



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

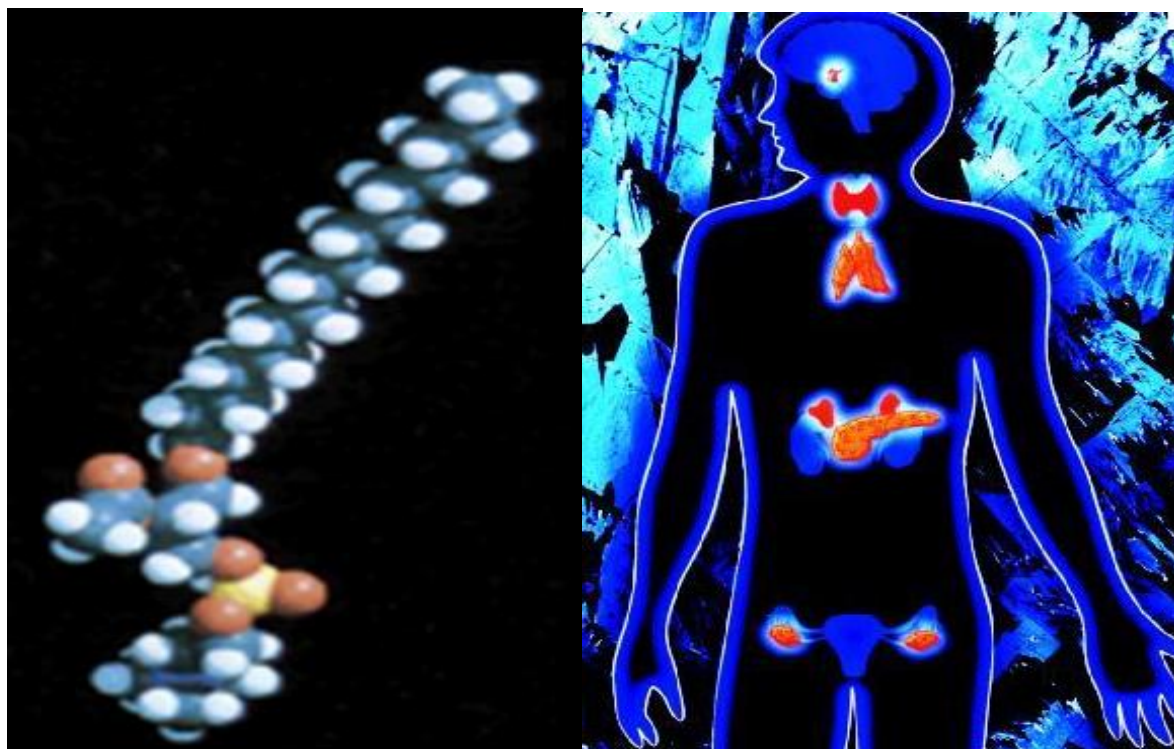
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ ΣΕ
ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟΥΣ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΕ ΦΑΙΝΟΜΕΝΙΚΑ ΥΓΙΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟ**

ΠΑΤΗΝΙΩΤΗ ΙΩΑΝΝΑ

A.M. 4421003



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ : ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΥ ΣΜΑΡΑΓΔΗ

ΝΟΜΙΚΟΣ ΤΖΩΡΤΖΗΣ

ΦΡΑΓΚΟΠΟΥΛΟΥ ΕΛΙΣΑΒΕΤ

ΑΘΗΝΑ 2012



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ ΣΕ
ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟΥΣ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΕ ΦΑΙΝΟΜΕΝΙΚΑ ΥΓΙΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟ**

ΠΑΤΗΝΙΩΤΗ ΙΩΑΝΝΑ

A.M. 4421003

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ : ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΥ ΣΜΑΡΑΓΔΗ

ΝΟΜΙΚΟΣ ΤΖΩΡΤΖΗΣ

ΦΡΑΓΚΟΠΟΥΛΟΥ ΕΛΙΣΑΒΕΤ

ΑΘΗΝΑ 2012

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή έλαβε χώρα στο εργαστήριο Βιολογίας, Βιοχημείας και Φυσιολογίας του ανθρώπου και των μικροοργανισμών του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου υπό την επίβλεψη της Καθηγήτριας Σμαραγδής Αντωνοπούλου, την οποία και θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς για την καθοδήγησή της, το αμέριστο ενδιαφέρον της και την προσφορά τόσο των επιστημονικών γνώσεων, όσο και της εμπειρίας της στον σχεδιασμό και την υλοποίηση της μελέτης.

Ευχαριστώ επίσης βαθύτατα τον κ. Νομικό Τζώρτζη, Επίκουρο Καθηγητή Βιοχημείας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου για την πολύτιμη βοήθεια του στην εις βάθος κατανόηση της βιοχημείας του ΡΑΦ, την συμπαράστασή του καθ' όλη την διάρκεια της έρευνας, την σημαντική συμβολή του σε όλα τα ζητήματα που προέκυψαν και την καθοδήγησή του βήμα προς βήμα με υπομονή και επιμονή.

Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Φραγκοπούλου Ελισάβετ, Λέκτορα Βιοχημείας, για την χρήσιμη συμβολή της κάθε στιγμή στην πορεία της μελέτης.

Ιδιαίτερη ευγνωμοσύνη οφείλω στην κ. Ντετοπούλου Παρασκευή, Διδάκτορα Κλινική Διαιτολόγο, για την συμπαράστασή της, το ενδιαφέρον της, την επιστημονική συμβολή της στην μελέτη και την ουσιαστική βοήθειά της στην στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων και την ερμηνεία τους.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την Υποψήφια Διδάκτορα, κ.Μικελλίδη Αναστασία και να υπογραμμίσω την συμβολή της στην μύησή μου στο εργαστηριακό μέρος της μελέτης, την καθοδήγησή της για την διεξαγωγή των πειραμάτων και την βοήθειά της στην κατανόηση των τεχνικών που χρησιμοποιήθηκαν.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον σύζυγο και τους γονείς μου για την δημιουργία και την εξασφάλιση του κατάλληλου περιβάλλοντος και την στήριξή τους για την πραγματοποίηση των στόχων και επιθυμιών μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ABSTRACT

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ – ΠΑΡΑΓΩΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ (PAF)

1.1 Εισαγωγή	7
1.2 Δομή του PAF	7
1.3 Τρόπος δράσης του PAF	9
1.4 “PAF-like” lipids και “PAF-like activity lipids”	11
1.5 Μεταβολισμός του PAF	12
1.5.1 Βιοσυνθετικές πορείες του μεταβολισμού του PAF	12
1.5.2 Μεταβολικές πορείες αποικοδόμησης του PAF	19
1.5.3 Περιγραφή των κυριότερων χαρακτηριστικών των ενζύμων του μεταβολισμού του PAF	22
1.5.4 Στοιχεία ρύθμισης των μεταβολικών πορειών του PAF	26
1.5.5 Η σχέση του PAF με άλλους λιποειδικούς μεσολαβητές	28
1.6 Κυτταρικές πηγές	29
1.7 Δράσεις PAF	30
1.7.1 Κυτταρικό επίπεδο	30
1.7.2 Επίπεδο ιστών – οργάνων (παθοφυσιολογία)	31
- PAF και ανοσοποιητικό σύστημα	31
- PAF και καρδιαγγειακό σύστημα	33
- PAF και αναπνευστικό σύστημα	36
- PAF και νευρικό σύστημα	37
- PAF και οστά	38
- PAF και νεφροί	39
- PAF και κυτταρική απόπτωση	39
- PAF και πόνος	41
- PAF και αναπαραγωγή	41
- PAF και καρκίνος	42

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΚΑΙ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

2.1 Συνοπτική παρουσίαση ανοσοποιητικού συστήματος	44
2.2 Συνοπτική παρουσίαση ενδοκρινικού συστήματος	46

2.3	Επικοινωνία συστημάτων – supersystem model	47
2.4	Ανοσοποιητικό σύστημα και υποθαλαμοϋποφυσιακο-επινεφριδιακός άξονας	49
2.5	Ανοσοποιητικό σύστημα και υποθαλαμοϋποφυσιακο-θυρεοειδικός άξονας	52
2.6	Ανοσοποιητικό σύστημα και αναπαραγωγικός άξονας (υποθαλαμοϋποφυσιακός άξονας των γονάδων)	54
2.7	Ανοσοποιητικό σύστημα και προλακτίνη	57
2.8	Ανοσοποιητικό σύστημα και εγκυμοσύνη	57
2.9	Ανοσοποιητικό σύστημα και παραθυρεοειδείς αδένες	58
2.10	Ανοσοποιητικό σύστημα και υποθαλαμοϋποφυσιακός άξονας της αυξητικής ορμόνης	59
2.11	Ανοσοποιητικό σύστημα και ορμόνες της όρεξης	61
2.12	Ανοσοποιητικό σύστημα και ορμόνες του γαστρεντερικού σωλήνα	62
2.13	Ανοσοποιητικό σύστημα και συμπαθητικό νευρικό σύστημα (κατεχολαμίνες)	63
2.14	Αλληλεπιδράσεις ανοσοποιητικού και ενδοκρινικού συστήματος και συστηματικά νοσήματα	63
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΡΑΕ		
3.1	Κορτικοστεροειδή και ΡΑΕ	66
3.2	Λεπτίνη και ΡΑΕ	68
3.3	ΡΑΕ και ορμόνες του φύλου	69
3.4	Ινσουλίνη και ΡΑΕ	72
3.5	ΡΑΕ και θυρεοειδικές ορμόνες	73
3.6	Επίλογος	73
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : ΣΚΟΠΟΣ		
 <u>ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</u>		
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ		
5.1	Πρωτόκολλο εθελοντών	75
5.2	Αξιολόγηση διατροφικών συνηθειών	75
5.3	Προσδιορισμός του ΡΑΕ και των ενζύμων του μεταβολισμού του	76
5.4	Πρωτόκολλα ποσοτικού προσδιορισμού πρωτεϊνών – ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent assay: Ενζυμοσύνδετη ανοσοπροσροφητική μέτρηση)	76
5.4.1	ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ	76
5.4.2	ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΟΡΤΙΖΟΛΗΣ	81

5.4.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ	84
5.5 Στατιστική ανάλυση	86
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
6.1 Βασικά χαρακτηριστικά πληθυσμού	88
6.2 Επίπεδα ορμονών στον πληθυσμό της μελέτης	93
6.3 Συσχέτιση του PAF και των ενζύμων του μεταβολισμού του με τις ορμόνες	97
6.3.1 ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	98
6.3.2 ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ	99
6.3.3 ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ	101
6.4 Επίδραση διατροφικών συνηθειών του πληθυσμού στα επίπεδα των ορμονών	105
6.4.1 ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	106
6.4.2 ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ	113
6.4.3 ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ	118
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΣΥΖΗΤΗΣΗ	
7.1 Σημασία της μελέτης	122
7.2 Ο πληθυσμός της μελέτης	123
- Περιγραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης	
- Επίπεδα των ορμονών του πληθυσμού της μελέτης	
7.3 Σχολιασμός των σημαντικότερων ευρημάτων ανά ορμόνη	126
7.3.1 ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	127
- Σχολιασμός συσχετίσεων μεταξύ της ινσουλίνης και του PAF / ενζύμων μεταβολισμού του	
- Σχολιασμός συσχετίσεων μεταξύ της ινσουλίνης και των διατροφικών συνηθειών του πληθυσμού της μελέτης	
7.3.2 ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ	129
- Σχολιασμός συσχετίσεων μεταξύ της κορτιζόλης και του PAF / ενζύμων μεταβολισμού του	
- Σχολιασμός της σχέσης της κορτιζόλης με το άγχος	
- Σχολιασμός συσχετίσεων μεταξύ της κορτιζόλης και των διατροφικών συνηθειών του πληθυσμού της μελέτης	
7.3.3 ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ	131
- Σχολιασμός συσχετίσεων μεταξύ της αδιπονεκτίνης και του PAF/ ενζύμων μεταβολισμού του	
- Σχολιασμός συσχετίσεων μεταξύ της αδιπονεκτίνης και των διατροφικών συνηθειών του πληθυσμού της μελέτης	
7.4 Περιορισμοί της μελέτης	133
7.5 Συμπεράσματα	134
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	136

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ενδοκρινικό σύστημα αποτελεί το κατεξοχήν επικοινωνιακό σύστημα του οργανισμού με κύριο αντιπρόσωπό του τις ορμόνες. Η σημασία της αλληλεπίδρασης και της λειτουργίας, ως μία μονάδα, των διαφόρων συστημάτων του οργανισμού, και κυρίως του ενδοκρινικού με το ανοσοποιητικό σύστημα, μελετάται όλο και περισσότερο τα τελευταία χρόνια. Ο PAF είναι ένας πανίσχυρος ενεργοποιητής και μεσολαβητής πολλών λειτουργιών τόσο σε κυτταρικό όσο και σε επίπεδο ιστών και οργάνων και καθώς αποτελεί έναν επάξιο αντιπρόσωπο του ανοσοποιητικού συστήματος, μέσα από το πρίσμα του μπορεί να διερευνηθεί αυτή η σχέση.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης αφορά κατά κύριο λόγο την διερεύνηση της αλληλεπίδρασης των ορμονών και συγκεκριμένα της ινσουλίνης, της κορτιζόλης και της αδιπονεκτίνης, με όλο το πλαίσιο του μεταβολισμού του PAF (μορφές PAF, ένζυμα μεταβολισμού του και μεταβολικά πρότυπα) σε φαινομενικά υγιή πληθυσμό. Επιπρόσθετα, μελετήθηκε και η σχέση των διατροφικών συνηθειών του ίδιου πληθυσμού με τα επίπεδα των συγκεκριμένων ορμονών.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με το καταβολικό ένζυμο του PAF (PAF-AH), του δείκτη ινсуλινoαντίστασης (HOMA IR) με το βιοσυνθετικό ένζυμο του PAF, την PAF-CPT, της κορτιζόλης και της αδιπονεκτίνης με συγκεκριμένα μεταβολικά πρότυπα του PAF και τέλος οι συσχετίσεις των διατροφικών συνηθειών εκφρασμένες είτε ως μεμονωμένα τρόφιμα ή ομάδες τροφίμων ή μακροθρεπτικά συστατικά είτε ως διατροφικά πρότυπα με τα επίπεδα των τριών αυτών ορμονών. Επιπλέον σημαντικό εύρημα αποτελεί η αρνητική συσχέτιση τόσο της ινσουλίνης, όσο και του HOMA IR με όλους τους μετρούμενους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας της διαίτας για το γυναικείο φύλο, η έλλειψη συσχέτισης της πρωινής κορτιζόλης με το άγχος και οι διαφορές των ευρημάτων μεταξύ των δύο φύλων.

Φαίνεται λοιπόν ότι υπάρχει αλληλεπίδραση και συνεργασία του ορμονικού συστήματος και του μεταβολικού πλαισίου του PAF, γεγονός που έχει επιβεβαιωθεί και από άλλες παρόμοιες μελέτες στο παρελθόν. Επίσης φαίνεται ότι οι διατροφικές συνήθειες ίσως παίζουν τον δικό τους ρόλο και κυρίως όσον αφορά την ινσουλίνη. Η εύρεση της επίδρασης των ορμονών στον PAF και τα ένζυμά του προσθέτει ένα επιπλέον πλεονέκτημα στην προσπάθεια διερεύνησης αυτής της σχέσης, που κρύβει ολόκληρο βιοχημικό – παθοφυσιολογικό μηχανισμό απάντησης του οργανισμού στην προσπάθεια διατήρησης της ομοιοστασίας του και αποκτά ιδιαίτερη σημασία καθώς η αντίστοιχη βιβλιογραφία είναι μικρή και παλαιή. Επιπρόσθετα, είναι η πρώτη φορά που διερευνάται αυτή η σχέση ως συγχρονική μελέτη.

ABSTRACT

The endocrine system is the main human system of communication and hormones are its basic chemical substances and also its “language”. The interaction and the operation, as a unit, of human systems, and mainly the endocrine – immune interactions are studied more and more the last years. PAF is a potent stimulator and mediator of a lot of factions in cellular level but also in organic level. As PAF is a basic unit of immune system, insight it we have the opportunity to study this relation.

The purpose of this study is mainly to investigate the hormonal interactions of insulin, cortisol and adiponectin with PAF and its metabolic enzymes, in seeming healthy population. Furthermore, in this study, it was investigated the relation of the dietary habits, in the same population, with the former hormonal plasma levels.

In particular interesting, the main findings of this study was the following correlations: adiponectin with the catabolic enzyme of PAF (PAF-AH), the insulin resistance index (HOMA IR) with the biosynthetic enzyme of PAF, PAF-CPT, cortisol and adiponectin with some of metabolic models of PAF and last but not least, the correlations of dietary habits of the same population with the plasma levels of the former hormones. Moreover, a very important finding was the negative correlation of insulin and HOMA IR with all measurement indexes of the dietary anti-oxidant capacity in women, the lack of the morning plasma cortisol correlation with anxiety and the sex differences of findings.

It seems that there is PAF / PAF enzymes - hormones interaction, which is in agreement with other similar studies. It seems also that the dietary habits may have their own role and mainly insulin. The finding of the hormonal impact on PAF and its enzymes add one more advantage to the scientific effort of elucidation of this relation, which hides a whole biochemical and pathophysiological mechanism. This work is interesting because the similar studies are very few and old. Moreover, this relation was investigated for first time as prevalence study.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ –

ΠΑΡΑΓΩΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ (PAF)

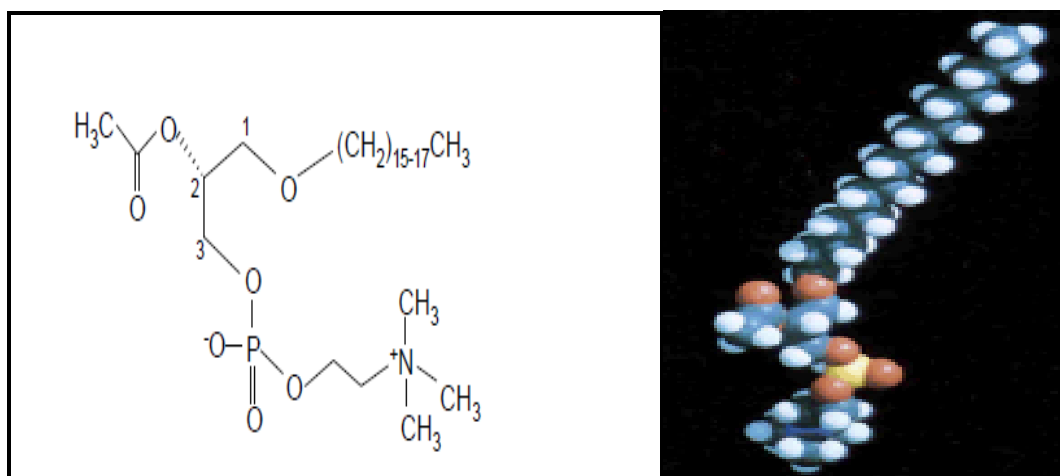
1.1 Εισαγωγή

Ο Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (**Platelet Activating Factor – PAF**) αποτελεί λιποειδική ένωση που ανήκει στην τάξη των φωσφολιποειδών και συνιστά ένα από τα πρώτα μόρια που απέδωσε στα φωσφολιπίδια, πέραν του γνωστού δομικού τους ρόλο, βιολογική δραστηριότητα. Ο PAF είναι ένας ισχυρός ενεργοποιητής και μεσολαβητής πολλών λειτουργιών τόσο σε κυτταρικό όσο και σε επίπεδο ιστών και οργάνων, δίνοντας ένα ισχυρό παρών στην φυσιολογία και την παθοφυσιολογία πολλών διαφορετικών οργανισμών. Ενδείξεις για την ύπαρξη αυτού του μορίου υπήρχαν από το 1966 – 1970, όταν παρατηρήθηκε ενεργοποίηση και συσσώρευση αιμοπεταλίων με ταυτόχρονη έκκριση ισταμίνης, μετά από επίδραση αντιγόνου σε λευκοκύτταρα και την απελευθέρωση ενός άγνωστου διαλυτού παράγοντα που αργότερα ονομάστηκε Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων από τους Benveniste, Henson και Cochrane (1972). Η συγκεκριμένη ονομασία παρέμεινε ακόμη και σήμερα χωρίς να αντιπροσωπεύει πλέον την ποικιλία των δράσεων και χαρακτηριστικών του μορίου αυτού. Ο προσδιορισμός της δομής του PAF έλαβε χώρα το 1979 με την ημισυνθετική παρασκευή του μορίου από τους Demopoulos, Hanahan και Pinckard και λίγο αργότερα την ίδια χρονιά από άλλες δύο ερευνητικές ομάδες. Ο PAF με το πέρασμα του χρόνου παραμένει στο επίκεντρο της έρευνας καθώς η συμμετοχή του σε σημαντικές διεργασίες τόσο του κυττάρου όσο και του οργανισμού όλο και αυξάνεται (1,2).

1.2 Δομή του PAF

Η ονομασία της ένωσης κατά IUPAC ως **1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη** προσδιορίζει δομικά την ένωση ως ένα γλυκεριναιθερικό ανάλογο της φωσφατιδυλοχολίνης. Στην πρώτη θέση του γλυκερινικού σκελετού συνδέεται, με αιθερικό δεσμό, μια λιπαρή αλυσίδα που περιλαμβάνει συνήθως 16 – 18 άτομα άνθρακα και είναι κορεσμένη ή ακόρεστη με έναν ή δύο διπλούς δεσμούς. Στη δεύτερη θέση βρίσκεται

εστεροποιημένο ένα οξικό οξύ και στην τρίτη θέση υπάρχει μία ομάδα φωσφοχολίνης (Εικόνα 1.1).

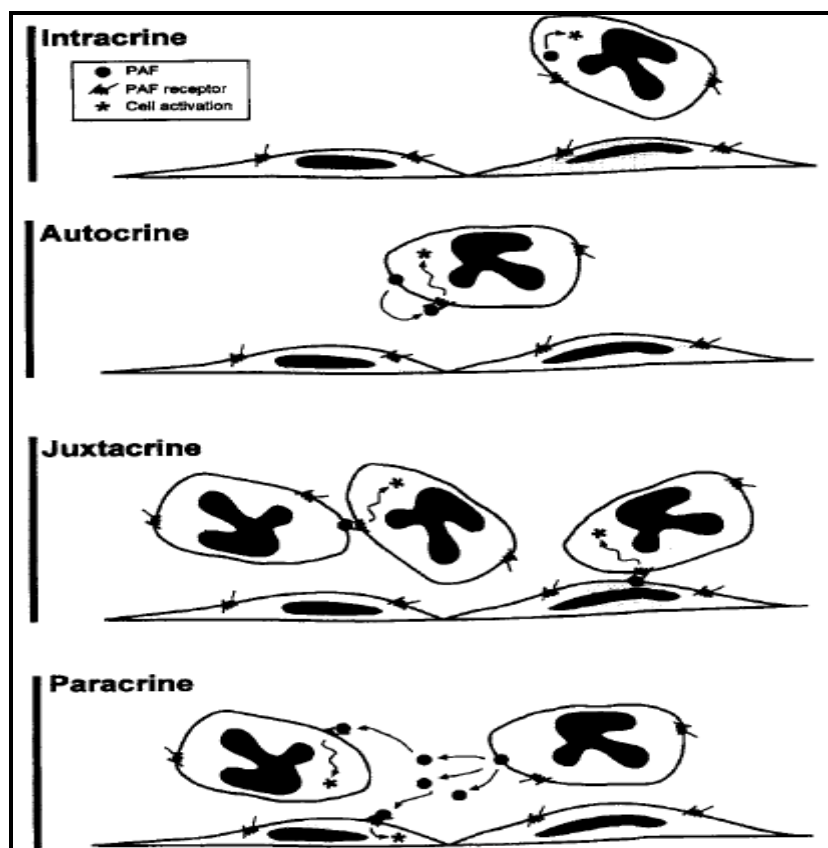


Εικόνα 1.1 : Δομή του PAF (1)

Η συγκεκριμένη χημική δομή παρουσιάζει δύο χαρακτηριστικά, τα οποία είναι ασυνήθιστα για τα φωσφολιποειδή: (α) στον άνθρακα C1 της γλυκερόλης υπάρχει αιθερικός δεσμός με ένα μεγάλο αλκύλιο, κάτι το ασυνήθιστο, αφού ο κανόνας είναι η ύπαρξη εστερικού δεσμού με μακράς αλυσού λιπαρά οξέα και (β) το υδροξύλιο του άνθρακα C2 της γλυκερόλης είναι εστεροποιημένο με οξικό οξύ, κάτι το οποίο είναι επίσης ασυνήθιστο λόγω του μικρού μεγέθους του οξέος (1, 3). Η αντικατάσταση όμως του οξικού οξέος στην sn-2 θέση με οξέα, με ανθρακική αλυσίδα μεγαλύτερη των 4 ατόμων άνθρακα, συνεπάγεται την απώλεια της βιολογικής δραστηριότητας της ένωσης, ενώ η απομάκρυνσή του συνεπάγεται τη δημιουργία ενός άλλου μορίου, του λυσο-PAF, στο οποίο σχετικά προσφάτως αποδόθηκαν επίσης ενδιαφέρουσες δράσεις. Επιπρόσθετα τα εστερικά ανάλογα του PAF παρουσιάζουν βιολογική δραστηριότητα μικρότερη των αντίστοιχων αιθερικών αναλόγων. Μεταβολή στη δραστηριότητα παρουσιάζεται επίσης αναλόγως με το είδος των δεσμών της λιπαρής αλυσίδας στη θέση 1, όπως και με το είδος της βάσης (χολίνη, αιθανολαμίνη κ.α) στην θέση 3 του σκελετού της γλυκερόλης. Από την πλευρά της στεreoχημείας μόνο το L – ισομερές παρουσιάζει δραστηριότητα. Η φυσική δομή του PAF, όπως περιγράφηκε, παρουσιάζει την μεγαλύτερη δραστηριότητα σε σχέση με διάφορες παραλλαγές του μορίου (που προκύπτουν από την ευρεία δράση των ενζύμων του μεταβολισμού του) (3, 4).

1.3 Τρόπος δράσης του PAF

Ο PAF εκδηλώνει τις δράσεις του σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις, συνήθως της τάξεως των $10^{-12} \text{ M} - 10^{-9} \text{ M}$. Ένας μεγάλος αριθμός κυττάρων έχει την ικανότητα να βιοσυνθέτει το μόριο του PAF μετά από διέγερση από πληθώρα διαφορετικών παραγόντων, αλλά και σε συνεχή, σταθερή παραγωγή για την διατήρηση των φυσιολογικών επιπέδων του στο αίμα και στους ιστούς. Ο PAF στη συνέχεια, επιδρά στα ίδια τα κύτταρα ως ενδοκυτταρικός μεσολαβητής ή εκκρίνεται και δρα αυτοκρινικά ή και παρακρινικά. Μία διαφορετική και εξίσου σημαντική πορεία είναι η μεταφορά του από το εσωτερικό του κυττάρου στην εξωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης και η δράση του ως μεμβρανοσύνδετος μεσολαβητής ενεργοποιώντας γειτονικά κύτταρα (5, 6) (Εικόνα 1.2).



Εικόνα 1.2 : Τρόπος δράσης του PAF (6)

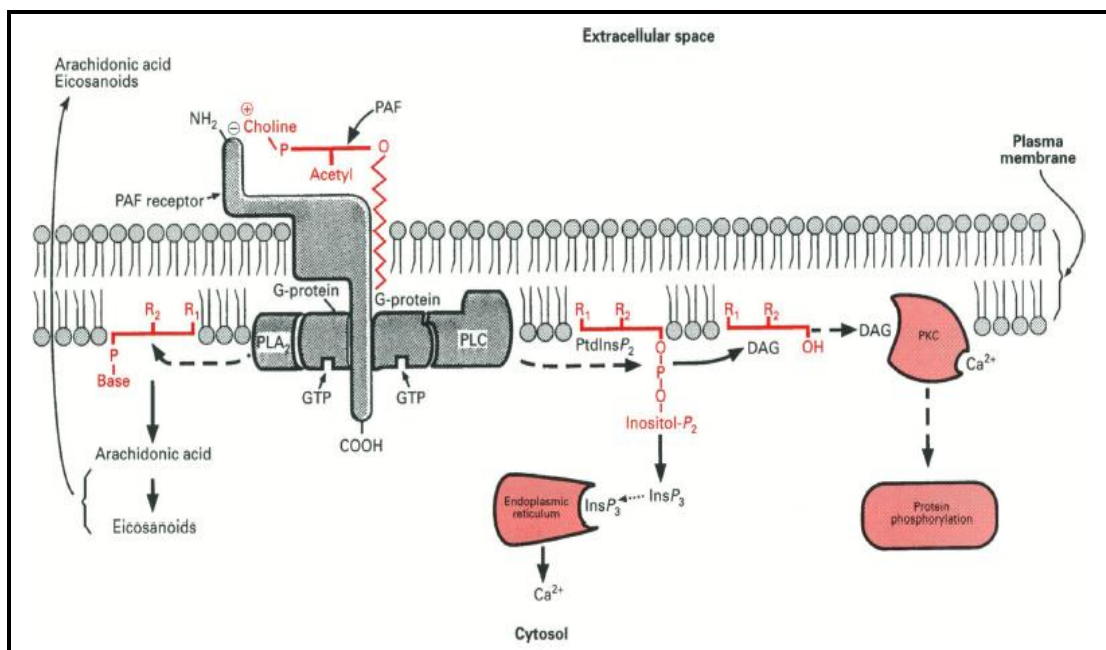
Ο PAF ασκεί τις δράσεις του, στην πλειονότητα των περιπτώσεων, συνδεδεμένος με τον υποδοχέα του (PAFR). Στον άνθρωπο εκφράζεται ένα μόνο είδος υποδοχέα, το γονίδιο του οποίου βρίσκεται στο χρωμόσωμα 1, δεν περιέχει ιντρόνια και κωδικοποιεί δύο διαφορετικά

μετάγραφο, η έκφραση των οποίων καθορίζεται από δύο διαφορετικούς υποκινητές. Το μετάγραφο 1 εκφράζεται κυρίως σε λευκοκύτταρα του περιφερικού αίματος και κύτταρα του μυελού των οστών ενώ το μετάγραφο 2 εκφράζεται κυρίως στην καρδιά, τους πνεύμονες, τον σπλήνα, τους νεφρούς, το δέρμα και σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές εντερικού επιθηλίου και καρκινικών κυττάρων. Και οι δύο τύποι μεταγράφων κωδικοποιούν μία μονή πολυπεπτιδική αλυσίδα 342 αμινοξέων. Ο PAFR ανήκει στην οικογένεια των υποδοχέων που δρουν συζευγμένα με τις διαμεμβρανικές G-πρωτεΐνες καθώς αποτελούνται από επτά υδρόφοβες αλυσίδες που διαπερνούν ελικοειδώς την κυτταρική μεμβράνη. Μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις της πρωτεΐνης την καθιστούν ικανή για την σύνδεσή της στην επιφάνεια του κυττάρου (2, 7, 8).

Αποτελεί ιδιαίτερης σημασίας το γεγονός ότι μόρια που παρουσιάζουν παρόμοια δομή με τον PAF μπορούν επίσης να δράσουν μέσω του υποδοχέα, όπως οξειδωμένα φωσφολιποειδή ή συστατικά βακτηριακών τοιχωμάτων όπως λιποπολυσακχαρίτες και φωσφοχολίνη. Ιδιαίτερα αυξημένη τάση σύνδεσης με τον υποδοχέα δημιουργούν χαρακτηριστικά όπως η παρουσία αιθερικού δεσμού στην sn-1 θέση και μικρή ακυλοαλυσίδα των 2 -3 ατόμων άνθρακα στην sn-2 θέση του γλυκερινικού σκελετού.

Η σύνδεση του PAF με τον υποδοχέα του αποτελεί την έναρξη πολλαπλών μονοπατιών μεταγωγής σήματος και την ενεργοποίηση διαδικασιών όπως της αλληλομετατροπής των λιπιδίων μέσω φωσφολιπασών (C, A₂, D), όπως για παράδειγμα η παραγωγή τριφωσφορικής ινοσιτόλης (IP₃) και διακυλογλυκερόλης (1,2 DAG) μέσω της ενεργοποίησης της φωσφολιπάσης C με συνέπεια την τροποποίηση των επιπέδων του ενδοκυτταρικού ασβεστίου. Μία διαφορετική διαδικασία μεταγωγής σήματος πραγματοποιείται μέσω ενεργοποίησης καταρρακτών MAP κινασών, οι οποίες φωσφορυλιώνουν και ενεργοποιούν την φωσφολιπάση A₂ στην κυτταρική μεμβράνη, απελευθερώνοντας αραχιδονικό οξύ και συνεισφέροντας τελικά στην παραγωγή εικοσανοειδών (θρομβοξάνια, λευκοτριένια, προσταγλανδίνες). Εκτός από τις προαναφερόμενες ενεργοποιούνται και διαφορετικές κατηγορίες πρωτεϊνικών κινασών, όπως τυροσινική κίνηση , πρωτεϊνική κίνηση C και ο καταρράκτης JAK κινασών (1, 2, 9).

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να τονιστεί ότι η σύνδεση του PAF με τον υποδοχέα του έχει την ικανότητα να τροποποιήσει μεταγραφικούς παράγοντες και κατά συνέπεια την έκφραση διαφόρων γονιδίων, όπως για παράδειγμα το c-fos, c-jun, krox-24 και άλλα γονίδια που κωδικοποιούν κυτταροκίνες, ένζυμα και αυξητικούς παράγοντες (1, 2, 10).



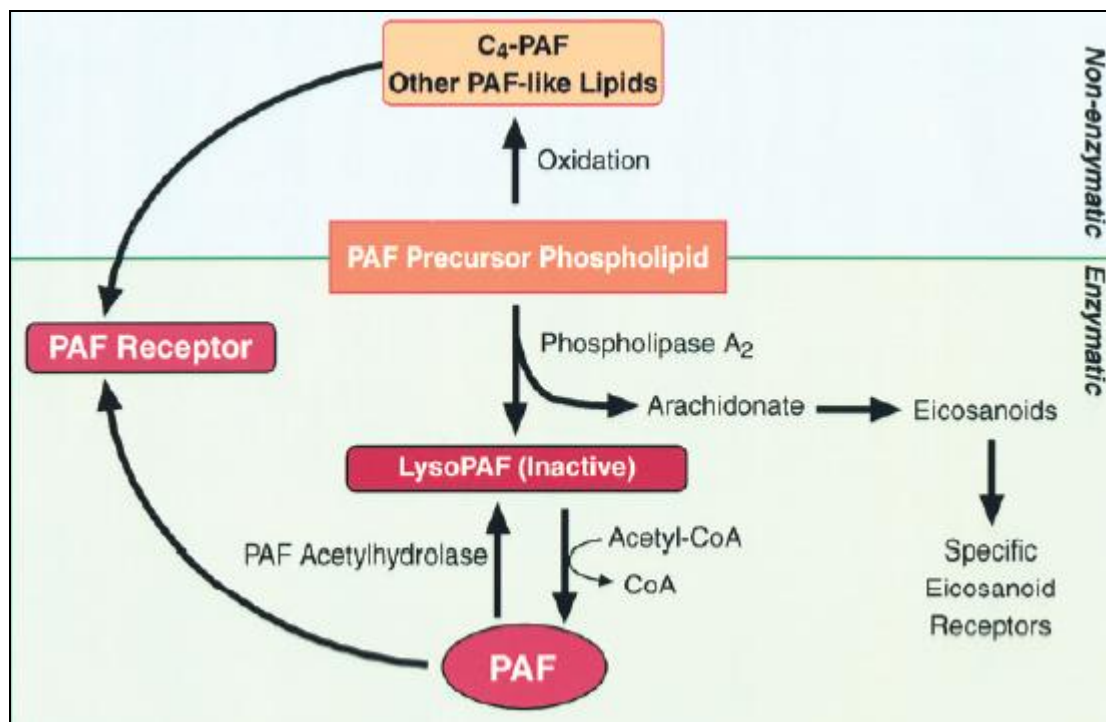
Εικόνα 1.3 : Μονοπάτια μεταγωγής σήματος μετά την ενεργοποίηση του PAFR (8)

1.4 “PAF-like” lipids και “PAF-like activity lipids”

Ο PAF φαίνεται να ανήκει σε μία οικογένεια λιποειδικών μορίων που μοιάζουν δομικά με τον PAF (“PAF-like” lipids), με μικρές διαφορές, και προκύπτουν είτε λόγω της ευρείας δράσης των ενζύμων του μεταβολισμού του, είτε λόγω των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ευαίσθητων στην οξείδωση, που περιέχουν τα πρόδρομα μόρια της βιοσύνθεσης του PAF. Η οξείδωση των λιπαρών αυτών οξέων της sn-2 θέσης οδηγεί στην παραγωγή οξειδωμένων φωσφολιπιδίων μικρότερης αλυσίδας στη θέση αυτή και κάποια από αυτά πληρούν τις δομικές προϋποθέσεις για την αλληλεπίδρασή τους με τον PAFR (εικόνα 1.4). Επομένως η ικανότητα σύνδεσης με τον υποδοχέα προσδίδει στα μόρια αυτά και τις δράσεις του PAF.

Επιπρόσθετα, υπάρχουν μόρια με διαφορετική καταγωγή και δομή από τον PAF όμως παρόμοια βιολογική δραστηριότητα καθώς παρουσιάζονται ικανά να συνδεθούν με τον υποδοχέα (“PAF-like activity lipids”).

Η γνώση της ύπαρξης των μορίων αυτών είναι σημαντική για την κατανόηση του γενικότερου πλαισίου μέσα στο οποίο δρα και ο PAF (11, 12).



Εικόνα 1.4 : Δημιουργία “PAF-like” lipids και δράση στον PAFR (12)

1.5 Μεταβολισμός του PAF

Η μελέτη, τόσο των βιοσυνθετικών πορειών και της αποικοδόμησής του PAF όσο και των ενζύμων του, αποτελεί κλειδί στην κατανόηση της δράσης και της θέσης του μορίου στις διάφορες, παθολογικές και μη, διεργασίες του ανθρώπινου οργανισμού. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι ακόμη και σήμερα ο μεταβολισμός του PAF παραμένει υπό έρευνα καθώς πολλά σημεία χρειάζεται να διασαφηνιστούν.

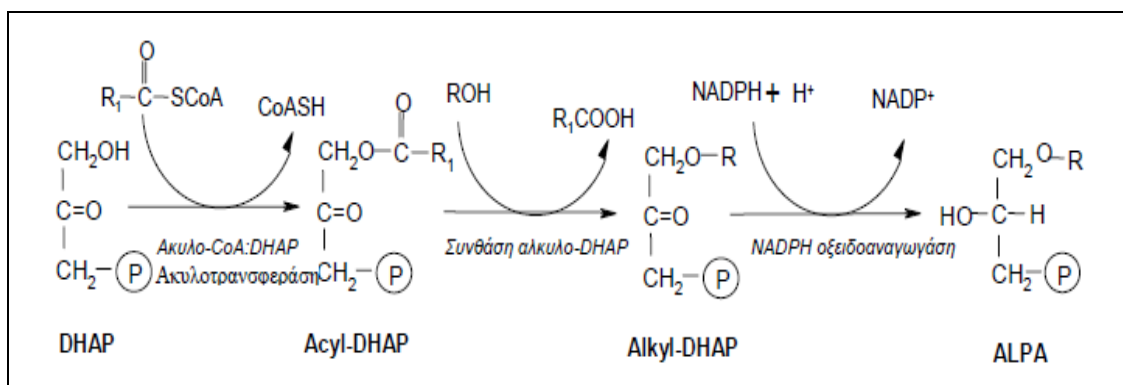
1.5 α) Βιοσυνθετικές πορείες του μεταβολισμού του PAF

Για την ευκολότερη κατανόηση των διεργασιών του μεταβολισμού του PAF, το εναρκτήριο σημείο της περιγραφής τους θα αποτελέσει ο σχηματισμός του αιθερικού δεσμού στα γλυκερινούχα φωσφολιποειδή με τις παρακάτω αντιδράσεις:

- | | | |
|--|---|------------------------------|
| 1) Φωσφοδιυδροξυακετόνη (DHAP) | → | 1-ακυλοφωσφοδιυδροξυακετόνη |
| <i>Ενζυμο: ακυλο-CoA : DHAP ακυλοτρανσφεράση</i> | | |
| 2) 1-ακυλοφωσφοδιυδροξυακετόνη | → | 1-αλκυλοφωσφοδιυδροξυακετόνη |

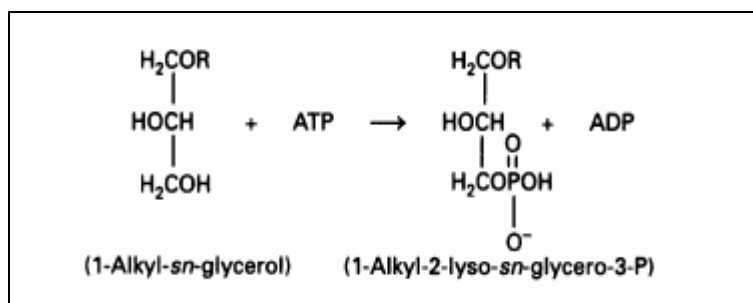
(ακυλο-DHAP)	(αλκυλο-DHAP)
Ενζυμο: συνθάση της αλκυλο-DHAP	

3) 1-αλκυλοφωσφοδιυδροξυακετόνη	→ 1-O-αλκυλο-2-λυσσο-sn-γλυκερυλο-3- P
(αλκυλο-DHAP)	(ALPA)
Ενζυμο: NADPH οξειδοαναγωγή	



Εικόνα 1.5 : Σχηματική απεικόνιση των παραπάνω αντιδράσεων

Η ένωση ALPA μπορεί εναλλακτικά να σχηματιστεί από φωσφορυλίωση αλκυλογλυκερόλων μέσω της ATP:αλκυλογλυκερο - φωσφοτρανσφεράσης (εικόνα 1.6). Η δράση του συγκεκριμένου ενζύμου επιτρέπει σε αλκυλογλυκερόλες της διατροφής και προϊόντα καταβολισμού κυτταρικών αιθερικών λιποειδών να εισέλθουν στα βιοσυνθετικά μονοπάτια παραγωγής του PAF ή των δομικών λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών (αιθερικά λιποειδή με μακριάς αλυσού ακυλο-ομάδες στην sn-2 θέση) (13).



Εικόνα 1.6 : Σχηματισμός ALPA από αλκυλογλυκερόλες

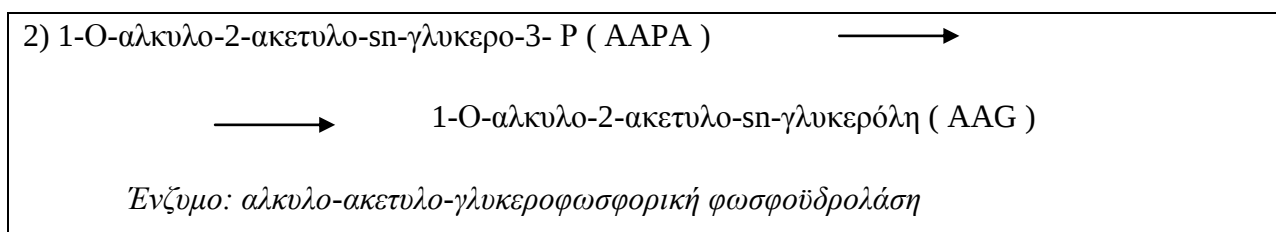
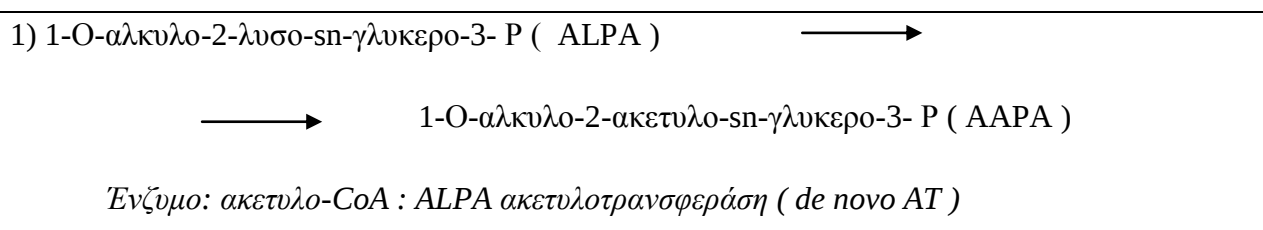
Δύο διαφορετικές βιοσυνθετικές οδοί του PAF έχουν περιγραφεί με λεπτομέρεια: η **de novo** και η **remodeling** πορεία (2, 13, 14). Φαίνεται ότι η πρώτη αντιπροσωπεύει την συνεχή και

σταθερή παραγωγή του PAF με σκοπό την διατήρηση φυσιολογικών επιπέδων της ουσίας αυτής στο πλάσμα και στους ιστούς, ενώ η δεύτερη απαντά σε διάφορα ερεθίσματα, φλεγμονώδη ή μη, με σκοπό την άμεση παραγωγή PAF – έναρξη διεργασιών απόκρισης του ιστού ή του οργανισμού σε κάποιο ερέθισμα.

Ο σχηματισμός της ένωσης ALPA αποτελεί καίριο σημείο της βιοσύνθεσης των αιθερικών λιποειδών καθώς το ενδιάμεσο αυτό προϊόν του μεταβολισμού πρωταγωνιστεί τόσο στην *de novo* σύνθεση του PAF (1^ο στάδιο), όσο και στη remodeling πορεία, σχηματίζοντας πρόδρομες ενώσεις της πορείας αυτής όπως αλκυλο- ακυλο- γλυκεροφωσφο- χολίνες και αλκυλο- ακυλο- γλυκεροφωσφο-αιθανολαμίνες, που αποτελούν και τα δύο είδη συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών (13).

Η *de novo* πορεία βιοσύνθεσης του PAF

Η σειρά των αντιδράσεων σε αυτή την πορεία περιλαμβάνουν μία ακετυλίωση, μία αποφωσφορυλίωση και την μεταφορά μίας ομάδας φωσφοχολίνης ενεργοποιημένης με τη μορφή κυτιδυλο-διφωσφορικής χολίνης (CDP-χολίνης) και καταλύονται από μία ακετυλοτρανσφεράση, μία φωσφοϋδρολάση και μία φωσφοχολινοτρανσφεράση, αντιστοίχως, με τις παρακάτω αντιδράσεις:



Η απομάκρυνση της φωσφορικής ομάδας στο δεύτερο στάδιο ουσιαστικά αποτελεί μία ενδιάμεση αντίδραση, η οποία ενώνει το πρώτο με το τελευταίο στάδιο και το παράγωγο αυτής εμφανίζει και άλλους ρόλους καθώς είναι ικανό να διεγείρει την διαφοροποίηση των HL-60

κυττάρων σε κύτταρα που μοιάζουν με τα μονοπύρηνα φαγοκύτταρα και να εξασθενεί την διέγερση της πρωτεϊνικής κινάσης C από τις διακυλογλυκερόλες (13).

3) 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερόλη (AAG) $\longrightarrow$

$\longrightarrow$ 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη (PAF)

Ένζυμο: DDT-ανεξάρτητη φωσφοχολινοτρανσφεράση

ή

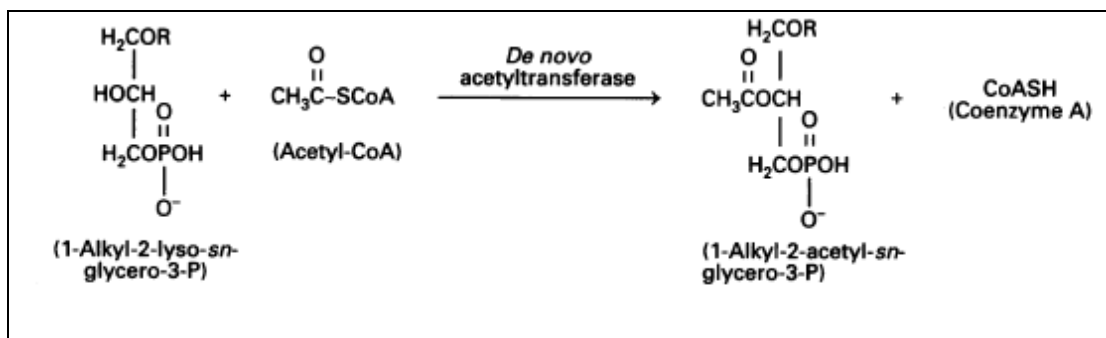
Εναλλακτική πορεία αλκυλο-ακετυλο γλυκερόλης (AAG)

1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερόλη (AAG) $\longrightarrow$

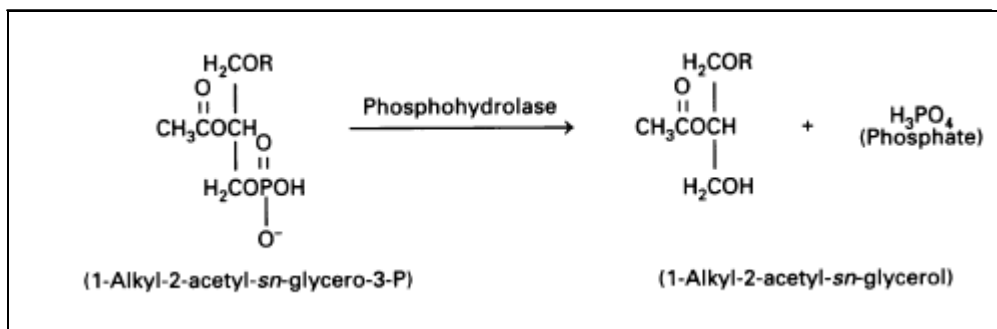
$\longrightarrow$ 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-3-ακυλο-sn-γλυκερόλη

Ένζυμο: ακυλοCoA : AAG ακυλοτρανσφεράση

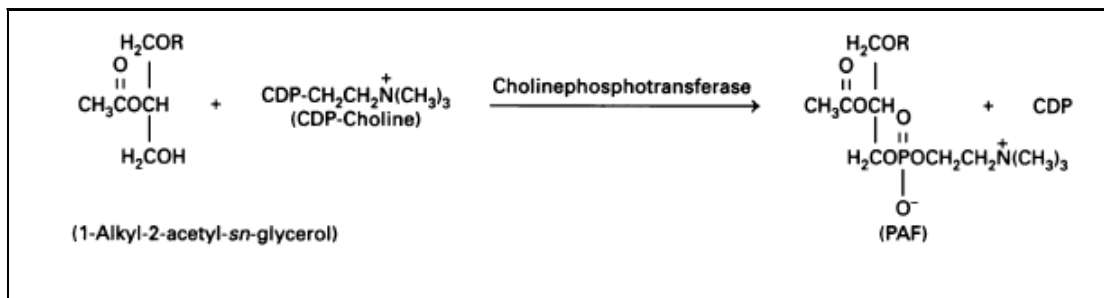
Η ένωση που προκύπτει από την εναλλακτική αντίδραση έχει φυσιολογική σημασία καθώς τέτοιου είδους ενώσεις (π.χ. ακετυλιωμένα αιθερικά ανάλογα των τριγλυκεριδίων) είναι δυνατόν να αποτελούν αποθηκευτικές μορφές για τα ακετυλιωμένα λιποειδή, οι οποίες κάτω από την επίδραση μίας λιπάσης μετατρέπονται και αυτές με την σειρά τους σε πρόδρομες ενώσεις της βιοσύνθεσης του PAF (13).



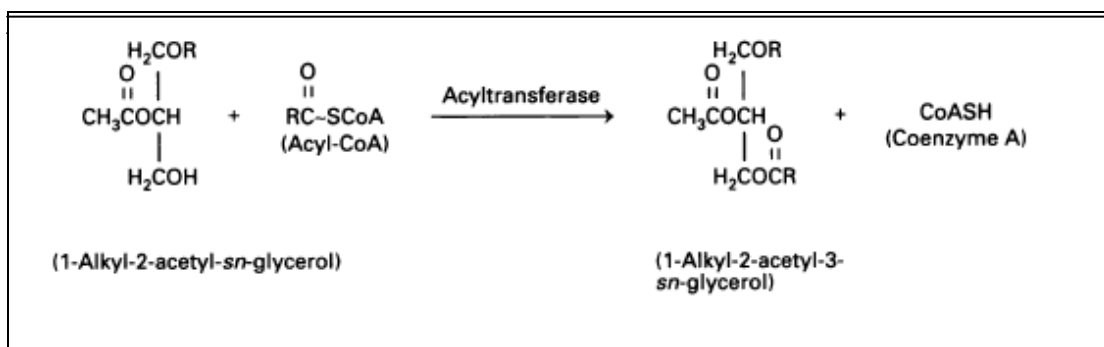
Εικόνα 1.7 : Στάδιο1 de novo πορείας



Εικόνα 1.8 : Στάδιο 2 de novo πορείας



Εικόνα 1.9 : Στάδιο 3 de novo πορείας

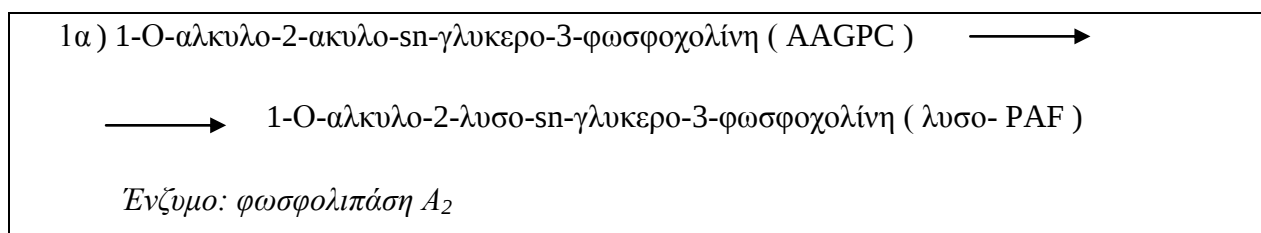


Εικόνα 1.10 : εναλλακτική πορεία AAG

Η remodeling πορεία βιοσύνθεσης του PAF

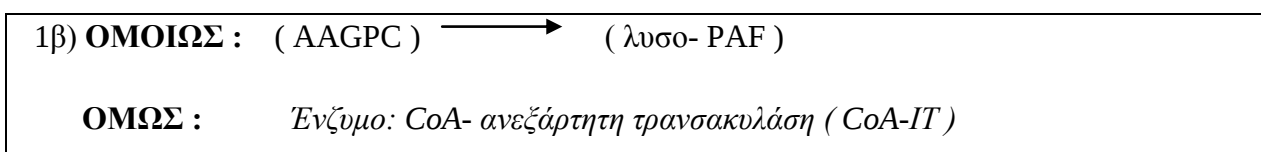
Όπως φαίνεται και από την ονομασία της, στη remodeling πορεία δεν θα έχουμε “έξ’ υπαρχής” βιοσύνθεση του PAF αλλά χημική τροποποίηση προϋπάρχουσων λιποειδικών μορίων τα οποία σχετίζονται με τις κυτταρικές μεμβράνες. Η σειρά των αντιδράσεων σε αυτή την πορεία περιλαμβάνουν μία απακυλίωση και μία ακετυλίωση με ενδιάμεσο προϊόν μία ένωση με ιδιαίτερο ενδιαφέρον, τον λυσο- PAF (2, 13). Η ένωση αυτή μπορεί να παραχθεί με δύο διαφορετικούς τρόπους. Οι αντιδράσεις έχουν ως εξής:

1^{ος} τρόπος

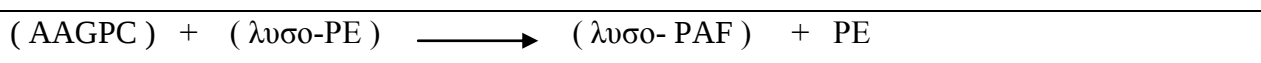


Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι στην sn-2 θέση του πρόδρομου μορίου AAGPC βρίσκονται εστεροποιημένα κυρίως πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (κατά κύριο λόγο αραχιδονικό οξύ). Επομένως με την υδρόλυση της ομάδας στην εν λόγω θέση απελευθερώνονται συνήθως αραχιδονικό οξύ και άλλα εικοσανοειδή.

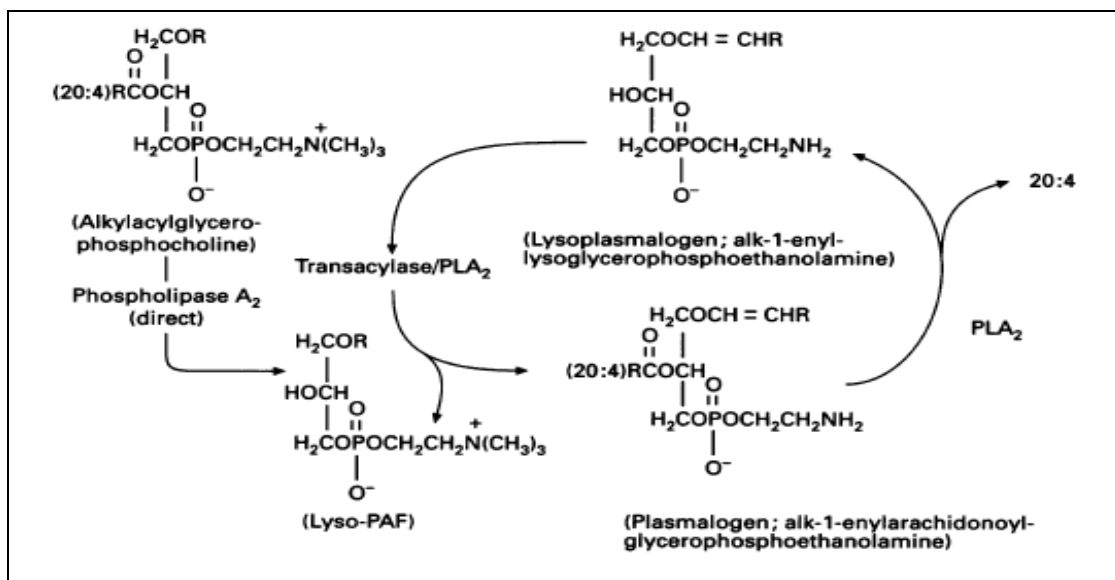
2^{ος} τρόπος



Σε αυτή την περίπτωση το διαφορετικό ένζυμο που χρησιμοποιείται αλλάζει όλη την αντίδραση καθώς πραγματοποιείται μεταφορά ακυλο-ομάδας (κυρίως αραχιδονούλο-) από την sn-2 θέση του AAGPC σε λυσο-πλάσμαλογόνα αιθανολαμίνης (λυσο-PE). Επομένως η αντίδραση ολοκληρωμένη έχει ως εξής:



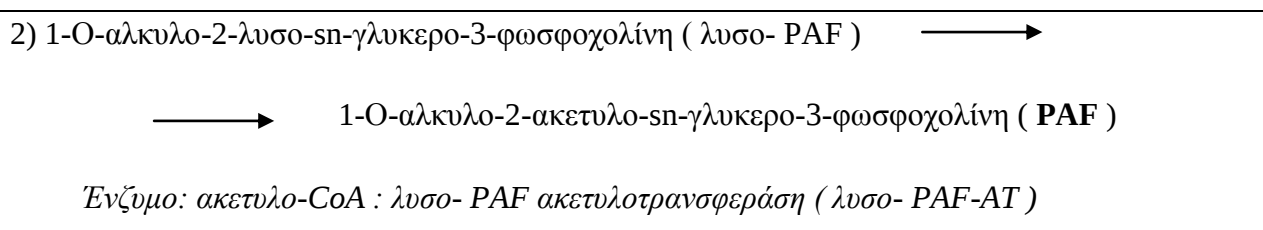
Επιπλέον η λυσο-PE μπορεί να σχηματιστεί από την PE με τη δράση μίας φωσφολιπάσης A₂ ειδικής για τα πλάσμαλογόνα αιθανολαμίνης και για αραχιδονούλο- ομάδες στην sn-2 θέση των πλάσμαλογόνων, δημιουργώντας έναν κύκλο αντιδράσεων (εικόνα 1.11).



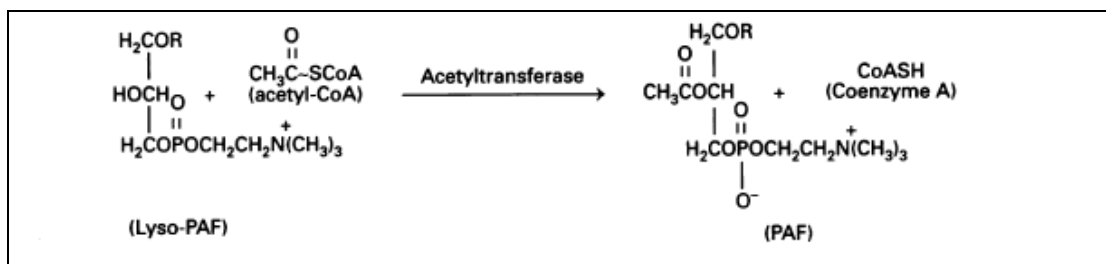
Εικόνα 1.11 : Στάδιο 1 της remodeling πορείας (13)

Υποσημείωση: υπάρχουν συγκεκριμένες προϋποθέσεις που θα πρέπει να πληρούν τα μόρια των λυσο-πλασμαλογόνων (λυσο-PE) για να λειτουργούν ως δέκτες της ακυλ-ομάδας υπό την δράση της CoA- ανεξάρτητης τρανσακυλάσης για την απελευθέρωση του λυσο-PAF, όπως π.χ. να περιέχουν χολίνη ή αιθανολαμίνη ή στην sn-2 θέση να υπάρχει ελεύθερη ομάδα αλκοόλης. Παρόλο το γεγονός ότι όλες οι λυσο-μορφές των πλασμαλογόνων που περιέχουν χολίνη ή αιθανολαμίνη, όπως προαναφέρθηκε, μπορούν να αποδώσουν λυσο-PAF κυρίως χρησιμοποιούνται τα λυσο-πλασμαλόγωνα αιθανολαμίνης, τουλάχιστον για τα ανθρώπινα ουδετερόφιλα (13).

Το δεύτερο στάδιο της remodeling πορείας έχει ως εξής:



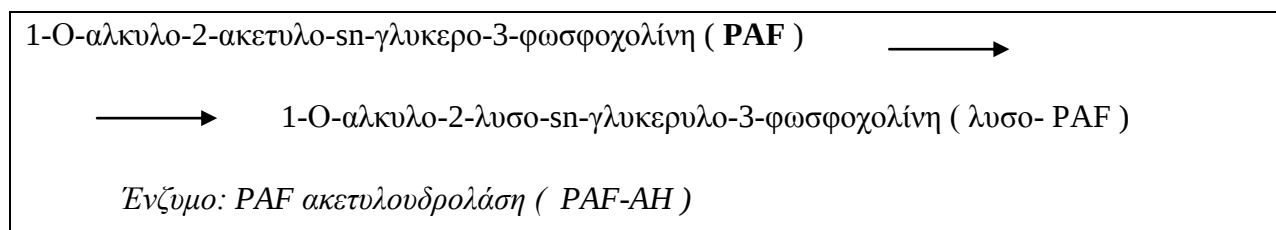
Το φάσμα των υποστρωμάτων της συγκεκριμένης ακετυλοτρανσφεράσης είναι ιδιαίτερα ευρύ, όμως ισχυρότερη τάση σύνδεσης παρουσιάζει ο λυσο- PAF και ακετυλο-CoA ή προπιονύλο-CoA.



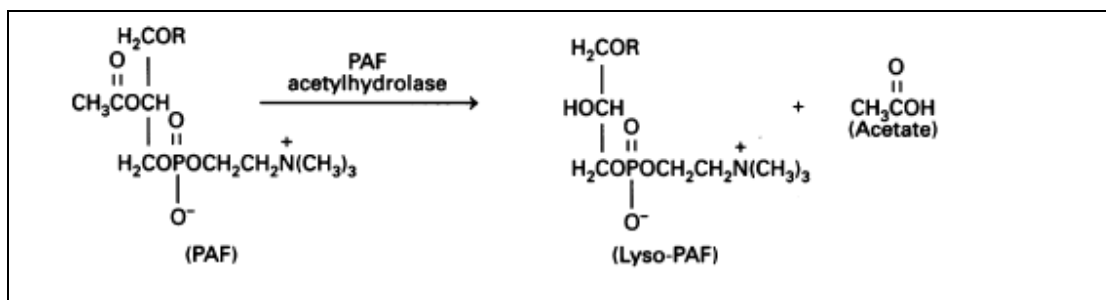
Εικόνα 1.12 : Στάδιο 2 της remodeling πορείας

1.5 β) Μεταβολικές πορείες αποικοδόμησης του PAF

1) Υδρόλυση του PAF από την PAF-AH

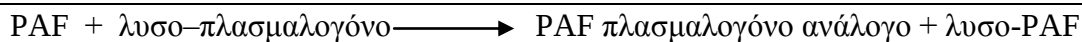


Τόσο η ενδοκυττάρια όσο και η εξωκυττάρια μορφή του ενζύμου εκδηλώνουν παρόμοια εξειδίκευση ως προς τα υποστρώματά τους. Επιπρόσθετα η PAF-AH, εκτός από την υδρόλυση της ακετυλομάδας του PAF, έχει την ικανότητα να χρησιμοποιεί ως υποστρώματα και άλλα φωσφολιπίδια με ακυλομάδα μικρής αλύσου στην sn-2 θέση, συμπεριλαμβάνοντας και προϊόντα – θραύσματα των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων. Το γεγονός αυτό είναι πολύ σημαντικό καθώς τα τελευταία παίζουν σημαντικό ρόλο στη μετατροπή των μακροφάγων κυττάρων σε αφρώδη κύτταρα κατά την ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας (13, 15, 16).



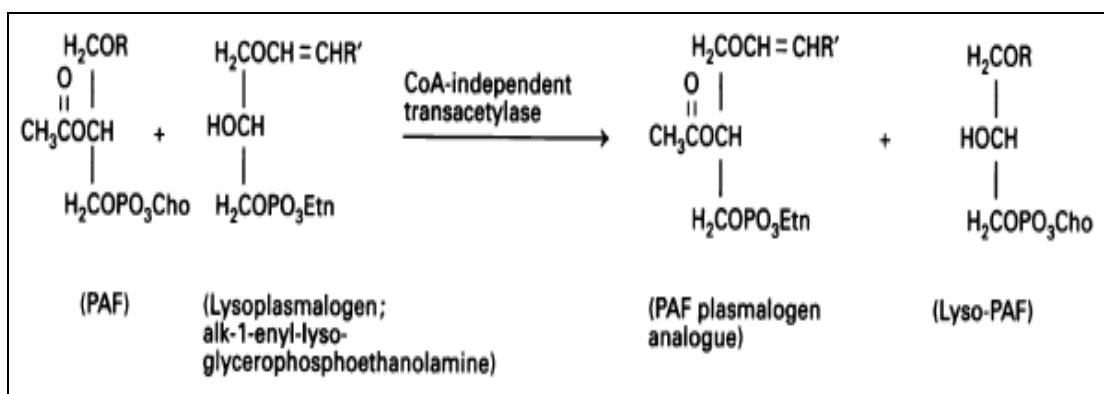
Εικόνα 1.13 : Υδρόλυση του PAF από την PAF-AH

2) Υδρόλυση του PAF από την CoA-ανεξάρτητη τρανσακετυλάση



Ενζυμο: CoA-ανεξάρτητη τρανσακετυλάση

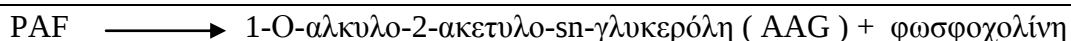
Το ένζυμο αυτό χρησιμοποιεί ως δότη της ακετυλομάδας τον PAF και μία σειρά από άλλα λυσο-φωσφολιπίδια και λιπαρές αλκοόλες μακριάς αλύσου ως δέκτες.



Εικόνα 1.14 : Υδρόλυση του PAF από την CoA-ανεξάρτητη τρανσακετυλάση

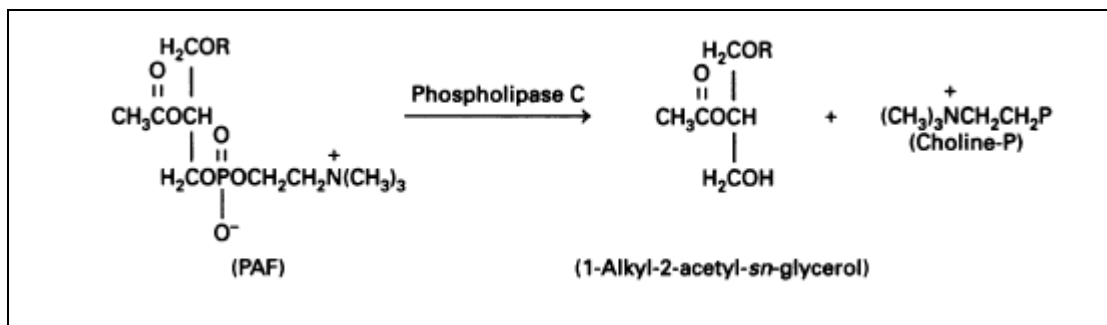
Υποσημείωση: Παρομοίως, η ίδια αντίδραση καταλύεται και από την ακυλοτρανσφεράση λεκιθίνης : χοληστερόλης (LCAT) καθώς επίσης μεταφέρει μία ακετυλομάδα από τον PAF στην λυσο-φωσφατιδυλοχολίνη. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα στο ανθρώπινο πλάσμα. Η LCAT και η τρανσακετυλάση, όπως φαίνεται από μελέτες, αποτελούν δύο διαφορετικά ένζυμα καθώς η τελευταία παρουσιάζει ενδοκυττάρια εντόπιση, μικρότερο μοριακό βάρος και δεν έχει την ικανότητα μεταφοράς αιθερικών μακριάς αλύσου ακυλ- ή ακετυλο- ομάδων από την φωσφατιδυλοχολίνη στην χοληστερόλη (χαρακτηριστικό της LCAT)(13).

3) Υδρόλυση του PAF από την φωσφολιπάση C



Ενζυμο: φωσφολιπάση C

Παρόλο που η δράση του ενζύμου αυτού έχει βρεθεί σε καλλιέργειες ηπατοκυττάρων ποντικού και σε μιτοχονδριακά κλάσματα από ηπατοκύτταρα κουνελιού, πιστεύεται ότι ο συνολικός ρόλος του στο μεταβολισμό του PAF δεν είναι σημαντικός, ιδιαίτερα σε σύγκριση με την δράση της ακετυλοϋδρολάσης (13).

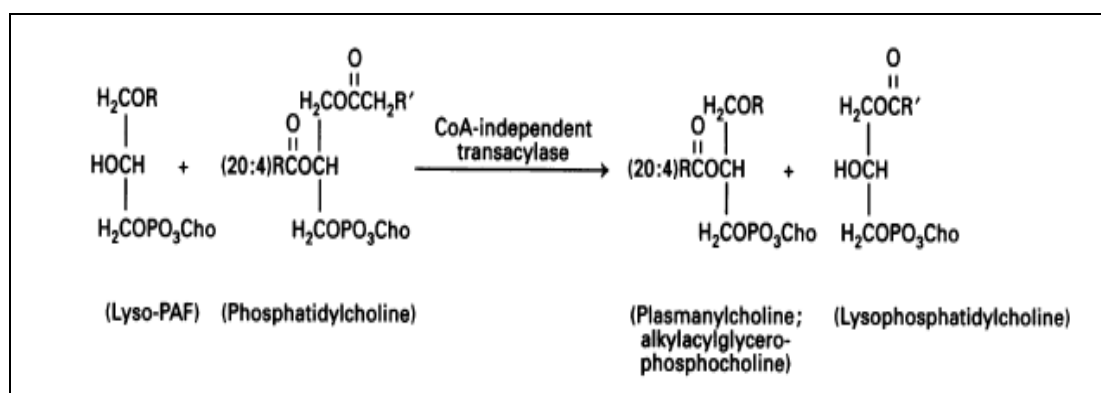


Εικόνα 1.15 : Υδρόλυση του PAF από την φωσφολιπάση C

Οι μεταβολικές πορείες αποικοδόμησης του PAF συνεχίζονται σε ένα δεύτερο στάδιο με την αποικοδόμηση του παραγόμενου λυσο-PAF από τις πρώτες αντιδράσεις.

1) Μετατροπή του λυσο-PAF σε AAGPC

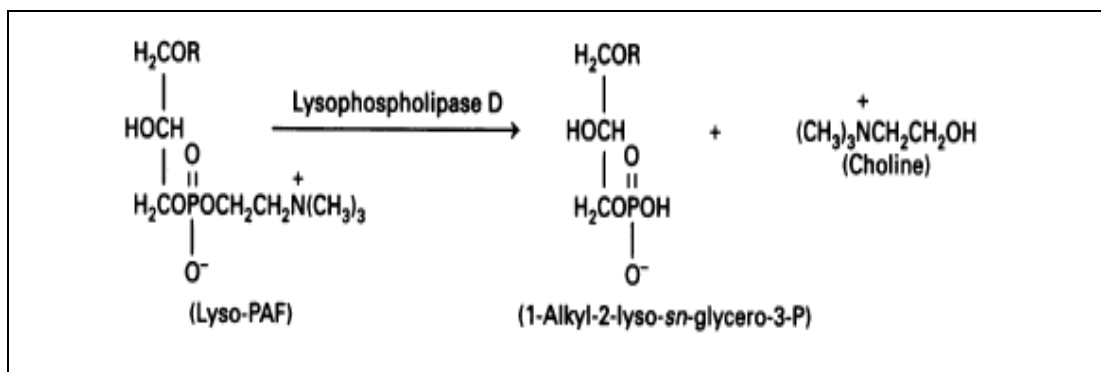
Αποτελεί τον συνηθέστερο τρόπο αποικοδόμησης του λυσο-PAF και πραγματοποιείται είτε με την δράση ακυλο-CoA ακυλοτρανσφερασών, είτε από τρανσακυλάσες όπως η CoA-ανεξάρτητη τρανσακυλάση, με μεταφορά ακόρεστων λιπαρών οξέων (κυρίως αραχιδονικό οξύ) από την φωσφατιδυλοχολίνη στον λυσο-PAF. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η τρανσακυλάση αυτή είναι το ίδιο ένζυμο με την τρανσακυλάση που καταλύει την απακυλίωση (2^{ος} τρόπος) της remodeling πορείας.



Εικόνα 1.16 : Μετατροπή του λυσο-PAF σε AAGPC

2) Υδρόλυση από την λυσο-φωσφολιπάση D

Με την αντίδραση αυτή ο λυσο-PAF μετατρέπεται σε ALPA και απελευθερώνεται φωσφοχολίνη.



Εικόνα 1.17 : Υδρόλυση του λυσο-PAF από λυσο-PLD

Ποικιλία πρόδρομων ενώσεων όπως και αναλόγων του PAF που προκύπτουν από διάφορες αντιδράσεις μπορούν επίσης να αποικοδομηθούν. Για παράδειγμα οι αλκυλο-ακετυλο γλυκερόλες (AAG) (πρόδρομες ενώσεις της σύνθεσης του PAF στην de novo πορεία) υδρολύουν την ακετυλομάδα τους μέσω της δράσης μίας Ca-εξαρτώμενης ακετυλοϋδρολάσης με παραγωγή αλκυλογλυκερόλης και οξικού οξέος. Οι αλκυλογλυκερόλες μπορούν να διασπαστούν σε γλυκερόλη και λιπαρή αλδεύδη από την τετραϋδροπεριδίνη-εξαρτώμενη μονοοξυγονάση και οι λυσο-φωσφολιπάσες I και II φαίνεται να εμπλέκονται στον καταβολισμό αλκυλο- αναλόγων του PAF και του λυσο-PAF (13).

1.5 γ) Περιγραφή των κυριότερων χαρακτηριστικών των ενζύμων του μεταβολισμού του PAF

A. Ένζυμα των βιοσυνθετικών πορειών του PAF

DTT-ανεξάρτητη CDP-χολίνη : αλκυλοακετυλογλυκερόλη φωσφοχολινοτρανσφεράση (CPT) (EC 2.7.8.16)

Το ένζυμο αυτό καταλύει την τελευταία αντίδραση της de novo πορείας της βιοσύνθεσης του PAF κατά την οποία πραγματοποιείται μεταφορά φωσφοχολίνης από την CDP-χολίνη σε AAG (αλκυλο-ακετυλο γλυκερόλη) με σκοπό τον σχηματισμό του PAF. Η ονομασία “DTT-ανεξάρτητη” δεν είναι ακριβής διότι η ένωση DTT διεγείρει σε μικρό βαθμό το ένζυμο, παρόλα

αυτά χρησιμοποιείται βοηθητικά για τον διαχωρισμό του ενζύμου από μία άλλη φωσφοχολινوترασφεράση που καταλύει την βιοσύνθεση της φωσφατιδυλοχολίνης και ο βαθμός αναστολής της από την ένωση DTT ξεπερνά το 95%. Το ένζυμο απαιτεί για την λειτουργία του Mg^{++} και αναστέλλεται από το Ca^{++} και διάφορα συστατικά της Μεσογειακής διατροφής όπως και από ορισμένα αντιφλεγμονώδη φάρμακα. Επίσης, όπως και τα υπόλοιπα ένζυμα της de novo πορείας, φλεγμονώδη ερεθίσματα δεν το επηρεάζουν. Ως υποστρώματα του ενζύμου, παρουσιάζουν καλύτερη τάση σύνδεσης οι AAG με 16:0 και 18:1 αλκυλο-αλυσίδες σε σχέση με εκείνες των 18:0 και προτιμώνται μόρια με ακετυλο- ή προπιονύλο- ομάδα στην sn-2 θέση. Το ένζυμο έχει βρεθεί σε ανθρώπινα ουδετερόφιλα, μεσαγγειακά κύτταρα, ωοκύτταρα, ζυγώτες και σε ποικιλία ιστών ποντικού και κουνελιού. Πιστεύεται ότι βρίσκεται τοποθετημένο στην κυτταροπλασματική μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου. Τέλος, παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της διαδικασίας βιοσύνθεσης του PAF όπως αναφέρεται παρακάτω (2, 13).

Ακετυλο-CoA : 1- O- αλκυλο- 2- λυσο- sn-γλυκερυλοφωσφοχολίνη ακετυλοτρανσφεράση, (λυσο-PAF-AT) (EC 2.3.1.67)

Το ένζυμο αυτό καταλύει την τελευταία αντίδραση της remodeling πορείας της βιοσύνθεσης του PAF κατά την οποία πραγματοποιείται ακετυλίωση του λυσο-PAF προς PAF. Εντοπίζεται σε πλασματικές μεμβράνες, το ενδοπλασματικό δίκτυο και στα κοκκία ανθρώπινων ουδετερόφιλων ενώ έχει εντοπιστεί και σε νεφρικά κύτταρα. Παρουσιάζει ευρεία εξειδίκευση καθώς δρα σε αιθερικά και εστερικά ανάλογα του PAF καθώς και ανάλογα με σκελετό αιθανολαμίνης.

Πολύ πρόσφατα έγινε η κλωνοποίηση του ενζύμου και αποδείχθηκε ότι υπάρχουν δύο ισομορφές του με διαφορετικές ιδιότητες, η LPCAT1 και η LPCAT2. Πιο συγκεκριμένα, φαίνεται ότι η μία ισομορφή (LPCAT2) είναι ενεργοποιημένη σε κατάσταση φλεγμονής καταλύοντας το σχηματισμό του PAF, όπως άλλωστε είναι ήδη γνωστό για το εν λόγω ένζυμο. Ωστόσο, σε συνθήκες ηρεμίας εμπλέκεται στη βιογένεση των κυτταρικών μεμβρανών. Η ισομορφή αυτή φαίνεται να ενεργοποιείται με φωσφορυλίωση. Η LPCAT1 δεν ενεργοποιείται από διαμεσολαβητές της φλεγμονής και επομένως είναι υπεύθυνη για την παραγωγή του PAF σε βασικά επίπεδα. Η αναλογία συμμετοχής των ισομορφών στην τελική παραγωγή του PAF ενδεχομένως να εξαρτάται από το είδος του κυττάρου (17-19).

B. Ένζυμα της καταβολικής πορείας του PAF

PAF-ακετυλουδρολάση (PAF-AH) (EC 3.1.1.47)

Η PAF-AH ανήκει στην υπερ-οικογένεια των PLA₂ ενζύμων, η οποία περιλαμβάνει 4 κύριες κατηγορίες : εκκρινόμενες sPLA₂, κυτοσολικές cPLA₂, Ca-εξαρτώμενες iPLA₂ και PAF- AH και υδρολύουν λιπαρά οξέα από την sn-2 θέση του σκελετού της γλυκερόλης των μεμβρανικών φωσφολιπιδίων (20). Η οικογένεια της PAF- AH ασκεί την δράση της επιλεκτικά κυρίως σε φωσφολιπίδια με ακυλομάδες μικρής αλύσου στην sn-2 θέση. Μία εκκρινόμενη (πλάσμα) και 4 ενδοκυττάρια ισομορφές έχουν περιγραφθεί (Ia, Ib, II και η ερυθροκυτταρική μορφή).

Ενδοκυττάρια Ib ισομορφή :

Πρόκειται για μία ετεροτριμερή πρωτεΐνη που αποτελείται από δύο α (α1 και α2) και μία β υπομονάδες. Στην πλειοψηφία τους οι ιστοί, εκτός του εγκεφάλου, εκφράζουν μόνο την α2 υπομονάδα, όμως οι ατομικές υπομονάδες αναγνωρίζουν τα ίδια υποστρώματα με το ολόκληρο σύμπλοκο. Η Ib ισομορφή είναι η μόνη που απαιτεί ακετυλομάδα στην sn-2 θέση (PAF) για να εκδηλώσει την δράση της και παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς η β υπομονάδα της αποτελεί προϊόν του LIS1 γονιδίου. Εκδηλωμένες μεταλλάξεις της β υπομονάδας οδηγούν στην Miller-Dieker εγκεφαλοπάθεια. Γενικότερα φαίνεται ότι υπάρχει ένας ιδιαίτερος ρόλος της Ib ισομορφής του ενζύμου για την ανάπτυξη, την ομοιοστασία και την λειτουργία του εγκεφάλου και αποδίδεται στην αυστηρή ρύθμιση των επιπέδων του PAF στον εγκέφαλο (15, 21).

Ενδοκυττάρια Ia ισομορφή :

Δεν υπάρχουν αρκετά στοιχεία για την περιγραφή της συγκεκριμένης ισομορφής, όμως πιστεύετε ότι η μορφή αυτή αντιπροσωπεύει κάποιο είδος συνδυασμού των υπομονάδων της Ib ισομορφής, όπως ένα α1/α2 ετεροδιμερές (15, 21).

Ενδοκυττάρια II ισομορφή :

Η ισομορφή αυτή είναι ένα μονομερές (πολυπεπτιδική αλυσίδα 40 kDa) και η μόνη με 43% ομολογία στην ακολουθία των αμινοξέων με την PAF-AH του πλάσματος. Αναγνωρίζει ένα ευρύτερο φάσμα ενώσεων ως υποστρώματα που περιλαμβάνει, εκτός από τον PAF, και άλλα φωσφολιπίδια με ακυλομάδες μικρής αλύσου στην sn-2 θέση. Φαίνεται ότι λειτουργεί ως αντιοξειδωτική φωσφολιπάση καθώς προστατεύει το κύτταρο από τον stress-προκαλούμενο κυτταρικό θάνατο από οξειδωτικές ουσίες, αισθάνεται την οξειδοαναγωγική κατάσταση του

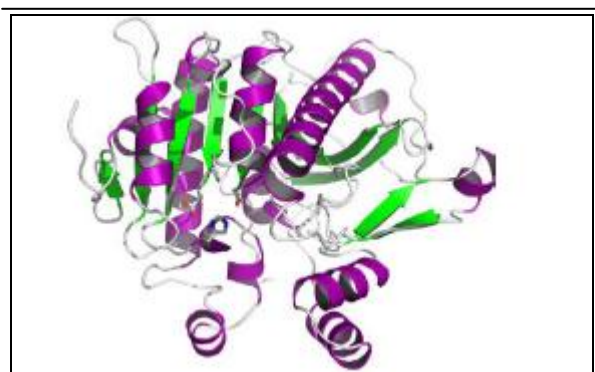
κυττάρου, μετακινείται αναλόγως τις κυτταρικές απαιτήσεις και προλαμβάνει βλάβες προκαλούμενες από την οξείδωση των λιποειδών (15, 21).

Ενδοκυττάρια ερυθροκυτταρική ισομορφή :

Η ισομορφή αυτή έχει περιγραφεί στην μεμβράνη των ερυθροκυττάρων, αποτελείται από δύο πανομοιότυπες των 25 kDa υπομονάδες και υδρολύει φωσφολιπίδια με μικρής αλύσου ή οξειδωμένες ακυλομάδες στην sn-2 θέση. Παράδοξο το γεγονός ότι τα ερυθροκύτταρα δεν παράγουν ούτε αποτελούν κύτταρα στόχοι για τον PAF. Ίσως η χρήση του ενζύμου, στην περίπτωση αυτή, να περιορίζεται μόνο στην υδρόλυση οξειδωμένων φωσφολιπιδίων που παράγονται στα ερυθροκύτταρα από ελεύθερες ρίζες οξυγόνου κατά την έκθεση τους σε υψηλές τάσεις οξυγόνου (15, 21).

Ισομορφή πλάσματος (Lp-PLA₂):

Η ισομορφή αυτή είναι γνωστή και ως lipoprotein-associated phospholipase A₂ (Lp-PLA₂) διότι, στον άνθρωπο, βρίσκεται πάνω από τα δύο τρίτα στην λιποπρωτεΐνη LDL (με προτίμηση της μικρές και πυκνές LDL) ενώ το υπόλοιπο ποσοστό βρίσκεται στην λιποπρωτεΐνη HDL (με προτίμηση της υψηλής πυκνότητας HDL). Παρόλο που το ένζυμο έχει την ικανότητα να μεταφέρεται μεταξύ των προαναφερόμενων λιποπρωτεϊνών, παρουσιάζει μεγαλύτερη δραστικότητα στις LDL. Επιπλέον το καρβοξυτελικό άκρο της apoB-100 είναι υπεύθυνο για την σύνδεση αυτή. Όσον αφορά τα υποστρώματα του ενζύμου υπάρχει μεγαλύτερη προτίμηση στα φωσφολιποειδή με μικρές αλυσίδες στην sn-2 θέση. Είναι εξαιρετικά ενδιαφέρον το γεγονός ότι εξωγενείς παράγοντες έχουν την ικανότητα να αυξομειώσουν την δραστικότητα του ενζύμου, όπως διατροφή, κάπνισμα, απώλεια βάρους, χρήση ασπιρίνης κ.α.(13, 15, 22).



Εικόνα 1.18 : Δομή της Lp-PLA₂

Στην πρόσφατη βιβλιογραφία το ένζυμο αυτό αποτελεί το κέντρο του ενδιαφέροντος καθώς η δράση του έχει συσχετιστεί με αρκετά νοσήματα και παθοφυσιολογικές καταστάσεις, όπως αθηρωμάτωση, άσθμα, καταπληξία, φλεγμονή, σήψη κ.α.. Ο ρόλος του ενζύμου, όσον αφορά την φλεγμονή, είναι αντιφαιτικός. Θεωρείται ότι παίζει αντιφλεγμονώδη ρόλο καθώς προλαμβάνει την συσσώρευση του PAF και των παρόμοιων με τον PAF οξειδωμένων λιπιδίων. Όμως τα δεδομένα περιπλέκονται διότι το ένζυμο παράγει επίσης και λυσο-PC και οξειδωμένα μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα τα οποία αντιπροσωπεύουν τον επίσης πιθανό προ-φλεγμονώδη ρόλο. Παράλληλα έχουν γίνει διάφορες προσπάθειες για την εύρεση της κλινικής χρησιμότητας της χορηγούμενης ανασυνδυασμένης r PAF-AH χωρίς μέχρι τώρα ικανοποιητική αποτελεσματικότητα (16, 22-24).

1.5 δ) Στοιχεία ρύθμισης των μεταβολικών πορειών του PAF

Η δραστηριότητα των βιοσυνθετικών και αποικοδομητικών ενζύμων του PAF καθορίζουν τα επίπεδά του στα κύτταρα και στο πλάσμα. Στο σημείο αυτό θα αναφερθούν ενδεικτικά τα σημαντικότερα μόνο σημεία ρύθμισης των μεταβολικών αντιδράσεων που περιγράφηκαν, καθώς πληθώρα ουσιών έχουν την ικανότητα να εμπλακούν και να τροποποιήσουν, προς κάθε κατεύθυνση, τον μεταβολισμό του PAF, όπως για παράδειγμα κυτταροκίνες, νευροδιαβιβαστές ή ορμόνες (2).

de novo πορεία

Όσον αφορά την de novo πορεία βιοσύνθεσης του PAF, το 1^ο βήμα (ακετυλίωση) που καταλύεται από την ακετυλο-CoA:ALPA ακετυλοτρανσφεράση (de novo AT) θεωρείται και το καθοριστικό για την ταχύτητα στάδιο, καθώς η δραστηριότητα του ενζύμου είναι η χαμηλότερη συγκριτικά με τα ένζυμα του 2^{ου} και 3^{ου} σταδίου. Η ενεργοποίηση / απενεργοποίηση του ενζύμου φαίνεται να πραγματοποιείται μέσω φωσφορυλίωσης / αποφωσφορυλίωσης (13).

Επίσης, το τρίτο βήμα των αντιδράσεων, το οποίο καταλύεται από την DDT-ανεξάρτητη φωσφοχολινοτρανσφεράση φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην βιοσύνθεση του PAF. Στο βήμα αυτό πραγματοποιείται μεταφορά μίας ομάδας φωσφοχολίνης ενεργοποιημένης με τη μορφή κυτιδυλο-διφωσφορικής χολίνης (CDP-χολίνης) για τον σχηματισμό του PAF από AAG και είναι σημαντικό για δύο λόγους:

- 1) παρόλο που το ένζυμο της πορείας αυτής δεν φαίνεται να επηρεάζεται από φλεγμονώδη ερεθίσματα, διάφοροι παράγοντες όπως ακετυλοχολίνη, ντοπαμίνη κ.α. έχουν την ικανότητα

να τροποποιήσουν την δραστικότητά του (θετικά ή αρνητικά), χωρίς ωστόσο να επηρεαστούν τα υπόλοιπα ένζυμα της πορείας, αποδίδοντας του ρυθμιστικό ρόλο

2) για να ενεργοποιηθεί η φωσφοχολίνη με τη μορφή CDP-χολίνης πραγματοποιείται αντίδραση που καταλύεται από το ένζυμο κυτιδυλοτρανσφεράση ($CTP + P\text{-χολίνη} = CDP\text{-χολίνη} + CMP$) στο οποίο επίσης αποδίδεται ρυθμιστικός ρόλος καθώς κάθε παράγοντας ή κατάσταση που ενεργοποιεί το ένζυμο (π.χ λιπαρά οξέα) ή επηρεάζει τα ενδοκυττάρια επίπεδα CDP-χολίνης μπορεί να τροποποιήσει την βιοσύνθεση του PAF (13).

remodeling πορεία

Όσον αφορά την remodeling πορεία βιοσύνθεσης του PAF, το 1^ο βήμα (απακυλίωση) που καταλύεται από την CoA- ανεξάρτητη τρανσακυλάση (CoA-IT) (2^{ος} τρόπος) πραγματοποιείται με την προϋπόθεση της διαθεσιμότητας του λυσο-φωσφολιπιδιακού δέκτη της ακυλομάδας που μεταφέρεται (λυσο-PE). Φαίνεται λοιπόν ότι η αναγέννηση των ενδιάμεσων αυτών προϊόντων με την δράση της φωσφολιπάσης A₂, όπως προαναφέρθηκε, είναι ένα ακόμη περιοριστικό βήμα στο σύνολο των αντιδράσεων της βιοσύνθεσης του PAF (13).

Επιπρόσθετα, ρύθμιση της πορείας μέσω του αραχιδονικού οξέος (βλ.1.5 ε) 4.)

πορεία αποικοδόμησης μέσω PAF-ακετυλουδρολάσης (PAF-AH)

Η αποικοδόμηση του PAF μέσω της PAF-AH θεωρείται ως η κύρια διαδικασία που θα καθορίσει τα επίπεδα του PAF στο πλάσμα καθώς πειράματα δείχνουν ότι εξωγενώς χορηγούμενος PAF παρουσιάζει χρόνο ημίσειας ζωής στο πλάσμα περίπου 5 λεπτών ενώ πάνω του 95% του ποσοστού του PAF παραμένει ως έχει μετά από 15 λεπτά στο πλάσμα με την προϋπόθεση έλλειψης του ενζύμου αυτού (25). Η ίδια διαδικασία καθορίζει σε μεγάλο βαθμό και τα επίπεδα του PAF στους διάφορους ιστούς καθώς το ένζυμο είναι παρών στα περισσότερα είδη ιστών.

Φαίνεται λοιπόν ότι ο PAF υπόκειται σε αυστηρή ρύθμιση μέσω ποικιλίας ρυθμιστικών μηχανισμών (εδώ αναφέρονται μόνο μερικοί), ένα ακόμη γεγονός που επιβεβαιώνει ότι ο PAF αποτελεί έναν ισχυρότατο μεσολαβητή πολλών λειτουργιών σε κυτταρικό, και όχι μόνο, επίπεδο.

1.5 ε) Η σχέση του PAF με άλλους λιποειδικούς μεσολαβητές

Ο PAF συνδέεται στενά και σε πολλά διαφορετικά επίπεδα με το αραχιδονικό οξύ και τα προϊόντα του μεταβολισμού του, προσταγλαδίνες (PGs), θρομβοξανές (TXs) και λευκοτριένια (LTs), τα οποία με τη σειρά τους αποτελούν επίσης διαφορετικά είδη λιποειδικών μεσολαβητών.

1^{ov} : Η βιοσύνθεση του PAF μοιράζεται με το αραχιδονικό οξύ και τα εικοσανοειδή κοινούς “προγόνους” (εικόνα 1.18).

2^{ov} : Πολλές ουσίες που διεγείρουν την σύνθεση του PAF διεγείρουν επίσης και την απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος από φωσφολιπίδια και την μετατροπή του σε βιολογικά ενεργούς μεταβολίτες. Γεγονός που παίζει σημαντικό ρόλο για την φλεγμονώδη απάντηση.

3^{ov} : Φαίνεται ότι τα προϊόντα μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος μεσολαβούν σε πάρα πολλές από τις δράσεις του PAF και σε συνδυασμό με τον ίδιο μπορούν να εντείνουν ή να καταστείλουν, μερικώς ή ολικώς, τις επιδράσεις του PAF. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η δράση του PAF στον εγκέφαλο που στην πλειοψηφία της ασκείται μέσω των προϊόντων αυτών (25).

4^{ov} : Το αραχιδονικό οξύ και οι μεταβολίτες τους παίζουν σημαντικό ρόλο σε διάφορα επίπεδα ρύθμισης του μεταβολισμού του PAF. Το αραχιδονικό οξύ είναι απαραίτητο για την παρασκευή σημαντικών ποσοτήτων PAF δια μέσου της remodeling πορείας καθώς προμηθεύει τις απαραίτητες αραχιδονυλο-ομάδες για την πραγματοποίηση των αντιδράσεων. Επιπλέον ο PAF αλλά και τα προϊόντα μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος είναι ικανά να διεγείρουν επιπλέον απελευθέρωση του PAF ως ρύθμιση με θετική ανατροφοδότηση και με τον τρόπο αυτό να “διδιωνίσουν” την φλεγμονώδη αντίδραση (4, 13).

Με τις παρατηρήσεις αυτές κατανοούμε την σχέση του PAF με άλλους μεσολαβητές που επίσης ανήκουν στα λιποειδή, την σύνδεση διαφόρων τμημάτων του μεταβολισμού των λιποειδών μεταξύ τους και φυσικά την πολυπλοκότητα δράσης των μεσολαβητών γενικότερα και του μορίου του PAF ειδικότερα.

1.6 Κυτταρικές πηγές

Ο ΡΑΦ βιοσυντίθεται από πολλούς τύπους κυττάρων, προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά, φυτικά και ζωικά, αλλά και ιστούς. Στον πίνακα αναφέρονται ενδεικτικά τα γνωστότερα και πιο αντιπροσωπευτικά κύτταρα παραγωγής ΡΑΦ, όμως με το πέρασμα του χρόνου και την εξέλιξη της έρευνας και των μεθόδων προσδιορισμού των επιπέδων του ΡΑΦ όλο και περισσότερα κύτταρα διαφόρων ιστών φαίνεται ότι παράγουν το μόριο αυτό (π.χ. κύτταρα Kupffer του ήπατος (27), οστεοκλάστες και οστεοβλάστες (28), ινοβλάστες (25) κ.α.).

Πίνακας 1.1 : Demopoulos et al : Διεθνές έτος χημείας (Οκτώβριος 2009)(1)

ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ	
ΒΑΣΕΟΦΙΛΑ	(κουνελιού, ανθρώπου)
ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΑ, ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ	(κουνελιού, ανθρώπου, χοίρου)
ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ	(περιτοναϊκά ποντικού, ανθρώπου)
ΚΥΨΕΛΙΔΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ	(αρουραίου, κουνελιού, πιθήκου, ανθρώπου)
ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ	(ανθρώπου)
ΜΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΜΥΕΛΟΥ ΟΣΤΩΝ	(ποντικού)
ΜΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΠΝΕΥΜΟΝΑ	(ανθρώπου)
ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΑ	(κουνελιού, ανθρώπου)
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	(κουνελιού, ανθρώπου)
ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ	(καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων κουνελιού, ανθρώπου)
ΝΕΦΡΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ	(απομονωμένα κυτ. νεφρικού μυελού αρουραίου, απομονωμένα σπειράματα αρουραίου, καλλιέργειες μεσαγγειακών κυτ.)

1.7 Δράσεις PAF

Ο PAF, όπως προαναφέρθηκε, είναι ένας πανίσχυρος ενεργοποιητής και μεσολαβητής πολλών λειτουργιών τόσο σε κυτταρικό όσο και σε επίπεδο ιστών και οργάνων, δίνοντας ένα ισχυρό παρών στην φυσιολογία και την παθοφυσιολογία πολλών διαφορετικών οργανισμών.

1.7 α) Κυτταρικό επίπεδο

Οι δράσεις του PAF σε κυτταρικό επίπεδο αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα :

Πίνακας 1.2 : Demopoulos et al : Διεθνές έτος χημείας (Οκτώβριος 2009)(1)

ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΟΧΟΙ	ΔΡΑΣΕΙΣ PAF
ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ	➤ ΑΠΟΚΟΚΚΙΩΣΗ ➤ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ➤ ΧΗΜΕΙΟΤΑΞΙΑ ➤ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΥ ➤ ΑΥΞΗΣΗ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ➤ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΑΡΑΧΙΔΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ
ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΑ	➤ ΧΗΜΕΙΟΤΑΞΙΑ ➤ ΕΚΚΡΙΣΗ ΚΑΤΙΟΝΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ➤ ΑΥΞΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ➤ ΣΥΝΘΕΣΗ LT - C4 ➤ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΥ ➤ ΑΥΞΗΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΙΟΝΤΩΝ Ca^{++}
ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ - ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ	➤ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ➤ ΕΚΚΡΙΣΗ ΑΛΛΩΝ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΩΝ ➤ ΑΥΞΗΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΡΟΣΤΑΚΥΚΛΙΝΗΣ I_2 ΚΑΙ T_XB_2 ➤ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΩΝ ➤ ΠΑΡΑΓΩΓΗ IL - 1 ➤ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ c - AMP ➤ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΚΥΚΛΟΥ ΦΩΣΦΑΤΙΔΥΛΟΙΝΟΣΙΤΗ
ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ	➤ ΑΥΞΗΣΗ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΟΥ Ca^{++} ➤ ΑΝΑΚΑΤΑΝΟΜΗ ΚΥΤΤΑΡΟΣΚΕΛΕΤΟΥ ➤ ΣΥΝΘΕΣΗ ΠΡΟΣΤΑΚΥΚΛΙΝΗΣ
ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ	➤ ΒΛΑΣΤΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ➤ ΚΑΤΑΣΤΟΛΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ IL - 2 ➤ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	➤ ΑΠΟΚΟΚΚΙΩΣΗ ➤ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ➤ ΑΛΛΑΓΗ ΣΧΗΜΑΤΟΣ

	➤ ΑΥΞΗΣΗ ΕΙΣΡΟΗΣ Ca^{++} ➤ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΚΥΚΛΟΥ ΦΩΣΦΑΤΙΔΥΛΟΙΝΟΣΙΤΗ ➤ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΑΡΑΧΙΔΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ➤ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ
--	--

Οι δράσεις του PAF σε κύτταρα που ανήκουν σε συγκεκριμένους ιστούς (π.χ. νεφρικό, καρδιακό, πνευμονικό κ.α.), θα αναλυθούν παρακάτω μέσα από την αντίστοιχη παθοφυσιολογία που δημιουργείται.

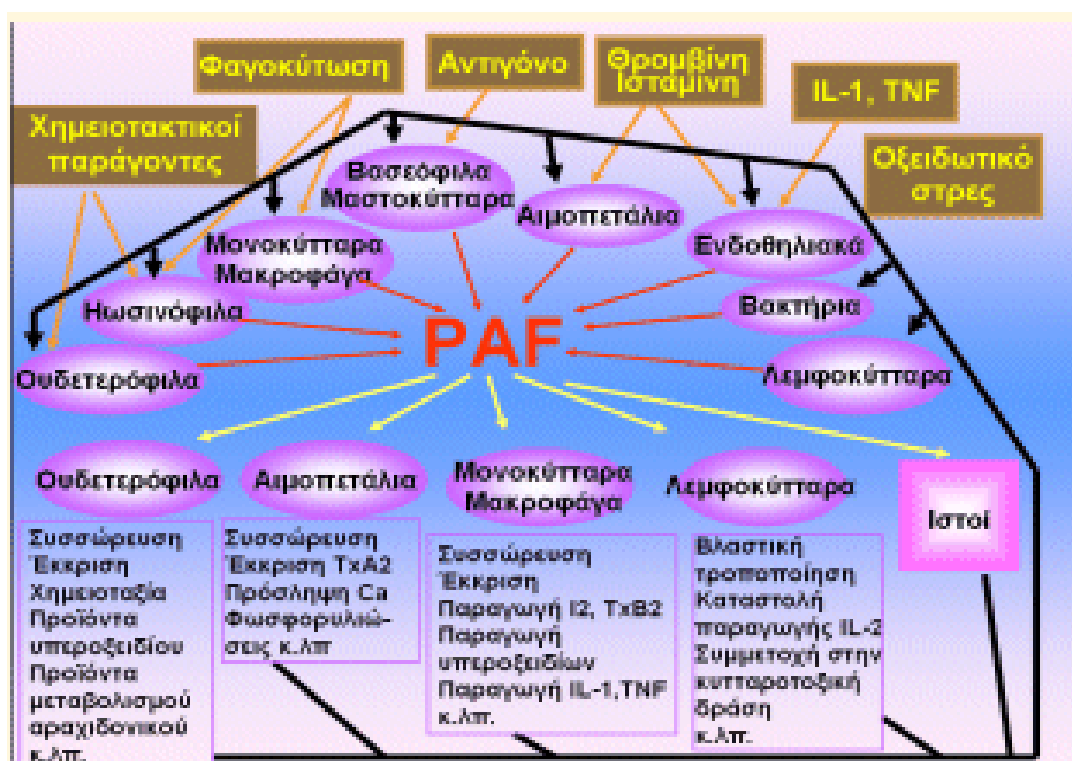
1.7 β) Επίπεδο ιστών – οργάνων (παθοφυσιολογία)

PAF και ανοσοποιητικό σύστημα

Το ανοσοποιητικό σύστημα χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερη πολυπλοκότητα καθώς πολλά είδη κυττάρων μετέχουν στις λειτουργίες του, συσχετιζόμενα μεταξύ τους με πολλαπλούς τρόπους, και εκκρίνουν έναν ακόμη μεγαλύτερο αριθμό ουσιών.

Φλεγμονή : Η διαδικασία της φλεγμονής συνίσταται στην προσπάθεια του οργανισμού να απομακρύνει μικροοργανισμούς, ξένες ουσίες, νεκρωμένους ιστούς για την προστασία του και την επούλωση της βλάβης που έχει υποστεί. Κατά την διάρκεια αυτής της προσπάθειας όμως μπορεί ταυτόχρονα να δημιουργηθεί ιστική βλάβη και δυσλειτουργία του συγκεκριμένου ιστού ή οργάνου. Ο PAF, όπως ήδη έχουμε δει, εκκρίνεται από πολλά είδη φλεγμονωδών κυττάρων αλλά ταυτόχρονα ενεργοποιεί τα ίδια κύτταρα και επίσης είναι σημαντικός για την “κύτταρο με κύτταρο” επικοινωνία. Επομένως είναι στενά συνδεδεμένος με την διαδικασία της φλεγμονής. Μερικές, ενδεικτικά, από τις προφλεγμονώδεις δράσεις του PAF είναι η αγγειοδιαστολή και η αυξημένη μικροαγγειακή διαπερατότητα (πρόκληση κνησμού και πόνου), χημειοταξία πολυμορφοκυττάρων και ηωσινοφίλων, προσκόλληση λευκοκυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο, μετανάστευσή τους προς το εσωτερικό και ενεργοποίηση και άλλων κυττάρων όπως αιμοπετάλια, μακροφάγα και ενδοθηλιακά κύτταρα (6). Πιο συγκεκριμένα : με την ενεργοποίηση των φλεγμονωδών κυττάρων παράγονται φλεγμονώδεις μεσολαβητές όπως κυτταροκίνες, ενεργές μορφές οξυγόνου και λιποειδικοί μεσολαβητές όπως ο PAF. Οι παράγοντες αυτοί σε συνεργασία προκαλούν αγγειοδιαστολή και αύξηση της μικροαγγειακής διαπερατότητας με διαρροή από το πλάσμα διαφόρων συστατικών, εξαγγείωση και ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων. Οι φλεγμονώδεις αυτοί μεσολαβητές ενεργοποιούν και το σύστημα της πήξης. Σε ένταση των φαινομένων αυτών και απώλεια ρύθμισης, παρουσιάζεται υποξία και δυσλειτουργία των ιστών (25). Καθώς ο PAF βρίσκεται στην “καρδιά” των

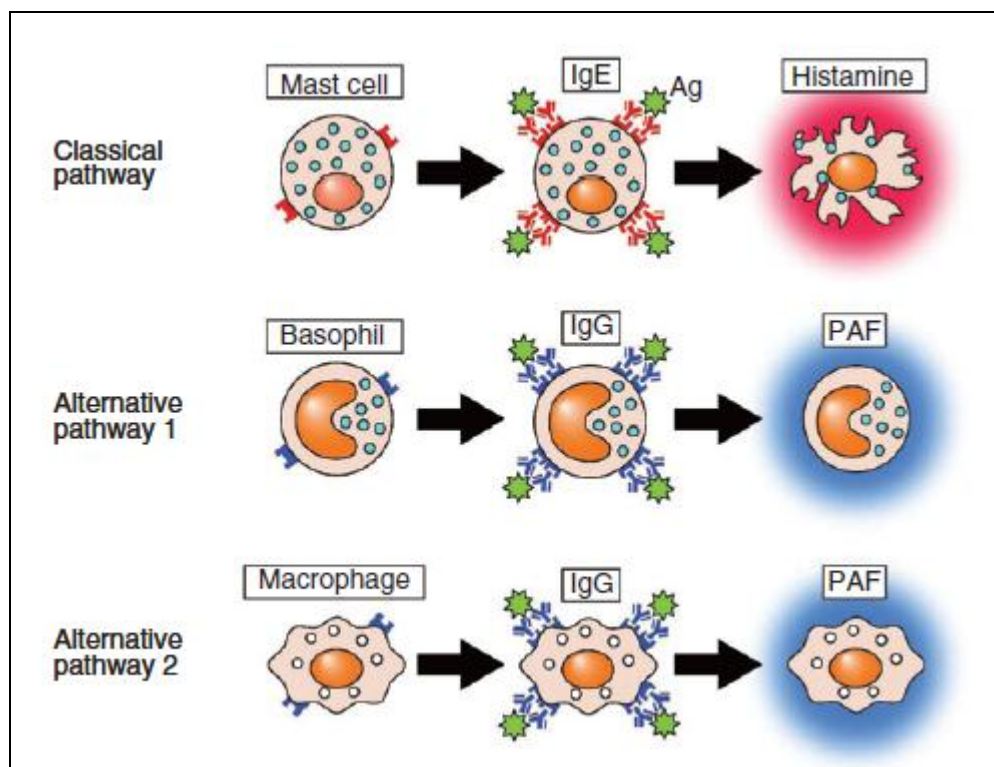
γεγονότων παίζει σημαντικό ρόλο σε σχεδόν κάθε εκδηλούμενη διαδικασία φλεγμονής. Επομένως έχει ήδη μελετηθεί για την συμμετοχή του στις διαδικασίες της σήψης, της συστηματικής αναφυλαξίας (29), της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας (30), της φλεγμονής της στοματικής κοιλότητας και της περιοδοντίτιδας (6), της παγκρεατίτιδας (31, 32), της ισχαιμίας και της επαναιμάτωσης σε διάφορα όργανα (όπως καρδιά (33), ήπαρ (27) κ.α.), της οισοφαγίτιδας (34) και πολλών νοσημάτων που περιλαμβάνουν στην παθοφυσιολογία τους την φλεγμονή.



Εικόνα 1.19 : Αλληλεπίδραση PAF και φλεγμονωδών κυττάρων (1)

Αλλεργία : Μία διαφορετική, αλλά εξίσου σημαντική, όψη του ανοσοποιητικού συστήματος αποτελούν οι αλλεργίες. Στην IgG διαμεσολαβούμενη αλλεργία και αναφυλαξία φαίνεται να συμμετέχει ο PAF και μάλιστα ως κύριος χημικός μεσολαβητής καθώς εκκρίνεται από τα βασεόφιλα και τα μακροφάγα μετά την ενεργοποίησή τους από το σύμπλεγμα IgG – αλλεργιογόνο. Η εκδήλωση αυτού του είδους αλλεργίας αποτελεί εναλλακτική μορφή του κλασσικού μονοπατιού που χρησιμοποιεί την ισταμίνη, ως κύριο χημικό μεσολαβητή, IgE αντιγόνα και τα βασεόφιλα κύτταρα των ιστών (mast cells). Στον άνθρωπο δεν είναι ακόμη ξεκάθαρο πότε χρησιμοποιείται το ένα ή το άλλο μονοπάτι και επίσης δύσκολο να εντοπιστεί στην καθημερινή κλινική πράξη (35). Η πιο επικίνδυνη και απειλητική για την ζωή εκδήλωση της

αλλεργίας είναι η αναφυλαξία, μία κατάσταση στην οποία το καρδιαγγειακό σύστημα είναι υπεύθυνο για την πλειοψηφία των συμπτωμάτων. Ο ρόλος του PAF εδώ αποτελεί έναν συνδυασμό των ήδη περιγεγραμμένων δράσεων του στην αλλεργία, στο αναπνευστικό σύστημα (βρογχόσπασμος) και στο καρδιαγγειακό σύστημα (αιμοδυναμικές αλλαγές, υπόταση, shock, αρρυθμίες, δυσλειτουργία) (29).



Εικόνα 1.20 : Κλασσικό και εναλλακτικά μονοπάτια εκδήλωσης αλλεργίας (35)

PAF και καρδιαγγειακό σύστημα

Η σχέση του PAF με το καρδιαγγειακό είναι πολύπλευρη και αγγίζει σχεδόν όλες τις παραμέτρους του συστήματος.

Αιμοδυναμικές επιδράσεις: Η βασικότερη αιμοδυναμική επίδραση του PAF στην καρδιά, στην περιφερική κυκλοφορία και στην μικροκυκλοφορία φαίνεται να είναι η πτώση της αρτηριακής πίεσης μέσω κυρίως της μείωσης του κατά λεπτό όγκου αίματος (η οποία επιτυγχάνεται μέσω διαφόρων μηχανισμών) (συμμετοχή στην πρόκληση shock). Όσον αφορά τα στεφανιαία αγγεία φαίνεται ότι και εκεί έχει επίδραση ο PAF προκαλώντας αγγειοδιαστολή σε άθικτο-υγιές ενδοθήλιο και αγγειοσύσπαση σε ενδοθήλιο με βλάβη, όπως μετά από ισχαιμία (36).

Η επίδραση του PAF στα αγγεία πολλές φορές είναι δόσοεξαρτώμενη και επηρεάζεται και από το είδος του οργανισμού (αγγειοδιαστολή, αγγειοσύσπαση). Επίσης είναι δύσκολο να μελετηθεί εξολοκλήρου καθώς καλύπτεται από την δράση του συμπαθητικού αγγειοσυσπαστικού αντανακλαστικού και από άλλους εκκρινόμενους μεσολαβητές (36).

Ενδοθήλιο : Ο PAF μεσολαβεί της επικοινωνίας-αλληλεπίδρασης των λευκοκυττάρων με το ενδοθήλιο (προσκόλληση) και παίζει σημαντικό ρόλο στην λειτουργία του ενδοθηλίου καθώς έχει την ικανότητα να αυξήσει την διαπερατότητά του μέσω της απελευθέρωσης άλλων αγγειοδραστικών μεσολαβητών όπως λευκοτριένια και προσταγλαδίνες (36). Επιπλέον αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας προκαλεί τόσο στην συστηματική όσο και στην πνευμονική κυκλοφορία (37).

Μυοκάρδιο : Ο PAF προκαλεί αρνητική ινότροπο δράση, μείωση της συσταλτικής ικανότητας, αλλαγή της ηλεκτρικής δραστηριότητας και δημιουργία αρρυθμιών από δευτέρου βαθμού κολποκοιλιακό αποκλεισμό ως πλήρες κολποκοιλιακό αποκλεισμό, κοιλιακές έκτακτες συστολές κ.α., προαγωγή έκκρισης νατριουρητικού πεπτιδίου και εικοσανοειδών (36).

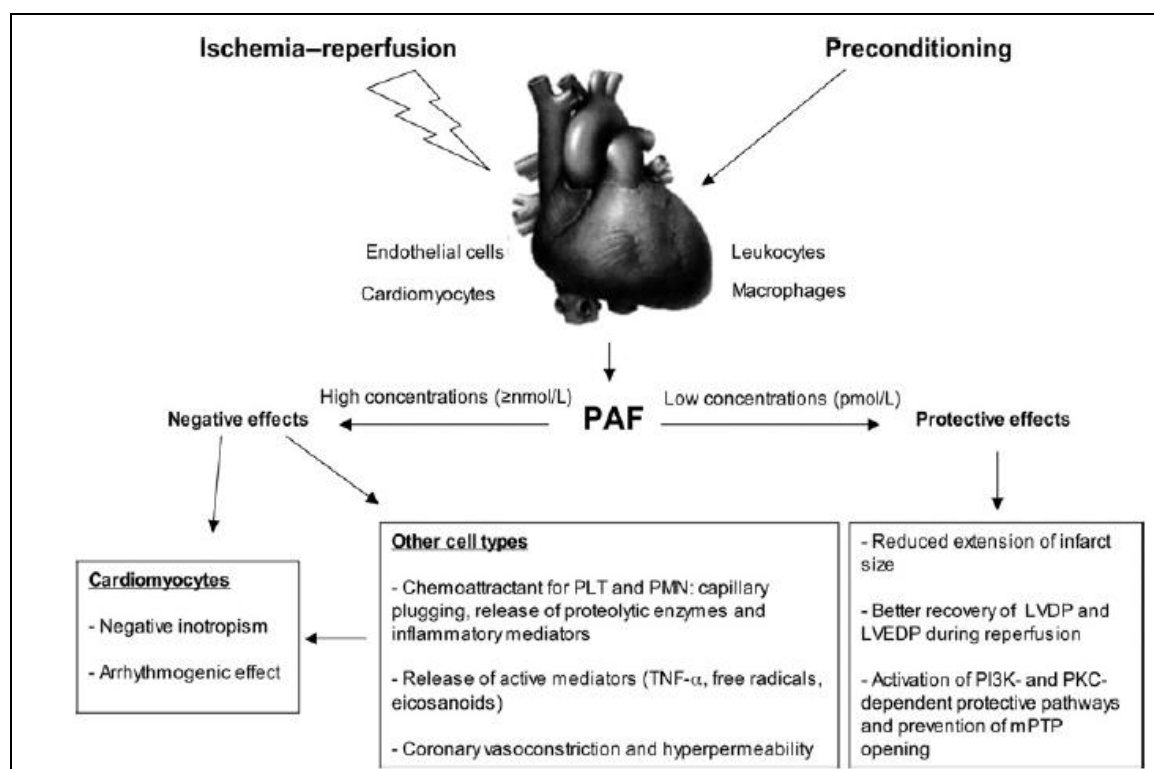
Νεοαγγείωση : Για την έναρξη της διαδικασίας αγγειογένεσης απαιτείται διάσπαση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, μετανάστευση και πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η δράση του PAF συνιστάται στην προαγωγή του σήματος για μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων και στην έκκριση διαφόρων αγγειογενετικών παραγόντων, κυταροκινών και αυξητικών παραγόντων από το ενδοθήλιο. Η δράση αυτή του PAF μπορεί να είναι εξαρτώμενη ή ανεξάρτητη της ηπαρίνης αναλόγως τις συγκεντρώσεις του. Η συμμετοχή στην νεοαγγείωση μπορεί να θεωρηθεί θετικό γεγονός (ανάρρωση μετά από μυοκαρδιακό έμφρακτο) ή και αρνητικό (ρήξη αθηρωματικής πλάκας, ανάπτυξη όγκων) (36).

Ισχαιμία και επαναιμάτωση : Φαίνεται ότι ο PAF παίζει διπλό ρόλο όσον αφορά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση. Συγκεκριμένα, υψηλές συγκεντρώσεις PAF (1-10 nmol/L) κατά την επαναιμάτωση (διέγερση της σύνθεσης του λόγω του οξειδωτικού stress) φαίνεται να προκαλούν σειρά αρνητικών επιπτώσεων με αποτέλεσμα την επιδείνωση της καρδιακής λειτουργίας, ενώ αντιθέτως χαμηλές συγκεντρώσεις της τάξεως των pmol/L, φαίνεται να παρέχουν καρδιοπροστασία παρόμοια με αυτή του “preconditioning” φαινομένου και πιθανόν να διεγείρεται το φαινόμενο αυτό (33). Οι μηχανισμοί φαίνονται στην εικόνα 1.21.

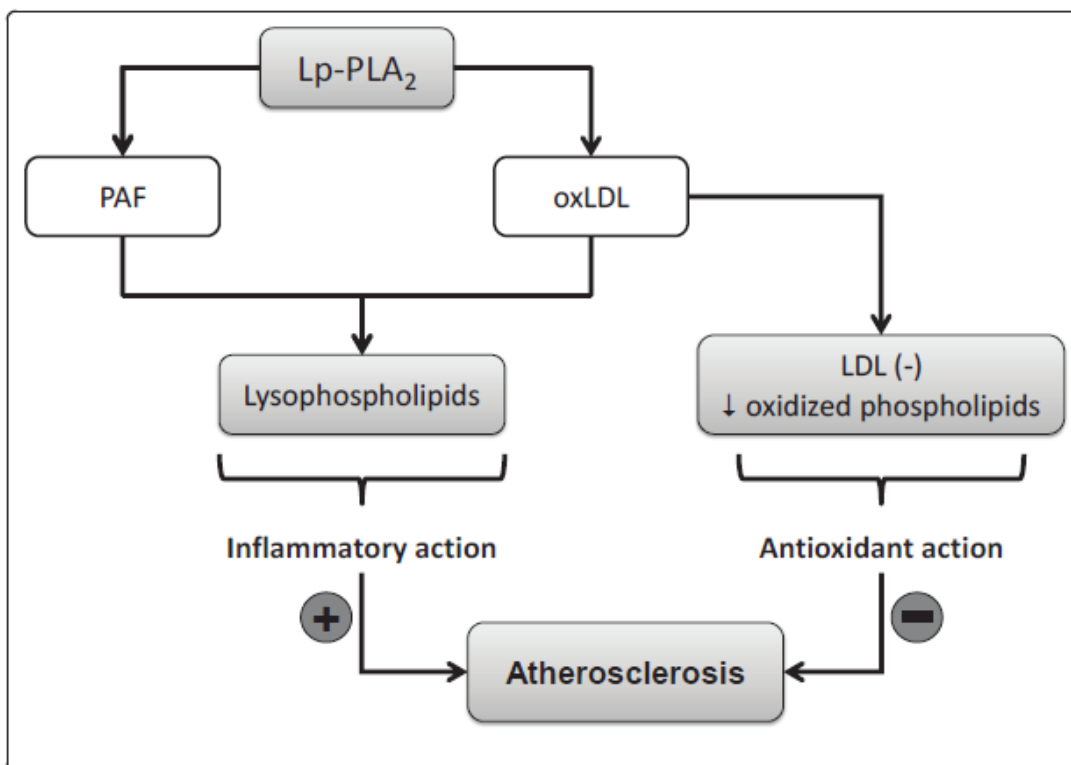
Αθηρωμάτωση : Ο PAF συμμετέχει σχεδόν σε όλα τα στάδια της αθηρωμάτωσης (φλεγμονή, θρόμβωση, οξείδωση). Αρχικώς διεγείρει την φλεγμονώδη απάντηση των ενδοθηλιακών κυττάρων και ταυτόχρονα ενεργοποιεί τα κύτταρα του αίματος (αιμοπετάλια, ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα). Με την ενεργοποίηση των κυττάρων απελευθερώνονται διάφοροι παράγοντες

όπως π.χ κυτταροκίνες, όπου μαζί με τον PAF δρουν χημειοτακτικά στα κύτταρα του αίματος για την προσκόλλησή τους στο ενδοθήλιο και την έναρξη της διαδικασίας αθηρωμάτωσης. Ο PAF όμως μετέχει και στη συνέχεια του φαινομένου με απελευθέρωση ενεργών ελεύθερων ριζών οξυγόνου που οδηγούν στην οξείδωση της LDL και περαιτέρω παραγωγή PAF, με την αύξηση της ενδοθηλιακής διαπερατότητας, την αύξηση του πολλαπλασιασμού των λείων μυικών ινών, την παραγωγή ελαστάσης, ρήξη της αθηρωματικής πλάκας κ.α. Όλο το φαινόμενο συντηρείται με περαιτέρω παραγωγή PAF ως θετική παλίνδρομη ρύθμιση (11).

Παρόλο που ο ρόλος του PAF είναι ξεκάθαρος στην αθηρωμάτωση, οι απόψεις για τον ρόλο της εξωκυτταρικής μορφής της PAF-AH, της LpPLA₂, δίστανται. Ενώ θεωρείται ότι παίζει αντιφλεγμονώδη ρόλο, καθώς προλαμβάνει την συσσώρευση του PAF και των παρόμοιων με τον PAF οξειδωμένων λιπιδίων, το ένζυμο παράγει επίσης και λυσο-PC και οξειδωμένα μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα, τα οποία αντιπροσωπεύουν έναν επίσης πιθανό προ-φλεγμονώδη ρόλο (εικόνα 1.22) (16, 22, 23).



Εικόνα 1.21 : Μηχανισμοί δράσης PAF σε ισχαιμία-επαναιμάτωση (33)



Εικόνα 1.22 : πιθανές δράσεις της PAF-AH (Lp-PLA₂) στην αθηρωμάτωση (22)

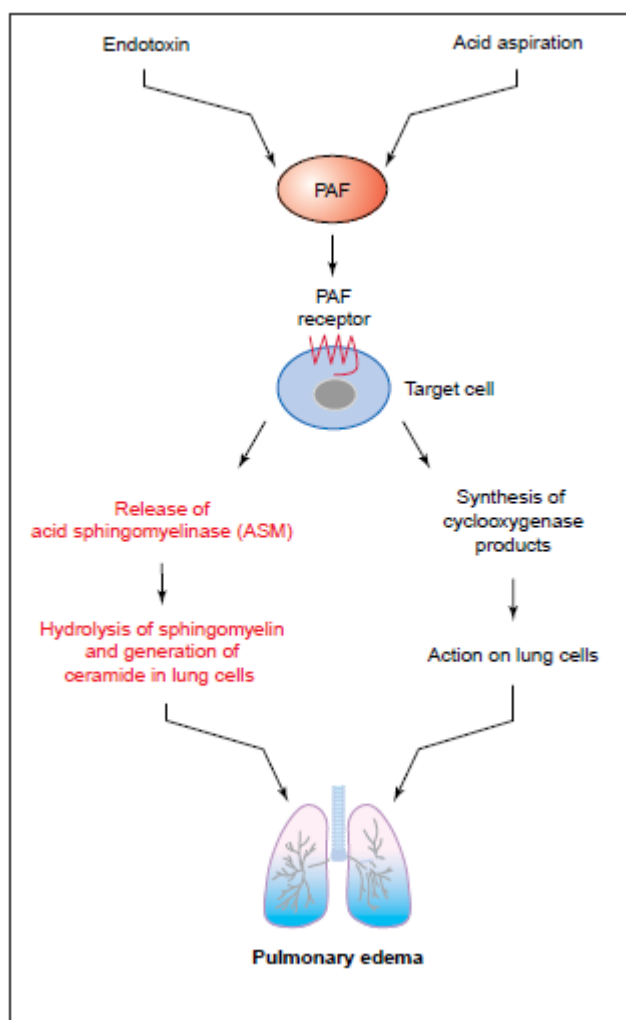
PAF και αναπνευστικό σύστημα

Πνευμονικό οίδημα : Η συμμετοχή του PAF στη δημιουργία πνευμονικού οιδήματος πραγματοποιείται μέσω δύο διαφορετικών μηχανισμών : την συσσώρευση κηραμιδίου μέσω της δράσης του ενζύμου της σφίγγομυελινάσης και την παραγωγή προσταγλαδίνης E₂ μέσω της δράσης της κυκλοοξυγονάσης. Και οι δύο διαδικασίες οδηγούν στην αύξηση της διαπερατότητας των αγγείων των πνευμόνων με συνέπεια την πλήρωση των κυψελίδων με το οιδηματώδη υγρό (εικόνα 1.23) (38, 39).

Βρογχικό άσθμα : Η συμμετοχή του PAF στο βρογχικό άσθμα συνίσταται στην δράση του ως προ-φλεγμονώδης μεσολαβητής που εμπλέκεται στην αναφυλαξία και σε χρόνιες φλεγμονώδεις διαταραχές. Συγκεκριμένα, προκαλεί την απελευθέρωση ισταμίνης από τα βασεόφιλα της κυκλοφορίας και των ιστών, όπως επίσης και από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, δρα ως χημειοτακτικός παράγοντας και ενεργοποιητής των ηωσινόφιλων και των ουδετερόφιλων, ενεργοποιεί τα T-λεμφοκύτταρα προς την παραγωγή IL-4, προάγει την παραγωγή της IL-6 και συμμετέχει σε ορισμένα από τα χαρακτηριστικότερα συμπτώματα του άσθματος, όπως ο βρογχόσπασμος, η βρογχική υπερευαισθησία και η υπερέκκριση ουσιών από τον βρογχικό

βλεννογόνο. Όσον αφορά τη χρήση των ανταγωνιστών του PAF στην θεραπεία του άσθματος, ακόμη δεν έχουν πλήρως αποδειχθεί τα πιθανά κλινικά οφέλη (40).

Οξύ αναπνευστικό σύνδρομο (ARDS) : Η παθογένεση του ARDS δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί όμως σε διάφορες σημαντικές διεργασίες που το περιγράφουν και αφορούν την εξέλιξή του φαίνεται να εμπλέκεται και ο PAF, όπως φλεγμονώδεις διεργασίες, ενεργοποίηση κυττάρων του αίματος, πνευμονικό οίδημα και πνευμονική υπέρταση (41).

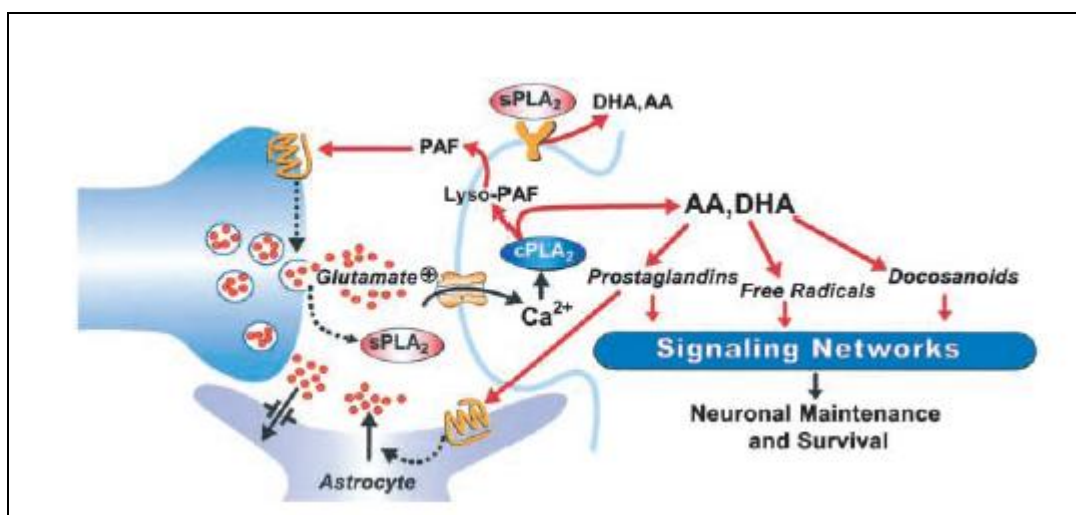


Εικόνα 1.23 : Συμμετοχή PAF στη δημιουργία πνευμονικού οιδήματος (38)

PAF και νευρικό σύστημα

Ο PAF παίζει σημαντικό ρόλο για το νευρικό σύστημα. Σε φυσιολογικές συνθήκες οι δράσεις του αφορούν την λειτουργία της νευρικής σύναψης, τη ρύθμιση της εγκεφαλικής αιματικής ροής, την αγγειογένεση, την απόπτωση και την έκφραση των γονιδίων. Σε παθολογικές καταστάσεις οι δράσεις του PAF αφορούν την δημιουργία φλεγμονής, την συνάθροιση αιμοπεταλίων, την

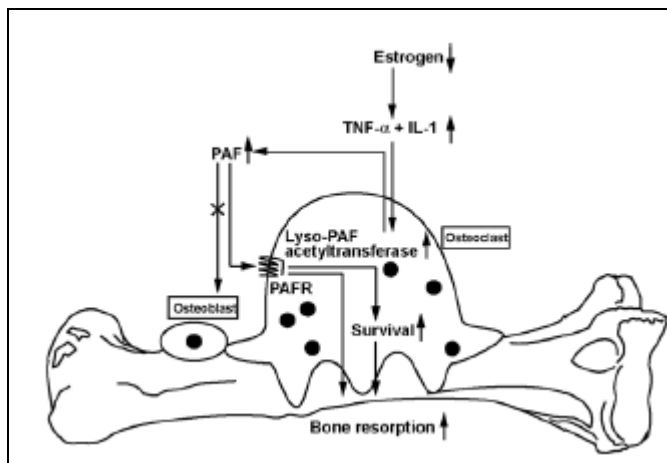
χημειοταξία λευκοκυττάρων, την απελευθέρωση κυτταροκινών και το οξειδωτικό stress, γεγονότα που συνεπάγονται με τον τραυματισμό των νευρικών κυττάρων. Φαίνεται λοιπόν ότι σε ασθένειες και παθολογικές καταστάσεις του νευρικού συστήματος που περιλαμβάνουν τέτοια χαρακτηριστικά (Parkinson, Alzheimer, ισχαιμία, πολλαπλή σκλήρυνση κ.α.) εμπλέκεται το μόριο του PAF στις διαδικασίες που οδηγούν στην νευροεκφύλιση (26, 42). Όσον αφορά το νευρικό κύτταρο, ο PAF παίζει σημαντικό ρόλο στην μετανάστευση των νευρικών κυττάρων, στην γονιδιακή έκφραση, στην κινητοποίηση του ασβεστίου, στην προσαρμογή του και στην διατήρηση της ικανότητας για μεταφορά μηνυμάτων μέσω συνάψεων (εικόνα 1.24) (10, 43).



Εικόνα 1.24 : Ο ρόλος του PAF στη λειτουργία της νευρικής σύναψης μέσω απελευθέρωσης γλουταμίνης (43)

PAF και οστά

Οι οστεοκλάστες φαίνεται να παρουσιάζουν μεγαλύτερη σύνθεση του PAF σε σχέση με τους οστεοβλάστες, όπως και μεγαλύτερα ποσοστά PAFR mRNA. Επομένως πιστεύεται ότι ο PAF κυρίως ρυθμίζει τους οστεοκλάστες με αυτοκρινή / παρακρινή τρόπο. Συγκεκριμένα προκαλείται αύξηση της εισροής ασβεστίου, μορφολογικές αλλαγές, αύξηση της οστεοκλαστικής απορρόφησης και παράταση του χρόνου ζωής των οστεοκλαστών. Θεωρείται ότι η πτώση των οιστρογόνων, μετά από εμμηνόπαυση ή ωοθηκεκτομή, αυξάνει τα επίπεδα κυτταροκινών, όπως TNF-α και IL-1 στο πλάσμα και στο μυελό των οστών με συνέπεια την ενεργοποίηση της λυσο-PAF ακετυλοτρανσφεράσης, την παραγωγή PAF και την αύξηση της απορρόφησης οστικού ιστού, άμεσα αλλά και έμμεσα με την παράταση ζωής των οστεοκλαστών. Επιπλέον σε διάφορες φλεγμονές που αφορούν τον οστικό ιστό όπως οστεοαρθρίτιδα, περιοδοντίτιδα κ.α. φαίνεται να εμπλέκεται ο PAF με τους γνωστούς μηχανισμούς (28).



Εικόνα 1.25: PAF και οστεοβλάστες (28)

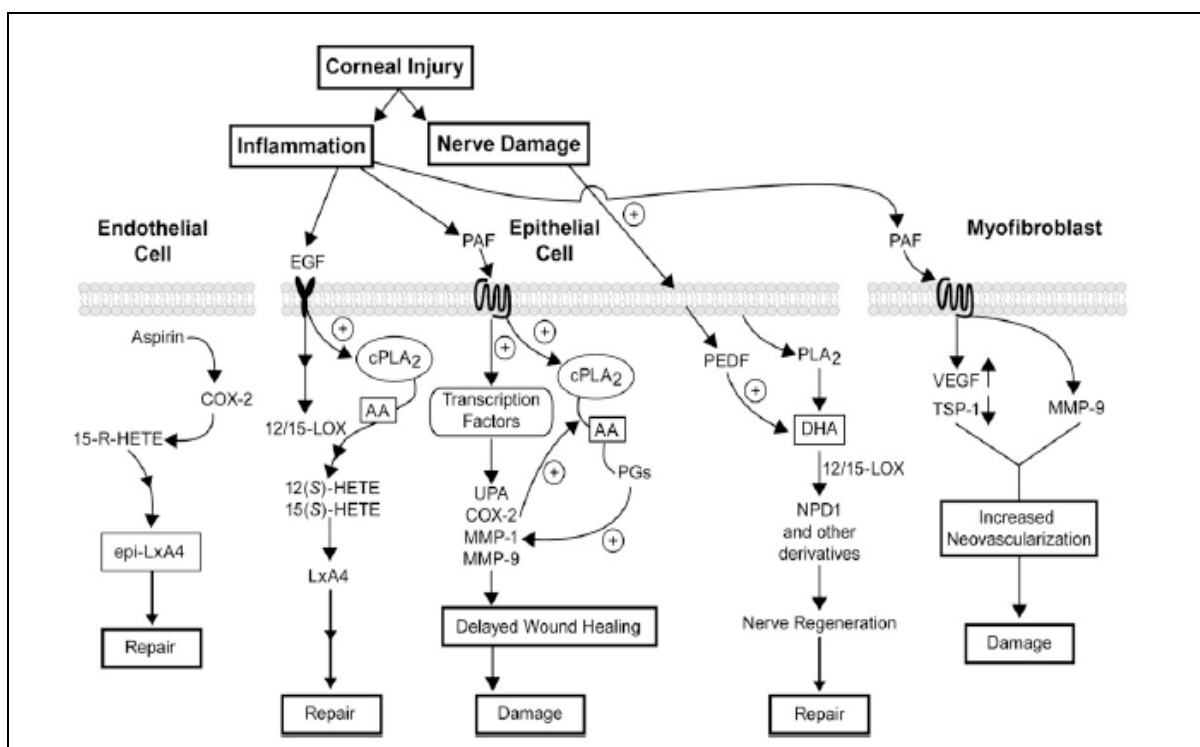
PAF και νεφροί

Όλος ο μηχανισμός βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης του PAF είναι παρών στον νεφρικό ιστό. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα, αν και παίζουν σημαντικό ρόλο στην παραγωγή του, την κύρια πηγή του αποτελούν τα μεσαγγειακά κύτταρα. Ο PAF προκαλεί σημαντικές αιμοδυναμικές αλλαγές στους νεφρούς αναλόγως με τις συγκεντρώσεις του. Σε συγκεντρώσεις της τάξεως των nM προκαλείται δοσοεξαρτώμενη αγγειοσύσπαση ενώ σε συγκεντρώσεις της τάξεως των pM δοσοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή. Ο εξωγενώς χορηγούμενος PAF σε φλέβα προκαλεί μείωση της πείραματικής διήθησης, της νεφρικής αιματικής ροής και της ροής των ούρων, μέσω της πτώσης της αρτηριακής πίεσης. Ο PAF μεσολαβεί στις διεργασίες της οξείας νεφρικής ανεπάρκειας διαφόρων αιτιών όπως της προκαλούμενης από ισχαιμία ή γενικότερα αιμοδυναμικών ανωμαλιών, από νεφροτοξικότητα εξαιτίας ποικιλίας φαρμακευτικών ουσιών, από απόρριψη νεφρικού μοσχεύματος, ακόμη και από εξωνεφρικά αίτια όπως ενδοτοξιναιμία (συμμετέχοντας στις αιμοδυναμικές αλλαγές, στην ανοσολογική βλάβη και στις ιστολογικές αλλοιώσεις των νεφρών) (44, 45).

PAF και κυτταρική απόπτωση

Η αλληλεπίδραση του PAF με τον υποδοχέα του ενεργοποιεί διάφορα μονοπάτια σήματος που εμπλέκονται στην κυτταρική απόπτωση. Δύο αντιπροσωπευτικά παραδείγματα είναι των ερυθρών αιμοσφαιρίων, σε φυσιολογικές (γήρανση) και σε παθολογικές συνθήκες (σήψη,

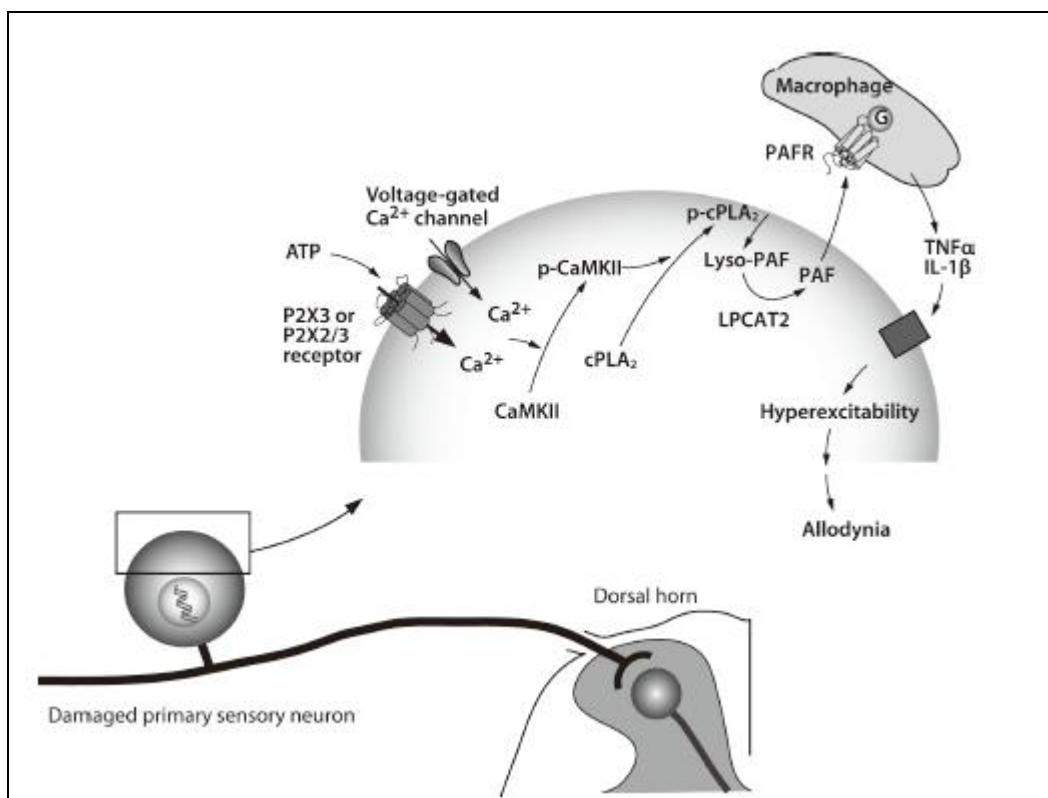
αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο, β-θαλασσαιμία, έλλειψη G6PD, κ.α.) και των κυττάρων του κερατοειδή χιτώνα του οφθαλμού μετά από τραυματισμό. Στην πρώτη περίπτωση ο PAF θεωρείται ότι διεγείρει την “ερυθρόπτωση” μέσω ενεργοποίησης του ενζύμου σφιγγομυελινάση και του σχηματισμού κηραμιδίου. Τα τελευταία ξεκινούν διαδικασίες απόπτωσης των κυττάρων με συσσώρευση φωσφολιποειδών στη μεμβράνη (46, 47). Στην δεύτερη περίπτωση ο PAF επιταχύνει τις διαδικασίες απόπτωσης όλων των ειδών κυττάρων του κερατοειδή χιτώνα του οφθαλμού μετά από τραυματισμό, ακόμη και των περισσότερων ανθεκτικών επιθηλιακών κυττάρων και των μυο-ινοβλαστών (πολλές φορές και με συνεργασία άλλων παραγόντων ή μορίων όπως οι κυτταροκίνες). Η σύνθεση του PAF συμβαίνει με υψηλότερο ρυθμό μέσω της remodeling πορείας καθώς ο τραυματισμός του κερατοειδή ενεργοποιεί την φωσφολιπάση A₂. Επιπλέον ο PAF αναστέλλει την προσπάθεια επούλωσης του τραύματος των διαφόρων αυξητικών παραγόντων (επιδερμικός αυξητικός παράγων, κερατινοκυτταρικός αυξητικός παράγων κ.α.). Οι παράγοντες αυτοί, παράλληλα, φαίνεται αφενός να προκαλούν αύξηση του PAFR προωθώντας έτσι έναν μηχανισμό ρύθμισης με αρνητική ανατροφοδότηση και αφετέρου να χρησιμοποιούν ως δεύτερα μηνύματα άλλους μεσολαβητές όπως προϊόντα της λιποξυγονάσης για να προωθούν την επούλωση (εικόνα 1.26) (48, 49).



Εικόνα 1.26 : Λιποειδικοί μεσολαβητές και βλάβη του κερατοειδή χιτώνα (49)

PAF και πόνος

Ο PAF φαίνεται να εμπλέκεται στον προκαλούμενο από ιστική βλάβη πόνο και όχι στον οξύ πόνο από θερμικά και μηχανικά ερεθίσματα. Για παράδειγμα στον χρόνια νευροπαθητικό πόνο, στα γάγγλια των οπισθίων ριζών μία σειρά γεγονότων, που ενεργοποιείται από εξωκυττάριο ATP των γειτονικών κυττάρων, συνεπάγεται την απελευθέρωση PAF. Ο PAF συνδέεται με τον υποδοχέα του στα γειτονικά μακροφάγα με αποτέλεσμα την απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών (TNF- α , IL-1 β κ.α.). Οι κυτταροκίνες προκαλούν υπερευερεθιστότητα των αρχικών κυττάρων και αλλοδυνία. Η αναστολή της διαδικασίας αυτής π.χ. με την χρήση PAF αναστολέων θεωρείται καινούρια θεραπευτική προσέγγιση του χρόνιου νευροπαθητικού πόνου και μάλιστα χωρίς να επηρεαστεί η βασική ευαισθησία στον πόνο (50).



Εικόνα 1.27 : PAF και αλλοδυνία (50)

PAF και αναπαραγωγή

Ο ρόλος του PAF είναι σημαντικός για όλα τα στάδια αναπαραγωγής του ανθρώπου από την ωορρηξία μέχρι τον τοκετό. Χαρακτηρίζεται ως εμβρυοτροφίνη και είναι ο πρώτος τροφικός παράγοντας που βιοσυντίθεται από το έμβρυο από την πρώτη κιόλας στιγμή. Παίζει ρόλο στην

αναγνώριση της εγκυμοσύνης από την μητέρα, στις μορφολογικές και λειτουργικές αλλαγές του ωαγωγού, αποτελεί τρόπο επικοινωνίας του ωαγωγού και της μήτρας με το έμβρυο, συμμετέχει στην διαδικασία εμφύτευσης, στις μετά-εμφύτευσης διεργασίες με την παραγωγή προσταγλαδινών, στην ανάπτυξη του εμβρύου, τον μεταβολισμό του, τις κυτταρικές διαιρέσεις και την βιωσιμότητά του και στην έναρξη των διαδικασιών του τοκετού. Παράγεται τόσο από το έμβρυο όσο και από τα επιθηλιακά κύτταρα της μήτρας, δρα μέσω του υποδοχέα του και βρίσκεται υπό ορμονική ρύθμιση. Οι στεροειδείς ορμόνες ρυθμίζουν τόσο την παρασκευή και την αποικοδόμηση του PAF (ρύθμιση PAF-AH), όσο και την έκφραση του PAFR (το αντίστοιχο γονίδιο περιέχει δύο περιοχές απόκρισης των στεροειδών και μία της οιστραδιόλης στην περιοχή του υποκινητή) (51, 52).

Παρουσία του PAF έχει βρεθεί και στα σπερματοζωάρια και η δράση του φαίνεται να επιδρά στην ομαλή λειτουργία των σπερματοζωαρίων, στην αυξημένη κινητικότητά τους και στην καλύτερη επικοινωνία σπέρματος-ωαρίου, διευκολύνοντας την διαδικασία γονιμοποίησης. Έχει συσχετιστεί θετικά με την γονιμότητα και ασκεί τις δράσεις του μέσω του υποδοχέα του και την ενεργοποίηση του μονοπατιού σήματος της τριφωσφορικής ινοσιτόλης-διακυλογλυκερόλης που συνεπάγεται την ενδοκυττάρια αύξηση των επιπέδων ασβεστίου. Επίσης είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι και εδώ ο μεταβολισμός του PAF βρίσκεται υπό την ορμονική ρύθμιση των ανδρογόνων, οιστρογόνων και προγεστερόνης (53).

PAF και καρκίνος

Τα τελευταία χρόνια έχει δοθεί ιδιαίτερη έμφαση στο γεγονός ότι στην έναρξη και στην εξέλιξη του καρκίνου παίζει σημαντικό ρόλο το φλεγμονώδες μικροκυτταρικό περιβάλλον του. Φλεγμονώδη κύτταρα (ουδετερόφιλα, μακροφάγα, αιμοπετάλια κ.α.) παράγουν σειρά ουσιών όπως αυξητικούς παράγοντες, πρωτεάσες, αγγειογενετικούς παράγοντες, κυτταροκίνες κ.α.. Στις ουσίες αυτές ανήκει και ο PAF, ο οποίος παράγεται επίσης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα ίδια τα καρκινικά κύτταρα. Ο παραγόμενος PAF μέσω της σύνδεσης με τον υποδοχέα του, και στα δύο είδη κυττάρων (ενδοθηλιακά, καρκινικά), προκαλεί αφενός την περαιτέρω σύνθεση PAF (θετική παλίνδρομη ρύθμιση) και αφετέρου την ενεργοποίηση μηχανισμών μιτωτικού πολλαπλασιασμού, κινητικότητας, έκφρασης μορίων συγκόλλησης, διεισδυτικότητας και μετανάστευσης των καρκινικών κυττάρων και ενεργοποίηση μηχανισμών αποδόμησης εξωκυττάριας ουσίας, μιτωτικού πολλαπλασιασμού, κινητικότητας, έκφρασης μορίων συγκόλλησης, μετανάστευσης και σχηματισμού νέων αγγείων των ενδοθηλιακών κυττάρων. Οι

δράσεις αυτές είναι ζωτικής σημασίας για την επιβίωση του καρκινικού όγκου και την δημιουργία μετάστασης (1, 54).

Με την κατανόηση της συμμετοχής του PAF σε αυτές τις διεργασίες γίνεται προσπάθεια στο πεδίο της έρευνας να διαλευκανθεί αν τα επίπεδα του PAF ή και του υποδοχέα του είναι δυνατόν να έχουν κάποια προγνωστική αξία στον καρκίνο, να βρεθούν νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις (αναστολή δράσης PAF ή τη χρήση συνθετικών αλκυλοφωσφολιποειδών, δομικά προερχόμενα από τον PAF, ως αναστολείς του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων) (54, 55).

Αντιλαμβανόμενοι τις δράσεις του PAF, τόσο σε κυτταρικό όσο και σε επίπεδο ιστών και οργάνων, του περιβάλλοντος του και της σημασίας του, κατανοούμε την μέγιστη ικανότητά του να δρα ως μεσολαβητής των κυττάρων και των διαφόρων διεργασιών. Από τον προσδιορισμό του μέχρι σήμερα το ενδιαφέρον για το μόριο αυτό παραμένει αμείωτο και συνεχώς ανακαλύπτονται νέα πεδία της δράσης του και νέες προσπάθειες για πιθανές θεραπευτικές προσεγγίσεις για πολλές παθολογικές καταστάσεις και νοσήματα.

**ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΚΑΙ
ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ**

2.1 Συνοπτική παρουσίαση ανοσοποιητικού συστήματος

Η ανοσιακή απάντηση αποτελεί έναν πρωταρχικό μηχανισμό άμυνας του οργανισμού έναντι μικροοργανισμών και “ξένων” ουσιών και συνιστάται από όλες τις διεργασίες που λαμβάνουν χώρα από την έναρξη της λοίμωξης ή του τραυματισμού μέχρι και την αποκατάσταση της ομοιοστασίας. Τα κύτταρα του οργανισμού και οι παραγόμενες ουσίες που εμπλέκονται σ’ αυτές τις διεργασίες καθώς και οι ιστοί που τα παράγουν αποτελούν το ανοσιακό ή ανοσοποιητικό σύστημα.

Τα κύτταρα του ανοσιακού συστήματος είναι τα λεμφοκύτταρα, τα πλασματοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα κοκκιοκύτταρα, τα σιτευτικά κύτταρα των ιστών (mast cells) καθώς και τα λεγόμενα δενδριτικά κύτταρα.

Τα λεμφοκύτταρα είναι τα μόνα που έχουν την ικανότητα να αναγνωρίζουν “ειδικά” τα διάφορα αντιγόνα και ανάλογα με τις λειτουργίες τους διακρίνονται α) στα Β λεμφοκύτταρα, τα οποία φέρουν στην επιφάνειά τους μόρια ανοσοσφαιρινών ως θέσεις υποδοχέων αντιγόνου και μετά την επαφή τους με το αντιγόνο διαφοροποιούνται προς πλασματοκύτταρα (τα οποία εκκρίνουν τις ανοσοσφαιρίνες – αντισώματα), β) στα Τ λεμφοκύτταρα, τα οποία διακρίνονται στα i) βοηθητικά (helper T cells)(σχετίζονται με την κυτταρική ανοσία – T_H1 ή αλληλεπιδρούν με τα Β κύτταρα στο πλαίσιο της χυμικής ανοσίας - T_H2), ii) κατασταλτικά (suppressor T cells) (καταστολή χυμικής και κυτταρικής ανοσίας), iii) κυτταροτοξικά (cytotoxic ή killer T cells) (καταστροφή “ξένων” κυττάρων) και iv) μνημονικά (memory T cells) (παλαιότερη έκθεση σε αντιγόνο και μετατροπή σε δραστικά κύτταρα μετά από νέα επαφή με το ίδιο αντιγόνο) και τέλος η τελευταία κατηγορία των λεμφοκυττάρων γ) τα φυσικά κυτταροκτόνα (Natural Killer - NK) κύτταρα, τα οποία αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας κατά την περίοδο ενεργοποίησης των Β και Τ λεμφοκυττάρων.

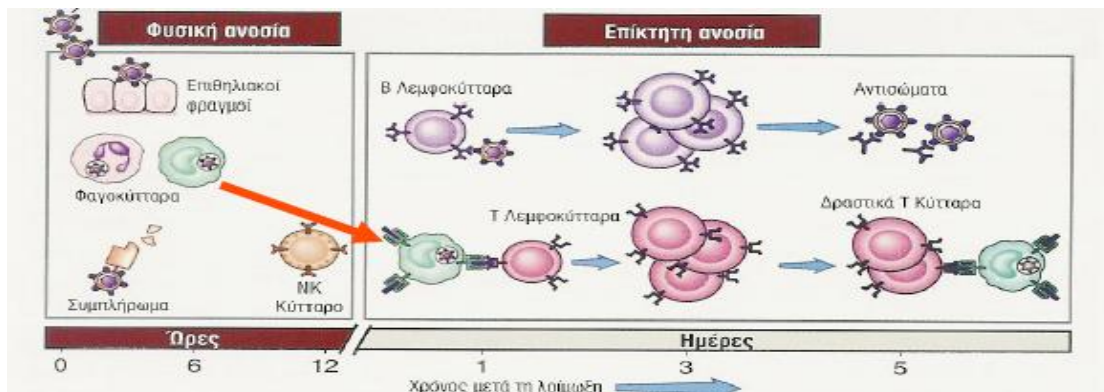
Τα δενδριτικά κύτταρα είναι αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC) και υποδιαιρούνται σε ποικίλες κατηγορίες. Η ύπαρξη των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων είναι πολύ σημαντική δεδομένου ότι τα Τ λεμφοκύτταρα δεν αναγνωρίζουν διαλυτά-ελεύθερα αντιγόνα αλλά μόνον όσα

φέρονται στην επιφάνεια των ειδικών αυτών κυττάρων σε σύνδεση με πρωτεΐνες του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας (MHC). Ως αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα μπορούν επίσης να λειτουργήσουν τα μακροφάγα και τα Β λεμφοκύτταρα.

Οι ιστοί και τα όργανα του ανοσιακού συστήματος είναι διασπαρμένα σε όλο το σώμα και αποτελούνται από τα κεντρικά λεμφικά όργανα (θύμος, μυελός των οστών, εμβρυικό ήπαρ) με κύριο σκοπό τον εφοδιασμό της περιφέρειας με “ώριμα” λεμφοκύτταρα και τα περιφερικά λεμφικά όργανα (λεμφαδένες, σπλήνας, λεμφικοί ιστοί των βλεννογόνων και του δέρματος) με κύριο σκοπό την εκκίνηση των ανοσολογικών απαντήσεων φέρνοντας σε επαφή αντιγόνα και λεμφοκύτταρα.

Η αντίδραση του οργανισμού έναντι των “ξένων” ουσιών μπορεί να είναι “μη ειδική”/φυσική ή “ειδική”/επίκτητη. Στην πρώτη περίπτωση η αντίδραση είναι έμφυτη, άμεση, γενική, χωρίς μνήμη, ενισχύει και ενισχύεται από την επίκτητη ανοσία και κινητοποιεί κύτταρα όπως επιθηλιακά (επιθηλιακός φραγμός), φαγοκύτταρα (ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα/ μακροφάγα) και φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα, αλλά και πρωτεΐνες (κυτταροκίνες φυσικής ανοσίας, σύστημα συμπληρώματος, άλλες πρωτεΐνες του πλάσματος). Επομένως οι μηχανισμοί που χρησιμοποιούνται περιλαμβάνουν τους φυσικούς και χημικούς φραγμούς του σώματος, την διεργασία της φλεγμονής (τοπική αντιδραστική αλλοίωση των ιστών μετά την βλάβη ή τον ερεθισμό) την φαγοκυτταρική λειτουργία των κυττάρων, το σύστημα του συμπληρώματος και την λειτουργία των NK κυττάρων. Στην δεύτερη περίπτωση η αντίδραση είναι επίκτητη (προσαρμοσμένη), χρειάζεται χρόνο για να δράσει (ημέρες), παρουσιάζει υψηλή ειδικότητα και μνήμη, ενισχύει την φυσική ανοσία αλλά και χρησιμοποιεί κύτταρα της. Αποτελείται από δύο τύπους: την χυμική ανοσία (Β λεμφοκύτταρα – αντισώματα) και την κυτταρική ανοσία (Τ λεμφοκύτταρα). Η χυμική ανοσία αφορά εξωκυττάριους μικροοργανισμούς ενώ η κυτταρική ανοσία αφορά φαγοκυτταρωμένους μικροοργανισμούς σε μακροφάγα και ενδοκυττάριους μικροοργανισμούς που αναπαράγονται σε μολυσμένα κύτταρα (π.χ. ιοί).

Ως “γλώσσα επικοινωνίας” του ανοσιακού συστήματος χρησιμοποιούνται μόρια με πολλές σημαντικές βιολογικές δραστηριότητες, οι κυτταροκίνες. Οι κυτταροκίνες είναι γλυκοπρωτεΐνες και περιλαμβάνουν τις ιντερλευκίνες, τις ιντερφερόνες, τους αυξητικούς παράγοντες, τους διεγερτικούς της αιμοποίησης παράγοντες και τον παράγοντα νέκρωσης των όγκων. Οι κυτταροκίνες παράγονται από πολλά κύτταρα του ανοσοποιητικού (Β, Τ λεμφοκύτταρα, NK κύτταρα, μακροφάγα) αλλά και από κύτταρα άλλων συστημάτων (ενδοθηλιακά, νευρώνες, νευρογλοιακά κ.α.) και μετέχουν στην κυτταρική ανάπτυξη και ενεργοποίηση, φλεγμονή, ανοσία, ιστική ανάπλαση κ.α. (56, 57).



Εικόνα 2.1 : Φυσική και επίκτητη ανοσία

2.2 Συνοπτική παρουσίαση ενδοκρινικού συστήματος

Το ενδοκρινικό είναι ένα από τα βασικότερα συστήματα επικοινωνίας του ανθρώπινου σώματος. Το σύστημα αυτό διαφέρει από τα περισσότερα άλλα συστήματα του οργανισμού καθώς αποτελείται από πολλούς αδένες οι οποίοι όμως δεν παρουσιάζουν ανατομική συνέχεια μεταξύ τους. Οι αδένες αυτοί ονομάζονται ενδοκρινείς και εκκρίνουν ορμόνες. Οι ορμόνες είναι χημικά μηνυματοφόρα μόρια τα οποία μεταφέρονται, μέσω του αίματος, από τους ενδοκρινείς αδένες στα κύτταρα πάνω στα οποία δρουν. Ο ορισμός της ορμόνης περιλαμβάνει πολλές φορές, εκτός από τις ορμόνες των ενδοκρινών αδένων, και άλλες ουσίες που εμφανίζουν ορμονική δράση.

Με την έννοια του ξεχωριστού μορφολογικά και λειτουργικά ανατομικού μορφώματος υπάρχουν στον ανθρώπινο οργανισμό οι εξής ενδοκρινείς αδένες: η υπόφυση, η επίφυση ή κωνάριο, ο θυρεοειδής, οι παραθυρεοειδείς, τα επινεφρίδια, τα νησίδια του παγκρέατος και οι γονάδες (ωothήκες, όρχεις). Επίσης στον οργανισμό υπάρχουν και αθροίσματα κυττάρων ή διάσπαρτα εξειδικευμένα κύτταρα που παράγουν και εκκρίνουν ουσίες με όλους τους χαρακτήρες των ορμονών (π.χ. υποθάλαμος ή κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα αντίστοιχα).

Οι περισσότερες ορμόνες απελευθερώνονται σε σύντομες παλμροιακές δόσεις, με μηδενική ή μικρή έκκριση ανάμεσα στις παλμικές αυτές κινήσεις. Ο εκκριτικός ρυθμός τους παρουσιάζει 24ωρη διακύμανση, με κάθε ορμόνη να έχει διαφορετική περίοδο βιορρυθμού. Ο έλεγχος της έκκρισης πραγματοποιείται μέσω της συγκέντρωσης των ιόντων και θρεπτικών στοιχείων του πλάσματος (π.χ. ινσουλίνη), μέσω των νεύρων (π.χ. υποθάλαμος) και μέσω άλλων ορμονών. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να τονιστεί ότι περισσότερα του ενός εισερχόμενα σήματα επηρεάζουν την έκκριση των ορμονών, επομένως ο έλεγχος είναι πολύπλοκος και αυστηρός. Μέσα στο πλαίσιο αυτό, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες υπάρχει για κάθε ορμόνη ένας ειδικός ρυθμιστικός μηχανισμός. Οι μηχανισμοί αυτοί εμφανίζονται με την μορφή κυκλωμάτων ή

συστημάτων παλίνδρομης ρύθμισης (feedback circuits). Η ακριβής διάρθρωση αυτών των συστημάτων ποικίλει σε κάθε περίπτωση όμως γενικώς ακολουθείται ο εξής κανόνας: η στάθμη της έκκρισης μίας ορμόνης εξαρτάται από την στάθμη της ορμόνης που η πρώτη ρυθμίζει. Η εξάρτηση αυτή είναι άμεση ή και έμμεση οπότε πραγματοποιείται διαμέσου ενός ή περισσότερων ενδιάμεσων σταθμών ή κυκλωμάτων. Στις περισσότερες περιπτώσεις εμφανίζεται η μορφή της αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης και πολύ πιο σπάνια της θετικής παλίνδρομης ρύθμισης. Στην διαδικασία αυτή της αυτορρύθμισης του ενδοκρινικού συστήματος πρωταγωνιστής είναι πολλές φορές ο υποθάλαμος , ο οποίος αποτελεί κύριο συντονιστή πολλών σημαντικών λειτουργιών μέσω της έκκρισης ενός σημαντικού αριθμού ορμονών που με την σειρά τους ρυθμίζουν την λειτουργία διάφορων ενδοκρινών αδένων με ενδιάμεσο σταθμό την υπόφυση. Το σύστημα αυτό ονομάζεται υποθαλαμοϋποφυσιακό σύστημα και αποτελείται από πολλούς άξονες αναλόγως το τελικό ρυθμιζόμενο όργανο και τις ορμόνες που το ρυθμίζουν (π.χ. υποθαλαμουποφυσιακό-θυρεοειδικός άξονας, υποθαλαμουποφυσιακό-επινεφριδιακός άξονας κ.α.) (56-58).

2.3 Επικοινωνία συστημάτων – διασυστηματικό μοντέλο (supersystem model)

Στην υπηρεσία της διατήρησης της ομοιοστασίας και του συντονισμού των διαφόρων λειτουργιών του οργανισμού, τα επιμέρους συστήματά του επικοινωνούν μεταξύ τους και τις περισσότερες φορές λειτουργούν σαν μονάδα.

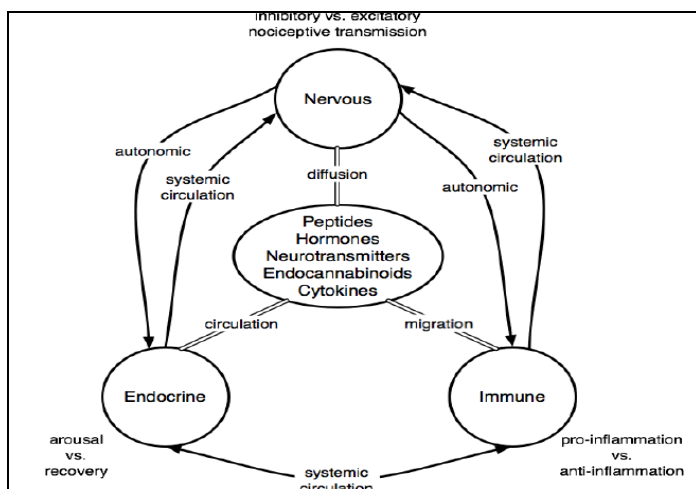
Τα κατεξοχήν επικοινωνιακά συστήματα του οργανισμού είναι το ενδοκρινικό και το νευρικό. Στον άνθρωπο η αλληλεπίδραση και η αλληλεξάρτηση των δύο προαναφερόμενων συστημάτων φαίνεται από την έκκριση ορμονών από νευρικά κύτταρα (π.χ. υποθαλαμικές ορμόνες), από την ρύθμιση μέσω νέρων της έκκρισης των ορμονών, από την δράση των ορμονών σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου, από την κοινή ανατομική τους ύπαρξη στην περίπτωση της νευροϋπόφυσης , η οποία στην πραγματικότητα αποτελεί νευρική προέκταση του υποθαλάμου και τέλος από την άψογη συνεργασία τους στην ρύθμιση βασικών λειτουργιών και ομοιοστατικών μηχανισμών. Για το λόγο αυτό πολλές φορές η συνεργασία αυτή αναφέρεται με την ονομασία: νευροενδοκρινικό σύστημα.

Η αλληλεπίδραση μεταξύ νευροενδοκρινικού και ανοσοποιητικού συστήματος μελετάται πολύ τις τελευταίες δεκαετίες ανοίγοντας καινούριους ορίζοντες σε αυτό το πεδίο και πολλές νέες πιθανές θεραπευτικές προσεγγίσεις για πολλές παθολογικές καταστάσεις και νοσήματα. Το νευροενδοκρινικό σύστημα μπορεί άμεσα και έμμεσα να επηρεάσει την αναπτυξιακή και την

λειτουργική δραστηριότητα του ανοσιακού συστήματος και από την άλλη πλευρά, το ανοσιακό σύστημα μπορεί να συνεργαστεί στην ρύθμιση του ενδοκρινικού συστήματος (59).

Επιπρόσθετα, η επικοινωνία μεταξύ του νευρικού με το ανοσοποιητικό σύστημα πραγματοποιείται μέσω δύο κύριων μονοπατιών: α) της ορμονικής απάντησης κυρίως μέσω των υποθαλαμοϋποφυσιακών αξόνων (ενδοκρινικό σύστημα) και β) του αυτόνομου νευρικού συστήματος μέσω της απελευθέρωσης νορεπινεφρίνης και ακετυλοχολίνης από τα συμπαθητικά και παρασυμπαθητικά νεύρα. Με την σειρά του το ανοσοποιητικό σύστημα ρυθμίζει το νευρικό μέσω των κυτταροκινών (60).

Τα τρία συστήματα, νευρικό, ενδοκρινικό και ανοσοποιητικό έχουν κοινή “χημική γλώσσα επικοινωνίας” και οι ορμόνες, τα πεπτίδια, οι νευροδιαβιβαστές, τα ενδοκανναβιοειδή και οι κυτταροκίνες συνιστούν τα κύρια στοιχεία της συγκεκριμένης “γλώσσας”. Πολλά από αυτά τα πρωτεϊνικά μόρια ασκούν πλειοτροπικές δράσεις σε πολλά επίπεδα. Επομένως η ερμηνεία του supersystem μοντέλου εξυπηρετεί την έννοια της αλληλεπίδρασης των τριών αυτών συστημάτων και την δράση τους ως μονάδα με τρία διαφορετικά αυτόνομα υποσυστήματα. Στο επίπεδο του supersystem πραγματοποιείται διαρκώς ανταλλαγή χημικών μηνυμάτων και έτσι η διανομή της πληροφορίας κάνει δυνατό τον συνεχή συντονισμό και την λειτουργία θετικών ή αρνητικών παλίνδρομων ρυθμίσεων μεταξύ των συστημάτων με σκοπό την μετακίνηση του supersystem προς την επιθυμητή ισορροπία (61). Η διατάραξη της ισορροπίας αυτής είναι ζωτικής σημασίας καθώς μπορεί να αποτελέσει την αιτιοπαθογένεια πολλών διαφορετικών νοσημάτων. Για παράδειγμα η απώλεια της ισορροπίας προς ένα ανοσοποιητικό που υπερλειτουργεί μπορεί να οδηγήσει στην γένεση φλεγμονωδών νοσημάτων και το αντίθετο, η απώλεια της ισορροπίας προς ένα ανοσοποιητικό που υπολειτουργεί μπορεί να δημιουργήσει αδυναμία του οργανισμού να αντιμετωπίσει την πρόκληση των λοιμώξεων και υπερευαισθησία προς αυτές.



Εικόνα 2.2 : Επικοινωνία των

υποσυστημάτων του supersystem μέσω της κοινής χημικής τους γλώσσας (61)

Παρακάτω θα ακολουθήσουν αναλυτικά παραδείγματα αλληλεπίδρασης του ενδοκρινικού με το ανοσοποιητικό σύστημα για την ευκολότερη κατανόηση του ισχυρού αυτού δεσμού και της σημασίας του.

2.4 Ανοσοποιητικό σύστημα και υποθαλαμοϋποφυσιακο-επινεφριδιακός άξονας.

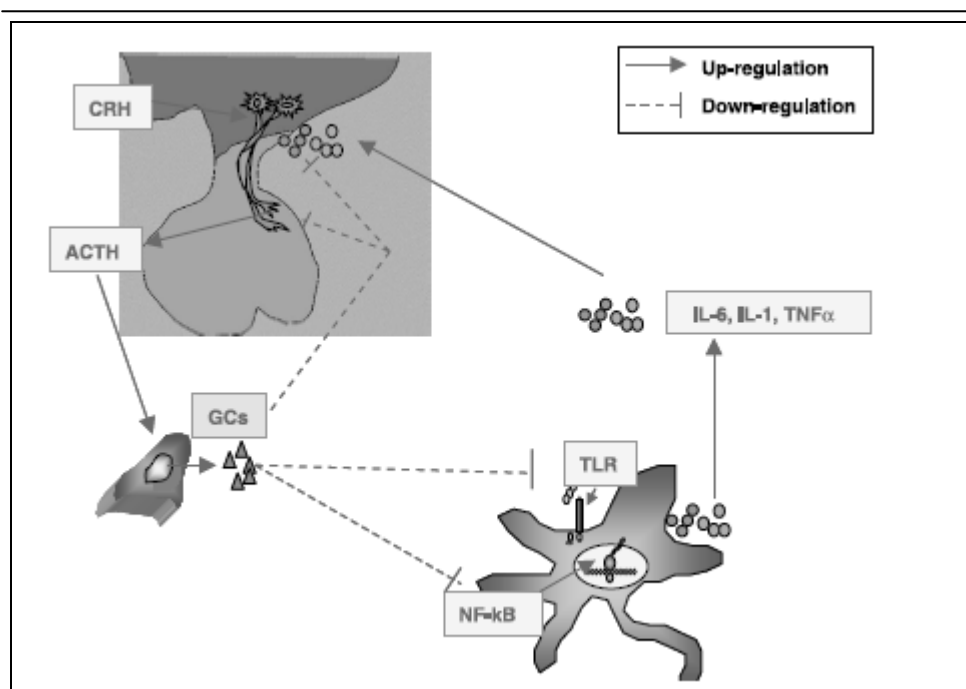
Ο υποθαλαμουποφυσιακό-επινεφριδιακός άξονας (HPA axis) αποτελεί ένα από τα χαρακτηριστικότερα και γνωστότερα παραδείγματα της διπλής κατευθύνσεως αλληλεπίδρασης του ενδοκρινικού με το ανοσοποιητικό σύστημα και λειτουργεί ως εξής: Στρεσογόνα και μη ερεθίσματα διεγείρουν την έκκριση κορτικοεκλυτίνης (CRH) από τον υποθάλαμο. Η CRH με την σειρά της διεγείρει την έκκριση της κορτικοτροπίνης (ACTH) από την πρόσθια υπόφυση και η τελευταία διεγείρει την έκκριση κορτιζόλης από τον φλοιό των επινεφριδίων. Η κορτιζόλη εξυπηρετεί στον χειρισμό οποιασδήποτε κατάστασης κινδύνου (stress) από τον οργανισμό.

Η διατήρηση της ομοιοστασίας κατά την διάρκεια μίας πρόκλησης για τον οργανισμό όπως π.χ. μία λοίμωξη είναι ζωτικής σημασίας. Επομένως με την ενεργοποίηση της δράσης του ανοσοποιητικού συστήματος ενεργοποιούνται ταυτόχρονα και μηχανισμοί προστασίας του ξενιστή από την ίδια την ανοσιακή απάντηση. Κατά τη διάρκεια της δράσης του ανοσοποιητικού απελευθερώνεται σειρά κυτταροκινών (στα πρώιμα στάδια με προ-φλεγμονώδη δράση και στα επόμενα στάδια και με αντι-φλεγμονώδη δράση) η οποίες ενεργοποιούν τον HPA άξονα με απώτερο σκοπό την απελευθέρωση γλυκοκορτικοειδών. Υποδοχείς κυτταροκινών έχουν ανιχνευτεί σε όλα τα επίπεδα του άξονα και έτσι κάθε επίπεδο μπορεί να λειτουργήσει ως σημείο επικοινωνίας των δύο συστημάτων. Επιπλέον η ύπαρξη τοπικής παραγωγής κυτταροκινών και στα τρία επίπεδα του άξονα (υποθάλαμος, υπόφυση, επινεφρίδια) που δρουν με παρακρινικό τρόπο ενισχύει ακόμη περισσότερο αυτή τη σχέση. Η παραγωγή των γλυκοκορτικοειδών ουσιαστικά αποτελεί ένα μηχανισμό αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης με σκοπό την καταστολή της περαιτέρω παραγωγής κυτταροκινών και την προστασία του οργανισμού από την υπερλειτουργία του ανοσοποιητικού (ιστική βλάβη, αυτοανοσία, σηπτικό shock κ.α.). Φαίνεται λοιπόν καθαρά εδώ ότι το ενδοκρινικό σύστημα ασκεί έλεγχο στο ανοσοποιητικό και μάλιστα μετά από διέγερση του πρώτου από το δεύτερο (62, 63).

Η ανοσοκατασταλτική δράση των γλυκοκορτικοειδών είναι γνωστή εδώ και πολλά χρόνια καθώς ήδη χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο του ανοσοποιητικού συστήματος στην θεραπευτική πράξη. Συγκεκριμένα δρουν μέσω ενδοκυττάρων υποδοχέων και με την μεταφορά του

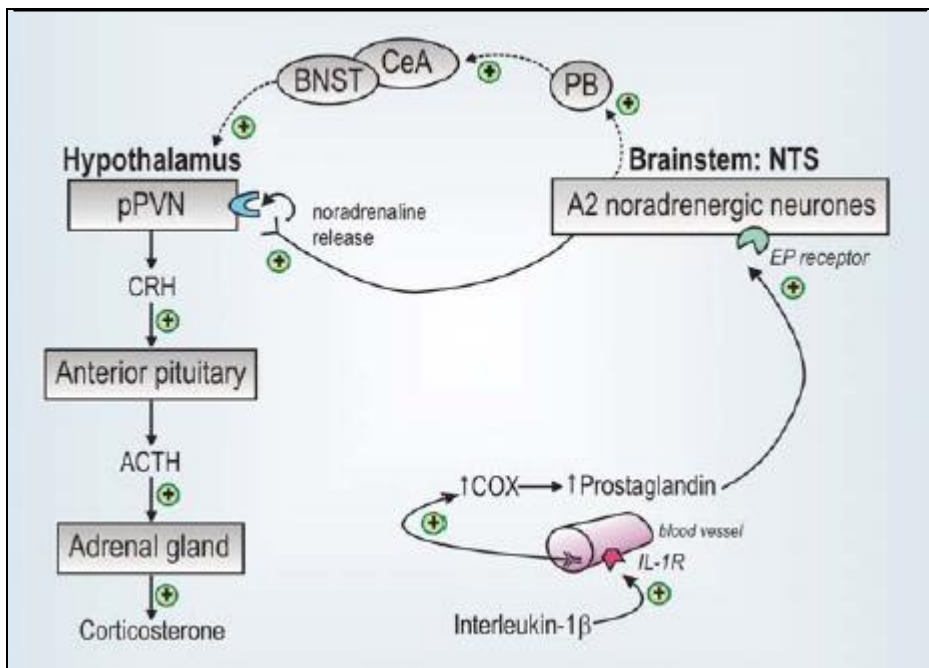
συμπλέγματος υποδοχέας-ορμόνη στον πυρήνα έχουν την ικανότητα άμεσα ή έμμεσα να ρυθμίσουν την μεταγραφή πολλών γονιδίων. Η καταστολή αφορά γονίδια που κωδικοποιούν την έκφραση κυτταροκινών με προ-φλεγμονώδη δράση και άλλων φλεγμονωδών μορίων και μεσολαβητών, μορίων προσκόλλησης, ενζύμων-κλειδιά για την έναρξη ή την διατήρηση της φλεγμονής, υποδοχέων των T κυττάρων κ.α. Επίσης επιδρούν στην μετανάστευση, ωρίμανση, διαφοροποίηση, ενεργοποίηση και στη λειτουργία (κυτταροτοξικότητα, παραγωγή αντισωμάτων, παρουσίαση αντιγόνου) μορίων του ανοσοποιητικού συστήματος. Μία σημαντική δράση των γλυκοκορτικοειδών που αξίζει να αναφερθεί είναι η αλλαγή της αναλογίας Th1 / Th2 κυττάρων στην ανοσιακή απάντηση και συγκεκριμένα η στροφή από την Th1 κυτταρική ανοσία με κυρίαρχο “μοτίβο” την επικράτηση προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1, TNFα) προς την Th2 χυμική ανοσία με κυρίαρχο “μοτίβο” την επικράτηση αντι-φλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-10, IL-4) (60, 64, 65).

Η απάντηση του οργανισμού σε ένα χρόνιο στρεσογόνο ερέθισμα είναι διαφορετική από την απάντηση στο άμεσο stress που μόλις αναλύθηκε. Φαίνεται ότι στην περίπτωση της χρόνιας φλεγμονής, τα μόρια του ανοσοποιητικού και συγκεκριμένα οι κυτταροκίνες έχουν την ικανότητα να μειώνουν την δράση που ασκούν τα γλυκοκορτικοειδή στο ανοσοποιητικό. Πιστεύεται ότι αυτό το φαινόμενο οφείλεται στην ικανότητα των κυτταροκινών να προκαλούν “ανθεκτικότητα”-αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή των κυττάρων-στόχων με διάφορους μηχανισμούς όπως π.χ. η αλληλεπίδραση των μονοπατιών σήματος των κυτταροκινών με τα μονοπάτια σήματος των υποδοχέων των γλυκοκορτικοειδών με αποτέλεσμα την επίδραση των κυτταροκινών στον αριθμό, στην λειτουργία και στην χημική συγγένεια του υποδοχέα όπως επίσης και στην έκφραση συγκεκριμένου μη λειτουργικού ισοτόπου του υποδοχέα ή στην δυνατότητα μεταφοράς του από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα. Είναι επίσης πιθανό προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες να αναστέλλουν άμεσα την ανοσοκατασταλτική δράση των γλυκοκορτικοειδών. Εξαιτίας αυτού του φαινομένου ίσως εξηγείται και η αντίσταση που παρουσιάζει στα γλυκοκορτικοειδή ένα αξιόλογο ποσοστό ασθενών με αυτοάνοσα νοσήματα. Στις χρόνιες φλεγμονώδεις διεργασίες και στο χρόνιο stress γενικότερα, η αδυναμία ελέγχου του ανοσοποιητικού από τα γλυκοκορτικοειδή, αφήνει τον οργανισμό στο “έλεος” της δράσης των φλεγμονωδών μορίων, γεγονός που μπορεί να αποβεί μοιραίο, ένα ακόμη σημείο που τονίζει την σημασία της συνεργασίας των δύο συστημάτων (66, 68).



Εικόνα 2.3 : Αλληλεπιδράσεις ενδοκρινικού και ανοσοποιητικού συστήματος (59)

Πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί και για την επίδραση συγκεκριμένων μορίων του ανοσοποιητικού στον HPA άξονα. Η IL-1 φαίνεται να είναι ένα τέτοιο μόριο καθώς πιστεύεται ότι είναι διεγέρτης της έκκρισης CRH από τον υποθάλαμο μέσω της παραγωγής προσταγλαδινών (διέγερση κυκλοοξυγονάσης) από το ενδοθήλιο των εγκεφαλικών αγγείων (μία σχέση που φαίνεται να παρεμποδίζεται από τα ενδογενή οπιοειδή και την προγεστερόνη σε προχωρημένη εγκυμοσύνη σε πειραματικά ζωικά μοντέλα) (εικόνα 2.4) (69). Η IL-6 χρησιμοποιεί μία συγκεκριμένη γλυκοπρωτεΐνη (gp130) ως τμήμα της μεταγωγής σήματος μετά την σύνδεσή της με τον υποδοχέα και φαίνεται ότι όλη η οικογένεια των κυτταροκινών που χρησιμοποιούν την συγκεκριμένη πρωτεΐνη διεγείρουν την έκκριση ACTH από την υπόφυση με απώτερο σκοπό την παραγωγή γλυκοκορτικοειδών (70). Επιπλέον ο C₃ παράγων του συμπληρώματος που μετέχει στην έμφυτη-μη ειδική ανοσία φαίνεται να ενεργοποιεί τον άξονα καθώς υποδοχείς του έχουν βρεθεί και στα τρία επίπεδα του άξονα (59).



Εικόνα 2.4 : Επίδραση IL-1 στον HPA άξονα (69)

Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η ακεραιότητα της λειτουργίας του άξονα γενικότερα αλλά και στο επίπεδο της αλληλεπίδρασής του με το ανοσοποιητικό είναι ζωτικής σημασίας. Διαταραχές και αποκλίσεις από την επιθυμητή λειτουργία του μπορεί να οδηγήσουν στην παθογένεση νοσημάτων όπως για παράδειγμα αυτοάνοσων νοσημάτων (ρευματοειδή αρθρίτιδα, συστηματικός ερυθροματώδης λύκος, σύνδρομο Sjogren κ.α.) (59).

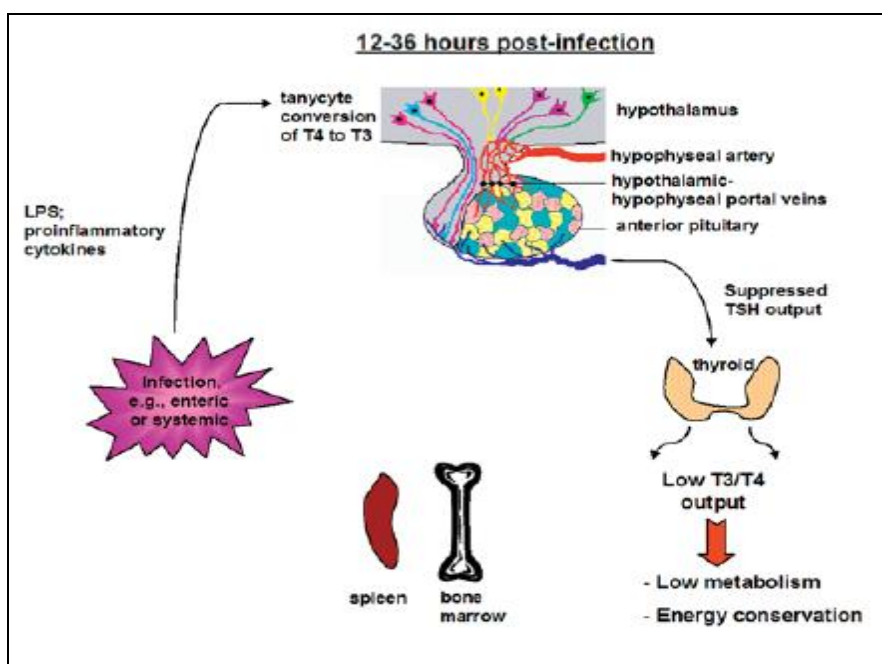
2.5 Ανοσοποιητικό σύστημα και υποθαλαμοϋποφυσιακο-θυρεοειδικός άξονας.

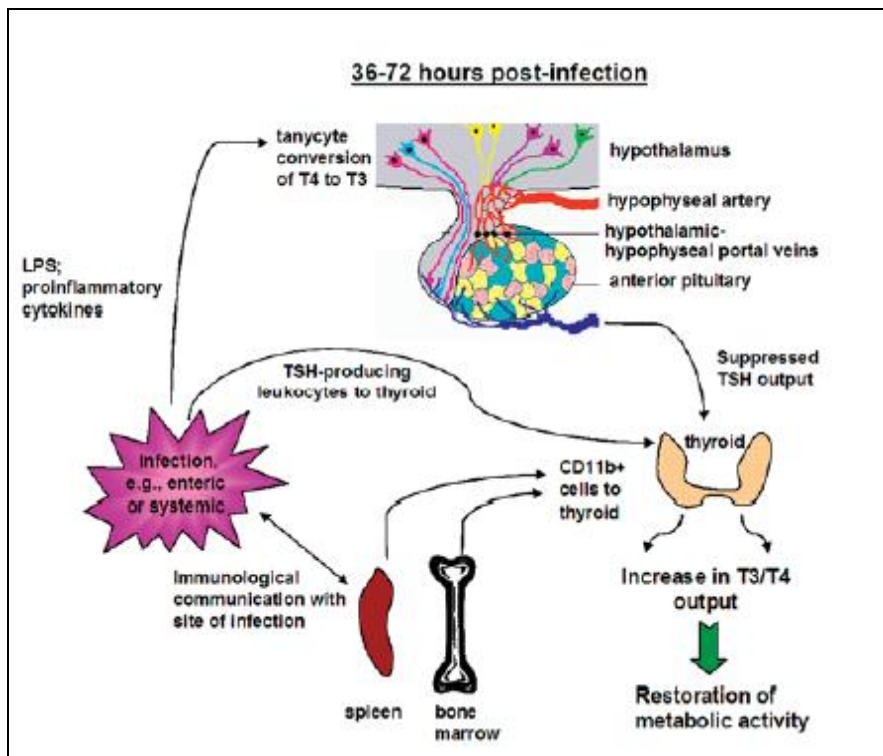
Ο υποθαλαμοϋποφυσιακο-θυρεοειδικός άξονας (HPT) αποτελεί επίσης ένα παράδειγμα της διπλής κατευθύνσεως αλληλεπίδρασης του ενδοκρινολογικού με το ανοσοποιητικό σύστημα και λειτουργεί ως εξής: η έκκριση της θυρεοειδοεκλυτίνης (TRH) από τον υποθάλαμο συνεπάγεται την έκκριση θυρεοειδοτροπίνης (TSH) από την πρόσθια υπόφυση και κατ' επέκταση την διέγερση της έκκρισης των θυρεοειδικών ορμονών θυροξίνης (T_4) και τριωδοθυρονίνης (T_3) από τον θυρεοειδή αδένα. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές αφορούν και τα τρία προαναφερόμενα επίπεδα του HPT άξονα και μπορεί να είναι διεγερτικές ή κατασταλτικές αναλόγως την περίπτωση.

Η TSH δεν παράγεται μόνο από την υπόφυση αλλά και από μία σειρά διαφορετικών ειδών κυττάρων εκτός αυτής. Πολλά από τα κύτταρα αυτά ανήκουν στο ανοσοποιητικό σύστημα (B,T κύτταρα, σπληνικά δενδριτικά κύτταρα, λεμφοκύτταρα). Η εκτός-υπόφυσης παραγωγή της TSH μπορεί να επιδράσει στο ανοσοποιητικό σύστημα άμεσα και έμμεσα. Στην πρώτη περίπτωση η

TSH ασκεί την δράση της άμεσα στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος επιδρώντας στην λειτουργική συμπεριφορά και στον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων, στην δραστηριότητα των NK κυττάρων (διεγερτική δράση - συνέργεια με την IL-2), στην φαγοκυτταρική δραστηριότητα των δενδριτικών κυττάρων (διέγερση), στην αύξηση της δραστηριότητας των κυτταροκινών IL-1 και IL-12 κ.α. Στην δεύτερη περίπτωση η επίδραση πραγματοποιείται έμμεσα μέσω της αλλαγής της έκκρισης των θυρεοειδικών ορμονών από τον θυρεοειδή και κατ' επέκταση επιρροή στην ανάπτυξη και λειτουργία των κυττάρων του μυελού των οστών και των λεμφοειδικών ιστών (71).

Από την άλλη κατεύθυνση φαίνεται ότι προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-1, IL-6, TNFα) μειώνουν τα επίπεδα της TSH του πλάσματος (κυρίως μέσω της αναστολής της έκκρισης της TRH από τον υποθάλαμο). Επιπλέον έκκριση συγκεκριμένων κυτταροκινών ακολουθείται από τοπική μετατροπή της T_4 προς T_3 σε μία περιοχή του εγκεφάλου κοντά στον υποθάλαμο με αποτέλεσμα τοπική “έκρηξη” της T_3 και αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση της έκκρισης TRH (επομένως και της TSH και των θυρεοειδικών ορμονών). Φαίνεται λοιπόν ότι πολλές φορές το ανοσοποιητικό σύστημα είναι αυτό που ρυθμίζει την έκκριση των θυρεοειδικών ορμονών και επομένως μία φλεγμονώδη κατάσταση μπορεί να συνεπάγεται την μειωμένη έκκριση των θυρεοειδικών ορμονών και την πτώση του μεταβολικού ρυθμού. Από φυσιολογική άποψη ο οργανισμός προσπαθεί να εξοικονομήσει ενέργεια για την αντιμετώπιση της φλεγμονής. Το ίδιο όμως το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να αναστρέψει την προαναφερόμενη διαδικασία με ενδοθυρεοειδική παραγωγή TSH από κύτταρα του ανοσοποιητικού και να αυξήσει την παραγωγή θυρεοειδικών ορμονών (εικόνα 2.5) (60, 71, 72).





Εικόνα 2.5 : Ρύθμιση της έκκρισης T_3 , T_4 από το ανοσοποιητικό σύστημα (71)

2.6 Ανοσοποιητικό σύστημα και αναπαραγωγικός άξονας (υποθαλαμοϋποφυσιακός άξονας των γονάδων).

Το υποθαλαμοϋποφυσιακό σύστημα των γονάδων (HPG άξονας) αποτελεί ένα ακόμη παράδειγμα της διπλής κατευθύνσεως αλληλεπίδρασης του ενδοκρινολογικού με το ανοσοποιητικό σύστημα και λειτουργεί ως εξής: η έκκριση της γοναδοεκλυτίνης (GnRH) από τον υποθάλαμο συνεπάγεται την έκκριση των γοναδοτροπικών ορμονών, θυλακιοτρόπος (FSH) και ωχρινοτρόπος ορμόνη (LH), από την πρόσθια υπόφυση και κατ' επέκταση α) την διέγερση της έκκρισης των ορμονών του φύλου, οιστρογόνων, προγεστερόνης και ανδρογόνων, από τους αντίστοιχους γεννητικούς αδένες και β) την ρύθμιση της ανάπτυξης των γαμετών. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές αφορούν και πάλι και τα τρία προαναφερόμενα επίπεδα του HPG άξονα.

Φαίνεται ότι το ανοσοποιητικό με το αναπαραγωγικό σύστημα, που αντιπροσωπεύεται σε αυτή τη περίπτωση από τον HPG άξονα, επικοινωνούν. Συγκεκριμένα, η απελευθέρωση διαφόρων κυτταροκινών από το ανοσοποιητικό σύστημα (π.χ. IL-1, IL-6, TNFα) παίζει σημαντικό ρόλο στην αναστολή της λειτουργίας του αναπαραγωγικού άξονα. Ο ισχυρότερος αναστολέας από τις κυτταροκίνες θεωρείται η IL-1 η οποία καταστέλλει την έκκριση της LH μέσω της καταστολής της GnRH από τον υποθάλαμο. Η καταστολή του αναπαραγωγικού άξονα από τις κυτταροκίνες

μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί και σε επίπεδο υπόφυσης με την άμεση επίδραση των κυτταροκινών στην απελευθέρωση των ορμονών (73). Φαίνεται λοιπόν ότι όταν ο οργανισμός βρίσκεται σε ανοσολογική πρόκληση (λοίμωξη, φλεγμονή, οποιοδήποτε είδος stress) καταστέλλεται ο HPG άξονας εξυπηρετώντας από φυσιολογικής απόψεως για ακόμη μία φορά την εξοικονόμηση ενέργειας.

Από την άλλη κατεύθυνση η GnRH φαίνεται να εμπλέκεται άμεσα στην ανάπτυξη της κυτταρικής και χυμικής ανοσίας, στην ωρίμανση του θύμου αδένος και στην διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος (πίνακας 2.1) (59, 74).

Πίνακας 2.1 : Επιδράσεις της GnRH στο ανοσοποιητικό σύστημα (74)

ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ GnRH ΣΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ	
Έκφραση της GnRH και του GnRH-R	Και τα δύο εκφράζονται σε κύρια λεμφοειδικά όργανα και κύτταρα του ανοσοποιητικού της περιφέρειας, συμπεριλαμβανομένου των ανθρωπίνων λεμφοκυττάρων
Ανάπτυξη ανοσοποιητικού συστήματος	Εμπλοκή στην ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος Όχι δεδομένα για το ανθρώπινο είδος
Επιδράσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα	Ανοσο-διεγερτική δράση Αύξηση των επιπέδων των IL-2, IFN- γ , T-βοηθητικών κυττάρων
Επιρροή στην αυτοανοσία	Ικανότητα επιδείνωσης αυτοάνοσου νοσήματος Επίδραση ανεξάρτητη των στεροειδών από τις γονάδες
Φυλετικός διμορφισμός της ανοσιακής απάντησης	Διαφορετική έκφραση του GnRH-R και/ή των G πρωτεϊνών σε αρσενικό και θηλυκό γένος ;

Όσον αφορά τις ορμόνες του φύλου φαίνεται ότι τα οιστρογόνα επιτείνουν την ανοσολογική απάντηση, αντιθέτως τα ανδρογόνα όπως η τεστοστερόνη και η δεϋδροεπανδροστερόνη (DHEA) ασκούν κατασταλτική δράση στο ανοσοποιητικό σύστημα. Συγκεκριμένα και τα δύο είδη ορμονών παίζουν σημαντικό ρόλο (αρνητικοί ρυθμιστές) στην ανάπτυξη των κυττάρων των λεμφοειδικών ιστών (θύμος αδένος) αλλά και του μυελού των οστών όμως παρουσιάζουν διαφορετικές επιδράσεις στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Οιστρογονικοί υποδοχείς έχουν ανιχνευτεί στα ώριμα B και T λεμφοκύτταρα της περιφέρειας σε αντίθεση με τους υποδοχείς των ανδρογόνων. Τα ανδρογόνα φαίνεται να καταστέλλουν την έκκριση προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών (π.χ. IL-1, IL-6) και πιθανόν να μειώνουν την παραγωγή αντισωμάτων. Τα οιστρογόνα αποτελούν σημαντικό διεγέρτη της ανοσιακής απάντησης και δρουν τόσο στο νωτιαίο μυελό όσο και στα B και T κύτταρα της περιφέρειας και αυξάνουν την

παραγωγή αντισωμάτων και προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών. Οι δράσεις των ορμονών του φύλου φαίνονται αναλυτικά στον πίνακα 2.2 (59, 60, 74).

Πίνακας 2.2 : Επίδραση των ορμονών του φύλου στο ανοσοποιητικό σύστημα (74)

ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΦΥΛΕΤΙΚΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ ΣΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ	
Εκφραση των υποδοχέων	Οι ER και AR εκφράζονται σε όλα τα κύτταρα του ανοσοποιητικού, εκτός των AR σε ώριμα T και B κύτταρα
Επιδράσεις στον θύμο αδένα και στο μυελό των οστών	Τεστοστερόνη: ατροφία του θύμου και απόπτωση των κυττάρων του και απώλεια των προγόνων των B κυττάρων στο μυελό των οστών Οιστρογόνα: ομοίως αλλά σε διαφορετικά υποσυστήματα του ανοσοποιητικού
T και B κύτταρα της περιφέρειας	Τεστοστερόνη: προάγει την καταστολή των T κυττάρων και ελαττώνει τον αριθμό των B κυττάρων Οιστρογόνα: προάγουν τα T βοηθητικά κύτταρα και αυξάνουν την παραγωγή των αυτοαντισωμάτων
Επιρροή στην αυτοανοσία	Ανδρογόνα: φαίνεται να ασκούν κατασταλτική δράση Οιστρογόνα: φαίνεται να ασκούν διεγερτική δράση
Φυλετικός διμορφισμός της ανοσιακής απάντησης	Επιρροή κυρίως κατά την ανάπτυξη της ανοσιακής απάντησης Ο μηχανισμός δεν είναι σαφής

Φαίνεται ότι οι διαφορές των ορμονών του φύλου όσον αφορά την επίδρασή τους στο ανοσοποιητικό σύστημα να είναι και η αιτία της υψηλότερης επικράτησης των αυτοάνοσων νοσημάτων στο γυναικείο φύλο, χωρίς να αποκλείουμε ανάλογα νοσήματα με επικράτηση στο ανδρικό φύλο και χωρίς να αγνοηθεί ότι στο πεδίο αυτό παραμένουν πολλά σημεία για διευκρίνιση και πολλά ερωτηματικά προς επίλυση για την συμπεριφορά των ορμονών του φύλου στα αυτοάνοσα νοσήματα (75).

Όσον αφορά την προγεστερόνη, η ορμόνη αυτή είναι πολύ σημαντική για την αλληλεπίδραση του ενδοκρινικού με το ανοσοποιητικό σύστημα. Ρυθμίζει την καταμήνια αιμορραγία και την επιδιόρθωση της αντίστοιχης ιστικής βλάβης, την φλεγμονή, την αγγειογένεση, την εμφύτευση της βλαστοκύστης και την διατήρηση της εγκυμοσύνης. Φαίνεται ότι ο ρόλος της όσον αφορά το ανοσοποιητικό σύστημα είναι κατασταλτικός με κύριο σκοπό την ανοσολογική ανοχή του εμβρύου από την μητέρα. Συγκεκριμένα φαίνεται να καταστέλλει την ενεργοποίηση των T κυττάρων κατά την εγκυμοσύνη, να προωθεί την επικράτηση της παραγωγής κυτταροκινών από τα Th₂ κύτταρα, να καταστέλλει την δραστηριότητα των NK κυττάρων, να διεγείρει την παραγωγή διαφόρων παραγόντων (LIF, M-CSF) από τα T κύτταρα κ.α. (75, 76).

2.7 Ανοσοποιητικό σύστημα και προλακτίνη

Η προλακτίνη (PRL) είναι ορμόνη της πρόσθιας υπόφυσης και ρυθμίζει ποικιλία φυσιολογικών λειτουργιών μέσω της παρέμβασής της σε κυτταρικές διεργασίες όπως ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η επιβίωση των κυττάρων. Μία από τις βασικότερες δράσεις της είναι η διαφοροποίηση και η ανάπτυξη του μαστικού αδένα. Η έκκριση της διεγείρεται από τον θηλασμό και το stress ενώ αναστέλλεται από την υποθαλαμική ντοπαμίνη. Παραγωγή και έκκριση προλακτίνης πραγματοποιείται και εκτός υπόφυσης όπως για παράδειγμα από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Επίσης τα κύτταρα αυτά εκφράζουν τον υποδοχέα της προλακτίνης δηλώνοντας την αυτοκρινή και παρακρινή της δράση. Επομένως οι αλληλεπιδράσεις με το ανοσοποιητικό σύστημα είναι γεγονός.

Για ακόμη μία φορά οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο συστημάτων είναι αμφίδρομες. Από την μία πλευρά, φαίνεται ότι η φυσιολογική λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος είναι απαραίτητη για την διατήρηση της έκκρισης της προλακτίνης και συγκεκριμένα η IL-6 αλλά και όλη η οικογένεια που χρησιμοποιεί τις gp130 κυτταροκίνες, ως μόριο μετάδοσης του σήματος μετά την πρόσδεση με τον υποδοχέα, διεγείρουν την έκκρισή της PRL (70). Αντιθέτως η IL-2 και η IL-4 μειώνουν τα επίπεδα PRL mRNA στα T λεμφοκύτταρα άρα και την έκφρασή της. Από την άλλη πλευρά, η PRL παρουσιάζει πολλαπλές επιρροές στο ανοσοποιητικό σύστημα και μπορεί να ασκεί αντιφλεγμονώδη αλλά και προφλεγμονώδη δράση αναλόγως το είδος του ιστού ή την περίπτωση. Φαίνεται ότι προάγει τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των T κυττάρων, ρυθμίζει την ανάπτυξη των B κυττάρων, παίζει σημαντικό ρόλο στην επίκτητη ανοσία, διεγείρει τα περισσότερα κύτταρα του συστήματος (T, B, NK κύτταρα, μακροφάγα, ουδετερόφιλα, δένδριτικά, αιμοποιητικά), παίζει αντισταθμιστικό ρόλο στην αρνητική επίδραση των γλυκοκορτικοειδών στο ανοσοποιητικό στην απάντηση του οργανισμού στο stress, βρίσκεται κάτω από τον έλεγχο των οιστρογόνων αλλά και ρυθμίζει την έκφρασή τους και συνεργάζεται στις δράσεις τους όσον αφορά το ανοσοποιητικό, αλλά και αναστέλλει την έκκριση της IL-6 στους γυναικείους αναπαραγωγικούς ιστούς και προστατεύει έναντι της φλεγμονής σε καταστάσεις σοβαρού και απειλητικού για τη ζωή τραυματισμού (59, 77).

2.8 Ανοσοποιητικό σύστημα και εγκυμοσύνη

Χοριακή γοναδοτροφίνη (hCG)

Η χοριακή γοναδοτροφίνη (hCG) είναι πλακουντιακή ορμόνη και εμπλέκεται στην επικοινωνία εμβρύου – μητέρας. Είναι η πρώτη ορμόνη που εκκρίνεται από το έμβρυο και

επηρεάζει την εμφύτευση και την διαφοροποίηση της τροφοβλάστης, την διέγερση παραγωγής προγεστερόνης, την αγγειογένεση και την ανοσολογική ανοχή του εμβρύου από την μητέρα. Όσον αφορά το ανοσοποιητικό σύστημα μειώνει την παραγωγή Th1 κυττάρων ενώ αυξάνει την παραγωγή των Th2 (γεγονός που αναστρέφεται προς το τέλος της εγκυμοσύνης), προάγει τον πολλαπλασιασμό των NK κυττάρων και τα μετατρέπει στον κυρίαρχο τύπο λεμφοκυττάρων κατά την εγκυμοσύνη (απαραίτητα για την διατήρηση αλλά και την έναρξη της εγκυμοσύνης), ρυθμίζει θετικά την έκφραση παραγόντων του συμπληρώματος (C₃, C₄), ρυθμίζει επίσης θετικά την έκφραση των δενδριτικών κυττάρων και της IL-10 με σκοπό να μειωθεί η ικανότητα για διέγερση του πολλαπλασιασμού των T κυττάρων και τέλος όσον αφορά τα μακροφάγα προάγει τις λειτουργίες τους όπως την ικανότητά τους για φαγοκυττάρωση και λύση της φλεγμονής (78).

Γενικότερο ορμονικό status

Πολλές ορμόνες αυξάνονται κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης, όπως η CRH, η προ-οπιωμελανοκορτίνη, η ACTH, η κορτιζόλη, τα οιστρογόνα, η προγεστερόνη, η PRL και η hCG. Όλες οι προαναφερόμενες ορμόνες αλληλεπιδρούν με το ανοσοποιητικό σύστημα με πολλούς τρόπους και πολλές φορές και προς αντίθετες κατευθύνσεις με απώτερο σκοπό την ιδανική ισορροπία για την επίτευξη και διεκπεραίωση της εγκυμοσύνης. Επομένως η εγκυμοσύνη αποτελεί ένα από τα πιο δυνατά παραδείγματα των αλληλεπιδράσεων μεταξύ ενδοκρινικού και ανοσοποιητικού συστήματος αλλά και από τα πιο αινιγματικά καθώς είναι πολύ δύσκολο να καθοριστούν με ακρίβεια οι επιμέρους ρόλοι των ορμονών, των κυτταροκινών και των κυττάρων του ανοσοποιητικού. Αν επιθυμούσαμε να περιγράψουμε από ανοσολογικής απόψεως την εγκυμοσύνη, το πιο χαρακτηριστικό σημείο είναι η μετατόπιση της ισορροπίας Th1 / Th2 κυττάρων και αντίστοιχων κυτταροκινών προς την επικράτηση των Th2 (γεγονός που αναστρέφεται προς το τέλος της εγκυμοσύνης). Επομένως πολλά αυτοάνοσα νοσήματα παρουσιάζουν ύφεση κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης (κυρίως Th1 καθοδηγούμενα-π.χ. ρευματοειδής αρθρίτιδα, πολλαπλή σκλήρυνση κ.α) ενώ άλλα μπορούν να παρουσιάσουν έξαρση (κυρίως Th2 καθοδηγούμενα – π.χ. συστηματικός ερυθροματώδης λύκος, κ.α.) ή να πρωτοεμφανιστούν με την έναρξη της εγκυμοσύνης. Γεγονός που δηλώνει ότι δεν μπορεί να υπάρξει κοινή αντιμετώπιση όλων των αυτοάνοσων σε σχέση με την εγκυμοσύνη (59, 75).

2.9 Ανοσοποιητικό σύστημα και παραθυρεοειδείς αδένες

Οι παραθυρεοειδείς αδένες εκκρίνουν την παραθορμόνη (PTH) η οποία εμπλέκεται κυρίως στην διατήρηση της ομοιοστασίας του ασβεστίου. Υποδοχείς της έχουν βρεθεί τόσο στα

ουδετερόφιλα, όσο και στα Β και Τ λεμφοκύτταρα και η αναζήτηση των αλληλεπιδράσεων της με το ανοσοποιητικό σύστημα, μέσω της έρευνας, καταλήγει προς το παρόν σε διφορούμενα αποτελέσματα. Οι περισσότερες μελέτες συνηγορούν υπέρ της κατασταλτικής δράσης της PTH στο ανοσοποιητικό και στην πρόκληση δυσλειτουργιών του εν λόγω συστήματος σε αυξημένα επίπεδα PTH πλάσματος, ενώ κάποιες άλλες μελέτες συμπεραίνουν την διεγερτική δράση της PTH κάτω όμως από συγκεκριμένες εργαστηριακές συνθήκες. Γενικώς φαίνεται ότι μετά από παραθυρεοειδεκτομή διορθώνονται δυσλειτουργίες του ανοσοποιητικού όπως ο μειωμένος πολλαπλασιασμός των Τ κυττάρων και η μειωμένη αναλογία βοηθητικών / κυτταροτοξικών Τ λεμφοκυττάρων. Επίσης πιστεύεται ότι η PTH επιδρά και στις λειτουργίες των Β κυττάρων (πολλαπλασιασμός, παραγωγή αντισωμάτων, μεταβολισμός). Όσον αφορά τα ουδετερόφιλα, υψηλές τιμές PTH πλάσματος δημιουργούν προβλήματα στην μετανάστευση τους, μειώνουν την φαγοκυτταρική και την βακτηριοκτόνο ικανότητά τους και αναστέλλουν την χημειοταξία τους (79).

2.10 Ανοσοποιητικό σύστημα και υποθαλαμοϋποφυσιακός άξονας της αυξητικής ορμόνης

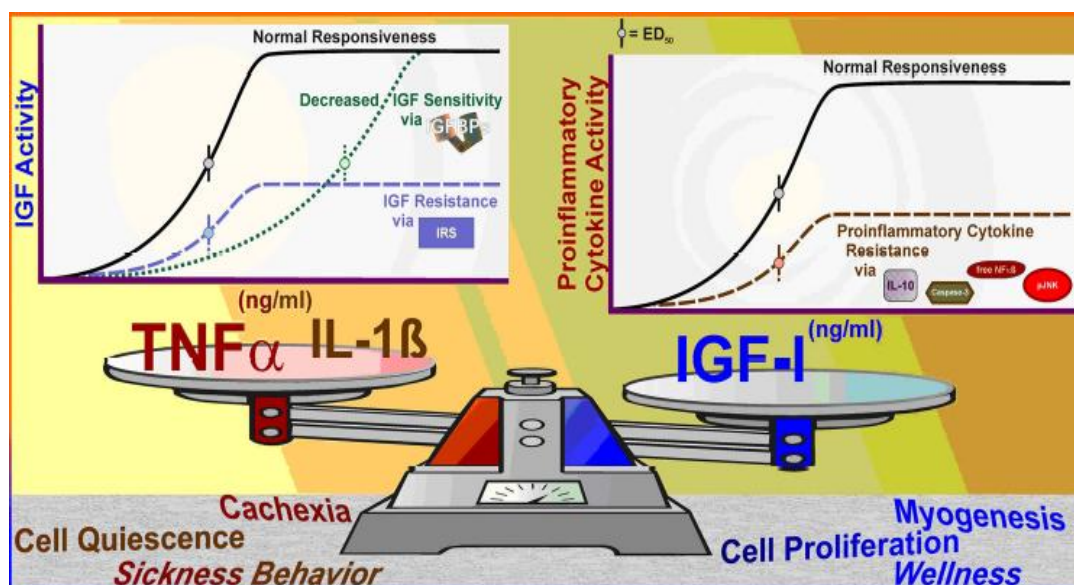
Η αυξητική ορμόνη (GH) συντίθεται και εκκρίνεται από την πρόσθια υπόφυση. Η έκκριση της ελέγχεται από τις υποθαλαμικές ορμόνες, σωματοεκλυτίνη (GHRH) και σωματοστατίνη (SS) για την διέγερση και την καταστολή της έκκρισης της αντίστοιχα. Η GH εμπλέκεται στον πολλαπλασιασμό, την διαφοροποίηση και τον μεταβολισμό / υπερτροφία των κυττάρων και αποτελεί την βασικότερη ορμόνη της ανάπτυξης. Οι περισσότερες από τις δράσεις της διαμεσολαβούνται από την παραγωγή του ινσουλινομιμητικού αυξητικού παράγοντα (IGF-I).

Η GH φαίνεται να είναι ρυθμιστής του ανοσοποιητικού συστήματος αλλά και μόρια του τελευταίου, όπως είναι οι gp130 κυτταροκίνες (π.χ. IL-6) φαίνεται να διεγείρουν την απελευθέρωσή της (70). Η GH και ο IGF-I ρυθμίζουν το ανοσοποιητικό σύστημα προάγοντας την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των λεμφοειδικών κυττάρων. Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συμπεριλαμβανομένου των Β, Τ λεμφοκυττάρων και των μονοπύρηνων, εκφράζουν IGF-I υποδοχείς. Η σύνδεση της αυξητικής ορμόνης με τους παραπάνω υποδοχείς ενεργοποιεί μονοπάτια σήματος για την έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στον κυτταρικό κύκλο (60, 80).

Οι απόψεις των ερευνητών για το πόσο σημαντικός είναι ο ρόλος της GH στην ρύθμιση του ανοσοποιητικού δίστανται. Πολλοί πιστεύουν στην εναλλακτική υπόθεση ότι ο ρόλος της περιορίζεται στην προστασία από τις ανοσοκατασταλτικές δράσεις των γλυκοκορτικοειδών κατά

την διάρκεια στρεσογόνων καταστάσεων. Η GH αλληλεπιδρά και με άλλα ορμονικά συστήματα . Επομένως μικρής διάρκειας αύξηση της έκκρισης των γλυκοκορτικοειδών συνεπάγεται αύξηση της έκκρισης της ενώ σε μακροπρόθεσμες υψηλές δόσεις ή χρόνιο stress παρουσιάζεται καταστολή του άξονα με καθυστέρηση στην ανάπτυξη του οργανισμού. Τα αποτελέσματα αυτά συνηγορούν με την παρατήρηση ότι παιδιά με χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις παρουσιάζουν καθυστέρηση στην ανάπτυξη (60, 80).

Όταν οι φλεγμονώδεις διεργασίες βρίσκονται σε αρχικά στάδια φαίνεται να διεγείρεται η έκκριση της GH (μέσω της δράσης κυτταροκινών) όμως με την πρόοδο της φλεγμονής παρατηρείται μείωση της, καθώς η ίδια η φλεγμονή προκαλεί το φαινόμενο της αντίστασης στην δράση της GH και του IGF-I. Πολλές προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες μπορούν να ρυθμίσουν ορμονικά μονοπάτια σήματος και να προκαλέσουν ορμονική αντίσταση. Το φαινόμενο αυτό φαίνεται να εξυπηρετεί στον έλεγχο της ορμονικής δραστηριότητας και την διατήρηση της ενέργειας για την επιβίωση του οργανισμού και να αποτελεί ένα είδος αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης μεταξύ των δύο συστημάτων. Συγκεκριμένα, προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες μειώνουν την δράση του IGF-I με την αυξημένη παραγωγή των δεσμευτικών του πρωτεϊνών στο πλάσμα και προκαλούν αντίσταση με μείωση του σήματος που παράγεται μετά την πρόσδεση του IGF-I με τον υποδοχέα του. Από την άλλη πλευρά, ο IGF-I καταστέλλει το σήμα των προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών έμμεσα αυξάνοντας την παραγωγή της IL-10, αλλά και άμεσα μπλοκάροντας τα αντίστοιχα μονοπάτια σήματος. Και τα δύο συμβαίνουν στα πιο προχωρημένα στάδια της φλεγμονής (εικόνα 2.6). Το φαινόμενο της ορμονικής αντίστασης, όπως προαναφέρθηκε και για τα γλυκοκορτικοειδή, είναι ένα δυνατό παράδειγμα της αλληλεπίδρασης των δύο συστημάτων (60, 80, 81).



Εικόνα 2.6 : Αλληλεπιδράσεις ανοσοποιητικού και IGF-I και η ορμονική αντίσταση (81)

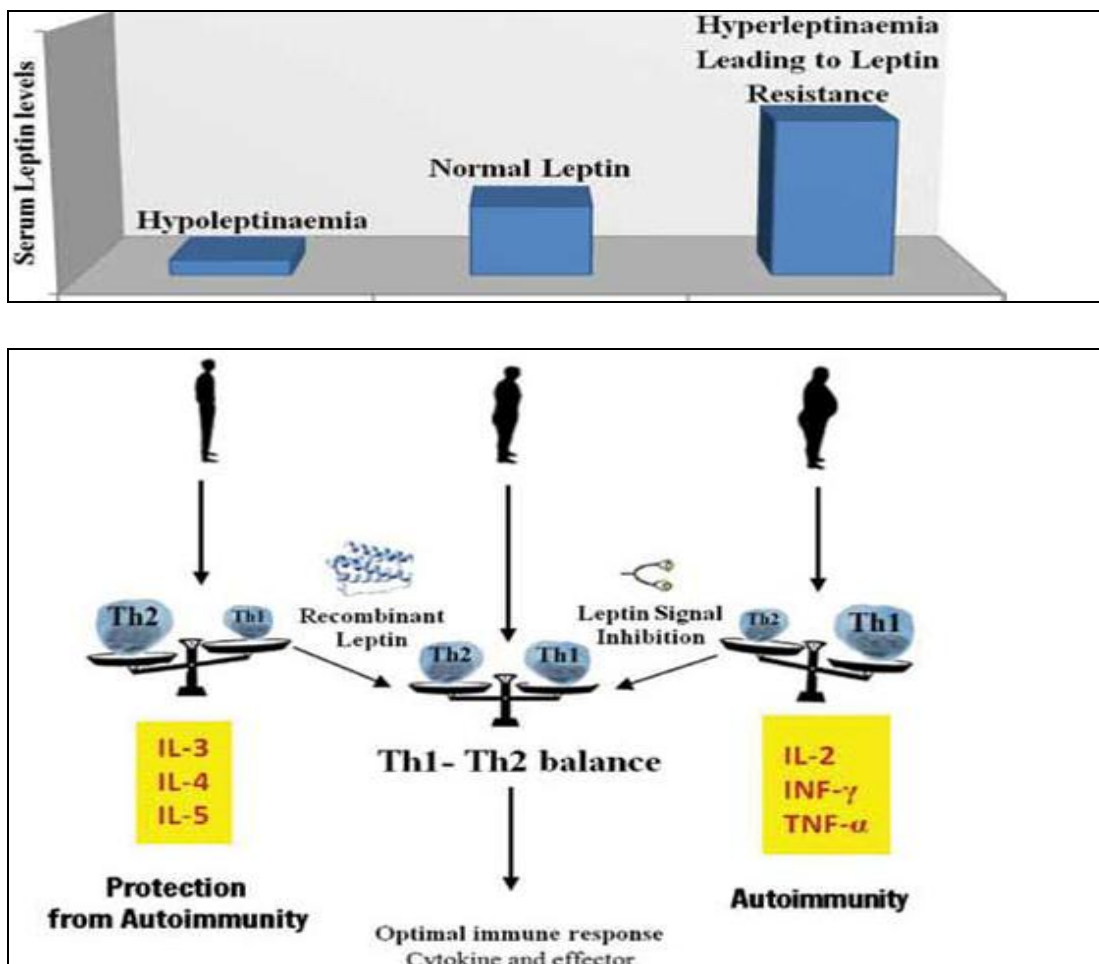
2.11 Ανοσοποιητικό σύστημα και ορμόνες της όρεξης

Λεπτίνη

Η λεπτίνη παράγεται κυρίως από τα κύτταρα του λιπώδη ιστού και απελευθερώνεται στην κυκλοφορία σε συνθήκες θετικού ενεργειακού ισοζυγίου. Ρυθμίζει την χρησιμοποίηση και την αποθήκευση της ενέργειας (ενημέρωση του εγκεφάλου για τον λιπώδη ιστό της περιφέρειας), όπως επίσης και πολλά ενδοκρινικά μονοπάτια και ελέγχει την θερμορύθμιση. Η δράση της λεπτίνης στο ανοσοποιητικό σύστημα ήταν γεγονός με την ανακάλυψη των υποδοχέων της σε πολλά κύτταρα του ανοσοποιητικού (B, T κύτταρα και μακροφάγα) και σε αιμοποιητικά κύτταρα. Επιπλέον τα ενεργοποιημένα T κύτταρα φαίνεται να εκφράζουν και να εκκρίνουν λεπτίνη. Παρόλο που για κάποια χρόνια τα αποτελέσματα των μελετών ήταν διφορούμενα σχετικά με το αν η λεπτίνη ασκεί προφλεγμονώδη ή αντιφλεγμονώδη δράση, σήμερα φαίνεται να υπερτερεί η πρώτη άποψη. Η λεπτίνη εντείνει τον πολλαπλασιασμό των κυκλοφορούντων T λεμφοκυττάρων με δόσοεξαρτώμενο τρόπο, μετακινεί την ισορροπία των Th1 / Th2 κυττάρων προς την επικράτηση των Th1, άρα και των αντίστοιχων κυτταροκινών, ρυθμίζει την ανάπτυξη και την ενεργοποίηση των NK κυττάρων, αυξάνει την έκφραση μορίων προσκόλλησης, προστατεύει την φαγοκυτταρική ικανότητα, αυξάνει την παραγωγή διαφόρων αυξητικών παραγόντων και ουσιών που προκαλούν χημειοταξία σε λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα, ρυθμίζει την θυμοποίηση και προστατεύει τον θύμο αδένα από την προκαλούμενη από το stress θυμική ατροφία. Από την αντίθετη κατεύθυνση και από φυσιολογική άποψη διεγείρεται η έκκριση λεπτίνης από το ενεργοποιημένο ανοσοποιητικό για να μεσολαβήσει στην καταστολή της όρεξης κατά την διάρκεια της φλεγμονής (80, 82-85).

Γρελίνη

Ενώ η λεπτίνη λειτουργεί ως ανεροξιογόνος διαμεσολαβητής, η γρελίνη παράγεται κυρίως από τον στόμαχο και λειτουργεί ως ισχυρό ορεξιογόνο (αίσθημα πείνας) ελέγχοντας την κατανάλωση ενέργειας, την υπερλίπωση και την έκκριση της GH. Η γρελίνη φαίνεται να έχει αντίθετες δράσεις από την λεπτίνη και στο ανοσοποιητικό σύστημα, επειδή ασκεί αντιφλεγμονώδη δράση, όμως φαίνεται να συνεργάζεται με την λεπτίνη όσον αφορά τις επιδράσεις της στον θύμο αδένα και την θυμοποίηση (80).



Εικόνα 2.7 : Αλληλεπιδράσεις ανοσοποιητικού και λεπτίνης (Th1 / Th2 ισορροπία) (85)

2.12 Ανοσοποιητικό σύστημα και ορμόνες του γαστρεντερικού σωλήνα

Τα ενδοκρινικά κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα απελευθερώνουν πληθώρα βιολογικά ενεργών ουσιών όπως γαστρίνη, σεκρετίνη, σωματοστατίνη, χολοκυστοκυκίνη, σεροτονίνη κ.α. Η σεροτονίνη εκκρίνεται από τα εντεροχρωμαφαινικά κύτταρα στην κυκλοφορία, στους γύρω ιστούς και στον εντερικό αυλό και ασκεί ποικίλες λειτουργίες. Υποδοχείς της σεροτονίνης υπάρχουν σε πολλά κύτταρα του ανοσοποιητικού (λεμφοκύτταρα, δενδριτικά, μακροφάγα, μονοκύτταρα) και φαίνεται ότι η δράση της αφορά τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων, την προστασία των NK κυττάρων από το οξειδωτικό stress, την στρατολόγηση των T κυττάρων και στην αναστολή της απόπτωσης των κυττάρων του ανοσοποιητικού γενικότερα. Από την άλλη κατεύθυνση, οι φλεγμονώδεις διεργασίες προκαλούν λειτουργικές αλλαγές στα ενδοκρινικά κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα και στην περίπτωση της σεροτονίνης εμπλέκονται και σε αλλαγές στην μετάδοση του σήματος μετά την ένωση με τον υποδοχέα της. Οι αλληλεπιδράσεις του ανοσοποιητικού με τις ορμόνες του γαστρεντερικού σωλήνα φαίνεται να παίζουν σημαντικό

ρόλο στην παθογένεση πολλών νοσημάτων και κυρίως αυτοάνοσων (π.χ. ελκώδης κολίτιδα, νόσος Crohn) (86).

2.13 Ανοσοποιητικό σύστημα και συμπαθητικό νευρικό σύστημα (κατεχολαμίνες)

Το συμπαθητικό νευρικό σύστημα ρυθμίζει το ανοσοποιητικό σύστημα τόσο σε τοπικό όσο και σε συστηματικό επίπεδο. Τα όργανα του ανοσοποιητικού, όπως ο θύμος, ο σπλήνας, οι λεμφαδένες νευρώνονται από συμπαθητικά νεύρα και τα κύτταρα του ανοσοποιητικού εκφράζουν υποδοχείς νευροδιαβιβαστών, όπως για παράδειγμα οι αδρενεργικοί υποδοχείς των λεμφοκυττάρων, για να ανταποκριθούν στο συγκεκριμένο είδος νεύρωσης. Οι κατεχολαμίνες, αδρεναλίνη και νοραδρεναλίνη, που απελευθερώνονται από τα νεύρα του συμπαθητικού συστήματος αναστέλλουν την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως η IL-12, ο TNF-α και η INF-γ, αντιθέτως διεγείρουν την παραγωγή αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως η IL-10 και η IL-4. Ουσιαστικά, πραγματοποιείται μετατόπιση της ισορροπίας των Th1 / Th2 κυττάρων και αντίστοιχων κυτταροκινών προς την επικράτηση των Th2. Είναι επίσης σημαντικό να αναφερθεί ότι κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, οι κατεχολαμίνες ενισχύουν την τοπική ανοσολογική απάντηση προάγοντας την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Επιπρόσθετα, η επικοινωνία του νευρικού συστήματος με το ανοσοποιητικό σε καταστάσεις stress πραγματοποιείται, εκτός από την προαναφερόμενη ενεργοποίηση του υποθαλαμουποφυσιακό-επινεφριδιακού άξονα (HPA), και μέσω του συμπαθητικού νευρικού συστήματος με την έκκριση των κατεχολαμινών (60, 62, 65, 80, 87).

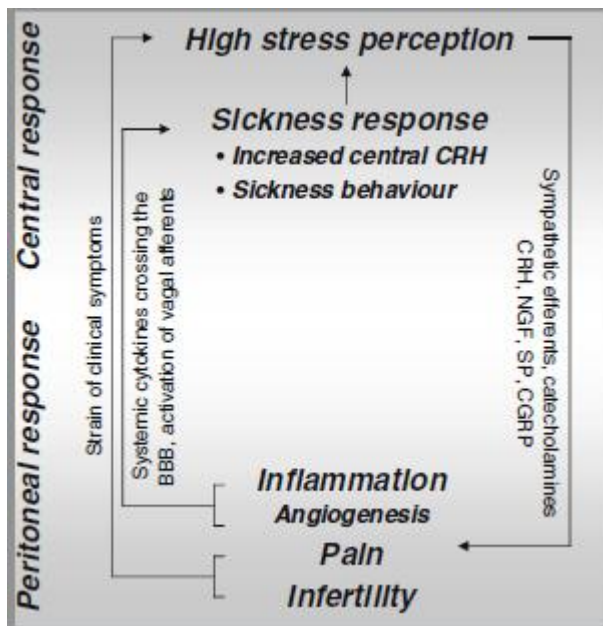
2.14 Αλληλεπιδράσεις ανοσοποιητικού και ενδοκρινικού συστήματος και συστηματικά νοσήματα

Κλείνοντας το κεφάλαιο αυτό θα ήταν σκόπιμο να αναφερθούμε σε μερικά περισσότερα κλινικά παραδείγματα. Οι αλληλεπιδράσεις του ενδοκρινικού με το ανοσοποιητικό σύστημα είναι γεγονός, όπως επίσης και ο αμφίδρομος χαρακτήρας τους. Τα δύο συστήματα μοιάζουν πολύ στην βάση της λειτουργίας τους, χρησιμοποιούν και τα δύο μόρια επικοινωνίας και μάλιστα την ίδια χημική “γλώσσα”, δεν παρατηρείται ανατομική συνέχεια των επιμέρους οργάνων τους, οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες φαίνεται να ακολουθούν σε επίπεδο νοσήματος (π.χ. ρευματοειδής αρθρίτιδα) ρυθμό έκκρισης εικοσιτετραώρου (χαρακτηριστικό των ορμονών) (88)

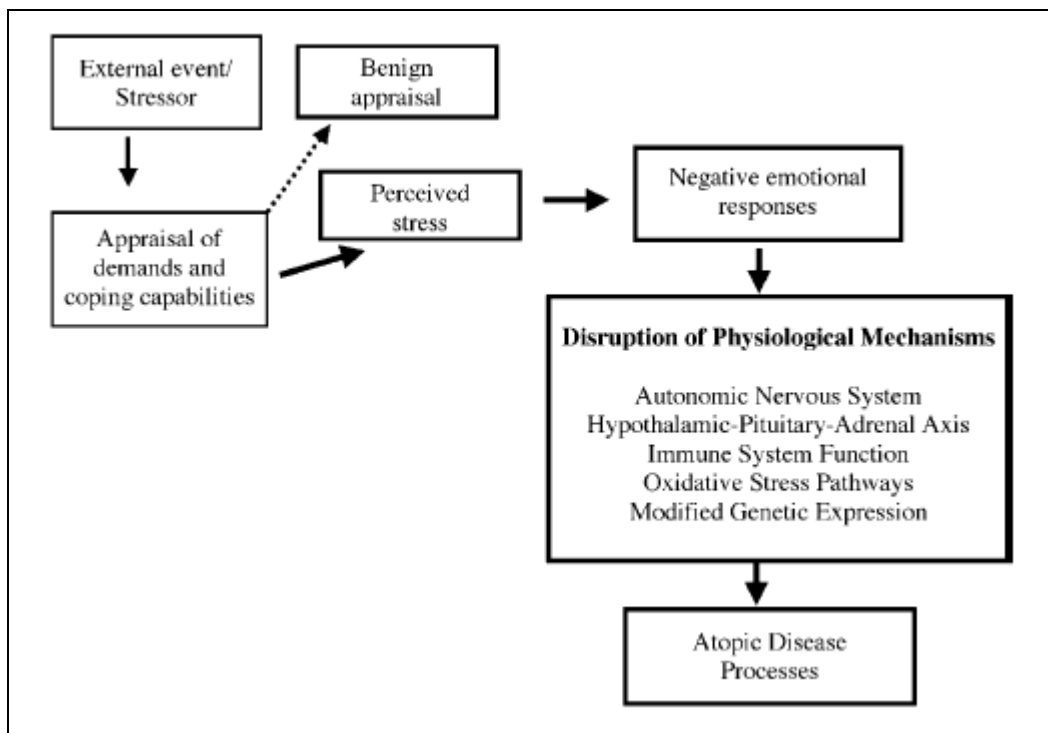
και ως κύριος σκοπός της δημιουργίας τους είναι η επικοινωνία, ο συντονισμός και η διατήρηση της ομοιοστασίας του οργανισμού.

Με την ανακάλυψη των υποδοχέων των διαφόρων ορμονών στα κύτταρα του ανοσοποιητικού και με το γεγονός ότι τα κύτταρα αυτά επίσης εκκρίνουν ορμόνες ξεκίνησε η αναζήτηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των δύο συστημάτων και σήμερα πλέον στεκόμαστε σε ένα σημείο προσπάθειας αξιοποίησης των αλληλεπιδράσεων αυτών στην κλινική πράξη. Για παράδειγμα όσον αφορά τα αυτοάνοσα νοσήματα, μέσα από το ορμονικό status προέκυψαν καινούριοι παράγοντες κινδύνου ή αίτια των νοσημάτων (π.χ. υπερπρολακτιναιμία και αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα) ή εξηγήθηκαν περιπτώσεις μη ανταπόκρισης στην θεραπεία (π.χ. αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή) ή ακόμη και πιθανές θεραπείες. Επίσης όσον αφορά την αιτία ενός αυτοάνοσου νοσήματος δημιουργήθηκε μία θεωρία που υποστηρίζει ότι προκαλούμενες από το stress νευροενδοκρινικές αλληλεπιδράσεις είναι δυνατόν να επηρεάσουν το ανοσοποιητικό σύστημα κατά την διάρκεια μίας ιογενούς λοίμωξης με τέτοιο τρόπο ώστε να οδηγηθεί προς την κατεύθυνση γένεσης ενός αυτοάνοσου νοσήματος (π.χ. ιογενής λοίμωξη και πολλαπλή σκλήρυνση ή θυρεοειδίτιδες) (89).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η σύνδεση του stress με την αιτιοπαθογένεια πολλών νοσημάτων μέσω της ενδοκρινικής και ανοσοποιητικής απάντησης του οργανισμού σε αυτό. Στην εικόνα 2.8 φαίνεται ο φαύλος κύκλος των αλληλεπιδράσεων του ενδοκρινικού με το ανοσοποιητικό σύστημα σε σχέση με το stress και την δημιουργία των συμπτωμάτων της ενδομητρίωσης (90) και στην εικόνα 2.9 φαίνεται πως πάλι μέσω του stress και τον αλληλεπιδράσεων ο οργανισμός οδηγείται στην γένεση ατοπικών νοσημάτων, όπως π.χ. το αλλεργικό άσθμα, η ατοπική δερματίτις κ.α.(91). Επιπλέον, η αντίδραση του οργανισμού απέναντι στο χρόνιο stress συνεπάγεται σημαντικές ορμονικές αλλαγές με αύξηση της κορτιζόλης, της γλυκόζης και της ινσουλίνης και μείωση των ανδρογόνων και των αυξητικών ορμονών που μέσω των αλληλεπιδράσεων μπορούν να οδηγήσουν σε οξειδωτικό stress και συστηματική φλεγμονή, παχυσαρκία, κοιλιακή παχυσαρκία και μεταβολικό σύνδρομο (83, 92). Η ανακάλυψη λοιπόν της επικοινωνίας των συστημάτων σε τόσο υψηλό επίπεδο άνοιξε νέους ορίζοντες και προοπτικές.



Εικόνα 2.8 : Αλληλεπιδράσεις των δύο συστημάτων και ενδομητρίωση (90)



Εικόνα 2.9 : Αλληλεπιδράσεις των δύο συστημάτων και ατοπικά νοσήματα (91)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ PAF

Μετά την μελέτη των αλληλεπιδράσεων και της συνεργασίας του ανοσοποιητικού με το ενδοκρινικό σύστημα αποκτά ιδιαίτερο ενδιαφέρον η διερεύνηση της σχέσης του ενδοκρινικού συστήματος με τον PAF, όπως αυτή αναφέρεται στη βιβλιογραφία.

3.1 Κορτικοστεροειδή και PAF

Επίδραση του PAF στα κορτικοστεροειδή

Ο PAF φαίνεται να παρουσιάζει την ικανότητα διέγερσης της έκκρισης κορτικοστεροειδών από τον φλοιό των επινεφριδίων έμμεσα και άμεσα. Η πρώτη περίπτωση αναφέρεται στην ικανότητα του PAF να ενεργοποιήσει τον υποθαλαμο-υποφυσιακο-επινεφριδιακό άξονα καθώς έγχυσή του εντός των εγκεφαλικών κοιλιών προκαλεί έκκριση της υποθαλαμικής CRH που συνεπάγεται έκκριση της υποφυσιακής ACTH και της επινεφριδιακής κορτικοστερόνης σε αντίστοιχο πείραμα με ποντίκια (93). Έπειτα φαίνεται ότι ο PAF εμπλέκεται και στο μονοπάτι της έκκρισης της κορτιζόλης από την ACTH και συγκεκριμένα μετά το σημείο ενεργοποίησης της αδενυλικής κυκλάσης cAMP (γεγονός που επιβεβαιώνεται με την χρήση αντίστοιχων ανταγωνιστών) (94). Στην δεύτερη περίπτωση ο PAF διεγείρει την έκκριση κορτικοστεροειδών με άμεση δράση στον επινεφριδιακό φλοιό. Με έγχυση του στην επινεφριδιακή αρτηρία προκαλεί έκκριση κορτιζόλης σε σκύλους (95), σε ινδικά χοιρίδια και στον άνθρωπο, ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις (96). Στο σημείο αυτό θα πρέπει να τονιστεί ότι η διαδικασία αυτή φαίνεται να είναι εξαρτώμενη των διαφόρων ειδών καθώς σε ποντίκια και αρουραίους δεν προκαλείται σημαντική έκκριση κορτικοστερόνης από έγχυση PAF με την ίδια διαδικασία (η κορτικοστερόνη παρουσιάζει λιγότερο ισχυρή γλυκοκορτικοειδική δράση σε σχέση με την κορτιζόλη που αποτελεί το βασικό είδος γλυκοκορτικοειδών σε είδη όπως ο σκύλος, τα ινδικά χοιρίδια και ο άνθρωπος) (96, 97). Οι ερευνητές στην περίπτωση των ινδικών χοιριδίων πρότειναν πιθανό μηχανισμό με το παρακάτω μονοπάτι σήματος: η ένωση του PAF με τον υποδοχέα του προκαλεί την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C και συσώρευση 1,2-διακυλογλυκερόλης και τριφωσφορικής ινοσιτόλης που συνεπάγονται κινητοποίηση ασβεστίου και ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) (98). Σε μία διαφορετική μελέτη εξετάστηκε αν η παραγωγή κορτιζόλης μέσω PAF (άρα σύμφωνα και με τα παραπάνω μέσω

ενεργοποίησης PKC) αλληλεπιδρά με την παραγωγή της μέσω ACTH (άρα και μέσω ενεργοποίησης PKA – προτεινόμενος μηχανισμός δράσης της ACTH) και φάνηκε ότι οι δύο αυτές πορείες παρουσιάζουν διασταυρούμενη ρύθμιση (99). Είναι πολύ σημαντικό το γεγονός ότι η PAF-προκαλούμενη παραγωγή κορτιζόλης εμφανίζει γρήγορα απευαισθητοποίηση, δηλαδή το επόμενο σήμα PAF θα είναι λιγότερο ισχυρό από το προηγούμενο (η απευαισθητοποίηση αυτή μπορεί να πραγματοποιείται είτε μέσω του υποδοχέα, είτε ανεξαρτήτως αυτού). Επομένως η φυσιολογική ερμηνεία της διασταυρούμενης ρύθμισης είναι η εξής: παρόλο την απευαισθητοποίηση του σήματος για παραγωγή κορτιζόλης από τον PAF, η έκκριση της κορτιζόλης παραμένει δυνατή μέσω της επίδρασης του PAF στην ACTH. Με αυτόν τον τρόπο ο PAF κατορθώνει μέσω των δράσεων της κορτιζόλης να περιορίσει τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις και την απάντηση του ανοσοποιητικού συστήματος (98).

Επίδραση των κορτικοστεροειδών στον PAF

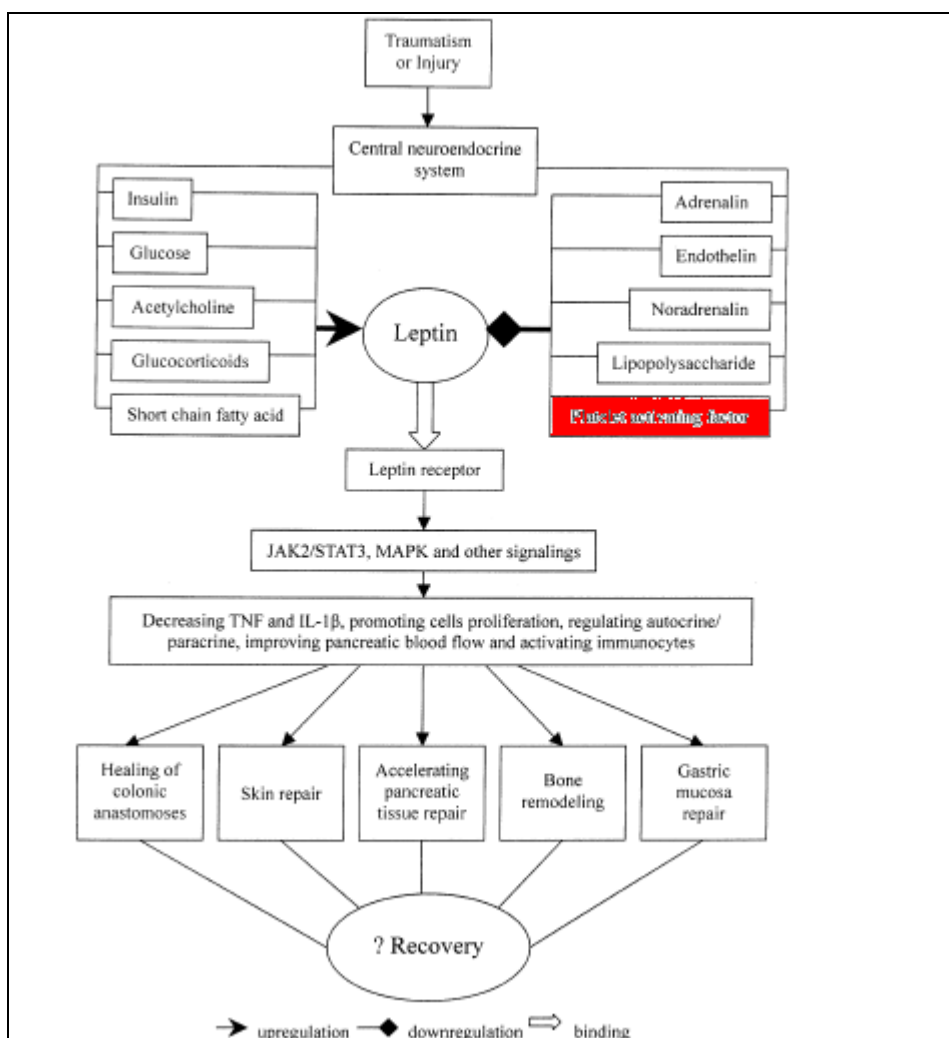
Η σχέση του PAF με τα κορτικοστεροειδή φαίνεται να είναι αμφίδρομη. Εκτός της προαναφερόμενης επίδρασης του PAF στην έκκρισή της κορτιζόλης ή της κορτικοστερόνης, φαίνεται ότι και ο PAF με τη σειρά του ρυθμίζεται από την κορτιζόλη. Φαίνεται ότι σε ιστούς πλούσιους σε κύτταρα που παράγουν PAF όπως το ήπαρ και ο σπλήνας η δεξαμεθαζόνη προκαλεί μείωση της δραστηριότητας της PAF-AT (ένζυμο της remodeling πορείας βιοσύνθεσης του PAF) με δόσο-εξαρτώμενο τρόπο και ταυτόχρονη αύξηση της δραστηριότητας της PAF-AH (ένζυμο της καταβολικής πορείας). Η μείωση της συγκέντρωσης του PAF με έλεγχο τόσο της σύνθεσης του όσο και του καταβολισμού του δηλώνει ρύθμιση μέσα σε αυστηρά πλαίσια (100). Σε μία διαφορετική μελέτη η υδροκορτιζόνη αναστέλλει την παραγωγή του PAF μέσω της μειωμένης παραγωγής του πρόδρομου μορίου του, του lyso-PAF (101). Αν λοιπόν τα κορτικοειδή μειώνουν την συγκέντρωση του PAF ίσως έτσι να εξηγείται, τουλάχιστον κατά ένα μέρος, τόσο η αντιφλεγμονώδη όσο και η αντι-οιδηματώδη δράση τους (ο PAF αυξάνει την διαπερατότητα των αγγείων μέσω του VEGF)(102, 103).

Βλέποντας συνολικά τη σχέση αυτή, ο PAF διεγείρει την έκκριση κορτιζόλης και αυτή με τη σειρά της μειώνει την συγκέντρωση του PAF. Ένας μηχανισμός αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης παρουσιάζεται με σκοπό την προστασία του οργανισμού από τις συνέπειες μίας μη ελεγχόμενης αντίδρασης του ανοσοποιητικού συστήματος. Το ίδιο το ανοσοποιητικό αυτορυθμίζεται με την μεσολάβηση του ενδοκρινικού συστήματος. Όσον αφορά την κορτικοστερόνη έχει βρεθεί ότι συνεισφέρει και σε θετική παλίνδρομη ρύθμιση μέσω της εμπλοκής της στην ουδετεροφιλία που προκαλεί ο PAF. Συγκεκριμένα, ο PAF αυξάνει την

έκκριση της κορτικοστερόνης και εκείνη με την σειρά της προκαλεί ουδετεροφιλία και κατ' επέκταση περαιτέρω παραγωγή PAF από τα ουδετερόφιλα (98). Επομένως η σχέση κορτικοειδών και PAF είναι πολύπλοκη και εξυπηρετεί πολλούς σκοπούς ταυτόχρονα, για τον λόγο αυτό είναι πολύ δύσκολο να διαλευκανθεί και να καθοριστεί με ακρίβεια.

3.2 Λεπτίνη και PAF

Δυστυχώς η διερεύνηση της σχέσης του PAF με την λεπτίνη περιορίζεται σε πολύ λίγες μελέτες. Ωστόσο υπάρχουν ενδείξεις ότι ο PAF ρυθμίζει αρνητικά τα επίπεδα της λεπτίνης, γεγονός που αποτελεί μόνο ένα μικρό κομμάτι του μηχανισμού απόκρισης ενός οργανισμού σε κατάσταση σοβαρού τραυματισμού-κινδύνου (104).



Εικόνα 3.1 : Ρύθμιση και επιδράσεις της λεπτίνης σε τραυματισμό του οργανισμού (104)

Από την άλλη πλευρά ενώ η λεπτίνη δεν φαίνεται να έχει κάποια επίδραση στην δραστικότητα της PAF-AH (καταβολική πορεία PAF) (105), υπάρχουν στοιχεία για την επίδραση της λεπτίνης στην φωσφολιπάση A_2 (cPLA₂), η οποία μετέχει στην αρχική και ταυτόχρονα ρυθμιστική αντίδραση της παραγωγής αραχιδονικού οξέος και επίσης μετέχει στην παραγωγή PAF. Συγκεκριμένα, η λεπτίνη ενεργοποιεί την cPLA₂ (μέσω ενεργοποίησης κινασών ERK / MAPK) και με τον τρόπο αυτό παίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της παραγωγής του lyso- PAF που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του PAF. Στη μελέτη αυτή φαίνεται πως η λεπτίνη με τον προαναφερόμενο μηχανισμό παίζει τον ρόλο του ρυθμιστή της έκτασης της βλάβης που προκαλείται στον γαστρικό βλεννογόνο από το H. Pylori (106).

3.3 PAF και ορμόνες του φύλου

Οιστρογόνα

Μέσα από σειρά μελετών φαίνεται ότι υπάρχει ρύθμιση των συγκεντρώσεων του PAF από τις ορμόνες του φύλου. Τα οιστρογόνα φαίνεται να μειώνουν την δραστικότητα της PAF-AH του πλάσματος (ένζυμο της καταβολικής πορείας του PAF) (η μείωση αυτή δεν αφορά ενδοκυττάρια συγκεντρώσεις του ενζύμου) με συνέπεια την αύξηση των συγκεντρώσεων του PAF στο πλάσμα (107-109). Στο σημείο αυτό είναι εύλογο να φαίνεται παράδοξο πως τα οιστρογόνα, που θεωρούμε ότι αποτελούν ασπίδα προστασίας για το γυναικείο φύλο όσον αφορά την αθηρωματική νόσο, να προκαλούν αύξηση του PAF ο οποίος μετέχει ενεργά σε όλα τα στάδια της αθηρωματικής διαδικασίας. Την πιθανή εξήγηση σε αυτό το παράδοξο δίνει μία άλλη μελέτη στην οποία φαίνεται ότι η θεραπεία αποκατάστασης με οιστρογόνα σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες πέραν της μείωσης της δραστικότητας της PAF-AH, συσχετίζεται και με την δραστική μείωση της LDL (γνωστή η συσχέτιση του ενζύμου με τις λιποπρωτεΐνες - κεφάλαιο 1^ο) (110). Επομένως η αλλαγή αυτή στο λιπιδαιμικό “profile” μπορεί να εξηγεί την προστατευτική ισχύ των οιστρογόνων ενάντια στην αθηρωμάτωση. Παρόμοια αποτελέσματα φαίνεται να έχει και η χορήγηση οιστρογόνων (στην PAF-AH και στην LDL) και στους άνδρες (111). Οι Yasuda et al το 1995 εξέτασαν τις επιδράσεις των οιστρογόνων στην PAF-AH σε ποντίκια καταλήγοντας επίσης σε παρόμοια αποτελέσματα. Στην μελέτη αυτή εξετάστηκε και η συνεργική δράση των οιστρογόνων με το κάπνισμα (χρήση εκχυλίσματος καπνού) και βρέθηκε η περαιτέρω μείωση της δραστικότητας του ενζύμου και μάλιστα σε ποσοστά που άγγιξαν το 90% (112). Για ακόμη μία φορά επισημάνθηκε ο κίνδυνος που διατρέχουν οι γυναίκες καπνίστριες με υψηλά επίπεδα PAF.

Ένα διαφορετικό ένζυμο του μεταβολισμού του PAF που έχει επίσης μελετηθεί η σχέση του με τα οιστρογόνα είναι η φωσφολιπάση A_2 (PLA_2). Σε μία μελέτη που εξετάστηκε πως τα οιστρογόνα μπορούν να προκαλέσουν αγγειογένεση μέσω μονοπατιού που εμπλέκεται ο PAF (ενεργοποιώντας τον μεταγραφικό παράγοντα NFκB), φάνηκε ότι τα οιστρογόνα μπορούν να αυξήσουν την δραστικότητα της PLA_2 και κατ' επέκταση να παραχθεί PAF (113).

Η έμμεση επίδραση των οιστρογόνων στον PAF, όσον αφορά τον μεταβολισμό των οστών, έχει αναφερθεί αναλυτικά στο 1^ο κεφάλαιο (1.7 β – PAFκαι οστά).

Προγεστερόνη

Στις περισσότερες μελέτες έγινε και ταυτόχρονη διερεύνηση της επίδρασης της προγεστερόνης στην δράση της PAF-AH με αποτέλεσμα να καταλήγουν με ομοφωνία στο γεγονός ότι η προγεστερόνη αυξάνει την δραστικότητα του ενζύμου και επομένως μειώνει τις συγκεντρώσεις του PAF (107-110, 112, 114). Για τον λόγο αυτό η προσθήκη προγεστερόνης στην οιστρογονοθεραπεία υποκατάστασης για την αποφυγή ανάπτυξης ενδομήτριου καρκινώματος μπορεί να ανατρέψει την μείωση της PAF-AH από τα οιστρογόνα. Παρόμοια αποτελέσματα φαίνεται να έχει η χορήγησή της (στην PAF-AH και στην LDL) και στους άνδρες (111).

Επίδραση οιστρογόνων και προγεστερόνης στον PAFR

Οι μελέτες με αντικείμενο έρευνας την επίδραση των οιστρογόνων στην γονιδιακή έκφραση του υποδοχέα του PAF (PAFR), καταλήγουν σε διφορούμενα αποτελέσματα. Κάποιες υποστηρίζουν ότι τα οιστρογόνα δεν επηρεάζουν την έκφραση του γονιδίου για τον PAFR (115) και κάποιες άλλες ότι μπορούν να την αυξήσουν και μάλιστα μόνο για το μετάγραφο 2 (επηρεάζοντας τον αντίστοιχο υποκινητή) (116). Όσον αφορά την προγεστερόνη οι μελέτες συμφωνούν ότι μπορεί να αυξήσει την έκφραση του γονιδίου για τον υποδοχέα, μόνη της ή σε συνδυασμό με τα οιστρογόνα (και εδώ συζήτηση για το μετάγραφο 2) (115, 116). Επίσης είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι φαίνεται να υπάρχει και συνεργιστική δράση των οιστρογόνων και του PAF, μία συνεργασία που επιτυγχάνεται μέσω της χρήσης των αντίστοιχων υποδοχέων τους (δύο διαφορετικά μονοπάτια για τον ίδιο σκοπό) (117).

Καταμήνιος κύκλος – Εγκυμοσύνη

Ο καταμήνιος κύκλος και τα στάδια της εγκυμοσύνης αποτελούν τα καλύτερα παραδείγματα της επίδρασης των οιστρογόνων και της προγεστερόνης στον PAF. Οι έρευνες συμφωνούν και εδώ με τα προαναφερόμενα αποτελέσματα. Οι αυξομειώσεις των ορμονών αυτών κατά την διάρκεια του καταμήνιου κύκλου και των σταδίων της εγκυμοσύνης αναδεικνύουν ότι τα οιστρογόνα μειώνουν την δραστικότητα της PAF-AH, ενώ αντιθέτως η προγεστερόνη την αυξάνει, με αύξηση και μείωση, αντίστοιχα, των επιπέδων του PAF (108, 118-123). Οι μελέτες αυτές δείχνουν τον σημαντικό ρόλο του PAF σε αυτές τις διεργασίες.

Πριν την εμφύτευση του γονιμοποιημένου ωαρίου, εκκρίνονται από την βλαστοκύστη μεγάλες ποσότητες PAF και ταυτοχρόνως πέφτει η δραστικότητα της PAF-AH στο πλάσμα της μητέρας. Οι αλλαγές αυτές προκαλούνται και συντηρούνται από τις ορμονικές μεταβολές με αύξηση των οιστρογόνων και μείωση της προγεστερόνης με τελικό σκοπό την αύξηση των επιπέδων PAF – γεγονός απαραίτητο για την πραγματοποίηση της εμφύτευσης. Μεγάλη αύξηση των επιπέδων PAF πραγματοποιείται και στο τελευταίο στάδιο της εγκυμοσύνης με σκοπό την διεξαγωγή του τοκετού. Υπάρχουν δύο θεωρίες σχετικά με την πρόκληση συσπάσεων της μήτρας με την άνοδο ή την χορήγηση οιστρογόνων, η μία αφορά την αύξηση της οξυτοκίνης και η δεύτερη την αύξηση του PAF με αποτέλεσμα την αύξηση της δράσης της PLA₂ και την απελευθέρωση αραχιδονικού και την παραγωγή προσταγλαδινών, που είναι ουσίες με μητροτονική δράση. Η δεύτερη θεωρία είτε επιβεβαιώνεται από κάποιες μελέτες (108) είτε όχι (124).

Ανδρογόνα

Παρουσία του PAF έχει βρεθεί και στα σπερματοζωάρια και η δράση του φαίνεται να επιδρά στην ομαλή λειτουργία των σπερματοζωαρίων (κεφάλαιο 1^ο). Αν και η έρευνα με πεδίο την επίδραση των ανδρογόνων στον PAF δεν είναι εκτεταμένη, φαίνεται ότι ο PAF βρίσκεται υπό την ρύθμιση των ανδρογόνων (όπως επίσης και σε αυτή την περίπτωση και των οιστρογόνων και της προγεστερόνης). Συγκεκριμένα, η ορχεκτομή φαίνεται να μειώνει την δραστηριότητα του PAF κατά 50% στα ινδικά χοιρίδια και η επακόλουθη αντιμετώπιση με τεστοστερόνη να αποκαθιστά τις συνέπειες της ορχεκτομής (π.χ. αποκατάσταση 136% της δραστηριότητας του PAF) (125). Επιπρόσθετα, η προγεστερόνη φαίνεται να διεγείρει την παραγωγή PAF από τα σπερματοζωάρια (126), παίζοντας ίσως και εκείνη κάποιο ρόλο στην ανδρική γονιμότητα.

3.4 Ινσουλίνη και PAF

Η επίδραση της ινσουλίνης στον PAF φαίνεται να πραγματοποιείται μέσω των ενζύμων του. Η αντίσταση στην ινσουλίνη που συνεπάγεται χρόνια υπερ-ινσουλιναιμία φαίνεται να μειώνει την δραστικότητα της ακετυλο-CoA : ALPA ακετυλοτρανσφεράσης (PAF-AT : το ένζυμο της πρώτης αντίδρασης της de novo πορείας) και ταυτοχρόνως να αυξάνει την δραστικότητα της PAF-AH του πλάσματος. Η PAF-AT φαίνεται να επηρεάζεται σε χρόνια (7 ημέρες) και όχι σε οξεία (2h) υπερ-ινσουλιναιμία. Επιπλέον φαίνεται να αυξάνει η δραστικότητα της CoA - ανεξάρτητης τρανσακυλάσης (CoA-IT) (κινητοποίηση αραχιδονικού προς lyso- PAF). Συνολικά, η μείωση της σύνθεσης και η αύξηση του καταβολισμού του PAF, οδηγεί σε μείωση των επιπέδων του (127).

Ο PAF με τη σειρά του φαίνεται να επηρεάζει σε βάθος τον μεταβολισμό της γλυκόζης. Από την μία πλευρά φαίνεται να προκαλεί μείωση στην ινσουλίνη πλάσματος και μάλιστα με δόσοεξαρτώμενο τρόπο, επομένως και μείωση της γλυκόζης πλάσματος (128). Από την άλλη, φαίνεται να αυξάνει την χρησιμοποίηση της γλυκόζης και του μεταβολικού ρυθμού κάθαρσής της από διάφορους ιστούς και κύτταρα (πολυμορφοπύρηνα, μονοκύτταρα, ήπαρ, πνεύμονες, έντερο, σπλήνας) (129). Ίσως η φυσιολογική σημασία του γεγονότος αυτού να συνίσταται στην αυξημένη παροχή ενέργειας και χρησιμοποίησής της από τον οργανισμό σε συνθήκες που απαιτείται όπως για παράδειγμα σε μία φλεγμονή.

Σακχαρώδης Διαβήτης

Δυστυχώς το τοπίο σχετικά με τον PAF, τα ένζυμα του και τον σακχαρώδη διαβήτη, είτε πρόκειται για τύπου 1 είτε για τύπου 2, είναι πολύ συγκεχυμένο. Πολλές μελέτες αναφέρουν αύξηση των επιπέδων του PAF σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 1 με αντίστοιχη μείωση της δραστικότητας του καταβολικού του ενζύμου PAF-AH (130, 131). Άλλες αναφέρουν αύξηση του PAF στα ούρα ασθενών με ΣΔ τύπου 2 (132) (άρα και στο πλάσμα πιθανολογείται αύξηση του PAF). Άλλες μελέτες ενώ συμφωνούν με τα προαναφερόμενα για τον ΣΔ τύπου 1, δεν βρίσκουν αλλαγές ούτε στα επίπεδα του PAF, ούτε της PAF-AH για τον ΣΔ τύπου 2 (131). Επίσης πολλές μελέτες αναφέρουν αυξημένη δραστικότητα της PAF-AH στο πλάσμα ασθενών με ΣΔ τύπου 1 και 2 (133-136). Την αύξηση αυτή μερικοί την ερμηνεύουν ως και μειωμένα επίπεδα PAF λόγω καταβολισμού του από το ένζυμο αυτό, κάποιοι όμως θεωρούν ότι η αύξηση αυτή μπορεί να είναι επακόλουθο των αυξημένων επιπέδων του PAF. Τα διαφορούμενα αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε διαφορές των χαρακτηριστικών των ατόμων (φύλο,

ηλικία) ή ως προς την νόσο (εμφάνιση επιπλοκών ή όχι, χρονιότητα, θεραπεία), είναι σίγουρο όμως ότι απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να διασαφηνιστεί τι ακριβώς συμβαίνει και ποια η σχέση του PAF με τις ορμονικές αλλαγές που χαρακτηρίζουν την νόσο.

3.5 PAF και θυρεοειδικές ορμόνες

Η σχέση του PAF και των ενζύμων του με τις θυρεοειδικές ορμόνες είναι λιγότερο μελετημένη, όμως φαίνεται ότι η τριιωδοθυρονίνη (T_3) αυξάνει τα επίπεδα του υποδοχέα του PAF (PAFR), καθώς η ύπαρξη αλληλουχίας, που δρα ως σημείο απόκρισης των ορμονών για τον υποκινητή 2 του γονιδίου που εκφράζει τον PAFR, είναι γεγονός και απαντά και στην T_3 (ο υποκινητής 1 δεν απαντά σε ορμόνες). Με τον τρόπο αυτό η T_3 ρυθμίζει το PAF- PAFR μονοπάτι (137).

3.6 Επίλογος

Σε ένα ευρύτερο πλαίσιο η σχέση του ανοσοποιητικού με το ενδοκρινικό σύστημα είναι γεγονός και επισημάνθηκε στο 2^ο κεφάλαιο. Σε ένα πιο εξειδικευμένο πλαίσιο η σχέση του PAF με τις ορμόνες επίσης επισημάνθηκε σε αυτό το κεφάλαιο. Η βιβλιογραφία με αντικείμενο αυτή τη σχέση είναι μικρή και πολλές φορές προ δεκαετίας. Ταυτοχρόνως η διερεύνηση και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων που προκύπτουν είναι δύσκολη και οι μηχανισμοί και οι σχέσεις που μελετώνται πολύπλοκες. Είναι βέβαιο ότι απαιτείται περαιτέρω έρευνα, όπως είναι βέβαιο ότι τα ευρήματα θα είναι ενδιαφέροντα καθώς οι σχέσεις αυτές μπορούν να εξηγήσουν την παθογένεια νοσημάτων και να βοηθήσουν στην καθημερινή κλινική πρακτική.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο ευρύτερος σκοπός της μελέτης είναι η διερεύνηση της αλληλεπίδρασης του ενδοκρινικού και του ανοσοποιητικού συστήματος μέσα από το πρίσμα του Παράγοντα Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF). Συγκεκριμένα, οι επιμέρους σκοποί της μελέτης ήταν:

A) ο ποσοτικός προσδιορισμός των επιπέδων των ορμονών ινσουλίνης, κορτιζόλης και αδιπονεκτίνης σε φαινομενικά υγιή πληθυσμό.

B) η διερεύνηση της σχέσης των ορμονών και συγκεκριμένα της ινσουλίνης, της κορτιζόλης και της αδιπονεκτίνης, όπως και του δείκτη ινσουλिनoαντίστασης HOMA IR, με τον PAF (ελεύθερο, δεσμευμένο και συνολικό) και τα κυριότερα ένζυμα του μεταβολισμού του (λύσο – PAF – AT, PAF – AH, PAF – CPT και την Lp – PLA₂), σε φαινομενικά υγιή πληθυσμό.

Γ) η διερεύνηση της σχέσης των διατροφικών συνηθειών [ως βασική % διατροφική πρόσληψη, ομάδες τροφίμων, δείκτες εκτίμησης διατροφικής πρόσληψης (αντιοξειδωτική ικανότητα δίαιτας, γλυκαιμικός δείκτης και γλυκαιμικό φορτίο), διατροφικά πρότυπα και τέλος συμμόρφωση με την μεσογειακή διατροφή (Med Diet Score)] με τα επίπεδα των παραπάνω ορμονών σε φαινομενικά υγιή πληθυσμό.

Επισημαίνεται ότι είναι η πρώτη φορά που διερευνάται ως συγχρονική μελέτη η συσχέτιση των επιπέδων των συγκεκριμένων ορμονών με τον PAF και τα ένζυμά του.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

5.1 Πρωτόκολλο εθελοντών

Επιλέχθηκαν 106 φαινομενικά υγιείς άνδρες και γυναίκες ισοκατανεμημένοι στο ηλικιακό εύρος 20 – 70. Κριτήρια αποκλεισμού αποτέλεσαν το ατομικό ιστορικό καρδιακής νόσου, η χρήση φαρμακευτικής αγωγής, φλεγμονώδεις νόσοι, η παρουσία κρυολογήματος ή γρίπης, οδοντικά προβλήματα καθώς και η νεφρική, ηπατική ή θυρεοειδική δυσλειτουργία. Οι εθελοντές ενημερώθηκαν για τους σκοπούς της μελέτης, συμπλήρωσαν το πρωτόκολλο εθελοντικής συμμετοχής και μετά από 12 ωρη νηστεία προσήλθαν στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, όπου έγινε αιμοληψία παρουσία ιατρού από ειδικά εκπαιδευμένο προσωπικό. Για τις γυναίκες της μελέτης η αιμοληψία έλαβε χώρα τις πρώτες 7 – 10 μέρες του κύκλου. Επιπλέον, συμπληρώθηκαν ερωτηματολόγια σχετικά με τη φυσική δραστηριότητα, τις διατροφικές συνήθειες, τη διάθεση, το άγχος, έγιναν ανθρωπομετρήσεις και ανάλυση σύστασης σώματος. Όλες οι προαναφερόμενες διαδικασίες αναφέρονται αναλυτικά στη Διδακτορική Διατριβή της κ. Ντετοπούλου Παρασκευής με τίτλο “Διερεύνηση της σχέσης μεταβολισμού του PAF και διατροφικών παραγόντων σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια καθώς και σε υγιείς εθελοντές”. (19). Η παρούσα μελέτη αξιοποίησε περαιτέρω τα συγκεκριμένα δεδομένα.

5.2 Αξιολόγηση διατροφικών συνηθειών

Για την αξιολόγηση των διατροφικών συνηθειών έλαβαν μέρος οι εξής διαδικασίες : ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων, αξιολόγηση συμμόρφωσης με τη μεσογειακή διατροφή, αξιολόγηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας της δίαιτας, αξιολόγηση γλυκαιμικού δείκτη και γλυκαιμικού φορτίου δίαιτας, έλεγχος ορθότητας της αναφερόμενης διαιτητικής πρόσληψης και αξιολόγηση των προτύπων που χρησιμοποιήθηκαν. Επίσης οι προαναφερόμενες διαδικασίες αναφέρονται αναλυτικά στη Διδακτορική Διατριβή της κ. Ντετοπούλου Παρασκευής (19).

5.3 Προσδιορισμός του PAF και των ενζύμων του μεταβολισμού του.

Ο προσδιορισμός των επιπέδων του PAF βασίστηκε στην απομόνωσή του με κατάλληλους χρωματογραφικούς διαχωρισμούς και μέτρηση της συγκέντρωσής του με βιολογική διαδικασία σε πλυμένα αιμοπετάλια κουνελιού. Επιπλέον, προσδιορίστηκε η δραστηριότητα της Lp-PLA₂ και της PAF-AH των λευκοκυττάρων, της λύσο-PAF-AT και της PAF-CPT. Επίσης οι προαναφερόμενες διαδικασίες αναφέρονται αναλυτικά στη Διδακτορική Διατριβή της κ. Ντετοπούλου Παρασκευής (19).

5.4 Πρωτόκολλα ποσοτικού προσδιορισμού πρωτεϊνών – ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent assay:Ενζυμοσύνδετη ανοσοπροσροφητική μέτρηση)

Στη μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε ποσοτικός προσδιορισμός των παρακάτω ορμονών: αδιπονεκτίνης, κορτιζόλης και ινσουλίνης με τη μέθοδο της ELISA (Ενζυμοσύνδετη ανοσοπροσροφητική μέτρηση). Οι διαδικασίες που έλαβαν μέρος έχουν ως εξής:

5.4 I) ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ

A) Αρχή μεθόδου

Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιεί την ποσοτική τεχνική της ανοσοανάλυσης ενός ενζύμου-συμπλέγματος. Ένα ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα για την υψηλού μοριακού βάρους (HMW) αδιπονεκτίνη έχει επικαλύψει την βάση ενός μικροπλακιδίου (microplate). Τα πρότυπα διαλύματα και τα δείγματα τοποθετούνται με την πιπέττα μέσα στα επιμέρους τμήματα του μικροπλακιδίου με αποτέλεσμα οποιαδήποτε ποσότητα αδιπονεκτίνης είναι παρούσα να δεσμεύεται από το ακινητοποιημένο αντίσωμα. Μετά από το ξέπλυμα οποιασδήποτε μη δεσμευμένης ουσίας, ένα ειδικό, για την HMW αδιπονεκτίνη, μονοκλωνικό αντίσωμα συνδεδεμένο με ένζυμο προστίθεται στο μικροπλακίδιο. Μετά από ξέπλυμα για την απομάκρυνση οποιουδήποτε μη συνδεδεμένου αντιδραστήριου αντισώματος-ενζύμου, ένα διάλυμα υποστρώματος προστίθεται στο μικροπλακίδιο οδηγώντας στην δημιουργία έγχρωμου προϊόντος σε αναλογία με το ποσοστό της HMW αδιπονεκτίνης που δεσμεύτηκε στο αρχικό στάδιο. Η ανάπτυξη του χρώματος σταματά και η απορρόφηση του έγχρωμου προϊόντος υπολογίζεται. Η μέτρηση της αδιπονεκτίνης έγινε χρησιμοποιώντας εμπορικά διαθέσιμα αντιδραστήρια από την εταιρία RED.

B) Απαιτούμενα διαλύματα - Αντιδραστήρια

Ρυθμιστικό δ/μα φωσφορινών (PBS): 137 mM NaCl, 2,7 mM KCL, 8,1 mM Na₂HPO₄, 1,5 mM KH₂PO₄, pH 7,2-7,4

Ρυθμιστικό δ/μα έκπλυσης (Wash Buffer): 0,05% Tween 20 σε PBS, pH 7,2-7,4

Μέσο αραιώσης αντιδραστηρίου (Reagent Diluent): 1% BSA σε PBS, pH 7,2-7,4 (η ποιότητα του διαλύματος αυτού είναι ζωτικής σημασίας)

Δ/μα υποστρώματος (Substrate Solution): 1:1 μείγμα του χρωματικού αντιδραστηρίου A (υπεροξείδιο του υδρογόνου - H₂O₂) και του χρωματικού αντιδραστηρίου B (τετραμέθυλοβενζιδίνη - tetramethylbenzidine)

Δ/μα παύσης αντίδρασης (Stop Solution): 2 N H₂SO₄

Αντίσωμα δέσμησης (Capture antibody): 360 μg / Ml αντισώματος ποντικού έναντι της ανθρώπινης HMW αδιπονεκτίνης αναδιαλύεται σε 1,0 mL του διαλύματος PBS. Στη συνέχεια αποθηκεύεται στους 2-8 °C για πάνω από 60 μέρες ή στους -20 °C έως τους -70 °C σε καταψύκτη για πάνω από 6 μήνες. Για την απαιτούμενη συγκέντρωση πραγματοποιείται αραιώση 2,0 μg / mL σε PBS, χωρίς πρωτεΐνη-φορέα.

Αντίσωμα ανίχνευσης (Detection Antibody): 360 μg / mL βιοτινυλιωμένου αντισώματος ποντικού έναντι της ανθρώπινης HMW αδιπονεκτίνης αναδιαλύεται σε 1,0 mL του διαλύματος Reagent Diluent (μέσο αραιώσης αντιδραστηρίου). Στη συνέχεια αποθηκεύεται στους 2-8 °C για πάνω από 60 μέρες ή στους -20 °C έως τους -70 °C σε καταψύκτη για πάνω από 6 μήνες. Για την απαιτούμενη συγκέντρωση πραγματοποιείται αραιώση 2,0 μg / mL σε Reagent Diluent.

Πρότυπο αντιδραστήριο αδιπονεκτίνης (Standard): 70 μg / mL της ανασυνδυασμένης ανθρώπινης αδιπονεκτίνης αναδύεται σε 0,5 mL του διαλύματος Reagent Diluent (αραιωτικό αντιδραστήριο). Το πρότυπο αντιδραστήριο παραμένει για τουλάχιστον 15 λεπτά με ήπια ανάδευση πριν από την παρασκευή των διαλυμάτων. Το αντιδραστήριο που αναδιαλύεται αποθηκεύεται στους 2-8 °C για πάνω από 60 μέρες ή στους -20 °C έως τους -70 °C σε καταψύκτη για πάνω από 6 μήνες. Μία πρότυπη καμπύλη επτά σημείων χρησιμοποιεί διπλές συνεχόμενες αραιώσεις σε Reagent Diluent όπου το πιο πυκνό διάλυμα έχει συγκέντρωση 4000 pg / mL.

Σύμπλοκο στρεπταβιδίνης – υπεροξειδάσης υδρογόνου (Streptavidin – HRP) :

Αποθήκευση στους 2-8 °C για πάνω από 6 μήνες μετά την αρχική χρήση. Δεν καταψύχεται. Για την απαιτούμενη συγκέντρωση πραγματοποιείται αραίωση που προδιαγράφεται στην ετικέτα του δοχείου του Reagent Diluent.

Γ) Αναλυτική πορεία

Προετοιμασία του μικροπλακιδίου

1. Πραγματοποιείται αραίωση του Capture antibody στην απαιτούμενη συγκέντρωση σε PBS διάλυμα χωρίς πρωτεΐνη-φορέα. Αμέσως επικαλύπτεται ένα μικροπλακίδιο, με 96 επιμέρους τμήματα, με 100 μ L του αραιωμένου Capture antibody ανά τμήμα. Σφραγίζεται το πλακίδιο και επωάζεται κατά την διάρκεια της νύχτας σε θερμοκρασία δωματίου.
2. Πραγματοποιείται αναρρόφηση των επιμέρους τμημάτων του πλακιδίου και έκπλυση με Wash Buffer (200 μ L). Η διαδικασία επαναλαμβάνεται άλλες δύο φορές.
3. Προστίθενται 300 μ L από το Reagent Diluent σε κάθε τμήμα του πλακιδίου και παραμένουν για επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον μία ώρα.
4. Επανάληψη της διαδικασίας αναρρόφηση / έκπλυση, όπως ακριβώς στο 2^ο βήμα. Τα πλακίδια τώρα είναι έτοιμα για την προσθήκη των δειγμάτων.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Όλα τα αντιδραστήρια μεταφέρονται σε θερμοκρασία δωματίου πριν χρησιμοποιηθούν.

Wash Buffer: Αν έχουν σχηματιστεί κρύσταλλοι, μεταφορά σε θερμοκρασία δωματίου και αναδεύονται ήπια μέχρι την πλήρη λύση των κρυστάλλων. Αραίωση 20 mL του stock διαλύματος σε 500 mL απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό για την παρασκευή του διαλύματος εργασίας του Wash Buffer.

Δ/μα υποστρώματος (Substrate Solution): Τα χρωμοφόρα αντιδραστήρια A και B αναμιγνύονται σε ίσες αναλογίες 15 λεπτά από την χρήση τους και παραμένουν σε σκοτάδι.

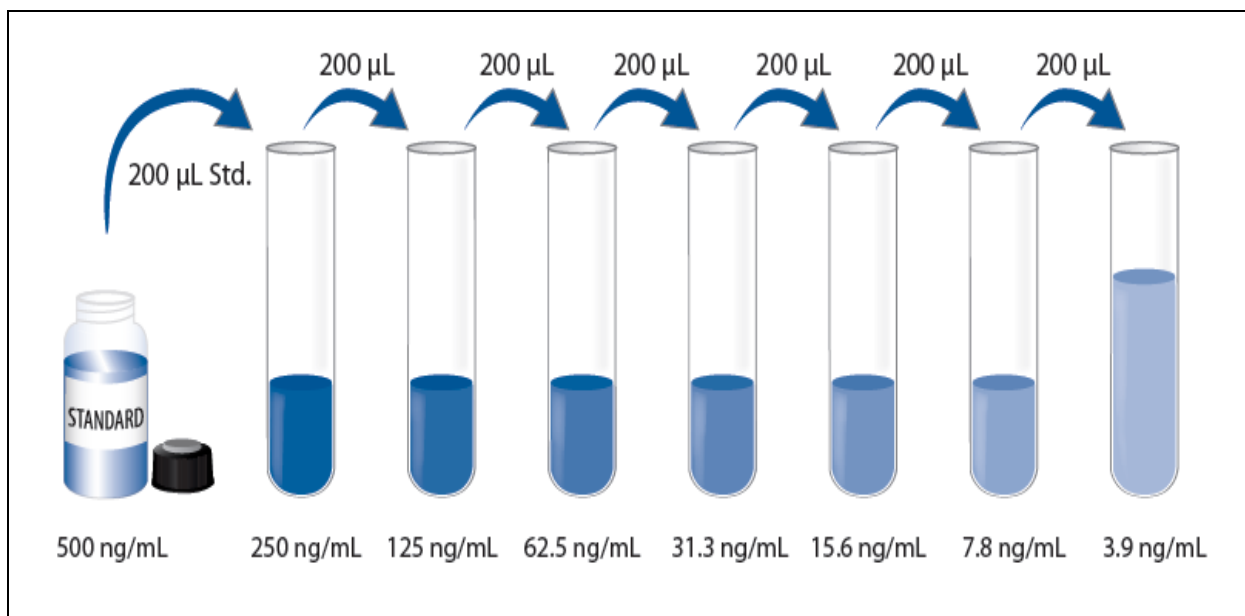
Πρότυπο διάλυμα αδιπονεκτίνης (Standard): Πρόσμιξη με 1,0 mL απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού με αποτέλεσμα την παρασκευή ενός τελικού διαλύματος 500 ng / mL. Ανάμιξη του διαλύματος και παραμονή τουλάχιστον 15 λεπτών. Καλή ανάδευση πριν την παρασκευή οποιουδήποτε επακόλουθου διαλύματος.

Προετοιμασία των δειγμάτων

Δείγματα ορού και πλάσματος απαιτούν 100πλάσια αραίωση. Η προτεινόμενη 100πλάσια αραίωση πραγματοποιείται ως εξής: 10 μ L δείγματος και 990 μ L του Calibrator Diluent.

Προετοιμασία της πρότυπης καμπύλης

Χρησιμοποιώντας το πρότυπο διάλυμα αδιπονεκτίνης (500 ng / mL) και με διαδοχικές αραιώσεις, όπως φαίνεται στην εικόνα 5.1, κατασκευάζεται σειρά προτύπων διαλυμάτων αδιπονεκτίνης από 250 – 3,9 ng / mL. Το Calibrator Diluent αποτελεί το πρότυπο διάλυμα μηδενικής συγκέντρωσης.



Εικόνα 5.1: Προετοιμασία της πρότυπης καμπύλης

Αναλυτική πορεία

1. Προσθήκη 100 μ L των δειγμάτων ή των προτύπων διαλυμάτων στις μικροκυψελίδες του μικροπλακιδίου. Κάλυψη του πλακιδίου με κολλητική ταινία και επώαση για δύο ώρες σε θερμοκρασία δωματίου.

2. Επανάληψη της διαδικασίας αναρρόφηση / “έκπλυση”, όπως ακριβώς στο 2^ο βήμα της προετοιμασίας του πλακιδίου.
3. Προσθήκη 100 μ L του Detection Antibody (αντίσωμα ανίχνευσης), αραιωμένο σε Reagent Diluent, σε κάθε μικροκυψελίδα του πλακιδίου. Κάλυψη εκ νέου του πλακιδίου με καινούρια κολλητική ταινία και επώαση για δύο ώρες σε θερμοκρασία δωματίου.
4. Επανάληψη της διαδικασίας αναρρόφηση / “έκπλυση”, όπως ακριβώς στο 2^ο βήμα της προετοιμασίας του πλακιδίου.
5. Προσθήκη 100 μ L του διαλύματος Streptavidin- HRP σε κάθε μικροκυψελίδα του πλακιδίου. Κάλυψη του πλακιδίου και επώαση για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Αποφυγή τοποθέτησης του πλακιδίου σε άμεσο φωτισμό.
6. Επανάληψη της διαδικασίας αναρρόφηση / “έκπλυση”, όπως ακριβώς στο 2^ο βήμα της προετοιμασίας του πλακιδίου.
7. Προσθήκη 100 μ L του Substrate Solution (δ/μα υποστρώματος) σε κάθε μικροκυψελίδα του πλακιδίου. Επώαση για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Αποφυγή τοποθέτησης του πλακιδίου σε άμεσο φωτισμό.
8. Προσθήκη 50 μ L του Stop Solution (δ/μα παύσης αντίδρασης) σε κάθε μικροκυψελίδα του πλακιδίου.
9. Μέτρηση της απορρόφησης στα 450 nm με διόρθωση στα 540 nm.

Υπολογισμός των αποτελεσμάτων

Υπολογισμός του μέσου όρου των διπλών μετρήσεων για κάθε διάλυμα πρότυπο (Standard), ελέγχου (control) και δείγματος και αφαίρεση του μέσου όρου των μετρήσεων της οπτικής πυκνότητας των Standard διαλυμάτων της μηδενικής συγκέντρωσης. Η πρότυπη καμπύλη κατασκευάζεται σχεδιάζοντας τη μέση απορρόφηση από κάθε Standard διάλυμα στον ψ άξονα έναντι της συγκέντρωσης στον χ άξονα και δημιουργώντας την καλύτερη κατάλληλη καμπύλη μεταξύ των σημείων του γραφήματος. Τα δεδομένα μετατρέπονται σε γραμμική σχέση σχεδιάζοντας τον λογάριθμο των συγκεντρώσεων της HMW αδιπνονεκτίνης εναντίον των λογαρίθμων της απορρόφησης και η καλύτερη καταλληλότερη γραμμή μπορεί να προσδιορισθεί

από ανάλυση παλινδρόμησης. Εφόσον τα δείγματα θα έχουν αραιωθεί, η συγκέντρωση που θα προκύπτει από την πρότυπη καμπύλη πρέπει να πολλαπλασιάζεται με τον παράγοντα αραιώσης.

5.4 II) ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΟΡΤΙΖΟΛΗΣ

A) Αρχή μεθόδου

Η συγκεκριμένη μέθοδος βασίζεται στην τεχνική του ανταγωνισμού στην οποία η κορτιζόλη που είναι παρούσα σε ένα δείγμα ανταγωνίζεται με συγκεκριμένη ποσότητα επισημασμένης κορτιζόλης με HRP για τις θέσεις ενός μονοκλωνικού αντισώματος ποντικού. Κατά την διάρκεια της επώασης, το μονοκλωνικό αντίσωμα της κορτιζόλης είναι δεσμευμένο και άρα ακινητοποιημένο στο πλακίδιο σε ένα δεύτερο αντίσωμα έναντι αυτού που προέρχεται από αίγα. Μετά την “έκπλυση ” για την απομάκρυνση του πλεονάζοντος μη δεσμευμένου αντιγόνου, ένα διάλυμα υποστρώματος (substrate solution) προστίθεται για να προσδιορισθεί η δραστηριότητα του ενζύμου δέσμευσης. Η ανάπτυξη του χρώματος σταματά και η απορρόφηση μετράται στα 450 nm. Η ένταση του χρώματος είναι αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης της κορτιζόλης του δείγματος. Η μέτρηση έγινε με εμπορικά διαθέσιμο kit, όπως αναλυτικά περιγράφεται παρακάτω.

B) Απαιτούμενα διαλύματα - Αντιδραστήρια

Δ/μα επισημασμένης κορτιζόλης (Cortisol Conjugate): Δ/μα επισημασμένης κορτιζόλης με HRP

Δ/μα αντισώματος κορτιζόλης (Primary Antibody Solution): Μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού έναντι της κορτιζόλης

Μέσο αραιώσης αντιδραστηρίου (Calibrator Diluent)

Πρότυπο διάλυμα κορτιζόλης (Standard): (βλ. αναλυτικά παρακάτω)

Ρυθμιστικό δ/μα έκπλυσης (Wash Buffer): (βλ. αναλυτικά παρακάτω)

Δ/μα υποστρώματος (Substrate Solution): 1:1 μείγμα του χρωματικού αντιδραστηρίου A (υπεροξείδιο του υδρογόνου - H_2O_2) και του χρωματικού αντιδραστηρίου B (τετραμέθυλοβενζιδίνη - tetramethylbenzidine)

Δ/μα παύσης αντίδρασης (Stop Solution): 2 N H₂SO₄

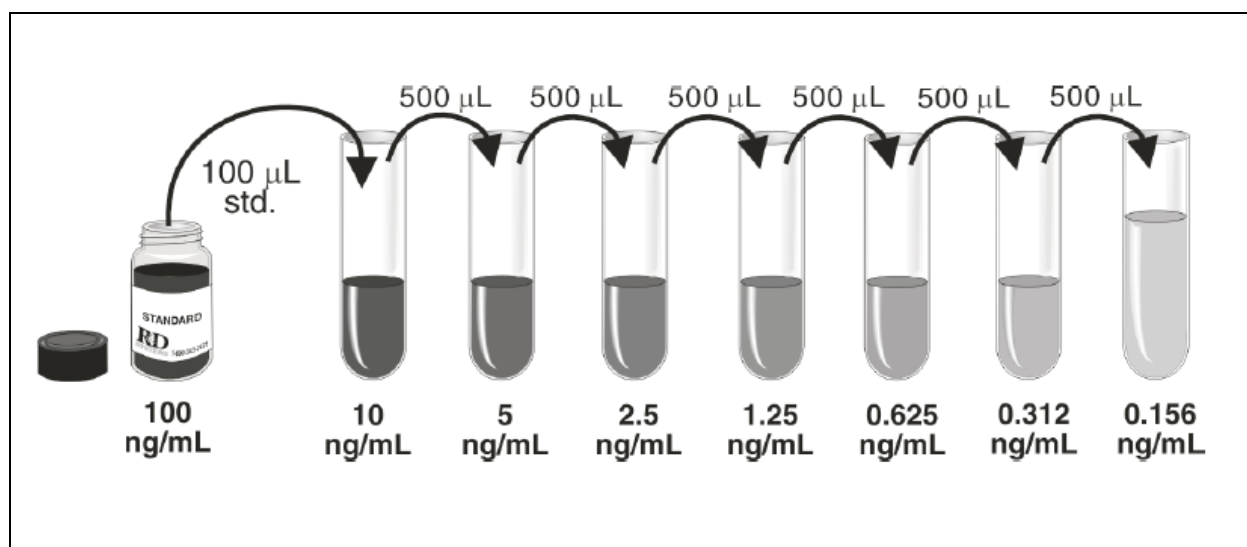
Γ) Αναλυτική πορεία

Προετοιμασία των δειγμάτων

Δείγματα ορού απαιτούν 20πλάσια αραίωση. Η προτεινομένη 20πλάσια αραίωση πραγματοποιείται ως εξής: 20 μ L δείγματος και 380 μ L Calibrator Diluent.

Προετοιμασία της πρότυπης καμπύλης

Χρησιμοποιώντας το πρότυπο διάλυμα κορτιζόλης (100 ng / mL) και με διαδοχικές αραιώσεις, όπως φαίνεται στην εικόνα 5.2, κατασκευάζεται σειρά προτύπων διαλυμάτων κορτιζόλης από 10 – 0,156 ng / mL. Το Calibrator Diluent αποτελεί το πρότυπο διάλυμα μηδενικής συγκέντρωσης.



Εικόνα 5.2: Προετοιμασία της πρότυπης καμπύλης

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Όλα τα αντιδραστήρια μεταφέρονται σε θερμοκρασία δωματίου πριν χρησιμοποιηθούν. Για την μέτρηση της κορτιζόλης απαιτούνται επιπρόσθετα προστατευτικά μέτρα (μάσκα προσώπου,

γάντια) για την αποφυγή επιμόλυνσης των αντιδραστηρίων από την κορτιζόλη που περιέχεται στο σίελο.

Wash Buffer: Αν έχουν σχηματιστεί κρύσταλλοι, μεταφορά σε θερμοκρασία δωματίου και αναδεύονται ήπια μέχρι την πλήρη λύση των κρυστάλλων. Αραίωση 20 mL του stock διαλύματος σε 500 mL απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό για την παρασκευή του διαλύματος εργασίας του Wash Buffer.

Δ/μα υποστρώματος (Substrate Solution): Τα χρωμοφόρα αντιδραστήρια A και B αναμιγνύονται σε ίσες αναλογίες 15 λεπτά από την χρήση τους και παραμένουν σε σκοτάδι.

Πρότυπο διάλυμα κορτιζόλης (Standard): Πρόσμιξη με 1,0 mL απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού με αποτέλεσμα την παρασκευή ενός τελικού διαλύματος 100 ng / mL. Ανάμιξη του διαλύματος και παραμονή τουλάχιστον 15 λεπτών. Καλή ανάδευση πριν την παρασκευή οποιουδήποτε επακόλουθου διαλύματος.

Κύριο μέρος της μεθόδου

1. Προετοιμασία όλων των αντιδραστηρίων, των Standards και των δειγμάτων όπως προαναφέρθηκε.
2. Προσθήκη 150 μ L από το Calibrator Diluent στις μικροκυψελίδες του πλακιδίου που θα θεωρηθούν ως μη – ειδικής δέσμευσης (NSB).
3. Προσθήκη 100 μ L από το Calibrator Diluent στις μικροκυψελίδες του πλακιδίου που θα προστεθεί το Standard διάλυμα μηδενικής συγκέντρωσης (Bo) (0 ng / mL).
4. Προσθήκη 100 μ L από το Standard ή το δείγμα στις κατάλληλες μικροκυψελίδες του πλακιδίου.
5. Προσθήκη 50 μ L από το Cortisol Conjugate αντιδραστήριο (κορτιζόλη συζευγμένη με την HRP) σε κάθε μικροκυψελίδα του πλακιδίου.
6. Προσθήκη 50 μ L από το κυρίως διάλυμα αντισώματος σε κάθε μικροκυψελίδα του πλακιδίου (εκτός από τα NSB τμήματα). Επικάλυψη του πλακιδίου.
7. Επώση 2 ωρών σε θερμοκρασία δωματίου σε αυτόματο οριζόντιας ταχύτητας κυκλοαναδευτήρα ρυθμισμένο στα 500 ± 50 rpm.

8. Πραγματοποιείται αναρρόφηση των μικροκυψελίδων του πλακιδίου και “έκπλυση” με Wash Buffer (200 μL). Η διαδικασία επαναλαμβάνεται άλλες τέσσερις φορές.
9. Προσθήκη 200 μL από το διάλυμα υποστρώματος (Substrate Solution) σε κάθε μικροκυψελίδα του πλακιδίου. Επώαση για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου στον κυκλοαναδευτήρα. Προστασία από το φως.
10. Προσθήκη 50 μL από το διάλυμα παύσης αντίδρασης (stop solution) σε κάθε μικροκυψελίδα του πλακιδίου. Μετατροπή του χρωματισμού σε κίτρινο.
11. Μέτρηση της απορρόφησης στα 450 nm με διόρθωση στα 540 nm.

Υπολογισμός των αποτελεσμάτων

Η πρότυπη καμπύλη κατασκευάζεται σχεδιάζοντας τη μέση απορρόφηση από κάθε πρότυπο διάλυμα κορτιζόλης στον ψ άξονα έναντι της συγκέντρωσης στον χ άξονα και δημιουργώντας την καλύτερη κατάλληλη καμπύλη μεταξύ των σημείων του γραφήματος. Το πρότυπο διάλυμα κορτιζόλης μηδενικής συγκέντρωσης δεν περιλαμβάνεται στην πρότυπη καμπύλη. Πραγματοποιείται υπολογισμός της συγκεντρώσεως της κορτιζόλης αντιστοίχως με την μέση απορρόφηση από την πρότυπη καμπύλη. Εφόσον τα δείγματα έχουν αραιωθεί, η συγκέντρωση που προκύπτει από την πρότυπη καμπύλη πρέπει να πολλαπλασιάζεται με τον παράγοντα αραιώσης.

5.4 III) ΜΕΤΡΗΣΗ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ

A) Αρχή μεθόδου

Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιεί μονοκλωνικά αντισώματα έναντι επιτόπων ινσουλίνης. Δείγματα γνωστής περιεκτικότητας σε ινσουλίνη (πρότυπα διαλύματα), δείγματα ελέγχου (control) και δείγματα ορού τοποθετούνται στις μικροκυψελίδες ενός μικροπλακιδίου. Ένα μονοκλωνικό αντίσωμα επισημασμένο με HRP προστίθεται. Μετά την περίοδο επώασης και την απομάκρυνση μη δεσμευμένου συμπλέγματος ενζύμου – αντισώματος, ένα διάλυμα υποστρώματος της υπεροξειδάσης (TMB – H_2O_2) προστίθεται και επωάζεται. Η αντίδραση σταματά με HCl και πραγματοποιείται φωτομέτρηση. Η ένταση του χρώματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της ινσουλίνης του δείγματος.

B) Απαιτούμενα διαλύματα - Αντιδραστήρια

Δείγματα ελέγχου ινσουλίνης (Control): (βλ. αναλυτικά παρακάτω)

Πρότυπα διαλύματα γνωστής περιεκτικότητας σε ινσουλίνη (Standard): (βλ. αναλυτικά παρακάτω)

Συζευγμένη άντι – ινσουλίνη (Anti-insulin-HRP conjugate): Μονοκλωνικό αντίσωμα επισημασμένο με HRP

Washing Solution: (βλ. αναλυτικά παρακάτω)

Χρωμοφόρο δ/μα τετραμεθυλοβενζιδίνης (TMB)

Δ/μα παύσης αντίδρασης (Stop Solution): 1,0 N HCl

Γ) Αναλυτική πορεία

Προετοιμασία των δειγμάτων

Δεν απαιτείται προετοιμασία των δειγμάτων ορού. Τα δείγματα που πιστεύεται ότι περιέχουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ινσουλίνης από το υψηλότερης συγκέντρωσης πρότυπο διάλυμα (standard) πρέπει να διαλύονται με το πρότυπο διάλυμα μηδενικής συγκέντρωσης.

Πριν την χρήση, όλα τα διαλύματα απαιτείται να βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Όλα τα αντιδραστήρια μεταφέρονται σε θερμοκρασία δωματίου πριν χρησιμοποιηθούν.

Washing Solution: Αραίωση του Wash Solution 1/200 με απεσταγμένο νερό (συγκέντρωση 200x).

Πρότυπα διαλύματα και διαλύματα ελέγχου (standards και controls): Αναδιάλυση των standard και διαλυμάτων ελέγχου με απεσταγμένο νερό στην αναλογία που αναγράφεται στις αντίστοιχες ετικέτες (2 ml για το διάλυμα μηδενικής συγκέντρωσης και 1 ml για τα υπόλοιπα).

Κύριο μέρος της μεθόδου

1. Προσθήκη 50 μL από κάθε πρότυπο διάλυμα, διάλυμα ελέγχου και δείγμα στις κατάλληλες μικροκυψελίδες του πλακιδίου.
2. Προσθήκη 50 μL από την συζευγμένη άντι – ινσουλίνη (Anti-insulin-HRP conjugate) σε κάθε μικροκυψελίδα του πλακιδίου.
3. Επικάλυψη του πλακιδίου και επώαση για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
4. Αναρρόφηση και “έκπλυση” του πλακιδίου ως εξής : μετά την αναρρόφηση προσθήκη 200 μL του αραιωμένου διαλύματος washing. Παραμονή για 15-30 sec και αναρρόφηση. Επανάληψη της διαδικασίας άλλες τέσσερις φορές.
5. Προσθήκη 100 μL από το Chromogen Solution (χρωμοφόρο διάλυμα) σε κάθε μικροκυψελίδα του πλακιδίου, μέσα σε 15 λεπτά από το προηγούμενο στάδιο.
6. Επώαση του πλακιδίου για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι.
7. Προσθήκη 100 μL από το διάλυμα παύσης αντίδρασης (stop solution) σε κάθε μικροκυψελίδα του πλακιδίου. Μετατροπή του χρωματισμού από μπλε σε κίτρινο.
8. Μέτρηση της απορρόφησης στα 450 nm. Σε μία μικροκυψελίδα του πλακιδίου έχουμε τοποθετήσει μόνο 100 μL από το Chromogen Solution και 100 μL από το Stop Solution.

Υπολογισμός των αποτελεσμάτων

Κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς από τα log της απορρόφησης των προτύπων διαλυμάτων και τα log της αντίστοιχης συγκέντρωσης. Από τα log της απορρόφησης των αγνώστων δειγμάτων ορού προσδιορίζεται, από την καμπύλη αναφοράς, η συγκέντρωση σε ινσουλίνη των αγνώστων δειγμάτων.

5.5 Στατιστική ανάλυση

Ο έλεγχος της κανονικότητας των μελετώμενων μεταβλητών έγινε με τη δοκιμασία Kolmogorov – Smirnov, καθώς και με τη χρήση ιστογράμματος και γραφήματος Q-Q. Οι συνεχείς μεταβλητές που κατανέμονται κανονικά παρουσιάζονται ως μέσες τιμές $\pm$ τυπική απόκλιση. Οι συνεχείς μεταβλητές που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή παρουσιάζονται

ως διάμεσες, ενδοτεταρτημοριακό εύρος ($25^{\circ} - 75^{\circ}$ τεταρτημόριο). Οι ποιοτικές-κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτες τιμές και σχετικές (%) συχνότητες. Οι συγκρίσεις μεταξύ των κατηγορικών μεταβλητών έγιναν με την χρήση του κριτηρίου χ^2 . Για την ανάλυση των παραγόντων που καθορίζουν τα επίπεδα του PAF και των ενζύμων του έγινε πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση. Στην περίπτωση που οι εξαρτημένες μεταβλητές δεν κατανέμονταν κανονικά έγινε λογαριθμοποίηση αυτών και στη συνέχεια εισήχθησαν ως εξαρτημένες μεταβλητές. Συσχετίσεις μεταξύ κανονικά κατανεμημένων παραμέτρων έγιναν με τη βοήθεια του συντελεστή συσχέτισης Pearson. Τα αποτελέσματα θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικά όταν το επίπεδο σημαντικότητας (p-value) ήταν μικρότερο του 0,05. Το στατιστικό λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση είναι το PASW Statistics, release 18,0, 2009, SPSS Inc. Chicago, IL.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.1 Βασικά χαρακτηριστικά πληθυσμού

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα βασικότερα χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης καθώς και οι επιμέρους συγκρίσεις μεταξύ ανδρών και γυναικών. Πιο συγκεκριμένα μελετήθηκαν 48 άνδρες και 58 γυναίκες με μέσο όρο ηλικίας 44 ± 13 έτη και μέσο ΔΜΣ 27 ± 5 kg/m². Διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών παρατηρήθηκαν στην αρτηριακή πίεση, την περιφέρεια μέσης, τα τριγλυκερίδια, την HDL χοληστερόλη και τη γλυκόζη με τους άνδρες να εμφανίζουν δυσμενέστερες τιμές. Επίσης, περισσότεροι άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες είχαν καθιστική ζωή.

Πίνακας 6.1 : Βασικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης (19)

Παράμετροι που αξιολογήθηκαν	Σύνολο (n=106)	Άνδρες (n=48)	Γυναίκες (n=58)	P
Ηλικία (έτη)	44± 13,5	43,7± 13,3	44,2± 13,8	0,861
ΔΜΣ (kg/m ²)	26,9± 4,95	27,5± 3,75	26,39± 5,72	0,248
Περιφέρεια μέσης (cm)	85,2± 14,8	92,75± 9,18	78,7± 15,8	<0,001
Συστολική πίεση (mmHg)	11,3± 1,25	11,8± 1,16	10,9± 1,18	<0,001
Διαστολική πίεση (mmHg)	7,4± 1,09	7,8± 0,74	7,1± 1,1	<0,001
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	215± 41	218,7± 37,5	211,7± 44,2	0,384
HDL-χοληστερόλη(mg/dL)	47± 11	42,5± 7,8	50,6± 12,4	<0,001
LDL-χοληστερόλη(mg/dL)	147± 34	150,6± 30,2	143,8± 37,7	0,317
Τριγλυκερίδια (mg/dL)†	101± 57	126,3± 59,3	80,6± 46,1	<0,001
Γλυκόζη (mg/dL)	91,8± 9,0	94,04± 7,8	89,91± 9,6	0,017
Καπνιστικές συνήθειες				
Μη καπνιστές (n)	60	28	32	0,614
Πρώην καπνιστές (n)	12	6	6	-
Διακοπή < 5 έτη (n)	5με	3	2	-
Διακοπή >5 έτη (n)	7	4	3	-
Καπνιστές (n)	32	13	19	0,562
1-5 τσιγάρα/ ημέρα (n)	12	4	8	-
6-20 τσιγάρα/ημέρα (n)	10	5	5	-
20-30 τσιγάρα/ ημέρα (n)	10	4	6	-
Παθητικό κάπνισμα >30 min /ημέρα	23	12	11	0,453

Παράμετροι που αξιολογήθηκαν	Σύνολο (n=106)	Άνδρες (n=48)	Γυναίκες (n=58)	P
<u>Φυσική δραστηριότητα</u>				
Καθιστική ζωή (n)	51	28	23	0,055
Ελαφριά φυσική δραστηριότητα (n)	42	23	19	0,155
Έντονη φυσική δραστηριότητα (n)	9	5	4	0,556
MET λεπτά/ εβδομάδα	972± 981	1046±1043	926± 127	0,506
Καθιστικές δραστηριότητες (ώρες/εβδομάδα)	6,6±3,8	7,1±3,4	6,2±3,0	0,235

Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση. Η σύγκριση των μετρούμενων παραμέτρων ανδρών γυναικών έγινε με T-test.

Η τιμή των τριγλυκεριδίων είναι λογαριθμοποιημένη ώστε να ακολουθεί την κανονική κατανομή.

➡ Στον πίνακα 6.2 αναγράφεται η ψυχολογική κατάσταση (σκορ κατάθλιψης και άγχους) του πληθυσμού της μελέτης. Περίπου το 30% του πληθυσμού παρουσιάζει μέτρια κατάθλιψη (σκορ κατάθλιψης : 50 – 70) χωρίς να υπάρχουν διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών. Όσον αφορά το άγχος, οι γυναίκες εμφανίζουν μεγαλύτερα σκορ σε σχέση με τους άνδρες.

Πίνακας 6.2 : Ψυχολογική κατάσταση του πληθυσμού της μελέτης (19)

Παράμετροι που αξιολογήθηκαν	Σύνολο (n=106)	Άνδρες (n=48)	Γυναίκες (n=58)	P
<u>Ψυχολογική κατάσταση</u>				
Σκορ κατάθλιψης (25-100)	45,2±8,9	43,6±8,7	43,6±8,6	0,103
20-50 (απουσία κατάθλιψης) (n)	73	36	37	0,271
50-70 (μέτρια κατάθλιψη) (n)	30	11	19	0,242
>70 (σοβαρή κατάθλιψη) (n)	0	0	0	-
Σκορ άγχους (σύνολο) (40-160)	76,1±21,1	71,4±19,3	81,0±21,7	0,026
Σκορ άγχους στο παρελθόν (20-80)	38,1±10,2	35,6±8,6	40,3±11,2	0,025
Σκορ άγχους αυτό το διάστημα (20-80)	40,3±12,1	37,7±12,0	42,6±11,7	0,051

Διαιτητική πρόσληψη του πληθυσμού

Όσον αφορά την διαιτητική πρόσληψη του πληθυσμού της μελέτης σε επίπεδο μακροθρεπτικών συστατικών φαίνεται στον πίνακα 6.3. Κατά μέσο όρο οι εθελοντές φαίνεται να προσλαμβάνουν 2000 Kcal ημερησίως οι οποίες προέρχονται κατά κύριο λόγο από λιπαρά και

υδατάνθρακες. Η μόνη διαφορά που παρατηρείται μεταξύ ανδρών και γυναικών αφορά την κατανάλωση πολυακόρεστων λιπαρών με τις γυναίκες να προσλαμβάνουν ποσοστιαία μεγαλύτερες ποσότητες.

Πίνακας 6.3 : Πρόσληψη ενέργειας και μακροθρεπτικών συστατικών (19)

	Σύνολο	Άνδρες	Γυναίκες	P
Ενέργεια (Kcal/ημέρα)	2.073±643	2.139±739	2.018±548	0,241
Ενεργειακή πρόσληψη/BMP	1,75±0,53	1,86±0,62	1,66±0,42	0,074
Υποκαταγραφή (n)	6	2	4	
Υπερκαταγραφή (n)	7	5	2	
Πρόσληψη υδατανθράκων (% ενέργειας)	38,58±12,79	39,03± 14,67	38,17± 10,61	0,776
Πρόσληψη πρωτεΐνης (% ενέργειας)	15,20±4,47	15,40± 4,92	15,03± 3,95	0,632
Πρόσληψη λίπους (% ενέργειας)	46,22±13,76	45,56± 14,95	46,81± 12,62	0,310
Πρόσληψη μονοακόρεστων λιπαρών (% ενέργειας)	25,73±7,25	25,23± 7,09	26,17± 7,46	0,420
Πρόσληψη πολυακόρεστων λιπαρών (% ενέργειας)	4,12±1,39	3,95± 1,42	4,27± 1,38	0,026
Πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών (% ενέργειας)	15,79±4,49	15,51± 4,78	16,05± 4,25	0,314

↪ Η αντιοξειδωτική ικανότητα της δίαιτας παρουσιάζεται στον πίνακα 6.4. Η τιμή των FRAP, TRAP και TEAC σε mmol / ημέρα (δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας) δεν διαφέρει μεταξύ ανδρών και γυναικών.

Πίνακας 6.4 : Αντιοξειδωτική ικανότητα της δίαιτας (19)

Παράμετρος	Σύνολο	Άνδρες	Γυναίκες	P
FRAP (mmol/ημέρα)	22,2±8,7	22,5± 10,4	21,9± 7,0	0,734
TRAP (mmol/ημέρα)	8,4±3,4	8,5±4,1	8,3±2,8	0,782
TEAC (mmol/ημέρα)†	8,4±3,4	8,6± 4,2	8,3±2,6	0,688

† Λογαριθμοποίηση πριν την διεξαγωγή του T-test ώστε οι τιμές να ακολουθούν την κανονική κατανομή.

➡ Ο γλυκαιμικός δείκτης και το γλυκαιμικό φορτίο της δίαιτας αναφέρονται στον πίνακα

6.5. Διαφορά μεταξύ ανδρών και γυναικών εμφανίζεται μόνο στον γλυκαιμικό δείκτη με τους άνδρες να παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές.

Πίνακας 6.5 : Γλυκαιμικός δείκτης και γλυκαιμικό φορτίο της δίαιτας (19)

Παράμετρος	Σύνολο	Άνδρες	Γυναίκες	P
Γλυκαιμικός δείκτης	51,79 ±4,14	52,7 ±3,8	50,9± 4,3	0,030
Γλυκαιμικό φορτίο	106,3 ± 37,7	110,7± 42,1	102,5± 33,6	0,289
Γλυκαιμικό φορτίο/1000 Kcal	44,1± 9,1	44,5 ±8,9	43,6± 9,3	0,633

➡ Στον συγκεκριμένο πληθυσμό έχουν πραγματοποιηθεί και μία σειρά επιπλέον μετρήσεων, όπως τα αιματολογικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού, δείκτες φλεγμονής και οξείδωσης, ανθρωπομετρικά δεδομένα, κοινωνικά χαρακτηριστικά, διατροφική πρόσληψη σε επίπεδο ομάδων τροφίμων, κατανάλωση γευμάτων και συμμόρφωση με τη μεσογειακή δίαιτα (Med Diet Score). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα διατροφικά πρότυπα που προέκυψαν μέσω της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες. Πρόκειται για την δημιουργία 9 προτύπων που ερμηνεύουν το 82% της διαιτητικής πρόσληψης και έχουν ως εξής :

ΔΠ1 : Όσπρια, ξηροί καρποί, φυτικά ροφήματα

ΔΠ2 : Όσπρια, λαχανικά, κόκκινο κρέας, πουλερικά και ψάρια

ΔΠ3 : Φρούτα και λαχανικά

ΔΠ4 : Ημίπαχα γαλακτοκομικά και χαμηλή κατανάλωση πλήρων γαλακτοκομικών και τυριών

ΔΠ5 : Αλκοόλ και κόκκινο κρέας

ΔΠ6 : Επεξεργασμένα αμυλούχα

ΔΠ7 : Καφές

ΔΠ8 : Δημητριακά ολικής άλεσης

ΔΠ9 : Ελαιόλαδο

Οι μετρήσεις αυτές έχουν πραγματοποιηθεί και αναφέρονται λεπτομερώς στην Διδακτορική Διατριβή της κ. Ντετοπούλου Παρασκευής (19).

PAF και ένζυμα του μεταβολισμού του

Η διαφοροποίηση του PAF και της δραστηριότητας των ενζύμων μεταβολισμού του με το φύλο αναφέρεται στον πίνακα 6.6. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα total και bound- PAF διαφέρουν μεταξύ ανδρών και γυναικών με τις γυναίκες να εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα, ενώ τα επίπεδα του free- PAF δεν διαφοροποιούνται με το φύλο. Σημειώνεται ότι οι λόγοι free / total PAF, bound / total PAF καθώς και free / bound PAF δε διαφοροποιήθηκαν μεταξύ ανδρών και γυναικών. Η δραστηριότητα των περισσότερων ενζύμων μεταβολισμού του PAF (πλην της PAF – CPT) διαφοροποιείται μεταξύ ανδρών και γυναικών, με τους άνδρες να εμφανίζουν υψηλότερες δραστηριότητες στην λύσο – PAF – AT, την Lp – PLA₂ και την PAF – AH ($p < 0,05$).

Πίνακας 6.6 : Επίπεδα PAF και δραστηριότητας ενζύμων του στον πληθυσμό της μελέτης (19)

Παράμετροι που αξιολογήθηκαν	Άνδρες (n=48)	Γυναίκες (n=58)	P	Ισχύς (%)
free- PAF (pmol/mL)†	0,05± 0,10	0,14± 0,30	0,215	22,3
bound- PAF (pmol/mL)†	0,19± 0,35	0,55± 1,04	0,033	56,7
total- PAF (pmol/mL)†	0,25± 0,38	0,68± 1,05	0,010	73,9
free/ total PAF	0,43± 0,32	0,39± 0,34	0,535	9,4
bound/total PAF	0,56± 0,33	0,60± 0,34	0,535	9,4
free/ bound PAF †	10,7± 33,2	6,6± 19,7	0,213	22,7
Λύσο-PAF-AT (pmol/min/mg)	9.395± 6.287	7.208 ± 4.465	0,048	54,0
PAF-CPT (pmol/min/mg)	141± 100	118± 67	0,181	28,4
Lp-PLA ₂ (nmol/min/mL)	24,7± 4,4	19,6 ± 4,9	<0,001	>99
PAF-AH (pmol/min/mg)	386± 127	292± 91	<0,001	99

Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση. Η σύγκριση των μετρούμενων παραμέτρων ανδρών γυναικών έγινε με T-test.

† Λογαριθμοποίηση πριν την διεξαγωγή του T-test ώστε οι τιμές να ακολουθούν την κανονική κατανομή.

Μεταβολικά πρότυπα

Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν επίσης και τρία πρότυπα μεταβολισμού του PAF που ερμηνεύουν το 85,5% της διακύμανσης των τιμών του PAF. Τα πρότυπα αυτά προέκυψαν με την τεχνική της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιήθηκε και

αναφέρεται λεπτομερώς στην Διδακτορική Διατριβή της κ. Ντετοπούλου Παρασκευής (19). Από την ανάλυση και την αξιολόγηση των συντελεστών συσχέτισης των αρχικών μεταβλητών (δραστικότητα ενζύμων μεταβολισμού του PAF) προέκυψαν τρεις καινούριες μεταβλητές που είναι μη συσχετιζόμενες μεταξύ τους και αποτελούν μία περίληψη των αρχικών (πίνακας 6.7):

- 1) Αυξημένη PAF – AH και PAF – CPT
- 2) Αυξημένη lyso – PAF AT και PAF – CPT (αυξημένη βιοσύνθεση PAF)
- 3) Αυξημένη Lp – PLA₂

Πίνακας 6.7 : Μεταβολικά πρότυπα PAF όπως έχουν προκύψει από ανάλυση κύριων συνιστωσών (19)

	Συνιστώσες		
	1	2	3
Lp-PLA ₂ (nmol/min/mL)	0,112	0,002	0,947
PAF-AH (pmol/min/mg)	0,880	-0,056	0,261
lyso-PAF- AT (pmol/min/mg)	0,021	0,960	0,029
PAF-CPT (pmol/min/mg)	0,628	0,481	-0,343

Με έντονη γραφή παρουσιάζονται οι συντελεστές συσχέτισης ($> 0,45$).

Μοντέλα εκτίμησης του PAF, των ενζύμων και των μεταβολικών προτύπων του

Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν και μοντέλα εκτίμησης του PAF, των ενζύμων και των μεταβολικών προτύπων του. Ο τρόπος δημιουργίας τους αναφέρεται λεπτομερώς στην Διδακτορική Διατριβή της κ. Ντετοπούλου Παρασκευής (19).

6.2 Επίπεδα ορμονών στον πληθυσμό της μελέτης

6.2.1 Επίπεδα ορμονών στο σύνολο του πληθυσμού

Στη μελέτη αυτή προσδιορίστηκαν ποσοτικά τρεις διαφορετικές ορμόνες : η ινσουλίνη, η αδιπονεκτίνη και η κορτιζόλη (κεφάλαιο 5^ο). Στον πίνακα 6.8 παρουσιάζονται τα κυριότερα

περιγραφικά χαρακτηριστικά των τριών αυτών μεταβλητών σε σχέση με το σύνολο του πληθυσμού της μελέτης. Παράλληλα, από τις τιμές της γλυκόζης και της ινσουλίνης υπολογίστηκε ο δείκτης ινσουλινοαντίστασης, HOMA IR, από τον τύπο:

$$\text{HOMA IR} = (\text{GLU mmol / L} \times \text{INS } \mu\text{IU / ml}) / 22,5$$

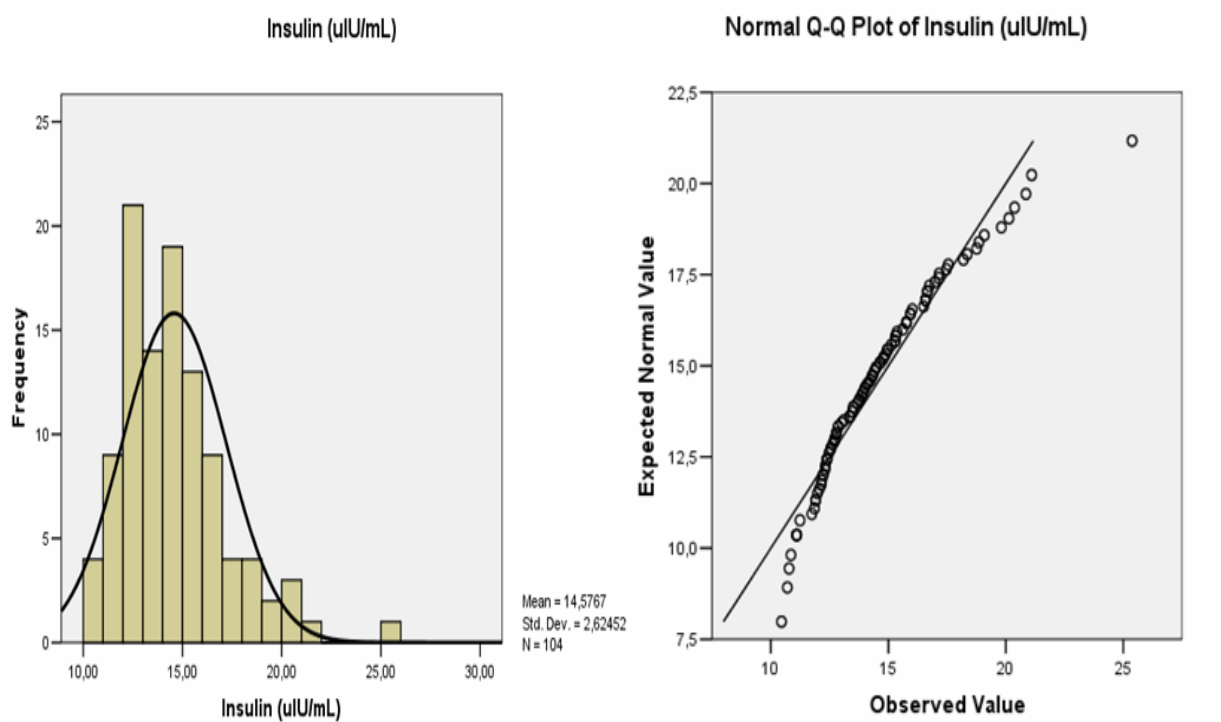
Πίνακας 6.8 : Περιγραφική στατιστική των ορμονών στον πληθυσμό

	ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ ($\mu\text{IU / ml}$)	HOMA IR	ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ (ng / ml)	ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ($\mu\text{g / ml}$)
ΣΥΝΟΛΟ	107	107	107	107
ΕΚΤΙΜΩΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ	104	103	104	104
ΕΛΛΕΙΠΟΥΣΕΣ ΤΙΜΕΣ	3	4	3	3
ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ	14,5767	3,3554	55,5220	4,9182
ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	2,62452	0,81465	39,04085	2,56441
ΔΙΑΜΕΣΟΣ	14,2016	3,1612	43,8299	4,4950
ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ	14,92	4,28	216,00	14,75
ΜΙΚΡΟΤΕΡΗ ΤΙΜΗ	10,45	1,99	10,37	1,21
ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΗ ΤΙΜΗ	25,37	6,26	226,37	15,96

Ιστογράμματα συχνοτήτων και έλεγχος κανονικότητας

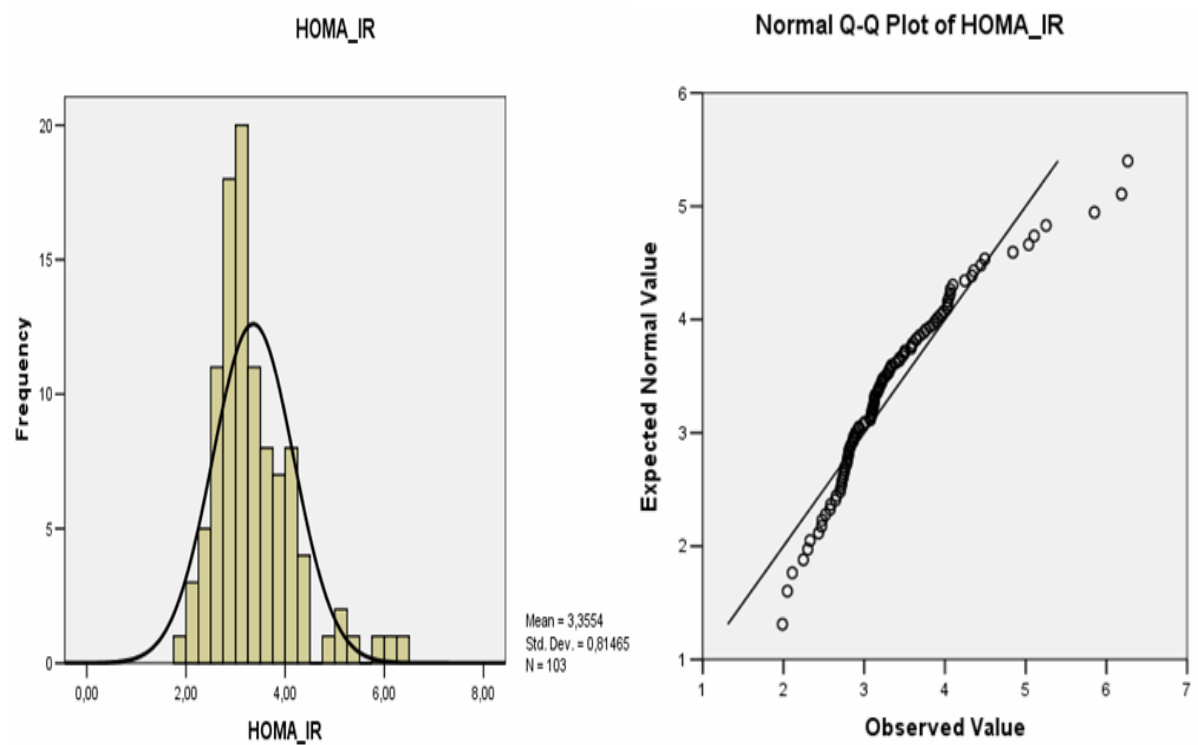
Για να αποδειχθεί εάν οι παραπάνω μεταβλητές ακολουθούν την κανονική κατανομή πραγματοποιήθηκε έλεγχος με το στατιστικό κριτήριο Kolmogorov – Smirnov και με γραφήματα (ιστογράμματα και Normal Q – Q plot γράφημα). Συγκεκριμένα, η στατιστική σημαντικότητα του παραπάνω κριτηρίου για κάθε μεταβλητή έχει ως εξής: p 0,440 για την ινσουλίνη, p 0,061 για το HOMA IR, p 0,001 για την κορτιζόλη και p 0,248 για την αδιπονεκτίνη. Επομένως μόνο η κορτιζόλη δεν ακολουθεί κανονική κατανομή και για τον λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε λογαριθμοποίηση για να μετασχηματιστούν οι τιμές της παραμέτρου αυτής ώστε να ακολουθούν την κανονική κατανομή.

ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ



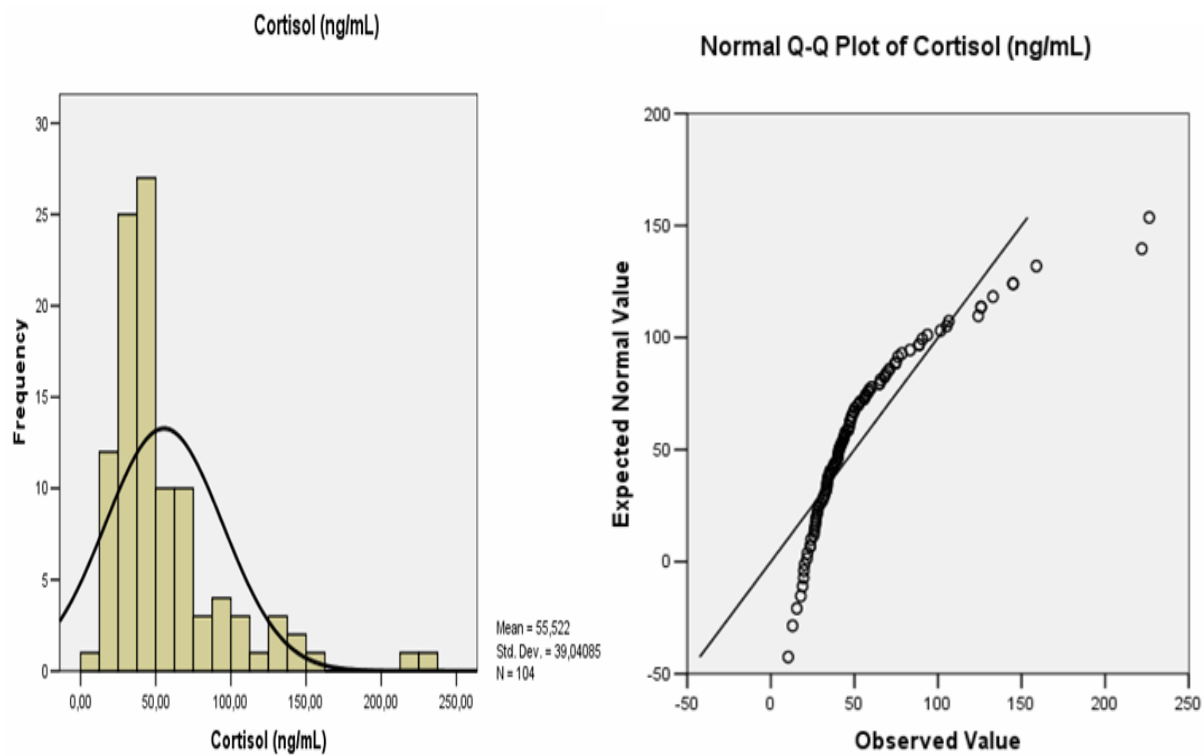
Εικόνα 6.1 : Ιστογράμμο συχνοτήτων και έλεγχος κανονικότητας για την κατανομή της ινσουλίνης.

HOMA IR



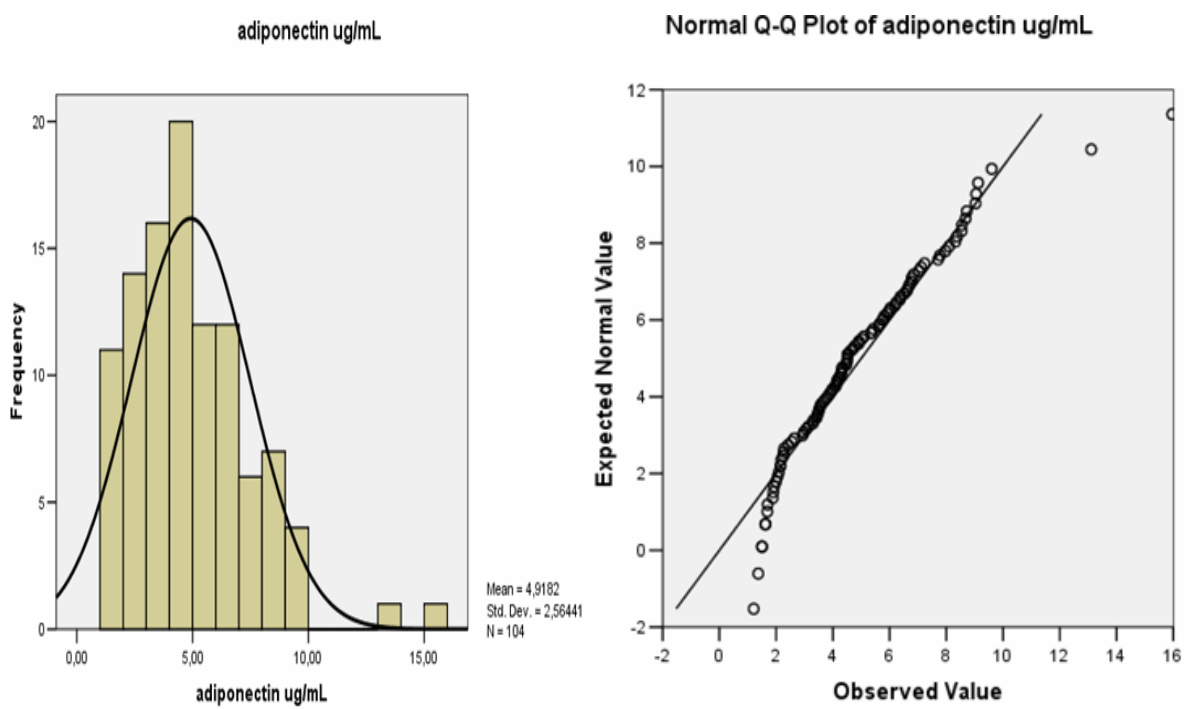
Εικόνα 6.2 : Ιστογράμμο συχνοτήτων και έλεγχος κανονικότητας για την κατανομή του HOMA IR.

ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ



Εικόνα 6.3 : Ιστόγραμμα συχνοτήτων και έλεγχος κανονικότητας για την κατανομή της κορτιζόλης.

ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ



Εικόνα 6.4 : Ιστόγραμμα συχνοτήτων και έλεγχος κανονικότητας για την κατανομή της αδιπονεκτίνης.

6.2.2 Επίπεδα ορμονών ανάλογα με το φύλο

Τα επίπεδα των ορμονών ανάλογα με το φύλο και τα αντίστοιχα περιγραφικά χαρακτηριστικά φαίνονται στον πίνακα 6.9. Για την ανάδειξη διαφορών μεταξύ ανδρών και γυναικών πραγματοποιήθηκε έλεγχος με το στατιστικό κριτήριο T-test. Για την κορτιζόλη που δεν ακολουθεί την κανονική κατανομή πραγματοποιήθηκε το στατιστικό κριτήριο Mann – Whitney test, το οποίο είναι κατάλληλο σε αυτή την περίπτωση.

Πίνακας 6.9 : Περιγραφική στατιστική των ορμονών στον πληθυσμό ανάλογα με το φύλο

	ΣΥΝΟΛΟ	ΑΝΔΡΕΣ	ΓΥΝΑΙΚΕΣ	P Lene ne's test	P t-test
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ ($\mu\text{U} / \text{ml}$)	14,57 $\pm$ 2,62	14,83 $\pm$ 2,82	14,41 $\pm$ 2,45	0,710	0,430
HOMA IR	3,35 $\pm$ 0,81	3,47 $\pm$ 0,81	3,26 $\pm$ 0,80	0,595	0,200
ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	4,91 $\pm$ 2,56	3,74 $\pm$ 1,79	5,88 $\pm$ 2,70	0,041	0,000
				P Mann – Whitney test	
ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ (ng / ml)	55,52 $\pm$ 39,04	61,01 $\pm$ 40,02	51,87 $\pm$ 38,18	0,069	

Φαίνεται λοιπόν ότι από τις ορμόνες που μελετήθηκαν μόνο η αδιπονεκτίνη παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ανδρών και γυναικών, ενώ η κορτιζόλη εμφανίζει τάση αύξησης στο ανδρικό φύλο.

6.3 Συσχέτιση του PAF και των ενζύμων του μεταβολισμού του με τις ορμόνες

Για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης μεταξύ των δύο ποσοτικών μεταβλητών (ορμόνη και PAF ή ένζυμο) χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση μερικών συσχετίσεων, ξεχωριστά για τα δύο φύλα, χρησιμοποιώντας ως συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία και το BMI. Επιπλέον, η ίδια τεχνική χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης μεταξύ των ορμονών με τα μεταβολικά πρότυπα του PAF. Για την ανάλυση των παραγόντων που καθορίζουν τα επίπεδα του PAF και

των ενζύμων του έγινε πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν πολυπαραγοντικά μοντέλα εκτίμησης τόσο των επιπέδων του PAF και των ενζύμων του, όσο και των μεταβολικών προτύπων του που προέκυψαν από προηγούμενη μελέτη του εργαστηρίου μας (19). Για την κορτιζόλη πραγματοποιήθηκε ένας επιπλέον έλεγχος με τα διάφορα διαθέσιμα σκορ άγχους.

6.3.1 ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ PAF / ΕΝΖΥΜΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΜΕ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ ΚΑΙ HOMA IR

I. Ανάλυση μερικών συσχετίσεων

A) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της ινσουλίνης και του HOMA IR με τις μεταβλητές free-PAF, bound-PAF, total-PAF, Lp PLA₂, PAF-AH των λευκοκυττάρων, PAF-CPT και PAF-AT, ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία και το BMI. Χρησιμοποιήθηκαν οι αντίστοιχοι λογάριθμοι όσων μεταβλητών δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή (free-PAF, bound-PAF, total-PAF). Από τον συγκεκριμένο έλεγχο προέκυψε θετική συσχέτιση του HOMA IR με την PAF-CPT με p 0,012 μόνο στο γυναικείο φύλο.

Πίνακας 6.10 : Συσχέτιση του HOMA IR με την PAF-CPT στο γυναικείο φύλο

		ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ (μ U / ml)	HOMA IR	CPT (μ mol / min/ mg)
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ (μ U / ml)	r	1,000	0,779	0,069
	p	-	0,000	0,619
HOMA IR	r	0,779	1,000	0,338
	p	0,000	-	0,012
CPT (μ mol / min/ mg)	r	0,069	0,338	1,000
	p	0,619	0,012	-

B) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της ινσουλίνης και του HOMA IR με τα τρία μεταβολικά πρότυπα του PAF για το σύνολο του πληθυσμού αλλά και ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία και το BMI. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο δεν προέκυψε κάποια σημαντική συσχέτιση.

II. Μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση των πιθανών παραγόντων που καθορίζουν τα επίπεδα της PAF-CPT με την χρήση των μοντέλων πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Χρησιμοποιήθηκαν διάφορες ανεξάρτητες μεταβλητές που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την συσχέτιση του HOMA IR με την PAF-CPT, όπως για παράδειγμα δείκτες φλεγμονής (CRP), ηλικία, BMI, περιφέρεια μέσης, δείκτες οξειδωτικού stress (ox LDL, TBARS) κ.α. Η συσχέτιση παρέμεινε σε κάθε περίπτωση στατιστικά σημαντική.

Από προηγούμενη μελέτη του ίδιου εργαστηρίου που ανέδειξε διάφορα πολυπαραγοντικά μοντέλα εκτίμησης των επιπέδων του PAF και των ενζύμων του, όσον αφορά τις γυναίκες δεν βρέθηκε κάποιο μοντέλο εκτίμησης της δραστηριότητας της PAF-CPT, μετά από έλεγχο όλων των πιθανών ερμηνευτικών μεταβλητών (19), το οποίο θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ώστε να εκτιμηθεί σε πιο ποσοστό οι μεταβλητές της ινσουλίνης και του HOMA IR ερμηνεύουν μεταβολές της δραστηριότητας του ενζύμου.

6.3.2 ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ PAF / ENZYMΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΜΕ ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ

I. Ανάλυση μερικών συσχετίσεων

A) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της κορτιζόλης με τις μεταβλητές free-PAF, bound-PAF, total-PAF, Lp PLA₂, PAF-AH των λευκοκυττάρων, PAF-CPT και PAF-AT, ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία και το BMI. Χρησιμοποιήθηκαν οι αντίστοιχοι λογάριθμοι όσων μεταβλητών δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή (κορτιζόλη, free-PAF, bound-PAF, total-PAF). Από τον συγκεκριμένο έλεγχο δεν προέκυψε σημαντική συσχέτιση της κορτιζόλης με κάποια από τις υπόλοιπες μεταβλητές.

B) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της κορτιζόλης με τα τρία μεταβολικά πρότυπα του PAF για το σύνολο του πληθυσμού αλλά και ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία και το BMI. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο φάνηκε μία τάση αρνητικής συσχέτισης της κορτιζόλης με το μεταβολικό πρότυπο της αυξημένης βιοσύνθεσης (αυξημένη λύσο – PAF – AT και PAF– CPT) μόνο στο γυναικείο φύλο (στους άνδρες και στο σύνολο του πληθυσμού δεν φάνηκαν παρόμοια αποτελέσματα).

Πίνακας 6.11 : Συσχέτιση της κορτιζόλης με το μεταβολικό πρότυπο της αυξημένης βιοσύνθεσης

		ΑΥΞΗΜΕΝΗ CPT PAF AH (MΠ1)	ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ (MΠ2)	ΑΥΞΗΜΕΝΗ Lp PLA2 (MΠ3)	ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ (log)
ΑΥΞΗΜΕΝΗ CPT PAF AH (MΠ1)	r	1,000	- 0,056	0,030	0,062
	p	-	0,706	0,842	0,674
ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ (MΠ2)	r	- 0,056	1,000	0,031	- 0,272
	p	0,706	-	0,837	0,061
ΑΥΞΗΜΕΝΗ Lp PLA2 (MΠ3)	r	0,030	0,031	1,000	- 0,262
	p	0,842	0,837	-	0,072
ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ (log)	r	0,062	- 0,272	- 0,262	1,000
	p	0,674	0,061	0,072	-

II. Μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης

Με την χρήση της ανάλυσης μερικών συσχετίσεων φάνηκε μία τάση αρνητικής συσχέτισης της κορτιζόλης με το μεταβολικό πρότυπο της αυξημένης βιοσύνθεσης (αυξημένη λύσο – PAF – AT και PAF– CPT) μόνο στο γυναικείο φύλο. Το πολυπαραγοντικό μοντέλο εκτίμησης του συγκεκριμένου μεταβολικού προτύπου για το γυναικείο φύλο από προηγούμενη μελέτη του ίδιου εργαστηρίου (19) μπορεί να εκτιμηθεί κατά 20,1% από τις μεταβλητές 1/CRP² και σκορ άγχους. Μικρές παραλλαγές του μοντέλου αυτού εφαρμόστηκαν με σκοπό να διερευνηθεί αν με την προσθήκη της κορτιζόλης (λόγω της συσχέτισης που βρέθηκε) ή αντικατάσταση του άγχους με την κορτιζόλη, ερμηνεύουν καλύτερα το μοντέλο. Φάνηκε λοιπόν ότι με την προσθήκη της κορτιζόλης η ερμηνευτικότητα του μοντέλου αγγίζει το 28% (παρόλο που “χαλάει” η σχέση με το άγχος). Στη δεύτερη περίπτωση και οι δύο παράγοντες που παραμένουν είναι στατιστικά σημαντικοί και το μοντέλο που προκύπτει μπορεί να εκτιμηθεί κατά 19,5%.

Πίνακας 6.12: Πολυπαραγοντικό μοντέλο εκτίμησης του MΠ2 αυξημένης βιοσύνθεσης (γυναίκες)

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P	R ²
	B	SE	B		
1 / CRP ²	0,086	0,029	0,406	0,006	0,28
ΑΓΧΟΣ (score για το παρών διάστημα)	0,016	0,010	0,230	0,109	
ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ (log)	- 0,006	0,003	- 0,287	0,047	

III. Επίπεδα κορτιζόλης και άγχος

Στην Διδακτορική Διατριβή της κ. Ντετοπούλου Παρασκευής (19) που πραγματοποιήθηκε από το ίδιο εργαστήριο παρατηρήθηκε θετική σχέση του άγχους με τον PAF και ορισμένα ένζυμα μεταβολισμού του, γεγονός που υποδηλώνει μία άμεση σχέση του ενδοκρινικού συστήματος και του μεταβολισμού του PAF. Πιο συγκεκριμένα, στους άνδρες σημαντικές θετικές συσχετίσεις παρατηρήθηκαν μεταξύ του free-PAF και του άγχους, ενώ στις γυναίκες παρατηρήθηκαν θετικές συσχετίσεις μεταξύ των ισομορφών του αποικοδομητικού ενζύμου του PAF και παραμέτρους άγχους και διάθεσης. Επίσης, στις γυναίκες, η λύσο- PAF AT συσχετίστηκε θετικά με δείκτες άγχους. Με σκοπό να διερευνηθεί αν η κορτιζόλη αποτελεί καλό δείκτη της ψυχολογικής κατάστασης του πληθυσμού και ιδιαίτερα του άγχους, πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της κορτιζόλης και των μεταβλητών που αντιπροσωπεύουν την ψυχολογική κατάσταση του πληθυσμού και συγκεκριμένα τα σκορ άγχους (“συνολικό”, “παρελθόν” και “αυτό το διάστημα”). Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία, το BMI και το φύλο (μόνο όταν ο έλεγχος έγινε για το σύνολο του πληθυσμού). Από τον έλεγχο αυτό δεν προέκυψε κάποια συσχέτιση μεταξύ των προαναφερόμενων μεταβλητών.

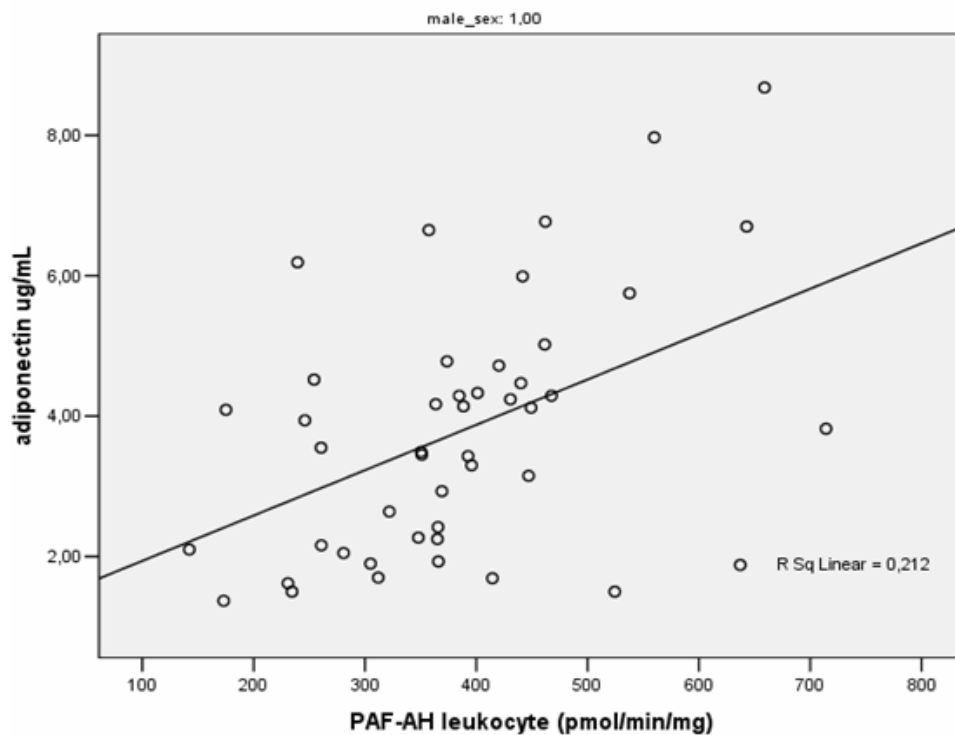
6.3.3 ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ PAF / ΕΝΖΥΜΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΜΕ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ

I. Ανάλυση μερικών συσχετίσεων

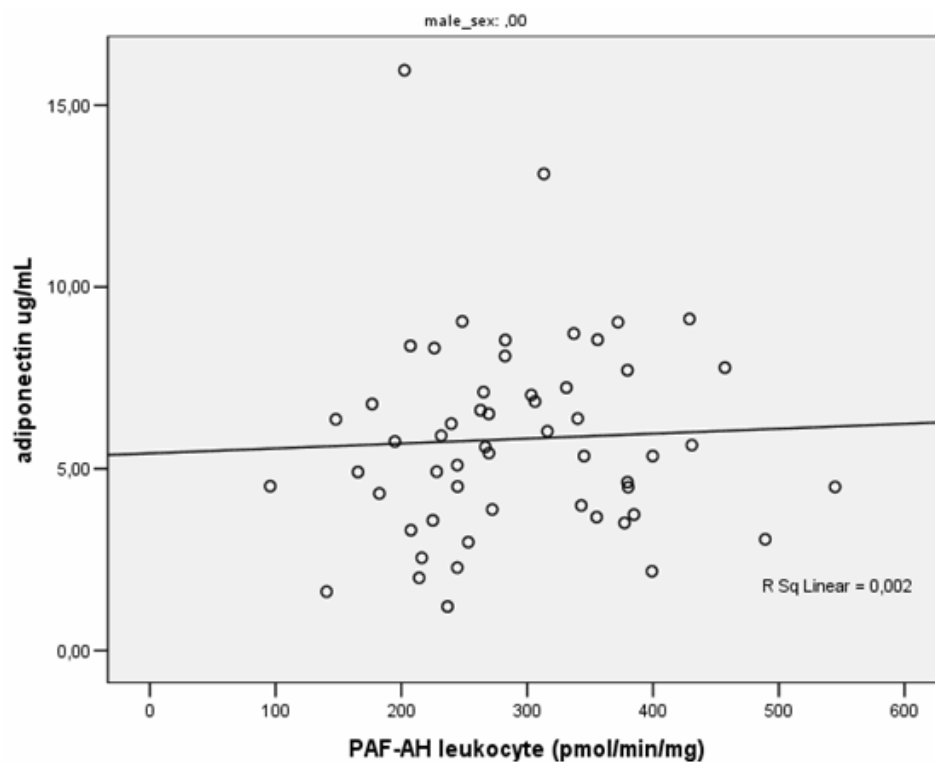
A) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της αδιπονεκτίνης με τις μεταβλητές του μεταβολισμού του PAF με τον τρόπο που προαναφέρθηκε και στις υπόλοιπες ορμόνες. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο προέκυψε ισχυρή θετική συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με την PAF-AH των λευκοκυττάρων μόνο για το ανδρικό φύλο. Η συσχέτιση αυτή, όπως και η διαφορά ανδρών γυναικών, είναι εμφανής και στα γραφήματα που ακολουθούν (scatter graphs).

Πίνακας 6.13: Συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με την PAF-AH των λευκοκυττάρων στο ανδρικό φύλο

		ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	PAF-AH λευκοκυττάρων ($\text{p mol} / \text{min} / \text{mg}$)
ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	r	1,000	0,503
	p	-	0,001
PAF-AH λευκοκυττάρων ($\text{p mol} / \text{min} / \text{mg}$)	r	0,503	1,000
	p	0,001	-



Εικόνα 6.5 : Γράφημα για τη συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με την PAF-AH των λευκοκυττάρων στο ανδρικό φύλο.



Εικόνα 6.6 : Γράφημα για τη συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με την PAF-AH των λευκοκυττάρων στο γυναικείο φύλο.

Β) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της κορτιζόλης με τα τρία μεταβολικά πρότυπα του PAF για το σύνολο του πληθυσμού αλλά και ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία και το BMI. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο προέκυψε μία ισχυρή θετική συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με το μεταβολικό πρότυπο αυξημένη PAF-CPT και PAF-AH στο ανδρικό φύλο η οποία παραμένει και στο σύνολο του πληθυσμού.

Πίνακας 6.14: Έλεγχος συσχετίσεων της αδιπονεκτίνης με τα ΜΠ του PAF στο ανδρικό φύλο

		ΑΥΞΗΜΕΝΗ CPT_PAF_AH (ΜΠ1)	ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ (ΜΠ2)	ΑΥΞΗΜΕΝΗ Lp PLA2 (ΜΠ3)	ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)
ΑΥΞΗΜΕΝΗ CPT_PAF_AH (ΜΠ1)	r p	1,000 -	- 0,066 0,679	- 0,420 0,006	0,484 0,001
ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ (ΜΠ2)	r p	- 0,066 0,679	1,000 -	- 0,130 0,411	- 0,224 0,153
ΑΥΞΗΜΕΝΗ Lp PLA2 (ΜΠ3)	r p	- 0,420 0,006	- 0,130 0,411	1,000 -	- 0,257 0,101
ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	r p	0,484 0,001	- 0,224 0,153	- 0,257 0,101	1,000 -

Πίνακας 6.15: Έλεγχος συσχετίσεων της αδιπονεκτίνης με τα ΜΠ του PAF στο σύνολο του πληθυσμού

		ΑΥΞΗΜΕΝΗ CPT_PAF_AH (ΜΠ1)	ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ (ΜΠ2)	ΑΥΞΗΜΕΝΗ Lp PLA2 (ΜΠ3)	ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)
ΑΥΞΗΜΕΝΗ CPT_PAF_AH (ΜΠ1)	r p	1,000 -	- 0,046 0,670	- 0,218 0,039	0,338 0,001
ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ (ΜΠ2)	r p	- 0,046 0,670	1,000 -	- 0,073 0,492	- 0,052 0,626
ΑΥΞΗΜΕΝΗ Lp PLA2 (ΜΠ3)	r p	- 0,218 0,039	- 0,073 0,492	1,000 -	- 0,062 0,559
ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	r p	0,338 0,001	- 0,052 0,626	- 0,062 0,559	1,000 -

II. Μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης

A) Με την χρήση της ανάλυσης μερικών συσχετίσεων προέκυψε μία ισχυρή συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με την PAF-AH των λευκοκυττάρων μόνο για το ανδρικό φύλο. Το πολυπαραγοντικό μοντέλο εκτίμησης της δραστηριότητας της PAF-AH για το ανδρικό φύλο από προηγούμενη μελέτη του ίδιου εργαστηρίου (19) ερμηνεύει την διακύμανση των επιπέδων του ενζύμου κατά 13,2% από τις εξής μεταβλητές: κοιλιακό λίπος και PAF-CPT. Μικρές παραλλαγές του μοντέλου αυτού εφαρμόστηκαν με σκοπό να διερευνηθεί αν με την προσθήκη της αδιπονεκτίνης (λόγω της συσχέτισης που βρέθηκε) ή άλλων μικρών αλλαγών ερμηνεύεται καλύτερα το μοντέλο. Φάνηκε λοιπόν ότι με την αδιπονεκτίνη η ερμηνευτικότητα του μοντέλου αγγίζει το 26,7%.

Πίνακας 6.16: Πολυπαραγοντικό μοντέλο εκτίμησης της δραστηριότητας της PAF-AH στους άνδρες

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P	R ²
	B	SE	B		
ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	30,778	9,250	0,432	0,002	0,267
CPT ($\text{pmol} / \text{min} / \text{mg}$)	0,248	0,165	0,195	0,141	
ΚΟΙΛΙΑΚΟ ΛΙΠΟΣ (kg)	37,322	17,729	0,269	0,041	

Με την προσθήκη της αδιπονεκτίνης το μοντέλο παραμένει με καλύτερη ερμηνευτικότητα και όταν προστεθεί η ηλικία (25,5%) ή όταν προστεθεί η ηλικία και το BMI αντί για το κοιλιακό λίπος (29%).

B) Με την χρήση της ανάλυσης μερικών συσχετίσεων προέκυψε μία ισχυρή συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με το μεταβολικό πρότυπο αυξημένη PAF-CPT και PAF-AH στο ανδρικό φύλο. Το πολυπαραγοντικό μοντέλο εκτίμησης του συγκεκριμένου μεταβολικού προτύπου για το ανδρικό φύλο από προηγούμενη μελέτη του ίδιου εργαστηρίου (19) μπορεί να εκτιμηθεί κατά 36,5% από τις εξής μεταβλητές: $1 / \text{CRP}^2$, free-PAF, ενεργειακή πρόσληψη / BMP και τον γλυκαιμικό δείκτη. Μικρές παραλλαγές του μοντέλου αυτού εφαρμόστηκαν με σκοπό να διερευνηθεί αν με την προσθήκη της αδιπονεκτίνης (λόγω της συσχέτισης που βρέθηκε) ερμηνεύεται καλύτερα το μοντέλο. Φάνηκε λοιπόν ότι με την αδιπονεκτίνη η ερμηνευτικότητα του μοντέλου αγγίζει το 56,1%.

Πίνακας 6.17: Πολυπαραγοντικό μοντέλο εκτίμησης του ΜΠΙ (αυξημένη PAF-CPT και PAF-AH) στο ανδρικό φύλο

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P	R ²
	B	SE	B		
ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ / BMP	- 0,419	0,220	- 0,230	0,066	0,561
ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ	- 0,077	0,042	- 0,239	0,075	
I / CRP ²	- 0,108	0,038	- 0,340	0,007	
Free PAF (log) (pmol / ml)	0,678	0,256	0,339	0,012	
ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ (μg / ml)	0,308	0,083	0,479	0,001	

6.4 Επίδραση διατροφικών συνηθειών του πληθυσμού στα επίπεδα των ορμονών

Για την διερεύνηση της επίδρασης των διατροφικών συνηθειών του πληθυσμού της μελέτης στα επίπεδα των ορμονών πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Οι διατροφικές συνήθειες εξετάστηκαν στα εξής επίπεδα:

- 1) Βασική διατροφική πρόσληψη μακροθρεπτικών συστατικών (% της ολικής ενέργειας)
- 2) Ομάδες τροφίμων
- 3) Δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας της δίαιτας, γλυκαιμικός δείκτης και γλυκαιμικό φορτίο
- 4) Διατροφικά πρότυπα
- 5) Συμμόρφωση με την μεσογειακή διατροφή (Med Diet Score)

Επιπλέον, για την ανάλυση των διατροφικών παραγόντων που καθορίζουν τα επίπεδα των ορμονών έγινε πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση.

Επισημαίνεται ξανά ότι χρησιμοποιήθηκαν οι αντίστοιχοι λογάριθμοι όσων μεταβλητών δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή.

6.4.1 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΣΥΝΗΘΕΙΩΝ ΜΕ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ ΚΑΙ HOMA IR

I. Ανάλυση μερικών συσχετίσεων

A) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης των μεταβλητών της ινσουλίνης και του HOMA IR με τις μεταβλητές που αντιπροσωπεύουν την βασική % διαιτητική πρόσληψη εκφρασμένη σε μακροθρεπτικά συστατικά. Τα δεδομένα αυτά προέκυψαν από τα ερωτηματολόγια ανάκλησης. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία και το BMI. Επίσης για την αποφυγή σφαλμάτων από την χρήση των συγκεκριμένων ερωτηματολογίων, η διαδικασία επαναλήφθηκε πραγματοποιώντας αντιστάθμιση και ως προς την υποκαταγραφή ή εναλλακτικώς ως προς την μεταβλητή: ενέργεια / BMP (αναλόγως με το που επιτρέπεται να χρησιμοποιηθεί η κάθε μία). Από τον συγκεκριμένο έλεγχο δεν προέκυψε κάποια σχετική συσχέτιση, παρά μόνο μία τάση συσχέτισης τόσο της ινσουλίνης όσο και του HOMA IR με την % πρόσληψη των υδατανθράκων μόνο για το ανδρικό φύλο και μετά την αντιστάθμιση για την υποκαταγραφή (ρ 0,07 και ρ 0,061 αντιστοίχως).

B) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης των μεταβλητών της ινσουλίνης και του HOMA IR με τις μεταβλητές που αντιπροσωπεύουν τις διάφορες ομάδες τροφίμων. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία, το BMI και η υποκαταγραφή. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο προέκυψε: α) αρνητική συσχέτιση τόσο της ινσουλίνης όσο και του HOMA IR με την πρόσληψη καφέ (κούπες / μήνα) μόνο για το γυναικείο φύλο β) θετική συσχέτιση του HOMA IR με την κατανάλωση αρτοσκευασμάτων ολικής αλέσεως και τάση συσχέτισης της ινσουλίνης για το ανδρικό φύλο γ) αρνητική συσχέτιση του HOMA IR με την κατανάλωση γλυκών για το γυναικείο φύλο και τέλος δ) τάση αρνητικής συσχέτισης του HOMA IR με την κατανάλωση αλκοόλ για το ανδρικό φύλο (ρ 0,059).

Πίνακας 6.18: Συσχέτιση της ινσουλίνης και του HOMA IR με την πρόσληψη καφέ στο γυναικείο φύλο

		ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ (μ U / ml)	HOMA IR
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ (μ U / ml)	r	1,000	0,758
	p	-	0,000
HOMA IR	r	0,758	1,000
	p	0,000	-
ΚΑΦΕΣ (κούπες / μήνα) (όλοι οι τύποι)	r	- 0,334	- 0,287
	p	0,020	0,048

Πίνακας 6.19:Συσχέτιση της ινσουλίνης και του HOMA IR με την κατανάλωση αρτοσκευασμάτων ολικής αλέσεως στο ανδρικό φύλο

		ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ (μ U / ml)	HOMA IR	ΑΡΤΟΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΟΛΙΚΗΣ ΑΛΕΞΕΩΣ (log)
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ (μ U / ml)	r	1,000	0,912	0,334
	p	-	0,000	0,058
HOMA IR	r	0,912	1,000	0,357
	p	0,000	-	0,042
ΑΡΤΟΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΟΛΙΚΗΣ ΑΛΕΞΕΩΣ (log)	r	0,334	0,357	1,000
	p	0,058	0,042	-

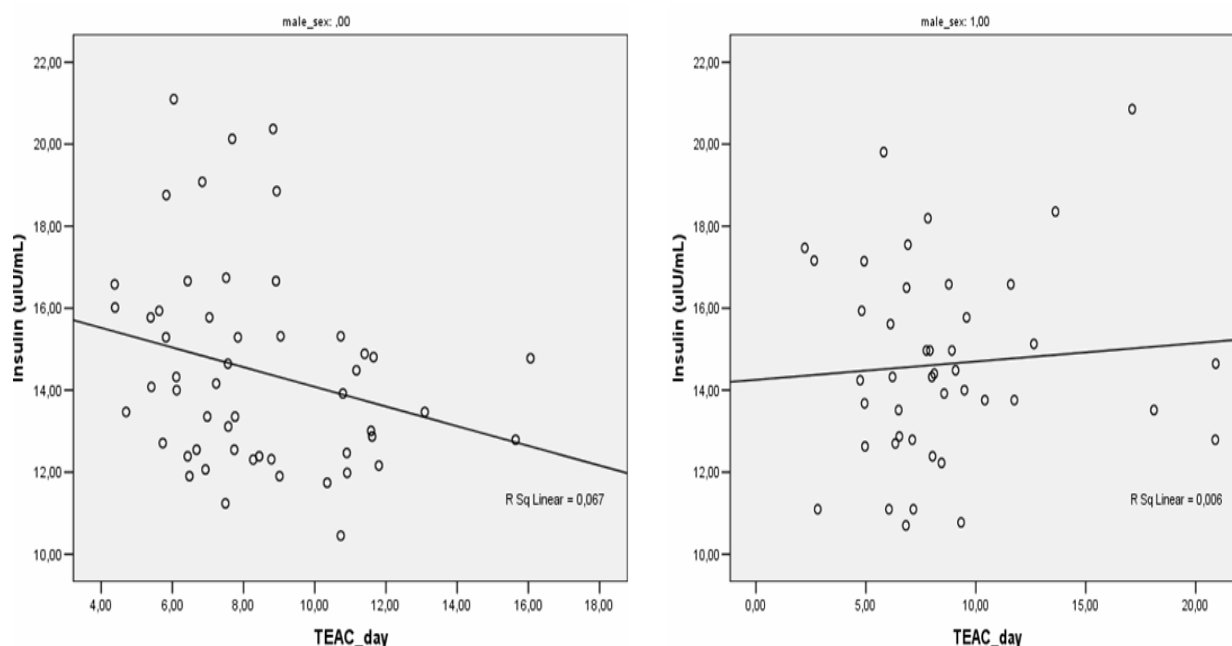
Πίνακας 6.20:Συσχέτιση της ινσουλίνης και του HOMA IR με την κατανάλωση γλυκών στο γυναικείο φύλο

		ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ (μ U / ml)	HOMA IR	ΓΛΥΚΑ / ΜΗΝΑ (log)
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ (μ U / ml)	r	1,000	0,763	- 0,241
	p	-	0,000	0,096
HOMA IR	r	0,763	1,000	- 0,306
	p	0,000	-	0,032
ΓΛΥΚΑ / ΜΗΝΑ (log)	r	- 0,241	- 0,306	1,000
	p	0,096	0,032	-

Γ) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης των μεταβλητών της ινσουλίνης και του HOMA IR τόσο με τους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας της διαίτας όσο και με τον γλυκαιμικό δείκτη και φορτίο. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία, το BMI και η υποκαταγραφή. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο προέκυψε η ισχυρή αρνητική συσχέτιση τόσο της ινσουλίνης όσο και του HOMA IR με όλους τους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας της διαίτας για το γυναικείο φύλο.

Πίνακας 6.20:Συσχέτιση της ινσουλίνης και του HOMA IR με τους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας της διαίτας στο γυναικείο φύλο

		ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ (μ U / ml)	HOMA IR
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ (μ U / ml)	r	1,000	0,763
	p	-	0,000
HOMA IR	r	0,763	1,000
	p	0,000	-
FRAP (ημέρα)	r	- 0,367	- 0,337
	p	0,010	0,018
TRAP (ημέρα)	r	- 0,376	- 0,323
	p	0,008	0,024
TEAC (ημέρα)	r	- 0,444	- 0,411
	p	0,001	0,003



Εικόνα 6.7 : Γραφήματα για τη συσχέτιση της ινσουλίνης με έναν από τους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας της διαίτας στο γυναικείο και ανδρικό φύλο αντίστοιχα.

Δ) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης των μεταβλητών της ινσουλίνης και του HOMA IR με τα διάφορα διατροφικά πρότυπα. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία, το BMI και η υποκαταγραφή. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο προέκυψε αρνητική συσχέτιση με το 7^ο διατροφικό πρότυπο της κατανάλωσης καφέ τόσο της ινσουλίνης όσο και του HOMA IR για το γυναικείο φύλο. Η σχέση αυτή παραμένει στατιστικά σημαντική και μετά από έλεγχο με αντιστάθμιση και ως προς όλα τα υπόλοιπα διατροφικά πρότυπα.

Πίνακας 6.21: Συσχέτιση της ινσουλίνης και του HOMA IR με το ΔΠ7 στο γυναικείο φύλο

		ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ (μ U / ml)	HOMA IR	ΔΠ7 (ΚΑΦΕΣ)
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ (μ U / ml)	r	1,000	0,765	- 0,374
	p	-	0,000	0,018
HOMA IR	r	0,765	1,000	- 0,356
	p	0,000	-	0,024
ΔΠ7 (ΚΑΦΕΣ)	r	- 0,374	- 0,356	1,000
	p	0,018	0,024	-

Ε) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης των μεταβλητών της ινσουλίνης και του HOMA IR με την μεταβλητή που εκφράζει την συμμόρφωση στη μεσογειακή διαίτα του πληθυσμού (Med Diet Score). Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία, το BMI και η υποκαταγραφή. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο δεν προέκυψε κάποια σημαντική συσχέτιση.

II. Μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση των διατροφικών παραγόντων που καθορίζουν τα επίπεδα των ορμονών με την χρήση των μοντέλων πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Συγκεκριμένα, για τα επίπεδα της ινσουλίνης και του HOMA IR χρησιμοποιήθηκαν οι εξής μεταβλητές : ηλικία, εμμηνόπαυση, BMI, περιφέρεια μέσης, σωματική δραστηριότητα (λεπτά / βδομάδα), υποκαταγραφή (είτε ως υπο-, υπερ- καταγραφή είτε ως ενέργεια / BMR) και κάπνισμα. Με την χρήση των παραπάνω ανεξάρτητων μεταβλητών δημιουργήθηκαν διάφορα πιθανά μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης.

Α) Η τάση συσχέτισης τόσο της ινσουλίνης όσο και του HOMA IR με την % πρόσληψη των υδατανθράκων μόνο για το ανδρικό φύλο, που αναδείχθηκε με την χρήση της ανάλυσης μερικών συσχετίσεων, φαίνεται να παραμένει στα διάφορα πιθανά μοντέλα που δημιουργήθηκαν. Για παράδειγμα, το παρακάτω μοντέλο, το οποίο ερμηνεύει το 20,8% της διακύμανσης των επιπέδων της ινσουλίνης και το 26,8% των επιπέδων του HOMA IR.

Πίνακας 6.22: Μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για τον έλεγχο της συσχέτισης της ινσουλίνης με την % πρόσληψη των υδατανθράκων στο ανδρικό φύλο

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P	R ²
	B	SE	B		
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ (λεπτά / βδομάδα)	0,000	0,000	- 0,099	0,500	0,208
ΥΠΟΚΑΤΑΓΡΑΦΗ	- 0,235	0,586	- 0,060	0,690	
% ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ	0,065	0,034	0,302	0,061	
ΗΛΙΚΙΑ	- 0,049	0,027	- 0,297	0,078	
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ (cm)	0,119	0,036	0,500	0,002	

Πίνακας 6.23: Μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για τον έλεγχο της συσχέτισης του HOMA IR με την % πρόσληψη των υδατανθράκων στο ανδρικό φύλο

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P	R ²
	B	SE	B		
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ (λεπτά / βδομάδα)	- 0,005	0,000	- 0,040	0,775	0,268
ΗΛΙΚΙΑ	-0,010	0,008	- 0,204	0,206	
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ (cm)	0,035	0,010	0,508	0,001	
ΥΠΟΚΑΤΑΓΡΑΦΗ	- 0,437	0,244	- 0,258	0,082	
% ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ	0,018	0,009	0,290	0,061	

Β) Όσον αφορά τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την συσχέτιση τόσο της ινσουλίνης όσο και του HOMA IR με τις ομάδες τροφίμων έχουμε τα εξής:

ι) η αρνητική συσχέτιση της ινσουλίνης με την πρόσληψη καφέ (κούπες / μήνα) μόνο για το γυναικείο φύλο παραμένει στα διάφορα πιθανά μοντέλα που δημιουργήθηκαν και είχαν ως ανεξάρτητη μεταβλητή το BMI. Με αντικατάσταση όμως του τελευταίου με την περιφέρεια μέσης η σχέση αυτή παύει να είναι στατιστικά σημαντική (δηλ. δεν συσχετίζεται πια η ινσουλίνη με την πρόσληψη καφέ). Η αντίστοιχη συσχέτιση με το HOMA IR χάνει την στατιστική σημαντικότητά της από την αρχή, ακόμη και με την μεταβλητή του BMI.

Πίνακας 6.23: Μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για τον έλεγχο της συσχέτισης της ινσουλίνης με την πρόσληψη καφέ στο γυναικείο φύλο

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P	R ²
	B	SE	B		
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ (λεπτά / βδομάδα)	- 0,001	0,000	- 0,201	0,143	
ΗΛΙΚΙΑ	- 0,010	0,025	- 0,056	0,685	
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ (cm)	0,109	0,030	0,575	0,001	
ΚΑΦΕΣ (κούπες / μήνα) (όλοι οι τύποι)	- 0,018	0,010	- 0,234	0,082	
ΚΑΠΝΙΣΜΑ	- 0,103	0,370	- 0,038	0,782	
ΥΠΟΚΑΤΑΓΡΑΦΗ	1,721	0,965	0,241	0,082	

ii) η θετική συσχέτιση του HOMA IR με την κατανάλωση αρτοσκευασμάτων ολικής αλέσεως για το ανδρικό φύλο παραμένει στα διάφορα μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης. Το παρακάτω ερμηνεύει το 25% της διακύμανσης του HOMA IR.

Πίνακας 6.23: Μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για τον έλεγχο της συσχέτισης της ινσουλίνης με την κατανάλωση αρτοσκευασμάτων ολικής αλέσεως για το ανδρικό φύλο

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P	R ²
	B	SE	B		
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ (λεπτά / βδομάδα)	- 0,005	0,000	- 0,123	0,399	0,25
ΗΛΙΚΙΑ	- 0,004	0,007	- 0,081	0,581	
ΚΑΠΝΙΣΜΑ	0,028	0,111	0,038	0,804	
ΥΠΟΚΑΤΑΓΡΑΦΗ	- 0,484	0,250	- 0,276	0,061	
ΑΡΤΟΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΟΛΙΚΗΣ ΑΛΕΣΕΩΣ	0,005	0,002	0,327	0,044	
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ (cm)	0,025	0,011	0,350	0,030	

iii) η αρνητική συσχέτιση του HOMA IR με την κατανάλωση γλυκών για το γυναικείο φύλο παραμένει στα διάφορα μοντέλα. Το παρακάτω φαίνεται να ερμηνεύει το 45% της διακύμανσης του HOMA IR.

Πίνακας 6.24: Μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για τον έλεγχο της συσχέτισης της ινσουλίνης με την κατανάλωση γλυκών στο γυναικείο φύλο

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P	R ²
	B	SE	B		
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ (λεπτά / βδομάδα)	0,000	0,000	- 0,123	0,295	0,45
ΗΛΙΚΙΑ	0,003	0,008	0,044	0,719	
ΚΑΠΝΙΣΜΑ	- 0,126	0,108	- 0,136	0,252	
ΥΠΟΚΑΤΑΓΡΑΦΗ	0,470	0,290	0,192	0,113	
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ (cm)	0,043	0,009	0,663	0,000	
ΓΑΥΚΑ / ΜΗΝΑ	- 0,016	0,007	- 0,269	0,022	

iv) η τάση αρνητικής συσχέτισης του HOMA IR με την κατανάλωση αλκοόλ για το ανδρικό φύλο φαίνεται να χάνεται στα διάφορα μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης με τις προαναφερόμενες ανεξάρτητες μεταβλητές.

Γ) Η ισχυρή αρνητική συσχέτιση τόσο της ινσουλίνης όσο και του HOMA IR με όλους τους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας της δίαιτας για το γυναικείο φύλο παραμένει στα διάφορα μοντέλα που δημιουργούνται. Για παράδειγμα:

Πίνακας 6.25: Μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για τον έλεγχο της συσχέτισης της ινσουλίνης με τον δείκτη FRAP αντιοξειδωτικής ικανότητας της δίαιτας στο γυναικείο φύλο

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P
	B	SE	B	
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ (λεπτά / βδομάδα)	- 0,001	0,000	- 0,200	0,122
ΚΑΠΝΙΣΜΑ	- 0,106	0,346	- 0,040	0,760
ΗΛΙΚΙΑ	- 0,013	0,024	- 0,074	0,574
FRAP (ημέρα)	- 0,135	0,047	- 0,365	0,007
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ (cm)	0,119	0,029	0,627	0,000
ΥΠΟΚΑΤΑΓΡΑΦΗ	2,574	0,976	0,361	0,012

Πίνακας 6.26: Μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για τον έλεγχο της συσχέτισης του HOMA IR με τον δείκτη FRAP αντιοξειδωτικής ικανότητας της δίαιτας στο γυναικείο φύλο

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P
	B	SE	B	
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ (λεπτά / βδομάδα)	0,000	0,000	- 0,124	0,289
ΚΑΠΝΙΣΜΑ	- 0,044	0,108	- 0,047	0,688
ΗΛΙΚΙΑ	0,006	0,007	0,095	0,434
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ (cm)	0,045	0,009	0,686	0,000
ΥΠΟΚΑΤΑΓΡΑΦΗ	0,599	0,306	0,245	0,057
FRAP (ημέρα)	- 0,034	0,015	- 0,271	0,025

Δ) Η αρνητική συσχέτιση με το 7^ο διατροφικό πρότυπο της κατανάλωσης καφέ τόσο της ινσουλίνης όσο και του HOMA IR για το γυναικείο φύλο παραμένει στα διάφορα μοντέλα που δημιουργούνται. Για παράδειγμα:

Πίνακας 6.25: Μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για τον έλεγχο της συσχέτισης της ινσουλίνης με το ΔΠ7 στο γυναικείο φύλο

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P
	B	SE	B	
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ (λεπτά / βδομάδα)	0,000	0,000	- 0,161	0,248
ΗΛΙΚΙΑ	- 0,007	0,029	- 0,037	0,813
ΚΑΠΝΙΣΜΑ	0,009	0,379	0,003	0,981
ΥΠΟΚΑΤΑΓΡΑΦΗ	2,709	1,079	0,381	0,017
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ (cm)	0,121	0,030	0,631	0,000
ΔΠ1	- 0,490	0,291	- 0,226	0,102
ΔΠ2	- 0,155	0,331	- 0,063	0,643
ΔΠ3	0,159	0,459	0,050	0,730
ΔΠ4	- 0,385	0,327	- 0,150	0,247
ΔΠ5	- 0,768	0,421	- 0,246	0,077
ΔΠ6	- 0,360	0,314	- 0,150	0,259
ΔΠ7	- 1,011	0,364	- 0,394	0,009
ΔΠ8	0,103	0,469	0,030	0,827
ΔΠ9	- 0,392	0,301	- 0,161	0,202

6.4.1 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΣΥΝΗΘΕΙΩΝ ΜΕ ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ

I. Ανάλυση μερικών συσχετίσεων

A) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της κορτιζόλης με τις μεταβλητές που αντιπροσωπεύουν την βασική % διαιτητική πρόσληψη εκφρασμένη σε μακροθρεπτικά συστατικά. Τα δεδομένα αυτά προέκυψαν από τα ερωτηματολόγια ανάκλησης. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία, το BMI και η υποκαταγραφή. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο δεν προέκυψε κάποια σημαντική συσχέτιση.

B) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της κορτιζόλης με τις μεταβλητές που αντιπροσωπεύουν τις διάφορες ομάδες τροφίμων. Ως

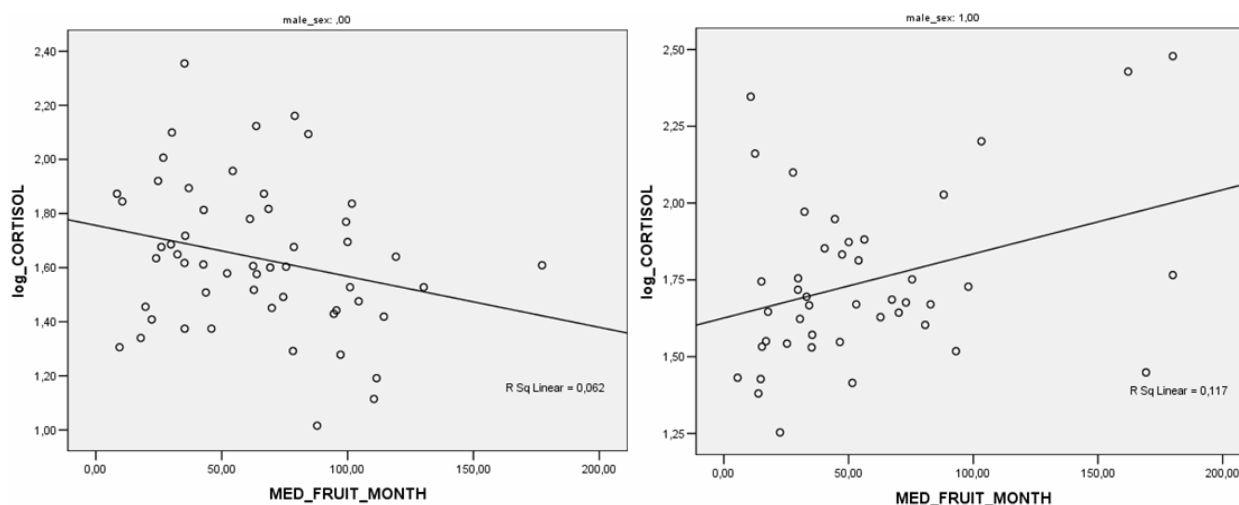
συγγυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία, το BMI και η υποκαταγραφή. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο προέκυψε: α) αρνητική συσχέτιση της κορτιζόλης με την κατανάλωση φρούτων και φρούτων και λαχανικών για το γυναικείο φύλο β) αντιθέτως θετική συσχέτιση της κορτιζόλης με την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών για το ανδρικό φύλο (και τάση θετικής συσχέτισης για την κατανάλωση φρούτων) γ) τάση αρνητικής συσχέτισης με τα άπαχα γαλακτοκομικά προϊόντα για το γυναικείο φύλο και τέλος δ) αρνητική συσχέτιση με την κατανάλωση ψαριού για το γυναικείο φύλο.

Πίνακας 6.26: Συσχέτιση της κορτιζόλης με την κατανάλωση φρούτων και φρούτων και λαχανικών και στα δύο φύλα

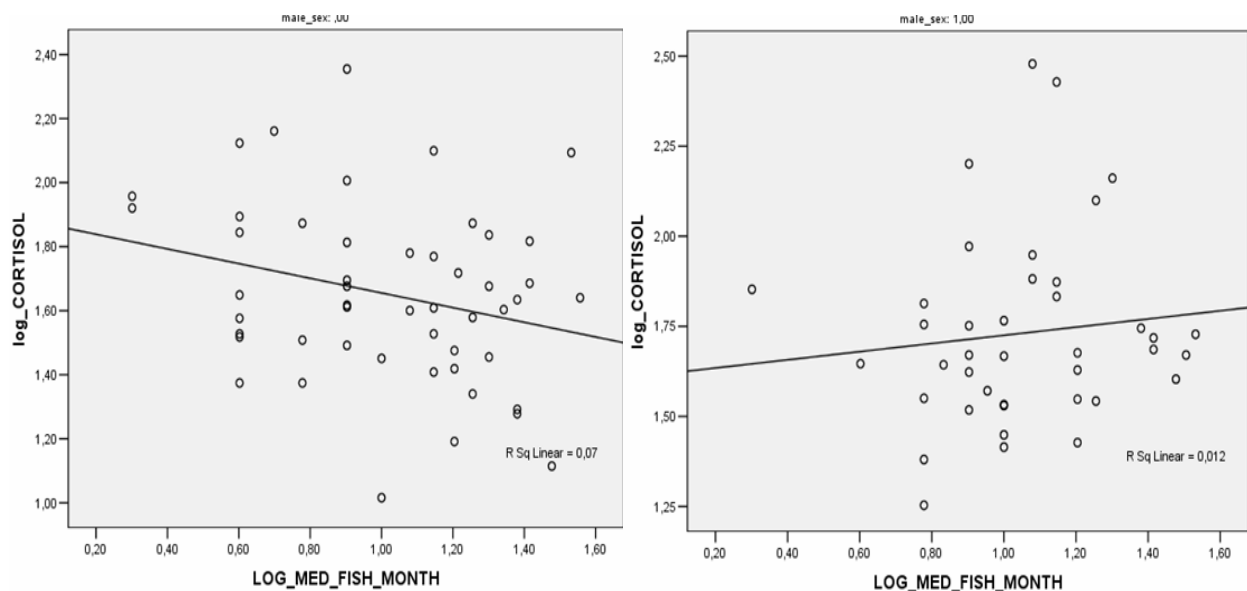
		ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ (log)	
		ΓΥΝΑΙΚΕΣ	ΑΝΔΡΕΣ
ΦΡΟΥΤΑ (ΜΗΝΑ)	r	- 0,391	0,302
	p	0,005	0,062
ΦΡΟΥΤΑ - ΛΑΧΑΝΙΚΑ	r	- 0,370	- 0,349
	p	0,008	0,029

Πίνακας 6.27: Συσχέτιση της κορτιζόλης με την κατανάλωση ψαριών στο γυναικείο φύλο

		ΨΑΡΙ (ΜΗΝΑ) (log)	ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ (log)
ΨΑΡΙ (ΜΗΝΑ) (log)	r	1,000	- 0,320
	p	-	0,030
ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ (log)	r	- 0,320	1,000
	p	0,030	-



Εικόνα 6.8 : Scatter graphs για τη συσχέτιση της κορτιζόλης με την κατανάλωση φρούτων στο γυναικείο και ανδρικό φύλο αντίστοιχα.



Εικόνα 6.9 : Scatter graphs για τη συσχέτιση της κορτιζόλης με την κατανάλωση ψαριών στο γυναικείο και ανδρικό φύλο αντίστοιχα.

Γ) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της κορτιζόλης τόσο με τους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας της δίαιτας όσο και με τον γλυκαιμικό δείκτη και φορτίο. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία, το BMI και η υποκαταγραφή. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο δεν προέκυψε κάποια σχετική συσχέτιση.

Δ) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της κορτιζόλης με τα διάφορα διατροφικά πρότυπα. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία, το BMI και η υποκαταγραφή. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο προέκυψε συσχέτιση με το 3^ο διατροφικό πρότυπο (φρούτα και λαχανικά) αρνητική για τις γυναίκες ($p = 0,01$) και θετική για τους άνδρες ($p = 0,009$). Όταν όμως πραγματοποιήθηκε αντιστάθμιση και ως προς όλα τα υπόλοιπα διατροφικά πρότυπα τότε το αποτέλεσμα παρέμεινε στατιστικά σημαντικό μόνο για το γυναικείο φύλο.

Πίνακας 6.28: Συσχέτιση της κορτιζόλης με το ΔΠ3 στο γυναικείο φύλο

		ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ (log)	ΔΠ3 (ΦΡΟΥΤΑ – ΛΑΧΑΝΙΚΑ)
ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ (log)	r	1,000	- 0,336
	p	-	0,032
ΔΠ3 (ΦΡΟΥΤΑ – ΛΑΧΑΝΙΚΑ)	r	- 0,336	1,000
	p	0,032	-

Ε) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της κορτιζόλης με την μεταβλητή που εκφράζει την συμμόρφωση στη μεσογειακή διαίτα του πληθυσμού (Med Diet Score). Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία, το BMI και η υποκαταγραφή. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο δεν προέκυψε κάποια σημαντική συσχέτιση.

II. Μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση των διατροφικών παραγόντων που καθορίζουν τα επίπεδα των ορμονών με την χρήση των μοντέλων πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Συγκεκριμένα, για τα επίπεδα της κορτιζόλης χρησιμοποιήθηκαν οι εξής μεταβλητές : ηλικία, εμμηνόπαυση, BMI, περιφέρεια μέσης, σωματική δραστηριότητα (λεπτά / βδομάδα), υποκαταγραφή (είτε ως υπο-, υπερ- καταγραφή είτε ως ενέργεια / BMR) και κάπνισμα. Με την χρήση των παραπάνω ανεξάρτητων μεταβλητών δημιουργήθηκαν διάφορα πιθανά μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης.

Α) Όσον αφορά τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την συσχέτιση της κορτιζόλης με τις ομάδες τροφίμων έχουμε τα εξής:

i) η αρνητική συσχέτιση της κορτιζόλης με την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών για το γυναικείο φύλο παραμένει στα διάφορα μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης. Το παρακάτω μοντέλο παρουσιάζει ερμηνευτικότητα 15,4%:

Πίνακας 6.29: Μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για τον έλεγχο της συσχέτισης της κορτιζόλης με την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών στο γυναικείο φύλο

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P	R ²
	B	SE	B		
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ (λεπτά / βδομάδα)	- 0,005	0,000	- 0,098	0,497	0,154
ΚΑΠΝΙΣΜΑ	- 0,006	0,043	- 0,019	0,896	
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ (cm)	- 0,007	0,003	- 0,342	0,043	
ΥΠΟΚΑΤΑΓΡΑΦΗ	0,185	0,120	0,230	0,130	
ΗΛΙΚΙΑ	0,005	0,003	0,263	0,093	
ΦΡΟΥΤΑ - ΛΑΧΑΝΙΚΑ	- 0,002	0,001	- 0,373	0,013	

Το αντίστοιχο μοντέλο για το ανδρικό φύλο παρουσιάζει στατιστική σημαντικότητα για την θετική συσχέτιση της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών όμως δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά από ένα μοντέλο χωρίς καθόλου ανεξάρτητες μεταβλητές.

Πίνακας 6.30: Μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για τον έλεγχο της συσχέτισης της κορτιζόλης με την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών στο ανδρικό φύλο

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P	P ANOVA
	B	SE	B		
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ (λεπτά / βδομάδα)	- 0,006	0,000	0,017	0,914	0,147
ΚΑΠΝΙΣΜΑ	0,052	0,050	0,167	0,304	
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ (cm)	- 0,004	0,005	- 0,141	0,383	
ΥΠΟΚΑΤΑΓΡΑΦΗ	- 0,094	0,130	- 0,127	0,474	
ΗΛΙΚΙΑ	- 0,003	0,003	- 0,164	0,322	
ΦΡΟΥΤΑ - ΛΑΧΑΝΙΚΑ	0,002	0,001	0,416	0,022	

ii) η τάση αρνητικής συσχέτισης με τα άπαχα γαλακτοκομικά προϊόντα για το γυναικείο φύλο δεν φαίνεται να παραμένει στα διάφορα μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης.

iii) η αρνητική συσχέτιση με την κατανάλωση ψαριού για το γυναικείο φύλο, επίσης δεν φαίνεται να παραμένει στα διάφορα μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης.

Β) Όσον αφορά τα διατροφικά πρότυπα, η αρνητική συσχέτιση της κορτιζόλης με το 3^ο διατροφικό πρότυπο (φρούτα και λαχανικά) για τις γυναίκες ενώ φαίνεται να παρουσιάζει στατιστική σημαντικότητα, δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά από ένα μοντέλο χωρίς καθόλου ανεξάρτητες μεταβλητές.

Πίνακας 6.31: Μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για τον έλεγχο της συσχέτισης της κορτιζόλης με το ΔΠ3 στο γυναικείο φύλο

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P	P ANOVA
	B	SE	B		
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ (λεπτά / βδομάδα)	- 0,005	0,000	- 0,154	0,349	0,317
ΚΑΠΝΙΣΜΑ	- 0,009	0,051	- 0,029	0,864	
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ (cm)	- 0,009	0,004	- 0,420	0,030	
ΥΠΟΚΑΤΑΓΡΑΦΗ	0,128	0,144	0,160	0,380	
ΗΛΙΚΙΑ	0,007	0,004	0,340	0,079	
ΔΠ1	- 0,009	0,038	- 0,039	0,808	
ΔΠ2	0,017	0,043	0,064	0,697	
ΔΠ3	- 0,142	0,061	- 0,400	0,026	
ΔΠ4	0,007	0,044	0,025	0,870	
ΔΠ5	0,038	0,056	0,109	0,501	
ΔΠ6	0,034	0,042	0,127	0,420	
ΔΠ7	- 0,002	0,048	- 0,006	0,971	
ΔΠ8	- 0,035	0,062	- 0,090	0,578	
ΔΠ9	0,038	0,039	0,142	0,339	

6.4.1 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΣΥΝΗΘΕΙΩΝ ΜΕ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ

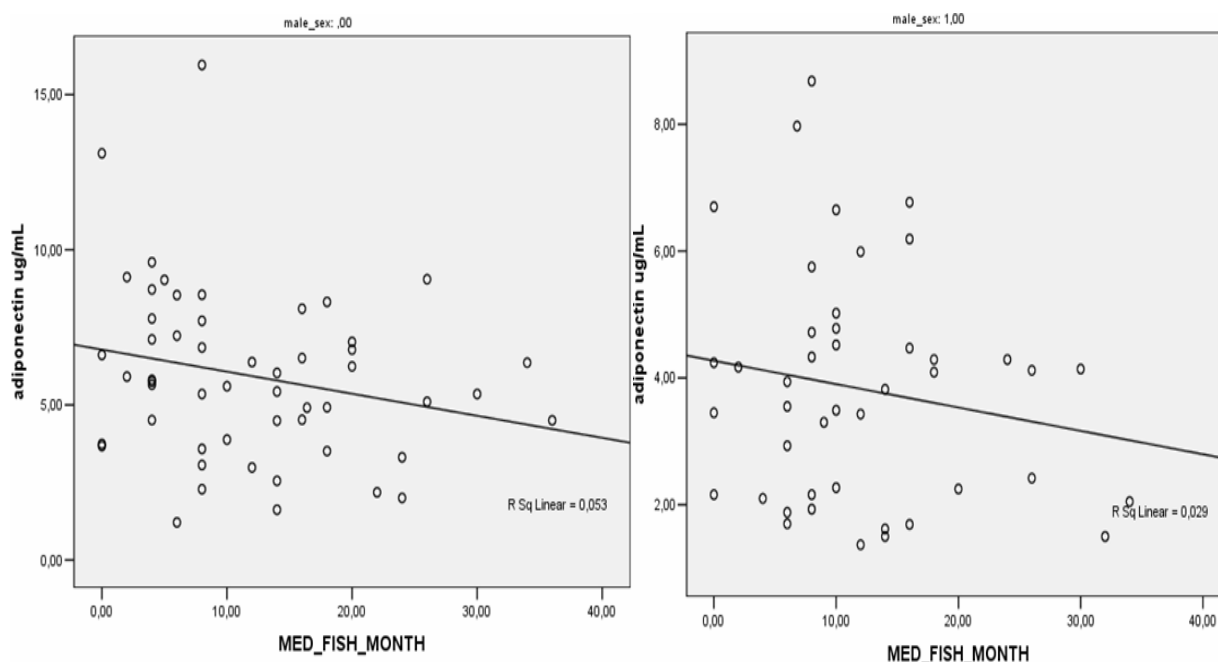
I. Ανάλυση μερικών συσχετίσεων

Α) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της αδιπονεκτινής με τις μεταβλητές που αντιπροσωπεύουν την βασική % διαιτητική πρόσληψη εκφρασμένη σε μακροθρεπτικά συστατικά. Τα δεδομένα αυτά προέκυψαν από τα ερωτηματολόγια ανάκλησης. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο προέκυψε, όσον αφορά το γυναικείο φύλο, αρνητική συσχέτιση με την % πρόσληψη των πρωτεϊνών (p 0,033) και θετική με των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (p 0,029). Όσον αφορά το ανδρικό φύλο παρατηρήθηκε μία τάση αρνητικής συσχέτισης με την % πρόσληψη των υδατανθράκων (p 0,074). Τα παραπάνω προέκυψαν με αντιστάθμιση μόνο ως προς την ηλικία και το BMI. Όταν όμως προστέθηκε στους πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες και η υποκαταγραφή, η στατιστική σημαντικότητα χάθηκε για το γυναικείο φύλο ενώ η τάση αρνητικής συσχέτισης παρέμεινε για το ανδρικό φύλο (p 0,075).

Β) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της αδιπονεκτίνης με τις μεταβλητές που αντιπροσωπεύουν τις διάφορες ομάδες τροφίμων. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία, το BMI και η υποκαταγραφή. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο προέκυψε αρνητική συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με την κατανάλωση ψαριών στο γυναικείο φύλο.

Πίνακας 6.32: Συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με την κατανάλωση ψαριών στο γυναικείο φύλο

		ΨΑΡΙ (ΜΗΝΑ) (log)	ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ (μg / ml)
ΨΑΡΙ (ΜΗΝΑ) (log)	r	1,000	- 0,287
	p	-	0,056
ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ (μg / ml)	r	- 0,287	1,000
	p	0,056	-



Εικόνα 6.9 : Scatter graphs για τη συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με την κατανάλωση ψαριών στο γυναικείο και ανδρικό φύλο αντίστοιχα.

Γ) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της αδιπονεκτίνης τόσο με τους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας της δίαιτας όσο και με τον γλυκαιμικό δείκτη και φορτίο. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία, το BMI και η υποκαταγραφή. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο δεν προέκυψε κάποια σημαντική συσχέτιση.

Δ) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της αδιπονεκτίνης με τα διάφορα διατροφικά πρότυπα. Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν

η ηλικία, το BMI και η υποκαταγραφή. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο προέκυψε αρνητική συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με το 9^ο διατροφικό πρότυπο (ελαιόλαδο) για το γυναικείο φύλο. Η σχέση αυτή παραμένει στατιστικά σημαντική και μετά από έλεγχο με αντιστάθμιση και ως προς όλα τα υπόλοιπα διατροφικά πρότυπα.

Πίνακας 6.33: Συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με το ΔΠ9 στο γυναικείο φύλο

		ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	ΔΠ9 (ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ)
ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	r	1,000	- 0,355
	p	-	0,024
ΔΠ9 (ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ)	r	- 0,355	1,000
	p	0,024	-

Ε) Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης της αδιπονεκτίνης με την μεταβλητή που εκφράζει την συμμόρφωση στη μεσογειακή δίαιτα του πληθυσμού (Med Diet Score). Ως συγχυτικοί παράγοντες θεωρήθηκαν η ηλικία, το BMI και η υποκαταγραφή. Από τον συγκεκριμένο έλεγχο δεν προέκυψε κάποια σημαντική συσχέτιση.

II. Μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση των διατροφικών παραγόντων που καθορίζουν τα επίπεδα των ορμονών με την χρήση των μοντέλων πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Συγκεκριμένα, για τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης χρησιμοποιήθηκαν οι εξής μεταβλητές : ηλικία, εμμηνόπαυση, BMI, περιφέρεια μέσης, σωματική δραστηριότητα (λεπτά / βδομάδα), υποκαταγραφή (είτε ως υπο-, υπερ- καταγραφή είτε ως ενέργεια / BMR), κάπνισμα, τριγλυκερίδια, ινσουλίνη, HOMA IR και CRP. Με την χρήση των παραπάνω ανεξάρτητων μεταβλητών δημιουργήθηκαν διάφορα πιθανά μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης.

Α) Η τάση αρνητικής συσχέτισης με την % πρόσληψη των υδατανθράκων στο ανδρικό φύλο είτε παραμένει σε κάποια μοντέλα στατιστικά σημαντική, αλλά τα συγκεκριμένα μοντέλα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά από ένα μοντέλο χωρίς καθόλου ανεξάρτητες μεταβλητές, είτε χάνεται. Ένα από τα μοντέλα της δεύτερης κατηγορίας φαίνεται παρακάτω:

Πίνακας 6.34: Μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για τον έλεγχο της συσχέτισης της αδιπονεκτίνης με την % πρόσληψη των υδατανθράκων στο ανδρικό φύλο

	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (unstandardized)		ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ B (standardized)	P
	B	SE	B	
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ (λεπτά / βδομάδα)	0,000	0,000	- 0,145	0,349
ΚΑΠΝΙΣΜΑ	- 0,820	0,344	- 0,412	0,023
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ (cm)	0,005	0,032	0,027	0,875
ΥΠΟΚΑΤΑΓΡΑΦΗ	- 1,168	0,779	- 0,253	0,144
ΗΛΙΚΙΑ	0,028	0,025	0,212	0,262
% ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ	- 0,050	0,030	- 0,291	0,106
ΑΛΚΟΟΛΙΚΑ ΠΟΤΑ (ΜΗΝΑ)	0,029	0,013	0,444	0,031

Β) Η αρνητική συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με την κατανάλωση ψαριών στο γυναικείο φύλο δεν παραμένει στατιστικά σημαντική στα μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης.

Γ) Η αρνητική συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με το 9^ο διατροφικό πρότυπο (ελαιόλαδο) για το γυναικείο φύλο, επίσης δεν παραμένει στατιστικά σημαντική στα μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7^ο

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

7.1 Σημασία της μελέτης

Το ενδοκρινικό σύστημα αποτελεί το κατεξοχήν επικοινωνιακό σύστημα του οργανισμού με κύριο αντιπρόσωπό του τις ορμόνες. Η σημασία της αλληλεπίδρασης και της λειτουργίας, ως μία μονάδα, των διαφόρων συστημάτων του οργανισμού, και κυρίως του ενδοκρινικού με το ανοσοποιητικό σύστημα, επισημάνθηκε πολλές φορές στο 2^ο και 3^ο κεφάλαιο. Ο PAF, όπως προαναφέρθηκε, είναι ένας πανίσχυρος ενεργοποιητής και μεσολαβητής πολλών λειτουργιών τόσο σε κυτταρικό όσο και σε επίπεδο ιστών και οργάνων και καθώς εκκρίνεται από πολλά είδη φλεγμονωδών κυττάρων αλλά ταυτόχρονα ενεργοποιεί τα ίδια κύτταρα και επίσης είναι στενά συνδεδεμένος με την διαδικασία της φλεγμονής, αποτελεί ένα χαρακτηριστικό μεσολαβητή του ανοσοποιητικού συστήματος και ιδιαίτερα της φυσικής ανοσίας. Μέσα στο πλαίσιο αυτό της διερεύνησης της αλληλεπίδρασης των δύο συστημάτων, η οποία έχει αποκτήσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια, κινείται και η συγκεκριμένη μελέτη που ως σκοπό έχει αρχικά την συσχέτιση του PAF και των ενζύμων του μεταβολισμού του με το ορμονικό σύστημα και κατά δεύτερο λόγο την συσχέτιση της διατροφής με τις ορμόνες. Η επιτυχία της εύρεσης αυτών των συσχετίσεων θα φέρει στην επιφάνεια κρυμμένα μονοπάτια ρύθμισης λειτουργιών και θα απαντήσει σε πολλά ερωτήματα σχετικά με το πώς επικοινωνούν τα δύο συστήματα, με την εύρεση διαφόρων πιθανών παραγόντων που επηρεάζουν τα επίπεδα του PAF και των ενζύμων του στον πληθυσμό. Πιο συγκεκριμένα αν οι ορμόνες και πώς, και μέσω ποιών ενζύμων, μπορούν να επηρεάσουν τον PAF και τι μπορεί να σημαίνει αυτό, εάν μπορεί ο πληθυσμός με τροποποίηση της διατροφής του να παίζει κάποιο ρόλο στα επίπεδα των ορμονών αρχικά και του μορίου του PAF κατά δεύτερο λόγο και επομένως και σε νοσήματα ή παθολογικές καταστάσεις που μετέχει ο PAF (π.χ. αθηροσκλήρωση, φλεγμονή). Η συγκεκριμένη μελέτη είναι επιδημιολογικής φύσεως και επομένως περιορισμένης δυνατότητας για εύρεση μηχανισμών ή αιτιολογικών σχέσεων, ωστόσο μπορεί μέσα από τα ευρήματά της να αποτελέσει ισχυρό έναυσμα για περαιτέρω έρευνα σε κυτταρικό επίπεδο. Η συσχέτιση των ορμονών με τον PAF θα βοηθήσει στην ερμηνεία της δημιουργίας διαφόρων νοσημάτων και θεραπευτικών προσεγγίσεων και φυσιολογικών λειτουργιών του οργανισμού. Επιπρόσθετα, επειδή δυστυχώς η βιβλιογραφία με αντικείμενο αυτή τη σχέση είναι μικρή και παλαιή, η μελέτη αυτή θα

προσθέσει το δικό της σύγχρονο λιθαράκι σε αυτή την προσπάθεια και κυρίως στον Ελληνικό πληθυσμό, για τον οποίο πρώτη φορά πραγματοποιείται αντίστοιχη μελέτη.

7.2 Ο πληθυσμός της μελέτης

Περιγραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης

Η συγκεκριμένη μελέτη αφορά έναν φαινομενικά υγιή πληθυσμό των 106 ατόμων που είναι σχεδόν ισόποσα μοιρασμένος ανάμεσα στα δύο φύλα (48 άνδρες και 58 γυναίκες) και ισοκατανεμημένος στο ηλικιακό εύρος 20 – 70 (μέσος όρος ηλικίας τα 44 ± 13 έτη). Όσον αφορά τα ανθρωπομετρικά δεδομένα των συμμετεχόντων, όπως αυτά προσδιορίστηκαν με απλές μετρήσεις βάρους, ύψους, περιφερειών, δερματοπτυχών και τη μέθοδο DXA (19), πρόκειται για ένα ελαφρώς υπέρβαρο πληθυσμό, με μέσο ΔΜΣ μία με δύο μονάδες περίπου πάνω από το ανώτατο φυσιολογικό όριο. Οι διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών είναι οι κλασσικές διαφορές που θεωρητικά οφείλονται σε φυλετική διαφοροποίηση της κατανομής του λίπους. Όσον αφορά τις καπνιστικές τους συνήθειες, η πλειοψηφία του πληθυσμού είναι μη καπνιστές ή πρώην καπνιστές, 60 και 12 άτομα αντίστοιχα, έναντι των 32 καπνιστών. Επίσης η πλειοψηφία είναι μοιρασμένη μεταξύ των ατόμων με καθιστική ζωή (51 άτομα) και με ελαφριά φυσική δραστηριότητα (49 άτομα) ενώ αντιθέτως μόνο 9 άτομα περιγράφουν έντονη φυσική δραστηριότητα. Από κλινική άποψη, οι τιμές της αρτηριακής πίεσης, των αιματολογικών και βιοχημικών μετρήσεων βρίσκονται εντός των φυσιολογικών ορίων με τις αναμενόμενες διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών που παρουσιάζονται στην καθημερινή κλινική πρακτική. Από την εκτίμηση της ψυχολογικής κατάστασης το 30% παρουσιάζει μέτρια κατάθλιψη (σκορ: 50-70) αλλά η πλειοψηφία παραμένει εντός των φυσιολογικών τιμών του σκορ (20-50). Όσον αφορά τις διατροφικές συνήθειες οι συμμετέχοντες προσλαμβάνουν κατά μέσο όρο κοντά στις 2000 Kcal ημερησίως (κυρίως λιπαρά και υδατάνθρακες). Γενικότερα το μελετώμενο δείγμα καταναλώνει αρκετές μερίδες γαλακτοκομικών καθημερινά και φρούτων (περίπου 15 μερίδες) και κρέατος εβδομαδιαία (περίπου 3 μερίδες). Επίσης, δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στην πρόσληψη τροφίμων πλούσιων σε αντιοξειδωτικά μεταξύ των δύο φύλων και η βαθμολογία συμμόρφωσης με τη μεσογειακή διατροφή (Med Diet Score), τόσο των ανδρών όσο και των γυναικών, είναι κοντά στο 32-33 με άριστα το 55.

Επίπεδα των ορμονών του πληθυσμού της μελέτης

Στη παρούσα μελέτη προσδιορίστηκαν ποσοτικά τρεις διαφορετικές ορμόνες : η ινσουλίνη, η αδιπονεκτίνη και η κορτιζόλη (κεφάλαιο 5^ο), όπως επίσης και ο δείκτης ινσουλινοαντίστασης HOMA IR. Όσον αφορά την ινσουλίνη, ο μέσος όρος των μετρούμενων τιμών στον υπό μελέτη πληθυσμό είναι $14,5 \pm 2,6$ $\mu\text{IU/ml}$, με μικρότερη και μεγαλύτερη τιμή 10,45 και 25,37 $\mu\text{IU/ml}$ αντιστοίχως. Οι παραπάνω τιμές βρίσκονται σε συμφωνία με αντίστοιχες τιμές σε επίσης φαινομενικά υγιείς πληθυσμούς άλλων μελετών, με μικρές διαφορές. Για παράδειγμα, μελέτη που αφορά Λατινικής προέλευσης πληθυσμό (Βενεζουέλα), προτείνει ως κατώτερες φυσιολογικές τιμές 13 $\mu\text{IU/ml}$ για τις γυναίκες και 11 $\mu\text{IU/ml}$ για τους άνδρες, οι οποίες πλησιάζουν την παρούσα μελέτη (αλλά χωρίς διαφοροποίηση για το φύλο) (138). Σε μελέτη που αφορά τον πληθυσμό της Γαλλίας, η διακύμανση των τιμών είναι από 0,80 - 54,60 $\mu\text{IU/ml}$, αλλά για το ηλικιακό εύρος 11-58 έτη (139). Σε φαινομενικά υγιή πληθυσμό της Κένυας (Αφρικανικής προέλευσης), ο μέσος όρος των τιμών είναι 16,33 $\mu\text{IU/ml}$ (μικρός όμως πληθυσμός των 30 ατόμων) (140). Η μικρή προς τα πάνω διαφορά με τους υπόλοιπους πληθυσμούς μπορεί να οφείλεται είτε σε φυλετικές διαφορές, είτε στην συμμετοχή στις παραπάνω μελέτες στα πλαίσια του “φαινομενικά υγιή πληθυσμού” και ατόμων με επηρεασμένους κάποιους από τους μεταβολικούς δείκτες (χωρίς διάγνωση νόσου), καθώς ο στόχος ήταν η διεξαγωγή τιμών αναφοράς. Στην παρούσα μελέτη ο πληθυσμός δεν εμφάνιζε, κατά κύριο λόγο, μεταβολικούς δείκτες εκτός των φυσιολογικών ορίων. Γενικότερα ως τιμές αναφοράς για τις εργαστηριακές μετρήσεις θεωρούνται οι τιμές 2 – 20 $\mu\text{IU/ml}$ (141).

Όσον αφορά το HOMA IR, ο μέσος όρος των τιμών στον υπό μελέτη πληθυσμό είναι $3,3 \pm 0,8$, με μικρότερη και μεγαλύτερη τιμή 1,99 και 6,26 αντιστοίχως. Γενικότερα αποδεκτό όριο ανώτερης φυσιολογικής τιμής θεωρείται το 2,60, αλλά δυστυχώς η έλλειψη τιμών αναφοράς περιορίζει και την κλινική χρησιμότητα του συγκεκριμένου δείκτη (142). Σε Ιαπωνικό πληθυσμό, μία μελέτη 90 υγιών ατόμων δίνει ως μέσο όρο την τιμή $1,77 \pm 0,44$ με οριακά σημεία (cutoff points) τις εξής τιμές: 2,53 για φυσιολογικό BMI, 3,50 για παχύσαρκους και 3,00 στο σύνολο του πληθυσμού (143). Μία πρόσφατη μελέτη σε Ισπανικό πληθυσμό 1854 ατόμων, αναφέρει ότι το 2,6 ίσως είναι χαμηλή τιμή με υψηλό ποσοστό ψευδώς θετικών διαγνώσεων ινσουλινοαντίστασης και προτείνει το όριο 2,60 – 3,80, να θεωρείται “οριακά υψηλό” αλλά όχι θετικό για ινσουλινοαντίσταση (144). Ο μέσος όρος των τιμών της παρούσας μελέτης είναι “οριακά υψηλός” σύμφωνα με την παραπάνω μελέτη και υψηλός για το γενικότερα αποδεκτό όριο. Επειδή, όπως προαναφέρθηκε, δεν έχουν καθιερωθεί ακόμη τα κατάλληλα όρια για τον δείκτη αυτό, είναι επικίνδυνο να βγάλουμε κάποια συμπεράσματα, όμως

είναι σημαντικό να υπενθυμίσουμε ότι ο υπό μελέτη πληθυσμός παρουσιάζει μέσο BMI μία με δύο μονάδες περίπου πάνω από το ανώτατο φυσιολογικό όριο (ελαφρύς υπέρβαρος πληθυσμός).

Όσον αφορά την κορτιζόλη, ο μέσος όρος των μετρούμενων τιμών στον υπό μελέτη πληθυσμό είναι $55,5 \pm 39$ ng/ml, με μικρότερη και μεγαλύτερη τιμή 10,37 και 226,37 ng/ml αντιστοίχως. Ως τιμές αναφοράς για την πρωινή κορτιζόλη θεωρούνται οι τιμές 50-250 ng/ml (μέτρηση με RIA) (141). Σύμφωνα με αυτό το εύρος οι τιμές της παρούσας μελέτης βρίσκονται εντός των φυσιολογικών ορίων. Είναι ιδιαίτερης σημασίας να αναφερθεί ότι στη μέτρηση της κορτιζόλης παίζει σημαντικό ρόλο η μέθοδος με την οποία μετρήθηκε και είναι απαραίτητο κάθε μέθοδος να έχει τις δικές της τιμές αναφοράς (145). Επιπρόσθετα, οι τιμές διαφέρουν στην διάρκεια της ημέρας με μεγάλες διακυμάνσεις λόγω του κιρκάδιου ρυθμού, διαφέρουν με την εποχή του χρόνου (146) και εξαιτίας φυλετικών και ατομικών ιδιοτεροτήτων (147). Γεγονός που καθιστά δύσκολη την σύγκριση των διαφόρων μελετών.

Όσον αφορά την αδιπονεκτίνη, ο μέσος όρος των μετρούμενων τιμών στον υπό μελέτη πληθυσμό είναι $4,9 \pm 2,5$ μg/ml, με μικρότερη και μεγαλύτερη τιμή 1,21 και 15,96 μg/ml αντιστοίχως. Ο μέσος όρος για το γυναικείο φύλο είναι $5,8 \pm 2,7$ μg/ml, ενώ για το ανδρικό $3,7 \pm 1,7$ μg/ml. Ο πληθυσμός αυτός παρουσιάζει τιμές λίγο μικρότερες από τις συνήθεις τιμές σε άλλες μελέτες και αντίστοιχους πληθυσμούς. Για παράδειγμα, σε μία μελέτη οι υγιείς γυναίκες (Καυκάσιες στην πλειοψηφία τους) εμφανίζουν μέσο όρο αδιπονεκτίνης πλάσματος $6,18 \pm 0,67$ μg/ml (148). Επιπλέον, μελέτες που συγκρίνουν σε αντίστοιχους πληθυσμούς τις τιμές της ορμόνης σε παχύσαρκους και μη, φαίνεται ότι το υψηλότερο BMI συνεπάγεται και χαμηλότερη τιμή της αδιπονεκτίνης (π.χ. $4,7 \pm 2$ έναντι $6,8 \pm 2,2$ μg/ml, για νέους άνδρες παχύσαρκους και μη αντίστοιχα και $3,24 \pm 1,8$ έναντι $4,9 \pm 2$ μg/ml, για γυναίκες (προ εμμηνόπαυσης) παχύσαρκες και μη αντίστοιχα) (149-152).

Οι διαφορές μεταξύ των δύο φύλων όσον αφορά τα επίπεδα των υπό μελέτη ορμονών αναδείχτηκαν με την χρήση της περιγραφικής στατιστικής (κεφάλαιο 6^ο). Φάνηκε ότι μόνο η αδιπονεκτίνη παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ανδρών και γυναικών, με τις γυναίκες να εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα (μέσος όρος $5,88$ μg / ml έναντι $3,74$ μg / ml). Το συγκεκριμένο εύρημα συμβαδίζει με σειρά μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί στο παρελθόν. Παρόλο που η αδιπονεκτίνη είναι μία από τις βασικότερες ορμόνες που εκκρίνονται από τον λιπώδη ιστό, η συσχέτισή της είναι αρνητική με το ποσοστό του σωματικού λίπους και οι παχύσαρκοι παρουσιάζουν χαμηλότερα επίπεδα αδιπονεκτίνης πλάσματος (148). Πως εξηγούνται λοιπόν τα υψηλότερα επίπεδα στο γυναικείο φύλο, το οποίο παραδοσιακά φέρει μεγαλύτερο ποσοστό % σωματικού λίπους σε σχέση με το ανδρικό φύλο (και στην συγκεκριμένη μελέτη); Η απάντηση φαίνεται να οφείλεται στην κατανομή του λίπους (153-

155). Η αδιπονεκτίνη φαίνεται να συσχετίζεται με την κεντρική παχυσαρκία (σπλαχνικό λίπος) και καθώς οι γυναίκες της μελέτης μας παρουσιάζουν περισσότερο συνολικό λίπος αλλά εντοπισμένο κυρίως στα κάτω άκρα και οι άνδρες μεγαλύτερη περιφέρεια μέσης, που αντανakλά την κεντρική παχυσαρκία, τα αποτελέσματά μας είναι πλέον αναμενόμενα. Η κατανομή του λίπους επηρεάζεται άμεσα από τις ορμόνες του φύλου. Επομένως είναι πιθανόν οι ορμόνες αυτές να κρύβονται πίσω από τις φυλετικές διαφοροποιήσεις των επιπέδων της αδιπονεκτίνης. Η άποψη αυτή ενισχύεται και από τη βιβλιογραφία με μελέτες που δείχνουν επιρροή των πρόδρομων ουσιών της τεστοστερόνης και παραγώγων τους να ρυθμίζουν θετικά το γονίδιο της αδιπονεκτίνης στα λιποκύτταρα (156).

7.3 Σχολιασμός των σημαντικότερων ευρημάτων ανά ορμόνη

Πριν την ερμηνεία των σημαντικότερων ευρημάτων ανά ορμόνη, είναι σημαντικό να σχολιασθεί η χρήση των συγκεκριμένων συγχυτικών παραγόντων. Κατά την διεξαγωγή της ανάλυσης μερικών συσχετίσεων, για την ανάλυση των σχέσεων των ορμονών με τον PAF, χρησιμοποιήθηκαν κυρίως η ηλικία και το BMI, διότι αποτελούν και οι δύο βασικούς συγχυτικούς παράγοντες και όσον αφορά την ηλικία σε προηγούμενη μελέτη του εργαστηρίου στον ίδιο πληθυσμό (19), βρέθηκε σημαντική διαφοροποίηση του PAF και της δραστηριότητας των ενζύμων του ως προς τον συγκεκριμένο παράγοντα. Κατά την διεξαγωγή της ανάλυσης μερικών συσχετίσεων, για την ανάλυση των σχέσεων των ορμονών με την διατροφή, προστέθηκε και ο έλεγχος ως προς την υποκαταγραφή με σκοπό την ελάττωση της πιθανότητας σφάλματος από την αξιολόγηση της διατροφικής πρόσληψης. Για τις υπόλοιπες αναλύσεις οι συγχυτικοί παράγοντες που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται αναλυτικά στο 6^ο κεφάλαιο και η επιλογή τους βασίστηκε κυρίως σε εύρεση των παραγόντων επιρροής των επιπέδων των ορμονών σε υγιή πληθυσμό βάση της βιβλιογραφίας. Δηλαδή με περισσότερο φυσιολογική παρά στατιστική σημασία (γι' αυτό και σε πολλά μοντέλα παραμένουν παράγοντες μη στατιστικά σημαντικοί, όμως είναι ιδιαίτερης σημασίας να συμπεριληφθούν στο μοντέλο).

Στη συγκεκριμένη μελέτη η διερεύνηση των υπό μελέτη σχέσεων πραγματοποιήθηκε στο σύνολο της ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Ο σχεδιασμός της μελέτης έγινε με αυτό τον τρόπο διότι από την προηγούμενη μελέτη του εργαστηρίου μας στον ίδιο πληθυσμό (19) προέκυψε σημαντική διαφοροποίηση των μορφών του PAF (total-, bound- PAF) και της δραστηριότητας των ενζύμων του μεταβολισμού του (πλην της PAF-CPT) μεταξύ των δύο φύλων (αναλυτικά στο κεφάλαιο 6). Επιπλέον, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι στις μη στατιστικά σημαντικές διαφορές (free-PAF, PAF-CPT, και λόγοι των διαφόρων μορφών του PAF), η παρατηρούμενη

ισχύς ήταν χαμηλή <40% (19). Επομένως και οι ορμόνες που δεν παρουσίασαν διαφοροποίηση φυλετική θα έπρεπε να μελετηθούν ξεχωριστά για τα δύο φύλα.

ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ

Σχολιασμός συσχετίσεων μεταξύ της ινσουλίνης και του PAF / ενζύμων μεταβολισμού του

Στη παρούσα μελέτη προέκυψε θετική συσχέτιση του HOMA IR με την PAF-CPT μόνο στο γυναικείο φύλο, η οποία παρέμεινε στατιστικά σημαντική ακόμη και μετά από την προσθήκη διαφόρων πιθανών συγχυτικών παραγόντων στα μοντέλα πολλαπλής παλινδρόμησης. Η μεταβολική κατάσταση της ινσουλινοαντίστασης είναι στενά συνδεδεμένη με την φλεγμονή, μπορεί να αναπτυχθεί μέσα στο πλαίσιο αυτό, αλλά μπορεί και να οδηγήσει σε αυτή. Επομένως, είναι πιθανό η αυξημένη ινσουλινοαντίσταση να οδηγήσει σε υποκλινική φλεγμονή και αυτή με την σειρά της να αυξήσει τα επίπεδα της PAF-CPT, με σκοπό την αύξηση των επιπέδων του PAF. Η άποψη αυτή στηρίζεται και σε προηγούμενα ευρήματα από το ίδιο εργαστήριο που συσχετίζουν το συγκεκριμένο ένζυμο με φλεγμονώδεις κυτταροκίνες (157).

Αναλύοντας το εύρημα αυτό από μία σκοπιά περισσότερο φυσιολογικής σημασίας και σε συνδυασμό με την βιβλιογραφία που αναφέρει ότι ο PAF φαίνεται να αυξάνει την χρησιμοποίηση της γλυκόζης και του μεταβολικού ρυθμού κάθαρσής της από διάφορους ιστούς και κύτταρα (129), φαίνεται ότι ίσως με την αύξηση της PAF-CPT και επομένως και του PAF ο οργανισμός αντιμετωπίζει με αυτόν τον τρόπο την ινσουλινοαντίσταση (μηχανισμός αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης). Με την συγκεκριμένη άμυνα ο οργανισμός καταφέρει να επιτύχει τόσο την αυξημένη παροχή ενέργειας και χρησιμοποίησής της σε συνθήκες που απαιτείται (π.χ. φλεγμονή), όσο και την μείωση της “παθολογικής – επείγουσας” κατάστασης, που είναι η ινσουλινοαντίσταση (και πάλι εξοικονόμηση ενέργειας για την αντιμετώπισή της).

Γιατί η σχέση αυτή αφορά αποκλειστικά μόνο το γυναικείο φύλο, είναι μία ερώτηση που απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση με περισσότερο στοχευμένες μελέτες πάνω σε αυτό το θέμα.

Σχολιασμός συσχετίσεων μεταξύ της ινσουλίνης και των διατροφικών συνήθειών του πληθυσμού της μελέτης

Όσον αφορά τις συσχετίσεις της ινσουλίνης με τις διατροφικές συνήθειες του πληθυσμού της μελέτης, θα αναφερθούν επίσης όσες παρέμειναν στατιστικά σημαντικές και μετά την πραγματοποίηση των αναλύσεων στα μοντέλα πολλαπλής παλινδρόμησης. Πιο συγκεκριμένα, η τάση συσχέτισης τόσο της ινσουλίνης όσο και του HOMA IR με την % πρόσληψη των υδατανθράκων μόνο για το ανδρικό φύλο, είναι ένα αναμενόμενο εύρημα καθώς η πρόσληψη των υδατανθράκων αποτελεί την πηγή μακροθρεπτικών συστατικών με την αμεσότερη επίδραση στον μεταβολισμό της γλυκόζης και κατ' επέκταση στην απάντηση του οργανισμού με την έκκριση ινσουλίνης. Η θετική συσχέτιση του HOMA IR με την κατανάλωση αρτοσκευασμάτων ολικής αλέσεως για το ανδρικό φύλο, μάλλον αποδίδεται στην φύση των προϊόντων αυτών ως πηγή υδατανθράκων.

Η αρνητική συσχέτιση με το 7^ο διατροφικό πρότυπο της κατανάλωσης καφέ τόσο της ινσουλίνης όσο και του HOMA IR για το γυναικείο φύλο φαίνεται να είναι ισχυρή, ενώ αν δούμε την πρόσληψη καφέ ως μεμονωμένο τρόφιμο η σχέση αυτή παραμένει αν θέσουμε ως ανεξάρτητη μεταβλητή το BMI και χάνεται αν την αντικαταστήσουμε με την περιφέρεια μέσης. Η αρνητική αυτή συσχέτιση έρχεται σε συμφωνία με σειρά πρόσφατων μελετών που αναφέρουν την αυξημένη κατανάλωση καφέ να αποτελεί πιθανή γραμμή άμυνας απέναντι στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου II και την ινσουλινοαντίσταση (158-160). Φυσικά απαιτείται έρευνα για να καταλήξει η επιστημονική κοινότητα σε οριστική απόφαση, όμως οι ενδείξεις συμφωνούν προς αυτή την κατεύθυνση. Η διαφορά της παρούσας μελέτης είναι ότι η συσχέτιση αυτή αφορά μόνο το γυναικείο φύλο, ενώ η πλειοψηφία των υπολοίπων μελετών αναφέρουν τα συγκεκριμένα ευρήματα και στα δύο φύλα (158-160). Είτε λοιπόν οι περιορισμοί της δικής μας μελέτης δεν μας επέτρεψαν την ανάδειξη μίας τέτοιας σχέσης και για το ανδρικό φύλο, είτε ίσως το αποτέλεσμα του γυναικείου πληθυσμού να παρέσυρε και τα αποτελέσματα για το σύνολο, καθώς σε κάποιες μελέτες υπερτερούσε σε ποσοστό συμμετοχής το γυναικείο φύλο. Επιπλέον κάποιες μελέτες αναφέρουν αύξηση κατανάλωσης καφέ και αύξηση επιπέδων ινσουλίνης (158-160). Η αναφορά αυτή δεν έρχεται σε αντίθεση με την παρούσα μελέτη καθώς αφορά τιμές ινσουλίνης μετά την κατανάλωση του καφέ και όχι νηστείας (άλλωστε καταλήγουν στα ίδια συμπεράσματα). Αρκετή συζήτηση γίνεται επίσης και για το αν η σχέση αυτή με την ινσουλίνη οφείλεται στην καφεΐνη ή σε κάποιο άλλο συστατικό του καφέ, καθώς και τα αντίστοιχα προϊόντα χωρίς καφεΐνη, σε μερικές μελέτες, έδειξαν παρόμοια αποτελέσματα (160).

Η ισχυρή αρνητική συσχέτιση τόσο της ινσουλίνης όσο και του HOMA IR με όλους τους μετρούμενους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας της δίαιτας για το γυναικείο φύλο συνεπάγεται ότι η πρόσληψη τροφών πλούσιων σε αντιοξειδωτικά μπορεί να δράσει ευεργετικά στο μεταβολισμό της γλυκόζης με την μείωση της ινσουλinoαντίστασης και της υπερινσουλιναιμίας. Το γεγονός ότι η τιμή των δεικτών αντιοξειδωτικής ικανότητας της δίαιτας, δεν διαφέρει στα δύο φύλα πιθανόν να σημαίνει ότι οι ορμόνες του φύλου ή κάποιος άλλος φυλοσύνδετος παράγοντας να εμπλέκεται στο συγκεκριμένο αποτέλεσμα. Ίσως, για παράδειγμα, οι γυναίκες να μπορούν να αξιοποιήσουν και να αποδώσουν καλύτερα τα ευεργετικά αποτελέσματα μίας δίαιτας πλούσιας σε αντιοξειδωτικά στοιχεία.

Το παράδοξο εύρημα της παρούσας μελέτης είναι η αρνητική συσχέτιση του HOMA IR με την κατανάλωση γλυκών για το γυναικείο φύλο. Μία πιθανή εξήγηση ίσως κρύβεται στα ερωτηματολόγια (19), διότι τα γλυκά που αναφέρονται είναι κυρίως παραδοσιακά όπως τα γλυκά του κουταλιού, ή με βάση τους την σοκολάτα, τα οποία ανήκουν σε μία πιο “υγιεινή κατηγορία” ή τα άτομα που προτιμούν να καταναλώνουν τέτοιου είδους γλυκίσματα ακολουθούν έναν πιο υγιεινό τρόπο ζωής.

ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ

Σχολιασμός συσχετίσεων μεταξύ της κορτιζόλης και του PAF / ενζύμων μεταβολισμού του

Από την διερεύνηση της σχέσης της κορτιζόλης με τον μεταβολισμό του PAF προέκυψε μία τάση αρνητικής συσχέτισης της κορτιζόλης με το μεταβολικό πρότυπο της αυξημένης βιοσύνθεσης του PAF (αυξημένη λύσο – PAF – AT και PAF– CPT) μόνο στο γυναικείο φύλο, παρόλο που δεν φάνηκε κάποιου είδους συσχέτιση με τις διάφορες μεμονωμένες μορφές του PAF. Το παραπάνω εύρημα βρίσκεται σε συμφωνία με άλλες μελέτες από το παρελθόν (100-103) που αναφέρουν ότι τα κορτικοστεροειδή γενικότερα προκαλούν μείωση της βιοσύνθεσης του PAF και αυξάνουν τον καταβολισμό του. Αν λοιπόν τα κορτικοειδή μειώνουν την συγκέντρωση του PAF ίσως έτσι να εξηγείται, τουλάχιστον κατά ένα μέρος, τόσο η αντιφλεγμονώδη όσο και η αντι-οιδηματώδη δράση τους. Βλέποντας συνολικά τη σχέση αυτή, όπως προαναφέρθηκε στο 3^ο κεφάλαιο, ο PAF διεγείρει την έκκριση κορτιζόλης (93-98) και αυτή με τη σειρά της μειώνει την συγκέντρωση του PAF. Αυτό θα μπορούσε να αποτελέσει ένα μηχανισμό αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης με σκοπό την προστασία του οργανισμού από τις

συνέπειες μίας μη ελεγχόμενης αντίδρασης του ανοσοποιητικού συστήματος. Το ίδιο το ανοσοποιητικό αυτορυθμίζεται με την μεσολάβηση του ενδοκρινικού συστήματος.

Σχολιασμός της σχέσης της κορτιζόλης με το άγχος

Η ιδέα της συμμετοχής της κορτιζόλης σε αυτή τη μελέτη, εκτός από το γεγονός ότι είναι μία από τις σημαντικότερες ορμόνες του οργανισμού και με ενδείξεις από την βιβλιογραφία για την συσχέτισή της με τον PAF, οφείλεται και στην θετική σχέση του άγχους με τον PAF και ορισμένα ένζυμα μεταβολισμού του, που παρατηρήθηκε από προηγούμενη μελέτη του ίδιου εργαστηρίου (19). Επομένως, πραγματοποιήθηκε έλεγχος συσχετίσεων της κορτιζόλης και των μεταβλητών που αντιπροσωπεύουν την ψυχολογική κατάσταση του πληθυσμού και συγκεκριμένα τα σκορ άγχους (“συνολικό”, “παρελθόν” και “αυτό το διάστημα”). Όμως δεν βρέθηκε κάποια σχετική συσχέτιση τόσο για το σύνολο του πληθυσμού όσο και για τα δύο φύλα ξεχωριστά. Το γεγονός αυτό δηλώνει ότι η πρωινή κορτιζόλη πλάσματος ίσως δεν είναι κατάλληλος βιοχημικός δείκτης μέτρησης του άγχους και ότι η σχέση του άγχους με τον PAF ή τα ένζυμά του δεν ερμηνεύεται μέσω της κορτιζόλης ή ότι στη σχέση που βρέθηκε στην παρούσα μελέτη (αρνητική συσχέτιση της κορτιζόλης με την αυξημένη βιοσύνθεση του PAF) επίσης δεν εμπλέκεται το άγχος. Επιπλέον, παρόλο που η στενή σχέση της κορτιζόλης με το άγχος είναι δεδομένη και η κορτιζόλη χαρακτηρίζεται ως η ορμόνη - απάντηση του οργανισμού στο φυσικό και ψυχικό stress, οι διακυμάνσεις της στη διάρκεια της ημέρας και οι διαφορετικές πηγές της (πλάσμα, σίελο, κτλ) δεν επιτρέπουν την ερμηνεία αυτής της σχέσης με μαθηματικό τρόπο.

Σχολιασμός συσχετίσεων μεταξύ της κορτιζόλης και των διατροφικών συνηθειών του πληθυσμού της μελέτης

Όσον αφορά τις συσχετίσεις της κορτιζόλης με τις διατροφικές συνήθειες του πληθυσμού της μελέτης, η πλειοψηφία των συσχετίσεων που ανιχνεύτηκαν σε αυτή τη μελέτη δεν παρέμειναν στατιστικά σημαντικές μετά από την ανάλυση τους σε μοντέλα πολλαπλής παλινδρόμησης. Η μόνη σχέση που παραμένει είναι η αρνητική συσχέτιση της κορτιζόλης με την κατανάλωση φρούτων και φρούτων και λαχανικών για το γυναικείο φύλο, η οποία παραμένει και μετά από αντιστάθμιση για την ενέργεια [η αντίθετη σχέση για το ανδρικό φύλο δεν επικράτησε με την περαιτέρω ανάλυση (γραμμική παλινδρόμηση)]. Όμως το μοντέλο που

αναδεικνύει την αντίστοιχη σχέση της κορτιζόλης ως προς το διατροφικό πρότυπο κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών και όχι ως προς την κατανάλωσή τους ως μεμονωμένα τρόφιμα, δεν μπορούμε να το εμπιστευτούμε, διότι δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά από ένα μοντέλο χωρίς καθόλου ανεξάρτητες μεταβλητές. Δυστυχώς είναι σχεδόν ανύπαρκτη η βιβλιογραφία με αντικείμενο τη σχέση των επιπέδων κορτιζόλης με τις διατροφικές συνήθειες, πόσο μάλλον συγκεκριμένα για τα φρούτα και τα λαχανικά, ώστε να προκύψουν κάποια αρχικά συμπεράσματα. Ωστόσο, στη βιβλιογραφία που αναφέρεται στη σχέση αυτή, είτε η μέτρηση της κορτιζόλης απευθυνόταν σε άλλο πληθυσμό, είτε η μέτρηση δεν ήταν πρωινή (161) είτε δεν ήταν στο πλάσμα (162), για να είναι συγκρίσιμα τα αποτελέσματα. Για παράδειγμα μία ενδιαφέρουσα μελέτη σε γυναικείο πληθυσμό έδειξε ότι η συμμόρφωση με την Μεσογειακή διατροφή και η μικρότερη κατανάλωση κορεσμένου λίπους συνεπάγεται μικρότερες διαταραχές στον υποθαλαμο-υποφυσιακό- επινεφριδιακό άξονα (162). Στη παρούσα μελέτη δεν βρέθηκε συσχέτιση της πρωινής κορτιζόλης με το Med Diet Score. Ίσως, αν τελικά υπάρχει ικανότητα επίδρασης στα επίπεδα της κορτιζόλης μέσω διατροφής, να μην αντανakλάται αυτή η σχέση στις πρωινές τιμές και να απαιτείται μελέτη καθ' όλη την διάρκεια του κινκάρδιου κύκλου. Επιπλέον, στη βιβλιογραφία αναφέρεται αύξηση των επιπέδων της κορτιζόλης μετά την λήψη καφέ (160). Στη παρούσα μελέτη δεν βρέθηκε κάποια συσχέτιση της πρόσληψης καφέ με τις πρωινές τιμές κορτιζόλης, γεγονός που υποδηλώνει ότι η επίδραση του καφέ στα επίπεδα κορτιζόλης είναι μεταβατική.

ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ

Σχολιασμός συσχετίσεων μεταξύ της αδιπονεκτίνης και του PAF / ενζύμων μεταβολισμού του

Η ισχυρή θετική συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με την PAF-AH των λευκοκυττάρων μόνο για το ανδρικό φύλο που προέκυψε από τη συγκεκριμένη μελέτη παρέμεινε στατιστικά σημαντική ακόμη και μετά από την προσθήκη διαφόρων πιθανών συγχυτικών παραγόντων στα μοντέλα πολλαπλής παλινδρόμησης. Καθώς η σχέση αυτή είναι δυνατή και δεν ερμηνεύεται από άλλη μεταβλητή, είναι πολύ πιθανόν η δράση της αδιπονεκτίνης πάνω στο καταβολικό αυτό ένζυμο να είναι άμεση, ίσως και μέσω κάποιου υποδοχέα. Από φυσιολογική άποψη, επειδή η αδιπονεκτίνη ασκεί αθηροπροστατευτική και αντιφλεγμονώδη δράση (155) και ο PAF εμπλέκεται στην αθηροσκλήρωση, την φλεγμονή και την θρόμβωση, (τα πρόσφατα στοιχεία υποστηρίζουν ότι ο PAF μειώνει την συσσώρευση των αιμοπεταλίων λειτουργώντας ως αντιθρομβωτικός παράγοντας) (κεφάλαιο 1^ο), η σχέση αυτή γεννά υποθέσεις για έναν

πρόσθετο μηχανισμό της αθηροπροστατευτικής δράσης της αδιπονεκτίνης μέσω της μείωσης των επιπέδων του PAF. Τα ερωτήματα που παραμένουν και αποτελούν έναυσμα για περαιτέρω έρευνα είναι γιατί η σχέση αυτή αφορά μόνο το ανδρικό φύλο και γιατί μόνο το συγκεκριμένο ένζυμο.

Μία άλλη σημαντική συσχέτιση επίσης, είναι η ισχυρή θετική συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με το μεταβολικό πρότυπο αυξημένη PAF-CPT και PAF-AH στο ανδρικό φύλο η οποία παραμένει και στο σύνολο του πληθυσμού. Σε αυτή την περίπτωση και σε συνδυασμό με το παραπάνω εύρημα, εφόσον η αδιπονεκτίνη συσχετίστηκε μόνο με την PAF-AH και όχι με την PAF-CPT, ίσως η αύξηση της δεύτερης να συμβαίνει ως αποτέλεσμα της πρώτης σχέσης. Δηλαδή η αδιπονεκτίνη μειώνει τα επίπεδα του PAF μέσω της PAF-AH και η μείωση αυτή προκαλεί ως αντίδραση – αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση, την έναρξη της παραγωγής του PAF μέσω της αύξησης της βιοσύνθεσης του από την PAF-CPT. Η άποψη αυτή ενισχύεται και από το εύρημα της προηγούμενης μελέτης στον ίδιο πληθυσμό, όπου συσχετίστηκαν μεταξύ τους θετικά τα δύο ένζυμα (19).

Σχολιασμός συσχετίσεων μεταξύ της αδιπονεκτίνης και των διατροφικών συνηθειών του πληθυσμού της μελέτης

Εξαιτίας της σημασίας της αδιπονεκτίνης στην πρόληψη και θεραπεία διαφόρων νοσημάτων (σακχαρώδης διαβήτης τύπου II, υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, αθηροσκλήρωση) και της ικανότητάς της για την μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου, όλο και περισσότερες μελέτες διεξάγονται τα τελευταία χρόνια για την εύρεση στρατηγικών ελέγχου των επιπέδων της στο πλάσμα και κυρίως μέσω των διατροφικών συνηθειών. Οι διάφορες συσχετίσεις που ανιχνεύτηκαν σε αυτή τη μελέτη (τάση αρνητικής συσχέτισης με την % πρόσληψη των υδατανθράκων για το ανδρικό φύλο, αρνητική συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με την κατανάλωση ψαριών και αρνητική συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με το 9^ο διατροφικό πρότυπο (ελαιόλαδο) για το γυναικείο φύλο) δεν παρέμειναν στατιστικά σημαντικές και μετά την ανάλυση τους σε μοντέλα πολλαπλής παλινδρόμησης. Από την μελέτη μας λοιπόν δεν προκύπτει δυνατότητα ελέγχου των επιπέδων της αδιπονεκτίνης στο πλάσμα μέσω της διατροφής. Αντιθέτως στην βιβλιογραφία φαίνεται ότι διάφορες πρόσφατες μελέτες δείχνουν μία θετική συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με την πρόσληψη πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (n-3 PUFA) (διατροφή και συμπληρώματα) και αντιστοίχως αρνητική με την πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων, κυρίως σε ζωικά μοντέλα και σε πολύ μικρότερο ποσοστό σε ανθρώπους, όπως επίσης και θετική συσχέτιση με την πρόσληψη φυτικών ινών (163-167). Επιπρόσθετα, στην βιβλιογραφία

υπάρχουν μελέτες που αναφέρουν συσχέτιση των επιπέδων της αδιπονεκτίνης με την συμμόρφωση ως προς την Μεσογειακή διατροφή (αύξηση επιπέδων αδιπονεκτίνης σε αυξημένο Med Diet Score ή κάποιο άλλο δείκτη υγιεινής διατροφής) (164,167). Τέτοιου είδους συσχέτιση δεν φάνηκε στην δική μας μελέτη. Είτε λοιπόν οι περιορισμοί της δικής μας μελέτης δεν μας επέτρεψαν την ανάδειξη μίας τέτοιας σχέσης, είτε η συγκεκριμένη συσχέτιση δεν είναι άμεση, αλλά η αυξημένη αδιπονεκτίνη συμπίπτει με ένα πιο υγιεινό διατροφικό πρότυπο. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες για να επιβεβαιώσουν ή να απορρίψουν τις παραπάνω σχέσεις. Όσον αφορά την σχέση πρόσληψης καφέ και αδιπονεκτίνης, στην βιβλιογραφία οι απόψεις παραμένουν αντικρουόμενες (168,169) και στην παρούσα μελέτη δεν βρέθηκε αντίστοιχη συσχέτιση.

7.4 Περιορισμοί της μελέτης

Για την σωστότερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων είναι απαραίτητο να λαμβάνονται υπόψη οι περιορισμοί της μελέτης.

- 1) Ο τρόπος σχεδιασμού της μελέτης δεν επιτρέπει την εξαγωγή αιτιολογικών συμπερασμάτων παρά μόνο υποθέσεων, που μπορούν να ελεγχθούν σε επόμενες μελέτες.
- 2) Είναι πιθανό στη μελέτη να υπεισέρχονται σφάλματα αξιολόγησης της διαιτητικής πρόσληψης.
- 3) Στη συγκεκριμένη μελέτη η διερεύνηση των υπό μελέτη σχέσεων πραγματοποιήθηκε στο σύνολο της ξεχωριστά για τα δύο φύλα και ίσως σε κάποιες αναλύσεις να υπεισέρχονται σφάλματα λόγω μικρού δείγματος.
- 4) Οι ορμόνες μετρήθηκαν σε ορό νηστείας και το γεγονός αυτό ίσως στέρησε από τα αποτελέσματα την εύρεση κάποιων σχέσεων (π.χ. στη σχέση της κορτιζόλης με το άγχος μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο ο κιρκάδιος ρυθμός στο σύνολό του και όχι μόνο η πρωινή τιμή).

7.4 Συμπεράσματα

Τα κυριότερα συμπεράσματα της παρούσας μελέτης παρουσιάζονται συνοπτικά παρακάτω:

- 1) Η αδιπονεκτίνη παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ανδρών και γυναικών με τις γυναίκες να εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα, γεγονός που σχετίζεται με την κατανομή του λιπώδους ιστού και πιθανόν και τις φυλετικές ορμόνες.
- 2) Η ινσουλινοαντίσταση και η φλεγμονώδης κατάσταση που τη συνοδεύει, σχετίζεται θετικά με τα επίπεδα της PAF-CPT στις γυναίκες.
- 3) Οι διατροφικές συνήθειες που χαρακτηρίζονται από αυξημένη πρόσληψη αντιοξειδωτικών ουσιών και καφέ, φαίνεται να δρουν ευεργετικά ως προς την ινσουλινοευαισθησία και κατά της υπερινσουλιναίμιας, για το γυναικείο φύλο.
- 4) Η κορτιζόλη πιθανόν να μειώνει την συγκέντρωση του PAF μέσω της αντίστροφης σχέσης της με την αυξημένη βιοσύνθεσή του, και ίσως έτσι να εξηγείται, τουλάχιστον κατά ένα μέρος, τόσο η αντιφλεγμονώδη όσο και η αντι-οιδηματώδη δράση των κορτικοειδών.
- 5) Η πρωινή κορτιζόλη πλάσματος ίσως δεν είναι κατάλληλος βιοχημικός δείκτης μέτρησης του άγχους και η σχέση του άγχους με τον PAF ή τα ένζυμά του ίσως δεν ερμηνεύεται μέσω της κορτιζόλης.
- 6) Αν τελικά υπάρχει ικανότητα επίδρασης στα επίπεδα της κορτιζόλης μέσω διατροφής, είναι πιθανόν να μην αντανάκλαται αυτή η σχέση στις πρωινές τιμές. Ωστόσο, φαίνεται ότι η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών μειώνει τα επίπεδα πρωινής κορτιζόλης πλάσματος στις γυναίκες.
- 7) Η ισχυρή θετική συσχέτιση της αδιπονεκτίνης με την PAF-AH των λευκοκυττάρων μόνο για το ανδρικό φύλο γεννά υποθέσεις για έναν πρόσθετο μηχανισμό της αθηροπροστατευτικής δράσης της αδιπονεκτίνης μέσω της μείωσης των επιπέδων του PAF.
- 8) Από τη συγκεκριμένη μελέτη δεν προκύπτει δυνατότητα ελέγχου των επιπέδων της αδιπονεκτίνης στο πλάσμα μέσω της διατροφής.

Από την μελέτη αυτή συμπεραίνουμε την επίδραση των ορμονών στον PAF κυρίως μέσω των ενζύμων του και την πιθανή επίδραση των διατροφικών συνηθειών στα επίπεδα των ορμονών και κυρίως της ινσουλίνης. Τα ευρήματα αυτά γεννούν διάφορες υποθέσεις για πιθανούς μηχανισμούς δράσης άγνωστους μέχρι σήμερα. Επειδή οι μηχανισμοί αυτοί αφορούν τον PAF, ένα μόριο με ιδιαίτερη σημασία που μεσολαβεί σε πληθώρα λειτουργιών και συσχετίζεται με πληθώρα νοσημάτων, κατανοούμε πόσο σημαντικό είναι να διαφωτιστεί το συγκεκριμένο πεδίο. Τα παραπάνω συμπεράσματα χρήζουν περαιτέρω έρευνας για την επιβεβαίωσή τους με σκοπό να αξιοποιηθούν κατάλληλα από την επιστημονική κοινότητα και να μετατραπούν σε γνώση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Δημόπουλος Κ, Βαλαβανίδης Θ, Ευσταθίου Κ. Η χημική ένωση του μήνα: Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF). Διεθνές Έτος ΧΗΜΕΙΑΣ 2009
http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_PAF.htm
2. Tselepis A, ed. Bioactive Phospholipids. Role in Inflammation and Atherosclerosis Transworld Research Network 2008.
3. Hanahan DJ, Nelson DR. Phospholipids as dynamic participants in biological processes. J Lipid Res 1984;25:1528-35.
4. Peplow PV, Mikhailidis DP. Platelet-activating factor (PAF) and its relation to prostaglandins, leukotrienes and other aspects of arachidonate metabolism. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1990;41:71-82.
5. Venable ME, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM. Platelet-activating factor: a phospholipid autacoid with diverse actions. J Lipid Res 1993;34:691-702.
6. McManus LM, Pinckard RN. PAF, a putative mediator of oral inflammation. Crit Rev Oral Biol Med 2000;11:240-58.
7. Honda Z, Ishii S, Shimizu T. Platelet-activating factor receptor. J Biochem 2002;131:773-9.
8. Chao W, Olson MS. Platelet-activating factor: receptors and signal transduction. Biochem J 1993;292 (Pt 3):617-29.
9. Shukla SD. Platelet-activating factor receptor and signal transduction mechanisms. FASEB J 1992;6:2296-301.
10. Farooqui AA. Lipid mediators in the neural cell nucleus: their metabolism, signaling, and association with neurological disorders. Neuroscientist 2009;15:392-407.
11. Demopoulos C, Karantonis H, Antonopoulou S. Platelet-activating factor - a molecular link between atherosclerosis theories. Eur. J. Lipid Sci. Technology 2003;105:705-716.
12. Marathe GK, Prescott SM, Zimmerman GA, McIntyre TM. Oxidized LDL contains inflammatory PAF-like phospholipids. Trends Cardiovasc Med 2001;11:139-42.
13. Snyder F. Platelet-activating factor: the biosynthetic and catabolic enzymes. Biochem J 1995;305 (Pt 3):689-705.
14. Snyder F. Platelet-activating factor and its analogs: metabolic pathways and related intracellular processes. Biochim Biophys Acta 1995;1254:231-49.
15. Tjoelker LW, Stafforini DM. Platelet-activating factor acetylhydrolases in health and disease. Biochim Biophys Acta 2000;1488:102-23.

16. Macphee CH. Lipoprotein-associated phospholipase A2: a potential new risk factor for coronary artery disease and a therapeutic target. *Curr Opin Pharmacol* 2001;1:121-5.
17. Harayama T, Shindou H, Ogasawara R, Suwabe A, Shimizu T. Identification of a novel noninflammatory biosynthetic pathway of platelet-activating factor. *JBiol Chem* 2008;283:11097–106.
18. Morimoto R, Shindou H, Oda Y, Shimizu T. Phosphorylation of lysophosphatidylcholine acyltransferase 2 at Ser34 enhances platelet-activating factor production in endotoxin-stimulated macrophages. *J Biol Chem* 2010;285:29857–62.
19. Ντετοπούλου Παρασκευή, Διδακτορική Διατριβή. Διερεύνηση της σχέσης μεταβολισμού του PAF και διατροφικών παραγόντων σε ασθενείς με καρδιαγγειακή ανεπάρκεια καθώς και σε υγιείς εθελοντές. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.2010
20. Burke JE, Dennis EA. Phospholipase A2 structure/function, mechanism, and signaling. *J Lipid Res* 2009;50 Suppl:S237-42.
21. Stafforini DM, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. Platelet-activating factor acetylhydrolases. *J Biol Chem* 1997;272:17895-8.
22. Silva IT, Mello AP, Damasceno NR. Antioxidant and inflammatory aspects of lipoprotein-associated phospholipase A (Lp-PLA): a review. *Lipids Health Dis*;10:170.
23. Karasawa K. Clinical aspects of plasma platelet-activating factor-acetylhydrolase. *Biochim Biophys Acta* 2006;1761:1359-72.
24. Karabina SA, Ninio E. Plasma PAF-acetylhydrolase: an unfulfilled promise? *Biochim Biophys Acta* 2006;1761:1351-8.
25. Castro Faria Neto HC, Stafforini DM, Prescott SM, Zimmerman GA. Regulating inflammation through the anti-inflammatory enzyme platelet-activating factor-acetylhydrolase. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005;100 Suppl 1:83-91.
26. Phillis JW, Horrocks LA, Farooqui AA. Cyclooxygenases, lipoxygenases, and epoxygenases in CNS: their role and involvement in neurological disorders. *Brain Res Rev* 2006;52:201-43.
27. Karidis NP, Kouraklis G, Theocharis SE. Platelet-activating factor in liver injury: a relational scope. *World J Gastroenterol* 2006;12:3695-706.
28. Hikiji H, Takato T, Shimizu T, Ishii S. The roles of prostanoids, leukotrienes, and platelet-activating factor in bone metabolism and disease. *Prog Lipid Res* 2008;47:107-26.
29. Triggiani M, Patella V, Staiano RI, Granata F, Marone G. Allergy and the cardiovascular system. *Clin Exp Immunol* 2008;153 Suppl 1:7-11.

30. Yost CC, Weyrich AS, Zimmerman GA. The platelet activating factor (PAF) signaling cascade in systemic inflammatory responses. *Biochimie*;92:692-7.
31. Chen C, Xia SH, Chen H, Li XH. Therapy for acute pancreatitis with platelet-activating factor receptor antagonists. *World J Gastroenterol* 2008;14:4735-8.
32. Liu LR, Xia SH. Role of platelet-activating factor in the pathogenesis of acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2006;12:539-45.
33. Penna C, Bassino E, Alloatti G. Platelet activating factor: the good and the bad in the ischemic/reperfused heart. *Exp Biol Med (Maywood)*;236:390-401.
34. Orlando RC, Paterson WG, Harnett KM, et al. Esophageal disease: updated information on inflammation. *Ann N Y Acad Sci*;1232:369-75.
35. Mukai K, Obata K, Tsujimura Y, Karasuyama H. New insights into the roles for basophils in acute and chronic allergy. *Allergol Int* 2009;58:11-9.
36. Montrucchio G, Alloatti G, Camussi G. Role of platelet-activating factor in cardiovascular pathophysiology. *Physiol Rev* 2000;80:1669-99.
37. Kuebler WM, Yang Y, Samapati R, Uhlig S. Vascular barrier regulation by PAF, ceramide, caveolae, and NO - an intricate signaling network with discrepant effects in the pulmonary and systemic vasculature. *Cell Physiol Biochem*;26:29-40.
38. Zimmerman GA, McIntyre TM. PAF, ceramide and pulmonary edema: alveolar flooding and a flood of questions. *Trends Mol Med* 2004;10:245-8.
39. Uhlig S, Goggel R, Engel S. Mechanisms of platelet-activating factor (PAF)-mediated responses in the lung. *Pharmacol Rep* 2005;57 Suppl:206-21.
40. Kasperska-Zajac A, Brzoza Z, Rogala B. Platelet activating factor as a mediator and therapeutic approach in bronchial asthma. *Inflammation* 2008;31:112-20.
41. Xu W, Xia SH, Wang H, Chen H, Wang YL. Role of platelet activating factor in pathogenesis of acute respiratory distress syndrome. *Chin Med J (Engl)* 2007;120:1840-4.
42. Farooqui T, Farooqui AA. Lipid-mediated oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Parkinsons Dis*;2011:247467.
43. Bazan NG. Synaptic lipid signaling: significance of polyunsaturated fatty acids and platelet-activating factor. *J Lipid Res* 2003;44:2221-33.
44. Lopez-Novoa JM. Potential role of platelet activating factor in acute renal failure. *Kidney Int* 1999;55:1672-82.
45. Hardy P, Beauchamp M, Sennlaub F, et al. Inflammatory lipid mediators in ischemic retinopathy. *Pharmacol Rep* 2005;57 Suppl:169-90.

46. Lang F, Gulbins E, Lerche H, Huber SM, Kempe DS, Foller M. Eryptosis, a window to systemic disease. *Cell Physiol Biochem* 2008;22:373-80.
47. Lang F, Gulbins E, Lang PA, Zappulla D, Foller M. Ceramide in suicidal death of erythrocytes. *Cell Physiol Biochem*;26:21-8.
48. Esquenazi S, Bazan HE. Role of platelet-activating factor in cell death signaling in the cornea: A review. *Mol Neurobiol*;42:32-8.
49. Kenchegowda S, Bazan HE. Significance of lipid mediators in corneal injury and repair. *J Lipid Res*;51:879-91.
50. Tsuda M, Tozaki-Saitoh H, Inoue K. Platelet-activating factor and pain. *Biol Pharm Bull*;34:1159-62.
51. Tiemann U. The role of platelet-activating factor in the mammalian female reproductive tract. *Reprod Domest Anim* 2008;43:647-55.
52. Cerkiene Z, Eidukaite A, Usoniene A. Immune factors in human embryo culture and their significance. *Medicina (Kaunas)*;46:233-9.
53. Levine AS, Kort HI, Toledo AA, Roudebush WE. A review of the effect of platelet-activating factor on male reproduction and sperm function. *J Androl* 2002;23:471-6.
54. Melnikova V, Bar-Eli M. Inflammation and melanoma growth and metastasis: the role of platelet-activating factor (PAF) and its receptor. *Cancer Metastasis Rev* 2007;26:359-71.
55. Danker K, Reutter W, Semini G. Glycosidated phospholipids: uncoupling of signalling pathways at the plasma membrane. *Br J Pharmacol*;160:36-47.
56. Arthur C. Guyton, John E. Hall. *Ιατρική Φυσιολογία*. 2^η Ελληνική έκδοση, εκδόσεις Παρισιάνος, 1998
57. Μιχαήλ Αποστολάκης. *Στοιχεία Φυσιολογίας του Ανθρώπου*. 3^η έκδοση, 1996
58. Μπατρίνος Μενέλαος. *Σύγχρονη Ενδοκρινολογία*. Ιατρικές εκδόσεις Πασχαλίδη 1999
59. Jara LJ, Navarro C, Medina G, Vera-Lastra O, Blanco F. Immune-neuroendocrine interactions and autoimmune diseases. *Clin Dev Immunol* 2006;13:109-23.
60. Eskandari F, Webster JI, Sternberg EM. Neural immune pathways and their connection to inflammatory diseases. *Arthritis Res Ther* 2003;5:251-65.
61. Chapman CR, Tuckett RP, Song CW. Pain and stress in a systems perspective: reciprocal neural, endocrine, and immune interactions. *J Pain* 2008;9:122-45.
62. Silverman MN, Heim CM, Nater UM, Marques AH, Sternberg EM. Neuroendocrine and immune contributors to fatigue. *PM R*;2:338-46.

63. Silverman MN, Pearce BD, Biron CA, Miller AH. Immune modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during viral infection. *Viral Immunol* 2005;18:41-78.
64. Coutinho AE, Chapman KE. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Mol Cell Endocrinol*;335:2-13.
65. Sternberg EM. Neuroendocrine regulation of autoimmune/inflammatory disease. *J Endocrinol* 2001;169:429-35.
66. Silverman MN, Sternberg EM. Neuroendocrine-immune interactions in rheumatoid arthritis: mechanisms of glucocorticoid resistance. *Neuroimmunomodulation* 2008;15:19-28.
67. Pace TW, Hu F, Miller AH. Cytokine-effects on glucocorticoid receptor function: relevance to glucocorticoid resistance and the pathophysiology and treatment of major depression. *Brain Behav Immun* 2007;21:9-19.
68. Harbuz M. Neuroendocrine function and chronic inflammatory stress. *Exp Physiol* 2002;87:519-25.
69. Brunton PJ, Russell JA. Attenuated hypothalamo-pituitary-adrenal axis responses to immune challenge during pregnancy: the neurosteroid opioid connection. *J Physiol* 2008;586:369-75.
70. Gerez J, Bonfiglio J, Sosa S, et al. Molecular transduction mechanisms of cytokine-hormone interactions: role of gp130 cytokines. *Exp Physiol* 2007;92:801-6.
71. Klein JR. The immune system as a regulator of thyroid hormone activity. *Exp Biol Med* (Maywood) 2006;231:229-36.
72. Kamath J, Yarbrough GG, Prange AJ, Jr., Winokur A. The thyrotropin-releasing hormone (TRH)-immune system homeostatic hypothesis. *Pharmacol Ther* 2009;121:20-8.
73. Tomaszewska-Zaremba D, Herman A. The role of immunological system in the regulation of gonadoliberin and gonadotropin secretion. *Reprod Biol* 2009;9:11-23.
74. Tanriverdi F, Silveira LF, MacColl GS, Bouloux PM. The hypothalamic-pituitary-gonadal axis: immune function and autoimmunity. *J Endocrinol* 2003;176:293-304.
75. Kivity S, Ehrenfeld M. Can we explain the higher prevalence of autoimmune disease in women? *Expert Rev Clin Immunol*;6:691-4.
76. Arck P, Hansen PJ, Mulac Jericevic B, Piccinni MP, Szekeres-Bartho J. Progesterone during pregnancy: endocrine-immune cross talk in mammalian species and the role of stress. *Am J Reprod Immunol* 2007;58:268-79.

77. Yu-Lee LY. Prolactin modulation of immune and inflammatory responses. *Recent Prog Horm Res* 2002;57:435-55.
78. Tsampalas M, Gridelet V, Berndt S, Foidart JM, Geenen V, Perrier d'Hauterive S. Human chorionic gonadotropin: a hormone with immunological and angiogenic properties. *J Reprod Immunol*;85:93-8.
79. Geara AS, Castellanos MR, Bassil C, et al. Effects of parathyroid hormone on immune function. *Clin Dev Immunol*;2010.
80. Taub DD. Neuroendocrine interactions in the immune system. *Cell Immunol* 2008;252:1-6.
81. O'Connor JC, McCusker RH, Strle K, Johnson RW, Dantzer R, Kelley KW. Regulation of IGF-I function by proinflammatory cytokines: at the interface of immunology and endocrinology. *Cell Immunol* 2008;252:91-110.
82. Bernotiene E, Palmer G, Gabay C. The role of leptin in innate and adaptive immune responses. *Arthritis Res Ther* 2006;8:217.
83. Hsu HC, Mountz JD. Metabolic syndrome, hormones, and maintenance of T cells during aging. *Curr Opin Immunol*;22:541-8.
84. Pittman DQ. A neuro-endocrine-immune symphony. *J Neuroendocrinol*;23:1296-7.
85. Babaei A, Zarkesh-Esfahani SH, Bahrami E, Ross RJ. Restricted leptin antagonism as a therapeutic approach to treatment of autoimmune diseases. *Hormones (Athens)*;10:16-26.
86. Khan WI, Ghia JE. Gut hormones: emerging role in immune activation and inflammation. *Clin Exp Immunol*;161:19-27.
87. Malarkey WB, Mills PJ. Endocrinology: the active partner in PNI research. *Brain Behav Immun* 2007;21:161-8.
88. Cutolo M, Straub RH. Insights into endocrine-immunological disturbances in autoimmunity and their impact on treatment. *Arthritis Res Ther* 2009;11:218.
89. Kumar R, Yeragani VK. Penfield - A great explorer of psyche-soma-neuroscience. *Indian J Psychiatry*;53:276-8.
90. Tariverdian N, Theoharides TC, Siedentopf F, et al. Neuroendocrine-immune disequilibrium and endometriosis: an interdisciplinary approach. *Semin Immunopathol* 2007;29:193-210.
91. Wright RJ. Stress and atopic disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:1301-6.
92. Epel ES. Psychological and metabolic stress: a recipe for accelerated cellular aging? *Hormones (Athens)* 2009;8:7-22.

93. Rougeot C, Junier MP, Minary P, Weidenfeld J, Braquet P, Dray F. Intracerebroventricular injection of platelet-activating factor induces secretion of adrenocorticotropin, beta-endorphin and corticosterone in conscious rats: a possible link between the immune and nervous systems. *Neuroendocrinology* 1990;51:267-75.
94. Han L, Yang H, Shimada T, et al. Effect of PAF receptor antagonists on adrenocortical secretion induced by ACTH in normal and athymic nude mice. *Life Sci* 1998;62:715-26.
95. Aikawa T, Hirose T, Matsumoto I, et al. Effect of platelet-activating factor on cortisol and corticosterone secretion by perfused dog adrenal. *Lipids* 1991;26:1108-11.
96. Shimada T, Hirose T, Matsumoto I, Aikawa T. Platelet-activating factor acts on cortisol secretion by perfused guinea-pig adrenals via calcium-/phospholipid-dependent mechanisms. *J Endocrinol* 2005;184:381-91.
97. Yang H, Koyanagi M, Matsumoto I, Shimada T, Han L, Aikawa T. Corticosterone secretion in response to serotonin and ACTH by perfused adrenal of normal and athymic nude mice. *Life Sci* 1995;56:1727-39.
98. Harris JG, Flower RJ, Perretti M. Endogenous corticosteroids mediate the neutrophilia caused by platelet-activating factor in the mouse. *Eur J Pharmacol* 1995;283:9-18.
99. Shimada T, Hirose T, Matsumoto I, Aikawa T. Cross-regulation of cortisol secretion by adrenocorticotropin and platelet-activating factor in perfused guinea pig adrenals. *J Endocrinol* 2007;195:29-38.
100. Ihara Y, Frenkel RA, Johnston JM. Hormonal regulation of platelet-activating factor-acetyltransferase activity in rat tissues. *Arch Biochem Biophys* 1993;304:503-7.
101. Parente L, Flower RJ. Hydrocortisone and 'macrocortin' inhibit the zymosan-induced release of lyso-PAF from rat peritoneal leucocytes. *Life Sci* 1985;36:1225-31.
102. Friedman E, Novoa E, Crespo A, et al. Effect of hydrocortisone on platelet activating factor induced lung edema in isolated rabbit lungs. *Respir Physiol* 2000;120:61-9.
103. Nauck M, Roth M, Tamm M, et al. Induction of vascular endothelial growth factor by platelet-activating factor and platelet-derived growth factor is downregulated by corticosteroids. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;16:398-406.
104. Shi Y, Yan GT, Lin J. Intestinal ischemia-reperfusion injury made leptin decreased. *Regul Pept* 2006;133:27-31.
105. Beltowski J, Wojcicka G, Jamroz A. Leptin decreases plasma paraoxonase 1 (PON1) activity and induces oxidative stress: the possible novel mechanism for proatherogenic effect of chronic hyperleptinemia. *Atherosclerosis* 2003;170:21-9.

106. Slomiany BL, Slomiany A. Interference by leptin with *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide-induced cytosolic phospholipase A2 activation in gastric mucosal cells. *J Physiol Pharmacol* 2007;58:117-30.
107. Satoh K, Imaizumi T, Yoshida H, Takamatsu S. Effect of 17 beta-estradiol on secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase by HepG2 cells. *Metabolism* 1993;42:672-7.
108. Li L, Yasuda K, Matsubara T, et al. Estrogen effects on platelet-activating factor and platelet-activating factor acetylhydrolase activity in rat uterus during the late stages of pregnancy. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 1999;57:219-30.
109. Ohshige A, Ito M, Koyama H, Maeda T, Yoshimura T, Okamura H. Effects of estrogen and progesterone on platelet-activating factor acetylhydrolase activity in ovariectomised rats. *Artery* 1994;21:234-42.
110. Yoshimura T, Ohshige A, Maeda T, Ito M, Okamura H. Estrogen replacement therapy decreases platelet-activating factor-acetylhydrolase activity in post-menopausal women. *Maturitas* 1999;31:249-53.
111. Ohshige A, Ito M, Koyama H, Maeda T, Yoshimura T, Okamura H. Effects of estrogen and progesterone on plasma platelet-activating factor-acetylhydrolase activity and low-density lipoprotein cholesterol concentration in men. *Artery* 1996;22:115-24.
112. Yasuda K, Takashima M, Sawaragi I. Influence of a cigarette smoke extract on the hormonal regulation of platelet-activating factor acetylhydrolase in rats. *Biol Reprod* 1995;53:244-52.
113. Seo KH, Lee HS, Jung B, et al. Estrogen enhances angiogenesis through a pathway involving platelet-activating factor-mediated nuclear factor-kappaB activation. *Cancer Res* 2004;64:6482-8.
114. Kojima T, Hinds LA, Muller WJ, O'Neill C, Tyndale-Biscoe CH. Production and secretion of progesterone in vitro and presence of platelet activating factor (PAF) in early pregnancy of the marsupial, *Macropus eugenii*. *Reprod Fertil Dev* 1993;5:15-25.
115. Tiemann U, Bucher K, Pfarrer C, et al. Influence of ovarian steroid hormones or platelet-activating factor on mRNA of platelet-activating factor receptor in endometrial explant perfusion cultures from ovariectomized bovine. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2005;76:35-47.
116. Sato S, Kume K, Takan T, Mutoh H, Taketani Y, Shimizu T. Up-regulation of the intracellular Ca²⁺ signaling and mRNA expression of platelet-activating factor receptor by estradiol in human uterine endometrial cells. *Adv Exp Med Biol* 1996;416:95-100.

117. Yang W, Diehl JR, Yerle M, et al. Chromosomal location, structure, and temporal expression of the platelet-activating factor receptor (PAFr) gene in porcine endometrium and embryos relative to estrogen receptor alpha gene expression. *Mol Reprod Dev* 2003;64:4-12.
118. Chami O, Evans G, O'Neill C. Components of a platelet-activating factor-signaling loop are assembled in the ovine endometrium late in the estrous cycle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;287:E233-40.
119. Yasuda K, Furukawa M, Johnston JM. Effect of estrogens on plasma platelet-activating factor acetylhydrolase and the timing of parturition in the rat. *Biol Reprod* 1996;54:224-9.
120. O'Neill C. Activity of platelet-activating factor acetylhydrolase in the mouse uterus during the estrous cycle, throughout the preimplantation phase of pregnancy, and throughout the luteal phase of pseudopregnancy. *Biol Reprod* 1995;52:965-71.
121. Chami O, O'Neill C. Identification and regulation of the platelet-activating factor acetylhydrolase activity in the mouse uterus in early pregnancy. *Reprod Fertil Dev* 2001;13:367-76.
122. Yasuda K, Johnston JM. The hormonal regulation of platelet-activating factor-acetylhydrolase in the rat. *Endocrinology* 1992;130:708-16.
123. Miyaura S, Maki N, Byrd W, Johnston JM. The hormonal regulation of platelet-activating factor acetylhydrolase activity in plasma. *Lipids* 1991;26:1015-20.
124. Giussani DA, Parks JE, Hough SR, Jenkins SL, Winter JA, Nathanielsz PW. Relationship between androstenedione-induced myometrial contractions and platelet-activating factor acetylhydrolase in late gestation in pregnant rhesus monkeys. *Biol Reprod* 1997;56:247-52.
125. Muguruma K, Komatz Y, Ikeda M, Sugimoto T, Saito K. Platelet-activating factor (PAF) in male reproductive organs of guinea pigs and rats: effect of androgen on PAF in seminal vesicles. *Biol Reprod* 1993;48:386-92.
126. Baldi E, Falsetti C, Krausz C, et al. Stimulation of platelet-activating factor synthesis by progesterone and A23187 in human spermatozoa. *Biochem J* 1993;292 (Pt 1):209-16.
127. Kudolo GB, Koopmans SJ, Haywood JR, DeFronzo RA. Chronic hyperinsulinemia inhibits platelet-activating factor (PAF) biosynthesis in the rat kidney. *J Lipid Mediat Cell Signal* 1997;16:23-37.
128. Evans RD, Ilic V, Williamson DH. Metabolic effects of platelet-activating factor in rats in vivo. Stimulation of hepatic glycogenolysis and lipogenesis. *Biochem J* 1990;269:269-72.

129. Ottlakan A. Role of platelet-activating factor in glucose uptake and utilization of different tissues. *Eur Surg Res* 1998;30:393-402.
130. Ersoy B, Huseyinov A, Darcan S. The role of platelet-activating factor in pathogenesis of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2005;28:980.
131. Memon RA, Saeed SA, Jabbar A, et al. Altered platelet activating factor metabolism in insulin dependent diabetes mellitus. *J Pak Med Assoc* 1995;45:122-5.
132. Kudolo GB, DeFronzo RA. Urinary platelet-activating factor excretion is elevated in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 1999;57:87-98.
133. Wegner M, Araszkievicz A, Piorunska-Mikolajczak A, Zozulinska-Ziolkiewicz D, Wierusz-Wysocka B, Piorunska-Stolzmann M. The evaluation of IL-12 concentration, PAF-AH, and PLA(2) activity in patients with type 1 diabetes treated with intensive insulin therapy. *Clin Biochem* 2009;42:1621-7.
134. Gomes MB, Cobas RA, Nunes E, Nery M, Castro-Faria-Neto HC, Tibirica E. Serum platelet-activating factor acetylhydrolase activity: a novel potential inflammatory marker in type 1 diabetes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2008;87:42-6.
135. Gomes MB, Cobas RA, Nunes E, et al. Plasma PAF-acetylhydrolase activity, inflammatory markers and susceptibility of LDL to in vitro oxidation in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2009;85:61-8.
136. Serban M, Tanaseanu C, Kosaka T, et al. Significance of platelet-activating factor acetylhydrolase in patients with non-insulin-dependent (type 2) diabetes mellitus. *J Cell Mol Med* 2002;6:643-7.
137. Mutoh H, Fukuda T, Kitamaoto T, et al. Tissue-specific response of the human platelet-activating factor receptor gene to retinoic acid and thyroid hormone by alternative promoter usage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:774-9.
138. Fernandez V, Clavell E, Villasmil JJ, et al. [Basal insulin levels in a Zulia State population in Venezuela]. *Invest Clin* 2006;47:167-77.
139. Francois A, Maumus S, Vincent-Viry M, Gueguen R, Siest G, Visvikis S. Age- and sex-related reference values for serum insulin concentration and its biological determinants in a French healthy population. The STANISLAS cohort. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:1140-9.
140. Ogutu EO, Orinda DA. Fasting insulin levels in normal Kenyan Africans and a case report on insulinoma. *East Afr Med J* 1989;66:830-3.

141. Kratz A, Ferraro M, Sluss PM, Lewandrowski KB. Case records of the Massachusetts General Hospital. Weekly clinicopathological exercises. Laboratory reference values. *N Engl J Med* 2004;351:1548-63.
142. Ascaso JF, Pardo S, Real JT, Lorente RI, Priego A, Carmena R. Diagnosing insulin resistance by simple quantitative methods in subjects with normal glucose metabolism. *Diabetes Care* 2003;26:3320-5.
143. Kuwana B, Urayama O, Kawai K. [Reference value and cut-off value for diagnosis of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus]. *Rinsho Byori* 2002;50:398-403.
144. Qu HQ, Li Q, Rentfro AR, Fisher-Hoch SP, McCormick JB. The definition of insulin resistance using HOMA-IR for Americans of Mexican descent using machine learning. *PLoS One*;6:e21041.
145. Gatti R, Antonelli G, Prearo M, Spinella P, Cappellin E, De Palo EF. Cortisol assays and diagnostic laboratory procedures in human biological fluids. *Clin Biochem* 2009;42:1205-17.
146. Maes M, Mommen K, Hendrickx D, et al. Components of biological variation, including seasonality, in blood concentrations of TSH, TT3, FT4, PRL, cortisol and testosterone in healthy volunteers. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1997;46:587-98.
147. Reynolds RM, Fischbacher C, Bhopal R, et al. Differences in cortisol concentrations in South Asian and European men living in the United Kingdom. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;64:530-4.
148. Ryan AS, Berman DM, Nicklas BJ, et al. Plasma adiponectin and leptin levels, body composition, and glucose utilization in adult women with wide ranges of age and obesity. *Diabetes Care* 2003;26:2383-8.
149. Hara T, Fujiwara H, Shoji T, Mimura T, Nakao H, Fujimoto S. Decreased plasma adiponectin levels in young obese males. *J Atheroscler Thromb* 2003;10:234-8.
150. Kwon K, Jung SH, Choi C, Park SH. Reciprocal association between visceral obesity and adiponectin: in healthy premenopausal women. *Int J Cardiol* 2005;101:385-90.
151. Shand B, Elder P, Scott R, Frampton C, Willis J. Biovariability of plasma adiponectin. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:1264-8.
152. Koenig W, Khuseyinova N, Baumert J, Meisinger C, Lowel H. Serum concentrations of adiponectin and risk of type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease in apparently healthy middle-aged men: results from the 18-year follow-up of a large cohort from southern Germany. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1369-77.
153. Staiger H, Tschritter O, Machann J, et al. Relationship of serum adiponectin and leptin concentrations with body fat distribution in humans. *Obes Res* 2003;11:368-72.

154. Garaulet M, Hernandez-Morante JJ, de Heredia FP, Tebar FJ. Adiponectin, the controversial hormone. *Public Health Nutr* 2007;10:1145-50.
155. Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes Care* 2003;26:2442-50.
156. Hernandez-Morante JJ, Milagro F, Gabaldon JA, Martinez JA, Zamora S, Garaulet M. Effect of DHEA-sulfate on adiponectin gene expression in adipose tissue from different fat depots in morbidly obese humans. *Eur J Endocrinol* 2006;155:593-600.
157. Detopoulou P, Nomikos T, Fragopoulou E, et al. Platelet activating factor (PAF) and activity of its biosynthetic and catabolic enzymes in blood and leukocytes of male patients with newly diagnosed heart failure. *Clin Biochem* 2009;42:44-9.
158. Bidel S, Hu G, Sundvall J, Kaprio J, Tuomilehto J. Effects of coffee consumption on glucose tolerance, serum glucose and insulin levels--a cross-sectional analysis. *Horm Metab Res* 2006;38:38-43.
159. van Dam RM, Pasman WJ, Verhoef P. Effects of coffee consumption on fasting blood glucose and insulin concentrations: randomized controlled trials in healthy volunteers. *Diabetes Care* 2004;27:2990-2.
160. MacKenzie T, Comi R, Sluss P, et al. Metabolic and hormonal effects of caffeine: randomized, double-blind, placebo-controlled crossover trial. *Metabolism* 2007;56:1694-8.
161. Martens MJ, Rutters F, Lemmens SG, Born JM, Westerterp-Plantenga MS. Effects of single macronutrients on serum cortisol concentrations in normal weight men. *Physiol Behav*;101:563-7.
162. Garcia-Prieto MD, Tebar FJ, Nicolas F, Larque E, Zamora S, Garaulet M. Cortisol secretory pattern and glucocorticoid feedback sensitivity in women from a Mediterranean area: relationship with anthropometric characteristics, dietary intake and plasma fatty acid profile. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;66:185-91.
163. Silva FM, de Almeida JC, Feoli AM. Effect of diet on adiponectin levels in blood. *Nutr Rev*;69:599-612.
164. Reis CE, Bressan J, Alfenas RC. Effect of the diet components on adiponectin levels. *Nutr Hosp*;25:881-8.
165. Puglisi MJ, Hasty AH, Saraswathi V. The role of adipose tissue in mediating the beneficial effects of dietary fish oil. *J Nutr Biochem*;22:101-8.
166. Yeung EH, Appel LJ, Miller ER, 3rd, Kao WH. The effects of macronutrient intake on total and high-molecular weight adiponectin: results from the OMNI-Heart trial. *Obesity (Silver Spring)*;18:1632-7.

167. Fragopoulou E, Panagiotakos DB, Pitsavos C, et al. The association between adherence to the Mediterranean diet and adiponectin levels among healthy adults: the ATTICA study. *J Nutr Biochem*;21:285-9.
168. Marques-Vidal P, Bochud M, Paccaud F, Mooser V, Waeber G, Vollenweider P. Distribution of plasma levels of adiponectin and leptin in an adult Caucasian population. *Clin Endocrinol (Oxf)*;72:38-46.
169. Williams CJ, Fargnoli JL, Hwang JJ, et al. Coffee consumption is associated with higher plasma adiponectin concentrations in women with or without type 2 diabetes: a prospective cohort study. *Diabetes Care* 2008;31:504-7.