη αύξησε τα επίπεδα της HDL-CHOL και αυτή οφείλονταν στην αύξηση των μεγάλων και μεσαίων HDL σωματιδίων (542).

*Επίδραση των φαρμάκων της μελέτης στην ενεργότητα, στη μάζα και στην ειδική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub>*

Τα ευρήματα πολλών κλινικών μελετών υποστηρίζουν ότι τα επίπεδα (ενεργότητα ή/και μάζα) του ενζύμου αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ (543). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτών των μελετών, τα αυξημένα επίπεδα της Lp-PLA<sub>2</sub> στον ορό διπλασιάζουν σχεδόν τον κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ τόσο στην πρωτογενή όσο και στη δευτερογενή πρόληψη (**εικόνα 15**). Το γεγονός ότι το ένζυμο εμφανίζει χαμηλή βιολογική διακύμανση και η αυξημένη ειδικότητά του για τα αγγειακά νοσήματα καθιστά την Lp-PLA<sub>2</sub> σημαντικό δείκτη καρδιαγγειακού κινδύνου (543).

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι η φαινοφιμπράτη μειώνει την ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB, μια επίδραση που θα μπορούσε να αποδοθεί κυρίως στην εκλεκτική μείωση της ενζυμικής ενεργότητας που συσχετίζεται με τα μικρά, πυκνά LDL (509), τα σωματίδια δηλαδή που μεταφέρουν την πλειονότητα του ενζύμου που συσχετίζεται με τις LDL (411, 544). Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα μιας άλλης μελέτης η οποία έδειξε ότι η χορήγηση φαινοφιμπράτης σε δόση 160 mg/ημέρα για 3 μήνες σε ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία και μεταβολικό σύνδρομο είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> και αυτή η μείωση συσχετιζόταν με τη μείωση του αριθμού των sdLDL σωματιδίων (545). Επιπλέον, η παρούσα μελέτη έδειξε ότι η παραπάνω μείωση οφείλεται κυρίως στην ικανότητα της φαινοφιμπράτης να μειώνει τα επίπεδα των sdLDL και αντίθετα να αυξάνει τη συγκέντρωση των μεγαλύτερων LDL σωματιδίων, τα οποία έχουν και ταχύτερο ρυθμό κάθαρσης σε σύγκριση με τα sdLDL (509, 546). Δευτερεύοντα ρόλο στη μείωση της Lp-PLA<sub>2</sub> από τη φαινοφιμπράτη διαδραματίζει επίσης και η μείωση της ενζυμικής ενεργότητας που συσχετίζεται με τα πλούσια σε τριγλυκερίδια υποκλάσματα VLDL+IDL (διαμέσου της επίδρασης της φαινοφιμπράτης στη συγκέντρωση των VLDL και IDL).

Ένα σημαντικό εύρημα της παρούσας μελέτης είναι η αύξηση της ειδικής ενεργότητας της nonHDL-Lp-PLA<sub>2</sub> που παρατηρείται μετά τη χορήγηση της φαινοφιμπράτης. Η ειδική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με τα LDL υποκλάσματα είναι μεγαλύτερη από την ειδική ενεργότητα του ενζύμου που συσχετίζεται με το πυκνό LDL-5 υποκλάσμα και με το πλούσιο σε TG υποκλάσμα VLDL+IDL (544). Είναι γνωστό ότι η φαινοφιμπράτη προκαλεί αναδιανομή των sdLDL

σωματιδίων προς μεγαλύτερα LDL σωματίδια. Παλαιότερες μελέτες έδειξαν ότι η ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> των sdLDL σωματιδίων είναι μικρότερη από την αναμενόμενη για τη μάζα του ενζύμου σε αυτά τα υποκλάσματα, ένα εύρημα που δεν παρατηρείται όσον αφορά τα LDL σωματίδια, με αποτέλεσμα η ειδική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> των sdLDL σωματιδίων να είναι μικρότερη από την αντίστοιχη των μεγαλύτερων LDL σωματιδίων (544). Με βάση τα παραπάνω, μπορεί να θεωρηθεί ότι η αύξηση της ειδικής ενεργότητας της nonHDL-Lp-PLA<sub>2</sub> από τη φαινοφιμπράτη οφείλεται στην αναδιανομή των υποκλασμάτων των LDL, δηλαδή στη μείωση sdLDL και την αύξηση των μεγαλύτερων LDL σωματιδίων.

Η χορήγηση της φαινοφιμπράτης έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση τόσο της ενεργότητας όσο και της μάζας της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub>, ενώ δεν παρατηρείται σημαντική μεταβολή της ειδικής ενεργότητας του ενζύμου. Είναι γνωστό ότι η φαινοφιμπράτη αυξάνει τα επίπεδα της HDL-CHOL διαμέσου παραγωγής νέων HDL σωματιδίων, καθώς και εξαιτίας της επίδρασής της στο μεταβολισμό των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών (547). Η αύξηση της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> οφείλεται σε αύξηση των επιπέδων στο πλάσμα τόσο του HDL-2 όσο και του HDL-3 υποκλάσματος, εξαιτίας της δράσης της φαινοφιμπράτης, καθώς και εξαιτίας του εκλεκτικού εμπλουτισμού του υποκλάσματος HDL-3c σε Lp-PLA<sub>2</sub>. Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι ο εμπλουτισμός του HDL-3c υποκλάσματος σε Lp-PLA<sub>2</sub> οφείλεται σε μεταφορά του ενζύμου από τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB και είναι πλούσιες σε TG στις HDL. Αυτή η διεργασία συμβαίνει κατά τη διάρκεια της λιπόλυσης που υφίστανται οι πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες από την LPL, η οποία αυξάνεται σημαντικά μετά τη χορήγηση φαινοφιμπράτης (509, 547). Αν και ο ακριβής ρόλος που διαδραματίζει η Lp-PLA<sub>2</sub> που σχετίζεται με τις HDL δεν έχει ακόμη διευκρινισθεί πλήρως, δεδομένα τόσο από *in vitro* πειραματικά μοντέλα όσο και από πειραματικά μοντέλα σε ζώα είναι ενδεικτικά της σημαντικής συμβολής της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> στην αντιαθηρογόνο δράση της HDL (452, 548). Κατά συνέπεια, η αύξηση της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> που προκαλείται από τη χορήγηση της φαινοφιμπράτης πιθανά υποσημαίνει μια σημαντική αντιαθηρογόνο δράση αυτού του φαρμάκου, μια υπόθεση που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Η παρούσα μελέτη καταδεικνύει επίσης ότι η χορήγηση ροσουβαστατίνης σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ ελάττωσε σημαντικά την ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> που σχετίζεται με τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB. Είναι γνωστή η επίδραση των στατινών στα επίπεδα (ενεργότητα ή και μάζα) της Lp-PLA<sub>2</sub>, που κατά κύριο λόγο συσχετίζεται με την επίδραση των φαρμάκων στη συγκέντρωση της LDL-CHOL (478, 549, 550). Μία πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η χορήγηση της

ροσουβαστατίνης οδήγησε σε μεγαλύτερη μείωση της ενεργότητας και της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> σε σύγκριση με την ατορβαστατίνη ( $p=0.04$ ) (551). Η ποσοστιαία μείωση που παρατηρήθηκε στην παρούσα μελέτη είναι η μεγαλύτερη που έχει παρατηρηθεί μεταξύ όλων των στατινών που έχουν χρησιμοποιηθεί σε παλαιότερες μελέτες (487, 549, 550, 552-556) και μπορεί να αποδοθεί κυρίως στη μεγάλη ελάττωση που το συγκεκριμένο φάρμακο προκαλεί στα επίπεδα όλων των LDL υποκλασμάτων, καθώς και στην εκλεκτική μείωση της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με το υποκλάσμα LDL-5. Μελέτες έδειξαν ότι η σιμβαστατίνη μειώνει την Lp-PLA<sub>2</sub> των LDL όχι μόνο διαμέσου της απομάκρυνσής τους από τον LDL υποδοχέα αλλά και διαμέσου της απομάκρυνσης των ενζύμων που βρίσκονται στις LDL, ανεξάρτητα από τη συμμετοχή των LDL υποδοχέων (555). Ο μηχανισμός αυτός θα μπορούσε να ερμηνεύσει τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης όσον αφορά την εκλεκτική μείωση της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με το υποκλάσμα LDL-5 (ανά mg πρωτεΐνης) που προκαλεί η ροσουβαστατίνη.

Η εξετιμίμπη είναι ένα φάρμακο που δρα αναστέλλοντας την απορρόφηση της χοληστερόλης στην ψυκτροειδή παρυφή του εντερικού τοιχώματος (557, 558). Η παρούσα μελέτη έδειξε για πρώτη φορά ότι το φάρμακο αυτό μειώνει την ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> στο πλάσμα (αν και σε μικρότερο βαθμό σε σύγκριση με τη ροσουβαστατίνη και τη φαινοφιμπράτη), μειώνοντας τη συγκέντρωση στο πλάσμα όλων των υποκλασμάτων των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB. Το εύρημα αυτό έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα μιας πρόσφατης μελέτης με 82 ασθενείς, οι οποίοι έλαβαν ατορβαστατίνη 20 mg/ημέρα ή ατορβαστατίνη 5 mg/εξετιμίμπη 5 mg (559). Σύμφωνα με αυτή τη μελέτη, παρότι οι δύο ομάδες είχαν παρόμοια μείωση της LDL-CHOL (-47% έναντι -49%,  $p=NS$ ), στην ομάδα της μονοθεραπείας με ατορβαστατίνη παρατηρήθηκε μεγαλύτερη μείωση της Lp-PLA<sub>2</sub> (-42% σε σύγκριση με -9% στην ομάδα του συνδυασμού,  $p=0.03$ ), ένα εύρημα που υποσημαίνει ότι η εξετιμίμπη δεν επηρεάζει τα επίπεδα του ενζύμου. Επιπρόσθετα, η εξετιμίμπη στη μελέτη μας είχε ως αποτέλεσμα μια μικρή αλλά σημαντική μείωση της ενεργότητας και της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με την HDL, μειώνοντας ταυτόχρονα τα επίπεδα της HDL-CHOL στο πλάσμα. Η δράση αυτή της εξετιμίμπης στα επίπεδα της HDL-CHOL δεν είναι σταθερό εύρημα σε όλες τις μελέτες (324) και πιθανά αντανάκλα τα υψηλότερα επίπεδα της HDL-CHOL του πληθυσμού της παρούσας μελέτης. Η προκαλούμενη από την εξετιμίμπη μείωση της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> οφείλεται κατά κύριο λόγο στη μείωση των επιπέδων στο πλάσμα του HDL-3 υποκλάσματος. Το τελευταίο εύρημα επιβεβαιώνεται και από το γεγονός ότι η

εξετιμώμενη ελάττωσε μόνο την ενζυμική ενεργότητα που συσχετίζεται με το υποκλάσμα HDL-3c. Πρέπει πάντως να επισημανθεί ότι όλοι οι ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκε εξετιμώμενη σε αυτή τη μελέτη χαρακτηρίζονταν από δυσανεξία στις στατίνες και επομένως τα παραπάνω αποτελέσματα πιθανά να μην είναι αντιπροσωπευτικά της δράσης αυτού του φαρμάκου.

Εκτός από τις LDL και HDL, ένας άλλος μεταφορέας της Lp-PLA<sub>2</sub> στο πλάσμα είναι και η Lp(a). Μελέτες έδειξαν ότι η Lp(a) είναι περισσότερο εμπλουτισμένη σε Lp-PLA<sub>2</sub> σε σύγκριση με την LDL (414, 416). Παρόλα αυτά, η Lp(a) είναι δυνατό να επηρεάσει την κατανομή της Lp-PLA<sub>2</sub> μεταξύ της LDL και της HDL μόνο όταν τα επίπεδά της στο πλάσμα ξεπερνούν τα 8 mg/dL (416). Επομένως, είναι απίθανο η συνδεδεμένη με την Lp(a) Lp-PLA<sub>2</sub> να επηρέασε τις ενζυμικές μεταβολές που προκαλούνται από τα υπολιπιδαιμικά φάρμακα, αφού στην παρούσα μελέτη καμιά φαρμακευτική αγωγή δεν προκάλεσε σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα της Lp(a) και κανένας ασθενής δεν εμφάνισε είτε κατά την έναρξη είτε μετά τη χορήγηση υπολιπιδαιμικής θεραπείας επίπεδα Lp(a) μεγαλύτερα από 8 mg/dL. Τέλος, δεν ανευρέθηκε Lp(a) σε ανιχνεύσιμη ποσότητα σε οποιοδήποτε λιποπρωτεϊνικό υποκλάσμα είτε στην αρχή της μελέτης ή μετά τη λήψη οποιουδήποτε υπολιπιδαιμικού φαρμάκου.

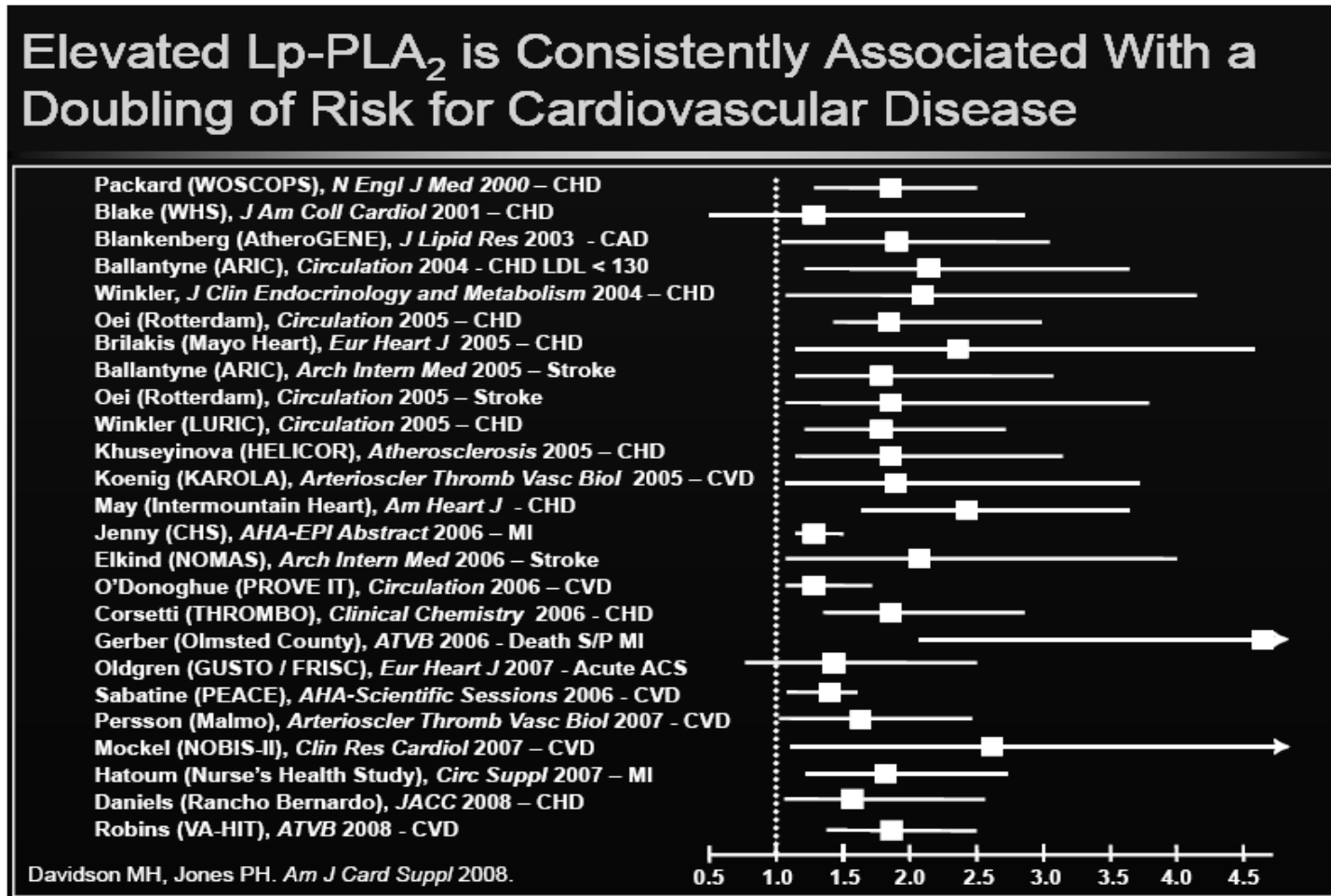
Κλινικές μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα της μάζας ή της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> στον ορό συσχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης KAN (505). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι ο προσδιορισμός της ενεργότητας, της μάζας και της ειδικής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> των λιποπρωτεϊνών και των υποκλασμάτων τους έχει κλινική και παθοφυσιολογική σημασία. Συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα παλαιότερων μελετών μας έδειξαν ότι η εκλεκτική κατανομή του ενζύμου στα sdLDL σωματίδια σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα LDL σωματίδια είχε ως αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή της lysoPC που είναι ο κύριος μεταβολίτης της Lp-PLA<sub>2</sub> κατά την οξειδωση αυτού του υποκλάσματος (455). Η lysoPC διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αθηροσκληρωτική διαδικασία (560), ενώ πιο πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η τοπική παραγωγή lysoPC στα στεφανιαία αγγεία συσχετίζεται με δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και πρόωμη αθηροσκλήρωση (561). Επιπρόσθετα, η εκλεκτική σύνδεση της Lp-PLA<sub>2</sub> με το HDL-3 υποκλάσμα σε σύγκριση με τις άλλες λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoA-I πιθανά συνεισφέρει στην αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση των HDL-3 σωματιδίων (452).

Πρέπει να επισημανθεί ότι η αξία των παραπάνω αποτελεσμάτων πιθανά περιορίζεται από τον τρόπο με τον οποίο τυχαιοποιήθηκαν οι ασθενείς για τη χορήγηση ροσουβαστατίνης, εξετιμώμενης ή φαινοφιμπράτης. Ποιό συγκεκριμένα, το γεγονός ότι

η ροσουβαστατίνη και η εξετιμίμπη χορηγήθηκαν αποκλειστικά σε ασθενείς που έπασχαν από δυσλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ, ενώ η φαινοφιμπράτη χορηγήθηκε μόνο σε ασθενείς που έπασχαν από δυσλιπιδαιμία τύπου ΙV, θα μπορούσε να συμβάλει στις διαφορές που παρατηρούνται όσον αφορά την επίδραση της φαινοφιμπράτης και της ροσουβαστατίνης ή της εξετιμίμπης στην Lp-PLA<sub>2</sub>. Επιπρόσθετα, υπήρχαν διαφορές μεταξύ των ασθενών που έπασχαν από δυσλιπιδαιμία τύπου ΙΙΑ και που τυχαιοποιήθηκαν σε ροσουβαστατίνη ή εξετιμίμπη. Συγκεκριμένα, η εξετιμίμπη χορηγήθηκε αποκλειστικά σε ασθενείς που είχαν εμφανίσει προηγουμένως δυσανεξία στη χορήγηση στατίνης.

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη έδειξε ότι η ροσουβαστατίνη, η εξετιμίμπη και η φαινοφιμπράτη μειώνουν την ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> που συσχετίζεται με τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB, με τη ροσουβαστατίνη να είναι το πιο αποτελεσματικό φάρμακο. Επιπρόσθετα, η φαινοφιμπράτη αυξάνει την ειδική ενεργότητα της nonHDL- Lp-PLA<sub>2</sub>, καθώς και την ενεργότητα και τη μάζα της HDL- Lp-PLA<sub>2</sub>.

Εικόνα 15. Συσχέτιση των αυξημένων επιπέδων της Lp-PLA<sub>2</sub> με τον κίνδυνο εμφάνισης ΚΑΝ





## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Τα επίπεδα (μάζα ή/και ενεργότητα) της Lp-PLA<sub>2</sub> αποτελούν επιπρόσθετο δείκτη εκτίμησης του 10ετούς καρδιαγγειακού κινδύνου σε συνδυασμό με τους υπόλοιπους παράγοντες κινδύνου και αφορά κυρίως σε ασθενείς με μέτριο ή υψηλό κίνδυνο για την εμφάνιση ΚΑΝ.
2. Η χορήγηση της εξετιμίμπης προκαλεί μείωση της ενεργότητας και της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> του ορού και της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub>, ενώ η ειδική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> παραμένει αμετάβλητη.
3. Η χορήγηση της ροσουβαστατίνης προκαλεί μείωση της ενεργότητας και της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> του ορού (και μάλιστα σε μεγαλύτερο βαθμό σε σύγκριση με την εξετιμίμπη), χωρίς ωστόσο να επηρεάζει την ενεργότητα και μάζα της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> καθώς και την ειδική ενεργότητα του ενζύμου.
4. Η φαινοφιμπράτη προκαλεί μείωση της ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> του ορού. Επιπρόσθετα, προκαλεί δυσανάλογη μείωση της μάζας του ενζύμου με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση της ειδικής ενεργότητας της Lp-PLA<sub>2</sub> του ορού. Ταυτόχρονα, η φαινοφιμπράτη αυξάνει τόσο την ενεργότητα όσο και τη μάζα της HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> χωρίς να μεταβάλλεται η ειδική ενεργότητα του ενζύμου.
5. Η εξετιμίμπη μειώνει την ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> σε όλα τα υποκλάσματα των LDL. Παρόμοια, η ροσουβαστατίνη προκαλεί μείωση της ενεργότητας και της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> σε όλα τα υποκλάσματα των LDL, κυρίως όμως στο υποκλάσμα LDL-5. Σε κανένα από τα υποκλάσματα των LDL δεν παρατηρείται μεταβολή στην ειδική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> μετά τη χορήγηση είτε της εξετιμίμπης είτε της ροσουβαστατίνης.
6. Η φαινοφιμπράτη μειώνει σημαντικά την ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> κυρίως στο υποκλάσμα LDL-5. Ωστόσο, η μάζα του ενζύμου στο LDL-5 υποκλάσμα μειώνεται σε μεγαλύτερο βαθμό σε σύγκριση με την ενεργότητά του με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση της ειδικής ενεργότητας του ενζύμου σε αυτό το υποκλάσμα.
7. Μεταξύ των υποκλασμάτων των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoA-I, το μεγαλύτερο μέρος της ενεργότητας και της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> εντοπίζεται στο υποκλάσμα HDL-3c.
8. Η χορήγηση της εξετιμίμπης μειώνει την ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> στο υποκλάσμα HDL-3c ενώ η ενεργότητα και η μάζα του ενζύμου στα

υπόλοιπα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoA-I παραμένουν ανεπηρέαστα. Η ειδική ενεργότητα του ενζύμου δεν μεταβάλλεται σε κανένα από τα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoA-I.

9. Η ροσουβαστατίνη δεν προκαλεί καμία μεταβολή της ενεργότητας ή της μάζας του ενζύμου σε οποιοδήποτε υποκλάσμα των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoA-I. Αντίστοιχα, αμετάβλητη παραμένει και η ειδική ενεργότητα του ενζύμου στα παραπάνω υποκλάσματα.
10. Η φαινοφιμπράτη προκαλεί σημαντική αύξηση της ενεργότητας και της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub> στο HDL-3c υποκλάσμα ενώ στα υπόλοιπα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoA-I δεν παρατηρείται καμία μεταβολή. Αμετάβλητη επίσης παραμένει και η ειδική ενεργότητα του ενζύμου σε όλα τα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoA-I.
11. Η ιδιότητα της φαινοφιμπράτης να αυξάνει την μετατροπή των sdLDL υποκλασμάτων σε LDL θα μπορούσε να ερμηνεύσει την αύξηση της ειδικής ενεργότητας της non-HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> που παρατηρείται μετά τη χορήγηση του φαρμάκου.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο μεταβολισμός των λιπιδίων έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή λιποπρωτεϊνών οι οποίες εμπλέκονται στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης. Οι LDL διαδραματίζουν βασικό ρόλο στην εμφάνιση της αθηροσκλήρωσης, ενώ αντίθετα οι HDL έχουν αντιαθηρογόνες ιδιότητες διαμέσου της συμμετοχής τους στο μηχανισμό της ανάστροφης μεταφοράς της χοληστερόλης ενώ επίσης επηρεάζουν ευνοϊκά τη λειτουργία του ενδοθηλίου των αγγείων.

Οι προσπάθειες παρέμβασης στα επίπεδα αυτών των λιποπρωτεϊνών οδήγησαν στην ανακάλυψη διάφορων κατηγοριών υπολιπιδαιμικών φαρμάκων, όπως είναι οι στατίνες, οι φιβράτες, η εζετιμίμη, οι ρητίνες δέσμευσης χολικών οξέων, το νικοτινικό οξύ και τα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα. Το καθένα από τα παραπάνω φάρμακα επιδρά με διαφορετικό τρόπο στο μεταβολισμό των λιπιδίων με άλλοτε άλλο τελικό αποτέλεσμα τόσο στα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών όσο και στη μείωση του κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου (KAN). Έχει παρατηρηθεί επίσης ότι η ευνοϊκή επίδραση ορισμένων υπολιπιδαιμικών φαρμάκων στην εμφάνιση της KAN οφείλεται εκτός από την απευθείας δράση τους στο μεταβολισμό των λιπιδίων και σε επιπρόσθετες ευνοϊκές δράσεις τους που ονομάζονται πλειοτροπικές δράσεις. Τέτοιες πλειοτροπικές δράσεις είναι για παράδειγμα οι αντιοξειδωτικές, οι αντιφλεγμονώδεις και οι αντιθρομβωτικές τους ιδιότητες.

Η συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A<sub>2</sub> (Lp-PLA<sub>2</sub>) είναι ένα ένζυμο που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη φλεγμονώδη διεργασία που χαρακτηρίζει την αθηροσκλήρωση. Παράγεται από φλεγμονώδη κύτταρα, βρίσκεται συνδεδεμένη κατά κύριο λόγο με τις LDL και λιγότερο με τις άλλες λιποπρωτεΐνες και φυσιολογικά υδρολύει τον παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (platelet activating factor, PAF), ένα διαμεσολαβητή της φλεγμονής, ασκώντας έτσι αυστηρό έλεγχο στα επίπεδά του στον ορό. Ταυτόχρονα υδρολύει την οξειδωτικά τροποποιημένη LDL με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή προϊόντων που ευοδώνουν την αθηρωμάτωση. Τα αυξημένα επίπεδα της Lp-PLA<sub>2</sub> στον ορό έχουν συσχετισθεί με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο τόσο σε υγιείς πληθυσμούς όσο και σε ασθενείς με γνωστή αγγειακή νόσο.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθεί η επίδραση τριών υπολιπιδαιμικών φαρμάκων (της εζετιμίμης, της ροσουβαστατίνης και της φαινοφιμπράτης) με διαφορετικό μηχανισμό δράσης, στο λιπιδαιμικό προφίλ αλλά και

στην ενεργότητα, τη μάζα και την ειδική ενεργότητα της Lp-PLA<sub>2</sub> στις LDL, στις HDL και στα υποκλάσματά τους σε τρεις διαφορετικούς πληθυσμούς.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, η εξετιμίμπη μείωσε σημαντικά την TCHOL, την LDL-CHOL και την HDL-CHOL, καθώς και τα επίπεδα της apoB. Το φάρμακο δεν είχε καμία επίδραση στο ποσοστό των sdLDL ή στη μέση διάμετρο των LDL σωματιδίων. Όσον αφορά την Lp-PLA<sub>2</sub>, η εξετιμίμπη μείωσε την ενεργότητα και τη μάζα της στο πλάσμα χωρίς να επηρεάσει την ειδική ενεργότητά της ή το λόγο της ενζυμικής ενεργότητας και μάζας προς την apoB. Επιπρόσθετα, η εξετιμίμπη μείωσε την ενεργότητα και τη μάζα της HDL Lp-PLA<sub>2</sub> χωρίς να μεταβάλει την ειδική ενεργότητα. Τέλος, δεδομένου ότι το μεγαλύτερο ποσοστό ενζυμικής ενεργότητας των LDL και HDL βρίσκεται στα υποκλάσματα LDL-5 και HDL-3c αντίστοιχα, η εξετιμίμπη μείωσε την ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> χωρίς να επηρεάσει την ειδική ενεργότητα του ενζύμου στα παραπάνω υποκλάσματα.

Η ροσουβαστατίνη είχε ως αποτέλεσμα σημαντική ελάττωση της TCHOL και της LDL-CHOL, καθώς και των επιπέδων των apoB. Το φάρμακο δεν μετέβαλε τα επίπεδα της HDL-CHOL, ούτε και το ποσοστό των sdLDL ή τη μέση διάμετρο των LDL σωματιδίων. Επίσης, μείωσε την ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> στο πλάσμα χωρίς να μειώσει την ειδική ενεργότητα του ενζύμου. Επιπρόσθετα η ροσουβαστατίνη ελάττωσε την ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> στις HDL, ενώ δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή της ειδικής ενεργότητας του ενζύμου. Τέλος, η ροσουβαστατίνη μείωσε την ενεργότητα και τη μάζα της Lp-PLA<sub>2</sub> χωρίς να παρατηρηθεί μεταβολή της ειδικής ενεργότητάς της στο LDL-5 υποκλάσμα, ενώ δεν ανιχνεύθηκαν μεταβολές της ενεργότητας, της μάζας και της ειδικής ενεργότητας του ενζύμου στο HDL-3c υποκλάσμα.

Η φαινοφιμπράτη είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της TCHOL και της LDL-CHOL καθώς και των apoB, ενώ αντίθετα παρατηρήθηκε αύξηση της HDL-CHOL. Επιπρόσθετα, η φαινοφιμπράτη μείωσε σημαντικά το ποσοστό των sdLDL και αύξησε τη μέση διάμετρο των LDL σωματιδίων ενώ παρατηρήθηκε μείωση της ενεργότητας και της μάζας της Lp-PLA<sub>2</sub>, με ταυτόχρονη αύξηση της ειδικής ενεργότητας του ενζύμου στο πλάσμα. Τέλος, η φαινοφιμπράτη αύξησε την ενεργότητα και τη μάζα του ενζύμου στις HDL και κυρίως στο HDL-3c υποκλάσμα, ενώ μείωσε την ενεργότητα και τη μάζα του ενζύμου στο LDL-5 υποκλάσμα. Δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές της ειδικής ενεργότητας του ενζύμου τόσο όσον αφορά την ολική HDL όσο και τα υποκλάσματα HDL-3c και LDL-5.

## SUMMARY

The metabolism of lipids results in the production of lipoproteins, which are involved in the process of atherosclerosis. Low density lipoprotein (LDL) play a key role in the onset of atherosclerosis, while high density lipoprotein (HDL) have antiatherogenic properties through their participation in the reverse cholesterol transport, while protecting the endothelial function of blood vessels. The attempts to intervene in the levels of these lipoproteins led to the discovery of several classes of lipid-lowering drugs like statins, fibrates, ezetimibe, bile acid binding resins, nicotinic acid and omega-3 fatty acids. Each of these drugs affects the metabolism of lipids through different ways and exerts various results in the reduction of both the lipoprotein levels and the risk for cardiovascular disease (CVD). It has also been observed that the beneficial effect of certain lipid-lowering drugs in the appearance of CVD is attributed not only to their direct action on lipid metabolism but also to further mechanisms called pleiotropic actions. Such pleiotropic actions include the antioxidant, anti-inflammatory and antithrombotic properties of such agents.

Lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> (Lp-PLA<sub>2</sub>) is an enzyme that plays an important role in the inflammatory process that characterizes atherosclerosis. Lp-PLA<sub>2</sub> is produced by inflammatory cells, is associated primarily with LDL and less with other lipoproteins and normally hydrolyses the platelet activating factor (PAF), a mediator of inflammation, thus exerting tight control on serum PAF levels. Simultaneously, it hydrolyses oxidatively modified LDL leading to the generation of proinflammatory products. Elevated serum levels of Lp-PLA<sub>2</sub> have been associated with increased CVD risk in healthy persons and in patients with vascular disease. The purpose of this study was to investigate the effect of three lipid-lowering drugs (ezetimibe, rosuvastatin and fenofibrate), which exert their action through different mechanisms, on lipid profile and on Lp-PLA<sub>2</sub> activity, mass and specific activity in LDL, HDL and their subfractions in three different populations. According to the study results, ezetimibe significantly reduced TCHOL, LDL-CHOL and HDL-CHOL as well as the levels of apoB. There was no effect on the proportion of sdLDL or the mean diameter of LDL particles. Regarding Lp-PLA<sub>2</sub>, ezetimibe decreased both plasma activity and mass without affecting its specific activity or the ratios of activity and mass to apoB. Furthermore, ezetimibe reduced the HDL Lp-PLA<sub>2</sub> activity and mass without altering its specific activity. Finally, since the largest

proportion of enzyme activity of LDL and HDL is located in the subfractions LDL-5 and HDL-3c respectively, ezetimibe reduced the activity and mass of Lp-PLA<sub>2</sub> while it did not affect the specific activity of the enzyme in the subfractions. Rosuvastatin induced a significant decrease in TCHOL, in LDL-CHOL and in the levels of ApoB. The levels of HDL-CHOL, the percentage of sdLDL and the mean diameter of LDL particles remained unchanged. It decreased plasma Lp-PLA<sub>2</sub> activity and mass without reducing its specific activity. It also decreased the HDL-Lp-PLA<sub>2</sub> activity and mass, while the specific enzyme activity remained unaffected. Finally, rosuvastatin decreased the Lp-PLA<sub>2</sub> activity and mass in the LDL-5 subfraction without changing its specific activity, while there were no changes in activity, mass and specific enzyme activity in HDL-3c subfraction.

Fenofibrate reduced TCHOL, LDL-CHOL and apoB while it increased HDL-CHOL. Moreover, it reduced the percentage of sdLDL and increased the mean diameter of LDL particles and reduced both activity and mass of Lp-PLA<sub>2</sub>, while it increased the specific activity of the enzyme in plasma. Finally, fenofibrate increased the HDL activity and mass of the enzyme, mainly in HDL-3c subfraction, while it decreased the activity and mass of the enzyme in LDL-5 subfraction. The enzyme specific activity in both total HDL and in HDL-3c and LDL-5 subfractions remained unchanged.

**ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ**

1. **Saougos VG**, Tambaki AP, Kalogirou M, Kostapanos M, Gazi IF, Wolfert RL, Elisaf M, Tselepis AD. Differential effect of hypolipidemic drugs on lipoprotein-associated phospholipase A2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007 Oct;27(10):2236-43. Epub 2007 Jul 26. PubMed PMID: 17656665.
  
2. Kostapanos MS, Milionis HJ, **Saougos VG**, Lagos KG, Kostara C, Bairaktari ET, Elisaf MS. Dose-dependent effect of rosuvastatin treatment on urinary protein excretion. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2007 Dec;12(4):292-7. PubMed PMID: 18172223.
  
3. Kalogirou M, Tsimihodimos V, Gazi I, Filippatos T, **Saougos V**, Tselepis AD, Mikhailidis DP, Elisaf M. Effect of ezetimibe monotherapy on the concentration of lipoprotein subfractions in patients with primary dyslipidaemia. *Curr Med Res Opin.* 2007 May;23(5):1169-76. PubMed PMID: 17519084.





**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Hussain MM. A proposed model for the assembly of chylomicrons. *Atherosclerosis*. 2000 Jan;148(1):1-15.
2. Beisiegel U. Lipoprotein metabolism. *Eur Heart J*. 1998 Feb;19 Suppl A:A20-3.
3. Eckel RH. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N Engl J Med*. 1989 Apr 20;320(16):1060-8.
4. Cooper AD. Hepatic clearance of plasma chylomicron remnants. *Semin Liver Dis*. 1992 Nov;12(4):386-96.
5. Davis RA. Cell and molecular biology of the assembly and secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins by the liver. *Biochim Biophys Acta*. 1999 Aug 25;1440(1):1-31.
6. Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res*. 1996 Apr;37(4):693-707.
7. Connelly PW. The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism. *Clin Chim Acta*. 1999 Aug;286(1-2):243-55.
8. Eisenberg S, Sehayek E. Remnant particles and their metabolism. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*. 1995 Oct;9(4):739-53.
9. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*. 1986 Apr 4;232(4746):34-47.
10. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein receptors in the liver. Control signals for plasma cholesterol traffic. *J Clin Invest*. 1983 Sep;72(3):743-7.
11. Eisenberg S. High density lipoprotein metabolism. *J Lipid Res*. 1984 Oct;25(10):1017-58.
12. Fielding CJ, Fielding PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid Res*. 1995 Feb;36(2):211-28.
13. Tall A. Plasma lipid transfer proteins. *Annu Rev Biochem*. 1995;64:235-57.
14. Scanu AM, Edelstein C. HDL: bridging past and present with a look at the future. *FASEB J*. 2008 Aug 20.
15. Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:3542-56.

16. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA*. 1988;260:1917-21.
17. Austin MA, King MC, Vranizan KM, Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation*. 1990;82:495-506.
18. Campos H, Blijlevens E, McNamara JR, Ordovas JM, Posner BM, Wilson PW, et al. LDL particle size distribution. Results from the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb*. 1992;12:1410-9.
19. Selby JV, Austin MA, Newman B, Zhang D, Quesenberry CP, Mayer EJ, et al. LDL subclass phenotypes and the insulin resistance syndrome in women. *Circulation*. 1993;88:381-7.
20. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA*. 1988 Oct 7;260(13):1917-21.
21. Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Dec;17(12):3542-56.
22. Packard CJ. Triacylglycerol-rich lipoproteins and the generation of small, dense low-density lipoprotein. *Biochem Soc Trans*. 2003;31:1066-9.
23. Tan KCB, Cooper MB, Ling KLE, Griffin BA, Freeman DJ, Packard CJ, et al. Fasting and postprandial determinants for the occurrence of small dense LDL species in non-insulin-dependent diabetic patients with and without hypertriglyceridaemia: the involvement of insulin, insulin precursor species and insulin resistance. *Atherosclerosis*. 1995;113:273-87.
24. Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res*. 2002;43:1363-79.
25. Packard CJ, Caslake M, Shepherd J. The role of small, dense low density lipoprotein (LDL): a new look. *Int J Cardiol*. 2000;74(Suppl 1):S17-S22.
26. Gazi I, Lourida ES, Filippatos T, Tsimihodimos V, Elisaf M, Tselepis AD. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is a marker of small, dense LDL particles in human plasma. *Clin Chem*. 2005;51:2264-73.
27. Packard CJ, Demant T, Stewart JP, Bedford D, Caslake MJ, Schwertfeger G, et al. Apolipoprotein B metabolism and the distribution of VLDL and LDL subfractions. *J Lipid Res*. 2000;41:305-18.

28. Benton JL, Blumenthal RS, Becker DM, Yanek LR, Moy TF, Post W. Predictors of low-density lipoprotein particle size in a high-risk African-American population. *Am J Cardiol.* 2005;95:1320-3.
29. Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res.* 2002 Sep;43(9):1363-79.
30. Rizzo M, Berneis K. Should we measure routinely the LDL peak particle size? *Int J Cardiol.* 2006;107:166-70.
31. Krauss RM. Dietary and genetic probes of atherogenic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:2265-72.
32. Kwiterovich POJ. Clinical relevance of the biochemical, metabolic, and genetic factors that influence low-density lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol.* 2002;90:30i-47i.
33. Slyper AH. Low-density lipoprotein density and atherosclerosis: unraveling the connection. *JAMA.* 1994;272:305-8.
34. Austin MA. Genetic control of low-density-lipoprotein subclasses. *Lancet.* 1986;2:592-5.
35. Austin MA, Talmud PJ, Luong LA, Haddad L, Day IN, Newman B, et al. Candidate-gene studies of the atherogenic lipoprotein phenotype: a sib-pair linkage analysis of DZ women twins. *Am J Hum Genet.* 1998;62:406-19.
36. Austin MA. Genetic epidemiology of low-density lipoprotein subclass phenotypes. *Ann Med.* 1992;24:477-81.
37. Austin MA. Genetic and environmental influences on LDL subclass phenotypes. *Clin Genet.* 1994;46(1 Spec No):64-70.
38. Austin MA, Brunzell JD, Fitch WL, Krauss RM. Inheritance of low density lipoprotein subclass patterns in familial combined hyperlipidemia. *Arteriosclerosis.* 1990;10:520-30.
39. Austin MA, Krauss RM. LDL density and atherosclerosis. *JAMA.* 1995;273:115.
40. Friedlander Y, Kark JD, Sinnreich R, Edwards KL, Austin MA. Inheritance of LDL peak particle diameter: results from a segregation analysis in Israeli families. *Genet Epidemiol.* 1999;16:382-96.
41. Edwards KL, Mahaney MC, Motulsky AG, Austin MA. Pleiotropic genetic effects on LDL size, plasma triglyceride, and HDL cholesterol in families. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:2456-64.

42. Bosse Y, Perusse L, Despres JP, Lamarche B, Chagnon YC, Rice T, et al. Evidence for a major quantitative trait locus on chromosome 17q21 affecting low-density lipoprotein peak particle diameter. *Circulation*. 2003;107:2361-8.
43. Bosse Y, Perusse L, Vohl MC. Genetics of LDL particle heterogeneity: from genetic epidemiology to DNA-based variations. *J Lipid Res*. 2004;45:1008-26.
44. Krauss RM. Dietary and genetic effects on low-density lipoprotein heterogeneity. *Annu Rev Nutr*. 2001;21:283-95.
45. Czerwinski SA, Mahaney MC, Rainwater DL, Valdeberg JL, Maccluer JW, Stern MP, et al. Gene by smoking interaction: evidence for effects on low-density lipoprotein size and plasma levels of triglyceride and high-density lipoprotein cholesterol. *Hum Biol*. 2004;76:863-76.
46. Shearman AM, Demissie S, Cupples LA, Peter I, Schmid CH, Ordovas JM, et al. Tobacco smoking, estrogen receptor a gene variation and small low density lipoprotein level. *Hum Mol Genet*. 2005;14:2405-13.
47. Siri PW, Krauss RM. Influence of dietary carbohydrate and fat on LDL and HDL particle size. *Curr Atheroscler Rep*. 2005;7:455-9.
48. Dreon DM, Krauss RM. Diet-gene interactions in human lipoprotein metabolism. *J Am Coll Nutr*. 1997;16:313-24.
49. Krauss RM. Dietary and genetic effects on low-density lipoprotein heterogeneity. *Annu Rev Nutr*. 2001;21:283-95.
50. Luc G, Bard JM, Poulain P, Arveiler D, Evans AE, Cambien F, et al. Relationship between low-density lipoprotein size and apolipoprotein A-I-containing particles: the ECTIM study. *Eur J Clin Invest*. 1997;27:242-7.
51. Carr MC, Ayyobi AF, Murdoch SJ, Deeb SS, Brunzell JD. Contribution of hepatic lipase, lipoprotein lipase, and cholesteryl ester transfer protein to LDL and HDL heterogeneity in healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:667-73.
52. Wang J, Qiang H, Chen D, Zhang C, Zhuang Y. CETP gene mutation (D442G) increases low-density lipoprotein particle size in patients with coronary heart disease. *Clin Chim Acta*. 2002;322:85-90.
53. Talmud PJ, Edwards KL, Turner CM, Newman B, Palmen JM, Humphries SE, et al. Linkage of the cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene to LDL particle size: use of a novel tetranucleotide repeat within the CETP promoter. *Circulation*. 2000;101:2461-6.

54. Skoglund-Andersson C, Ehrenborg E, Fisher RM, Olivecrona G, Hamsten A, Karpe F. Influence of common variants in the CETP, LPL, HL and APO E genes on LDL heterogeneity in healthy, middle-aged men. *Atherosclerosis*. 2003;167:311-7.
55. Havel RJ. Genetic underpinnings of LDL size and density: a role for hepatic lipase? *Am J Clin Nutr*. 2000;71:1390-1.
56. Ichikawa T, Kitajima S, Liang J, Koike T, Wang X, Sun H, et al. Overexpression of lipoprotein lipase in transgenic rabbits leads to increased small dense LDL in plasma and promotes atherosclerosis. *Lab Invest*. 2004;84:715-26.
57. Esteve E, Faure E, Calvo F, Aguillo E, Blasco C, Roche MJ, et al. SNP3 polymorphism in apo A-V gene is associated with small dense LDL particles in type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2004;47:355-6.
58. Austin MA, Talmud PJ, Farin FM, Nickerson DA, Edwards KL, Leonetti D, et al. Association of apolipoprotein A5 variants with LDL particle size and triglyceride in Japanese Americans. *Biochim Biophys Acta*. 2004;1688:1-9.
59. Hogue JC, Lamarche B, Gaudet D, Tremblay AJ, Despres JP, Gagne C, et al. Genotype of the mutant LDL receptor allele is associated with LDL particle size heterogeneity in familial combined hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2006;184:163-70.
60. Hirano T, Ito Y, Yoshino G. Measurement of small dense low-density lipoprotein particles. *J Atheroscler Thromb*. 2005;12:67-72.
61. Otvos J. Measurement of triglyceride-rich lipoproteins by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Cardiol*. 1999;22(6 Suppl):II21-II7.
62. Otvos JD, Jeyarajah EJ, Cromwell WC. Measurement issues related to lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol*. 2002;90(suppl):22i-9i.
63. Nichols AV, Krauss RM, Musliner TA. Nondenaturing polyacrylamide gradient gel electrophoresis. *Methods Enzymol*. 1986;128:417-33.
64. Hirano T, Ito Y, Saegusa H, Yoshino G. A novel and simple method for quantification of small, dense LDL. *J Lipid Res*. 2003;44:2193-201.
65. Hirano T, Ito Y, Koba S, Toyoda M, Ikejiri A, Saegusa H, et al. Clinical significance of small dense low-density lipoprotein cholesterol levels determined by the simple precipitation method. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:558-63.
66. Hoefner DM, Hodel SD, O'Brien JF, Branum EL, Sun D, Meissner I, et al. Development of a rapid, quantitative method for LDL subfractionation with use of the Quantimetrix Lipoprint LDL System. *Clin Chem*. 2001 Feb;47(2):266-74.

67. Wagner AM, Jorba D, Rigla M, Alonso E, Ordonez-Llanos J, Perez A. LDL-cholesterol/apolipoprotein B ratio is a good predictor of LDL phenotype in type 2 diabetes. *Acta Diabetol.* 2002;39:215-20.
68. Sniderman AD. How, when, and why to use apolipoprotein B in clinical practice. *Am J Cardiol.* 2002;90:48i-54i.
69. Maruyama C, Imamura K, Teramoto T. Assessment of LDL particle size by triglyceride/HDL-cholesterol ratio in non-diabetic, healthy subjects without prominent hyperlipidemia. *J Atheroscler Thromb.* 2003;10:186-91.
70. Nielsen LB. Transfer of low-density lipoprotein into the arterial wall and risk of atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1996;123:1-15.
71. Anber V, Millar JS, McConnel M, Shepherd J, Packard CJ. Interaction of very low-density, intermediate-density and low-density lipoproteins with human arterial wall proteoglycans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:2507-14.
72. Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype and diet-gene interactions. *J Nutr.* 2001;131:340S-3S.
73. Sattar N, Petrie JR, Jaap AJ. The atherogenic lipoprotein phenotype and vascular endothelial dysfunction. *Atherosclerosis.* 1998;138:229-35.
74. Woodman RJ, Watts GF, Playford DA, Best JD, Chan DC. Oxidized LDL and small LDL particle size are independently predictive of a selective defect in microcirculatory endothelial function in type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2005;7:612-7.
75. Nigon F, Lesnic P, Rouis M, Chapman MJ. Discrete subspecies of human low-density lipoproteins are heterogeneous in their interaction with the cellular LDL receptor. *J Lipid Res.* 1991;32:1741-53.
76. Galeano NF, Milne R, Marcel YL, Walsh MT, Levy E, Ngu'yen TD, et al. Apoprotein B structure and receptor recognition of triacylglyceride-rich low-density lipoprotein (LDL) is modified in small LDL but not in triglyceride-rich LDL of normal size. *J Biol Chem.* 1994;269:5111-9.
77. Galeano NF, Al Haiser M, Keyserman F, Rumsey SC, Deckelbaum RJ. Small dense low density lipoprotein has increased affinity for LDL receptor-independent cell surface binding sites: A potential mechanism for increased atherogenicity. *J Lipid Res.* 1998;39:1263-73.
78. Toyota Y, Yamamura T, Miyake Y, Yamamoto A. Low density lipoprotein (LDL) binding affinity for the LDL receptor in hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis.* 1999;147:77-86.

79. Maki KC, Davidson MH, Marx P, Cyrowski MS, Maki A. Association between elevated plasma fibrinogen and the small, dense low-density lipoprotein phenotype among postmenopausal women. *Am J Cardiol.* 2000;85:451-6.
80. Kakafika AI, Liberopoulos EN, Mikhailidis DP. Fibrinogen: a predictor of vascular disease. *Curr Pharm Des.* 2006;in press.
81. Festa A, D'Agostino R, Mykkanen L, Tracy R, Howard BV, Haffner SM. Low-density lipoprotein particle size is inversely related to plasminogen activator inhibitor-1 levels. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:605-10.
82. Rizzo M, Berneis K. Low-density lipoprotein size and cardiovascular risk assessment. *QJM.* 2006;99:1-14.
83. Karmena R, Duriez P, Fruchart JC. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. *Circulation.* 2004;109:III2-III7.
84. Campos H, Genest JJ, Blijlevens E, McNamara JR, Jenner JL, Ordovas JM, et al. Low density lipoprotein particle size and coronary artery disease. *Arterioscler Thromb.* 1992;12:187-95.
85. Coresh J, Kwiterovich PJ, Smith H, Bachorik P. Association of plasma triglyceride concentration and LDL diameter density, and chemical composition with premature coronary artery disease in men and women. *J Lipid Res.* 1993;34:1687-97.
86. Tornvall P, Karpe F, Carlson LA, Hamsten A. Relationships of low density lipoprotein subfractions to angiographically defined coronary artery disease in young survivors of myocardial infarction. *Atherosclerosis.* 1991;90:67-80.
87. Koba S, Hirano T, Kondo T, Shibata M, Suzuki H, Murakami M, et al. Significance of small dense low-density lipoproteins and other risk factors in patients with various types of coronary heart disease. *Am Heart J.* 2002;144:1026-35.
88. Yoon Y, Song J, Park HD, K.U. P, Kim JQ. Significance of small dense low-density lipoproteins as coronary risk factor in diabetic and non-diabetic Korean populations. *Clin Chem Lab Med.* 2005;43:431-7.
89. Zeljkovic A, Bogavac-Stanojevic N, Jelic-Ivanovic Z, Spasojevic-Kalimanovska V, Vekic J, Spasic S. Combined effects of small apolipoprotein (a) isoforms and small, dense LDL on coronary artery disease risk. *Arch Med Res.* 2009 Jan;40(1):29-35.
90. Gardner CD, Formann SP, Krauss RM. Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women. *JAMA.* 1996;276:875-81.

91. Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, et al. Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. *Circulation*. 1997;95:69-75.
92. Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, Blanche PJ, Holl LG, Sacks FM, et al. A prospective study of triglyceride levels, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA*. 1996;276:882-8.
93. Austin MA, Rodriguez BL, McKnight B, McNeely MJ, Edwards KL, Curb JD, et al. Low-density lipoprotein particle size, triglycerides, and high-density lipoprotein cholesterol as risk factors for coronary heart disease in older Japanese-American men. *Am J Cardiol*. 2000;86:412-6.
94. Lamarche B, Tchernof A, Mauriege P, Cantin B, Dagenais GR, Despres JP. Fasting insulin and apolipoprotein B levels and low-density lipoprotein particle size as risk factors for ischemic heart disease. *JAMA*. 1998;279:1955-61.
95. St-Pierre AC, Ruel IL, Cantin B, Dagenais GR, Bernard PM, Despres JP, et al. Comparison of various electrophoretic characteristics of LDL particles and their relationship to the risk of ischemic heart disease. *Circulation*. 2001 Nov 6;104(19):2295-9.
96. St-Pierre AC, Cantin B, Dagenais GR, Mauriege P, Bernard PM, Despres JP, et al. Low-density lipoprotein subfractions and the long-term risk of ischemic heart disease in men: 13-year follow-up data from the Quebec Cardiovascular Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005 Mar;25(3):553-9.
97. Koba S, Hirano T, Ito Y, Tsunoda F, Yokota Y, Ban Y, et al. Significance of small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations in relation to the severity of coronary heart diseases. *Atherosclerosis*. 2006;189:206-14.
98. Moon JY, Kwon HM, Kwon SW, Yoon SJ, Kim JS, Lee SJ, et al. Lipoprotein(a) and LDL particle size are related to the severity of coronary artery disease. *Cardiology*. 2007;108(4):282-9.
99. Arsenault BJ, Lemieux I, Despres JP, Wareham NJ, Luben R, Kastelein JJ, 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 Nov;28(22):2770-7.
100. Koba S, Hirano T, Yoshino G, Sakai K, Sakaue T, Adachi M, et al. Remarkably high prevalence of small dense low-density lipoprotein in Japanese men with coronary artery disease, irrespective of the presence of diabetes. *Atherosclerosis*. 2002;160:249-56.



101. Biswas S, Ghoshal PK, Mandal SC, Mandal N. Association of low-density lipoprotein particle size and ratio of different lipoproteins and apolipoproteins with coronary heart disease. *J Cardiol*. 2008 Oct;52(2):118-26.
102. Rizzo M, Pernice V, Frasheri A, Di Lorenzo G, Rini GB, Spinass GA, et al. Small, dense low-density lipoproteins are predictors of cardio- and cerebro-vascular events in subjects with the metabolic syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008 Sep 2.
103. Mykkanen L, Kuusisto J, Haffner SM, Laakso M, Austin MA. LDL size and risk of coronary heart disease in elderly men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:2742-8.
104. Kamigaki AS, Siscovick DS, Schwartz SM, Psaty BM, Edwards KL, Raghunathan TE, et al. Low density lipoprotein particle size and risk of early-onset myocardial infarction in women. *Am J Epidemiol*. 2001;153:939-45.
105. Kwon SW, Yoon SJ, Kang TS, Kwon HM, Kim JH, Rhee J, et al. Significance of small dense low-density lipoprotein as a risk factor for coronary artery disease and acute coronary syndrome. *Yonsei Med J*. 2006;47:405-14.
106. Berneis KK, Jeanneret C, Muser J, Felix B, Miserez AR. Low-density lipoprotein size and subclasses are markers of clinically apparent and non-apparent atherosclerosis in type 2 diabetes. *Metabolism*. 2005;54:227-34.
107. Lamarche B, Moorjani S, Lupien PJ, Cantin B, Bernard PM, Dagenais GR, 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;94:273-8.
108. Sniderman AD, Scantlebury T, Cianflone K. Hypertriglyceridemic hyperapob: the unappreciated atherogenic dyslipoproteinemia in type 2 diabetes. *Ann Intern Med*. 2001;135:447-59.
109. Sniderman AD, Lamarche B, Tilley J, Secombe D, Frolich J. Hypertriglyceridemic hyperapoB in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2002;25:579-82.
110. St-Pierre AC, Cantin B, Dagenais GR, Despres JP, Lamarche B. Apolipoprotein-B, low-density lipoprotein cholesterol, and the long-term risk of coronary heart disease in men. *Am J Cardiol*. 2006;97:997-1001.
111. Barter PJ, Ballantyne CM, Carmena R, Castro-Cabeas M, Chapman MJ, Couture P, 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;259:247-58.

112. Kuller L, Arnold A, Tracy R, Otvos J, Burke G, Psaty B, et al. Nuclear magnetic resonance spectroscopy of lipoproteins and risk of coronary heart disease in the cardiovascular health study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1175-80.
113. Campos H, Roederer GO, Lussier-Cacan S, Davignon J, Krauss RM. Predominance of large LDL and reduced HDL<sub>2</sub> cholesterol in normolipidemic men with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:1043-8.
114. Gray RS, Robbins DC, Wang W, Yeh JL, Fabsitz RR, Cowan LD, 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;17:2713-20.
115. Campos H, Moye LA, Glasser SP, Stampfer SP, Sacks FM. Low-density lipoprotein size, pravastatin treatment, and coronary events. *J Am Med Assoc.* 2001;286:1468-74.
116. Jungner I, Sniderman AD, Furberg C, Aastveit AH, Holme I, Walldius G. Does low-density lipoprotein size add to atherogenic particle number in predicting the risk of fatal myocardial infarction? *Am J Cardiol.* 2006;97:943-6.
117. Rizzo M, Berneis K. The role of small, dense low-density-lipoproteins in non-coronary forms of atherosclerosis. *Vasc Dis Prevent.* 2006;3:269-74.
118. Zeljkovic A, Vekic J, Spasojevic-Kalimanovska V, Jelic-Ivanovic Z, Bogavac-Stanojevic N, Gulan B, et al. LDL and HDL subclasses in acute ischemic stroke: prediction of risk and short-term mortality. *Atherosclerosis.* 2010 Jun;210(2):548-54.
119. Skoglund-Andersson C, Tang R, Bond MG, de Faire U, Hamsten A, Karpe F. LDL particle size distribution is associated with carotid intima-media thickness in healthy 50-year-old men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999 Oct;19(10):2422-30.
120. Hallman DM, Brown SA, Ballantyne CM, Sharrett AR, Boerwinkle E. Relationship between low-density lipoprotein subclasses and asymptomatic atherosclerosis in subjects from the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Biomarkers.* 2004;9:190-202.
121. van Tits LJ, Smilde TJ, van Wissen S, de Graaf J, Kastelein JJ, Stalenhoef AF. 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 Invest Med.* 2004;52:177-84.
122. Liu ML, Ylitalo K, Nuotio I, Salonen R, Salonen JT, Taskinen MR. Association between carotid intima-media thickness and low-density lipoprotein size and

susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation in asymptomatic members of familial combined hyperlipidemia families. *Stroke*. 2002;33:1255-60.

123. Watanabe T, Koba S, Kawamura M, Itokawa M, Idei T, Nakagawa Y, et al. Small dense low-density lipoprotein and carotid atherosclerosis in relation to vascular dementia. *Metabolism*. 2004;53:476-82.

124. Skoglund-Andersson C, Tang R, Bond MG, de Faire U, Hamsten A, Karpe F. LDL particle size distribution is associated with carotid intima media thickness in healthy 50-year-old men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:2422-30.

125. O'Neal DN, Lewicki J, Ansari MZ, Matthews PG, Best JD. Lipid levels and peripheral vascular disease in diabetic and non-diabetic subjects. *Atherosclerosis*. 1998;136:1-8.

126. Lupattelli G, Pasqualini L, Siepi D, . Increased postprandial lipemia in patients with normolipemic peripheral arterial disease. *Am Heart J*. 2002;143:733-8.

127. Rizzo M, Pernice V, Frasheri A, Berneis K. Atherogenic lipoprotein phenotype and LDL size and subclasses in patients with peripheral arterial disease. *Atherosclerosis*. 2008 Mar;197(1):237-41.

128. Kontush A, Chapman MJ. Antiatherogenic small, dense HDL--guardian angel of the arterial wall? *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2006 Mar;3(3):144-53.

129. Barter P, Kastelein J, Nunn A, Hobbs R. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. *Atherosclerosis*. 2003 Jun;168(2):195-211.

130. Morgan J, Carey C, Lincoff A, Capuzzi D. High-density lipoprotein subfractions and risk of coronary artery disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2004 Sep;6(5):359-65.

131. Arsenault BJ, Lemieux I, Despres JP, Gagnon P, Wareham NJ, Stroes ES, et al. HDL particle size and the risk of coronary heart disease in apparently healthy men and women: the EPIC-Norfolk prospective population study. *Atherosclerosis*. 2009 Sep;206(1):276-81.

132. Asztalos B, Zhang W, Roheim PS, Wong L. Role of free apolipoprotein A-I in cholesterol efflux. Formation of pre-alpha-migrating high-density lipoprotein particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Sep;17(9):1630-6.

133. Kontush A, Chantepie S, Chapman MJ. Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003 Oct 1;23(10):1881-8.

134. Durrington P. Dyslipidaemia. *Lancet*. 2003 Aug 30;362(9385):717-31.

135. Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. *J Clin Invest.* 2003 Jun;111(12):1795-803.
136. Horton JD, Shimano H, Hamilton RL, Brown MS, Goldstein JL. Disruption of LDL receptor gene in transgenic SREBP-1a mice unmasks hyperlipidemia resulting from production of lipid-rich VLDL. *J Clin Invest.* 1999 Apr;103(7):1067-76.
137. Gillian-Daniel DL, Bates PW, Tebon A, Attie AD. Endoplasmic reticulum localization of the low density lipoprotein receptor mediates presecretory degradation of apolipoprotein B. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Apr 2;99(7):4337-42.
138. Leonard JV, Whitelaw AG, Wolff OH, Lloyd JK, Slack J. Diagnosing familial hypercholesterolaemia in childhood by measuring serum cholesterol. *Br Med J.* 1977 Jun 18;1(6076):1566-8.
139. Slack J. Risks of ischaemic heart-disease in familial hyperlipoproteinaemic states. *Lancet.* 1969 Dec 27;2(7635):1380-2.
140. Marks D, Thorogood M, Neil HA, Humphries SE. A review on the diagnosis, natural history, and treatment of familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis.* 2003 May;168(1):1-14.
141. Heiberg A, Slack J. Family similarities in the age at coronary death in familial hypercholesterolaemia. *Br Med J.* 1977 Aug 20;2(6085):493-5.
142. Sun XM, Patel DD, Knight BL, Soutar AK. Influence of genotype at the low density lipoprotein (LDL) receptor gene locus on the clinical phenotype and response to lipid-lowering drug therapy in heterozygous familial hypercholesterolaemia. The Familial Hypercholesterolaemia Regression Study Group. *Atherosclerosis.* 1998 Jan;136(1):175-85.
143. Bhatnagar D, Morgan J, Siddiq S, Mackness MI, Miller JP, Durrington PN. Outcome of case finding among relatives of patients with known heterozygous familial hypercholesterolaemia. *BMJ.* 2000 Dec 16;321(7275):1497-500.
144. Moorjani S, Gagne C, Lupien PJ, Brun D. Plasma triglycerides related decrease in high-density lipoprotein cholesterol and its association with myocardial infarction in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Metabolism.* 1986 Apr;35(4):311-6.
145. Miltiados G, Cariolou MA, Elisaf M. HDL cholesterol levels in patients with molecularly defined familial hypercholesterolemia. *Ann Clin Lab Sci.* 2002 Winter;32(1):50-4.
146. Mbewu AD, Bhatnagar D, Durrington PN, Hunt L, Ishola M, Arrol S, et al. Serum lipoprotein(a) in patients heterozygous for familial hypercholesterolemia, their

relatives, and unrelated control populations. *Arterioscler Thromb.* 1991 Jul-Aug;11(4):940-6.

147. Miltioudous G, Tsimihodimos V, Bairaktari E, Elisaf M. Lipoprotein(a) levels in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis.* 2001 Jul;157(1):255-6.

148. Rallidis L, Naoumova RP, Thompson GR, Nihoyannopoulos P. Extent and severity of atherosclerotic involvement of the aortic valve and root in familial hypercholesterolaemia. *Heart.* 1998 Dec;80(6):583-90.

149. Durrington PN. Rigorous detection and vigorous treatment of familial hypercholesterolaemia. *Lancet.* 2001 Feb 24;357(9256):574-5.

150. Smilde TJ, van Wissen S, Wollersheim H, Trip MD, Kastelein JJ, Stalenhoef AF. Effect of aggressive versus conventional lipid lowering on atherosclerosis progression in familial hypercholesterolaemia (ASAP): a prospective, randomised, double-blind trial. *Lancet.* 2001 Feb 24;357(9256):577-81.

151. Florentin M, Liberopoulos EN, Mikhailidis DP, Elisaf MS. Colesevelam hydrochloride in clinical practice: a new approach in the treatment of hypercholesterolaemia. *Curr Med Res Opin.* 2008 Apr;24(4):995-1009.

152. Gylling H, Radhakrishnan R, Miettinen TA. Reduction of serum cholesterol in postmenopausal women with previous myocardial infarction and cholesterol malabsorption induced by dietary sitostanol ester margarine: women and dietary sitostanol. *Circulation.* 1997 Dec 16;96(12):4226-31.

153. Gagne C, Gaudet D, Bruckert E. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with atorvastatin or simvastatin in patients with homozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation.* 2002 May 28;105(21):2469-75.

154. Huijgen R, Abbink EJ, Bruckert E, Stalenhoef AF, Imholz BP, Durrington PN, et al. Colesevelam added to combination therapy with a statin and ezetimibe in patients with familial hypercholesterolemia: a 12-week, multicenter, randomized, double-blind, controlled trial. *Clin Ther.* 2010 Apr;32(4):615-25.

155. Park JW, Merz M, Braun P. Effect of HELP-LDL-apheresis on outcomes in patients with advanced coronary atherosclerosis and severe hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 1998 Aug;139(2):401-9.

156. Bilheimer DW, Goldstein JL, Grundy SM, Starzl TE, Brown MS. Liver transplantation to provide low-density-lipoprotein receptors and lower plasma cholesterol in a child with homozygous familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* 1984 Dec 27;311(26):1658-64.

157. Grossman M, Raper SE, Kozarsky K, Stein EA, Engelhardt JF, Muller D, et al. Successful ex vivo gene therapy directed to liver in a patient with familial hypercholesterolaemia. *Nat Genet.* 1994 Apr;6(4):335-41.
158. Talmud P, Tybjaerg-Hansen A, Bhatnagar D, Mbewu A, Miller JP, Durrington P, et al. Rapid screening for specific mutations in patients with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis.* 1991 Aug;89(2-3):137-41.
159. Myant NB. Familial defective apolipoprotein B-100: a review, including some comparisons with familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis.* 1993 Dec;104(1-2):1-18.
160. Schaefer JR, Scharnagl H, Baumstark MW, Schweer H, Zech LA, Seyberth H, et al. Homozygous familial defective apolipoprotein B-100. Enhanced removal of apolipoprotein E-containing VLDLs and decreased production of LDLs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997 Feb;17(2):348-53.
161. Nikkila EA, Aro A. Family study of serum lipids and lipoproteins in coronary heart-disease. *Lancet.* 1973 May 5;1(7810):954-9.
162. Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR, Bierman EL, Motulsky AG. Hyperlipidemia in coronary heart disease. II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest.* 1973 Jul;52(7):1544-68.
163. Aouizerat BE, Allayee H, Bodnar J, Krass KL, Peltonen L, de Bruin TW, et al. Novel genes for familial combined hyperlipidemia. *Curr Opin Lipidol.* 1999 Apr;10(2):113-22.
164. Eurlings PM, van der Kallen CJ, Geurts JM, van Greevenbroek MM, de Bruin TW. Genetic dissection of familial combined hyperlipidemia. *Mol Genet Metab.* 2001 Sep-Oct;74(1-2):98-104.
165. Mann CJ, Yen FT, Grant AM, Bihain BE. Mechanism of plasma cholesteryl ester transfer in hypertriglyceridemia. *J Clin Invest.* 1991 Dec;88(6):2059-66.
166. Barter PJ, Rye KA. Cholesteryl ester transfer protein, high density lipoprotein and arterial disease. *Curr Opin Lipidol.* 2001 Aug;12(4):377-82.
167. Purnell JQ, Kahn SE, Schwartz RS, Brunzell JD. Relationship of insulin sensitivity and ApoB levels to intra-abdominal fat in subjects with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001 Apr;21(4):567-72.
168. Kim H, Marcovina SM, Edwards KL, McKnight B, Bradley CM, McNeely MJ, et al. Lipoprotein(a) as a risk factor for maternal cardiovascular disease mortality in

kindreds with familial combined hyperlipidemia or familial hypertriglyceridemia. *Clin Genet.* 2001 Sep;60(3):188-97.

169. Hopkins PN, Heiss G, Ellison RC, Province MA, Pankow JS, Eckfeldt JH, et al. Coronary artery disease risk in familial combined hyperlipidemia and familial hypertriglyceridemia: a case-control comparison from the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Circulation.* 2003 Aug 5;108(5):519-23.

170. Guerin M, Bruckert E, Dolphin PJ, Turpin G, Chapman MJ. Fenofibrate reduces plasma cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL and normalizes the atherogenic, dense LDL profile in combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996 Jun;16(6):763-72.

171. Forster LF, Stewart G, Bedford D, Stewart JP, Rogers E, Shepherd J, et al. Influence of atorvastatin and simvastatin on apolipoprotein B metabolism in moderate combined hyperlipidemic subjects with low VLDL and LDL fractional clearance rates. *Atherosclerosis.* 2002 Sep;164(1):129-45.

172. Guerin M, Lassel TS, Le Goff W, Farnier M, Chapman MJ. Action of atorvastatin in combined hyperlipidemia : preferential reduction of cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL1 particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Jan;20(1):189-97.

173. Okamoto H, Yonemori F, Wakitani K, Minowa T, Maeda K, Shinkai H. A cholesteryl ester transfer protein inhibitor attenuates atherosclerosis in rabbits. *Nature.* 2000 Jul 13;406(6792):203-7.

174. Benlian P, De Gennes JL, Foubert L, Zhang H, Gagne SE, Hayden M. Premature atherosclerosis in patients with familial chylomicronemia caused by mutations in the lipoprotein lipase gene. *N Engl J Med.* 1996 Sep 19;335(12):848-54.

175. Breckenridge WC, Little JA, Steiner G, Chow A, Poapst M. Hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein C-II. *N Engl J Med.* 1978 Jun 8;298(23):1265-73.

176. Demant T, Gaw A, Watts GF, Durrington P, Buckley B, Imrie CW, et al. Metabolism of apoB-100-containing lipoproteins in familial hyperchylomicronemia. *J Lipid Res.* 1993 Jan;34(1):147-56.

177. Fellin R, Baggio G, Poli A, Augustin J, Baiocchi MR, Baldo G, et al. Familial lipoprotein lipase and apolipoprotein C-II deficiency. Lipoprotein and apoprotein analysis, adipose tissue and hepatic lipoprotein lipase levels in seven patients and their first degree relatives. *Atherosclerosis.* 1983 Oct;49(1):55-68.

178. Lesser PB, Warshaw AL. Diagnosis of pancreatitis masked by hyperlipemia. *Ann Intern Med.* 1975 Jun;82(6):795-8.
179. Heaney AP, Sharer N, Rameh B, Braganza JM, Durrington PN. Prevention of recurrent pancreatitis in familial lipoprotein lipase deficiency with high-dose antioxidant therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Apr;84(4):1203-5.
180. Morganroth J, Levy RI, Fredrickson DS. The biochemical, clinical, and genetic features of type III hyperlipoproteinemia. *Ann Intern Med.* 1975 Feb;82(2):158-74.
181. Civeira F, Pocovi M, Cenarro A, Casao E, Vilella E, Joven J, et al. Apo E variants in patients with type III hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis.* 1996 Dec 20;127(2):273-82.
182. Ghiselli G, Schaefer EJ, Gascon P, Breser HB, Jr. Type III hyperlipoproteinemia associated with apolipoprotein E deficiency. *Science.* 1981 Dec 11;214(4526):1239-41.
183. Dammerman M, Breslow JL. Genetic basis of lipoprotein disorders. *Circulation.* 1995 Jan 15;91(2):505-12.
184. Rall SC, Jr., Mahley RW. The role of apolipoprotein E genetic variants in lipoprotein disorders. *J Intern Med.* 1992 Jun;231(6):653-9.
185. Dobmeyer J, Lohrmann J, Feussner G. Prevalence and association of atherosclerosis at three different arterial sites in patients with type III hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis.* 1996 Jan 5;119(1):89-98.
186. Brunzell JD, Albers JJ, Chait A, Grundy SM, Groszek E, McDonald GB. Plasma lipoproteins in familial combined hyperlipidemia and monogenic familial hypertriglyceridemia. *J Lipid Res.* 1983 Feb;24(2):147-55.
187. Otto C, Pschierer V, Soennichsen AC, Schwandt P, Richter WO. Postprandial hemorrheology and apolipoprotein B metabolism in patients with familial hypertriglyceridemia. *Metabolism.* 1997 Nov;46(11):1299-304.
188. Chait A, Albers JJ, Brunzell JD. Very low density lipoprotein overproduction in genetic forms of hypertriglyceridaemia. *Eur J Clin Invest.* 1980 Feb;10(1):17-22.
189. Sniderman AD, Wolfson C, Teng B, Franklin FA, Bachorik PS, Kwiterovich PO, Jr. Association of hyperapobetalipoproteinemia with endogenous hypertriglyceridemia and atherosclerosis. *Ann Intern Med.* 1982 Dec;97(6):833-9.
190. Moghadasian MH. Clinical pharmacology of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Life Sci.* 1999;65(13):1329-37.
191. Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in



patients with hypercholesterolemia (the CURVES study). *Am J Cardiol.* 1998 Mar 1;81(5):582-7.

192. Ara R, Pandor A, Stevens J, Rees A, Rafia R. Early high-dose lipid-lowering therapy to avoid cardiac events: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* 2009 Jul;13(34):1-74, 5-118.

193. Martin G, Duez H, Blanquart C, Berezowski V, Poulain P, Fruchart JC, et al. Statin-induced inhibition of the Rho-signaling pathway activates PPARalpha and induces HDL apoA-I. *J Clin Invest.* 2001 Jun;107(11):1423-32.

194. Bolego C, Baetta R, Bellocosta S, Corsini A, Paoletti R. Safety considerations for statins. *Curr Opin Lipidol.* 2002 Dec;13(6):637-44.

195. Thompson PD, Clarkson P, Karas RH. Statin-associated myopathy. *JAMA.* 2003 Apr 2;289(13):1681-90.

196. Daniels SR, Greer FR. Lipid screening and cardiovascular health in childhood. *Pediatrics.* 2008 Jul;122(1):198-208.

197. Ludman A, Venugopal V, Yellon DM, Hausenloy DJ. Statins and cardioprotection--more than just lipid lowering? *Pharmacol Ther.* 2009 Apr;122(1):30-43.

198. Zhou Q, Liao JK. Pleiotropic effects of statins. - Basic research and clinical perspectives. *Circ J.* 2010;74(5):818-26.

199. Athyros VG, Kakafika AI, Tziomalos K, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Pleiotropic effects of statins--clinical evidence. *Curr Pharm Des.* 2009;15(5):479-89.

200. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med.* 1995 Nov 16;333(20):1301-7.

201. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG, et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. *N Engl J Med.* 1996 Oct 3;335(14):1001-9.

202. Downs JR, Clearfield M, Weis S, Whitney E, Shapiro DR, Beere PA, et al. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA.* 1998 May 27;279(20):1615-22.

203. Jacobs DR, Jr., Mebane IL, Bangdiwala SI, Criqui MH, Tyroler HA. High density lipoprotein cholesterol as a predictor of cardiovascular disease mortality in

men and women: the follow-up study of the Lipid Research Clinics Prevalence Study. *Am J Epidemiol.* 1990 Jan;131(1):32-47.

204. Schwartz GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, Ganz P, Oliver MF, Waters D, et al. Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes: the MIRACL study: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2001 Apr 4;285(13):1711-8.

205. Stenestrand U, Wallentin L. Early statin treatment following acute myocardial infarction and 1-year survival. *JAMA.* 2001 Jan 24-31;285(4):430-6.

206. Sever PS, Dahlof B, Poulter NR, Wedel H, Beevers G, Caulfield M, et al. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial--Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet.* 2003 Apr 5;361(9364):1149-58.

207. Fonarow GC, Wright RS, Spencer FA, Fredrick PD, Dong W, Every N, et al. Effect of statin use within the first 24 hours of admission for acute myocardial infarction on early morbidity and mortality. *Am J Cardiol.* 2005 Sep 1;96(5):611-6.

208. Laufs U, La Fata V, Plutzky J, Liao JK. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation.* 1998 Mar 31;97(12):1129-35.

209. Hayashidani S, Tsutsui H, Shiomi T, Suematsu N, Kinugawa S, Ide T, et al. Fluvastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor, attenuates left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction. *Circulation.* 2002 Feb 19;105(7):868-73.

210. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med.* 2000 Dec;6(12):1399-402.

211. Paraskevas KI, Athyros VG, Briana DD, Kakafika AI, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Statins exert multiple beneficial effects on patients undergoing percutaneous revascularization procedures. *Curr Drug Targets.* 2007 Aug;8(8):942-51.

212. Herrmann J, Lerman A, Baumgart D, Volbracht L, Schulz R, von Birgelen C, et al. Preprocedural statin medication reduces the extent of periprocedural non-Q-wave myocardial infarction. *Circulation.* 2002 Oct 22;106(17):2180-3.

213. Mulukutla SR, Marroquin OC, Smith C, Varghese R, Anderson WD, Lee JS, et al. Effect of statin therapy prior to elective percutaneous coronary intervention on frequency of periprocedural myocardial injury. *Am J Cardiol.* 2004 Dec 1;94(11):1363-6.

214. Athyros VG, Tziomalos K, Florentin M, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Statin loading in patients undergoing percutaneous coronary intervention for acute coronary syndromes: a new pleiotropic effect? *Curr Med Res Opin.* 2010 Apr;26(4):839-42.
215. Chang SM, Yazbek N, Lakkis NM. Use of statins prior to percutaneous coronary intervention reduces myonecrosis and improves clinical outcome. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2004 Jun;62(2):193-7.
216. Norata GD, Pirillo A, Catapano AL. Statins and oxidative stress during atherogenesis. *J Cardiovasc Risk.* 2003 Jun;10(3):181-9.
217. Ohmura H, Mokuno H, Sawano M, Hatsumi C, Mitsugi Y, Watanabe Y, et al. Lipid compositional differences of small, dense low-density lipoprotein particle influence its oxidative susceptibility: possible implication of increased risk of coronary artery disease in subjects with phenotype B. *Metabolism.* 2002 Sep;51(9):1081-7.
218. Nakashima A, Ohtawa M, Iwasaki K, Wada M, Kuroda N, Nakashima K. Inhibitory effects of fluvastatin and its metabolites on the formation of several reactive oxygen species. *Life Sci.* 2001 Aug 10;69(12):1381-9.
219. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS. Atorvastatin and gemfibrozil metabolites, but not the parent drugs, are potent antioxidants against lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis.* 1998 Jun;138(2):271-80.
220. Girona J, La Ville AE, Sola R, Plana N, Masana L. Simvastatin decreases aldehyde production derived from lipoprotein oxidation. *Am J Cardiol.* 1999 Mar 15;83(6):846-51.
221. Liao JK, Bettmann MA, Sandor T, Tucker JI, Coleman SM, Creager MA. Differential impairment of vasodilator responsiveness of peripheral resistance and conduit vessels in humans with atherosclerosis. *Circ Res.* 1991 Apr;68(4):1027-34.
222. Tziomalos K, Athyros VG, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Endothelial function, arterial stiffness and lipid lowering drugs. *Expert Opin Ther Targets.* 2007 Sep;11(9):1143-60.
223. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987 Dec;84(24):9265-9.
224. Radomski MW, Rees DD, Dutra A, Moncada S. S-nitroso-glutathione inhibits platelet activation in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol.* 1992 Nov;107(3):745-9.

225. Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1989 May;83(5):1774-7.
226. Gauthier TW, Scalia R, Murohara T, Guo JP, Lefer AM. Nitric oxide protects against leukocyte-endothelium interactions in the early stages of hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995 Oct;15(10):1652-9.
227. Tamai O, Matsuoka H, Itabe H, Wada Y, Kohno K, Imaizumi T. Single LDL apheresis improves endothelium-dependent vasodilatation in hypercholesterolemic humans. *Circulation.* 1997 Jan 7;95(1):76-82.
228. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS, Talley JD, Stillabower ME, Kosinski AS, et al. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med.* 1995 Feb 23;332(8):481-7.
229. Rikitake Y, Kawashima S, Takeshita S, Yamashita T, Azumi H, Yasuhara M, et al. Anti-oxidative properties of fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, contribute to prevention of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis.* 2001 Jan;154(1):87-96.
230. Hernandez-Perera O, Perez-Sala D, Navarro-Antolin J, Sanchez-Pascuala R, Hernandez G, Diaz C, et al. Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Clin Invest.* 1998 Jun 15;101(12):2711-9.
231. Park JK, Muller DN, Mervaala EM, Dechend R, Fiebeler A, Schmidt F, et al. Cerivastatin prevents angiotensin II-induced renal injury independent of blood pressure- and cholesterol-lowering effects. *Kidney Int.* 2000 Oct;58(4):1420-30.
232. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation.* 2001 Jul 17;104(3):365-72.
233. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999 Jan 14;340(2):115-26.
234. Zimmerman MA, Selzman CH, Cothren C, Sorensen AC, Raeburn CD, Harken AH. Diagnostic implications of C-reactive protein. *Arch Surg.* 2003 Feb;138(2):220-4.
235. Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS, et al. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N Engl J Med.* 2001 Jun 28;344(26):1959-65.
236. Lefer DJ. Statins as potent antiinflammatory drugs. *Circulation.* 2002 Oct 15;106(16):2041-2.

237. Romano M, Diomedede L, Sironi M, Massimiliano L, Sottocorno M, Polentarutti N, et al. Inhibition of monocyte chemotactic protein-1 synthesis by statins. *Lab Invest.* 2000 Jul;80(7):1095-100.
238. Murphy RT, Foley JB, Mulvihill N, Crean P, Walsh MJ. Impact of preexisting statin use on adhesion molecule expression in patients presenting with acute coronary syndromes. *Am J Cardiol.* 2001 Feb 15;87(4):446-8, A6.
239. Albert MA, Danielson E, Rifai N, Ridker PM. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study. *JAMA.* 2001 Jul 4;286(1):64-70.
240. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med.* 1999 Feb 11;340(6):448-54.
241. Levinson SS, Elin RJ. Role of hs-CRP measurements in the current cardiovascular risk assessment. *Clin Chim Acta.* 2005 Jun;356(1-2):225-6.
242. Johnson BD, Kip KE, Marroquin OC, Ridker PM, Kelsey SF, Shaw LJ, et al. Serum amyloid A as a predictor of coronary artery disease and cardiovascular outcome in women: the National Heart, Lung, and Blood Institute-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). *Circulation.* 2004 Feb 17;109(6):726-32.
243. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med.* 1997 Apr 3;336(14):973-9.
244. Corrado E, Rizzo M, Coppola G, Fattouch K, Novo G, Marturana I, et al. An update on the role of markers of inflammation in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2010 Feb;17(1):1-11.
245. Athyros VG, Tziomalos K, Karagiannis A, Mikhailidis DP. The JUPITER trial results boost the evidence for the use of hsCRP as a treatment target and as part of the assessment of vascular risk: time for new guidelines? *Hellenic J Cardiol.* 2009 Mar-Apr;50(2):89-91.
246. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Jr., Kastelein JJ, et al. Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. *Lancet.* 2009 Apr 4;373(9670):1175-82.
247. Opper C, Clement C, Schwarz H, Krappe J, Steinmetz A, Schneider J, et al. Increased number of high sensitive platelets in hypercholesterolemia, cardiovascular

diseases, and after incubation with cholesterol. *Atherosclerosis*. 1995 Mar;113(2):211-7.

248. Fitzgerald DJ, Roy L, Catella F, FitzGerald GA. Platelet activation in unstable coronary disease. *N Engl J Med*. 1986 Oct 16;315(16):983-9.

249. Lacoste L, Lam JY, Hung J, Letchacovski G, Solymoss CB, Waters D. Hyperlipidemia and coronary disease. Correction of the increased thrombogenic potential with cholesterol reduction. *Circulation*. 1995 Dec 1;92(11):3172-7.

250. Malinin AI, Ong S, Makarov LM, Petukhova EY, Serebruany VL. Platelet inhibition beyond conventional antiplatelet agents: expanding role of angiotensin receptor blockers, statins and selective serotonin reuptake inhibitors. *Int J Clin Pract*. 2006 Aug;60(8):993-1002.

251. Huhle G, Abletshauer C, Mayer N, Weidinger G, Harenberg J, Heene DL. Reduction of platelet activity markers in type II hypercholesterolemic patients by a HMG-CoA-reductase inhibitor. *Thromb Res*. 1999 Sep 1;95(5):229-34.

252. Standley PR, Ali S, Bapna C, Sowers JR. Increased platelet cytosolic calcium responses to low density lipoprotein in type II diabetes with and without hypertension. *Am J Hypertens*. 1993 Nov;6(11 Pt 1):938-43.

253. Essig M, Nguyen G, Prie D, Escoubet B, Sraer JD, Friedlander G. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors increase fibrinolytic activity in rat aortic endothelial cells. Role of geranylgeranylation and Rho proteins. *Circ Res*. 1998 Oct 5;83(7):683-90.

254. Wada H, Mori Y, Kaneko T, Wakita Y, Minamikawa K, Ohiwa M, et al. Hypercoagulable state in patients with hypercholesterolemia: effects of pravastatin. *Clin Ther*. 1992 Nov-Dec;14(6):829-34.

255. Aikawa M, Rabkin E, Sugiyama S, Voglic SJ, Fukumoto Y, Furukawa Y, et al. An HMG-CoA reductase inhibitor, cerivastatin, suppresses growth of macrophages expressing matrix metalloproteinases and tissue factor in vivo and in vitro. *Circulation*. 2001 Jan 16;103(2):276-83.

256. Undas A, Brummel KE, Musial J, Mann KG, Szczeklik A. Simvastatin depresses blood clotting by inhibiting activation of prothrombin, factor V, and factor XIII and by enhancing factor Va inactivation. *Circulation*. 2001 May 8;103(18):2248-53.

257. Fuster V. Elucidation of the role of plaque instability and rupture in acute coronary events. *Am J Cardiol*. 1995 Sep 28;76(9):24C-33C.

258. Libby P, Sukhova G, Lee RT, Galis ZS. Cytokines regulate vascular functions related to stability of the atherosclerotic plaque. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1995;25 Suppl 2:S9-12.
259. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation.* 1995 Jun 1;91(11):2844-50.
260. Koh KK. Effects of statins on vascular wall: vasomotor function, inflammation, and plaque stability. *Cardiovasc Res.* 2000 Sep;47(4):648-57.
261. Brown BG, Hillger L, Zhao XQ, Poulin D, Albers JJ. Types of change in coronary stenosis severity and their relative importance in overall progression and regression of coronary disease. Observations from the FATS Trial. *Familial Atherosclerosis Treatment Study.* *Ann N Y Acad Sci.* 1995 Jan 17;748:407-17; discussion 17-8.
262. Ikonomidis I, Stamatelopoulos K, Lekakis J, Vamvakou GD, Kremastinos DT. Inflammatory and non-invasive vascular markers: the multimarker approach for risk stratification in coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2008 Jul;199(1):3-11.
263. Hogue JC, Lamarche B, Tremblay AJ, Bergeron J, Gagne C, Couture P. Differential effect of atorvastatin and fenofibrate on plasma oxidized low-density lipoprotein, inflammation markers, and cell adhesion molecules in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2008 Mar;57(3):380-6.
264. Ekstedt M, Franzen LE, Mathiesen UL, Holmqvist M, Bodemar G, Kechagias S. Statins in non-alcoholic fatty liver disease and chronically elevated liver enzymes: a histopathological follow-up study. *J Hepatol.* 2007 Jul;47(1):135-41.
265. Duvnjak M, Tomasic V, Gomercic M, Smircic Duvnjak L, Barsic N, Lerotic I. Therapy of nonalcoholic fatty liver disease: current status. *J Physiol Pharmacol.* 2009 Dec;60 Suppl 7:57-66.
266. Arendt BM, Allard JP. Effect of atorvastatin, vitamin E and C on nonalcoholic fatty liver disease: is the combination required? *Am J Gastroenterol.* 2011 Jan;106(1):78-80.
267. Athyros VG, Tziomalos K, Daskalopoulos GN, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Statin-based treatment for cardiovascular risk and non-alcoholic fatty liver disease. Killing two birds with one stone? *Ann Med.* 2011 May;43(3):167-71.
268. Kiyici M, Gulten M, Gurel S, Nak SG, Dolar E, Savci G, et al. Ursodeoxycholic acid and atorvastatin in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Can J Gastroenterol.* 2003 Dec;17(12):713-8.

269. Hatzitolios A, Savopoulos C, Lazaraki G, Sidiropoulos I, Haritanti P, Lefkopoulos A, et al. Efficacy of omega-3 fatty acids, atorvastatin and orlistat in non-alcoholic fatty liver disease with dyslipidemia. *Indian J Gastroenterol*. 2004 Jul-Aug;23(4):131-4.
270. Gomez-Dominguez E, Gisbert JP, Moreno-Monteagudo JA, Garcia-Buey L, Moreno-Otero R. A pilot study of atorvastatin treatment in dyslipemid, non-alcoholic fatty liver patients. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006 Jun 1;23(11):1643-7.
271. Athyros VG, Tziomalos K, Gossios TD, Griva T, Anagnostis P, Kargiotis K, et al. Safety and efficacy of long-term statin treatment for cardiovascular events in patients with coronary heart disease and abnormal liver tests in the Greek Atorvastatin and Coronary Heart Disease Evaluation (GREACE) Study: a post-hoc analysis. *Lancet*. 2010 Dec 4;376(9756):1916-22.
272. Ast M, Frishman WH. Bile acid sequestrants. *J Clin Pharmacol*. 1990 Feb;30(2):99-106.
273. Ryan JR, Jain A. The effect of colestipol or cholestyramine on serum cholesterol and triglycerides in a long-term controlled study. *J Clin Pharmacol New Drugs*. 1972 Jul;12(7):268-73.
274. Iversen SA, Davidson D, Davidson C. The acceptability of resin therapy to patients attending a hospital lipid clinic. *Br J Clin Pharmacol*. 1995 Jul;40(1):92-4.
275. Crouse JR, 3rd. Hypertriglyceridemia: a contraindication to the use of bile acid binding resins. *Am J Med*. 1987 Aug;83(2):243-8.
276. Fonseca VA, Handelsman Y, Staels B. Colesevelam lowers glucose and lipid levels in type 2 diabetes: the clinical evidence. *Diabetes Obes Metab*. 2010 May;12(5):384-92.
277. Watts GF, Dimmitt SB. Fibrates, dyslipoproteinaemia and cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol*. 1999 Dec;10(6):561-74.
278. Agouridis AP, Filippatos TD, Derdemezis CS, Mikhailidis DP, Elisaf MS. Combination of fenofibrate with non-statin drug regimens. *Curr Pharm Des*. 2010 Oct;16(30):3401-16.
279. Moutzouri E, Kei A, Elisaf MS, Milionis HJ. Management of dyslipidemias with fibrates, alone and in combination with statins: role of delayed-release fenofibric acid. *Vasc Health Risk Manag*. 2010;6:525-39.
280. Caslake MJ, Packard CJ, Gaw A, Murray E, Griffin BA, Vallance BD, et al. Fenofibrate and LDL metabolic heterogeneity in hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb*. 1993 May;13(5):702-11.



281. Heller F, Harvengt C. Effects of clofibrate, bezafibrate, fenofibrate and probucol on plasma lipolytic enzymes in normolipaemic subjects. *Eur J Clin Pharmacol.* 1983;25(1):57-63.
282. Malmendier CL, Lontie JF, Delcroix C, Dubois DY, Magot T, De Roy L. Apolipoproteins C-II and C-III metabolism in hypertriglyceridemic patients. Effect of a drastic triglyceride reduction by combined diet restriction and fenofibrate administration. *Atherosclerosis.* 1989 Jun;77(2-3):139-49.
283. Martin G, Schoonjans K, Lefebvre AM, Staels B, Auwerx J. Coordinate regulation of the expression of the fatty acid transport protein and acyl-CoA synthetase genes by PPARalpha and PPARgamma activators. *J Biol Chem.* 1997 Nov 7;272(45):28210-7.
284. Berthou L, Duverger N, Emmanuel F, Langouet S, Auwerx J, Guillouzo A, et al. Opposite regulation of human versus mouse apolipoprotein A-I by fibrates in human apolipoprotein A-I transgenic mice. *J Clin Invest.* 1996 Jun 1;97(11):2408-16.
285. Forman BM, Chen J, Evans RM. Hypolipidemic drugs, polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors alpha and delta. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Apr 29;94(9):4312-7.
286. Staels B, Vu-Dac N, Kosykh VA, Saladin R, Fruchart JC, Dallongeville J, et al. Fibrates downregulate apolipoprotein C-III expression independent of induction of peroxisomal acyl coenzyme A oxidase. A potential mechanism for the hypolipidemic action of fibrates. *J Clin Invest.* 1995 Feb;95(2):705-12.
287. Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. Role of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *J Lipid Res.* 1996 May;37(5):907-25.
288. Vu-Dac N, Schoonjans K, Kosykh V, Dallongeville J, Fruchart JC, Staels B, et al. Fibrates increase human apolipoprotein A-II expression through activation of the peroxisome proliferator-activated receptor. *J Clin Invest.* 1995 Aug;96(2):741-50.
289. Vu-Dac N, Schoonjans K, Laine B, Fruchart JC, Auwerx J, Staels B. Negative regulation of the human apolipoprotein A-I promoter by fibrates can be attenuated by the interaction of the peroxisome proliferator-activated receptor with its response element. *J Biol Chem.* 1994 Dec 9;269(49):31012-8.
290. Chinetti G, Gbaguidi FG, Griglio S, Mallat Z, Antonucci M, Poulain P, et al. CLA-1/SR-BI is expressed in atherosclerotic lesion macrophages and regulated by activators of peroxisome proliferator-activated receptors. *Circulation.* 2000 May 23;101(20):2411-7.

291. Chinetti G, Lestavel S, Bocher V, Remaley AT, Neve B, Torra IP, et al. PPAR-alpha and PPAR-gamma activators induce cholesterol removal from human macrophage foam cells through stimulation of the ABCA1 pathway. *Nat Med*. 2001 Jan;7(1):53-8.
292. Elisaf M. Effects of fibrates on serum metabolic parameters. *Curr Med Res Opin*. 2002;18(5):269-76.
293. Scott R, O'Brien R, Fulcher G, Pardy C, D'Emden M, Tse D, et al. Effects of fenofibrate treatment on cardiovascular disease risk in 9,795 individuals with type 2 diabetes and various components of the metabolic syndrome: the Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) study. *Diabetes Care*. 2009 Mar;32(3):493-8.
294. Ginsberg HN, Elam MB, Lovato LC, Crouse JR, 3rd, Leiter LA, Linz P, et al. Effects of combination lipid therapy in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 2010 Apr 29;362(17):1563-74.
295. Keating GM. Fenofibrate: A Review of its Lipid-Modifying Effects in Dyslipidemia and its Vascular Effects in Type 2 Diabetes Mellitus. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2011 Jun 16.
296. Tsimihodimos V, Liberopoulos E, Elisaf M. Pleiotropic effects of fenofibrate. *Curr Pharm Des*. 2009;15(5):517-28.
297. Koh KK, Han SH, Quon MJ, Yeal Ahn J, Shin EK. Beneficial effects of fenofibrate to improve endothelial dysfunction and raise adiponectin levels in patients with primary hypertriglyceridemia. *Diabetes Care*. 2005 Jun;28(6):1419-24.
298. Gazi IF, Mikhailidis DP. Non-low-density lipoprotein cholesterol-associated actions of ezetimibe: an overview. *Expert Opin Ther Targets*. 2006 Dec;10(6):851-66.
299. Bays H. Ezetimibe. *Expert Opin Investig Drugs*. 2002 Nov;11(11):1587-604.
300. Jankowski P, Loster M, Kawecka-Jaszcz K. Ezetimibe: New perspectives in lipid lowering treatment. *Cardiol J*. 2007;14(3):232-7.
301. Gagne C, Bays HE, Weiss SR, Mata P, Quinto K, Melino M, et al. for the Ezetimibe Study Group. Efficacy and safety of ezetimibe added to ongoing statin therapy for treatment of patients with primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 2002;90:1084-91.
302. Bennett S, Sager P, Lipka L, Melani L, Suresh R, Veltri E. Consistency in efficacy and safety of ezetimibe coadministered with statins for treatment of

hypercholesterolemia in men and women. *J Womens Health (Larchmt)*. 2004;13:1101-7.

303. Ballantyne CM, Blazing MA, King TR, Brady WE, Palmisano J. Efficacy and safety of ezetimibe co-administered with simvastatin compared with atorvastatin in adults with hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 2004;93:1487-94.

304. Davidson MH, Ballantyne CM, Kerzner B, Melani L, Sager PT, Lipka L, et al.; Ezetimibe Study Group. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with statins: randomised, placebo-controlled, blinded experience in 2382 patients with primary hypercholesterolemia. *Int J Clin Pract*. 2004;58:746-55.

305. Pearson TA, Denke MA, McBride PE, Battisti WP, Brady WE, Palmisano J. A community-based, randomized trial of ezetimibe added to statin therapy to attain NCEP ATP III goals for LDL cholesterol in hypercholesterolemic patients: the ezetimibe add-on to statin for effectiveness (EASE) trial. *Mayo Clin Proc*. 2005;80:587-95.

306. Pearson T, Denke M, McBride P, Battisti WP, Brady WE, Palmisano J. Effectiveness of the addition of ezetimibe to ongoing statin therapy in modifying lipid profiles and attaining low-density lipoprotein cholesterol goals in older and elderly patients: subanalyses of data from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Geriatr Pharmacother*. 2005;3:218-28.

307. Lipka L, Sager P, Strony J, Yang B, Suresh R, Veltri E. ; Ezetimibe Study Group. Efficacy and safety of coadministration of ezetimibe and statins in elderly patients with primary hypercholesterolaemia. *Drug Aging*. 2004;21:1025-32.

308. Jurado J, Seip R, Thompson PD. Effectiveness of ezetimibe in clinical practice. *Am J Cardiol*. 2004;93:641-3.

309. Pearson GJ, Francis GA, Romney JS, Gilchrist DM, Opgenorth A, Gyenes GT. The clinical effect and tolerability of ezetimibe in high-risk patients managed in a specialty cardiovascular risk reduction clinic. *Can J Cardiol*. 2006;22:939-45.

310. Patel JV, Hughes EA. Efficacy, safety and LDL-C goal attainment of ezetimibe 10 mg-simvastatin 20 mg vs. placebo-simvastatin 20 mg in UK-based adults with coronary heart disease and hypercholesterolaemia. *Int J Clin Pract*. 2006;60:914-21.

311. Ballantyne CM, Abate N, Yuan Z, King TR, Palmisano J. Dose-comparison study of the combination of ezetimibe and simvastatin (Vytorin) versus atorvastatin in patients with hypercholesterolemia: the Vytorin Versus Atorvastatin (VYVA) study. *Am Heart J*. 2005;149:464-73.

312. Bays HE, Ose L, Fraser N, Tribble DL, Quinto K, Reyes R, et al.; Ezetimibe Study Group. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, factorial design study to evaluate the lipid-altering efficacy and safety profile of the ezetimibe/simvastatin tablet compared with ezetimibe and simvastatin monotherapy in patients with primary hypercholesterolemia. *Clin Ther.* 2004;26:1758-73.
313. Sager PT, Melani L, Lipka L, Strony J, Yang B, Suresh R, et al. Effect of coadministration of ezetimibe and simvastatin on high-sensitivity C-reactive protein. *Am J Cardiol.* 2003;92:1414-8.
314. Sager PT, Capese R, Lipka L, Strony J, Yang B, Suresh R, et al. Effects of ezetimibe coadministered with simvastatin on C-reactive protein in a large cohort of hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis.* 2005;179:361-7.
315. Ballantyne CM, Houry J, Notarbartolo A, Melani L, Lipka LJ, Suresh R, et al. Effect of ezetimibe coadministered with atorvastatin in 628 patients with primary hypercholesterolemia: a prospective, randomized, double-blind trial. *Circulation.* 2003;107:2409-15.
316. Al Badarin FJ, Kullo IJ, Kopecky SL, Thomas RJ. Impact of ezetimibe on atherosclerosis: is the jury still out? *Mayo Clin Proc.* 2009 Apr;84(4):353-61.
317. Pearson TA, Ballantyne CM, Veltri E, Shah A, Bird S, Lin J, et al. Pooled analyses of effects on C-reactive protein and low density lipoprotein cholesterol in placebo-controlled trials of ezetimibe monotherapy or ezetimibe added to baseline statin therapy. *Am J Cardiol.* 2009 Feb 1;103(3):369-74.
318. Kalogirou M, Tsimihodimos V, Elisaf M. Pleiotropic effects of ezetimibe: do they really exist? *Eur J Pharmacol.* 2010 May 10;633(1-3):62-70.
319. Olijhoek JK, Hajer GR, van der Graaf Y, Dallinga-Thie GM, Visseren FL. The effects of low-dose simvastatin and ezetimibe compared to high-dose simvastatin alone on post-fat load endothelial function in patients with metabolic syndrome: a randomized double-blind crossover trial. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2008 Aug;52(2):145-50.
320. Bulut D, Hanefeld C, Bulut-Streich N, Graf C, Mugge A, Spiecker M. Endothelial function in the forearm circulation of patients with the metabolic syndrome- Effect of different lipid-lowering regimens. *Cardiology.* 2005;104:176-80.
321. Fichtlscherer S, Schmidt-Lucke C, Bojunga S, Rossig L, Heeschen C, Dimmeler S, et al. Differential effects of short-term lipid lowering with ezetimibe and statins on endothelial function in patients with CAD: clinical evidence for 'pleiotropic' functions of statin therapy. *Eur Heart J.* 2006;27:1182-90.

322. Dagli N, Yavuzkir M, Karaca I. The effects of high dose pravastatin and low dose pravastatin and ezetimibe combination therapy on lipid, glucose metabolism and inflammation. *Inflammation*. 2007 Dec;30(6):230-5.
323. Deushi M, Nomura M, Kawakami A, Haraguchi M, Ito M, Okazaki M, et al. Ezetimibe improves liver steatosis and insulin resistance in obese rat model of metabolic syndrome. *FEBS letters*. 2007 Dec 11;581(29):5664-70.
324. Gonzalez-Ortiz M, Martinez-Abundis E, Kam-Ramos AM, Hernandez-Salazar E, Ramos-Zavala MG. Effect of ezetimibe on insulin sensitivity and lipid profile in obese and dyslipidaemic patients. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2006 Apr;20(2):143-6.
325. Hussein O, Minasian L, Itzkovich Y, Shestatski K, Solomon L, Zidan J. Ezetimibe's effect on platelet aggregation and LDL tendency to peroxidation in hypercholesterolaemia as monotherapy or in addition to simvastatin. *Br J Clin Pharmacol*. 2008 May;65(5):637-45.
326. Piorkowski M, Fischer S, Stellbaum C, Jaster M, Martus P, Morguet AJ, et al. Treatment with ezetimibe plus low-dose atorvastatin compared with higher-dose atorvastatin alone: is sufficient cholesterol-lowering enough to inhibit platelets? *J Am Coll Cardiol*. 2007 Mar 13;49(10):1035-42.
327. Malmstrom RE, Settergren M, Bohm F, Pernow J, Hjemdahl P. No effect of lipid lowering on platelet activity in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes or impaired glucose tolerance. *Thromb Haemost*. 2009 Jan;101(1):157-64.
328. Parhofer KG. Review of extended-release niacin/laropiprant fixed combination in the treatment of mixed dyslipidemia and primary hypercholesterolemia. *Vasc Health Risk Manag*. 2009;5:901-8.
329. Carlson LA. Nicotinic acid: the broad-spectrum lipid drug. A 50th anniversary review. *J Intern Med*. 2005 Aug;258(2):94-114.
330. Chapman MJ, Le Goff W, Guerin M, Kontush A. Cholesteryl ester transfer protein: at the heart of the action of lipid-modulating therapy with statins, fibrates, niacin, and cholesteryl ester transfer protein inhibitors. *Eur Heart J*. Jan;31(2):149-64.
331. Florentin M, Liberopoulos EN, Kei A, Mikhailidis DP, Elisaf MS. Pleiotropic Effects of Nicotinic Acid: Beyond High Density Lipoprotein Cholesterol Elevation. *Curr Vasc Pharmacol*. 2011 Feb 14.
332. Morrow JD, Awad JA, Oates JA, Roberts LJ, 2nd. Identification of skin as a major site of prostaglandin D2 release following oral administration of niacin in humans. *J Invest Dermatol*. 1992 May;98(5):812-5.

333. Dunn RT, Ford MA, Rindone JP, Kwiecinski FA. Low-Dose Aspirin and Ibuprofen Reduce the Cutaneous Reactions Following Niacin Administration. *Am J Ther.* 1995 Jul;2(7):478-80.
334. Bays HE, Ballantyne C. What's the deal with niacin development: is laropiprant add-on therapy a winning strategy to beat a straight flush? *Curr Opin Lipidol.* 2009 Dec;20(6):467-76.
335. The role of niacin in raising high-density lipoprotein cholesterol to reduce cardiovascular events in patients with atherosclerotic cardiovascular disease and optimally treated low-density lipoprotein cholesterol Rationale and study design. The Atherothrombosis Intervention in Metabolic syndrome with low HDL/high triglycerides: Impact on Global Health outcomes (AIM-HIGH). *Am Heart J.* 2011 Mar;161(3):471-7 e2.
336. Harrison N, Abhyankar B. The mechanism of action of omega-3 fatty acids in secondary prevention post-myocardial infarction. *Curr Med Res Opin.* 2005 Jan;21(1):95-100.
337. Filion KB, El Khoury F, Bielinski M, Schiller I, Dendukuri N, Brophy JM. Omega-3 fatty acids in high-risk cardiovascular patients: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Cardiovasc Disord.* 2010;10:24.
338. Davidson MH, Stein EA, Bays HE, Maki KC, Doyle RT, Shalwitz RA, et al. Efficacy and tolerability of adding prescription omega-3 fatty acids 4 g/d to simvastatin 40 mg/d in hypertriglyceridemic patients: an 8-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Clin Ther.* 2007 Jul;29(7):1354-67.
339. Yokoyama M, Origasa H, Matsuzaki M, Matsuzawa Y, Saito Y, Ishikawa Y, et al. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis. *Lancet.* 2007 Mar 31;369(9567):1090-8.
340. Vrablik M, Prusikova M, Snejdrlova M, Zlatohlavek L. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease risk: do we understand the relationship? *Physiol Res.* 2009;58 Suppl 1:S19-26.
341. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation.* 2002 Nov 19;106(21):2747-57.
342. Rubba P, Marotta G, Gentile M. Efficacy and safety of rosuvastatin in the management of dyslipidemia. *Vasc Health Risk Manag.* 2009;5(1):343-52.

343. Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F, et al. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy--a genomewide study. *N Engl J Med*. 2008 Aug 21;359(8):789-99.
344. Merz T, Fuller SH. Elevated serum transaminase levels resulting from concomitant use of rosuvastatin and amiodarone. *Am J Health Syst Pharm*. 2007 Sep 1;64(17):1818-21.
345. LaRosa JC. Low-density lipoprotein cholesterol reduction: the end is more important than the means. *Am J Cardiol*. 2007 Jul 15;100(2):240-2.
346. Schwartz GG, Bolognese MA, Tremblay BP, Caplan R, Hutchinson H, Raza A, et al. Efficacy and safety of rosuvastatin and atorvastatin in patients with hypercholesterolemia and a high risk of coronary heart disease: a randomized, controlled trial. *Am Heart J*. 2004 Jul;148(1):e4.
347. Crouse JR, 3rd, Raichlen JS, Riley WA, Evans GW, Palmer MK, O'Leary DH, et al. Effect of rosuvastatin on progression of carotid intima-media thickness in low-risk individuals with subclinical atherosclerosis: the METEOR Trial. *JAMA*. 2007 Mar 28;297(12):1344-53.
348. Underhill HR, Yuan C, Zhao XQ, Kraiss LW, Parker DL, Saam T, et al. Effect of rosuvastatin therapy on carotid plaque morphology and composition in moderately hypercholesterolemic patients: a high-resolution magnetic resonance imaging trial. *Am Heart J*. 2008 Mar;155(3):584 e1-8.
349. Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, Libby P, Raichlen JS, Ballantyne CM, et al. Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: the ASTEROID trial. *JAMA*. 2006 Apr 5;295(13):1556-65.
350. Yun KH, Jeong MH, Oh SK, Rhee SJ, Park EM, Lee EM, et al. The beneficial effect of high loading dose of rosuvastatin before percutaneous coronary intervention in patients with acute coronary syndrome. *Int J Cardiol*. 2009 Nov 12;137(3):246-51.
351. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Jr., Kastelein JJ, et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med*. 2008 Nov 20;359(21):2195-207.
352. Hsia J, MacFadyen JG, Monyak J, Ridker PM. Cardiovascular event reduction and adverse events among subjects attaining low-density lipoprotein cholesterol <50 mg/dl with rosuvastatin. The JUPITER trial (Justification for the Use of Statins in Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin). *J Am Coll Cardiol*. 2011 Apr 19;57(16):1666-75.

353. Filippatos T, Milionis HJ. Treatment of hyperlipidaemia with fenofibrate and related fibrates. *Expert Opin Investig Drugs*. 2008 Oct;17(10):1599-614.
354. Tsimihodimos V, Miltiados G, Daskalopoulou SS, Mikhailidis DP, Elisaf MS. Fenofibrate: metabolic and pleiotropic effects. *Curr Vasc Pharmacol*. 2005 Jan;3(1):87-98.
355. Effect of fenofibrate on progression of coronary-artery disease in type 2 diabetes: the Diabetes Atherosclerosis Intervention Study, a randomised study. *Lancet*. 2001 Mar 24;357(9260):905-10.
356. Keech A, Simes RJ, Barter P, Best J, Scott R, Taskinen MR, et al. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. *Lancet*. 2005 Nov 26;366(9500):1849-61.
357. Ginsberg HN. The ACCORD (Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes) Lipid trial: what we learn from subgroup analyses. *Diabetes Care*. 2011 May;34 Suppl 2:S107-8.
358. Keech AC, Mitchell P, Summanen PA, O'Day J, Davis TM, Moffitt MS, et al. Effect of fenofibrate on the need for laser treatment for diabetic retinopathy (FIELD study): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2007 Nov 17;370(9600):1687-97.
359. Chew EY, Ambrosius WT, Davis MD, Danis RP, Gangaputra S, Greven CM, et al. Effects of medical therapies on retinopathy progression in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2010 Jul 15;363(3):233-44.
360. Davis TM, Ting R, Best JD, Donoghoe MW, Drury PL, Sullivan DR, et al. Effects of fenofibrate on renal function in patients with type 2 diabetes mellitus: the Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) Study. *Diabetologia*. 2011 Feb;54(2):280-90.
361. Gazi IF, Daskalopoulou SS, Nair DR, Mikhailidis DP. Effect of ezetimibe in patients who cannot tolerate statins or cannot get to the low density lipoprotein cholesterol target despite taking a statin. *Curr Med Res Opin*. 2007 Sep;23(9):2183-92.
362. Kalogirou M, Tsimihodimos V, Gazi I, Filippatos T, Saougos V, Tselepis AD, et al. Effect of ezetimibe monotherapy on the concentration of lipoprotein subfractions in patients with primary dyslipidaemia. *Curr Med Res Opin*. 2007 May;23(5):1169-76.
363. Simon JS, Karnoub MC, Devlin DJ, Arreaza MG, Qiu P, Monks SA, et al. Sequence variation in NPC1L1 and association with improved LDL-cholesterol lowering in response to ezetimibe treatment. *Genomics*. 2005 Dec;86(6):648-56.



364. Nakou ES, Filippatos TD, Georgoula M, Kiortsis DN, Tselepis AD, Mikhailidis DP, et al. The effect of orlistat and ezetimibe, alone or in combination, on serum LDL and small dense LDL cholesterol levels in overweight and obese patients with hypercholesterolaemia. *Curr Med Res Opin.* 2008 Jul;24(7):1919-29.
365. Kastelein JJ, Akdim F, Stroes ES, Zwinderman AH, Bots ML, Stalenhoef AF, et al. Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* 2008 Apr 3;358(14):1431-43.
366. Fleg JL, Mete M, Howard BV, Umans JG, Roman MJ, Ratner RE, et al. Effect of statins alone versus statins plus ezetimibe on carotid atherosclerosis in type 2 diabetes: the SANDS (Stop Atherosclerosis in Native Diabetics Study) trial. *J Am Coll Cardiol.* 2008 Dec 16;52(25):2198-205.
367. Meaney A, Ceballos G, Asbun J, Solache G, Mendoza E, Vela A, et al. The VYtorin on Carotid intima-media thickness and overall arterial rigidity (VYCTOR) study. *J Clin Pharmacol.* 2009 Jul;49(7):838-47.
368. Taylor AJ, Villines TC, Stanek EJ, Devine PJ, Griffen L, Miller M, et al. Extended-release niacin or ezetimibe and carotid intima-media thickness. *N Engl J Med.* 2009 Nov 26;361(22):2113-22.
369. Rossebo AB, Pedersen TR, Boman K, Brudi P, Chambers JB, Egstrup K, et al. Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. *N Engl J Med.* 2008 Sep 25;359(13):1343-56.
370. Baigent C, Landray MJ, Reith C, Emberson J, Wheeler DC, Tomson C, et al. The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney disease (Study of Heart and Renal Protection): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2011 Jun 25;377(9784):2181-92.
371. Cannon CP, Giugliano RP, Blazing MA, Harrington RA, Peterson JL, Sisk CM, et al. Rationale and design of IMPROVE-IT (IMProved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial): comparison of ezetimibe/simvastatin versus simvastatin monotherapy on cardiovascular outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Am Heart J.* 2008 Nov;156(5):826-32.
372. Benveniste J, Henson PM, Cochrane CG. Leukocyte-dependent histamine release from rabbit platelets. The role of IgE, basophils, and a platelet-activating factor. *J Exp Med.* 1972 Dec 1;136(6):1356-77.
373. Benveniste J. Release of platelet-activating factor by peritoneal and alveolar macrophages. *Monogr Allergy.* 1979;14:138-41.

374. Demopoulos CA, Pinckard RN, Hanahan DJ. Platelet-activating factor. Evidence for 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine as the active component (a new class of lipid chemical mediators). *J Biol Chem.* 1979 Oct 10;254(19):9355-8.
375. Camussi G, Aglietta M, Malavasi F, Tetta C, Piacibello W, Sanavio F, et al. The release of platelet-activating factor from human endothelial cells in culture. *J Immunol.* 1983 Nov;131(5):2397-403.
376. Camussi G, Bussolino F, Aglietta M, Piacibello W, Tetta C, Segoloni G. The release of platelet-activating factor during phagocytosis by polymorphonuclear neutrophils and monocytes. *Adv Exp Med Biol.* 1982;141:259-68.
377. McManus LM. Pathobiology of platelet-activating factors. *Pathol Immunopathol Res.* 1986;5(2):104-17.
378. Wykle RL, Malone B, Snyder F. Enzymatic synthesis of 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphocholine, a hypotensive and platelet-aggregating lipid. *J Biol Chem.* 1980 Nov 10;255(21):10256-60.
379. Snyder F, Lee TC, Blank M, Malone B, Woodard D, Robinson M. Platelet-activating factor: alternate pathways of biosynthesis, mechanism of inactivation, and reacylation of lyso-PAF with arachidonate. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res.* 1985;15:693-6.
380. Renooij W, Snyder F. Biosynthesis of 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphocholine (platelet activating factor and a hypotensive lipid) by cholinephosphotransferase in various rat tissues. *Biochim Biophys Acta.* 1981 Feb 23;663(2):545-56.
381. Lynch JM, Henson PM. The intracellular retention of newly synthesized platelet-activating factor. *J Immunol.* 1986 Oct 15;137(8):2653-61.
382. Shaw JO, Pinckard RN, Ferrigni KS, McManus LM, Hanahan DJ. Activation of human neutrophils with 1-O-hexadecyl/octadecyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine (platelet activating factor). *J Immunol.* 1981 Sep;127(3):1250-5.
383. Hanahan DJ. Platelet activating factor: a biologically active phosphoglyceride. *Annu Rev Biochem.* 1986;55:483-509.
384. McIntyre TM, Zimmerman GA, Satoh K, Prescott SM. Cultured endothelial cells synthesize both platelet-activating factor and prostacyclin in response to histamine, bradykinin, and adenosine triphosphate. *J Clin Invest.* 1985 Jul;76(1):271-80.

385. Zimmerman GA, Lorant DE, McIntyre TM, Prescott SM. Juxtacrine intercellular signaling: another way to do it. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1993 Dec;9(6):573-7.
386. Shimizu T, Honda Z, Nakamura M, Bito H, Izumi T. Platelet-activating factor receptor and signal transduction. *Biochem Pharmacol.* 1992 Sep 25;44(6):1001-8.
387. Heery JM, Kozak M, Stafforini DM, Jones DA, Zimmerman GA, McIntyre TM, et al. Oxidatively modified LDL contains phospholipids with platelet-activating factor-like activity and stimulates the growth of smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1995 Nov;96(5):2322-30.
388. Arai H, Koizumi H, Aoki J, Inoue K. Platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH). *J Biochem.* 2002 May;131(5):635-40.
389. Farr RS, Cox CP, Wardlow ML, Jorgensen R. Preliminary studies of an acid-labile factor (ALF) in human sera that inactivates platelet-activating factor (PAF). *Clin Immunol Immunopathol.* 1980 Mar;15(3):318-30.
390. Blank ML, Lee T, Fitzgerald V, Snyder F. A specific acetylhydrolase for 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine (a hypotensive and platelet-activating lipid). *J Biol Chem.* 1981 Jan 10;256(1):175-8.
391. Tjoelker LW, Wilder C, Eberhardt C, Stafforini DM, Dietsch G, Schimpf B, et al. Anti-inflammatory properties of a platelet-activating factor acetylhydrolase. *Nature.* 1995 Apr 6;374(6522):549-53.
392. Tew DG, Southan C, Rice SQ, Lawrence MP, Li H, Boyd HF, 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 Apr;16(4):591-9.
393. Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Purification and properties. *J Biol Chem.* 1987 Mar 25;262(9):4223-30.
394. Chapus C, Rovey M, Sarda L, Verger R. Minireview on pancreatic lipase and colipase. *Biochimie.* 1988 Sep;70(9):1223-34.
395. McIntyre TM, Prescott SM, Stafforini DM. The emerging roles of PAF acetylhydrolase. *J Lipid Res.* 2008 Oct 6.
396. Tjoelker LW, Eberhardt C, Unger J, Trong HL, Zimmerman GA, McIntyre TM, et al. Plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is a secreted phospholipase A2 with a catalytic triad. *J Biol Chem.* 1995 Oct 27;270(43):25481-7.

397. Samanta U, Bahnon BJ. Crystal structure of human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase: structural implication to lipoprotein binding and catalysis. *J Biol Chem*. 2008 Nov 14;283(46):31617-24.
398. Derewenda ZS, Derewenda U. The structure and function of platelet-activating factor acetylhydrolases. *Cell Mol Life Sci*. 1998 May;54(5):446-55.
399. Derewenda ZS, Derewenda U. Relationships among serine hydrolases: evidence for a common structural motif in triacylglyceride lipases and esterases. *Biochem Cell Biol*. 1991 Dec;69(12):842-51.
400. Stafforini DM. Biology of platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH, lipoprotein associated phospholipase A2). *Cardiovasc Drugs Ther*. 2009 Feb;23(1):73-83.
401. Stafforini DM, Elstad MR, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. Human macrophages secrete platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Biol Chem*. 1990 Jun 15;265(17):9682-7.
402. Suzuki Y, Miwa M, Harada M, Matsumoto M. Release of acetylhydrolase from platelets on aggregation with platelet-activating factor. *Eur J Biochem*. 1988 Feb 15;172(1):117-20.
403. Korth R, Bidault J, Palmantier R, Benveniste J, Ninio E. Human platelets release a paf-acether: acetylhydrolase similar to that in plasma. *Lipids*. 1993 Mar;28(3):193-9.
404. Nakajima K, Murakami M, Yanoshita R, Samejima Y, Karasawa K, Setaka M, et al. Activated mast cells release extracellular type platelet-activating factor acetylhydrolase that contributes to autocrine inactivation of platelet-activating factor. *J Biol Chem*. 1997 Aug 8;272(32):19708-13.
405. Tarbet EB, Stafforini DM, Elstad MR, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM. Liver cells secrete the plasma form of platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Biol Chem*. 1991 Sep 5;266(25):16667-73.
406. Asano K, Okamoto S, Fukunaga K, Shiomi T, Mori T, Iwata M, et al. Cellular source(s) of platelet-activating-factor acetylhydrolase activity in plasma. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999 Aug 2;261(2):511-4.
407. Tsoukatos DC, Brocheriou I, Moussis V, Panopoulou CP, Christofidou ED, Koussissis S, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase and transacetylase activities in human aorta and mammary artery. *J Lipid Res*. 2008 Oct;49(10):2240-9.
408. Svetlov SI, Sturm E, Olson MS, Crawford JM. Hepatic regulation of platelet-activating factor acetylhydrolase and lecithin:cholesterol acyltransferase biliary and

plasma output in rats exposed to bacterial lipopolysaccharide. *Hepatology*. 1999 Jul;30(1):128-36.

409. Lee C, Sigari F, Segrado T, Horkko S, Hama S, Subbaiah PV, 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 Jun;19(6):1437-46.

410. Min JH, Wilder C, Aoki J, Arai H, Inoue K, Paul L, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolases: broad substrate specificity and lipoprotein binding does not modulate the catalytic properties of the plasma enzyme. *Biochemistry*. 2001 Apr 17;40(15):4539-49.

411. Tselepis AD, Dentan C, Karabina SA, Chapman MJ, Ninio E. 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 Oct;15(10):1764-73.

412. Gaubatz JW, Gillard BK, Massey JB, Hoogeveen RC, Huang M, Lloyd EE, et al. Dynamics of dense electronegative low density lipoproteins and their preferential association with lipoprotein phospholipase A(2). *J Lipid Res*. 2007 Feb;48(2):348-57.

413. Stafforini DM, Tjoelker LW, McCormick SP, Vaitkus D, McIntyre TM, Gray PW, et al. Molecular basis of the interaction between plasma platelet-activating factor acetylhydrolase and low density lipoprotein. *J Biol Chem*. 1999 Mar 12;274(11):7018-24.

414. Blencowe C, Hermetter A, Kostner GM, Daigner HP. Enhanced association of platelet-activating factor acetylhydrolase with lipoprotein (a) in comparison with low density lipoprotein. *J Biol Chem*. 1995 Dec 29;270(52):31151-7.

415. Tsimikas S, Tsironis LD, Tselepis AD. New insights into the role of lipoprotein(a)-associated lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007 Oct;27(10):2094-9.

416. Karabina SA, Elisaf MC, Goudevenos J, Siamopoulos KC, Sideris D, Tselepis AD. PAF-acetylhydrolase activity of Lp(a) before and during Cu(2+)-induced oxidative modification in vitro. *Atherosclerosis*. 1996 Aug 23;125(1):121-34.

417. Stafforini DM, McIntyre TM, Carter ME, Prescott SM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Association with lipoprotein particles and role in the degradation of platelet-activating factor. *J Biol Chem*. 1987 Mar 25;262(9):4215-22.

418. Min JH, Jain MK, Wilder C, Paul L, Apitz-Castro R, Aspleaf DC, et al. Membrane-bound plasma platelet activating factor acetylhydrolase acts on substrate in the aqueous phase. *Biochemistry*. 1999 Sep 28;38(39):12935-42.
419. McCall MR, La Belle M, Forte TM, Krauss RM, Takanami Y, Tribble DL. Dissociable and nondissociable forms of platelet-activating factor acetylhydrolase in human plasma LDL: implications for LDL oxidative susceptibility. *Biochim Biophys Acta*. 1999 Jan 29;1437(1):23-36.
420. Gardner AA, Reichert EC, Topham MK, Stafforini DM. Identification of a domain that mediates association of platelet-activating factor acetylhydrolase with high density lipoprotein. *J Biol Chem*. 2008 Jun 20;283(25):17099-106.
421. Stafforini DM, Carter ME, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM. Lipoproteins alter the catalytic behavior of the platelet-activating factor acetylhydrolase in human plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989 Apr;86(7):2393-7.
422. Dentan C, Tselepis AD, Chapman MJ, Ninio E. Pefabloc, 4-[2-aminoethyl]benzenesulfonyl fluoride, is a new, potent nontoxic and irreversible inhibitor of PAF-degrading acetylhydrolase. *Biochim Biophys Acta*. 1996 Feb 16;1299(3):353-7.
423. Stremier KE, Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Oxidatively fragmented phospholipids as substrates. *J Biol Chem*. 1991 Jun 15;266(17):11095-103.
424. Ambrosio G, Oriente A, Napoli C, Palumbo G, Chiariello P, Marone G, et al. Oxygen radicals inhibit human plasma acetylhydrolase, the enzyme that catabolizes platelet-activating factor. *J Clin Invest*. 1994 Jun;93(6):2408-16.
425. Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM. Platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma. *Methods Enzymol*. 1990;187:344-57.
426. Bielicki JK, Knoff LJ, Tribble DL, Forte TM. Relative sensitivities of plasma lecithin:cholesterol acyltransferase, platelet-activating factor acetylhydrolase, and paraoxonase to in vitro gas-phase cigarette smoke exposure. *Atherosclerosis*. 2001 Mar;155(1):71-8.
427. MacRitchie AN, Gardner AA, Prescott SM, Stafforini DM. Molecular basis for susceptibility of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase to oxidative inactivation. *FASEB J*. 2007 Apr;21(4):1164-76.
428. Cao Y, Stafforini DM, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM. Expression of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is transcriptionally regulated by mediators of inflammation. *J Biol Chem*. 1998 Feb 13;273(7):4012-20.

429. Narahara H, Frenkel RA, Johnston JM. Secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase following phorbol ester-stimulated differentiation of HL-60 cells. *Arch Biochem Biophys.* 1993 Mar;301(2):275-81.
430. Wu X, Zimmerman GA, Prescott SM, Stafforini DM. The p38 MAPK pathway mediates transcriptional activation of the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene in macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *J Biol Chem.* 2004 Aug 20;279(34):36158-65.
431. Shi Y, Zhang P, Zhang L, Osman H, Mohler ER, 3rd, Macphee C, et al. Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in leukocyte activation and inflammatory responses. *Atherosclerosis.* 2007 Mar;191(1):54-62.
432. Elstad MR, Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA. Platelet-activating factor acetylhydrolase increases during macrophage differentiation. A novel mechanism that regulates accumulation of platelet-activating factor. *J Biol Chem.* 1989 May 25;264(15):8467-70.
433. Miyaura S, Maki N, Byrd W, Johnston JM. The hormonal regulation of platelet-activating factor acetylhydrolase activity in plasma. *Lipids.* 1991 Dec;26(12):1015-20.
434. Narahara H, Nishioka Y, Johnston JM. Secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase by human decidual macrophages. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993 Nov;77(5):1258-62.
435. 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 Dec;3(4):57-68.
436. Russwurm S, Krause S, Finkelberg L, Ruhling K, Schauer U, Losche W. Generation of reactive oxygen species and activity of platelet-activating factor acetylhydrolase in human monocyte-derived macrophages. *Thromb Res.* 1994 Jun 1;74(5):505-14.
437. Guerra R, Zhao B, Mooser V, Stafforini D, Johnston JM, Cohen JC. Determinants of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase: heritability and relationship to plasma lipoproteins. *J Lipid Res.* 1997 Nov;38(11):2281-8.
438. Tselepis AD, Karabina SA, Stengel D, Piedagnel R, Chapman MJ, Ninio E. N-linked glycosylation of macrophage-derived PAF-AH is a major determinant of enzyme association with plasma HDL. *J Lipid Res.* 2001 Oct;42(10):1645-54.
439. Krieger M, Acton S, Ashkenas J, Pearson A, Penman M, Resnick D. Molecular flypaper, host defense, and atherosclerosis. Structure, binding properties, and

- functions of macrophage scavenger receptors. *J Biol Chem.* 1993 Mar 5;268(7):4569-72.
440. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem.* 1983;52:223-61.
441. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med.* 1989 Apr 6;320(14):915-24.
442. Morel DW, DiCorleto PE, Chisolm GM. Endothelial and smooth muscle cells alter low density lipoprotein in vitro by free radical oxidation. *Arteriosclerosis.* 1984 Jul-Aug;4(4):357-64.
443. Chisolm GM, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radic Biol Med.* 2000 Jun 15;28(12):1815-26.
444. Cushing SD, Berliner JA, Valente AJ, Territo MC, Navab M, Parhami F, et al. Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990 Jul;87(13):5134-8.
445. McMurray HF, Parthasarathy S, Steinberg D. Oxidatively modified low density lipoprotein is a chemoattractant for human T lymphocytes. *J Clin Invest.* 1993 Aug;92(2):1004-8.
446. Ohgushi M, Kugiyama K, Fukunaga K, Murohara T, Sugiyama S, Miyamoto E, et al. Protein kinase C inhibitors prevent impairment of endothelium-dependent relaxation by oxidatively modified LDL. *Arterioscler Thromb.* 1993 Oct;13(10):1525-32.
447. Thomas CE, Jackson RL, Ohlweiler DF, Ku G. Multiple lipid oxidation products in low density lipoproteins induce interleukin-1 beta release from human blood mononuclear cells. *J Lipid Res.* 1994 Mar;35(3):417-27.
448. Palinski W, Rosenfeld ME, Yla-Herttuala S, Gurtner GC, Socher SS, Butler SW, et al. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989 Feb;86(4):1372-6.
449. Xu XP, Meisel SR, Ong JM, Kaul S, Cercek B, Rajavashisth TB, et al. Oxidized low-density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophages. *Circulation.* 1999 Mar 2;99(8):993-8.
450. Hessler JR, Morel DW, Lewis LJ, Chisolm GM. Lipoprotein oxidation and lipoprotein-induced cytotoxicity. *Arteriosclerosis.* 1983 May-Jun;3(3):215-22.



451. Steinbrecher UP, Pritchard PH. Hydrolysis of phosphatidylcholine during LDL oxidation is mediated by platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Lipid Res.* 1989 Mar;30(3):305-15.
452. Tselepis AD, Chapman MJ. Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor acetylhydrolase. *Atheroscler Suppl.* 2002;3:57-68.
453. MacPhee CH, Moores KE, Boyd HF, Dhanak D, Ife RJ, Leach CA, 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 Mar 1;338 ( Pt 2):479-87.
454. Zalewski A, Macphee C. Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis: biology, epidemiology, and possible therapeutic target. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 May;25(5):923-31.
455. Karabina SA, Elisaf M, Bairaktari E, Tzallas C, Siamopoulos KC, Tselepis AD. Increased activity of platelet-activating factor acetylhydrolase in low-density lipoprotein subfractions induces enhanced lysophosphatidylcholine production during oxidation in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest.* 1997;27:595-602.
456. Hirayama T, Ogawa Y, Tobise K, Kikuchi K. Mechanism of endothelium-dependent vasorelaxation evoked by lysophosphatidylcholine. *Hypertens Res.* 1998 Sep;21(3):137-45.
457. Marathe GK, Silva AR, de Castro Faria Neto HC, Tjoelker LW, Prescott SM, Zimmerman GA, et al. Lysophosphatidylcholine and lyso-PAF display PAF-like activity derived from contaminating phospholipids. *J Lipid Res.* 2001 Sep;42(9):1430-7.
458. Karabina SA, Liapikos TA, Grekas G, Goudevenos J, Tselepis AD. Distribution of PAF-acetylhydrolase activity in human plasma low-density lipoprotein subfractions. *Biochim Biophys Acta.* 1994 Jun 23;1213(1):34-8.
459. Carpenter KL, Dennis IF, Challis IR, Osborn DP, Macphee CH, Leake DS, et al. Inhibition of lipoprotein-associated phospholipase A2 diminishes the death-inducing effects of oxidised LDL on human monocyte-macrophages. *FEBS Lett.* 2001 Sep 21;505(3):357-63.
460. Zalewski A, Nelson JJ, Hegg L, Macphee C. Lp-PLA2: a new kid on the block. *Clin Chem.* 2006 Sep;52(9):1645-50.

461. Mannheim D, Herrmann J, Versari D, Gossel M, Meyer FB, McConnell JP, et al. Enhanced expression of Lp-PLA2 and lysophosphatidylcholine in symptomatic carotid atherosclerotic plaques. *Stroke*. 2008 May;39(5):1448-55.
462. Evangelou AM. Platelet-activating factor (PAF): implications for coronary heart and vascular diseases. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1994 Jan;50(1):1-28.
463. Stafforini DM, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM. The platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma prevents oxidative modification of low-density lipoprotein. *Trans Assoc Am Physicians*. 1992;105:44-63.
464. Liapikos TA, Antonopoulou S, Karabina SP, Tsoukatos DC, Demopoulos CA, Tselepis AD. Platelet-activating factor formation during oxidative modification of low-density lipoprotein when PAF-acetylhydrolase has been inactivated. *Biochim Biophys Acta*. 1994 Jun 2;1212(3):353-60.
465. Navab M, Hama SY, Hough GP, Hedrick CC, Sorenson R, La Du BN, et al. High density associated enzymes: their role in vascular biology. *Curr Opin Lipidol*. 1998 Oct;9(5):449-56.
466. Quarck R, De Geest B, Stengel D, Mertens A, Lox M, Theilmeier G, et al. Adenovirus-mediated gene transfer of human platelet-activating factor-acetylhydrolase prevents injury-induced neointima formation and reduces spontaneous atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*. 2001 May 22;103(20):2495-500.
467. Rodrigo L, Mackness B, Durrington PN, Hernandez A, Mackness MI. Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J*. 2001 Feb 15;354(Pt 1):1-7.
468. Kakafika AI, Xenofontos S, Tsimihodimos V, Tambaki AP, Lourida ES, Kalaitzidis R, et al. The PON1 M55L gene polymorphism is associated with reduced HDL-associated PAF-AH activity. *J Lipid Res*. 2003 Oct;44(10):1919-26.
469. Marathe GK, Zimmerman GA, McIntyre TM. Platelet-activating factor acetylhydrolase, and not paraoxonase-1, is the oxidized phospholipid hydrolase of high density lipoprotein particles. *J Biol Chem*. 2003 Feb 7;278(6):3937-47.
470. Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, et al. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature*. 1998 Jul 16;394(6690):284-7.

471. Satoh K, Imaizumi T, Yoshida H, Kawamura Y, Takamatsu S, Takamatsu M, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase in plasma lipoproteins of healthy men and women. *Clin Chim Acta*. 1991 Oct 14;202(1-2):95-103.
472. Kosaka T, Yamaguchi M, Miyanaga K, Mizuno K. Serum platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) activity in more than 3000 healthy Japanese. *Clin Chim Acta*. 2001 Oct;312(1-2):179-83.
473. Brilakis ES, Khera A, McGuire DK, See R, Banerjee S, Murphy SA, et al. Influence of race and sex on lipoprotein-associated phospholipase A2 levels: observations from the Dallas Heart Study. *Atherosclerosis*. 2008 Jul;199(1):110-5.
474. Yasuda K, Johnston JM. The hormonal regulation of platelet-activating factor-acetylhydrolase in the rat. *Endocrinology*. 1992 Feb;130(2):708-16.
475. Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, Holmes SD, Chamberlain P, Macphee CH. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2000 Jun;150(2):413-9.
476. Kujiraoka T, Iwasaki T, Ishihara M, Ito M, Nagano M, Kawaguchi A, et al. Altered distribution of plasma PAF-AH between HDLs and other lipoproteins in hyperlipidemia and diabetes mellitus. *J Lipid Res*. 2003 Oct;44(10):2006-14.
477. Tsimihodimos V, Karabina SA, Tambaki AP, Bairaktari E, Miltiados G, Goudevenos JA, 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 Feb;43(2):256-63.
478. Tsimihodimos V, Karabina SA, Tambaki AP, Bairaktari E, Goudevenos JA, Chapman MJ, et al. Atorvastatin preferentially reduces LDL-associated platelet-activating factor acetylhydrolase activity in dyslipidemias of type IIA and type IIB. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002 Feb 1;22(2):306-11.
479. Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, McMahon AD, Ford I, Cooney J, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med*. 2000 Oct 19;343(16):1148-55.
480. Blake GJ, Dada N, Fox JC, Manson JE, Ridker PM. A prospective evaluation of lipoprotein-associated phospholipase A(2) levels and the risk of future cardiovascular events in women. *J Am Coll Cardiol*. 2001 Nov 1;38(5):1302-6.
481. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Heiss G, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk

for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation*. 2004 Feb 24;109(7):837-42.

482. Koenig W, Khuseyinova N, Lowel H, Trischler G, Meisinger C. Lipoprotein-associated phospholipase A2 adds to risk prediction of incident coronary events by C-reactive protein in apparently healthy middle-aged men from the general population: results from the 14-year follow-up of a large cohort from southern Germany. *Circulation*. 2004 Oct 5;110(14):1903-8.

483. Oei HH, van der Meer IM, Hofman A, Koudstaal PJ, Stijnen T, Breteler MM, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study. *Circulation*. 2005 Feb 8;111(5):570-5.

484. Kiechl S, Willeit J, Mayr M, Viehweider B, Oberhollenzer M, Kronenberg F, et al. Oxidized phospholipids, lipoprotein(a), lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, and 10-year cardiovascular outcomes: prospective results from the Bruneck study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007 Aug;27(8):1788-95.

485. Daniels LB, Laughlin GA, Sarno MJ, Bettencourt R, Wolfert RL, Barrett-Connor E. Lipoprotein-associated phospholipase A2 is an independent predictor of incident coronary heart disease in an apparently healthy older population: the Rancho Bernardo Study. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Mar 4;51(9):913-9.

486. Koenig W, Khuseyinova N. Lipoprotein-associated and secretory phospholipase A2 in cardiovascular disease: the epidemiological evidence. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2009 Feb;23(1):85-92.

487. O'Donoghue M, Morrow DA, Sabatine MS, Murphy SA, McCabe CH, Cannon CP, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and its association with cardiovascular outcomes in patients with acute coronary syndromes in the PROVE IT-TIMI 22 (PRavastatin Or atorVastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis In Myocardial Infarction) trial. *Circulation*. 2006 Apr 11;113(14):1745-52.

488. Oldgren J, James SK, Siegbahn A, Wallentin L. Lipoprotein-associated phospholipase A2 does not predict mortality or new ischaemic events in acute coronary syndrome patients. *Eur Heart J*. 2007 Mar;28(6):699-704.

489. Gerber Y, McConnell JP, Jaffe AS, Weston SA, Killian JM, Roger VL. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and prognosis after myocardial infarction in the community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006 Nov;26(11):2517-22.

490. Mockel M, Muller R, Vollert JO, Muller C, Danne O, Gareis R, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 for early risk stratification in patients with suspected acute coronary syndrome: a multi-marker approach: the North Wuerttemberg and Berlin Infarction Study-II (NOBIS-II). *Clin Res Cardiol.* 2007 Sep;96(9):604-12.
491. Brilakis ES, McConnell JP, Lennon RJ, Elesber AA, Meyer JG, Berger PB. Association of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels with coronary artery disease risk factors, angiographic coronary artery disease, and major adverse events at follow-up. *Eur Heart J.* 2005 Jan;26(2):137-44.
492. Koenig W, Twardella D, Brenner H, Rothenbacher D. Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts future cardiovascular events in patients with coronary heart disease independently of traditional risk factors, markers of inflammation, renal function, and hemodynamic stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006 Jul;26(7):1586-93.
493. Corsetti JP, Rainwater DL, Moss AJ, Zareba W, Sparks CE. High lipoprotein-associated phospholipase A2 is a risk factor for recurrent coronary events in postinfarction patients. *Clin Chem.* 2006 Jul;52(7):1331-8.
494. Sabatine MS, Morrow DA, O'Donoghue M, Jablonksi KA, Rice MM, Solomon S, et al. Prognostic utility of lipoprotein-associated phospholipase A2 for cardiovascular outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007 Nov;27(11):2463-9.
495. Winkler K, Hoffmann MM, Winkelmann BR, Friedrich I, Schafer G, Seelhorst U, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts 5-year cardiac mortality independently of established risk factors and adds prognostic information in patients with low and medium high-sensitivity C-reactive protein (the Ludwigshafen risk and cardiovascular health study). *Clin Chem.* 2007 Aug;53(8):1440-7.
496. Robins SJ, Collins D, Nelson JJ, Bloomfield HE, Asztalos BF. Cardiovascular events with increased lipoprotein-associated phospholipase A(2) and low high-density lipoprotein-cholesterol: the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008 Jun;28(6):1172-8.
497. Hatoum IJ, Hu FB, Nelson JJ, Rimm EB. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and incident coronary heart disease among men and women with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2010 May;59(5):1239-43.
498. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Chambless LE, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein,

and risk for incident ischemic stroke in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Arch Intern Med.* 2005 Nov 28;165(21):2479-84.

499. Wassertheil-Smoller S, Kooperberg C, McGinn AP, Kaplan RC, Hsia J, Hendrix SL, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, hormone use, and the risk of ischemic stroke in postmenopausal women. *Hypertension.* 2008 Apr;51(4):1115-22.

500. Herrmann J, Mannheim D, Wohlerl C, Versari D, Meyer FB, McConnell JP, et al. Expression of lipoprotein-associated phospholipase A(2) in carotid artery plaques predicts long-term cardiac outcome. *Eur Heart J.* 2009 Dec;30(23):2930-8.

501. Elkind MS, Tai W, Coates K, Paik MC, Sacco RL. High-sensitivity C-reactive protein, lipoprotein-associated phospholipase A2, and outcome after ischemic stroke. *Arch Intern Med.* 2006 Oct 23;166(19):2073-80.

502. Elkind MS, Tai W, Coates K, Paik MC, Sacco RL. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and risk of recurrent stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2009;27(1):42-50.

503. Allison MA, Denenberg JO, Nelson JJ, Natarajan L, Criqui MH. The association between lipoprotein-associated phospholipase A2 and cardiovascular disease and total mortality in vascular medicine patients. *J Vasc Surg.* 2007 Sep;46(3):500-6.

504. Raichlin E, McConnell JP, Bae JH, Kremers WK, Lerman A, Frantz RP. Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts progression of cardiac allograft vasculopathy and increased risk of cardiovascular events in heart transplant patients. *Transplantation.* 2008 Apr 15;85(7):963-8.

505. Garza CA, Montori VM, McConnell JP, Somers VK, Kullo IJ, Lopez-Jimenez F. Association between lipoprotein-associated phospholipase A2 and cardiovascular disease: a systematic review. *Mayo Clin Proc.* 2007 Feb;82(2):159-65.

506. Davidson MH, Corson MA, Alberts MJ, Anderson JL, Gorelick PB, Jones PH, et al. Consensus panel recommendation for incorporating lipoprotein-associated phospholipase A2 testing into cardiovascular disease risk assessment guidelines. *Am J Cardiol.* 2008 Jun 16;101(12A):51F-7F.

507. Mohler ER, 3rd, Ballantyne CM, Davidson MH, Hanefeld M, Ruilope LM, Johnson JL, et al. The effect of darapladib on plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and cardiovascular biomarkers in patients with stable coronary heart disease or coronary heart disease risk equivalent: the results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Am Coll Cardiol.* 2008 Apr 29;51(17):1632-41.

508. Tsimihodimos V, Karabina SA, Tambaki AP, Bairaktari E, Goudevenos JA, Chapman MJ, et al. Atorvastatin preferentially reduces LDL-associated platelet-activating factor acetylhydrolase activity in dyslipidemias of type IIA and type IIB. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:306-11.
509. Tsimihodimos V, Kakafika A, Tambaki AP, Bairaktari E, Chapman MJ, Elisaf M, et al. Fenofibrate induces HDL-associated PAF-AH but attenuates enzyme activity associated with apoB-containing lipoproteins. *J Lipid Res.* 2003 May;44(5):927-34.
510. Kostapanos MS, Milionis HJ, Filippatos TD, Nakou ES, Bairaktari ET, Tselepis AD, et al. A 12-week, prospective, open-label analysis of the effect of rosuvastatin on triglyceride-rich lipoprotein metabolism in patients with primary dyslipidemia. *Clin Ther.* 2007 Jul;29(7):1403-14.
511. Mora S, Glynn RJ, Hsia J, MacFadyen JG, Genest J, Ridker PM. Statins for the primary prevention of cardiovascular events in women with elevated high-sensitivity C-reactive protein or dyslipidemia: results from the Justification for the Use of Statins in Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin (JUPITER) and meta-analysis of women from primary prevention trials. *Circulation.* 2010 Mar 9;121(9):1069-77.
512. Okada K, Yagyu H, Kotani K, Miyamoto M, Osuga J, Nagasaka S, et al. Lipid-lowering effects of ezetimibe for hypercholesterolemic patients with and without type 2 diabetes mellitus. *Endocr J.* 2010;57(10):903-8.
513. Rosenson RS. Fenofibrate: treatment of hyperlipidemia and beyond. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2008 Nov;6(10):1319-30.
514. Tsimihodimos V, Miltiados G, Daskalopoulou SS, Mikhailidis DP, Elisaf MS. Fenofibrate: metabolic and pleiotropic effects. *Curr Vasc Pharmacol.* 2005;3:87-98.
515. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, Boren J, Andreotti F, Watts GF, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J.* 2010 Dec;31(23):2844-53.
516. Gazi IF, Tsimihodimos V, Tselepis AD, Elisaf M, Mikhailidis DP. Clinical importance and therapeutic modulation of small dense low-density lipoprotein particles. *Expert Opin Biol Ther.* 2007 Jan;7(1):53-72.
517. Choi CU, Seo HS, Lee EM, Shin SY, Choi UJ, Na JO, et al. Statins do not decrease small, dense low-density lipoprotein. *Tex Heart Inst J.* 2010;37(4):421-8.
518. Ai M, Otokozawa S, Asztalos BF, Nakajima K, Stein E, Jones PH, et al. Effects of maximal doses of atorvastatin versus rosuvastatin on small dense low-density lipoprotein cholesterol levels. *Am J Cardiol.* 2008 Feb 1;101(3):315-8.

519. Kostapanos MS, Milionis HJ, Lagos KG, Rizos CB, Tselepis AD, Elisaf MS. Baseline triglyceride levels and insulin sensitivity are major determinants of the increase of LDL particle size and buoyancy induced by rosuvastatin treatment in patients with primary hyperlipidemia. *Eur J Pharmacol.* 2008 Aug 20;590(1-3):327-32.
520. Zhang B, Matsunaga A, Rainwater DL, Miura S, Noda K, Nishikawa H, et al. Effects of rosuvastatin on electronegative LDL as characterized by capillary isotachopheresis: the ROSARY Study. *J Lipid Res.* 2009 Sep;50(9):1832-41.
521. Tribble DL, Farnier M, Macdonell G, Perevozskaya I, Davies MJ, Gumbiner B, et al. Effects of fenofibrate and ezetimibe, both as monotherapy and in coadministration, on cholesterol mass within lipoprotein subfractions and low-density lipoprotein peak particle size in patients with mixed hyperlipidemia. *Metabolism.* 2008 Jun;57(6):796-801.
522. Ose L, Reyes R, Johnson-Levonas AO, Sapre A, Tribble DL, Musliner T. Effects of ezetimibe/simvastatin on lipoprotein subfractions in patients with primary hypercholesterolemia: an exploratory analysis of archived samples using two commercially available techniques. *Clin Ther.* 2007 Nov;29(11):2419-32.
523. Florentin M, Tselepis AD, Elisaf MS, Rizos CV, Mikhailidis DP, Liberopoulos EN. Effect of non-statin lipid lowering and anti-obesity drugs on LDL subfractions in patients with mixed dyslipidaemia. *Curr Vasc Pharmacol.* 2010 Nov;8(6):820-30.
524. Rizzo M, Rini GB, Spinass GA, Berneis K. The effects of ezetimibe on LDL-cholesterol: quantitative or qualitative changes? *Atherosclerosis.* 2009 Jun;204(2):330-3.
525. Berneis K, Rizzo M, Berthold HK, Spinass GA, Krone W, Gouni-Berthold I. Ezetimibe alone or in combination with simvastatin increases small dense low-density lipoproteins in healthy men: a randomized trial. *Eur Heart J.* 2010 Jul;31(13):1633-9.
526. May HT, Anderson JL, Pearson RR, Jensen JR, Horne BD, Lavasani F, et al. Comparison of effects of simvastatin alone versus fenofibrate alone versus simvastatin plus fenofibrate on lipoprotein subparticle profiles in diabetic patients with mixed dyslipidemia (from the Diabetes and Combined Lipid Therapy Regimen study). *Am J Cardiol.* 2008 Feb 15;101(4):486-9.
527. Ansquer JC, Bekaert I, Guy M, Hanefeld M, Simon A. Efficacy and safety of coadministration of fenofibrate and ezetimibe compared with each as monotherapy in patients with type IIb dyslipidemia and features of the metabolic syndrome: a



prospective, randomized, double-blind, three-parallel arm, multicenter, comparative study. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2009;9(2):91-101.

528. Miyazaki T, Shimada K, Miyauchi K, Kume A, Tanimoto K, Kiyonagi T, et al. Effects of fenofibrate on lipid profiles, cholesterol ester transfer activity, and in-stent intimal hyperplasia in patients after elective coronary stenting. *Lipids Health Dis*. 2010;9:122.

529. Filippatos TD, Gazi IF, Liberopoulos EN, Athyros VG, Elisaf MS, Tselepis AD, et al. The effect of orlistat and fenofibrate, alone or in combination, on small dense LDL and lipoprotein-associated phospholipase A2 in obese patients with metabolic syndrome. *Atherosclerosis*. 2007 Aug;193(2):428-37.

530. Florentin M, Liberopoulos EN, Wierzbicki AS, Mikhailidis DP. Multiple actions of high-density lipoprotein. *Curr Opin Cardiol*. 2008 Jul;23(4):370-8.

531. Asztalos BF, Cupples LA, Demissie S, Horvath KV, Cox CE, Batista MC, et al. High-density lipoprotein subpopulation profile and coronary heart disease prevalence in male participants of the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004 Nov;24(11):2181-7.

532. Otvos JD, Collins D, Freedman DS, Shalurova I, Schaefer EJ, McNamara JR, et al. Low-density lipoprotein and high-density lipoprotein particle subclasses predict coronary events and are favorably changed by gemfibrozil therapy in the Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial. *Circulation*. 2006 Mar 28;113(12):1556-63.

533. Athyros VG, Kakafika AI, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Do we need to consider inflammatory markers when we treat atherosclerotic disease? *Atherosclerosis*. 2008 Sep;200(1):1-12.

534. Kostapanos MS, Milionis HJ, Filippatos TD, Christogiannis LG, Bairaktari ET, Tselepis AD, et al. Dose-dependent effect of rosuvastatin treatment on HDL-subfraction phenotype in patients with primary hyperlipidemia. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2009 Mar;14(1):5-13.

535. Ooi EM, Watts GF, Nestel PJ, Sviridov D, Hoang A, Barrett PH. Dose-dependent regulation of high-density lipoprotein metabolism with rosuvastatin in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Feb;93(2):430-7.

536. Asztalos BF, Le Maulf F, Dallal GE, Stein E, Jones PH, Horvath KV, et al. Comparison of the effects of high doses of rosuvastatin versus atorvastatin on the subpopulations of high-density lipoproteins. *Am J Cardiol*. 2007 Mar 1;99(5):681-5.

537. Nakou ES, Filippatos TD, Kiortsis DN, Derdemezis CS, Tselepis AD, Mikhailidis DP, et al. The effects of ezetimibe and orlistat, alone or in combination, on high-density lipoprotein (HDL) subclasses and HDL-associated enzyme activities in overweight and obese patients with hyperlipidaemia. *Expert Opin Pharmacother*. 2008 Dec;9(18):3151-8.
538. Hirano T, Nohtomi K, Nakanishi N, Watanabe T, Hyodo T, Taira T. Ezetimibe decreases serum amyloid A levels in HDL3 in hemodialysis patients. *Clin Nephrol*. 2010 Oct;74(4):282-7.
539. Ikewaki K, Tohyama J, Nakata Y, Wakikawa T, Kido T, Mochizuki S. Fenofibrate effectively reduces remnants, and small dense LDL, and increases HDL particle number in hypertriglyceridemic men - a nuclear magnetic resonance study. *J Atheroscler Thromb*. 2004;11(5):278-85.
540. Sasaki J, Yamamoto K, Ageta M. Effects of fenofibrate on high-density lipoprotein particle size in patients with hyperlipidemia: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter, crossover study. *Clin Ther*. 2002 Oct;24(10):1614-26.
541. Filippatos TD, Liberopoulos EN, Kostapanos M, Gazi IF, Papavasiliou EC, Kiortsis DN, et al. The effects of orlistat and fenofibrate, alone or in combination, on high-density lipoprotein subfractions and pre-beta1-HDL levels in obese patients with metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab*. 2008 Jun;10(6):476-83.
542. Bragt MC, Mensink RP. Comparison of the effects of n-3 long chain polyunsaturated fatty acids and fenofibrate on markers of inflammation and vascular function, and on the serum lipoprotein profile in overweight and obese subjects. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2011 Mar 21.
543. Tellis CC, Tselepis AD. The role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis may depend on its lipoprotein carrier in plasma. *Biochim Biophys Acta*. 2009 May;1791(5):327-38.
544. Gazi I, Lourida ES, Filippatos T, Tsimihodimos V, Elisaf M, Tselepis AD. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is a marker of small, dense LDL particles in human plasma. *Clin Chem*. 2005 Dec;51(12):2264-73.
545. Rosenson RS. Fenofibrate reduces lipoprotein associated phospholipase A2 mass and oxidative lipids in hypertriglyceridemic subjects with the metabolic syndrome. *Am Heart J*. 2008 Mar;155(3):499 e9-16.

546. Lund-Katz S, Laplaud PM, Phillips MC, Chapman MJ. Apolipoprotein B-100 conformation and particle surface charge in human LDL subspecies: implication for LDL receptor interaction. *Biochemistry*. 1998 Sep 15;37(37):12867-74.
547. Fruchart JC. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  activation and high-density lipoprotein metabolism. *Am J Cardiol*. 2001 Dec 20;88(12A):24N-9N.
548. Elisaf M, Tselepis AD. Effect of hypolipidemic drugs on lipoprotein-associated platelet activating factor acetylhydrolase. Implication for atherosclerosis. *Biochem Pharmacol*. 2003;66:2069-73.
549. Tambaki AP, Rizos E, Tsimihodimos V, Tselepis AD, Elisaf M. Effects of antihypertensive and hypolipidemic drugs on plasma and high-density lipoprotein-associated platelet activating factor-acetylhydrolase activity. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2004 Jun;9(2):91-5.
550. Winkler K, Abletshauser C, Friedrich I, Hoffmann MM, Wieland H, Marz W. Fluvastatin slow-release lowers platelet-activating factor acetyl hydrolase activity: a placebo-controlled trial in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Mar;89(3):1153-9.
551. Karalis IK, Bergheanu SC, Wolterbeek R, Dallinga-Thie GM, Hattori H, van Tol A, et al. Effect of increasing doses of Rosuvastatin and Atorvastatin on apolipoproteins, enzymes and lipid transfer proteins involved in lipoprotein metabolism and inflammatory parameters. *Curr Med Res Opin*. 2010 Oct;26(10):2301-13.
552. Tsimihodimos V, Karabina SA, Tambaki AP, Bairaktari E, Goudevenos JA, Chapman MJ, et al. Atorvastatin preferentially reduces LDL-associated platelet-activating factor acetylhydrolase activity in dyslipidemia of type IIA and type IIB. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:306-11.
553. Schaefer EJ, McNamara JR, Asztalos BF, Tayler T, Daly JA, Gleason JL, et al. Effects of atorvastatin versus other statins on fasting and postprandial C-reactive protein and lipoprotein-associated phospholipase A2 in patients with coronary heart disease versus control subjects. *Am J Cardiol*. 2005 May 1;95(9):1025-32.
554. Kudolo GB, Bressler P, DeFronzo RA. Plasma PAF acetylhydrolase in non-insulin dependent diabetes mellitus and obesity: effect of hyperinsulinemia and lovastatin treatment. *J Lipid Mediat Cell Signal*. 1997 Nov;17(2):97-113.
555. Zhang B, Fan P, Shimoji E, Itabe H, Miura S, Uehara Y, et al. Modulating effects of cholesterol feeding and simvastatin treatment on platelet-activating factor

acetylhydrolase activity and lysophosphatidylcholine concentration. *Atherosclerosis*. 2006 Jun;186(2):291-301.

556. Albert MA, Glynn RJ, Wolfert RL, Ridker PM. The effect of statin therapy on lipoprotein associated phospholipase A2 levels. *Atherosclerosis*. 2005 Sep;182(1):193-8.

557. van Heek M, Farley C, Compton DS, Hoos L, Alton KB, Sybertz EJ, et al. Comparison of the activity and disposition of the novel cholesterol absorption inhibitor, SCH58235, and its glucuronide, SCH60663. *Br J Pharmacol*. 2000 Apr;129(8):1748-54.

558. Knopp RH, Gitter H, Truitt T, Bays H, Manion CV, Lipka LJ, et al. Effects of ezetimibe, a new cholesterol absorption inhibitor, on plasma lipids in patients with primary hypercholesterolemia. *Eur Heart J*. 2003 Apr;24(8):729-41.

559. Lee SH, Kang SM, Park S, Jang Y, Chung N, Choi D. The effects of statin monotherapy and low-dose statin/ezetimibe on lipoprotein-associated phospholipase A. *Clin Cardiol*. 2011 Feb;34(2):108-12.

560. Kougias P, Chai H, Lin PH, Lumsden AB, Yao Q, Chen C. Lysophosphatidylcholine and secretory phospholipase A2 in vascular disease: mediators of endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Med Sci Monit*. 2006 Jan;12(1):RA5-16.

561. Lavi S, McConnell JP, Rihal CS, Prasad A, Mathew V, Lerman LO, et al. Local production of lipoprotein-associated phospholipase A2 and lysophosphatidylcholine in the coronary circulation: association with early coronary atherosclerosis and endothelial dysfunction in humans. *Circulation*. 2007 May 29;115(21):2715-21.