

AUTOREFERAT  
OPIS DOROBKU I OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

dr nauk farm. Agnieszka Kuchta  
Katedra Analityki Klinicznej  
Zakład Chemii Klinicznej  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
Dębinki 7, 80-211 Gdańsk

## 1. Imię i Nazwisko

Agnieszka Kuchta

## 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

22. 09. 2010 Ukończenie Studiów Podyplomowych w Zakresie Analityki Medycznej  
12. 07. 2010 Stopień doktora nauk farmaceutycznych na podstawie pracy pt.: Ocena aktywności peroksydazy glutationowej, paraoksonazy-1 oraz wskaźników utlenienia białek i lipidów w przewlekłej chorobie nerek” nadany uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Gdańsku. (prom. dr hab. Anastasis Pacanis, prof. nadzw.)  
30. 09. 2004 Tytuł mgr farmacji Uniwersytetu Ernst-Moritz-Arndt Greifswald (Niemcy)  
31. 03. 2005 Tytuł mgr farmacji Akademii Medycznej w Gdańsku

## 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- 2011-obecnie Adiunkt, Zakład Chemii Klinicznej, Katedra Analityki Klinicznej  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
2009-2011 Asystent, Zakład Chemii Klinicznej, Katedra Analityki Klinicznej  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
2013-2015 Wykładowca, Wyższa Szkoła Zdrowia Urody i Edukacji w Poznaniu,  
filia w Gdańsku  
2010-2013 Wykładowca, Policealna Szkoła Ratownictwa Medycznego „Technik”,  
Gdańsk

Przerwy w pracy związane z urlopami macierzyńskimi: rok 2011, rok 2013

## 4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2017 r. poz. 1789):

### a) tytuł osiągnięcia naukowego:

Jakościowe zmiany lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) i parametry równowagi oksydacyjno-redukcyjnej jako wskaźniki rozwoju miażdżycy u ludzi

Łączna wartość prac objętych cyklem

IF = 13,793 MNiSW = 125

**b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy):**

1. **Agnieszka Kuchta**, Adrian Strzelecki, Agnieszka Ćwiklińska, Magdalena Totoń, Marcin Gruchała, Zbigniew Zdrojewski, Barbara Kortas-Stempak, Anna Gliwińska, Kamil Dąbkowski, and Maciej Jankowski, PON-1 activity and plasma 8-isoprostane concentration in patients with angiographically proven coronary artery disease, 2016, *Oxid. Med. and Cell. Longev.*, 163:1-9; IF: 4,593
2. **Agnieszka Kuchta**, Adrian Strzelecki, Agnieszka Ćwiklińska, Marcin Gruchała, Zbigniew Zdrojewski, Barbara Kortas-Stempak, Ewa Wieczorek, Anna Gliwińska, Kamil Dąbkowski, Maciej Jankowski, HDL subpopulations containing apoA-I without apoA-II (LpA-I) in patients with angiographically proven coronary artery disease, 2017 *J. Cardiol.*, 69(3):523-528; IF: 2,918
3. **Agnieszka Kuchta**, Agnieszka Ćwiklińska, Monika Czaplińska, Ewa Wieczorek, Barbara Kortas-Stempak, Anna Gliwińska, Kamil Dąbkowski, Kornelia Sałaga-Zaleska, Agnieszka Mickiewicz, Alicja Dębska-Ślizień, Ewa Król, Maciej Jankowski, Plasma levels of pre $\beta$ 1-HDL are significantly elevated in non-dialyzed patients with advanced stages of chronic kidney disease, 2019, *Int. J. Mol. Sci.*, 20(5): 1202; IF: 3,68
4. **Agnieszka Kuchta**, Anna Lebedzińska, Marcin Fijałkowski, Rafał Gałąska, Ewelina Kreft, Magdalena Totoń, Kuba Czaja, Anna Kozłowska, Agnieszka Ćwiklińska, Barbara Kortas-Stempak, Adrian Strzelecki, Anna Gliwińska, Kamil Dąbkowski, Maciej Jankowski, Impact of plant-based diet on lipid risk factors for atherosclerosis, 2016, *Cardiol. J.*, 23(2):141-148, IF: 1,256
5. **Agnieszka Kuchta**, Agnieszka Konopacka, Krzysztof Waleron, Agnieszka Viapiana, Marek Wesołowski, Kamil Dąbkowski, Agnieszka Ćwiklińska, Agnieszka Mickiewicz, Anna Śledzińska, Ewa Wieczorek, Anna Gliwińska, Barbara Kortas-Stempak, Maciej Jankowski, The effect of *Cistus incanus* herbal tea supplementation on oxidative stress markers and lipid profile in healthy adults, 2019, *Cardiol. J.*, DOI: 10.5603/CJ.a2019.0028, IF: 1,339

**c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.**

**Wstęp**

Choroby sercowo-naczyniowe stanowią jeden z największych problemów zdrowotnych krajów rozwiniętych i często określa się je mianem pandemii XXI wieku. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), prawie 18 milionów ludzi umiera rocznie z powodu chorób sercowo-naczyniowych [1]. Najczęstszymi chorobami układu sercowo-naczyniowego są: choroba niedokrwienna serca, niewydolność serca, choroby naczyń mózgowych i choroby naczyń obwodowych. Podstawową przyczyną tych zaburzeń jest występowanie miażdżycy, przewlekłej choroby tętnic, prowadzącej do zwapnienia i zwężenia światła naczyń. W patogenezie miażdżycy można wyróżnić kilka nakładających się procesów patofizjologicznych, jednym z kluczowych jest zwiększona retencja lipoprotein niskiej gęstości (LDL) do przestrzeni podśródbłonkowej naczyń i ich wychwyty przez komórki makrofagów, które następnie przekształcają się w obciążone cholesterolem komórki piankowate, prowadząc do powstania blaszki miażdżycowej [2, 3].

W latach 90. XX wieku w badaniach *in vitro* wykazano, że do powstania kluczowych dla miażdżycy komórek piankowatych prowadzi jedynie inkubacja makrofagów z cząstkami LDL poddanymi uprzednio chemicznej modyfikacji i utlenieniu, w odróżnieniu od inkubacji z natywnymi cząstkami LDL [4-6]. Dało to początek oksydacyjnej teorii powstawania miażdżycy, w myśl której oksydacyjna modyfikacja cząstek LDL jest ważnym elementem powstania i rozwoju zmian miażdżycowych [7]. Dane doświadczalne pokazują, że utlenione formy LDL, poza niekontrolowanym wychwytem przez makrofagi, drogą receptorów "zmiatających", wykazują działanie cytotoksyczne, chemotaktyczne dla monocytów, mitogenne dla makrofagów i komórek mięśni gładkich, a także hamują rozszerzenie naczyń indukowane przez tlenek azotu [2]. Znaczniki oksydacyjnej modyfikacji lipidów, z uwagi na ich znaczenie w rozwoju zmian miażdżycowych,

wykorzystywane są dla głębszego poznania procesu miażdżycowego i stanowią ważny nurt badawczy mojej pracy naukowej.

Moje zainteresowania naukowe, w kontekście patogenezy miażdżycy, koncentrują się także na przeciwmiażdżycowych właściwościach cząstek lipoprotein wysokiej gęstości (HDL). Cząstki HDL uczestniczą w wypływie cholesterolu z tkanek obwodowych i dostarczeniu go do wątroby oraz gruczołów wydzielania wewnętrznego gdzie cholesterol wykorzystywany jest do produkcji kwasów żółciowych, lipoprotein i hormonów. Cząstki HDL mają właściwości antyoksydacyjne i hamują utlenianie LDL, hamują również aktywację płytek krwi oraz osłabiają migrację monocytów do ściany naczynia. Wyniki dużych prospektywnych badań epidemiologicznych, takich jak Framingham Heart Study w Stanach Zjednoczonych i badanie PROCAM w Europie, dały podstawy do wyciągnięcia wniosków, że niski poziom cholesterolu HDL jest związany ze zwiększonym ryzykiem rozwoju choroby niedokrwiennej serca. [8-10]. Z drugiej strony, próby farmakologicznego podwyższenia stężenia cholesterolu HDL nie przyniosły oczekiwanych rezultatów w regresji zmian miażdżycowych i w zmniejszeniu ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych [11, 12]. Potwierdziło to hipotezę, że samo stężenie cholesterolu HDL nie odzwierciedla w pełni potencjału przeciwmiażdżycowego tej frakcji lipoprotein, co związane jest z bardzo wysoką heterogennością cząstek w obrębie frakcji HDL i odmiennymi właściwościami poszczególnych subpopulacji. Heterogenność frakcji HDL wpływa na wieloczynnikowy mechanizm ochronnego działania cząstek HDL i wskazuje na konieczność znalezienia, lepszego niż stężenie cholesterolu HDL, parametru oceny przeciwmiażdżycowego potencjału tej frakcji.

Celem prowadzonych przeze mnie badań, których wyniki przedstawia prezentowany cykl prac, była ocena zaburzeń równowagi oksydacyjno-redukcyjnej oraz ilościowych modyfikacji frakcji HDL u pacjentów z potwierdzoną koronarograficznie miażdżycą

tętnic wieńcowych i pacjentów z przewlekłą chorobą nerek (PChN). Analizie poddałam również wpływ diety na lipidowe czynniki ryzyka miażdżycy i wybrane markery nasilenia procesów oksydacyjnych.

Część prezentowanych badań była realizowana w ramach kierowanego przez mnie projektu pt. „Ocena ilościowa i jakościowa pod-frakcji lipoprotein wysokiej gęstości u pacjentów powyżej 65 roku życia” (nr grantu NN402523440), finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki. Uzyskane wyniki zostały wyróżnione Nagrodą Naukową Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (2017) za badania nad zaburzeniami przemiany lipoprotein w patogenezie miażdżycy.

### **Omówienie prac cyklu**

W stanie fizjologicznym istnieje szereg enzymatycznych i nieenzymatycznych mechanizmów, których celem jest utrzymanie procesów oksydacyjnych na odpowiednio niskim poziomie. Wśród nich szczególnie interesująca w aspekcie oksydacyjnej modyfikacji LDL i przeciwmiażdżycowych właściwości HDL wydaje się być aktywność paraoksonazy-1. Paraoksonaza-1 (PON-1) jest enzymem zaliczanym do grupy esteraz (EC 3.1.8.1), glikoproteiną o masie 43-47 kDa należącą do trójgenowej rodziny enzymów (PON1, PON2, PON3), których geny znajdują się na długim ramieniu chromosomu 7[13]. W organizmie człowieka PON-1 syntetyzowana jest przede wszystkim w wątrobie, ulega sekrecji do osocza gdzie w 95% związana jest z cząstkami HDL. Enzym ten hydrolizuje aromatyczne estry kwasów karboksylowych, fosforany organiczne i utlenione fosfolipidy. Metabolizując biologicznie aktywne lipidy w utlenionych lipoproteinach, chroni je przed dalszym utlenianiem i modyfikacją białkowych elementów struktury [14, 15]. Liczne wyniki badań wskazują, że PON-1 ma wyraźne działanie antyoksydacyjne i właściwości przeciwmiażdżycowe. W zwierzęcych modelach miażdżycy delekcja genu

*PON-1* jest związana ze zwiększonym utlenianiem cząstek LDL, zwiększonym stresem oksydacyjnym i progresją zmian miażdżycowych [16, 17]. Odwrotnie, nadekspresja *PON-1* u transgenicznych myszy skutkuje zmniejszeniem wielkości patologicznych zmian aorty i odpowiadającym temu spadkom poziomów utlenionych adduktów lipidowo-białkowych [18, 19].

Mając na uwadze wpływ czynników genetycznych na aktywność *PON-1* i niejednoznaczne wyniki badań przedstawiające znaczenie polimorfizmu dla przeciwmiażdżycowych właściwości *PON-1* [20, 21] w naszych badaniach ocenialiśmy aktywność *PON-1* wobec dwóch substratów: paraoksonu i octanu fenylu. Stosunek tych aktywności pozwala na wyodrębnienie fenotypów, które odpowiadają szeroko opisanemu polimorfizmowi *PON-1*: Q (glutamina) lub R (arginina) w kodonie 192 [22, 23].

Analizując aktywność *PON-1* wobec dwóch substratów wykazaliśmy, że chorzy z potwierdzoną badaniem koronarograficznym miażdżycą tętnic wieńcowych charakteryzują się niższą aktywnością enzymu zarówno wobec paraoksonu (średnio o 40 %) jak i octanu fenylu (średnio o 10%) w porównaniu do pacjentów, u których nie zaobserwowano zmian miażdżycowych (**praca nr 1**). Dodatkowo aktywność *PON-1* wobec paraoksonu wykazywała odwrotną zależność z zaawansowaniem miażdżycy ocenionym na podstawie skali Gensiniego. Zależność ta pozostała istotna po uwzględnieniu czynników mogących niezależnie wpływać na aktywność *PON-1* jak: wiek, płeć, palenie tytoniu, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, terapia statynami, stężenie cholesterolu HDL ( $\beta=-0,267$ ;  $p=0,01$ ).

Przedstawiony w **pracy nr 1** procentowy rozkład trzech wyodrębnionych fenotypów był podobny do opisanych częstości występowania poszczególnych fenotypów w innych populacjach [23] i nie różnił się pomiędzy grupą chorych z potwierdzoną miażdżycą tętnic wieńcowych i grupą pacjentów, u których badanie koronarograficzne nie wykazało

zmian miażdżycowych, co pokazało że polimorfizm *PON-1* nie jest czynnikiem decydującym o przeciwmiażdżycowych właściwościach enzymu.

Z uwagi na potwierdzone i opisane przez nas zmiany aktywności PON-1 w przebiegu miażdżycy, podjęliśmy dalsze badania nad aktywnością enzymu w grupie wysokiego ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych jaką są pacjenci z przewlekłą chorobą nerek (PChN) (**praca nr 3**). W PChN ryzyko zaawansowanych zmian miażdżycowych jest nawet 20 krotnie większe niż w populacji ogólnej, a incydenty sercowo-naczyniowe są przyczyną ponad 50% zgonów wśród pacjentów z PChN [24, 25]. Wynika to najprawdopodobniej z wielu czynników, które sprzyjają rozwojowi miażdżycy a powiązane są ściśle z przewlekłym zaburzeniem funkcji nerek. Należą do nich między innymi, przewlekły stan zapalny i zaburzenia metabolizmu lipoprotein a także nasilenie procesów oksydacyjnych [24, 26, 27]. W badanej populacji pacjentów z PChN, poza aktywnością PON-1, oceniliśmy także aktywność mieloperoksydazy (MPO, EC 1.11.1.7), kolejnego enzymu związanego stanem równowagi oksydacyjno-redukcyjnej. MPO jest enzymem uwalnianym przez neutrofile i monocyty podczas aktywacji komórek zapalnych i uczestniczy w produkcji kwasu podchlorowego, poprzez aktywność peroksydazy nasila także procesy prooksydacyjne. Wykazano również, że zwiększona aktywność MPO odpowiada za uszkodzenie i zmniejszoną aktywność PON-1 [28, 29]. Analiza uzyskanych przez nas wyników w populacji pacjentów z PChN nie wykazała jednak istotnych zmian w aktywności żadnego z analizowanych enzymów u pacjentów w różnym stadium zaawansowania choroby nerek. Aktywności PON-1 i MPO nie były także ze sobą istotnie powiązane.

Z uwagi na złożoność procesów pro i antyoksydacyjnych oraz dużą labilność produktów utleniania istotny jest wybór parametrów oceniających stopień nasilenia procesów oksydacyjnych. W ostatnich latach jako jeden z najbardziej wiarygodnych



wskaźników peroksydacji *in vivo* wskazywane jest stężenie izoprostanu, 8-izo-prostaglandyny F2 $\alpha$  (8-izo-PGF2 $\alpha$ ). Izoprostany powstają jako produkt nieenzymatycznej peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych błon komórkowych lub lipoprotein osocza krwi. Są stereoizomerami prostaglandyn, ich synteza nie jest jednak zależna od cyklooksygenazy katalizującej przemianę kwasu arachidonowego do prostaglandyn [30]. Jak pokazały wyniki badań doświadczalnych, F2 izoprostany nie tylko są czułymi i stabilnymi wskaźnikami procesów peroksydacyjnych ale same także mogą nasilać procesy miażdżycowe, zwężając naczynia krwionośne, działając, mitogennie i proagregacyjnie [31, 32]. W naszych badaniach (**praca nr 1**) chorzy z potwierdzoną badaniem koronarograficznym miażdżycą charakteryzowali się podwyższonym stężeniem 8-izo-PGF2 $\alpha$  (średnio o 30%) w porównaniu do pacjentów, u których nie wykazano zmian miażdżycowych. Stężenie 8-izo-PGF2 $\alpha$  wykazywało także dodatnią zależność z zaawansowaniem miażdżycy ocenianym na podstawie skali Genisiego ( $\beta=0,368$ ;  $p<0,001$ ). Obserwowane zależności wraz z opisanymi powyżej zmianami w aktywności PON-1 u chorych z miażdżycą tętnic wieńcowych potwierdzają znaczenie procesów oksydacyjnych w rozwoju miażdżycy i wskazują aktywność PON-1 i stężenie 8-izo-PGF2 $\alpha$  jako potencjalne dodatkowe markery choroby niedokrwiennej serca.

Poza oceną antyoksydacyjnych właściwości HDL związanych z aktywnością PON-1 ważnym elementem prowadzonych przeze mnie prac badawczych jest ocena heterogenności cząstek HDL. Frakcja HDL składa się z kilku subpopulacji różniących się wielkością, kształtem i składem białkowym. Subpopulacje te mają także najprawdopodobniej odmienne funkcje metaboliczne, a przez to niejednakową zdolność działania przeciwmiażdżycowego. Znanych jest kilka analitycznych metod podziału cząstek HDL. Jedną z najczęściej wykorzystywanych w laboratoriach metod jest metoda

ultrawirowania w gradiencie gęstości, która oparta jest na różnej gęstości poszczególnych podfrakcji HDL i pozwala na rozdzielenie HDL na większe HDL<sub>2</sub> (8,8-12,9 nm) o gęstości 1,063-1,125 kg/l oraz na mniejsze HDL<sub>3</sub> (7,2-8,8 nm) o gęstości 1,125-1,21 kg/l. Wyniki niektórych badań klinicznych sugerują, że ochronne przeciwmiażdżycowe właściwości wykazuje głównie subpopulacja HDL<sub>2</sub> [33-35], jednak nie wszystkie wyniki badań potwierdzają tę hipotezę [36, 37]. W realizowanych przez nas projektach (**praca nr 2**) oceniamy stężenie cholesterolu w subpopulacji HDL<sub>2</sub> i HDL<sub>3</sub> u chorych z potwierdzoną badaniem koronarograficznym miażdżycą i u dopasowanych pod względem stężenia cholesterolu HDL pacjentów, u których badanie koronarograficzne nie potwierdziło zmian miażdżycowych zaobserwowaliśmy istotnie niższe stężenie cholesterolu HDL<sub>2</sub> u chorych z miażdżycą (średnio o 19%), przy braku różnic w stężeniu cholesterolu HDL<sub>3</sub>. Sprzyja hipotezie, że stężenie cholesterolu HDL<sub>2</sub> lepiej odzwierciedla przeciwmiażdżycowe właściwości cząstek HDL niż całkowite stężenie cholesterolu HDL i stężenie cholesterolu HDL<sub>3</sub>.

W ostatnich latach dużo uwagi poświęca się rozdziałowi cząstek HDL na podstawie składu białkowego, metodami immunochemicznymi. Oparte na tym podziale dwie główne subpopulacje HDL to lipoproteiny zawierające apoproteinę A-I a niezawierające apoproteiny A-II (LpA-I) oraz lipoproteiny zawierające apoproteinę A-I i apoproteinę A-II (LpA-I/A-II). Apoproteiny A-I i A-II (apoA-I i apoA-II) stanowią 90% białek zawartych w cząstce HDL. Apo A-I jest pojedynczym łańcuchem polipeptydowym, w około 99% znajdującym się w cząstkach HDL. Białko to pełni kluczową rolę w wpływie cholesterolu z komórek obwodowych, poprzez wiązanie się z przezbłonowym transporterem ABCA-1. Apolipoproteina A-II składa się z dwóch łańcuchów polipeptydowych połączonych mostkiem dwusiarczkowym i podobnie jak apoA-I w około 90 % znajduje się w lipoproteinach HDL. ApoA-II stabilizuje strukturę cząstki

HDL ale jej przeciwmiażdżycowa rola jest niejednoznaczna [38]. Wyniki eksperymentów z transgenicznymi myszami pokazują, że obecność apo-AII w cząstkach HDL zmniejsza wpływ cholesterolu z komórek [39]. Promiażdżycowej roli apoA-II nie potwierdzają jednak wyniki badań epidemiologicznych, które wykazują odwrotną korelację pomiędzy stężeniem apoA-II i odległym ryzykiem zachorowania [40]. Istotna, choć nie do końca wyjaśniona rola apoprotein A-I i A-II w przeciwmiażdżycowym mechanizmie działania cząstek HDL sprawia, że podział lipoprotein wysokiej gęstości na cząstki LpA-I i LpA-I/A-II może mieć znaczenie w ocenie ryzyka chorób sercowo naczyniowych.

Wyniki naszych badań (**praca nr 2**) pokazały, że pacjenci z potwierdzoną koronarograficznie miażdżycą tętnic wieńcowych w stosunku do dopasowanej pod względem stężenia cholesterolu HDL grupy kontrolnej mają obniżone stężenie frakcji LpA-I (średnio o 19%). Stężenie LpA-I było także odwrotnie zależne od stopnia zaawansowania miażdżycy ocenionej na podstawie skali Gensiniego ( $R=-0,79$ ;  $p=0,002$ ). Jednocześnie u pacjentów z potwierdzoną miażdżycą wykazaliśmy obniżone stężenie cząstek LpA-I we frakcji HDL<sub>2</sub> (średnio o 26%) przy braku różnic w stężeniu LpA-I we frakcji HDL<sub>3</sub>.

Badając stężenie LpA-I u pacjentów z PChN nie zaobserwowano istotnej zależności pomiędzy stężeniem frakcji LpA-I a zaawansowaniem choroby nerek (**praca nr 3**). W tej grupie chorych zagadnienia związane z właściwościami frakcji HDL są szczególnie interesujące ponieważ w odróżnieniu od populacji ogólnej u pacjentów z PChN nie ma wyraźnej odwrotnej zależności pomiędzy wysokim stężeniem cholesterolu HDL, a ryzykiem występowania chorób sercowo-naczyniowych [41].

Wśród cząstek LpA-I szczególne znaczenie ze względu na udział w odwrotnym transporcie cholesterolu ma frakcja pre $\beta$ 1-HDL. Pre $\beta$ 1-HDL to „niedojrzałe”, dyskoidalne cząstki HDL składające się z apoA-I, fosfolipidów i nieestryfikowanego cholesterolu.

Wyniki badań eksperymentalnych pokazują, że frakcja pre $\beta$ 1-HDL odpowiada za 60% wpływu cholesterolu z komórek [42], jednocześnie jednak prace kliniczne wskazują na wzrost frakcji pre $\beta$ 1-HDL u pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi, który może być związany z opóźnionym katabolizmem lub wzmożoną syntezą tej frakcji [43, 44]. Analizując stężenie prekursorowych cząstek HDL, u pacjentów z miażdżycą tętnic wieńcowych (**praca nr 2**) wykazaliśmy podwyższone stężenie pre $\beta$ 1-HDL (średnio o 27%) w porównaniu do grupy kontrolnej. Jednocześnie stosunek pre $\beta$ 1-HDL/LpA-I był wyższy (średnio o 62%) w populacji pacjentów z potwierdzoną koronarograficznie miażdżycą, mimo braku znamiennej zależności pomiędzy stężeniem pre- $\beta$ 1 HDL i całkowitym stężeniem LpA-I. Wartość współczynnika pre $\beta$ -1 HDL/LpA-I była także istotnie powiązana ze stopniem zaawansowania miażdżycy ( $\beta=0,499$ ;  $p<0,001$ ).

Analizując wyniki pomiaru stężenia frakcji Pre $\beta$ 1-HDL u pacjentów z PChN (**praca nr 3**) wykazaliśmy dodatnią korelację ze stopniem zaawansowania choroby ocenianym na podstawie eGFR ( $\beta=-0,410$ ;  $p<0,001$ ). Podobną zależność zaobserwowano także analizując wartość współczynnika pre $\beta$ 1-HDL/LpA-I ( $\beta=-0,33$ ;  $p=0,001$ ). Jedną z potencjalnych przyczyn wzrostu stężenia pre $\beta$ 1-HDL może być, obserwowana wcześniej u pacjentów z niewydolnością nerek, obniżona aktywność acylotransferazy lecytyna : cholesterol (LCAT) [45]. W warunkach fizjologicznych LCAT katalizując estryfikację cholesterolu przekształca pre $\beta$ 1-HDL w  $\alpha$ -HDL, które transportują zestryfikowany cholesterol komórkowy do wątroby. Zaburzenie aktywności LCAT może więc być jednym z mechanizmów prowadzącym do nagromadzenia się cząstek pre $\beta$ 1-HDL w osoczu. W badanej grupie pacjentów z PChN nie potwierdziliśmy zaburzeń aktywności LCAT, co wskazuje na inny mechanizm wzrostu pre $\beta$ 1-HDL (**praca nr 3**).

Przedmiotem moich kolejnych badań była ocena wpływu modyfikacji sposobu odżywiania na, analizowane wcześniej, potencjalne wskaźniki rozwoju zmian

miażdżycowych związane z nasileniem procesów oksydacyjnych i zaburzeniami metabolizmu lipoprotein.

Nieprawidłowa dieta to obok niewystracającej aktywności fizycznej jeden z najważniejszych modyfikowalnych czynników ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Codzienna dieta bogata w nasycone kwasy tłuszczowe i cukry proste z niewielką ilością błonnika i antyoksydantów przyspiesza rozwój miażdżycy i ma istotny wpływ na pojawienie się wielu czynników ryzyka, między innymi dyslipidemii, nadciśnienia tętniczego, cukrzycy [46]. Produkty pochodzenia zwierzęcego są głównym źródłem tłuszczów nasyconych i egzogenego cholesterolu, których nadmiar przyczynia się do rozwoju zmian miażdżycowych, dlatego dieta wegańska wykluczająca wszystkie produkty pochodzenia zwierzęcego może mieć potencjalnie znaczenie w zmniejszaniu ryzyka rozwoju zmian miażdżycowych [47, 48]. W ramach prowadzonych badań (**praca nr 4**) porównaliśmy podstawowe parametry lipidowe, parametry charakteryzujące frakcję HDL oraz wybrane wskaźniki nasilenia procesów oksydacyjnych u młodych, potencjalnie zdrowych ludzi będących minimum 10 miesięcy na diecie wegańskiej i dobranych pod względem wieku, płci i BMI ochotników stosujących dietę mieszaną, warzywno-mięsną. Analizując wyniki przeprowadzonych badań u wegan i ochotników stosujących dietę mieszaną nie zaobserwowaliśmy istotnych różnic w stężeniu cholesterolu HDL i pozostałych parametrach charakteryzujących tę frakcję lipoprotein: stężeniu frakcji HDL zawierającej apoA-I a nie zawierającej apoA-II (LpA-I), stężeniu prekursorowej frakcji HDL (pre $\beta$ 1-HDL) oraz stężeniu fosfolipidów HDL. Grupa wegan charakteryzowała się jednak istotnie niższym stężeniem cholesterolu całkowitego (średnio o 24%), cholesterolu frakcji LDL (średnio o 27%), a także niższą wartością stosunku apoB/apoA-I (średnio o 26%). Możliwe korzyści zdrowotne wynikające z diety wegańskiej mogą być także związane z wyższym spożyciem produktów bogatych w przeciwutleniacze, oraz w

błonnik i fitosterole [49, 50], które zmniejszają wchłanianie cholesterolu w przewodzie pokarmowym i wpływają na metabolizm lipoprotein [51, 52]. Niektóre badania sugerują jednak, że dieta roślinna, pomimo dużych ilości przeciwutleniaczy, może zwiększać ryzyko stresu oksydacyjnego i podwyższać stężenie homocysteiny z powodu braku odpowiedniej podaży witaminy B12, co z kolei może zwiększyć oksydacyjną modyfikację lipidów i ryzyko rozwoju miażdżycy [53]. W naszych badaniach nie zaobserwowaliśmy różnic w stężeniu 8-izo-PGF2 $\alpha$  jako markera nasilenia procesów oksydacyjnych. Porównywalna była także aktywność paraoksonazy-1 zarówno wobec paraoksonu jak i octanu fenylu. Jednocześnie, jak pokazuje kwestionariusz dziennego spożycia składników pokarmowych, wszyscy biorący udział w projekcie weganie suplementowali witaminę B12, a jej dzienne spożycie było średnio ponad 10-krotnie wyższe, w porównaniu do ochotników stosujących dietę mieszaną. Dlatego zaobserwowany w naszych badaniach korzystny efekt diety wegańskiej na podstawowe parametry profilu lipidowego przy braku wpływu na nasilenie procesów oksydacyjnych, można odnosić tylko do dobrze zbilansowanej uwzględniającej suplementację diety roślinnej.

W ramach badań związanych z wpływem sposobu odżywiania na potencjalne wskaźniki rozwoju zmian miażdżycowych zbadaliśmy także wpływ regularnego spożywania naparu z czystka siwego przez okres 12 tygodni na nasilenie procesów oksydacyjnych i profil lipidowy potencjalnie zdrowych młodych ludzi (**praca nr 5**). Czystek siwy (*Citrus incanus*), to roślina pochodząca z krajów śródziemnomorskich, stosowana w medycynie ludowej z uwagi na jej działanie rozkurczowe, przeciwzapalne i przeciwbakteryjne [54]. Obecnie czystek siwy to powszechnie dostępny suplement diety występujący w formie herbat, tabletek i kapsułek zawierających materiał roślinny lub jego ekstrakty. Produkty te są często polecane ze względu na wysoką zawartość polifenoli - substancji o silnych właściwościach przeciwutleniających i korzystnym wpływie na układ

sercowo-naczyniowy [55]. Wysokie stężenie i zróżnicowany profil polifenoli potwierdziliśmy analizując skład wykorzystywanego w naszych badaniach czystka siwego pochodzącego z tureckich wybrzeży Moza Śródziemnego.

Na podstawie wyników badań u uczestników projektu pokazaliśmy wyraźny wpływ suplementacji na zmniejszenie nasilenia procesów oksydacyjnych ocenianych na podstawie spadku stężenia tradycyjnego markera stresu oksydacyjnego - produktów reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS, Thiobarbituric Acid Reactive Substances, średnio o 18%) oraz spadku stężenia zaawansowanych produktów utlenienia białek (AOPP, Advanced Oxidation Protein Products średnio o 16%). Dodatkowo wykazaliśmy istotny spadek stężenia trójglicerydów (średnio o 14 %) oraz niewielki jednak istotny statystycznie wzrost stężenia cholesterolu HDL (średnio o 4%). Uzyskane wyniki potwierdziły prozdrowotne właściwości czystka siwego i pokazują potrzebę dalszych badań nad jego potencjalnym znaczeniem w prewencji chorób sercowo-naczyniowych.

### **Podsumowanie**

Przeprowadzone badania pokazały, że zarówno pacjenci z potwierdzoną miażdżycą naczyń wieńcowych jak i pacjenci z PChN charakteryzują się jakościowymi zmianami HDL co może być związane z zaburzeniem funkcjonalności tej frakcji lipoprotein.

Wykonane analizy wskazały stężenie 8-izo-PGF2 $\alpha$ , aktywność paraoksonazy-1 i stosunek pre $\beta$ -1 HDL/LpA-I jako potencjalne markery zaawansowania zmian miażdżycowych.

Wykazano także, że dieta wegańska i wzbogacenie diety o napar z bogatego w polifenole czystka siwego ma korzystny wpływ na lipidowe czynniki ryzyka wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych

Poza omówionym powyżej cyklem prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego mój dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje 17 prac w tym 15 prac oryginalnych i 4 prace poglądowe. (łącznie IF= 32,093)

Moje zainteresowania dotyczą między innymi znaczenia zaburzeń równowagi oksydacyjno-redukcyjnej w populacjach o wysokim ryzyku chorób sercowo-naczyniowych. W ramach prowadzonych w tym obszarze projektów, wraz z zespołem naukowców Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku przeprowadziliśmy badania, których wyniki pokazały pozytywny wpływ treningu nording walking u kobiet powyżej 60 roku na parametry równowagi oksydacyjno-redukcyjnej i metabolizm żelaza. (*Biogerontology*. 2017;18:517-524). Współpracując z Kliniką Nefrologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego pokazaliśmy nasilenie procesów oksydacyjnych u pacjentów w różnym stadium przewlekłej choroby nerek, a także u pacjentów hemodializowanych i dializowanych otrzewnowo. Oceniliśmy również przydatność wybranych parametrów równowagi oksydacyjno-redukcyjnej, wskazując na błędy przy interpretacji wyników testów oceniających całkowity status antyoksydacyjny w tej grupie chorych (*Kidney Blood Press Res*. 2011; 34:12-9).

W obszarze moich zainteresowań naukowych jest także metabolizm lipoprotein i mechanizmy prowadzące do jego zaburzenia. Dwie prace z tego obszaru dotyczą przemian lipoprotein bardzo niskiej gęstości (VLDL) pod wpływem liposomów lecytynowych i potwierdzają korzystny wpływ struktur bogatodosfolipidowych na metabolizm VLDL (*Lipids*. 2014; 49:143-53; *Chem. Phys. Lipids* 2016; 195:63-70). Wyniki naszych ostatnich badań związanych z tematem lipoprotein pokazują zaburzenia metabolizmu VLDL w przewlekłej chorobie nerek związane dysfunkcją frakcji HDL (*Kidney Blood Press Res*. 2018;43:970-978) oraz zależność pomiędzy genotypem a



stężeniem i dystrybucją apoproteiny E w różnych klasach lipoprotein u pacjentów z PChN (*Lipids Health Dis.* 2019 Mar 9;18:60).

Ponadto od 4 lat aktywnie uczestniczę w projektach realizowanych z Akademią Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku, których celem jest zbadanie znaczenia aktywności fizycznej i ćwiczeń dna miednicy u kobiet w ciąży. W ramach prowadzonych badań prezentujemy między innymi znaczenie programów edukacyjnych i zorganizowanych programów treningowych na intensywność i jakość ćwiczeń dna miednicy u kobiet w ciąży (*Front Physiol.* 2019 Jan 30;9:1867). Pokazujemy także pozytywny wpływ regularnych ćwiczeń fizycznych w ciąży na biochemiczne parametry związane z metabolizmem glukozy i lipidów. (*BioMed Res. Int.* 2017; art. ID 9414525:1-10; *Int J Endocrinol.* 28;2019:1932503). Aktualnie jesteśmy po zakończeniu badań i w trakcie przygotowywania publikacji, w której pokażemy znaczenie ćwiczeń dna miednicy w problemie nietrzymania moczu po porodzie.

Dodatkowo jestem współautorem cyklu publikacji, które poruszają znaczenie jakości badań moczu dla klinicznej użyteczności uzyskanych wyników badań. (*Clin Chem Lab Med.* 2018; 56:1728-1733; *Scand J Clin Lab Invest.* 2012; 72:52-8; *Diagn. Lab.* 2016; 52:185-196)

W ramach mojej pracy naukowej przed uzyskaniem stopnia doktora jako członek zespołu prof. Franciszka Sączewskiego i prof. Patrica Bednarka w Uniwersytecie w Greifswaldzie (Niemcy) uczestniczyłam w badaniach właściwości cytotoksycznych i antybakteryjnych nowych heterocyklicznych pochodnych akrylonitrylu, których efektem jest praca opublikowana w roku 2008 (*Eur J Med Chem.* 2008; 43:1847-57).

Obecnie uczestniczę w projekcie finansowanym przez Narodowe Centrum Nauki którego celem jest zbadanie udziału receptorów nukleotydowych P2 w rozwoju zaburzeń

przepuszczalności filtra kłębuszkowego dla albuminy w przebiegu cukrzycy typu 1 i rozwoju nefropatii cukrzycowej (nr grantu 2016/23/B/N25/02632).

Ważną częścią mojej pracy naukowo - dydaktycznej jest także wsparcie i opieka nad projektami naukowymi realizowanymi przez studentów. W roku 2014 wraz ze studentami kierunku Analityka Medyczna Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego złożyłam Koło Naukowe przy Zakładzie Chemii Klinicznej, którego do dnia dzisiejszego jestem opiekunem. Od momentu powstania Koła jego członkowie realizują naukowe projekty studenckie, uczestniczą w projektach realizowanych w zakładzie, a także biorą czynny udział w studenckich konferencjach naukowych. Nasz projekt pt. *„Ocena wybranych lipidowych czynników ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych połączona z analizą składu ciała u studentów gdańskich uczelni”* został wyróżniony w Sesji Plakatowej Kardiologii Zachowawczej i Dziecięcej XXIX Ogólnopolskiej Studenckiej Konferencji Kardiologicznej, Gdańsk; 2015; W kolejnym roku (2016) na tej samej konferencji otrzymaliśmy III nagrodę za pracę pt. *„Aktywność paraoksonazy-1 i stężenie produktów utlenienia lipidów w trakcie trzymiesięcznej suplementacji naparem z czystka siwego”*.

Od roku 2009 byłam także opiekunem 8 prac magisterskich, z których dwie otrzymały pierwszą nagrodę w Wydziałowym Konkursie Prac Magisterskich, wykonanych przez studentów Kierunku Analityka Medyczna.

## 6. Literatura

1. [https://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/en/](https://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/)
2. Itabe H: Oxidative modification of LDL: its pathological role in atherosclerosis. Clin Rev Allergy Immunol 2009, 37:4-11.
3. Skoczyńska A: [The role of lipids in atherogenesis]. Postepy Hig Med Dosw (Online) 2005, 59:346-357.
4. Brown MS, Goldstein JL: Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. Annu Rev Biochem 1983, 52:223-261.
5. Brown MS, Goldstein JL: A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. Science 1986, 232:34-47.

6. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL: Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *The New England journal of medicine* 1989, 320:915-924.
7. Witztum JL, Steinberg D: Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *The Journal of clinical investigation* 1991, 88:1785-1792.
8. Atzmon G, Gabriely I, Greiner W, Davidson D, Schechter C, Barzilai N: Plasma HDL levels highly correlate with cognitive function in exceptional longevity. *The journals of gerontology Series A, Biological sciences and medical sciences* 2002, 57:M712-715.
9. Assmann G, Gotto AM, Jr.: HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation* 2004, 109:III8-14.
10. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002, 106:3143-3421.
11. Kastelein JJP, van Leuven SI, Burgess L, Evans GW, Kuivenhoven JA, Barter PJ, Revkin JH, Grobbee DE, Riley WA, Shear CL, et al: Effect of Torcetrapib on Carotid Atherosclerosis in Familial Hypercholesterolemia. *New England Journal of Medicine* 2007, 356:1620-1630.
12. Briel M, Ferreira-Gonzalez I, You JJ, Karanickolas PJ, Akl EA, Wu P, Blechacz B, Bassler D, Wei X, Sharman A, et al: Association between change in high density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease morbidity and mortality: systematic review and meta-regression analysis. *BMJ (Clinical research ed)* 2009, 338:b92.
13. Chistiakov DA, Melnichenko AA, Orekhov AN, Bobryshev YV: Paraoxonase and atherosclerosis-related cardiovascular diseases. *Biochimie* 2017, 132:19-27.
14. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI: Paraoxonase and atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2001, 21:473-480.
15. Litvinov D, Mahini H, Garelnabi M: Antioxidant and anti-inflammatory role of paraoxonase 1: implication in arteriosclerosis diseases. *N Am J Med Sci* 2012, 4:523-532.
16. Rozenberg O, Rosenblat M, Coleman R, Shih DM, Aviram M: Paraoxonase (PON1) deficiency is associated with increased macrophage oxidative stress: studies in PON1-knockout mice. *Free radical biology & medicine* 2003, 34:774-784.
17. Ng DS, Chu T, Esposito B, Hui P, Connelly PW, Gross PL: Paraoxonase-1 deficiency in mice predisposes to vascular inflammation, oxidative stress, and thrombogenicity in the absence of hyperlipidemia. *Cardiovasc Pathol* 2008, 17:226-232.
18. Rozenberg O, Shih DM, Aviram M: Human serum paraoxonase 1 decreases macrophage cholesterol biosynthesis: possible role for its phospholipase-A2-like activity and lysophosphatidylcholine formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003, 23:461-467.
19. Rosenblat M, Vaya J, Shih D, Aviram M: Paraoxonase 1 (PON1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 transporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphatidylcholine. *Atherosclerosis* 2005, 179:69-77.
20. Bhattacharyya T, Nicholls SJ, Topol EJ, Zhang R, Yang X, Schmitt D, Fu X, Shao M, Brennan DM, Ellis SG, et al: Relationship of paraoxonase 1 (PON1) gene

- polymorphisms and functional activity with systemic oxidative stress and cardiovascular risk. *JAMA* 2008, 299:1265-1276.
21. Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E, Roberts C, Durrington PN, Mackness MI: Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2001, 21:1451-1457.
  22. Nakanishi M, Takanami Y, Maruyama T, Murata M, Motohashi Y, Nakano S, Uchida K, Maruyama C, Kyotani S, Tsushima M: The ratio of serum paraoxonase/arylesterase activity using an improved assay for arylesterase activity to discriminate PON1(R192) from PON1(Q192). *J Atheroscler Thromb* 2003, 10:337-342.
  23. Tang WH, Hartiala J, Fan Y, Wu Y, Stewart AF, Erdmann J, Kathiresan S, Roberts R, McPherson R, Allayee H, et al: Clinical and genetic association of serum paraoxonase and arylesterase activities with cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012, 32:2803-2812.
  24. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY: Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004, 351:1296-1305.
  25. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culeton B, Hamm LL, McCullough PA, Kasiske BL, Kelepouris E, Klag MJ, et al: Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Hypertension* 2003, 42:1050-1065.
  26. Gluba-Brzozka A, Michalska-Kasiczak M, Franczyk-Skora B, Nocun M, Banach M, Rysz J: Markers of increased cardiovascular risk in patients with chronic kidney disease. *Lipids Health Dis* 2014, 13:135.
  27. Gronda E, Genovese S, Padeletti L, Cacciatore F, Vitale DF, Bragato R, Innocenti L, Schiano C, Sommese L, De Pascale MR, et al: Renal function impairment predicts mortality in patients with chronic heart failure treated with resynchronization therapy. *Cardiol J* 2015, 22:459-466.
  28. Zheng L, Nukuna B, Brennan ML, Sun M, Goormastic M, Settle M, Schmitt D, Fu X, Thomson L, Fox PL, et al: Apolipoprotein A-I is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease. *J Clin Invest* 2004, 114:529-541.
  29. Huang Y, Wu Z, Riwanto M, Gao S, Levison BS, Gu X, Fu X, Wagner MA, Besler C, Gerstenecker G, et al: Myeloperoxidase, paraoxonase-1, and HDL form a functional ternary complex. *J Clin Invest* 2013, 123:3815-3828.
  30. Montuschi P, Barnes P, Roberts LJ: Insights into oxidative stress: the isoprostanes. *Curr Med Chem* 2007, 14:703-717.
  31. Minuz P, Fava C, Lechi A: Lipid peroxidation, isoprostanes and vascular damage. *Pharmacol Rep* 2006, 58 Suppl:57-68.
  32. de Faria AP, Fontana V, Modolo R, Barbaro NR, Sabbatini AR, Pansani IF, Ferreira-Melo SE, Moreno H: Plasma 8-isoprostane levels are associated with endothelial dysfunction in resistant hypertension. *Clin Chim Acta* 2014, 433:179-183.

33. Maeda S, Nakanishi S, Yoneda M, Awaya T, Yamane K, Hirano T, Kohno N: Associations between small dense LDL, HDL subfractions (HDL2, HDL3) and risk of atherosclerosis in Japanese-Americans. *J Atheroscler Thromb* 2012, 19:444-452.
34. Campos H, Roederer GO, Lussier-Cacan S, Davignon J, Krauss RM: Predominance of large LDL and reduced HDL2 cholesterol in normolipidemic men with coronary artery disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 1995, 15:1043-1048.
35. Salonen JT, Salonen R, Seppänen K, Rauramaa R, Tuomilehto J: HDL, HDL2, and HDL3 subfractions, and the risk of acute myocardial infarction. A prospective population study in eastern Finnish men. *Circulation* 1991, 84:129-139.
36. Sweetnam PM, Bolton CH, Yarnell JW, Bainton D, Baker IA, Elwood PC, Miller NE: Associations of the HDL2 and HDL3 cholesterol subfractions with the development of ischemic heart disease in British men. The Caerphilly and Speedwell Collaborative Heart Disease Studies. *Circulation* 1994, 90:769-774.
37. Lamarche B, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, Despres JP: Associations of HDL2 and HDL3 subfractions with ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997, 17:1098-1105.
38. Kuliszewicz-Janus Mg, Mohamed AS, Abod NA: Biologia lipoproteiny HDL i jej przeciwniażdżycowedzia³anie. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 2006, 60:307.
39. Castro G, Nihoul LP, Dengremont C, de Geitere C, Delfly B, Tailleux A, Fievet C, Duverger N, Deneffe P, Fruchart JC, Rubin EM: Cholesterol efflux, lecithin-cholesterol acyltransferase activity, and pre-beta particle formation by serum from human apolipoprotein A-I and apolipoprotein A-I/apolipoprotein A-II transgenic mice consistent with the latter being less effective for reverse cholesterol transport. *Biochemistry* 1997, 36:2243-2249.
40. Birjmohun RS, Dallinga-Thie GM, Kuivenhoven JA, Stroes ES, Otvos JD, Wareham NJ, Luben R, Kastelein JJ, Khaw KT, Boekholdt SM: Apolipoprotein A-II is inversely associated with risk of future coronary artery disease. *Circulation* 2007, 116:2029-2035.
41. Moradi H, Vaziri ND, Said HM, Kalantar-Zadeh K: Role of HDL Dysfunction in end-stage renal disease: a double-edged sword *Journal of renal nutrition : the official journal of the Council on Renal Nutrition of the National Kidney Foundation* 2013, 23:203-206.
42. Kawano M, Miida T, Fielding CJ, Fielding PE: Quantitation of pre beta-HDL-dependent and nonspecific components of the total efflux of cellular cholesterol and phospholipid. *Biochemistry* 1993, 32:5025-5028.
43. Sethi AA, Sampson M, Warnick R, Muniz N, Vaisman B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, Remaley AT: High pre-beta1 HDL concentrations and low lecithin: cholesterol acyltransferase activities are strong positive risk markers for ischemic heart disease and independent of HDL-cholesterol. *Clin Chem* 2010, 56:1128-1137.

44. Tashiro J, Miyazaki O, Nakamura Y, Miyazaki A, Fukamachi I, Bujo H, Saito Y: Plasma pre beta1-HDL level is elevated in unstable angina pectoris. *Atherosclerosis* 2009, 204:595-600.
45. Miida T, Miyazaki O, Hanyu O, Nakamura Y, Hirayama S, Narita I, Gejyo F, Ei I, Tasaki K, Kohda Y, et al: LCAT-dependent conversion of prebeta1-HDL into alpha-migrating HDL is severely delayed in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2003, 14:732-738.
46. Buttar HS, Li T, Ravi N: Prevention of cardiovascular diseases: Role of exercise, dietary interventions, obesity and smoking cessation. *Exp Clin Cardiol* 2005, 10:229-249.
47. Barnard ND, Cohen J, Jenkins DJ, Turner-McGrievy G, Gloede L, Jaster B, Seidl K, Green AA, Talpers S: A low-fat vegan diet improves glycemic control and cardiovascular risk factors in a randomized clinical trial in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006, 29:1777-1783.
48. Jenkins DJ, Kendall CW, Popovich DG, Vidgen E, Mehling CC, Vuksan V, Ransom TP, Rao AV, Rosenberg-Zand R, Tariq N, et al: Effect of a very-high-fiber vegetable, fruit, and nut diet on serum lipids and colonic function. *Metabolism* 2001, 50:494-503.
49. Rao V, Al-Weshahy A: Plant-based diets and control of lipids and coronary heart disease risk. *Curr Atheroscler Rep* 2008, 10:478-485.
50. Casiglia E, Tikhonoff V, Caffi S, Boschetti G, Grasselli C, Saugo M, Giordano N, Rapisarda V, Spinella P, Palatini P: High dietary fiber intake prevents stroke at a population level. *Clin Nutr* 2013, 32:811-818.
51. Racette SB, Spearie CA, Phillips KM, Lin X, Ma L, Ostlund RE: Phytosterol-deficient and high-phytosterol diets developed for controlled feeding studies. *J Am Diet Assoc* 2009, 109:2043-2051.
52. Ostlund RE: Phytosterols, cholesterol absorption and healthy diets. *Lipids* 2007, 42:41-45.
53. Krajcovicová-Kudlácková M, Blazíček P, Babinská K, Kopcová J, Klvanová J, Béderová A, Magálová T: Traditional and alternative nutrition--levels of homocysteine and lipid parameters in adults. *Scand J Clin Lab Invest* 2000, 60:657-664.
54. Barrajon-Catalan E, Fernandez-Arroyo S, Roldan C, Guillen E, Saura D, Segura-Carretero A, Micol V: A systematic study of the polyphenolic composition of aqueous extracts deriving from several *Cistus* genus species: evolutionary relationship. *Phytochem Anal* 2011, 22:303-312.
55. Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C, Jimenez L: Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2005, 45:287-306.

*Agnieszka Kuchta*