

Antiaterogénny účinok HDL subpopulácií u jedincov s novodiagnostikovanou končatinovocievnu arteriou chorobou

M. Kaško¹, P. Gavorník¹, K. Gruber², S. Oravec¹, A. Dukát¹

¹ II. interná klinika Lekárskej fakulty UK a UN Bratislava, Slovenská republika, prednosta doc. MUDr. Ľudovít Gašpar, CSc.

² Interná klinika Landeskrankenhaus, Thermenregion Baden, Viedeň, Rakúsko, prednosta Univ. Doc. Dr. Med. Johann Pidlich

Súhrn: *Východiská:* Kardiovaskulárne ochorenia sú najväčším bremenom morbiditu a mortality všeobecnej populácie na Slovensku. Jednou z hlavných príčin je aterosklerotické postihnutie cievného systému – dyslipidémia, ktorého následkom je nezriedkavé ochorenie s často mutilujúcim dôsledkom na zdravie jedinca – končatinovocievna arteriou (ischemická) choroba. Posledné dostupné dáta poukazujú na antagonistické účinky jednotlivých subpopulácií HDL (high-density lipoprotein) cholesterolu v etiopatogenéze aterosklerózy. Zatiaľ čo veľké a intermediálne HDL častice sú všeobecne považované za antiaterogénne, pravdepodobná aterogenita malých HDL častíc je predmetom širokého záujmu odbornej verejnosti. Podľa dostupných informácií doposiaľ neboli preskúmané subpopulácie HDL častíc u pacientov s končatinovocievnu arteriou ochorením. Vďaka pokroku v biochemickej analýze lipoproteínov plazmy vieme pomocou systému Lipoprint HDL kvalitatívne i kvantitatívne určiť jednotlivé subpopulácie HDL spektra a na základe toho vyhodnotiť aterogenitu plazmy. *Cieľ:* Vyhodnotiť vzťah subpopulácií vysokodenzných lipoproteínov a aterosklerotického poškodenia u jedincov s končatinovocievnu arteriou (ischemickou) chorobou. *Metódy:* Zisťovala sa koncentrácia hlavných subfrakcií HDL-cholesterolu u 48 jedincov (29 mužov vo veku 56 ± 9 a 19 žien vo veku 61 ± 7) s novodiagnostikovaným končatinovocievnu arteriou ochorením v porovnaní s kontrolnou skupinou (24 mužov vo veku 56 ± 12 , 24 žien vo veku 57 ± 13). Na kvantitatívnu analýzu subpopulácií HDL-cholesterolu sa použila inovatívna metóda elektroforézy na polyakrylovom géli systému Lipoprint HDL, Quantimetrix. Skupina s novodiagnostikovaným arteriou ochorením bola tvorená nefajčiarmi, nediabetikmi a bez hypolipidemickej liečby v anamnéze. Kontrolná skupina bola zostavená zo zdravých normolipemických dobrovoľníkov. *Výsledky:* V skupine pacientov postihnutých končatinovocievnu arteriou ochorením bol pozorovaný signifikantný pokles ako celkového HDL-cholesterolu ($p < 0,0002$), tak i intermediálnych častíc HDL spektra ($p < 0,03$). Zároveň sa zistil signifikantne zvýšený podiel malých HDL častíc ($p < 0,01$) v tejto skupine. Takýto nález podporuje koncepciu proaterogénneho pôsobenia malých (vysokodenzných) lipoproteínových častíc. *Záver:* Metóda Lipoprint HDL posúva diagnostiku aterosklerotického postihnutia výrazne vpred. A to možnosťou identifikovať subpopulácie HDL-cholesterolu, ktoré nesú proaterogénny účinok, a naopak, subpopulácie HDL častíc s výrazným antiaterogénnym účinkom. To znamená, že aj osoby s vysokou hodnotou HDL-cholesterolu môžu byť ohrozené viac ako osoby s nižšou hodnotou HDL-cholesterolu. Potvrdil sa nielen signifikantne protektívny účinok väčších – intermediálnych častíc HDL, ale navyše sa ukázal signifikantne proaterogénny účinok malých HDL častíc. Prínosom práce je poukázanie na prítomnosť aterogénneho HDL lipoproteínového profilu u pacientov s končatinovocievnu arteriou (ischemickou) chorobou.

Kľúčové slová: kardiovaskulárne ochorenia – končatinovocievna arteriou (ischemická) choroba – HDL-cholesterol – malé HDL častice – proaterogénne malé vysokodenzné lipoproteínové častice

Antiatherogenic effect of HDL subpopulations in patients with newly diagnosed peripheral artery disease

Summary: *Objective:* To assess the relationship of high-density lipoprotein subfractions to newly diagnosed lower extremity artery disease (LEAD) in individuals without diabetes mellitus (DM). *Background:* The high-density lipoprotein (HDL) family forms a protective part of plasma lipoproteins. It consists of large HDL, intermediate HDL, and small HDL subclasses. The large HDL and intermediate HDL subclasses are widely considered as anti-atherogenic parts of the HDL family. The atherogenicity of the small HDL subclass is currently the subject of wide interest. The association of HDL cholesterol (HDL-C) spectrum abnormality with lower extremity artery disease has not been investigated yet. In the patients with this vascular impairment (LEAD) were identified the HDL subclasses. Patients with peripheral artery disease – lower extremity artery disease as a consequence of atherosclerosis may be often affected by lower extremity pain, worsen ambulation and in addition mutilating wounds. In addition patients with LEAD are affected by normal-to-high HDL atherogenic dyslipidemia. Thus, there is significantly higher risk of cardiovascular morbidity and mortality. *Methods:* This clinical study involving 96 subjects: 48 were newly diagnosed LEAD patients (29 men of average age 56 ± 9 , 19 women of average age 61 ± 7) and no DM anamnesis and were not on hypolipidemic therapy; another 48 subjects – control group (24 men of average age 56 ± 12 , 24 women of average age 57 ± 13) were without clinical presentation of LEAD and were normolipidemic. Quantitative and qualitative analysis of HDL subclasses were performed by an innovative electrophoresis method on polyacrylamide gel (PAGE), the Lipoprint HDL system, Quantimetrix. *Results:* In LEAD patients, HDL-C levels as well as intermediate HDL subfraction levels were significantly decreased ($p < 0.0001$ and $p < 0.03$ respectively). The small HDL particles subfraction was significantly higher ($p < 0.01$). *Conclusion:* These findings pointed out that the reduction of HDL-C and intermediate HDL subpopulation and even the increase of small HDL subclass may be considered as important predictors of cardiovascular events in newly diagnosed LEAD. There are undisputable advantages of using Lipoprint HDL to identify HDL subfractions. The presence of a high concentration of small HDL particles in patients with LEAD emphasize that the atherogenic subclass of HDL family is comparable with small HDL.

Keywords: cardiovascular diseases – peripheral artery disease – lower extremity artery disease – HDL cholesterol – small HDL particles – pro-atherogenic effect of small high-density lipoprotein particles

Úvod

Lipoproteíny plazmy predstavujú micelárne komplexy lipidov s proteínmi tvorené heterogénnou zmesou takýchto častíc o špecifickej veľkosti, hustote a flotálite [1–3]. Fyziologicky sprostredkovávajú transport tukov medzi orgánmi a tkanivami, avšak pri nerovnovážnom zastúpení jednotlivých frakcií, respektíve porušenom metabolizme lipidov sa výrazne podieľajú na degeneratívnom procese v cievach – ateroschéze. Nízka hladina lipoproteínov o vysokej hustote (high-density lipoprotein – HDL) predstavuje jeden z najzávažnejších kardiovaskulárnych rizikových faktorov – známy tiež ako reziduálne riziko a podieľa sa na ateroschéznej dyslipidémii [4], ktorá predstavuje poruchu optimálnej rovnováhy spektra lipidov v cirkulácii (tab. 1) charakterizovanú nízkym HDL-cholesterolom, vysokými triacylglycerolmi (TAG) a posunom zloženia LDL-cholesterolu k malým denzným časticiam. Postihuje viac ako 30 % dospelých populácií, čo je podmienené častým výskytom obezity, inzulinovej rezistencie, fyzickej inaktivity, diabetes mellitus a metabolického syndrómu. Podľa štúdie INTERHEART [5] predstavuje dyslipidémia až polovicu celkového vaskulárneho rizika v populácii, pričom treba zdôrazniť, že nielen na Slovensku, ale aj v Európe sa na celkovej mortalite

a morbidite všeobecného obyvateľstva najviac podieľajú kardiovaskulárne ochorenia [6,7]. HDL častice tak môžu chrániť pred kardiovaskulárnymi ochoreniami ako mužov, tak i ženy, nezávisle od veku a ostatných rizikových faktorov. Táto ochrana je sprostredkovaná antiaterogénnym a taktiež antioxidáčnym účinkom HDL častíc [8–10].

Je známe, že HDL v plazme zahŕňa množstvo subpopulácií častíc o rôznej veľkosti, hustote, rôzneho zloženia, a tak je možné, že sa subfrakcie HDL vo svojich protektívnych účinkoch práve pre svoju heterogenitu budú líšiť. HDL subfrakcia bohatá na lipoproteín A-I (LpA-I) má väčší efekt spätného transportu cholesterolu [11]. Naopak lipoproteín A-II (LpA-II) vykazuje tento efekt v značne menšej miere a dokonca v určitých prípadoch sa ukázal byť asociovaný s vyšším výskytom kardiovaskulárnych ochorení [12,13]. Apolipoproteín A (apo A) je najzastúpenejší proteínový podiel HDL častice, pričom práve Apo A-I, ktorý sa najviac účastní tvorby veľkých a stredne veľkých častíc (lipoproteíny A-I), sa výrazne podieľa aktiváciou lecitín-cholesterol acyltransferázy (Lecithin-cholesterol acyltransferase – LCAT) na transporte cholesterolu z periférie do pečene [11,14] a ako súčasť cholesteryl-ester transferového proteínu (CETP) má antitrombotický

a protizápalový účinok [9,10]. Podľa dostupnej literatúry veľké a intermedialne HDL častice vykazujú významný antiaterogénny efekt. Naopak, malé sú považované za aterogénne [15–18].

Vzhľadom k uvedenému najčastejšie používaná hodnota celkového cholesterolu, ktorá je síce odporúčaná na výpočet totálneho kardiovaskulárneho rizika systémom SCORE, môže byť zavádzajúca.

Referenčné hodnoty krvných lipidov [19] sú na základe evidence-based medicine dané len pre celkový cholesterol a LDL-cholesterol, a zároveň ani pri veľmi nízkych hodnotách nebola preukázaná negatívna korelácia s kardiovaskulárnym rizikom. V prípade HDL-cholesterolu a triacylglycerolov sa zohľadňuje ich vzťah ku globálnemu kardiovaskulárnemu riziku, a síce, že zvýšená hladina TAG a znížené HDL sú nezávislými rizikovými faktormi kardiovaskulárnych ochorení.

Jednou z najčastejších komplikácií aterosklerózy [20] je práve končatinovocievna artériová (ischemická) choroba, alebo tiež extremovaskulárna artériová choroba, pre ktorú je aterogénna dyslipoproteinémia iniciátorom i promotorom. Extremovaskulárna artériová choroba dolných končatín je významnou orgánovovaskulárnou artériovou chorobou, ktorá je významným prediktorom kardiovas-

Tab. 1. Tri hlavné triedy lipoproteínov v krvi a ich vzťah ku kardiovaskulárnemu systému.

Hlavné triedy lipoproteínov	Charakteristika	Vplyv na KVS
lipoproteíny veľmi nízkej hustoty (VLDL)	sférické lipido-proteínové komplexy veľmi veľkého priemeru a druhej najmenšej denzity (pomer hmoty k objemu); ich zloženie je ~10 % apolipoproteín, ~40 % cholesterol, ~50 % TAG a PL; ich fyziologickou funkciou je transport TAG a iných lipidov pečene a enterocytov do ostatných tkanív	zvýšená hladina VLDL je asociovaná s nárastom rizika kardiovaskulárneho ochorenia
lipoproteíny nízkej hustoty (LDL)	sférické lipido-proteínové komplexy veľkého priemeru a štvrtej najmenšej denzity; tvoria 40–60 % lipoproteínov plazmy; ich zloženie je ~25 % apolipoproteín, ~45 % cholesterol, ~30 % TAG a PL; ich fyziologickou funkciou je transport cholesterolu a iných lipidov pečene a enterocytov do ostatných tkanív	zvýšená hladina LDL je asociovaná s nárastom rizika kardiovaskulárneho ochorenia
lipoproteíny vysokej hustoty (HDL)	sférické lipido-proteínové komplexy malého priemeru a najvyššej denzity; tvoria 40–60 % lipoproteínov plazmy; ich zloženie je ~45 % apolipoproteín, ~25 % cholesterol, ~30 % TAG a PL; ich fyziologickou úlohou je transport cholesterolu a iných lipidov tkanív do pečene	hladina HDL obrátene koreluje so vzrastajúcim kardiovaskulárnym rizikom

KVS – kardiovaskulárny systém, VLDL – very low-density lipoprotein, TAG – triacylglyceroly, LDL – low-density lipoprotein, HDL – high-density lipoprotein, PL – fosfolipidy

kulárnych, cerebrovaskulárnych, renovaskulárnych a ďalších orgánovovaskulárnych chorôb [21–25]. Spôsobuje poškodenie tkanív dolných končatín dôsledkom nedostatočného prekrvenia, a teda nedostatočného prívodu kyslíku a živín potrebných k ich fyziologickej funkcii. Pre postihnutého nesie so sebou značnú záťaž v zmysle bolesti, rizika vzniku defektov postihnutých tkanív, až straty končatiny. Cieľom predkladanej klinickej štúdie je vyhodnotiť vzťah subpopulácií vysokodenzných lipoproteínov a aterosklerotického poškodenia u jedincov s končatinovocievnu artériovou chorobou.

Metodika a súbor pacientov

Pozorovaný súbor obdobného veku a pohlavia (tab. 2) tvorili pacienti s novozistenou, klinicky manifestnou končatinovocievnu chorobou dolných končatín (48 osôb) v kaudikálnom štádiu – C2 podľa Sekcie angiológov Slovenskej lekárskej komory [21–24]; II. štádia podľa Fontainea [5], kombinovanej etiopatogenézy na podklade aterosklerózy (E1) a arteriosklerózy (E2), zmiešaný proximálny a mikrovaskulárny typ (AAP; AAMV) v druhom patofyziologickom štádiu vaskulárneho poškodenia (P2). Z nich bolo 29 mužov (priemerný vek 56 ± 9) a 19 žien (priemerný vek 61 ± 7). Všetci boli nefajčiari, bez diabetes mellitus a bez hypolipidemické farmakoterapie v liekovej anamnéze. Diagnóza končatinovocievnej (extremitovaskulárnej) artériovej ischemickej choroby bola stanovená na základe anamnézy, základného a funkčného fyzikálneho vyšetrenia (polohový námahový test podľa Ratschowa v modifikácii podľa Linhartu). Z pomocných vyšetrení sa určoval členkovo-brachiálny index [25]. V plazme sa kvantitatívne a kvalitatívne analyzovali subfrakcie HDL-cholesterolu. Kontrolnú skupinu (48 osôb) tvorili normolipemickí jedinci, bez známk kardiovaskulárneho ochorenia klinickým či laboratórnym vyšetrením. Z nich bolo 24 mužov

Tab. 2. Demografická charakteristika jedincov s KICH a kontrolného súboru.

	Jedinci s KICH (48)	Kontrola (48)	p
vek	58 ± 8	56 ± 13	0,46
pohlavie (M/Ž)	29/19	24/24	0,15

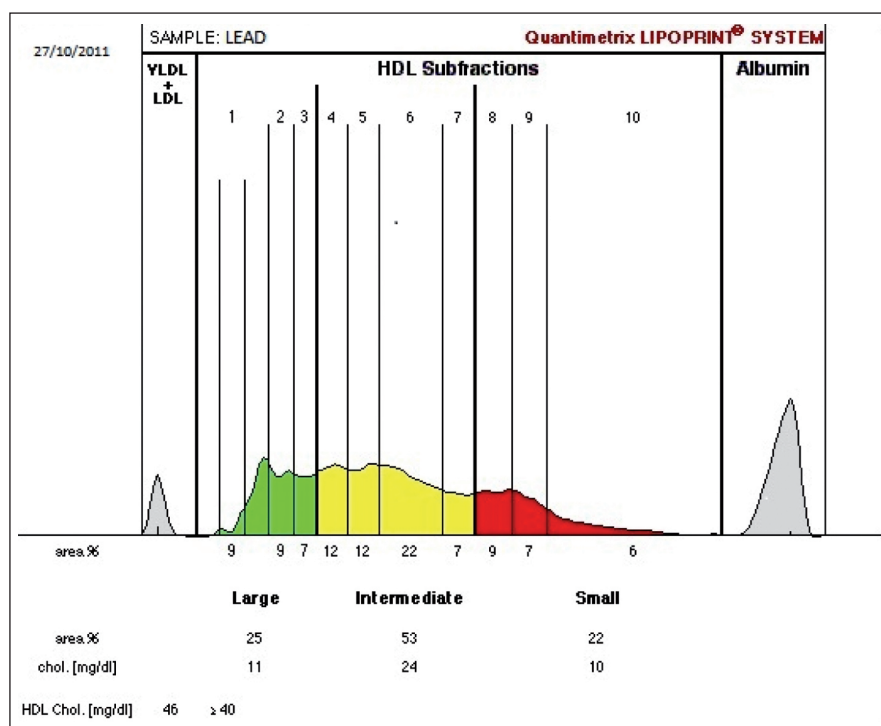
KICH – končatinovocievna ischemická choroba, M – muži, Ž – ženy, p – hladina signifikantnosti ($p < 0,05$)

(priemerný vek 56 ± 12) a 24 žien (priemerný vek 57 ± 13).

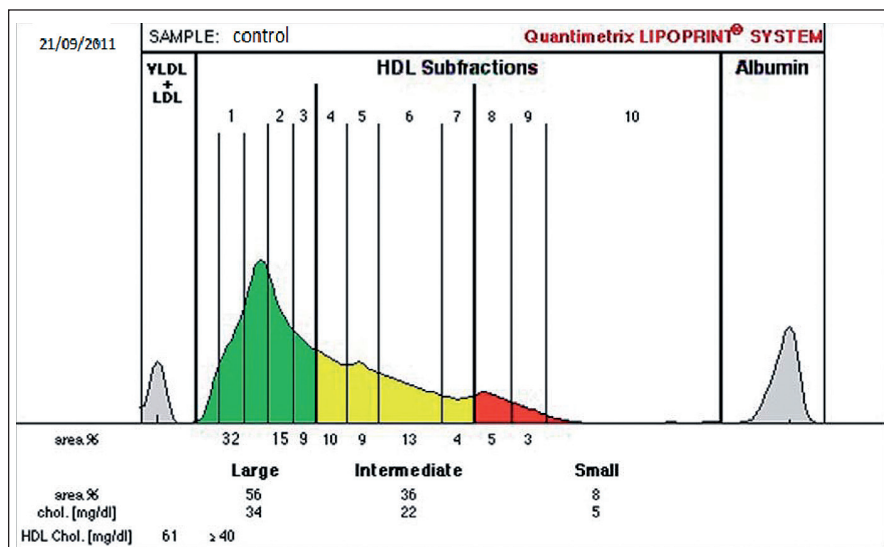
Odbor vzorky krvi z v. cubiti bol zrealizovaný ráno po 12-hodinovej perióde bez jedla, následne získaná plazma (EDTA-K2) bola analyzovaná systémom Lipoprint HDL system (Quantimetrix Corp., CA, USA) [26–28], použitím inovatívnej lineárnej elektroforetickej metódy na polyakrylamidovom géli (PAGE). Takto boli kvantitatívnu a kvalitatívnu analýzu lipoproteínového spektra získané subpopulácie HDL: veľké HDL, stredne veľké – intermediálne HDL a malé HDL. Štatistická analýza bola vykonaná za pomoci nepárového t-testu, pričom za hladinu signifikantnosti bolo zvolené $p < 0,05$.

Výsledky

Zistená HDL charakteristika pozorovanej skupiny 48 jedincov s končatinovocievnu artériovou chorobou je zobrazená na obr. 1. Podobne je na obr. 2 zobrazená analýza 48-člennej kontrolnej skupiny. Štatistické porovnanie skúmanej skupiny jedincov trpiacich na KICH s kontrolnou skupinou ukázalo v súlade so súčasnými pozorovaniami signifikantný pokles celkového HDL-cholesterolu ($p < 0,0001$). Veľké HDL častice ostali bez signifikantnej zmeny. Významným zistením však bolo preukázanie zníženej hladiny HDL intermediálnych častíc ($p < 0,03$) a predovšetkým signifikantný nárast počtu malých častíc HDL cholesterolu ($p < 0,01$) (tab. 3).



Obr. 1. Skupina osôb s končatinovocievnu ischemickou chorobou, HDL subfrakcie.



Obr. 2. Kontrolná skupina, HDL subfrakcie.

Diskusia

Inovatívna diagnostická metóda, Lipo-print systém, ponúka možnosť efektívnej a výpovednej analýzy, kvantifikácie jednotlivých subfrakcií HDL-cholesterolu. To prináša veľkú výhodu, vo svetle súčasného trendu diferencovania lipoproteínov na aterogénne a neaterogénne subpopulácie, skutočnej stratifikácie kardiovaskulárneho rizika, resp. vymazania reziduálneho rizika. Okrem antiaterogénneho pôsobenia väčších – intermediálnych častíc HDL sa podarilo poukázať na potenciálne proaterogénny charakter malých častíc HDL.

Až 65 % jedincov s končatinovocievnu arteriálnou chorobou malo prítomný aterogénny profil HDL cholesterolu v zmysle zníženého množstva veľkých denzných častíc a zvýšeného množstva malých denzných častíc HDL. Na základe zistených výsled-

kov sa dá predpokladať, že subfrakcie HDL cholesterolu, špeciálne malé častice HDL, zohrávajú dôležitejšiu úlohu v patogenéze aterosklerotického poškodenia, než je všeobecne akceptované. Predpoklad je v súlade s pozorovaním Aboyans et al [29], ktorý ukázal, že aj u jedincov bez prítomnosti všeobecne akceptovaných rizikových faktorov vaskulárneho aterosklerotického poškodenia (fajčenie, hypertenzia, diabetes mellitus, tradične ponímaná dyslipidémia) je končatinovocievna choroba častá. Práve akceptovanie úlohy malých vysokodenzných lipoproteínových častíc v procese aterosklerózy pomáha objasniť spojitost aterogénnej dyslipidémie a aterosklerotického poškodenia ciev.

Výzvou pre ďalšie bádanie zostáva objasniť vzťah medzi HDL subpopuláciami a ďalšími ischemizujúcimi/skle-

rotizujúcimi procesmi cievnej steny ako je arterioloskleróza či mediokalcinóza, ktorá taktiež zohráva významnú úlohu pri vyhodnocovaní globálneho kardiovaskulárneho rizika [30–33].

Záver

V predkladanej klinickej štúdii sa ukázali byť malé častice HDL spektra signifikantne asociované s končatinovocievnu arteriálnou chorobou, čo naznačuje ich proaterogénny vplyv. Toto zistenie dopĺňa a potvrdzuje tie literárne zdroje, ktoré predpokladajú účasť malých častíc HDL subpopulácií v zložitom procese aterogenézy. HDL subfrakcia malých častíc sa tak stáva nezávislým prediktívnym faktorom cievneho poškodenia. V prípade stredne veľkých a veľkých častíc HDL spektra možno povedať, že sú tou protektívnou zložkou „dobrého“ HDL-cholesterolu. Pre klinickú prax je dôležitý poznatok, že podobne ako v prípade LDL-cholesterolu je dôležitejšia kvalita, v zmysle zastúpenia jednotlivých frakcií, ako celkové množstvo HDL-cholesterolu. Vzniká tak priestor na poli terapeutickú intervencie lipidového metabolizmu, ktorý bude potrebné venovať možnostiam ovplyvnenia jednotlivých subfrakcií HDL-cholesterolu. To samozrejme musí byť podporené rozšírením a uplatnením takých vyšetrovacích metód, ktoré umožňujú analyzovať a kvantifikovať komplexné lipoproteínové spektrum.

Literatúra

1. Albers JJ, Aladjem F. Precipitation of 125I-labeled lipoproteins with specific polypeptide antisera: Evidence for two populations with differing polypeptide compositions in human high-density lipoproteins. *Biochemistry* 1971; 10: 3436–3442.
2. Otvos JD, Jeyarajah EJ, Bennet SW et al. Development of a proton nuclear magnetic resonance spectroscopic method for determining plasma protein concentrations and subspecies distribution from a single, rapid measurement. *Clin Chem* 1992; 38: 1632–1638.
3. Kostner GM, Laggner P. Chemical and physical properties of lipoproteins. In: Fruchart JC, Shepherd J (eds). *Clinical Biochemistry – Human Plasma Lipoproteins*. Berlin, New York: Walter de Gruyter 1989: 23–54.

Tab. 3. Hladiny jednotlivých subfrakcií HDL-cholesterolu.

	Celkové HDL mmo/l ± SD	HDL veľké častice	HDL stredne veľké častice	HDL malé častice
jedinci s KICH (n = 48)	1,07 ± 0,17	0,48 ± 0,15	0,52 ± 0,09	0,23 ± 0,10
kontrola (n = 48)	1,26 ± 0,28	0,51 ± 0,22	0,55 ± 0,09	0,19 ± 0,06
kontrola vs KICH	p < 0,0001	ns	p < 0,03	p < 0,01

HDL – vysokodenzné lipoproteíny, KICH – končatinovocievna ischemická choroba, p – hladina signifikantnosti (p < 0,05), SD – štandardná odchýlka

4. Grundy SM. Small LDL, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Circulation* 1997; 95: 1-4.
5. Ounpuu S, Negassa A, Yusuf S. INTER-HEART: A global study of risk factors for acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2001; 141: 711-721.
6. European cardiovascular disease statistics. British Heart Foundation 2008; <http://www.ahnheart.org/cvd-statistics.html>
7. Národné centrum zdravotníckych informácií (NCZI). Zdravotnícka ročenka Slovenskej republiky 2010; 27-28.
8. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation* 1989; 79: 8-15.
9. Efrat M, Aviram M. Paraoxonase 1 interactions with HDL, antioxidants and macrophages regulate atherogenesis – a protective role for HDL phospholipids. *Adv Exp Med Biol* 2010; 660: 153-166.
10. Barter PJ, Nicholls S, Rye KA et al. Anti-inflammatory properties of HDL. *Circ Res* 2004; 95: 764-772.
11. Huang Y, von Eckardstein A, Wu S et al. Cholesterol efflux, cholesterol esterification, and cholesteryl ester transfer by LpA-I and LpA-I/A-II in native plasma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1412-1418.
12. Tailleux A, Duriez P, Fruchart JC et al. Apolipoprotein A-II, HDL metabolism and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2002; 164: 1-13.
13. Syväne M, Kahri J, Virtanen KS et al. HDLs containing apolipoproteins A-I and A-II (LpA-I:A-II) as markers of coronary artery disease in men with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 1995; 92: 364-370.
14. Puchois P, Kandoussi A, Fievet P et al. Apolipoprotein A-I containing lipoproteins in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1987; 68: 35-40.
15. Oravec S, Gruber K, Dostal E et al. Hyperbetalipoproteinemia LDL 1,2: A newly identified nonatherogenic hypercholesterolemia in a group of hypercholesterolemic subjects. *Neuro Endocrinol Lett* 2011; 32: 322-327.
16. Oravec S, Gavorník P, Čaprnda M et al. Lipoproteínový profil sera pri novozistenej artériovej hypertenzii. Úloha aterogénnych lipoproteínov v patogenéze ochorenia. *Vnitř Lék* 2010; 56: 967-971.
17. Oravec S. A new laboratory-medical support in the diagnostics of dyslipoproteinemia and cardiovascular diseases. *Med Milit Slov* 2006; 8: 28-32.
18. Okuda LS, Castilho G, Rocco DDFM et al. HDL loses its anti-inflammatory property and even induces more inflammation in S100B or LPS stimulated macrophages previously exposed to AGE albumin. *Atherosclerosis Supplements* 2011; 12: 13-14.
19. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Atherosclerosis* 2011; 217S: S1-S44.
20. Shamm NW. Epidemiology, classification, and modifiable risk factors of peripheral arterial disease. *Vasc Health Risk Manag* 2007; 3: 229-234.
21. Gavorník P. Končatinovocievne ischemické choroby. B 2.1.: 1-92. In: Gavorník P, Hrubíško M, Rozborilová E (eds). *Diferenciálna diagnostika kardio-vaskulárnych, respiračných a hematologických ochorení*. Bratislava: Dr. Josef Raabe 2010.
22. Gavorník P. Obliterujúce choroby artérií a končatinovocievna ischemická choroba. Nová klinicko-etiológicko-anatomicko-patofyziologická (CEAP) klasifikácia. *Cardiology* 2010; 19: 201-213.
23. Gavorník P. Základné princípy prevencie a liečby končatinovocievnych ischemických chorôb. *Medikom/Medinews* 2011; 1: 33-36.
24. Gavorník P. Nevyhnutnosť neustáleho prehodnocovania manažmentu artériovej hypertenzie ako cievej choroby cievných chorôb. *Medikom/Medinews* 2011; 1: 12-13.
25. Tendera M, Aboyans V, Bartelink ML et al. ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral artery diseases: Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries. The Task Force on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Artery Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2011; 32(22): 2851-2906.
26. Morais J, Neyer G, Muniz N. Measurement and Distribution of HDL subclasses with new Lipoprint® HDL Method. Presented at AACC, 55th Annual meeting. Philadelphia, PA: 2003.
27. Morais J. Quantimetrix shows that all HDL subfractions may not protect against heart disease. ACC international congress of Clinical Chemistry. Orlando, FL: 2005.
28. Morais J, Muniz N. Differences in HDL subfraction distribution in normolipidemic versus dyslipidemic individuals. Presented at AACC, 57th Annual meeting. Orlando, FL: 2005.
29. Aboyans V, McClelland RL, Allison MA et al. Prevalence and risk factors of lower extremity artery disease in subjects without traditional modifiable cardiovascular risk factors. The multi-ethnic study of atherosclerosis. *Arch Cardiovasc Dis Supplements* 2011; 3: 72-78.
30. Gašpar L, Makovník M, Hlinšťáková S et al. Význam Holter EKG monitorovania v predoperačnej príprave u pacientov s kritickou končatinovou ischémiou. *Revue Medicíny v Praxi* 2011; 1: 9-10.
31. Gašpar L, Makovník M, Hlinšťáková S et al. Médiokalcinóza – marker zvýšeného kardiovaskulárneho rizika. *Vask Med* 2011; 3: 29-31.
32. Rosolová H, Petřlová B, Šimon J et al. Makroaskulárni a mikrovaskulárni komplikace u diabetiků 2 typu. *Vnitř Lék* 2008; 54: 229-237.
33. Česka R, Krutská L, Zlatohlávek L et al. Komplexní léčba kardiovaskulárního rizika. *Vnitř Lék* 2010; 59: 839-844.

MUDr. Martin Kaško
www.fmed.uniba.sk
e-mail: kasko.martin@gmail.com

Doručeno do redakce: 25. 3. 2012