

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Πτυχιακή μελέτη με θέμα:

ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ ΚΑΙ
ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ
ΣΤΗ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟ

Επιβλέπων καθηγητής: Ζαμπέλας Α.
Μέλη εξεταστικής επιτροπής: Σκοπούλη Φ.
Δεδούσης Γ.

Επιμέλεια: Σηφακάκη Μ.

ΠΤΥ
ΣΗΦ

Αθήνα, 2004

Ευχαριστίες...

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε κατά το χρονικό διάστημα 2003-2004, με θέμα την επίδραση του κόκκινου κρασιού στην ενδοθηλιακή λειτουργία κατά τη στεφανιαία νόσο. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Ζαμπέλα Α. για την ανάθεση του εξαιρετικά ενδιαφέροντος θέματος, καθώς και για την επίβλεψη του καθ' όλη τη διάρκεια συγγραφής της μελέτης. Επίσης ευχαριστώ θερμά την κ. Καρατζή Π., χωρίς τη βοήθεια της οποίας θα ήταν πολύ πιο δύσκολη η εκπόνηση της συγκεκριμένης πτυχιακής. Την ευχαριστώ για την πολύτιμη συνεισφορά της με την προσφορά άρθρων, την καθοδήγηση, τις προσεκτικές, ακριβείς και έγκαιρες διορθώσεις της αλλά και για την ψυχολογική υποστήριξη. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Δεδούση Γ. και την κ. Σκοπούλη Φ. ως μέλη της εξεταστικής επιτροπής καθώς και όλους όσους μου συμπαραστάθηκαν κατά τη διάρκεια του τελευταίου πανεπιστημιακού έτους.

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ	
Α. ΑΤ. Β.:	
Π. :	12.984
Σ. Υ. Φ. :	10058
Ταξ. Υ. Φ. :	ΠΤΥΧΗΦ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση των μηχανισμών μέσω των οποίων το κόκκινο κρασί επιδρά στην ενδοθηλιακή λειτουργία και πώς αυτό μπορεί να επηρεάσει την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης και κατ' επέκταση την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου. Αρχικά γίνεται σύντομη αναφορά των κυριότερων λειτουργιών των ενδοθηλιακών κυττάρων και των παραγόντων που εκκρίνονται και ρυθμίζουν τον αγγειακό τόνο, συμμετέχουν στην πήξη και την ινωδόλυση, διαμεσολαβούν τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις και παίζουν ρόλο στην αγγειογένεση. Ακολούθως περιγράφεται ο τρόπος με τον οποίο σχηματίζεται η αθηρωματική πλάκα και επεμβαίνει στη φυσιολογική λειτουργία του ενδοθηλίου.

Η μέτρια πρόσληψη κόκκινου κρασιού φαίνεται να είναι ικανή να αναστρέψει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που παρατηρείται κατά την αθηρωμάτωση, μειώνοντας την εμφάνιση καρδιοαγγειακών νοσημάτων. Η επίδραση του κόκκινου κρασιού είναι η συνισταμένη μεταξύ της δράσης των πολυφαινολών και της δράσης του αλκοόλ. Έτσι, όσον αφορά την αγγειοδιαστολή, οι πολυφαινόλες επάγουν τη χάλαση του λείου μυός των αγγείων καθώς αυξάνουν την απελευθέρωση του NO- κύριος αγγειοδιασταλτικός παράγοντας που εκκρίνεται από το ενδοθήλιο. Αν και το αλκοόλ σε χαμηλή ποσότητα φαίνεται να έχει αντίστοιχη επίδραση με αυτή των πολυφαινολών, η χρόνια κατανάλωση του οδηγεί τελικά σε μείωση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής. Το κόκκινο κρασί επηρεάζει επίσης τους παράγοντες της πήξης και της ινωδόλυσης. Αναστέλλει την αιμοπεταλιακή συσσώρευση και ελαττώνει τα επίπεδα του ινωδογόνου και του ιστικού παράγοντα, ενώ ταυτόχρονα εμποδίζει την παραγωγή θρομβοξάνης. Επίσης περιορίζει την έκκριση κυτταροκινών (π.χ. TNF- α , ιντερλευκίνη 1 β), οι οποίες ενεργοποιούν διάφορα είδη κυττάρων, που συμμετέχουν στο σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας, και γενικότερα καταστέλλει τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις που παρατηρούνται κατά την αθηρωμάτωση. Για παράδειγμα, οι πολυφαινόλες μειώνουν την έκφραση των μορίων προσκόλλησης ενώ η αιθανόλη συμβάλλει στη μείωση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, ενός από τους πιο σημαντικούς δείκτες της φλεγμονής. Τέλος, ο καρδιοπροστατευτικός ρόλος του κόκκινου κρασιού αποδίδεται κυρίως στην ικανότητα που έχουν οι πολυφαινόλες να αναστέλλουν την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών και να δρουν ως εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών, εμποδίζοντας την καταστροφή αντιοξειδωτικών, όπως η α-τοκοφερόλη. Εν τούτοις, το αλκοόλ έχει την ακριβώς αντίθετη δράση, δηλαδή επάγει την παραγωγή ελευθέρων ριζών και περοξειδίων, δρώντας προ-οξειδωτικά.

Επομένως, η επίδραση του κόκκινου κρασιού *in vino* θα εξαρτηθεί από τη συνδυασμένη δράση των πολυφαινόλων και της αιθανόλης. Η υπεροχή του αναφορικά με άλλα είδη ποτών όσον αφορά τη μείωση της εμφάνισης στεφανιαίας νόσου συχνά αποδίδεται στην υψηλή περιεκτικότητα του σε πολυφαινόλες. Ωστόσο, θα πρέπει να ληφθούν υπόψη και διάφοροι άλλοι παράγοντες όπως η ποσότητα, η συχνότητα και ο τρόπος πρόσληψης κόκκινου κρασιού καθώς και το προφίλ των ατόμων που το προτιμούν έναντι άλλων αλκοολούχων ποτών. Συνοψίζοντας θα μπορούσαμε να πούμε ότι το κόκκινο κρασί ασκεί προστατευτική δράση στη λειτουργία του ενδοθηλίου αλλά απαιτείται επιπλέον έρευνα προκειμένου να διαλευκανθούν πλήρως οι μηχανισμοί μέσω των οποίων περιορίζεται η αθηρωμάτωση και κατ' επέκταση μειώνεται η πιθανότητα εμφάνισης στεφανιαίας νόσου.

4. Κόκκινο κρασί, πίεση και αιθάλη

σελ. 50-55

5. Κόκκινο κρασί και φλεγμονή

σελ. 66-72

6. Κόκκινο κρασί και οξειδωση

σελ. 79-101

α) πολυφαινόλες

σελ. 83-95

β) αλκοόλ

σελ. 96-99

7. Αλκοόλ και HDL

σελ. 102-105

Συζήτηση

σελ. 106-110

Βιβλιογραφία

σελ. 111

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.Εισαγωγή	σελ. 1
α)Ενδοθηλιακή λειτουργία	σελ. 1-10
β)Αθηρωμάτωση και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία	σελ. 11-14 σελ. 15-19
2. Κόκκινο κρασί	
α)συστατικά	σελ. 20-27
β)επιδημιολογική έρευνα	σελ. 27-36
3. Κόκκινο κρασί και ενδοθηλιακή αγγειοκινητικότητα	σελ. 37-49
4. Κόκκινο κρασί :πήξη και ινωδόλυση	σελ. 50-65
5. Κόκκινο κρασί και φλεγμονή	σελ. 66-78
6. Κόκκινο κρασί και οξειδωση	σελ. 79-101
α)πολυφαινόλες	σελ. 83-95
β) αλκοόλ	σελ. 95-99
7. Αλκοόλ και HDL	σελ. 102-105
Συζήτηση	σελ. 106-110
Βιβλιογραφία	σελ. 111

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

Συντομογραφία	Αγγλική ονομασία	Ελληνική ονομασία
LDL	Low Density Lipoprotein	Λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας
MM-LDL	Middly modified LDL	Ελαφρώς τροποποιημένη LDL
HDL	High Density Lipoprotein	Λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας
t PA	Tissue plasminogen activator	Ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor	Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου
CRP	C-reactive protein	C -Αντιδρώσα πρωτεΐνη
ADP	Adenosine diphosphate	Διφωσφορική αδενοσίνη
VCAM-1	Vascular Cell Adhension Molecule-1	Ενδοθηλιακό μόριο προσκόλλησης 1
ICAM-1	Intracellular Cell Adhension Molecule-1	Διαμεμβρανικό μόριο προσκόλλησης 1
IL-1	Interleukin-1	Ιντερλευκίνη-1
IL-6	Interleukin-6	Ιντερλευκίνη-6
IL-10	Interleukin-10	Ιντερλευκίνη 10
MCP-1	Monocyte Chemotactic Protein-1	Μονοκυτταρική χημειοελκτική πρωτεΐνη 1
NO	Nitric Oxide	Μονοξείδιο του αζώτου
iNOS	Inducible nitric oxide synthase	Συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου των μακροφάγων
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase	Ενδοθηλιακή συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου
LPS	Lipopolysacharide	Βακτηριακή ενδοτοξίνη
AP-1	Activator protein-1	Ενεργός πρωτεΐνη 1
NF- κ B	Nuclear Factor - κ B	Πυρηνικός Παράγοντας κB
INF-γ	Interferon-γ	Ιντερφερόνη-γ
CINC	Cytokine-induced neutrophil chemoattractant	Χημειοελκτικός παράγοντας ουδετερόφιλων
TNF-a	Tumor necrosis factor a	Παράγοντας νέκρωσης των όγκων α
HUVECs	Human umbilical vein endothelial cells	Ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα
VSMCs ή SMCs	Vascular smooth muscle cells	Λεία μυϊκά κύτταρα
BMI	Body Mass Index	ΔΜΣ-Δείκτης μάζας σώματος
Ang II	Angiotensin II	Αγγειοτενσίνη II
ROS	Reactive Oxygen Species	Ενεργές ρίζες οξυγόνου

ADMA	Asymmetric dimethyl arginine	Ασυμμετρική διμεθυλ-αργινίνη
cGMP	Cyclic guanosine monophosphate	Μονοφωσφορική γουανυλική κυκλάση
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate	Μονοφωσφορική κυκλάση της αδενοσίνης
vWF	Von Willebrand factor	Παράγοντας Von Willebrand
ET-1	Endothelin-1	Ενδοθηλίνη-1
PDGF	Platelet derived growth factor	Αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor	Αγγειακός αυξητικός παράγοντας του ενδοθηλίου
EDHF	Endothelial Derived Hyperpolarising Factor	Ενδοθηλιακός υπερπολωτικός παράγοντας
PGI ₂	prostacyclin	προστακυκλίνη
TFPI	Tissue Factor Pathway Inhibitor	Αναστολέας ιστικής οδού
FMD	Flow-mediated vasodilation	Αντιδραστική υπεραιμία
SOD	Superoxide dismutase	Δισμουτάση του υπεροξειδίου
RWPCs	Red wine polyphenolic compounds	Μίγμα πολυφαινολών κόκκινου κρασιού
L-NAME	N-nitro-L-arginine methylester	Αζωτο μεθυλεστέρας της L –αργινίνης
TBARS	Thiobarbitouric acid reactive species	Ενεργές ρίζες θειβαρβιτουρικού οξέος
TF	Tissue factor	Ιστικός παράγοντας

των οποίων η απελευθέρωση επιδράει ως κινητικό στοιχείο στην αγγειοσυστολή, αυξάνοντας την αγγειοσύσφιξη και μειώνοντας την αγγειοδιαστολή.

ΑΔΕΥΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΕΣ

ΕΛΑΤΕΙΟΛΙΑΣΤΟΛΗ-ΑΙΤΕΙΟΣΥΣΤΟΛΗ

Ο όρος μας των συστολών μπορεί να είναι λάθος, καθώς οι συστολές των αγγείων είναι συστολή αναδράστη, ενώ οι συσφίξεις είναι συστολές αγγειοσυστολές. Αυτή η συστολική συστατική δραστηριότητα των αγγείων είναι το αποτέλεσμα ενός βασικού επίπεδο συστολής που μπορεί να αυξηθεί ή να μειωθεί από διάφορα εξωτερικά σήματα. Η άρση των συστολών έρχεται από την αγγειοδιαστολή, στη συγκέντρωση του κινητικού σήματος στο κέντρο του αγγείου.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το ενδοθήλιο είναι το μεγαλύτερο ρυθμιστικό όργανο στον ανθρώπινο οργανισμό. Έχει επιφάνεια 350m^2 , βάρος $1,5\text{kg}$ και καλύπτει όλα τα αγγεία (Michiels, 2003). Παλαιότερα θεωρείτο μία ημιπερατή μεμβράνη μεταξύ αίματος και ιστών, χωρίς ενεργό ρόλο (Amoroso et al., 2001). Ωστόσο σήμερα θεωρείται όργανο σε δυναμική κατάσταση που προσαρμόζεται ανάλογα στις διάφορες συνθήκες.

Είναι υπεύθυνο για τη μεταφορά ουσιών μεταξύ αίματος και ιστών. Ρυθμίζει τον αγγειακό τόνο μέσω των διαδικασιών της αγγειοσυστολής και της αγγειοδιαστολής. Συμμετέχει στην πήξη και την ινωδόλυση αλλά και σε φλεγμονώδεις αντιδράσεις με την παραγωγή κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων. Αν και ο ρυθμός παραγωγής ενδοθηλιακών κυττάρων είναι χαμηλός αυξάνεται σε ορισμένες περιπτώσεις –π.χ. έπειτα από τραυματισμό ή σε μεταστάσεις όγκων –συμβάλλοντας στην αγγειογένεση.

Απώλεια ενός ή περισσότερων λειτουργιών του ενδοθηλίου οδηγεί σε παθολογικές καταστάσεις. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία εμφανίζεται κυρίως ως αποτέλεσμα αθηρωμάτωσης, μιας χρόνιας κατάστασης που μειώνει τη διάμετρο του αρτηριακού τοιχώματος και κατ' επέκταση την αιματική ροή. Αυξημένη έκκριση κυτταροκινών, απώλεια αγγειοδιασταλτικής ικανότητας και έλλειψη ισορροπίας μεταξύ προπηκτικών και αντιπηκτικών μηχανισμών αποτελούν ενδείξεις ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, η οποία συνδέεται άμεσα με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου.

Παρακάτω αναλύονται οι λειτουργίες των ενδοθηλιακών κυττάρων και ο τρόπος με τον οποίο η αθηρωμάτωση επεμβαίνει και προκαλεί αλλαγή του φυσιολογικού τους ρόλου, αυξάνοντας την πιθανότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων.

Α.ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ

1.ΑΓΓΕΙΟΔΙΑΣΤΟΛΗ-ΑΓΓΕΙΟΣΥΣΤΟΛΗ

Ο λείος μυς των αγγείων κατέχει μεγάλο βαθμό αυτογενούς δραστηριότητας δηλαδή επιδεικνύει συστολή ανεξάρτητα από οποιοδήποτε νευρικό, ορμονικό ή παρακρινικό ερέθισμα. Αυτή η αυτογενής συσταλτική δραστηριότητα καλείται ενδογενής τόνος. Έτσι τίθεται ένα βασικό επίπεδο συστολής που μπορεί να αυξηθεί ή να μειωθεί από διάφορα εξωτερικά σήματα. Η δράση των σημάτων έγκειται στο να προκαλούν αλλαγές στη συγκέντρωση του κυτοσολικού ασβεστίου στο μυϊκό κύτταρο. Τα

ενδοθηλιακά κύτταρα συμβάλλουν στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου καθώς εκκρίνουν διάφορους παρακρινείς παράγοντες οι οποίοι διαχέονται στον λείο μυ των παρακείμενων αγγείων και προκαλούν είτε χάλαση, είτε συστολή (Vander et al, 2001).

Ως αγγειοδιαστολή ορίζεται η μείωση στη συσταλτική δύναμη πάνω από τα επίπεδα του ενδογενούς τόνου. Χαρακτηρίζεται από χάλαση του λείου μυός και αύξηση της ακτίνας του αγγείου (Vander et al, 2001). Ο πιο σημαντικός ίσως παρακρινής αγγειοδιαστολέας που εκκρίνεται από το ενδοθήλιο είναι το μονοξειδίο του αζώτου NO (βλ. πίνακα 1.1). Πριν την ταυτοποίηση του ονομαζόταν ενδοθηλιογενής παράγοντας χάλασης (Endothelium Derived Relaxing Factor, EDRF) αλλά αυτή η ονομασία χρησιμοποιείται ακόμη διότι μπορεί να υπάρχουν και άλλες ουσίες που μπορεί να ταιριάζουν σ' αυτόν τον ορισμό. Η μετατροπή της L-αργινίνης σε NO και κιτρουλίνη με τη βοήθεια της ενδοθηλιακής συνθετάσης του NO (endothelial Nitric Oxide Synthase, e NOS) οδηγεί σε παραγωγή NO (Δημόπουλος, 2000). Συμπαράγοντες στην αντίδραση είναι η καλμοδουλίνη, το NADPH και η τετραϋδροβιοπτερίνη BH₄ (Behrendt et al., 2002). Το NO έχει χρόνο ημίσειας ζωής κάποια δευτερόλεπτα. Όταν συντεθεί διαχέεται στο κυττόςόλιο των λείων μυϊκών κυττάρων και ενεργοποιεί τη γουανυλική κυκλάση με άμεσο αποτέλεσμα την αύξηση του c GMP (Russo et al., 2002). Αυτό οδηγεί στη δραστηριοποίηση των πρωτεϊνικών κινασών που με τη σειρά τους φωσφορυλιώνουν διάφορες μεμβρανικές πρωτεΐνες στο σαρκοπλασματικό δίκτυο. Η φωσφορυλίωση προκαλεί μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης Ca (Horn et al., 2002). Έτσι ελαττώνεται ο σχηματισμός συμπλόκου Ca-καλμοδουλίνης-μυοσίνης και εμποδίζεται η αγγειοσυστολή (Gewaltig et al., 2002). Το NO έχει προστατευτική δράση διότι ρυθμίζει τον αγγειακό τόνο και συνεπώς την αρτηριακή πίεση, βασικό παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη στεφανιαίας νόσου. Η συνεχής παραγωγή NO σε χαμηλά επίπεδα αυξάνεται σε αλλαγή συγκέντρωσης οξυγόνου, σε απόκριση ακετυλοχολίνης, βραδυκινίνης, σεροτονίνης κτλ (Russo et al., 2002). Το υπεύθυνο ένζυμο eNOS παραμένει σε ανενεργή μορφή. Η ενεργοποίηση του εξαρτάται από ενδοκυττάρια συγκέντρωση Ca (Newman et al., 2004): οι υποδοχείς ενεργοποιούνται με την επίδραση ουσιών όπως η θρομβίνη ή ισταμίνη, απομακρύνεται η καβεολίνη που είναι μεμβρανικός αναστολέας και απελευθερώνεται eNOS από την κυτταρική μεμβράνη. Η δραστηριότητα του ενζύμου ρυθμίζεται και σε μεταγραφικό επίπεδο: ουσίες όπως η ινσουλίνη, ο ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (Vascular Endothelium Growth Factor, VEGF),

ο βασικός αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (basic Fibroblast Growth Factor, bFGF) αυξάνουν την έκφραση της ενώ υποξία και οξειδωμένη LDL τη μειώνουν (Govers et al., 2001).

Πίνακας 1.1- Δράσεις NO

ΔΡΑΣΕΙΣ NO&ΚΥΤΤΑΡΑ-ΣΤΟΧΟΙ	
Ενδοθηλιακά κύτταρα	Ρυθμίζει τη διαπερατότητα Εμποδίζει την προσκόλληση των λευκοκυττάρων Προάγει τον πολλ/μο
Λεία μυϊκά κύτταρα	Ευνοεί την αγγειοδιαστολή Εμποδίζει τον πολλ/μο
Αιμοπετάλια	Εμποδίζει την ενεργοποίηση Μειώνει τη συσσώρευση
Λευκοκύτταρα	Εμποδίζει την προσκόλληση στο ενδοθήλιο

(Russo et al. Vasoactive substances: NO and endothelial dysfunction in atherosclerosis. Vasc Pharmacol 2002; 38:259-269)

Εκτός από το NO, το ενδοθήλιο απελευθερώνει επίσης προστακυκλίνη(PGI₂) και ενδοθηλιακό υπερπολωτικό παράγοντα (Endothelial Derived Hyperpolarising Factor, EDHF). Η προστακυκλίνη ανήκει στα εικοσανοειδή και προέρχεται από τον μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος με τη βοήθεια της κυκλοοξυγενάσης (Russo et al., 2002). Έχει χρόνο ημίσειας ζωής μερικά λεπτά και προκαλεί αγγειοδιαστολή ενεργοποιώντας την αδενυλική κυκλάση και αυξάνοντας τα επίπεδα c AMP. Ο EDHF εκκρίνεται ως απόκριση σε ισταμίνη, βραδυκινίνη και ακετυλοχολίνη (Amoroso et al., 2001). Δρα ενεργοποιώντας τους τασεοευαίσθητους διαύλους καλίου στα λεία μυϊκά κύτταρα και προκαλεί υπερπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης προάγοντας την αγγειοδιαστολή (Ndiaye et al., 2003)

Το ενδοθήλιο αντισταθμίζει τις αγγειοδιασταλτικές ιδιότητες των προαναφερθέντων ουσιών με την παραγωγή αγγειοσυσταλτικών πεπτιδίων. Η κυριότερη αγγειοσυσταλτική ουσία είναι η ενδοθηλίνη-1 (ET-1). Δεν αποθηκεύεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα αλλά συντίθεται de novo ως απάντηση σε χημικά (θρομβίνη, αγγειοτενσίνη II, κυτοκίνες κτλ) ή φυσικά (υποξία, αυξημένη αιματική ροή) ερεθίσματα (Michiels, 2003). Η έκκριση της ενισχύεται κατά τη συσσώρευση

αιμοπεταλίων και μειώνεται με την επίδραση NO. Με την επίδραση της ενδοθηλίνης τα αγγεία συστέλλονται βραδέως αλλά η συστολή τους είναι παρατεταμένη (Russo et al., 2002). Αρχικά εκκρίνεται η προ-ενδοθηλίνη από την επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και μετατρέπεται σε ενδοθηλίνη με το αντίστοιχο μετατρεπτικό ένζυμο (Vander et al, 2001). Τα πεπτίδια της ενδοθηλίνης είναι τριών ειδών ET-1, ET-2, ET-3. Στα αγγεία υπάρχουν δύο ειδών υποδοχείς. Οι ET_A των λείων μυϊκών κυττάρων που έχουν υψηλή συγγένεια για ET-1, ET-2 αλλά όχι για ET-3. Αντιθέτως οι υποδοχείς ET_B βρίσκονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και έχουν τον ίδιο βαθμό συγγένειας και για τους 3 τύπους ενδοθηλίνης. Πρόσδεση στους ET_B υποδοχείς έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση EDRF/PGI₂ που αντιτίθεται στην αγγειοσυσταλτική ιδιότητα της ET-1. Αυτό εξηγεί την παροδική αγγειοδιαστολή που προηγείται της συστολής των αγγείων (Michiels, 2003).

Ένας ακόμη σημαντικός παράγοντας που συμβάλλει στην αγγειοσυστολή είναι η αγγειοτενσίνη II (Ang II). Πρόκειται για μία πεπτιδική ορμόνη και προέρχεται από τη μετατροπή του αγγειοτενσινογόνου σε αγγειοτενσίνη I από ένα ειδικό ένζυμο του ήπατος τη ρενίνη (Vander et al, 2001). Κατόπιν με τη βοήθεια του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης, το οποίο βρίσκεται σε πολύ υψηλή συγκέντρωση στην ενδοαυλική επιφάνεια των τριχοειδικών ενδοθηλιακών κυττάρων παράγεται η αγγειοτενσίνη II (Schiffin, 2002). Υπάρχουν 2 ειδών υποδοχείς για την αγγειοτενσίνη II. Οι υποδοχείς τύπου 1 είναι υπεύθυνοι για την αγγειοσυστολή, την εναπόθεση εξωκυττάριου υλικού, τη φλεγμονή και την κυτταρική μετανάστευση (Burnier, 2001). Ο ρόλος των υποδοχέων τύπου 2 δεν έχει ακόμη διασαφηνιστεί.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ των αγγειοκινητικών ουσιών (Lavalley et al., 2001). Παράγοντες που προκαλούν την απελευθέρωση ενδοθηλίνης όπως π.χ. θρομβίνη ενισχύουν επίσης την έκκριση αγγειοδιασταλτικών ουσιών (PGI₂, EDRF) που αντιτίθεται στην αγγειοσυσταλτική δράση της ενδοθηλίνης. Από την άλλη το ενδοθήλιο εκκρίνει EDRF και PGI₂ που αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων, εκκρίνει όμως και ET-1, η οποία έχει ακριβώς αντίθετη δράση δηλ. επάγει τον πολλαπλασιασμό τους. Ωστόσο η τελική αγγειακή απάντηση θα είναι το αποτέλεσμα της συντονισμένης δράσης των ουσιών που ρυθμίζουν τον ενδογενή τόνο και μπορεί να μεταβληθεί σε παθοφυσιολογικές καταστάσεις (Michiels, 2003).

2.ΠΗΞΗ&ΘΡΟΜΒΩΣΗ

Η εσωτερική επιφάνεια του ενδοθηλίου έχει διπλό ρόλο: αντιπηκτικό και αντιθρομβωτικό. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν μια σειρά μορίων υπεύθυνα για τη ρύθμιση της πήξης του αίματος και για τον περιορισμό της δημιουργίας θρόμβου.

Όταν τραυματιστεί κάποιο αγγείο άμεσο αποτέλεσμα είναι η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και η προσκόλληση τους στο σημείο της αγγειακής βλάβης με σκοπό τη δημιουργία θρόμβου και την αποκατάσταση του αγγειακού τοιχώματος. Προκειμένου να εμποδιστεί η επέκταση του θρόμβου κατά μήκος του υγιούς ενδοθηλίου, τα κύτταρα συνθέτουν και απελευθερώνουν κάποιες ουσίες. Τα κυριότερα αντιπηκτικά μόρια είναι η προστακυκλίνη και το NO. Εκτός από την αγγειοδιασταλτική τους δράση, αναστέλλουν επίσης την ενεργοποίηση και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Δρουν συνεργιστικά, το μεν NO αυξάνει την συγκέντρωση της c GMP, η δε PGI₂ αυξάνει την c AMP (Μαρμαράς, 2000). Η c GMP ενεργοποιεί πρωτεϊνικές κινήσεις, οι οποίες φωσφορυλιώνουν μία πρωτεΐνη, τη φωσφολαμπάνη. Αυτή με τη σειρά της ενεργοποιεί την σαρκοπλασματική ΑΤΡάση (sarcoendoplasmatic reticulum ATPase) οδηγώντας σε μείωση του ενδοκυττάριου Ca (Trepakova et al., 1999). Επιπλέον η c GMP εμποδίζει τη διάσπαση της c AMP. Κατ' επέκταση υψηλά επίπεδα και των δύο (c GMP, c AMP) μειώνουν την ενδοκυττάρια συγκέντρωση Ca και αναστέλλουν έτσι τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (Gewaltig et al., 2002).

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα απελευθερώνουν επίσης τον αναστολέα της ιστικής οδού (Tissue Factor Pathway Inhibitor, TFPI). Εκκρίνεται στην αρχική φάση της θρόμβωσης και δεσμεύεται στα συμπλέγματα ιστικού παράγοντα-παράγοντα VII_a, αναστέλλοντας την ικανότητα αυτών των συμπλεγμάτων να δημιουργούν τον παράγοντα X_a (Golino et al., 2003). Κατ' επέκταση παράγονται μικρές μόνο ποσότητες θρομβίνης, βασική πήκτική ουσία και εμποδίζεται η περαιτέρω πήξη του αίματος.

Η αντιπηκτική ικανότητα του ενδοθηλίου περιλαμβάνει και την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C (Protein C, PRO-C) (Selwyn, 2003). Πιο συγκεκριμένα όταν η θρομβίνη συνδεθεί με τον ενδοθηλιακό πρωτεϊνικό υποδοχέα της τη θρομβομοντουλίνη παύει να λειτουργεί ως πήκτική πρωτεΐνη και μετατρέπεται σε ισχυρό ενεργοποιητή της πρωτεΐνης C. Αυτή με τη σειρά της αδρανοποιεί παρουσία ιόντων ασβεστίου και πρωτεΐνης S δύο βασικούς παράγοντες της πήξης: τον VII_a και τον V_a (μονοπάτι πρωτεΐνης C-S) (Μουτσόπουλος, 2002). Επομένως η σύνθετη

σύνδεση μεταξύ θρομβίνης και θρομβομοντουλίνης περιορίζει τις υπερπηκτικές δράσεις της πρώτης.

Ένας ακόμη αντιπηκτικός μηχανισμός του ενδοθηλίου είναι η ενεργοποίηση της αντιθρομβίνης III. Πρόκειται για μία πρωτεΐνη του πλάσματος που συντίθεται στο ήπαρ και αδρανοποιεί τη θρομβίνη και διάφορους παράγοντες πήξης (IX_{α} , X_{α} , XI_{α} , XII_{α}) (Hirsh et al., 2001). Σχηματισμός συμπλόκου μεταξύ αντιθρομβίνης και ηπαρίνης προκαλεί δομική αλλαγή στο ενεργό κέντρο της αντιθρομβίνης και ενισχύει τη δράση της (Minamiya et al., 2004). Η ηπαρίνη είναι μία γλυκοπρωτεΐνη που βρίσκεται στις μεμβράνες των ενδοθηλιακών κυττάρων (Δημόπουλος, 2000). Έτσι το ενδοθήλιο εμποδίζει έμμεσα την πήξη, δεσμεύοντας την αντιθρομβίνη και προάγοντας την αδρανοποίηση των παραγόντων της πήξης.

Το ενδοθήλιο συμμετέχει επίσης και στην ινωδόλυση. Ενώ οι παραπάνω ουσίες (TFPI, PRO-C, αντιθρομβίνη III) σκοπό έχουν τον περιορισμό της δημιουργίας θρόμβου, το ινωδολυτικό σύστημα συμβάλλει στη λύση του θρόμβου αφότου έχει δημιουργηθεί. Η αντιθρομβωτική ικανότητα του ενδοθηλίου φαίνεται από τη ρύθμιση της έκφρασης του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tissue Plasminogen Activator, tPA) και του αναστολέα του (Plasminogen Acivator Inhibitor, PAI-1) (Michiels, 2003). Ο tPA μετατρέπει το πλασμινογόνο σε πλασμίνη. Έπειτα η πλασμίνη αποσυνθέτει το σταθεροποιημένο ινώδες σε διαλυτά θραύσματα ινώδους (Sazonava et al., 2004). Από τη στιγμή που θα διαλυθεί το ινώδες προκαλείται λύση του θρόμβου και απομάκρυνση του. Ωστόσο υπάρχουν ειδικοί αναστολείς που εμποδίζουν τη δράση της πλασμίνης π.χ. PAI-1. Ο PAI-1 συνδέεται άμεσα με τους ενεργοποιητές της ινωδόλυσης και σχηματίζει σταθερό σύμπλοκο (Selwyn, 2003). Πρόσφατα ανακαλύφθηκε ο ινωδολυτικός αναστολέας της θρομβίνης: πρόκειται για μία καρβοξυπεπτιδάση που απομακρύνει καρβοξυτελικά υπόλοιπα από το ινώδες (Bajzar et al., 1996). Αυτό οδηγεί σε απώλεια σύνδεσης της πλασμίνης με τον tPA. Συνεπώς κλείνοντας θα μπορούσαμε να πούμε ότι η φυσιολογική λειτουργία του ενδοθηλίου εξασφαλίζει την έκφραση του tPA έναντι του PAI-1 ή άλλων αναστολέων, επάγοντας μ' αυτόν τον τρόπο τη λύση των θρόμβων και εξασφαλίζοντας την ομαλή αιματική ροή.

3.ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Ως φλεγμονή ορίζεται η τοπική προστατευτική απόκριση του οργανισμού σε μόλυνση ή ιστική βλάβη. Κύρια χαρακτηριστικά της είναι η εμφάνιση πόνου, θερμότητας, ερυθρότητας και οιδήματος (Μουτσόπουλος, 2002). Μικροσκοπικά περιλαμβάνει μία αλληλουχία γεγονότων: αρχικά διαστέλλονται τα τριχοειδή και αυξάνεται η ροή του αίματος στη φλεγμαίνουσα περιοχή. Κατόπιν μεταβάλλεται η διαπερατότητα των αγγείων για τις πρωτεΐνες με αποτέλεσμα τη διάχυση τους στο μεσοκυττάριο χώρο. Η διαδικασία ολοκληρώνεται με τη χημειοταξία, δηλαδή την έξοδο των λευκοκυττάρων από τα φλεβίδια, τη δέσμευση τους στο σημείο της φλεγμονής και τελικά την ιστική επιδιόρθωση (Vander et al., 2001). Οι κύριοι ρυθμιστές της φλεγμονώδους αντίδρασης είναι τα λευκοκύτταρα. Ωστόσο τα κύτταρα του ενδοθηλίου παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο καθώς εκκρίνουν τοπικούς μεσολαβητές της φλεγμονής.

Σε περίπτωση ιστικής βλάβης διεγείρεται η έκκριση κυτταροκινών (π.χ. παράγοντας νέκρωσης των όγκων-Tumor Necrosis Factor, TNF , ιντερλευκίνη-1 Interleukin-1, IL-1 κ.α.) από διάφορους τύπους κυττάρων όπως π.χ. λεμφοκύτταρα ή μακροφάγα:πρόκειται για μόρια χαμηλού M.B. που ρυθμίζουν την ανοσολογική απόκριση και ενεργοποιούν τα ενδοθηλιακά κύτταρα (Vander et al., 2001). Πιο συγκεκριμένα επάγουν τη σύνθεση μορίων προσκόλλησης (ανοσογλοβίνες) (cellular adhesion molecules-CAMs) από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αυτά τα μόρια είναι το ενδοθηλιακό μόριο σύνδεσης λευκοκυττάρων τύπου 1 (Endothelium Leukocyte Adhesion Molecule-1, ELAM-1) (Fuste et al., 2004), το διακυτταρικό συνδετικό μόριο-1 (Intracellular Adhesion Molecule-1, ICAM-1) (Ridker et al., 1998) και το αγγειακό συνδετικό μόριο-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1, VCAM-1) (Anderson et al., 2004). Τα γονίδια που κωδικοποιούν τη σύνθεση των μορίων προσκόλλησης ελέγχονται από τον πυρηνικό παράγοντα NF-κβ (Gewaltig et al., 2002). Το βασικότερο ερέθισμα για την ενεργοποίηση του είναι το ενδοαγγειακό οξειδωτικό στρες (Au-Yeung et al., 2004) . Αναστολή της έκφρασης του NF-κβ εμποδίζει την παραγωγή μορίων προσκόλλησης και κατ' επέκταση μειώνει την προσέλκυση των λευκοκυττάρων. Βασικό ρόλο στην αναστολή του NF-κβ παίζει το NO. Έχει βρεθεί ότι η οξείδωση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, όπως το λινολεϊκό, αποτελεί σημαντικό ενδιάμεσο στάδιο στη μεταγραφή του NF-κβ. Αυτή η οξείδωση μπορεί να εμποδιστεί από το NO (Khan et al., 1996). Επομένως, εκτός των άλλων ιδιοτήτων του, το NO μειώνει εμμέσως και την προσκόλληση των λευκοκυττάρων.

Εκτός από την παραγωγή κυτταροκινών, το ενδοθήλιο επάγει και την απελευθέρωση διαφόρων παραγόντων. Π.χ. ο βασικός αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (b FGF) που επάγει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων, πιθανώς μέσω έκκρισης VEGF (Belgore et al., 2003) και ο αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων (Platelet Derived Growth Factor, PDGF) για τη μετακίνηση των λείων μυϊκών κυττάρων από τον μυϊκό στον υπενδοθηλιακό χιτώνα (Nishishita et al., 2004).

Περίληπτικά, η είσοδος των λευκοκυττάρων στα σημεία του τραύματος ή της φλεγμονής περιλαμβάνει 3 στάδια: προσέλκυση, προσκόλληση και διείσδυση των λευκοκυττάρων στον υπενδοθηλιακό χώρο. Η προσέλκυση τους από το αίμα γίνεται με τις σελεκτίνες (Kannagi et al., 2004). Είναι μία οικογένεια διαμεμβρανικών γλυκοπρωτεϊνών που αναγνωρίζουν και δεσμεύουν μία ειδική ομάδα τεσσάρων σακχάρων από την άκρη υδατανθρακικών αλυσίδων (Kannagi et al., 2004). Τα λευκοκύτταρα διαθέτουν L-selectin, τα ενδοθηλιακά E-selectin ενώ η P-selectin βρίσκεται και στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα αιμοπετάλια (Μαρμαράς, 2000). Επομένως γίνεται σύνδεση μεταξύ της L-selectin των λευκοκυττάρων και της P-selectin ή της E-selectin των ενδοθηλιακών κυττάρων. Κατόπιν γίνεται η προσκόλληση. Ενεργό ρόλο έχουν οι χημειοκίνες: πρόκειται για κυτταροκίνες με ισχυρή χημειοτακτική ιδιότητα (Vander et al., 2001). Με την επίδραση τους ενεργοποιούνται οι λευκοκυτταρικές ιντεγκρίνες και συνδέονται με τις ανοσογλοβίνες που βρίσκονται στην ενδοθηλιακή επιφάνεια. Οι ιντεγκρίνες είναι διαμεμβρανικοί πρωτεϊνικοί υποδοχείς που εκτός από τη μεταγωγή μηνυμάτων συμμετέχουν και στη σύνδεση των λευκοκυττάρων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα (Μαρμαράς, 2000). Ορισμένες από τις ιντεγκρίνες που συμμετέχουν είναι η LFA-1 (lymphocyte function associated antigen) για τη σύνδεση με το μόριο ICAM-1 και η VLA4 (very late antigen) για τη σύνδεση με το VCAM-1 (Μουτσόπουλος, 2002). Τέλος η διείσδυση των λευκοκυττάρων από τον αγγειακό στον υπενδοθηλιακό χώρο επιτυγχάνεται με τη δράση του συνδετικού μορίου αιμοπεταλίων/ενδοθηλίου (platelet/endothelial cell adhesion molecule, PECAM-1). Εκφράζεται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, των μονοκυττάρων, των ουδετερόφιλων και των ενδοθηλιακών κυττάρων (Fukuda et al., 2004). Ομοιοπολικοί δεσμοί μεταξύ ενδοθηλιακού PECAM-1 και λευκοκυτταρικού PECAM-1 διευκολύνουν και ολοκληρώνουν τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων στο σημείο της φλεγμονής (Michiels, 2003).

4.ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του αγγειακού τοιχώματος. Στους ενήλικες ο ρυθμός πολλαπλασιασμού ενδοθηλιακών κυττάρων είναι χαμηλός και φυσιολογικά η ανάπτυξη νέων αγγείων συμβαίνει μόνο σε περίπτωση επούλωσης τραύματος (Michiels, 2003). Ωστόσο αν η παραγωγή των κυττάρων αυξηθεί υπερβολικά, τότε η αγγειογένεση οδηγεί σε παθολογικές καταστάσεις (όγκοι).

Ο αγγειακός αυξητικός παράγοντας του ενδοθηλίου (VEGF) αποτελεί βασικό καθοδηγητή για τη δημιουργία ανώριμων κυττάρων του αγγειακού τοιχώματος (Ferrara, 1999). Έχει την ικανότητα να επηρεάσει την αγγειακή διαπερατότητα και προωθεί τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων (Belgore et al., 2003). Οι υποδοχείς του είναι κινάσες τυροσίνης και βρίσκονται είτε στο αγγειακό ενδοθήλιο (VEGFR1, VEGFR2), είτε στο λεμφικό (VEGFR3) και ο κύριος υποδοχέας που είναι υπεύθυνος για τον πολλ/μο και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων είναι ο VEGFR2(Ferrara, 1999).

Υποστηρικτικό ρόλο στη δράση του VEGF έχουν οι αγγειοποιητίνες (Michiels, 2003). Η ωρίμανση του αγγειακού τοιχώματος υποβοηθείται και από τις επινεφρίνες. Αν και χαρακτηρίζουν κυρίως το ΚΝΣ, οι επινεφρίνες που εκφράζονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι η EphA, η EphB2 και η EphB4. Η EphB2 είναι υπεύθυνη για τη δημιουργία του ενδοθηλίου των αρτηριδίων ενώ η EphB4 για των φλεβιδίων. Ωστόσο φαίνεται ότι εμπλέκονται στα αρχικά στάδια διότι ο μηχανισμός μέσω του οποίου θα δημιουργηθούν τελικά τα φλεβίδια και τα αρτηρίδια παραμένει άγνωστος (Adams et al., 1999).

Η αγγειογένεση αποτελεί βασική προϋπόθεση για την ανάπτυξη των όγκων και τη μετάσταση (Salven et al., 1999 Orpana et al., 1999). Όταν διαταραχθεί η ισορροπία μεταξύ προαγγειογενετικών και αντιαγγειογενετικών παραγόντων εις βάρος των πρώτων τότε παρατηρείται πολλ/μος των ενδοθηλιακών κυττάρων και μετανάστευση τους. Η όλη διαδικασία συνίσταται στην καταστροφή της βασικής μεμβράνης των ενδοθηλιακών κυττάρων μετά την απελευθέρωση πρωτεασών, τη διήθηση τους στο μεσοκυττάριο χώρο, τον πολλ/μο τους που πυροδοτείται από διάφορους παράγοντες (VEGF, Ang 1, bFGF) και τελικά τη διαφοροποίηση τους σε ώριμα αγγεία αίματος (Michiels, 2003).

Η ωρίμανση των νέων αγγείων προϋποθέτει σχηματισμό νέας μεμβράνης και υποβοηθείται από τη συγκέντρωση λείων μυϊκών κυττάρων. Κύριο σήμα για την

έναρξη της είναι το μεταβολικό στρες (Μαρμαράς, 2000). Πιο συγκεκριμένα οι περισσότεροι όγκοι περιλαμβάνουν περιοχές χαμηλής περιεκτικότητας σε οξυγόνο. Αυτή σχετίζεται με διαφορετική έκφραση γονιδίων επιτρέποντας στα κύτταρα και τους ιστούς να προσαρμόζονται ανάλογα (Semenza, 2000). Λ.χ. αυξάνεται η έκφραση ειδικών γλυκολυτικών ενζύμων όπως ο μεταφορέας γλυκόζης (GLUT1), τρανσφερίνη, ερυθροποιητίνη, VEGF κτλ. που συμμετέχουν στην προσαρμογή του κυττάρου σε κατάσταση υποξίας (Ogana et al., 1999).

Εν τούτοις οι όγκοι δε σχηματίζονται πάντα από ομοιογενές στρώμα ενδοθηλιακών κυττάρων και δε λειτουργούν σωστά, οδηγώντας σε παθολογικές καταστάσεις (Hobbs et al., 1998).

Συνοπτικά οι λειτουργίες του ενδοθηλίου που αναφέρθηκαν παρατίθενται στον πίνακα 1.2. Ακολουθεί περιγραφή της αθηρωματικής διαδικασίας και πώς αυτή μεταβάλλει την ενδοθηλιακή λειτουργία, προδιαθέτοντας για την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου.

Πίνακας 1.2-Ενδοθηλιακές λειτουργίες

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ & ΕΚΚΡΙΣΗ ΥΠΕΥΘΥΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ

1. Ρύθμιση αγγειακού τόνου (NO, προσταγλανδίνες, EDHF, ET-1, Ang-II)
2. Πήξη του αίματος και θρόμβωση (NO, tPA, PAI-1, θρομβομοντουλίνη, ιστικός παράγοντας, von Willibrand factor, ηπαρίνη)
3. Έλεγχος φλεγμονωδών αντιδράσεων (MCP-1, VCAM-1, ICAM-1, σελεκτίνες, ιντερλευκίνες,)
4. Αγγειογένεση (VEGF)

B. ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗ ΚΑΙ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ

Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου εκδηλώνεται ως η απώλεια ενός ή περισσότερων εκ των φυσιολογικών λειτουργιών των ενδοθηλιακών κυττάρων. Το ενδοθήλιο ρυθμίζει την αγγειακή ομοιόσταση προωθώντας την αγγειοδιαστολή και την ινωδόλυση και εμποδίζοντας την πήξη, τη δημιουργία θρόμβου και τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις όταν δεν είναι απαραίτητες. Από την στιγμή που διαταράσσεται αυτή η ισορροπία το ενδοθήλιο μεταπίπτει σε μία προπηκτική και προθρομβωτική κατάσταση, χωρίς να επιτρέπει την ομαλή κυκλοφορία του αίματος. Η αξιολόγηση της δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου έχει προγνωστική αξία καθώς σχετίζεται με την πιθανότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων (Wilansky et al., 2003).

1. ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗ

Η αθηροσκλήρυνση είναι μία πάθηση που προσβάλλει τις μεγάλου και μέσου μεγέθους αρτηρίες και χαρακτηρίζεται από πάχυνση του τμήματος του αιμοφόρου αγγείου που βρίσκεται πιο κοντά στον αυλό (Vander et al., 2001). Προκαλείται από υψηλή συγκέντρωση χοληστερόλης, αποτέλεσμα διατροφής πλούσιας σε λίπος, και επεμβαίνει στη λειτουργία του ενδοθηλίου με διάφορους τρόπους.

Η ανάπτυξη αθηρωματικής πλάκας συνίσταται στη δημιουργία παθολογικών κυττάρων από τα μακροφάγα και τα λεία μυϊκά κύτταρα, τα λεγόμενα ‘‘αφρώδη’’ κύτταρα (βλ.εικόνα 1.1). Πιο συγκεκριμένα, η διέγερση των ενδοθηλιακών κυττάρων, κυρίως λόγω επίδρασης της οξειδωμένης LDL, οδηγεί στην έκφραση μορίων πρόσφυσης (Smalley et al., 1996) και την έκκριση χημειοελκτικών παραγόντων (Funayama et al., 2004). Μ’ αυτόν τον τρόπο μονοκύτταρα προσκολλώνται στο ενδοθήλιο και το διαπερνούν ώστε να εισέλθουν στον υπενδοθηλιακό χώρο. Εκεί μετατρέπονται σε μακροφάγα και προσλαμβάνουν γρήγορα μεγάλες ποσότητες οξειδωμένης LDL, διογκώνονται και μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. Αυτά σχηματίζουν μια λιπώδη γράμμωση κατά μήκος του αγγείου, βασικό χαρακτηριστικό της εξελισσόμενης αθηροσκλήρυνσης (Mann et al., 2004). Κυτταροκίνες που εκκρίνονται από τα T-κύτταρα ενεργοποιούν τα μακροφάγα (Shan et al., 1995). Προϋπόθεση γι’ αυτή την μετατροπή των μονοκυττάρων είναι η ύπαρξη στην επιφάνεια τους ενός εξειδικευμένου τύπου υποδοχέα γνωστό ως υποδοχέας-

καθαριστής (scavenger-receptor) (Tamura et al., 2004). Όταν σχηματιστεί το σύμπλεγμα οξειδωμένης LDL-υποδοχέα μεταφέρεται στο εσωτερικό του κυττάρου και ο μεν υποδοχέας ανακυκλώνεται προς τη μεμβράνη, τα δε λιπίδια απομακρύνονται στο εσωτερικό του κυττάρου.

Εκτός από τα μονοκύτταρα σημαντικό ρόλο παίζουν και τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών. Κατόπιν διέγερσης τους μετακινούνται από τον μέσο προς τον έσω χιτώνα (Mann et al., 2004). Εκεί πολλαπλασιάζονται και εναποθέτουν κολλαγόνο και άλλα μόρια θεμέλιας ουσίας. Έπειτα προσλαμβάνουν την οξειδωμένη LDL και μετατρέπονται και αυτά σε αφρώδη κύτταρα. Η μετανάστευση των λείων μυϊκών κυττάρων γίνεται υπό την επίδραση αυξητικών παραγόντων και ο πολλαπλασιασμός με την έκκριση κυτταροκινών από τα Τ-κύτταρα (Μουτσόπουλος, 2002). Η πάχυνση του αρτηριακού τοιχώματος σχηματίζει μια εύθραυστη πλάκα όπου εναποτίθεται ασβέστιο. Η αρτηριακή πλάκα αποτελείται από λεία μυϊκά κύτταρα που μετανάστευσαν και πολλαπλασιάστηκαν στον εσωτερικό χιτώνα αλλά και από μονοκύτταρα που μετατράπηκαν σε μακροφάγα (Holvoet et al., 1998). Σε ορισμένα σημεία η πλάκα μπορεί να διαρραγεί και να οδηγήσει σε θρόμβωση και απόφραξη κάποιας στεφανιαίας αρτηρίας και κατ' επέκταση σε νέκρωση του τμήματος που αιματώνεται από αυτήν την αρτηρία (π.χ. έμφραγμα μυοκαρδίου αν πρόκειται για μυοκάρδιο, θρομβωτικό εγκεφαλικό επεισόδιο αν επηρεάσει την εγκεφαλική κυκλοφορία κτλ.) (Μουτσόπουλος, 2002).

Η συγκέντρωση χοληστερόλης στον ορό είναι ένας από τους παράγοντες που μπορεί να επηρεάσει την πορεία της αθηροσκληρωτικής διεργασίας και σχετίζεται άμεσα με τον κίνδυνο ανάπτυξης στεφανιαίας νόσου. Υψηλά επίπεδα LDL-χοληστερόλης, δηλ. λιποπρωτεΐνης χαμηλής περιεκτικότητας υπεύθυνη για την μεταφορά χοληστερόλης στα κύτταρα, συνδέονται με αυξημένη εναπόθεση CHOL στα τοιχώματα των αρτηριών και μεγαλύτερη επίπτωση καρδιακών επεισοδίων (Holvoet et al., 1998). Πιο συγκεκριμένα η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου οφείλεται σε δράση της οξειδωμένης LDL (Laroia et al., 2003). Η οξείδωση γίνεται παρουσία ελευθέρων ριζών οξυγόνου (ROS) με κύριο εκπρόσωπο το ανιόν υπεροξειδίου. Απελευθέρωση ROS μπορεί να συμβεί μετά από δραστηριοποίηση ενζυμικών συστημάτων όπως οξειδάσης NAD(P)H, μετά από επίδραση αγγειοτενσίνης II, θρομβίνης, TNF-α ή αυξημένων μηχανικών δυνάμεων (Russo et al., 2002). Μία δεύτερη σημαντική πηγή ROS είναι το ένζυμο οξειδάση ξανθίνης (Minana et al., 2002). Επιπλέον το ένζυμο NOS είναι ικανό να παράγει ελεύθερες ρίζες. Απουσία

υποστρώματος η L-αργινίνη με συμπαράγοντα το BH₄ συνθέτει υπεροξειδία αντί για NO (Russo et al., 2002).

Αυξημένα επίπεδα ROS οδηγούν σε οξείδωση μικρών και πυκνών μορίων LDL. Αρχικά δημιουργείται η ελαφρά τροποποιημένη LDL (minimally modified LDL, MM-LDL) (Shi et al., 2000). Σ' αυτή τη φάση δεν μπορεί να αναγνωριστεί από τους καθαριστές υποδοχείς των μονοκυττάρων. Ωστόσο εντείνει τη δέσμευση αυτών των κυττάρων από το ενδοθήλιο, ακόμα και αν βρίσκεται σε μικρές συγκεντρώσεις (Liao et al., 1991). Όπως προαναφέρθηκε, η μετατροπή μονοκυττάρων σε ενεργοποιημένα μακροφάγα γίνεται με την έκκριση κυτταροκινών. Μία από αυτές, η 15-λιπooξυγενάση συνεισφέρει στην οξειδωτική τροποποίηση της LDL μέσω ενδοκυττάριου σχηματισμού υδροπεροξειδίων των λιπιδίων (Miller et al., 2003). Η διαδικασία γίνεται από κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος (ενδοθηλιακά, μακροφάγα, λεία μυϊκά) αλλά όχι στο πλάσμα διότι εκεί τα επίπεδα χαλκού και σιδήρου απαραίτητα για τον σχηματισμό ROS είναι χαμηλά, τα επίπεδα αντιοξειδωτικών υψηλά ενώ ταυτόχρονα το ήπαρ αναλαμβάνει την απομάκρυνση σημαντικού μέρους οξειδωμένης LDL. (Frei et al., 1988).

Το αλκοόλ είναι παρόν και τη φυσικοχημική λειτουργία των οξειδωμένων κυττάρων και το διότι τη λειτουργία τους κατά τη διάρκεια της αθηροσκλήρωσης. Τα LDL εκπέμπουν NO, το οποίο προστατεύει την ακεραιότητα των αρτηριών και των εγκεφαλικών στο αρτηριακό σύστημα (1). Το NO διαδραμάτιζε VSMCs, προάγει την διαστολή τους (2) και βοηθάει τη μόνιμότητα τους στην όλη γένεση (3). Σε περίπτωση οξειδωτικής διαταραχής, τα LDL δεν παράγουν επαρκή ποσότητα NO με αποτέλεσμα να μην μπορούν να βοηθήσουν τη διαστολή των αρτηριών (4). Τα αρτηριακά οξειδωτικά προϊόντα αυξάνουν την έκκριση (ET-1) από κύτταρα των αγγείων και VSMCs (5). Αυτή η διαδικασία προκαλεί την αγγειοσυστολή (6) και την ακεραιότητα των VSMCs (7). Όταν μια γένεση (αγγειοσυστολή) προκαλείται (8). Παράγεται οξειδωτική (9) που οδηγεί από την LDL (10). Οξείδωση LDL από οξειδωτική γένεση που απελευθερώνεται από VSMCs και αλλαγή της σε οξειδωτική τροποποιημένη (M-LDL) (7). Η M-LDL οδηγεί την οξειδωτική των μορίων πρωτεϊνών (CAMP) από τα LDL, είναι γένεση η οποία οδηγεί και η διαστολή των αρτηριών και T-λεμφοκυττάρων στο οξειδωτικό σύστημα (8). Η M-LDL οδηγεί και τη μόνιμότητα χημική ακεραιότητα (MCP), η οποία προκαλεί τα μόνιμότητα στο αρτηριακό σύστημα. Εκεί παρατηρείται LDL και οξεία μετατρέπεται σε οξειδωτικό κύτταρο (9). LDL-βιολογική οξειδωτική ακεραιότητα.

NO είναι οξεία μόνιμότητα στο αγγείο.

VSMCs-vascular smooth muscle cells-λεία μυϊκά κύτταρα

ET-1-endothelial derived growth factor-αγγειακή παραγωγή παραγωγή από ακεραιότητα

ROS-reactive oxygen species-οξειδωτική γένεση

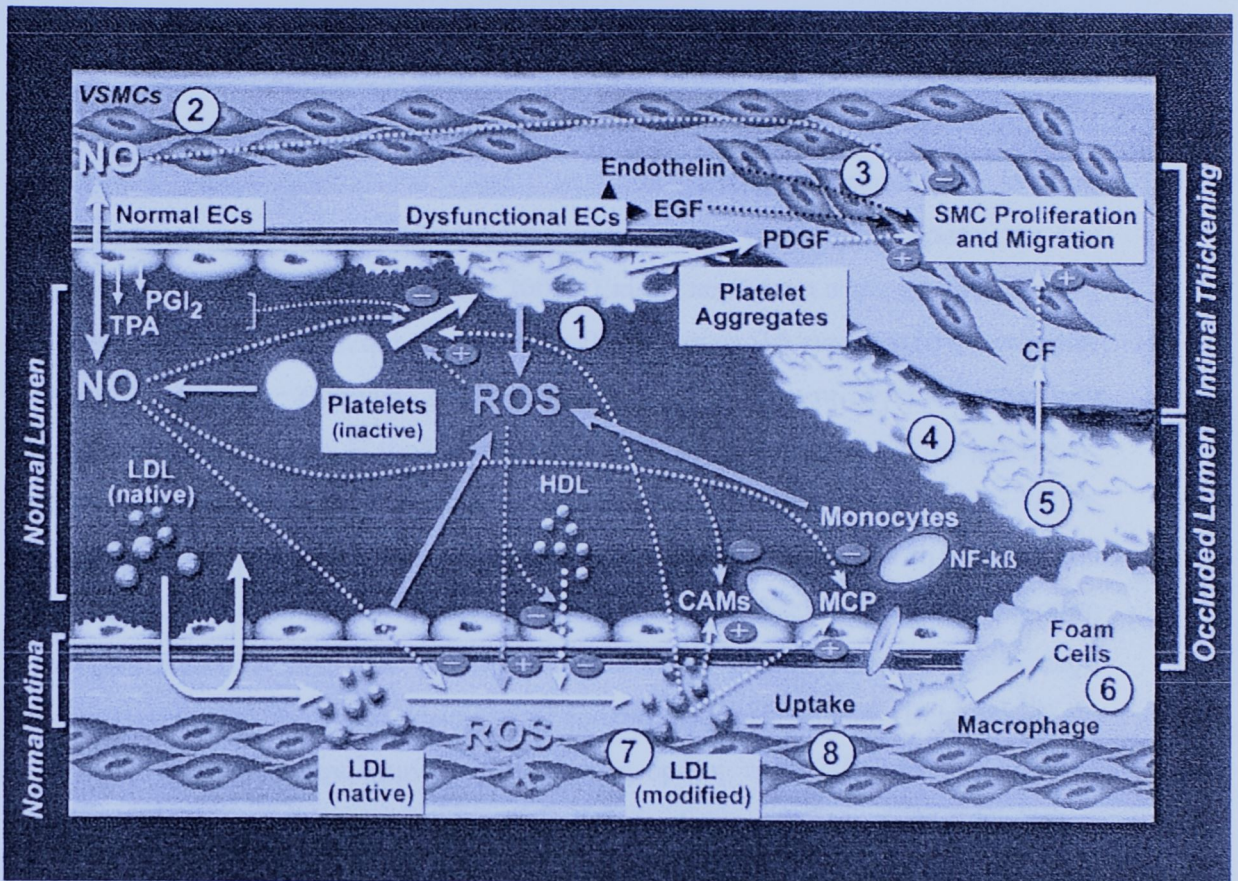
CAMP-endothelial derived growth factor-αγγειακή παραγωγή

MCP-macrophage chemoattractant protein-1-μόνιμότητα χημική ακεραιότητα

MM-LDL-minimally modified LDL-ελαφρά τροποποιημένη LDL.

Figure 1. Table 1. Effects of ethanol and other constituents of alcoholic beverages on coronary heart disease. Pathophysiology 2004;10:105-110

Εικόνα 1.1-Απεικόνιση αρτηρίας και πορεία αθηρογένεσης



Το αριστερό τμήμα απεικονίζει τις φυσιολογικές λειτουργίες των ενδοθηλιακών κυττάρων και το δεξιό τη λειτουργία τους κατά τη διαδικασία της αθηρωμάτωσης. Υγιή ECs εκκρίνουν NO, το οποίο εμποδίζει την προσκόλληση των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα (1). Το NO διαχέεται στα VSMCs, προάγει την διαστολή τους (2) και εμποδίζει τη μετανάστευσή τους στον έσω χιτώνα (3). Σε περίπτωση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, τα ECs δεν παράγουν επαρκείς ποσότητες NO με αποτέλεσμα να μην μπορούν να εμποδίσουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (4). Τα αιμοπετάλια απελευθερώνουν αυξητικούς παράγοντες (PDGF) που επάγουν τον πολλαπλασμό των VSMCs (3). Έκκριση χημειοτακτικών παραγόντων από τα αιμοπετάλια προάγει τη μετανάστευση των VSMCs στον έσω χιτώνα (πάχυνση αρτηριακού τοιχώματος) (5). Παραγωγή αφρώδων κυττάρων (foam cells) από την LDL (6). Οξείδωση LDL από ελεύθερες ρίζες που απελευθερώνονται από ECs και VSMCs και αλλαγή της σε ελαφρά τροποποιημένη (M-LDL) (7). Η M-LDL επάγει την απελευθέρωση των μορίων προσκόλλησης (CAMS) από τα ECs, οπότε γίνεται η προσέλκυση και η δέσμευση μονοκυττάρων και T-λεμφοκυττάρων στο ενδοθηλιακό τοίχωμα (8). Η M-LDL επάγει και τη μονοκυτταρική χημειοελκτική πρωτεΐνη (MCP), η οποία κατευθύνει τα μονοκύτταρα στον εσωτερικό χιτώνα. Εκεί παραλαμβάνουν LDL και τελικά μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα (6).

ECs-Endothelial cells-Ενδοθηλιακά κύτταρα

NO-nitric oxide-μονοξείδιο του αζώτου

VSMCs- vascular smooth muscle cells- λεία μυϊκά κύτταρα

PDGF-platelet derived growth factors- αυξητικοί παράγοντες παραγόμενοι από αιμοπετάλια

ROS-reactive oxygen species- ελεύθερες ρίζες οξυγόνου

CAMS- cellular adhesion molecules-μόρια προσκόλλησης

MCP-monocyte chemoattractant protein- μονοκυτταρική χημειοελκτική πρωτεΐνη

MM-LDL-middle modified LDL- ελαφρά τροποποιημένη LDL

(Mann L., Folts J. Effects of ethanol and other constituents of alcoholic beverages on coronary heart disease. Pathophysiology 2004;10:105-112)

2. ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Οι υψηλές συγκεντρώσεις της οξειδωμένης LDL ενισχύουν τη διαδικασία της αθηρογένεσης και προκαλούν δυσλειτουργία του ενδοθηλίου με διάφορους τρόπους (βλ. σχήμα 1.1). Κατά πρώτον η οξειδωμένη LDL επιδρά στην αγγειοκινητική ικανότητα του ενδοθηλίου. Από τη μια υπάρχει υπέρμετρη έκκριση αγγειοσυσταλτικών ουσιών. Η MM-LDL αυξάνει την γονιδιακή έκφραση και την παραγωγή ενδοθηλίνης (Laroia et al., 2003). Επίσης παράγεται αγγειοτενσίνη II (Ang II) σε υψηλότερες συγκεντρώσεις και προωθεί την συστολή των αγγείων, εκτός των άλλων δράσεων της (Selwyn, 2003). Από την άλλη η έκκριση αγγειοδιασταλτικών ουσιών είναι ανεπαρκής. Η βιοδιαθεσιμότητα του NO μειώνεται είτε λόγω μειωμένης παραγωγής του, είτε λόγω αυξημένης καταστροφής του (Behrendt et al., 2002). Αλλαγές στη συγκέντρωση του υπεύθυνου ενζύμου NOS επηρεάζουν τη σύνθεση του NO. Παρόλο που το ένζυμο παράγεται συνεχώς σε χαμηλές ποσότητες, η έκφραση του μεταβάλλεται ανάλογα με την αιματική ροή (shear stress), την έκκριση κυτταροκινών και τη συγκέντρωση αθηρωματικών λιποπρωτεϊνών (Behrendt et al., 2002). Η υπερχοληστερολαιμία αναστέλλει τη δράση της e-NOS σε μεταγραφικό επίπεδο καθώς ευνοεί την έκφραση του μεμβρανικού πρωτεϊνικού αναστολέα της, την καβεολίνη (Laroia et al., 2003). Αναστολή της e-NOS εμποδίζει την παραγωγή NO. Εκτός της καβεολίνης, η υπερχοληστερολαιμία αυξάνει επίσης τα επίπεδα ασυμμετρικής διμεθυλ-αργινίνης (asymmetric dimethyl arginine, ADMA) (Segara et al., 2001). Πρόκειται για ένα αμινοξύ που ανταγωνίζεται την L-αργινίνη. Δέσμευση ADMA αντί L-αργινίνης από NOS αναστέλλει τη σύνθεση NO (Segara et al., 2001). Έγχυση L-αργινίνης προκειμένου να αυξηθεί το κλάσμα L-arginine/ADMA βελτιώνει τη λειτουργία του ενδοθηλίου (Russo et al., 2002). Η μειωμένη ικανότητα αγγειοδιαστολής οφείλεται επίσης σε προοδευτική καταστροφή NO από ενεργές ρίζες O όπως το ανιόν υπεροξειδίου και η οξειδωμένη LDL (Behrendt et al., 2002). Άμεσο αποτέλεσμα είναι να εμποδίζεται η ενεργοποίηση της γουανυλικής κυκλάσης και η παραγωγή c GMP που είναι απαραίτητο για τη μείωση του ενδοκυττάριου ασβεστίου και την πραγματοποίηση της διαστολής (Laroia et al., 2003). Σε φυσιολογική κατάσταση επιδρούν προστατευτικοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί. Ωστόσο στην προκείμενη κατάσταση δεν ισχύει κάτι τέτοιο. Έχει βρεθεί μάλιστα ότι σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο η δραστηριότητα της ενδοθηλιακής δισμουτάσης του H_2O_2 – αντιοξειδωτικό ενζυμικό σύστημα του αγγειακού τοιχώματος- μειώνεται

σημαντικά, συμβάλλοντας έτσι στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (Behrendt et al., 2002).

Εκτός από τη μεταβολή στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου, η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου χαρακτηρίζεται και από διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ προπηκτικών και αντιπηκτικών μηχανισμών. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων ενισχύεται με συνέπεια την προσκόλληση τους στο ενδοθήλιο και τον σχηματισμό ενδοαγγειακού θρόμβου. Η οξειδωμένη LDL μειώνει την παρεμπόδιση που ασκεί το ενδοθήλιο στη συσσώρευση αιμοπεταλίων μέσω της μείωσης NO (Russo et al., 2002). Επίσης, η αύξηση των επιπέδων ιστικού παράγοντα μειώνει την αντιπηκτική ικανότητα. Αν και σε ήρεμη κατάσταση δεν εκφράζεται, έκθεση ενδοθηλιακών κυττάρων σε κυτταροκίνες ή βακτηριακή ενδοτοξίνη προάγει τη σύνθεση του (Zampelas et al., 2000). Πρόκειται για μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη που παίζει πρωτεύοντα ρόλο στη διαδικασία της πήξης: σχηματίζει σύμπλοκο με τον παράγοντα VII και τον ενεργοποιεί με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή θρομβίνης (Μουτσόπουλος, 2002). Πιθανολογείται ότι ο ιστικός παράγοντας συμβάλλει σε αποσταθεροποίηση της πλάκας: έρευνες αναφέρουν μεγαλύτερη δραστικότητα του σε ασταθείς παρά σε σταθερές πλάκες (Selwyn, 2003). Επιπλέον το σύμπλοκο ιστικού παράγοντα- VII συμβάλλει στη μετακίνηση των λείων μυϊκών κυττάρων και παίζει ρόλο στην αγγειακή αναδόμηση (Selwyn, 2003). Κατά την αθηρογένεση προάγεται η έκφραση του παράγοντα v WF (von Willebrand factor) (Russo et al., 2002). Αυτός εκκρίνεται στο πλάσμα και στον υπενδοθηλιακό χώρο. Μπορεί να κινητοποιηθεί άμεσα σε απάντηση θρομβίνης. Δεσμεύει και σταθεροποιεί τον παράγοντα πήξης VIII και είναι απαραίτητος για τη δέσμευση αιμοπεταλίων, όταν το αγγειακό τοίχωμα έχει υποστεί βλάβη (Vander et al., 2001). Η θρομβίνη που συμβάλλει στην κινητοποίηση του είναι βασική πρωτεΐνη πήξης. Προέρχεται από την προθρομβίνη και μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινώδες για τον σχηματισμό θρόμβου (Vander et al., 2001). Η υπερχοληστερολαιμία οδηγεί επίσης σε διάσπαση του κολλαγόνου των λείων μυϊκών κυττάρων από τις μεταλλοπρωτεϊνάσες, συμβάλλοντας έτσι στην αποσταθεροποίηση της πλάκας (Shan et al., 1995). Επιπρόσθετα η οξειδωμένη LDL εμποδίζει την ινωδολύση καθώς αυξάνει την συγκέντρωση του PAI-1 (Jovin et al., 2003). Όπως προαναφέρθηκε, η υπερέκφραση PAI-1 έναντι t PA αναστέλλει την μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη. Κατ' επέκταση η διάλυση του ινώδους προκειμένου να απομακρυνθεί ο θρόμβος δεν μπορεί να συμβεί. Υπό αυτές τις

συνθήκες το ενδοθήλιο μεταπίπτει σε μία προπηκτική κατάσταση, ελαττώνοντας την αιματική ροή στο αρτηριακό τοίχωμα.

Η αθηρωμάτωση έχει προσομοιαστεί ως αντίδραση φλεγμονής σε βλάβη του ενδοθηλίου (Amoroso et al., 2001). Η φλεγμονώδης αντίδραση είναι επιθυμητή όταν στοχεύει στην επούλωση κάποιου τραύματος. Ωστόσο στην περίπτωση της αθηροσκλήρυνσης έχει μεγάλη διάρκεια και οδηγεί σε παθολογική κατάσταση. Η προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθηλιακό τοίχωμα αυξάνεται καθώς αυξάνεται η έκκριση κυτταροκινών από Τα-λεμφοκύτταρα, μακροφάγα ή λευκοκύτταρα. Π.χ. έκκριση TNF- α και ιντερλευκίνης 1 επάγει την έκφραση μορίων προσκόλλησης (ELAM 1, ICAM 1, VCAM 1) (Ferrero et al., 1998, Carluccio et al., 2003, Kobuchi et al., 1999). Δεδομένης της μειωμένης συγκέντρωσης NO, η προσέλκυση των λευκοκυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα δεν μπορεί να περιοριστεί (Russo et al., 2002). Επίσης, η παραγόμενη θρομβίνη εκτός από πηκτικές έχει και φλεγμονώδεις ιδιότητες: συμβάλλει στον πολλαπλασιασμό μονοκυττάρων και λείων μυϊκών κυττάρων, προάγει τη σύνθεση ιντερλευκίνης 6, MCP 1, κολλαγόνου και ενεργοποιεί τους μεμβρανικούς υποδοχείς για να δεχτούν τα κατάλληλα κυτταρικά σήματα (Selwyn, 2003). Τα αυξημένα επίπεδα Ang II προκαλούν την έκφραση πρωτοογκογονιδίων, την σύνθεση πρωτεϊνών, την έκφραση αυξητικών παραγόντων και την παραγωγή ανιόντων υπεροξειδίου (Schriffin, 2002). Το άμεσο αποτέλεσμα είναι η κυτταρική ανάπτυξη και η εναπόθεση κολλαγόνου που οδηγεί στη δημιουργία παχέος στρώματος στον ενδοθηλιακό χώρο και κατ' επέκταση σε στένωση του εσωτερικού χιτώνα (Schriffin, 2002). Η στένωση μειώνει την αιματική ροή και προκαλεί ισχαιμία, εντείνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων.

Αυξημένη αγγειοσύσπηση VSMCs

• ET-1 αυξάνει τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη των VSMCs

• Η δράση των NO/EDHF είναι λιγότερο αποτελεσματική

EDHF: αγγειοδιαστολή

EDHF (endothelial hyperpolarization) είναι η υπερπόλωση

VSMCs προκαλούμενη από την υπερπόλωση των EDHF

EDHF (endothelial hyperpolarization) είναι η υπερπόλωση των EDHF

ET-1: ενδοθηλίνη 1

NF- κ B (nuclear factor - κ B) : κληρονομικός παράγοντας κ B

(Cooke J. Fow, NO and endothelium. PNAS 2003; 100(3): 768-770)

Σχήμα 1.1- Αιματική ροή και ενδοθηλιακή λειτουργία

Ομαλή αιματική ροή.

Αγγειοδιαστολή

- Απελευθέρωση ATP, ακετυλοχολίνης, βραδυκινίνης
- Συνδυαστική δράση NO, PGI₂, EDHF
- Αυξημένη έκφραση NOS

Μειωμένη προσκόλληση

- Ελάττωση οξειδωτικού στρες
- cAMP, cGMP μειώνουν την ενεργοποίηση των CAM
- Ελαττωμένη έκφραση CAM
- Αυξημένη έκφραση tPA

Μειωμένη ενεργοποίηση των VSMCs

- NO/PGI₂ καταστέλλουν τον πολλαπλ/μο& τη μετανάστευση των VSMCs
- Μειωμένη έκφραση αυξητικών παραγόντων (PDGF)

Διαταραγμένη αιματική ροή

Αγγειοσυστολή

- Μειωμένη απελευθέρωση NO/PGI₂
- Μειωμένη έκφραση NOS, αυξημένη ET-1

Αυξημένη προσκόλληση

- Παραγωγή ελεύθερων ριζών O₂⁻
- Αύξηση της διαπερατότητας των ECs σε λιποπρωτεΐνες
- Αυξημένη έκφραση μεταγραφικών παραγόντων όπως NF-κB

Αυξημένη ενεργοποίηση VSMCs

- ET-1 επάγει τον πολλαπλ/μο& τη μετανάστευση των VSMCs
- Η δράση των NO/PGI₂ είναι λιγότερο αποτελεσματική

PGI₂: προστακυκλίνη

CAM (cellular adhesion molecules): μόρια προσκόλλησης

VSMCs (vascular smooth muscle cells): λεία μυϊκά κύτταρα

PDGF (platelet derived growth factor): αυξητικοί παράγοντες εκκρινόμενοι από τα αιμοπετάλια

ET-1: ενδοθηλίνη 1

NF-κB (nuclear factor – κB): πυρηνικός παράγοντας κB

(Cooke J. Flow, NO and atherogenesis. PNAS 2003;100(3):768-770)

Συνοψίζοντας, πολλοί είναι οι υπεύθυνοι παράγοντες για την αθηροσκλήρυνση: υψηλά επίπεδα οξειδωμένης LDL, υπέρταση, υπερομοκυστεϊναιμία, διαβήτης, χαμηλή HDL, κάπνισμα κ.α. Η αθηροσκλήρυνση ως διαταραχή των αρτηριών μπορεί να προσβάλλει οποιοδήποτε όργανο του σώματος και είναι ασυμπτωματική μέχρι να εκδηλωθεί κάποια από τις επιπλοκές της. Επιδρά στη λειτουργία του ενδοθηλίου, επάγοντας την αγγειοσυστολή και την εκδήλωση φλεγμονωδών αντιδράσεων. Επίσης διαταράσσει την ισορροπία μεταξύ προθηκτικών και αντιπηκτικών μηχανισμών. Άμεση συνέπεια όλων των παραπάνω είναι να μειώνεται η αιματική ροή στο αρτηριακό τοίχωμα, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε νέκρωση των διαφόρων οργάνων.

Επομένως η λειτουργία του ενδοθηλίου παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Για παράδειγμα η μελέτη της αγγειοκινητικής του δραστηριότητας έχει προγνωστική αξία (Wilansky et al., 2003). Μπορεί να γίνει με ποσοτική στεφανιαία αγγειογραφία που εξετάζει την αλλαγή της διαμέτρου μετά από έγχυση ακετυλοχολίνης: σε υγιή αγγεία, η ακετυλοχολίνη προκαλεί απελευθέρωση NO και αγγειοδιαστολή ενώ σε περιοχή όπου υπάρχει στένωση το φαινόμενο αυτό αμβλύνεται ή παρουσιάζεται συστολή (Verma et al., 2002). Άλλες τεχνικές μελέτης της ενδοθηλιακής λειτουργίας είναι η δισδιάστατη υπερηχογραφία (με συσκευή Doppler), η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων, η αξονική τομογραφία κτλ. Κύριοι δείκτες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας είναι τα μόρια προσκόλλησης (ICAM-1, VCAM-1), ο παράγοντας ν WF, η ενδοθηλίνη, η ADMA, ο t PA και το ινωδογόνο (Verma et al., 2002). Έχει βρεθεί ότι σε ασθενείς χωρίς καρδιακό νόσημα τα επίπεδα ICAM 1 και tPA είναι ανεξάρτητοι δείκτες μελλοντικών επεισοδίων (Ridker et al., 1998, Thogersen et al., 1998). Σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο τα επίπεδα ICAM-1, ET-1 έχουν προγνωστική αξία για την εξέλιξη της νόσου (Haim et al., 2002, Omland et al., 1994). Η αλλαγή στον τρόπο ζωής (χαμηλή πρόσληψη λίπους, αύξηση φυσικής δραστηριότητας) και η φαρμακευτική αγωγή (στατίνες, ACE's, ορμονοθεραπεία) μπορούν να αναστρέψουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Αξίζει να σημειωθεί πάντως ότι η βελτίωση της λειτουργίας του ενδοθηλίου μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων στις περισσότερες περιπτώσεις, όχι όμως σε όλες (Wilansky et al., 2003).

2.ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ

Το κρασί αποτελεί βασικό στοιχείο του ανθρώπινου πολιτισμού και παράγεται σε όλο τον κόσμο. Η κατανάλωση του είναι συνδεδεμένη με το μέτρο, την καλή σωματική και ψυχική υγεία και τη μακροζωία. Εκτός από τη διατροφική αξία έχει και κοινωνικοθρησκευτικό ρόλο. Έχει ιστορία 6.000 ετών και η παραγωγή του φαίνεται ότι ξεκίνησε από τον Καύκασο (Soleas et al. a, 1997). Αργότερα επεκτάθηκε στη Μ. Ανατολή και έφτασε μέχρι τη Μεσόγειο. Σήμερα κατέχει εξέχουσα θέση στη Μεσογειακή διατροφή και μάλιστα έχει συμπεριληφθεί στη μεσογειακή πυραμίδα, όπου απεικονίζονται οι αρχές της ισορροπημένης διατροφής. Έτσι συνίσταται η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ υπό τη μορφή του κρασιού. Το κρασί είναι μίγμα πολλών ουσιών που κατά κύριο λόγο περιέχονται σ' αυτό από την αρχή της γέννησης του. Με τη βοήθεια σύγχρονων μεθόδων όπως η αέρια χρωματογραφία, η HPLC κ.α. έχει ανακαλυφθεί μία ποικιλία χημικών ενώσεων, οι περισσότερες από τις οποίες είναι καθοριστικές για την ποιότητα του. Τα συστατικά του κρασιού αποτελούν αντικείμενο έντονης ερευνητικής δραστηριότητας διότι φαίνεται ότι επηρεάζουν διάφορες παραμέτρους της ενδοθηλιακής λειτουργίας. Ουσιαστικά περιορίζουν την αθηρωματική διαδικασία και μ' αυτόν τον τρόπο συμβάλλουν στην ομαλή ροή του αίματος στο αρτηριακό τοίχωμα. Έτσι τα τελευταία χρόνια η μέτρια πρόσληψη κρασιού, ιδίως κόκκινου, σχετίζεται με τη μείωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Παρακάτω αναλύονται εν συντομία τα συστατικά του κρασιού και παρατίθενται αποτελέσματα επιδημιολογικών ερευνών που διερευνούν τη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης κόκκινου κρασιού και της καρδιαγγειακής θνησιμότητας.

A. Συστατικά

Νερό, αιθανόλη

Το κύριο συστατικό του κρασιού είναι το νερό σε συγκέντρωση περίπου 87% (Soleas et al. a, 1997). Ουσίες αδιάλυτες ή ελάχιστα διαλυτές στο νερό σπάνια παίζουν κάποιο ρόλο στο κρασί. Ακολουθεί η αιθανόλη (αλκοόλ- $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) σε συγκέντρωση 10%-13%, ανάλογα με το κάθε κρασί (Soleas et al. a, 1997). Εκφράζεται σε αλκοολικούς βαθμούς (%vol) και προέρχεται από τη μεταποίηση των σακχάρων με την επίδραση ζυμομυκήτων (*Saccharomyces cerevisiae*) (αλκοολική ζύμωση). Το αλκοόλ παρουσιάζει πολλές και ποικίλες βιολογικές δράσεις. Για

παράδειγμα, επηρεάζει το λιπιδαιμικό προφίλ καθώς αυξάνει τα επίπεδα HDL πλάσματος (van der Gaag et al., 2001). Επάγει τη θρομβόλυση μέσω της μείωσης της συγκέντρωσης του ινωδογόνου και αύξησης του tPA (Mennen et al., 1999, Ridker et al., 1994). Επίσης επηρεάζει και τους δείκτες φλεγμονής, όπως είναι η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη και η ιντερλευκίνη-6 (Williams et al., 2004, Albert et al., 2003). Απ' όλα τα αλκοολούχα ποτά φαίνεται ότι το κρασί είναι το πιο ευεγερτικό καθώς μπορεί να αναστείλει την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης μέσω διαφόρων μηχανισμών που αναλύονται στα επόμενα κεφάλαια.

Πολυφαινόλες

Εκτός από την αιθανόλη, ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο έχουν και οι πολυφαινόλες. Πρόκειται για μία μεγάλη και πολύπλοκη ομάδα συστατικών που καθορίζουν τη γεύση, την εμφάνιση και γενικότερα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κρασιού. Οι συγκεντρώσεις τους κυμαίνονται από 1500mg/l έως 2500mg/l αλλά αυτό εξαρτάται από παράγοντες όπως η ποικιλία των σταφυλιών, η έκθεση τους στον ήλιο και η όλη επεξεργασία για την παραγωγή του κρασιού (McDonald et al., 1998). Επειδή το κόκκινο κρασί περιέχει υψηλότερες ποσότητες φαινολικών συστατικών και επειδή η ευρεία κατανάλωση του σε ορισμένους πληθυσμούς συνδέεται με τη μείωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων (γαλλικό παράδοξο), η δράση των πολυφαινολών εξετάζεται στενά.

Χημικά, οι φαινόλες είναι δακτύλιοι βενζολίου που περιέχουν ένα ή περισσότερα υδροξύλια σε αντικατάσταση ενός ή περισσότερων ατόμων H (Ανδρικόπουλος, 1998). Χωρίζονται σε δύο μεγάλες ομάδες τα φλαβονοειδή και τα μη-φλαβονοειδή. Τα φλαβονοειδή αποτελούν >85% του φαινολικού περιεχομένου στα κόκκινα κρασιά (>1000mg/l) και <22% στα λευκά (<50mg/l) (Soleas et al. a, 1997). Προέρχονται από φαινυλαλανίνη και αποτελούνται από δύο φαινολικούς δακτύλιους που συνδέονται με ένα δακτύλιο πυρανίου (Soleas et al. a, 1997). Στα φλαβονοειδή ανήκουν η κερκετίνη, η καμπερόλη, οι φλαβαν-3-όλες (κατεχίνη, επικατεχίνη) (Burns et al., 2000). Επίσης στα φλαβονοειδή περιλαμβάνονται και οι ανθοκυανίνες όπως η μαλβινιδίνη, η δελφινίνη, η κυανιδίνη κ.α. Πρόκειται για παράγωγα του 2-φαινυλο-βενζοπυριλικού κατιόντος που καθορίζουν το χρώμα του κρασιού και μετατρέπονται σε αδιάλυτες ενώσεις με την παλαίωση του (Αλεξάκης,

2003). Στο κρασί βρίσκονται και μικρά ποσά ελεύθερων λευκοανθοκυανινών (φλαβαν-3,4-διόλες). Τα μη φλαβονοειδή περιλαμβάνουν στυλβένια, με κύριο εκπρόσωπο τη ρεσβερατρόλη (cis-ρεσβερατρόλη, trans-ρεσβερατρόλη, trans-ρεσβερατρόλη- O-β-γλυκοζίτης). Επίσης στα μη φλαβονοειδή ανήκουν τα υδροξυκιναμικά οξέα (καφεϊκό, p- κουμαρικό) και τα παράγωγα υδροξυβενζοϊκού οξέος όπως το γαλλικό οξύ. Ξεχωριστή ομάδα πολυφαινολών είναι οι ταννίνες. Ανήκουν στα φαινυλοξέα (δηλ. έχουν –OH και –COOH στον ίδιο βενζολικό πυρήνα) και χωρίζονται σε συμπυκνωμένες και υδρολυόμενες (Ανδρικόπουλος, 1998). Οι συμπυκνωμένες, γνωστές ως προκυανιδίνες είναι πολυμερή της (+)-κατεχίνης και της (-)-επικατεχίνης και παίζουν ρόλο στη σταθεροποίηση του χρώματος του κρασιού (Burns et al., 2000). Οι υδρολυόμενες είναι πιο ασταθείς και προέρχονται από γλυκοζυλίωση του γαλλικού οξέος (Ανδρικόπουλος, 1998, Burns et al., 2000). Οι ταννίνες έχουν χαρακτηριστική στιφή γεύση, οπότε ανάλογα με τη συγκέντρωσή τους καθορίζεται και η γεύση του κρασιού (Αλεξάκης, 2003) (βλ. πίνακα 2.1, σχήμα 2.1).

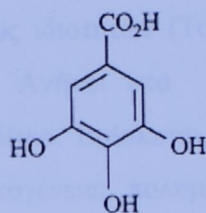
Πίνακας 2.1-Κατηγορίες πολυφαινολών

ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ		
ΜΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ	ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ	TANNINES
Στυλβένια (ρεσβερατρόλη)	Κερκετίνη, καμπφερόλη	Συμπυκνωμένες (προκυανιδίνες)
Υδροξυκιναμικά οξέα	Κατεχίνη, επικατεχίνη	
Υδροξυβενζοϊκοοξέα (γαλλικό)	Ανθοκυανίνες	Υδρολυόμενες

Σχήμα 2.1

Χημικές δομές πολυφαινολών

Phenolic acids (non-flavonoid)

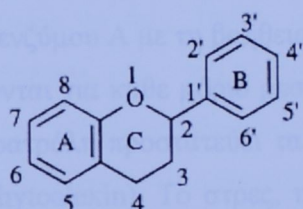


Gallic acid

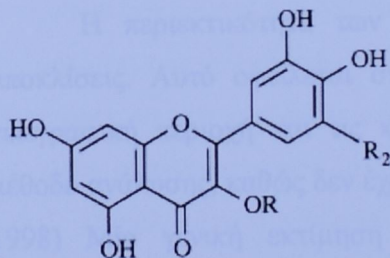


Cinnamic acid

General flavonoid structure

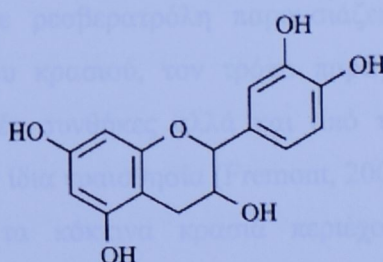


Flavonols



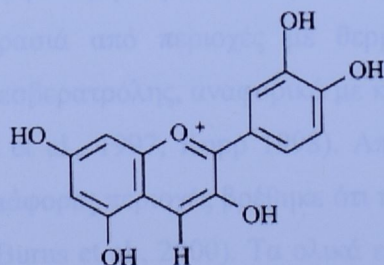
Quercetin R = H
Myricetin R = H, R₂ = OH
Rutin R = D-Glucose-L-Rhamnose

Flavanol (flavan-3-ol)



Catechin

Anthocyanidin



Είναι δύσκολο να βρεθεί ποια από τις πολυφαινόλες είναι η πιο δραστική διότι απαιτείται ακριβής ταυτοποίηση της χημικής τους δομής και καθορισμός των βιολογικών τους ιδιοτήτων (Tomera, 1999). Η πιο καλά μελετημένη όμως είναι η ρεσβερατρόλη. Ανήκει στα στυλβένια και ο χημικός της τύπος είναι 3,5,4'-τριυδροξυστυλβένιο. Βρίσκεται στα σταφύλια και το κρασί και αποτελεί πρόδρομο μόριο μιας οικογένειας πολυμερών που ονομάζονται βινφερίνες (Soleas b et al., 1997). Υπάρχει σε trans ή cis μορφή, ελεύθερη ή γλυκοζυλιωμένη. Η σύνθεση της ρεσβερατρόλης ξεκινά με την απαμίνωση της φαινυλαλανίνης, η οποία μετατρέπεται σε κιναμικό οξύ. Αυτό με τη σειρά του υδροξυλιώνεται σε p-κουμαρικό οξύ. Η ρεσβερατρόλη θα προέλθει τελικά από συμπύκνωση του p-κουμαρόλο-συνενζύμου Α με 3 μόρια μαλονύλο-συνενζύμου Α με τη βοήθεια της συνθετάσης των στυλβενίων. 4 μόρια CO₂ απελευθερώνονται για κάθε μόριο ρεσβερατρόλης που παράγεται (Soleas b et al., 1997). Η ρεσβερατρόλη προστατεύει τα φυτά από τη βλαβερή δράση των μυκήτων (δρα δηλ. ως phytoalexin). Το στρες, η μόλυνση του φυτού από *Botrytis cinerea* και η έκθεση στο υπεριώδες επάγουν τη σύνθεση της ρεσβερατρόλης (Soleas b et al., 1997).

Η περιεκτικότητα των κρασιών σε ρεσβερατρόλη παρουσιάζει μεγάλες αποκλίσεις. Αυτό οφείλεται στον τύπο του κρασιού, τον τρόπο παραγωγής, τη γεωγραφική περιοχή και τις κλιματολογικές συνθήκες αλλά και από τη χημική μέθοδο ανάλυσης, καθώς δεν έχουν όλες την ίδια ευαισθησία (Fremont, 2000, Kopp 1998). Μία γενική εκτίμηση είναι ότι τα κόκκινα κρασιά περιέχουν trans-ρεσβερατρόλη σε συγκέντρωση 0,1-15mg/l. Ακολουθούν τα ροζέ και τελικώς τα άσπρα με τα χαμηλότερα ποσά ρεσβερατρόλης και πολυφαινολών (Fremont, 2000). Σταφύλια που αναπτύσσονται σε περιοχές με μεγάλη πιθανότητα μολύνσεων, έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε ρεσβερατρόλη (Kopp, 1998). Έχει παρατηρηθεί ότι κρασιά από περιοχές με θερμό και ξηρό κλίμα έχουν πιο χαμηλή ποσότητα ρεσβερατρόλης, αναφορικά με κρασιά από περιοχές με ψυχρό και υγρό κλίμα (Soleas b et al., 1997, Kopp 1998). Από χημική ανάλυση των Burns et al. σε κρασιά από διάφορες περιοχές βρέθηκε ότι η ρεσβερατρόλη ήταν κυρίως στην άγλυκη μορφή της (Burns et al., 2000). Τα ολικά επίπεδα ρεσβερατρόλης που μετρήθηκαν κυμαίνονταν από 4,3μM (Californian Cabernet Sauvignon) έως 87,9 μM (Gervay Chambertin) (βλ. πίνακα 2.2).

Η ρεσβερατρόλη παρουσιάζει πολλές βιολογικές δράσεις που πιθανώς να εξηγούν εν μέρει την προστατευτική δράση του κρασιού έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Καταρχήν δρα ως αντιοξειδωτικό, εμποδίζοντας την οξείδωση της LDL και ρυθμίζοντας τον μεταβολισμό των λιπιδίων (Nigdikar et al., 1998). Αναστέλλει την ενζυματική δράση της NAD(P)H οξειδάσης και έτσι προστατεύει το NO από την καταστρεπτική δράση των ελευθέρων ριζών οξυγόνου, δρα δηλ. ως εκκαθαριστής (scavenger) (Orallo et al., 2001). Ταυτόχρονα παρουσιάζει αγγειοδιασταλτικές ιδιότητες : χορήγηση της σε ποσότητες 1-10μ M προκάλεσε ισχυρή αγγειοδιαστολή σε προσυσταλμένους αορτικούς δακτυλίους ποντικών (Orallo et al., 2001). Σε υψηλές συγκεντρώσεις εμποδίζει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, όταν χρησιμοποιούνται ως αγωνιστές το ADP(130μM ρεσβερατρόλης) και η θρομβίνη (165μM ρεσβερατρόλης) (Pace-Asciak et al., 1995) και μεταβάλλει τη σύνθεση των εικοσανοειδών (θρομβοξάνη B₂ κ.α.) (Pace-Asciak et al., 1996). Η αντιαθηρωματική δράση της ρεσβερατρόλης συνίσταται επίσης στην αναστολή της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης (E-selectin, VCAM-1, ICAM-1) (Ferrero et al., 1998, Pendurthi et al., 2002). Έτσι μειώνει την προσκόλληση των μονοκυττάρων και των λείων μυϊκών κυττάρων στο ενδοθηλιακό τοίχωμα. Επιπρόσθετα παρουσιάζει αντικαρκινική δράση: έρευνα των Hsieh et al. έδειξε ότι η ρεσβερατρόλη καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και εντείνει την απόπτωση (Hsieh et al., 1999). Συγχρόνως επάγει την έκφραση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 και μ' αυτόν τον τρόπο προστατεύει τον οργανισμό από την εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων.

Παρόλο που η ρεσβερατρόλη έχει ισχυρή βιολογική δράση, δε θα πρέπει να αγνοηθεί το γεγονός ότι αποτελεί το 1% του συνολικού φαινολικού περιεχομένου στο κρασί (Fremont, 2000). Είναι άγνωστο αν οι δράσεις της που έχουν παρατηρηθεί *in vitro* συμβαίνουν και *in vivo*. Επομένως, η προστατευτική δράση του κόκκινου κρασιού στην πρόληψη της στεφανιαίας νόσου δεν είναι δυνατόν να οφείλεται αποκλειστικά στη ρεσβερατρόλη αλλά στη συνεργιστική της δράση με τα υπόλοιπα συστατικά, είτε αυτά είναι οι πολυφαινόλες, είτε είναι το αλκοόλ.

(Burns et al. Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity and phenolic content of red wines. J Agric Chem 2000; 48: 220-230)

Πίνακας 2.2-Περιεκτικότητα διαφόρων κρασιών σε ρεσβερατρόλη (μM)

KPAΣI	ETOΣ	Trans- Ρεσβερατρόλη	Cis- ρεσβερατρόλη	Γλυκοζυλιωμένη trans- ρεσβερατρόλη	Ολική ρεσβερατρόλη
1.Chilean Cabernet Sauvignon	1997	2,1±0,3	2,5± 0,5	2,8± 0,3	7,4± 0,6
2.Californian Cabernet Sauvignon	1995	2,3± 0,1	2,0± 0,1	-	4,3± 0,1
3.Young Vatted Cabernet Sauvignon	1996	29,4 ±0,6	22,8± 0,7	8,3± 0,2	60,5± 1,1
4.Bulgarian Matured Cabernet Sauvignon	1992	27,9± 0,3	8,2± 0,2	3,1± 0,0	39,2± 0,5
5.Cono Sur Pinot Noir	1995	39,0± 0,2	28,1± 0,4	7,8± 1,6	74,9± 2,9
6. Domaine Rossignol Trapet, Gevrey Chambertin	1995	30,4± 0,8	27,1± 0,4	30,4± 0,8	87,9± 2,1
7.Villa Montes oak- aged Merlot	1994	2,1± 0,1	6,6± 0,2	-	8,7± 0,1
8. Merlot	1996	22,8± 2,2	22,1± 1,1	7,0± 0,4	51,9± 2,1
9.Valpolicella	1996	9,2± 0,9	4,4± 0,1	9,2± 0,9	22,8± 1,9

(Burns et al. Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity and phenolic content of red wines. J Agric Chem 2000; 48: 220-230)

Άλλα συστατικά

Η αιθανόλη και οι πολυφαινόλες είναι τα κυριότερα συστατικά του κρασιού αλλά όχι τα μοναδικά. Στο κρασί βρίσκεται σε μικρές ποσότητες (0,1-0,2gr/l) και μεθανόλη (CH_3OH), η οποία προέρχεται από υδρόλυση πηκτινικών ουσιών (Αλεξάκης, 2003). Απαμίνωση των αμινοξέων με τη δράση ζυμομυκήτων δίνει ανώτερες αλκοόλες όπως 1-προπανόλη, η 2-βουτανόλη κτλ. Η γλυκιά γεύση του κρασιού οφείλεται στα σάκχαρα που περιέχει δηλ. τη φρουκτόζη και τη γλυκόζη. Οι πολυσακχαρίτες βρίσκονται σε πολύ χαμηλές ποσότητες στα κρασιά (Soleas et al. a, 1997). Το pH των κρασιών ελέγχεται από τα οξέα (π.χ. τρυγικό, μηλικό, κιτρικό, οξικό, γαλακτικό οξύ κ.α.), τα οποία συμβάλλουν στη διατήρηση του. Έτσι κρασιά που προέρχονται από επεξεργασία ώριμων σταφυλιών περιέχουν λιγότερα οξέα από κρασιά από άγουρα σταφύλια (Αλεξάκης, 2003). Τέλος, στο κρασί υπάρχουν αζωτούχες ενώσεις όπως πρωτεΐνες, ισταμίνη κ.α. αλλά και ανόργανα συστατικά (ανιόντα χλωρίου, θειικά, φωσφορικά, κατιόντα K ή Na) που προέρχονται από τα στερεά μέρη του σταφυλιού (φλοιός) (Tomera et al., 1999).

B. Επιδημιολογική έρευνα

Τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερες έρευνες αποδεικνύουν την υπεροχή του κόκκινου κρασιού σε σχέση με τα άλλα αλκοολούχα ποτά (Gronbaek et al., 1995, de Lorgeril et al., 2002, Klatsky et al., 2003). Η μέτρια πρόσληψη του φαίνεται να έχει ευεγερτικές επιδράσεις στην υγεία, μειώνοντας τη θνησιμότητα από διάφορες αιτίες. Για παράδειγμα, η χαμηλή συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων στη Γαλλία, παρά το γεγονός ότι η διατροφή που ακολουθείται είναι όμοια με αυτή των υπολοίπων δυτικοευρωπαϊκών χωρών (υψηλή σε λιπαρά) έχει συνδεθεί με την ευρεία κατανάλωση κόκκινου κρασιού (French Paradox-Γαλλικό παράδοξο) (Renaud, 1992). Γενικά το αλκοόλ (όχι μόνο το κρασί) σε μικρές ποσότητες μπορεί να μεταβάλλει τα επίπεδα διαφόρων παραγόντων, προστατεύοντας από τις καρδιοπάθειες. Π.χ. αυξάνει τα επίπεδα της HDL (Buemann et al., 2002) ή μειώνει τα επίπεδα ινσουλίνης (Mennen et al., 1999). Άρα δεν είναι ακόμη γνωστό ποια από τα διάφορα συστατικά του κρασιού είναι υπεύθυνα για την ωφέλιμη δράση του και αν τελικά αυτή οφείλεται στην αιθανόλη, στις πολυφαινόλες ή σε

εξωτερικούς παράγοντες, όπως είναι το προφίλ των ατόμων που προτιμούν το κρασί, και όχι στην κατανάλωση κρασιού αυτή καθ' εαυτή.

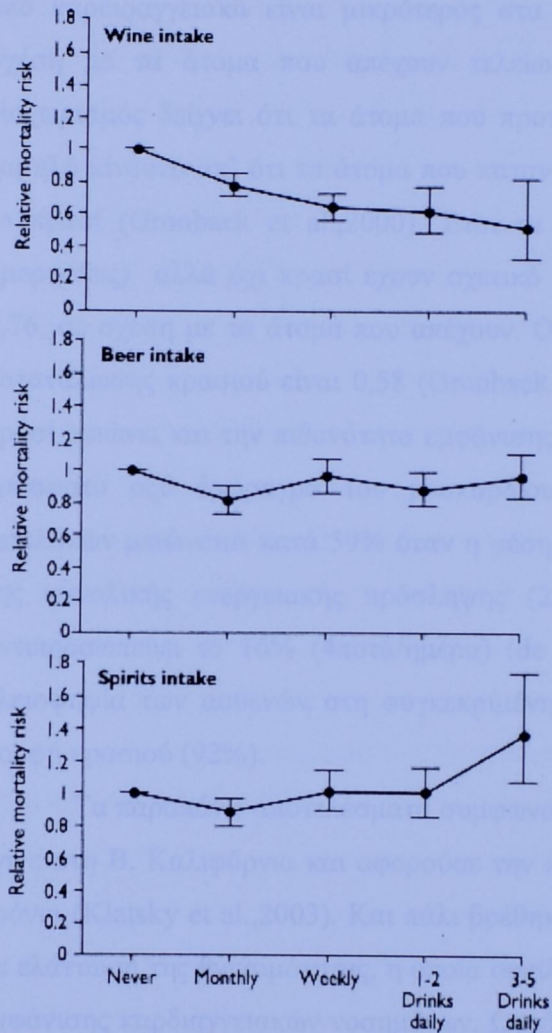
Η συστηματική κατανάλωση του κρασιού συνδέεται με μείωση της θνησιμότητας

Εν τούτοις πολλές έρευνες αποδεικνύουν ότι η μέτρια πρόσληψη κρασιού μειώνει τη θνησιμότητα από καρδιαγγειακά, εγκεφαλικά και διάφορες άλλες παθήσεις (Gronbaek et al., 1995, Truelsen et al., 1998, Gronbaek et al., 2000). Προοπτική έρευνα που πραγματοποιήθηκε στη Δανία από το 1976 έως το 1988 σε 6051 άντρες και 7234 γυναίκες έδειξε ότι το αλκοόλ σε μικρές ποσότητες προστατεύει από την ισχαιμική καρδιοπάθεια (Gronbaek et al., 1995). Η συσχέτιση που βρέθηκε μεταξύ αλκοόλ και θνησιμότητας από διάφορες αιτίες ήταν σχήματος U. Το κατερχόμενο τμήμα αποδόθηκε στην κατανάλωση κρασιού, η οποία όσο αυξάνεται μειώνει τον κίνδυνο θανάτου. Ενδεικτικά, άτομα που καταναλώναν 3-5 ποτήρια κρασί ημερησίως είχαν 50% λιγότερες πιθανότητες θανάτου σε σχέση με άτομα που δεν καταναλώναν καθόλου κρασί. Αντιθέτως ίδια ποσότητα spirits (=ποτά υψηλής περιεκτικότητας σε αλκοόλ π.χ. βότκα, ουίσκι κ.τ.λ.) αύξησε τον κίνδυνο θανάτου κατά 34%. Έτσι το ανερχόμενο τμήμα της καμπύλης αποδόθηκε στα spirits. Η πρόσληψη μπύρας δεν επηρέασε σημαντικά τον κίνδυνο θανάτου (βλ. διάγραμμα 2.1).

Όσον αφορά τη συνολική θνησιμότητα, η μέτρια πρόσληψη αλκοόλ χωρίς να περιλαμβάνεται το κρασί μειώνει τον κίνδυνο θανάτου από κάθε αιτία κατά 10%, ενώ η μέτρια πρόσληψη κρασιού κατά 34%. Έτσι, άτομα που καταναλώνουν υψηλές ποσότητες αλκοόλ αλλά όχι κρασί βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο απ' ότι άτομα των οποίων η κατανάλωση αλκοόλ στις ίδιες ποσότητες περιλαμβάνει και κρασί. Πάντως δεν έχει ανιχνευτεί δοσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ κρασιού και συνολικής θνησιμότητας: στην έρευνα των Gronbaek et al. ο κίνδυνος δε διέφερε σημαντικά είτε το κρασί αποτελούσε το 1-30% της ολικής πρόσληψης αλκοόλ, είτε >30% (Gronbaek et al., 2000). Πιθανώς να υπάρχει κάποιος άγνωστος συγχυτικός παράγοντας, ο οποίος δε διερευνήθηκε στην παρούσα έρευνα.

(Gronbaek M. et al. Mortality associated with moderate intake of wine, beer or spirits. BMJ 1995;310:1169-1170)

Διάγραμμα 2.1-Σχετικός κίνδυνος θνησιμότητας ανάλογα με την πρόσληψη κρασιού, μπύρας και spirits.



Ως 1 ορίζεται ο κίνδυνος θνησιμότητας για τα άτομα που απέχουν από το αλκοόλ.

Ο οριζόντιος άξονας περιλαμβάνει την συχνότητα κατανάλωσης αλκοόλ (ποτέ, μηνιαίως, εβδομαδιαίως, 1-2 ποτά ημερησίως και 3-5 ποτά ημερησίως).

Ο κάθετος άξονας δείχνει τον σχετικό κίνδυνο θνησιμότητας. Στο άνω τμήμα φαίνεται η προοδευτική μείωση του σχετικού κινδύνου με την πρόσληψη κρασιού, στο μεσαίο τμήμα η επίδραση της μπύρας και στο κάτω τμήμα η αύξηση του σχετικού κινδύνου με την πρόσληψη spirits. Τα αποτελέσματα ήταν ανεξάρτητα από το φύλο, την ηλικία, το μορφωτικό επίπεδο, το κάπνισμα και τον δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) των ατόμων.

(Gronbaek M. et al. Mortality associated with moderate intakes of wine, beer or spirits. BMJ 1995;310:1165-1169)

Η μείωση της θνησιμότητας με την κατανάλωση κρασιού οφείλεται κατά κύριο λόγο στη μείωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Γενικά ο κίνδυνος θανάτου από καρδιαγγειακά είναι μικρότερος στα άτομα που καταναλώνουν αλκοόλ σε σχέση με τα άτομα που απέχουν τελείως (Gronbaek et al.,2000). Περαιτέρω διαχωρισμός δείχνει ότι τα άτομα που προτιμούν κρασί παρουσιάζουν ακόμη πιο χαμηλό κίνδυνο απ' ότι τα άτομα που καταναλώνουν μεν αλκοόλ αλλά αποφεύγουν το κρασί (Gronbaek et al.,2000). Έτσι τα άτομα που πίνουν αλκοόλ (1-7 ποτά ημερησίως) αλλά όχι κρασί έχουν σχετικό κίνδυνο θανάτου από στεφανιαία νόσο 0,76, σε σχέση με τα άτομα που απέχουν. Ο κίνδυνος αυτός για την ίδια ποσότητα κατανάλωσης κρασιού είναι 0,58 (Gronbaek et al.,2000). Επίσης, όπως φαίνεται το κρασί μειώνει και την πιθανότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών επιπλοκών μετά από πρόσφατο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Έχει παρατηρηθεί ότι ο κίνδυνος επιπλοκών μειώνεται κατά 59% όταν η μέση πρόσληψη αλκοόλ είναι περίπου 7,7% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης (2 ποτά/ ημέρα) και κατά 52% όταν αντιπροσωπεύει το 16% (4ποτά/ημέρα) (de Lorgeril et al., 2002). Η συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών στη συγκεκριμένη έρευνα κατανάλωναν αλκοόλ υπό τη μορφή κρασιού (92%).

Τα παραπάνω αποτελέσματα συμφωνούν και με έρευνα των Klatsky et al. που έγινε στη Β. Καλιφόρνια και αφορούσε την παρακολούθηση 128934 ατόμων για 20 χρόνια (Klatsky et al.,2003). Και πάλι βρέθηκε ότι η κατανάλωση αλκοόλ συνδέεται με ελάττωση της θνησιμότητας, η οποία οφείλεται κατά κύριο λόγο σε ελάττωση της εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Ωστόσο θα πρέπει να τονιστεί ότι η μείωση αυτή παρατηρήθηκε με μέτρια πρόσληψη αλκοόλ γενικά αλλά ήταν πιο ισχυρή για το κρασί και λιγότερο ισχυρή για το λικέρ. Είτε κόκκινο, είτε άσπρο , η επίδραση του κρασιού ήταν παρεμφερής για όλους τους τύπους, χωρίς να παρουσιάζει σημαντικές διαφορές. Αυτό ενισχύεται και από προηγούμενη έρευνα των ίδιων, όπου είχε βρεθεί αντίστροφη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ (οποιοδήποτε είδος) και του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου (Klatsky et al., 1997). Η σχέση αυτή ήταν πιο ισχυρή για το κρασί, αλλά όχι ειδικά για το κόκκινο. Μάλιστα , η προστατευτική δράση του κρασιού αφορούσε κυρίως τις γυναίκες, ενώ για τους άντρες η μπίρα έδειξε μεγαλύτερη δράση. Αυτό δικαιολογείται από το γεγονός ότι οι γυναίκες κατανάλωναν κατά βάση κρασί και όχι μπίρα.

Σύγκριση του κρασιού με την μπίρα αποδεικνύει ότι το κρασί προσφέρει μεγαλύτερα οφέλη στην υγεία, παρόλο που και η μπίρα έχει πλεονεκτήματα, σε

σχέση με την πλήρη αποχή από το αλκοόλ. Έρευνα στην Γαλλία σε υγιείς άντρες έδειξε ότι μέτρια πρόσληψη αλκοόλ μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιακών νοσημάτων, με πιο σημαντική την επίδραση του κρασιού (Renaud et al., 1999). Ενδεικτικά 22-45γρ. αλκοόλ από κρασί (2-5 ποτήρια) μειώνουν την πιθανότητα για στεφανιαία νόσο κατά 48% ενώ απαιτείται μεγαλύτερη ποσότητα μπύρας (55-98 γρ., 3-9 ποτά) για μείωση κατά 42%. Επίσης μόνο το κρασί συνδέεται με μείωση της θνησιμότητας από κάθε αιτία (καρκίνος, βίαιοι θάνατοι κ.λ.π.): 22-32γρ. κρασί μείωσαν την θνησιμότητα έως και 33%. Αντιθέτως, η κατανάλωση μπύρας δεν είχε κάποια ιδιαίτερη επίδραση, όπως βρέθηκε και από την έρευνα Gronbaek et al. (1995).

Από μετα-ανάλυση που περιελάμβανε 26 έρευνες βρέθηκε ότι ο κίνδυνος εκδήλωσης αγγειοπάθειας ελαττώνεται κατά 32% με μέτρια πρόσληψη κρασιού και κατά 22% με πρόσληψη μπύρας (Di Castelnuovo et al., 2002). Πιο συγκεκριμένα, από 13 μελέτες με 209.418 άτομα προσδιορίστηκε η αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης κρασιού και του αγγειακού κινδύνου, η οποία έγινε στατιστικά σημαντική με ημερήσια ποσότητα κρασιού >150ml ημερησίως. Όπως διαπιστώθηκε, αρχικά ο κίνδυνος αγγειοπάθειας μειώνεται προοδευτικά με αυξανόμενα ποσά κρασιού, φθάνει στο κατώτερο σημείο και επανέρχεται όταν αυξάνεται κατά πολύ η κατανάλωση κρασιού. Παρουσιάζει δηλαδή μία καμπύλη σχήματος J. Αυτό σημαίνει ότι ο κίνδυνος για τα άτομα με χαμηλή έως μέτρια πρόσληψη κρασιού είναι μικρότερος απ' ότι των ατόμων που, είτε δεν καταναλώνουν καθόλου κρασί, είτε καταναλώνουν σε υψηλές ποσότητες. Σε μελέτες που αφορούσαν μόνο άντρες η προστατευτική δράση του κρασιού ήταν μικρή σε αντίθεση με μελέτες που περιελάμβαναν και γυναίκες. Από τις 15 μελέτες 208.096 ατόμων που αφορούσαν την κατανάλωση μπύρας βρέθηκε ότι μειώνεται ο αγγειακός κίνδυνος αλλά λιγότερο απ' ότι με το κρασί (Di Castelnuovo et al., 2002).. Ωστόσο η συσχέτιση μεταξύ διαφορετικών ποσοτήτων μπύρας και αγγειακού κινδύνου δεν ήταν στατιστικά σημαντική, άρα αυτή η αντίστροφη σχέση θα πρέπει να ερμηνευτεί με προσοχή.

Εκτός των άλλων, το κρασί μειώνει τη θνησιμότητα επειδή προστατεύει όχι μόνο από τα καρδιοαγγειακά αλλά και από άλλες παθήσεις. Παρακολούθηση 16 ετών σε 13.329 άντρες και γυναίκες ηλικίας 45-84 ετών στη Δανία έδειξε ότι η πρόσληψη κρασιού σε εβδομαδιαία ή ημερήσια βάση μειώνει τον κίνδυνο ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου σε σχέση με την αποχή από το κρασί (Truelsen et al., 1998). Αντιθέτως δε βρέθηκε κάτι αντίστοιχο για την κατανάλωση μπύρας ή spirits. Επειδή δεν υπήρξε συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης κρασιού και της πρόσληψης μπύρας

ή spirits, η προστατευτική δράση αποδίδεται αποκλειστικά στο κρασί και όχι γενικά σε κάποια ποσότητα αλκοόλ.

Προστατεύει πράγματι το κρασί ή όχι; Πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες

Παρόλα αυτά, η ευεγερτική δράση του κρασιού δεν είναι ακόμη τεκμηριωμένη πλήρως. Απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση αν αυτά τα αποτελέσματα που παρατηρούνται οφείλονται στο κρασί ή σε συγχυτικούς παράγοντες. Πιθανώς δηλαδή η μείωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων με τη μέτρια πρόσληψη κρασιού να οφείλεται σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά των ατόμων που προτιμούν το κρασί έναντι άλλων αλκοολούχων ποτών. Στις περισσότερες έρευνες η ομάδα αυτή (wine-drinkers) περιλαμβάνει το μεγαλύτερο ποσοστό μη καπνιστών, γυναικών, απόφοιτων ανώτερων σχολών, ατόμων με χαμηλό ΔΜΣ και γενικά πιο υγιεινό τρόπο ζωής (Gronbaek et al. 2000, Klatsky et al. 2003). Π.χ. στις ΗΠΑ η κατανάλωση κρασιού γίνεται κυρίως από τα ανώτερα κοινωνικά στρώματα, τα οποία έχουν καλύτερη πρόσβαση στο σύστημα υγείας (Rimm et al., 1996). Επομένως, πιθανώς η συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης κρασιού και της μείωσης της θνησιμότητας να είναι πλασματική. Έρευνα που έγινε στη Δανία έδειξε ότι η κατανάλωση κρασιού σχετίζεται με υψηλότερη πρόσληψη φρούτων, λαχανικών, ψαριού και μεγαλύτερη χρήση ελαιολάδου στο μαγείρεμα (βλ. πίνακα 2.3) (Tjonneland et al., 1999). Ενδεικτικά, το ποσοστό των γυναικών που προτιμούσαν μύρα και κατανάλωναν συχνά σαλάτα ήταν μόνο το 60% των γυναικών που προτιμούσαν κρασί και είχαν αντίστοιχη κατανάλωση σαλάτας. Δεδομένου ότι η δίαιτα σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την εκδήλωση στεφανιαίας νόσου (Key et al., 1996, Ness et al., 1997), πιθανώς η μείωση των καρδιαγγειακών να οφείλεται στις υγιεινές διαιτητικές συνήθειες των ατόμων που καταναλώνουν κρασί και όχι στο κρασί αυτό καθ' εαυτό.

Πίνακας 2.3 - Διαιτητικές συνήθειες ανάλογα με το είδος του προτιμώμενου αλκοολούχου ποτού

	Άτομα που απέχουν (%)	Άτομα που προτιμούν κρασί (%)	Άτομα που προτιμούν μπύρα (%)	Άτομα που προτιμούν spirits (%)	Συνολικά
Γυναίκες n = 25.479					
Φρούτα	30,6	33,5	23,6	26,1	30,2
Ψάρι	30,5	41,4	35,5	42,2	39,8
Λαχανικά	55,1	69,6	57,3	57,3	64,8
Σαλάτα	44,9	66,2	49,7	49,6	57,3
Όχι βούτυρο στο ψωμί	25,5	25,9	16,4	22,4	20,1
Ελαιόλαδο στο μαγείρεμα	5,6	12,0	6,4	5,3	7,0
Άντρες n = 23.284					
Φρούτα	21,6	19,0	12,1	17,8	16,6
Ψάρι	31,5	42,2	31,9	37,3	38,6
Λαχανικά	47,5	66,0	48,2	50,7	58,7
Σαλάτα	33,4	61,2	35,5	38,8	51,0
Όχι βούτυρο στο ψωμί	18,8	18,4	10,0	14,4	11,7
Ελαιόλαδο στο μαγείρεμα	7,1	13,4	5,1	6,4	8,0

(Tjonneland et al. Wine intake and diet in a random sample of 48.763 Danish men and women. Am J Clin Nutr 1999;69:49-54).

Επίσης, το κρασί αποτελεί το προτιμώμενο είδος ποτού για τις γυναίκες (Kropp et al. 2001). Αναφορικά με τους άντρες, οι γυναίκες καταναλώνουν μικρότερα ποσά αλκοόλ και παρουσιάζουν μικρότερα ποσά εθισμού (Gronbaek et al. 1994, Klatsky et al. 2003). Άρα η προστατευτική του δράση μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η ομάδα των ατόμων που προτιμούν κρασί περιλαμβάνει υψηλό ποσοστό γυναικών, οι οποίες αποφεύγουν την κατάχρηση και καταναλώνουν χαμηλές ποσότητες. Επιπλέον, οι γυναίκες παρουσιάζουν πιο τακτική πρόσληψη ενώ στους άντρες παρατηρείται συχνά το φαινόμενο του binge drinking (Klatsky et al. 2003). Πιο συγκεκριμένα ιδιαίτερο ρόλο παίζει ο τρόπος με τον οποίο καταναλώνεται το αλκοόλ (drinking pattern). Το κρασί προτιμάται κατά τη διάρκεια των γευμάτων, σε αντίθεση με την μπύρα και τα spirits που συνήθως καταναλώνονται άστατα κατά τη διάρκεια της ημέρας (binge drinking) (Gronbaek et al. 2000, Truelsen et al. 1998). Αυτό επιτρέπει καλύτερη απορρόφηση της αιθανόλης και καθυστερεί τις μεταγευματικές μεταβολές διαφόρων παραμέτρων που επηρεάζουν την ενδοθηλιακή λειτουργία (Locher et al., 1998). Έτσι αποδεικνύεται ωφέλιμη η μέτρια και τακτική πρόσληψη αλκοόλ κατά τη διάρκεια των γευμάτων, που συναντάται συχνότερα στους wine-drinkers.

Αλκοόλ έναντι κρασιού

Η άποψη ότι δεν είναι μόνο το κρασί που ασκεί καρδιοπροστατευτική δράση αλλά γενικότερα το αλκοόλ ενισχύεται και από άλλες έρευνες. Για παράδειγμα, η κατανάλωση αλκοόλ 3-4 ημέρες την εβδομάδα μείωσε τον κίνδυνο για οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (OEM) κατά 32% σε υγιείς άντρες (Mukamal et al., 2003). Ο κίνδυνος ήταν παρόμοιος για τους άντρες που κατανάλωναν λιγότερο από 10γρ αλκοόλ ημερησίως και για εκείνους που κατανάλωναν 30γρ ή περισσότερο. Κύριος παράγοντας για τη μείωση του κινδύνου προσδιορίστηκε η συχνότητα πρόσληψης αλκοόλ και όχι κάποιο είδος συγκεκριμένα ή ο τρόπος κατανάλωσης (drinking pattern). Αξίζει να σημειωθεί όμως ότι η αντίστροφη σχέση μεταξύ της πρόσληψης αλκοόλ και της μείωσης του κινδύνου για OEM ήταν πιο ισχυρή για τη μπύρα και το λικέρ και λιγότερο ισχυρή για το άσπρο και το κόκκινο κρασί (Mukamal et al., 2003). Κάτι τέτοιο μπορεί να δικαιολογηθεί από το γεγονός ότι στη συγκεκριμένη έρευνα μεγαλύτερο ήταν το ποσοστό των ατόμων που κατανάλωναν μπύρα και λικέρ απ' ότι κρασί. Έτσι στηρίζεται η υπόθεση ότι η μείωση του κινδύνου είναι πιο ισχυρή για το ποτό που καταναλώνεται σε μεγαλύτερο ποσοστό από έναν συγκεκριμένο πληθυσμό

(Mukamal et al., 2003). Π.χ. έρευνες που έχουν γίνει στη Δανία δείχνουν ότι το κρασί μειώνει την καρδιαγγειακή θνησιμότητα, όχι όμως και τα spirits (Gronbaek et al., 1995). Ωστόσο, στη Δανία η κύρια κατανάλωση αλκοόλ αφορά το κρασί καθώς μόνο ένα μικρό μέρος του πληθυσμού καταναλώνει spirits (Gronbaek et al., 1995). Πιθανώς τα άτομα που προτιμούν τα spirits έναντι του κρασιού να έχουν και διαφορετικές συνήθειες και τρόπο ζωής από τον υπόλοιπο πληθυσμό (Rimm et al., 1996). Επομένως το γεγονός ότι η ελάττωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων δεν παρατηρείται σε αυτή την ομάδα να μην οφείλεται στην κατανάλωση spirits αλλά σε άλλους παράγοντες.

Αντίστοιχα αναδρομική έρευνα σε 340 ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου έδειξε ότι η μέτρια πρόσληψη αλκοόλ μειώνει την πιθανότητα εμφράγματος, ανεξάρτητα από το αν πρόκειται για κρασί, για μύρα ή για λικέρ (Gaziano et al., 1999). Επομένως, η καρδιοπροστατευτική δράση του κρασιού αποδίδεται στην αιθανόλη και όχι σε άλλα συστατικά. Κάτι αντίστοιχο είναι το συμπέρασμα της ανάλυσης των Rimm et al. (Rimm et al., 1996). Συλλογή στοιχείων από αναδρομικές και προοπτικές έρευνες δεν έδειξε ότι κάποιο συγκεκριμένο είδος ποτού ασκεί καρδιοπροστατευτική δράση καθώς η αντίστροφη σχέση μεταξύ της πρόσληψης αλκοόλ και της εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου βρέθηκε να ισχύει και για το κρασί και για τη μύρα και για τα spirits.

Ο μηχανισμός με τον οποίο δρα το αλκοόλ συνίσταται κατά κύριο λόγο στην αύξηση των επιπέδων της HDL. Καθημερινή κατανάλωση 30γρ αιθανόλης μπορεί να αυξήσει τη συγκέντρωση της HDL κατά 3,39mg/dl, γεγονός που σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου (Rimm et al., 1999). Εκτός αυτού το αλκοόλ προστατεύει από την εκδήλωση στεφανιαίας νόσου καθώς μειώνει τα επίπεδα ινωδογόνου (Mennen et al., 1999), αυξάνει τα επίπεδα tPA, συμβάλλοντας στη λύση των θρόμβων (Hendriks et al., 1994) και επηρεάζει τους δείκτες φλεγμονής - π.χ. μέτρια πρόσληψη αλκοόλ μειώνει τα επίπεδα της C-reactive protein (C-αντιδρώσα πρωτεΐνη) (Albert et al., 2003), η οποία αποτελεί δείκτη συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης και συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου (Rohde et al., 1999). Από τη μετα-ανάλυση των Rimm et al. βρέθηκε ότι ημερήσια πρόσληψη 30 γρ αλκοόλ ελαττώνει τον κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα κατά 24,7% με αλλαγές στις συγκεντρώσεις των HDL, ινωδογόνου και τριγλυκεριδίων (Rimm et al., 1999). Άντρες που καταναλώνουν 2-6 ποτά/ εβδομάδα έχουν σημαντικά μειωμένο κίνδυνο για αιφνίδιο καρδιακό θάνατο σε σχέση με αυτούς που αποφεύγουν

το αλκοόλ (Albert et al., 1999). Επίσης, η μέτρια πρόσληψη αλκοόλ περιορίζει τον κίνδυνο εμφάνισης περιφερικής αρτηριοπάθειας (Camargo et al., 1997). Οι Thun et al. παρατήρησαν ότι το ποσοστό των θανάτων από καρδιαγγειακές παθήσεις μειωνόταν με την προοδευτική αύξηση της πρόσληψης αλκοόλ. Η μείωση αυτή για πρόσληψη αλκοόλ >1ποτό/ ημέρα ήταν 30% για τους άντρες και 40% για τις γυναίκες (Thun et al., 1997).

Συνεπώς, η μείωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων φαίνεται να συσχετίζεται με τη μέτρια πρόσληψη αλκοόλ. Δεν μπορεί να λεχθεί με σιγουριά αν αυτή η συσχέτιση είναι αιτιολογική και αν το κρασί προστατεύει σε μεγαλύτερο βαθμό απ' ό,τι τα άλλα αλκοολούχα ποτά. Τα αποτελέσματα των διαφόρων ερευνών θα πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή, για την αποφυγή πλασματικών συσχετίσεων. Επιπλέον συχνά διατυπώνεται η άποψη ότι είναι λανθασμένη η επιλογή ατόμων που δεν καταναλώνουν καθόλου αλκοόλ (abstainers) ως ομάδα ελέγχου διότι αυτό μπορεί να οφείλεται σε κάποια ασθένεια ή σε πρωτότερη υπερβολική πρόσληψη αλκοόλ (Mumakal et al.). Ωστόσο στις περισσότερες έρευνες γίνεται προσεκτική επιλογή των ατόμων της ομάδας ελέγχου για αποφυγή συστηματικών σφαλμάτων. Συνοψίζοντας, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να διαπιστωθεί αν η προστατευτική δράση της μέτριας πρόσληψης αλκοολούχων ποτών οφείλεται στο κρασί μόνο ή γενικά στο αλκοόλ. Αναμφισβήτητα όμως χαμηλές ποσότητες αλκοόλ και άρα και κρασιού δεν μπορούν να βλάψουν την υγεία.

3.ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ&ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΑΓΓΕΙΟΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η ρύθμιση του αγγειακού τόνου αποτελεί μία από τις βασικότερες λειτουργίες του ενδοθηλίου. Διαμεσολαβείται από την έκκριση αγγειοδιασταλτικών ουσιών όπως NO, EDHF και αγγειοσυσταλτικών όπως η ενδοθηλίνη-1 (ET-1). Πρόσφατες έρευνες αποδεικνύουν ότι το κόκκινο κρασί μπορεί να επηρεάσει την αυτογενή δραστηριότητα του λείου μυός των αγγείων. Υποστηρίζεται ότι τα φαινολικά του συστατικά επάγουν την αγγειοδιαστολή και αυτή η δράση τους εξαρτάται από την ακεραιότητα του ενδοθηλίου και την ύπαρξη ή όχι αναστολέων της eNOS (Flesch et al., 2001). Οι πολυφαινόλες του κόκκινου κρασιού μειώνουν την αρτηριακή πίεση, αυξάνουν τη σύνθεση e NOS και την παραγωγή NO μέσω διαφόρων μηχανισμών και κατ' επέκταση βελτιώνουν την ενδοθηλιακή λειτουργία (Diebolt et al., 2001). Εν τούτοις θα πρέπει να τονιστεί ότι η μελέτη της επίδρασης του κόκκινου κρασιού στην αγγειακή κινητικότητα αποτελεί ένα νέο ερευνητικό πεδίο. Αυτό σημαίνει ότι οι σχετικές διαθέσιμες έρευνες είναι περιορισμένες και είναι δύσκολο να ταξινομηθούν καθώς χρησιμοποιούν διαφορετικές τεχνικές και εξετάζουν την επίδραση του κρασιού με διαφορετικούς τρόπους. Επιπρόσθετα η πλειοψηφία τους έχει πραγματοποιηθεί σε ζώα και όχι σε ανθρώπους εξαιτίας ηθικών λόγων αλλά και δυσκολιών στη μελέτη in vivo των διαφόρων παραμέτρων που σχετίζονται με την αγγειορύθμιση. Επομένως παρακάτω παρατίθενται τα στοιχεία που έχουν βρεθεί όμως είναι άγνωστο αν οι παρατηρούμενες επιδράσεις του κόκκινου κρασιού στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου in vitro συμβαίνουν και in vivo στον ανθρώπινο οργανισμό και αν τελικά το κρασί μπορεί να έχει ενεργό ρόλο στη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας.

Αγγειοδιαστολή: πολυφαινόλες ή αλκοόλ;

Σε μία πρώτη φάση θα πρέπει να διερευνηθεί αν οι αγγειοδιασταλτικές ιδιότητες του κρασιού οφείλονται στην αιθανόλη που περιέχει ή σε άλλα συστατικά του. Γενικά το αλκοόλ προωθεί την πρωτεϊνική έκφραση της e NOS και ενεργοποιεί την παραγωγή NO (Buemann et al., 2002). Επίσης τα αλκοολούχα ροφήματα έχουν την ικανότητα να επηρεάζουν την ενδοθηλιακή λειτουργία μέσω της ρύθμισης των επιπέδων της ομοκυστεΐνης. Η ομοκυστεΐνη προέρχεται από απομεθυλίωση της μεθειονίνης στο ήπαρ και αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για τα καρδιαγγειακά (Vollset et al., 2001). Προκαλεί τραυματισμό του ενδοθηλίου και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία ως αποτέλεσμα οξειδωτικού στρες. Υψηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης μειώνουν την ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και την έκφραση mRNA eNOS (Weiping Fu et al., 2003). Έχει βρεθεί ότι το κόκκινο κρασί και η μπύρα μπορούν να αναστρέψουν την καταστροφική δράση της ομοκυστεΐνης (van der Gaag et al., 2000). Παρόλα αυτά υπεύθυνα φαίνεται να είναι τα αντιοξειδωτικά συστατικά (βιταμίνη B₆ και φυλλικό οξύ στη μπύρα, πολυφαινόλες στο κρασί) των ποτών και όχι η αιθανόλη (Buemann et al., 2002, Vermeulen et al., 2000). Κατανάλωση κόκκινου κρασιού (500ml) είτε με αλκοόλ, είτε χωρίς αλκοόλ, από υγιείς άντρες αύξησε τη διαστολή που προκαλείται από αντιδραστική υπεραιμία, ενώ η κατανάλωση νερού (απουσία αιθανόλης και πολυφαινολών) δεν είχε καμμία επίδραση (Hashimoto et al., 2001). Η % αύξηση στην αγγειοδιαστολή λόγω υπεραιμίας (flow-mediated vasodilation-FMD) ήταν μεγαλύτερη και έγινε σε πιο σύντομο χρονικό διάστημα (30min) όταν το κρασί δεν περιείχε αλκοόλ. Χρειάστηκαν 120min για αύξηση της FMD στην περίπτωση που το κρασί περιείχε αλκοόλ (0,8gr/kg). Αν ληφθεί μάλιστα υπόψη ότι η κατανάλωση βότκας (υψηλή περιεκτικότητα αιθανόλης, μηδενική πολυφαινολών) οδήγησε σε μείωση της %FMD, φαίνεται ότι η αιθανόλη ανταγωνίζεται την προστατευτική δράση των πολυφαινολών. Οι Agewall et al. παρατήρησαν ότι ένα ποτήρι κόκκινου κρασιού με αλκοόλ αύξησε τη διάμετρο της βραχιόνιας αρτηρίας κατά την ηρεμία, τον καρδιακό ρυθμό και τη ροή του αίματος (Agewall et al., 2001). Όμως η αγγειοδιαστολή λόγω υπεραιμίας αυξήθηκε σημαντικά απουσία αλκοόλ και ήταν ενδοθηλιο-εξαρτώμενη ενώ δε μεταβλήθηκε με την κατανάλωση κόκκινου κρασιού με αλκοόλ. Πολύωρη επώαση ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων με διήθημα από πολυφαινόλες κόκκινου κρασιού (απουσία αλκοόλ) αύξησε τα πρωτεϊνικά επίπεδα e NOS και τη δραστηριότητα της (όπως μετρήθηκε από NO₂⁻ / NO₃⁻). Αυτό οδήγησε στο

συμπέρασμα ότι οι πολυφαινόλες του κόκκινου κρασιού συμβάλουν στην πρόληψη καρδιακών νοσημάτων πιθανότατα και λόγω της αυξημένης παραγωγής NO (Leikert et al., 2002). Μελέτη σε απομονωμένα τμήματα αορτής ποντικών και ανθρώπινων στεφανιαίων αρτηριών έδειξε ότι τα κρασιά με συγκεκριμένο τρόπο επεξεργασίας (en barrique-ωρίμανση σε δρύινα βαρέλια) ήταν αυτά που προκάλεσαν αγγειοδιαστολή (Flesh et al., 1998). Τα κρασιά en barrique έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες σε σχέση με τα υπόλοιπα διότι στην επεξεργασία τους περιλαμβάνονται και οι καρποί του σταφυλιού (Flesh et al., 1998). Η αιθανόλη σε συγκεντρώσεις ανάλογες με αυτές των κρασιών που προκάλεσαν διαστολή δεν επέδρασε στον αγγειακό τόνο. Έτσι φαίνεται η υπεροχή του κρασιού έναντι άλλων αλκοολούχων ποτών.

Σύγκριση μεταξύ γαλλικών και γερμανικών κρασιών που περιέχουν το ίδιο ποσό αιθανόλης έδειξε ότι τα γαλλικά είναι πολύ πιο δραστικά in vitro και αυτό αποδόθηκε στο υψηλό ποσοστό τους σε πολυφαινόλες (Wallerath et al., 2003). Μετά από 12ώρες επώασης ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων με υψηλές συγκεντρώσεις κόκκινου κρασιού (10% v/v στην κυτταρική καλλιέργεια) παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των επιπέδων της e NOS, ενώ χρειάστηκαν περίπου 10 ημέρες για να προκληθεί αντίστοιχη αύξηση με χαμηλές συγκεντρώσεις (1%v/v). Η αιθανόλη χρησιμοποιήθηκε στο γκρουπ ελέγχου και επηρέασε σε πολύ μικρό βαθμό την eNOS και συνεπώς την αγγειοδιαστολή. Όσον αφορά τις πολυφαινόλες, επειδή περιέχουν πολλά μονομερή και είναι παρούσες με διάφορες μορφές (π.χ. γλυκοζυλιωμένες, ακέτυλο-γλυκοζυλιωμένες, αγλυκάνες κτλ.) είναι δύσκολη η ταυτοποίηση τους (Papanga et al., 1997, Burns et al., 2000). Οι πιο δραστικές είναι τα ολιγομερή συμπυκνωμένων τανινών και οι ανθοκυανίνες, ειδικά η δελφινίνη, όπως φαίνεται από τον πίνακα 3.1 που ακολουθεί με τα αποτελέσματα έρευνας των Andriambeloson et al., για την %αγγειοδιαστολή ανάλογα με την κατηγορία των πολυφαινολών (Andriambeloson et al., 1998).

Πίνακας 3.1- Βαθμός % αγγειοδιαστολής από επίδραση πολυφαινολών

Κατηγορίες πολυφαινολών	Σειρά (fraction)	E _{max} (%αγγειοδιαστολή)
Μίγμα πολυφαινολών (συνολικά)	-	87,40
Πολυμερή συμπυκνωμένων ταννινών ^α	1	22,29
	2	20,45
	3	47,08
Ολιγομερή συμπυκνωμένων ταννινών ^β	4	68,07
	5	69,11
	6	59,32
	7	69,39
Ανθοκυανίνες ^γ	8	62,87
	9	72,26
	10	76,73
Δελφινίνη	-	80,27

Όπου α: πολυμερή συμπυκνωμένων ταννινών με προοδευτικά μειούμενο M.B. (M.B.₁ > M.B.₂ > M.B.₃), β: ολιγομερή συμπυκνωμένων ταννινών (σειρά 4: μονομερή φλαβονολ-3-ολών, 5: μονομερείς και διμερείς μορφές, 6: διμερή, 7: τριμερή, τετραμερή), γ: ανθοκυανίνες (σειρά 8: διγλυκοζίτες ανθοκυανινών, 9: μονογλυκοζίτες ανθοκυανινών, 10: μη-γλυκοζυλιωμένες ανθοκυανίνες).

(Andriambeloson et al. Natural dietary polyphenolic compounds cause endothelium-dependent vasorelaxation in rat thoracic aorta. J Nutr 1998;128:2324-2333).

Επίδραση απομονωμένων πολυφαινολών

Η κατεχίνη και η επικατεχίνη προκαλούν διαστολή μόνο σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις ενώ τα πολυμερή των συμπυκνωμένων ταννινών δεν έχουν κάποια ιδιαίτερη επίδραση, ίσως εξαιτίας του μεγάλου MB. Ομοίως η σιγμαστερόλη και η β-σιτοστερόλη δεν παίζουν ρόλο στη ρύθμιση των επιπέδων NO (Wallerath et al., 2002). Από την άλλη, η κερκετίνη και το ταννικό οξύ αυξάνουν τα επίπεδα c GMP και έτσι μειώνουν τον αγγειακό τόνο. Η in vitro αγγειοδιαστολή που προκαλούν είναι δοσο εξαρτώμενη. Η δράση του ταννικού οξέος σχετίζεται με την ύπαρξη ενδοθηλίου και άρα αμβλύνεται παρουσία L-NMMA (αναστολέας NO), ενώ της κερκετίνης όχι

(Flesh et al., 1998). Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η αγγειοδιαστολή διαμεσολαβείται από την παραγωγή NO μόνο για το ταννικό οξύ. Αντίστοιχο είναι και το συμπέρασμα που προκύπτει για τη δράση της ρεσβερατρόλης: χορήγηση της σε ποσότητες 1-10 μ M προκάλεσε ισχυρή αγγειοδιαστολή σε προσυσταλμένους αορτικούς δακτυλίους ποντικών παρουσία ενδοθηλίου (Orallo et al., 2001). Ο αναστολέας της συνθετάσης του NO (N^G -nitro- L-arginine, L-NOARG) και ο αναστολέας της γουανυλικής κυκλάσης (κυανούν του μεθυλενίου) εμπόδισαν τη διαστολή αλλά η δράση τους αντιστράφηκε από την L-αργινίνη. Άρα το NO ήταν αυτό που οδήγησε σε διαστολή. Επειδή όμως δεν παρατηρήθηκε αύξηση της ενζυματικής δράσης της e NOS, η αγγειοδιαστολή αποδόθηκε σε μειωμένη βιομετατροπή του NO από O_2^- καθώς η trans-ρεσβερατρόλη ανέστειλε την ενζυματική δράση της NAD(P)H οξειδάσης (Orallo et al., 2001).

eNOS&ρεσβερατρόλη

Εν τούτοις αυτό έρχεται σε αντίθεση με αποτελέσματα άλλων ερευνών. Η ρεσβερατρόλη σε συγκεντρώσεις αντίστοιχες με αυτές που υπάρχει στα σταφύλια (50-100 μ M) μπορεί να προάγει την έκφραση της eNOS (Hsieh et al., 1999). Επίσης έχει βρεθεί ότι επιμηκύνει τον χρόνο ημιζωής του m RNA της eNOS, αυξάνοντας σημαντικά τη σταθερότητα του (Wallerath et al., 2002). Π.χ. επώαση ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων με ρεσβερατρόλη (33 μ mol/l) καθυστέρησε τη μείωση του χρόνου ημιζωής του m RNA e NOS από την ακτινομυκίνη D, ανάλογα με τις ώρες επώασης (12h, 24h, 36h, 48h). Έτσι στις 12 ώρες τα επίπεδα m RNA eNOS ήταν πιο υψηλά στα κύτταρα όπου υπήρχε ρεσβερατρόλη σε σχέση με το γκρουπ ελέγχου.

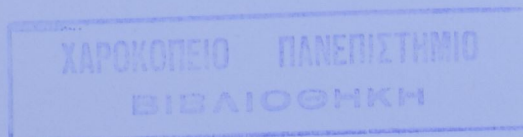
i) έκφραση της eNOS

Οι μηχανισμοί που επηρεάζουν την έκφραση eNOS συμβαίνουν σε μεταγραφικό επίπεδο: χορήγηση γαλλικού κρασιού αύξησε τη δραστηριότητα του υποκινητή της e NOS μέσω ενεργοποίησης των αρχικών αλληλουχιών του (πρώτα 326bp), όπου γίνεται η πρόσδεση διαφόρων μεταγραφικών παραγόντων (SV40 virus promoter specific transcription protein-SP1, Polyomavirus Enhancer Activator 3-PEA3, Ying Yang 1-YY1, E74-like factor 1- ELF-1) (Wallerath et al., 2003). Ως γνωστό οι υποκινητές ξεκινούν ένα βασικό επίπεδο μεταγραφής. Όμως διάφοροι μεταγραφικοί παράγοντες, ενεργοποιητές ή αναστολείς, δεσμευμένοι σε άλλες θέσεις του DNA μπορούν να ρυθμίζουν τη μεταγραφή, είτε επάγοντας την, είτε

καταστέλλοντας την. (Μαρμαράς, 2000). Στην προκείμενη περίπτωση, οι πολυφαινόλες ενεργοποίησαν τις πρώτες αλληλουχίες του υποκινητή αλλά δε βρέθηκαν αλλαγές στη σύνδεση του κυτταρικού DNA με ολιγονουκλεοτίδια που περιελάμβαναν τους παραπάνω μεταγραφικούς παράγοντες. Αυτό σημαίνει ότι η αύξηση στην έκφραση της e NOS είναι μία πολυπαραγοντική διαδικασία που περιλαμβάνει και άλλους, μη ταυτοποιημένους μεταγραφικούς παράγοντες (Wallerath et al., 2003).

ii) μηχανισμός δράσης ρεσβερατρόλης

Η επίδραση της ρεσβερατρόλης στο ένζυμο eNOS δε φαίνεται να διαμεσολαβείται από τους υποδοχείς οιστρογόνων. Στοιχεία ICI, RU που είναι ανταγωνιστές των α,β υποδοχέων οιστρογόνων δεν κατάφεραν να αντιστρέψουν τη δράση της ρεσβερατρόλης στην έκφραση του mRNA και στη δραστηριότητα του υποκινητή της e NOS (Wallerath et al., 2002). Πιθανώς η ενεργοποίηση των υποδοχέων αδενosίνης είναι αυτή που παίζει βασικό ρόλο στη δράση της ρεσβερατρόλης. Πιο συγκεκριμένα, χορήγηση ρεσβερατρόλης (ex vivo σε Langerdoff-perfused rat hearts, 10μM, 10min) αύξησε τη διαστολή των αγγείων και συνεπώς τη στεφανιαία ροή. Ταυτόχρονα όμως αυξήθηκαν και τα επίπεδα αδενosίνης (Bradamante et al., 2002). Όταν όμως χρησιμοποιήθηκε ανταγωνιστής του υποδοχέα της αδενosίνης (SPT: *p*-sulphophenyl theophylline) η αύξηση της ροής του αίματος καταστράφηκε τελείως. Αυτό σημαίνει ότι ήταν αδενosίνο-εξαρτώμενη. Επειδή η ρεσβερατρόλη δεν πληρεί τα κριτήρια για σύνδεση με τους υποδοχείς αδενosίνης, αποκλείστηκε η άμεση επίδραση της στην αγγειοδιαστολή (Bradamante et al., 2002). Επομένως η ρεσβερατρόλη έδρασε έμμεσα και ενίσχυσε την παραγωγή αδενosίνης, η οποία με τη σειρά της ενεργοποίησε τους αντίστοιχους υποδοχείς, επάγοντας τη δράση της αδενυλικής κυκλάσης (Bradamante et al., 2002). Τα υψηλά επίπεδα c AMP οδήγησαν σε παραγωγή NO και διαστολή των αγγείων (Lamping 2001, Ray et al., 2002).



Η αγγειοδιασταλτική δράση των πολυφαινόλων διαμεσολαβείται μόνο από το NO;

Το γεγονός ότι οι πολυφαινόλες μπορούν να προκαλέσουν αγγειοχάλαση παρουσία λειτουργικού ενδοθηλίου ενισχύεται από πολλές έρευνες αλλά δε σχετίζεται μόνο με τον ενδοθηλιακό σχηματισμό NO. Πιθανώς οι πολυφαινόλες να επάγουν τη δράση και άλλων αγγειοδιασταλτικών ουσιών. Προσθήκη L-NA (N-nitro-L-arginine) σε τμήματα στεφανιαίων αρτηριών άμβλυνε την αγγειοδιαστολή αλλά δεν κατάφερε να την εμποδίσει τελείως, αποδεικνύοντας τον ενεργό ρόλο και άλλων συστατικών εκτός από το NO (Ndiaye et al., 2003). Περαιτέρω δράση απαμίνης (apamin) και καρυβδοτοξίνης (charybdotoxin), δύο αναστολέων EDHF, ουσιαστικά κατέστρεψε τη διαστολή. Αυτό σημαίνει ότι η αγγειοδιασταλτική δράση των πολυφαινόλων διαμεσολαβήθηκε από την ενδοθηλιακή παραγωγή όχι μόνο NO αλλά και EDHF. Διερεύνηση του μηχανισμού μέσω του οποίου οι πολυφαινόλες αύξησαν τη δράση του EDHF έδειξε ότι ο ενδοκυττάριος σχηματισμός υπεροξειδίου (οξειδωτικό στρες) αποτελεί βασική προϋπόθεση δεδομένου ότι η παρουσία αντιοξειδωτικών (N-ακετυλκυστεΐνη, SOD-superoxide dismutase) μείωσε σημαντικά την EDHF-μεσολαβούμενη διαστολή. Το υπεροξείδιο φαίνεται να προήλθε από την οξειδάση NAD(P)H και όχι από άλλα ενζυμικά συστήματα (οξειδάση ξανθίνης ή ένζυμα μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας) (Ndiaye et al., 2003). Κάτι τέτοιο έρχεται σε αντίθεση με τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των πολυφαινόλων όπως π.χ. τη μείωση της ενζυματικής δράσης της NAD(P)H από τη ρεσβερατρόλη (Orallo et al., 2001). Εν τούτοις δικαιολογείται αν ληφθεί υπόψη ότι η αύξηση του υπεροξειδίου (αύξηση οξειδωτικού στρες) ήταν τοπική και ελεγχόμενη. Επίσης οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης Ca στα ενδοθηλιακά κύτταρα, η οποία αποτελεί ερέθισμα για την ενεργοποίηση αγγειοδιασταλτικών ουσιών (Cohen et al., 1999). Παρόλα αυτά απαιτείται επιπλέον έρευνα για την ακριβή διαλεύκανση του ρόλου του υπεροξειδίου (Ndiaye et al., 2003). Συνοψίζοντας ο EDHF αποτελεί βασικό μεσολαβητή της διαστολής που προκαλείται από τις πολυφαινόλες και εξαρτάται από τον ενδοκυττάριο σχηματισμό υπεροξειδίου στα ενδοθηλιακά κύτταρα (redox-sensitive mechanism) με τη βοήθεια φλαβονοενζύμων (οξειδάση NAD(P)H).

Η διαστολή σε επίπεδο αντίστοιχο με αυτή της οξείας αγγειοχάλασης (Zanotti et al., 2001).

Ελάττωση της συστολικής πίεσης

ι)μέσω αυξημένης ενδοθηλιακής απόκρισης σε αγγειοδιασταλτικές ουσίες

Επιπρόσθετα, η προστατευτική δράση των πολυφαινολών του κόκκινου κρασιού (red wine polyphenolic compounds –RWPCs) έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων συνίσταται και στην ικανότητα του να μειώνει τη συστολική πίεση, όπως αποδεικνύεται από πειράματα σε νορμοτασικούς και υπερτασικούς ποντικούς. Ο μηχανισμός περιλαμβάνει αυξημένη απόκριση του ενδοθηλίου σε αγγειοδιασταλτικές ουσίες (π.χ. ακετυλοχολίνη) ή μειωμένη απόκριση σε αγγειοσυσταλτικές (π.χ. νορεπινεφρίνη). Η ενίσχυση της αγγειοδιαστολής είναι ενδοθηλιο-εξαρτώμενη και επιτυγχάνεται με α) αυξημένη παραγωγή NO και β) προστασία του από τις καταστρεπτικές δράσεις των υπεροξειδίων (Zenebe et al., 2003). Πιο συγκεκριμένα οι RWPCs προκαλούν δοσοεξαρτώμενη διαστολή αορτικών δακτυλίων μόνο παρουσία ενδοθηλίου και όχι στα τμήματα με κατεστραμμένο ενδοθήλιο, όπως φαίνεται από έρευνα που έγινε σε αορτές ποντικών για 7 ημέρες (ex vivo, 20mgRWPCs/kg) (Diebolt et al., 2001). Η διαστολή αυτή εμποδίζεται από L-NAME (N-nitro-L-arginine methylester), γεγονός που δείχνει ότι η παραγωγή NO έχει ενεργό ρόλο (Bertova et al., 2002). Εξάλλου προσθήκη L-αργινίνης αναστέλλει τη δράση του L-NAME (Zenebe et al., 2003). Επιπλέον το μίγμα των RWPCs ενισχύει την ενζυματική δραστηριότητα της eNOS, αποδεικνύοντας και πάλι ότι η αγγειοδιαστολή διαμεσολαβείται από αυξημένη απελευθέρωση NO. Απ' ότι φαίνεται η ενίσχυση της eNOS συσχετίζεται με τα επίπεδα Ca (Zenebe et al., 2003). Αναστολέας της εισόδου Ca στο κύτταρο (verapamil, 10^{-6} μM) κατέστρεψε την αγγειοδιασταλτική δράση των πολυφαινολών. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί ως εξής: επειδή η ενδοκυττάρια συγκέντρωση Ca ήταν χαμηλή δεν υπήρξε ερέθισμα για την ενεργοποίηση της NOS και την περαιτέρω σύνθεση NO. Εκτός από την αυξημένη παραγωγή NO, το μίγμα των πολυφαινολών ανέστειλε μερικώς τη δράση του υπεροξειδίου, προστατεύοντας το NO. Δηλαδή παρουσία υπεροξειδίου η διαστολή των αρτηριών πραγματοποιήθηκε σε πολύ μικρό βαθμό (περίπου 10% αυτής που έγινε απουσία υπεροξειδίου). Προσθήκη προβινόλης (μίγμα πολυφαινολών) όμως κατάφερε να επαναφέρει τη διαστολή σε επίπεδα αντίστοιχα με αυτά της ομάδας ελέγχου (Zenebe et al., 2003).

ii)μέσω μειωμένης απόκρισης σε αγγειοσυσταλτικές ουσίες

Η μείωση της αρτηριακής πίεσης από την προβινόλη οφείλεται επίσης σε ελαττωμένη απόκριση των αγγείων σε ουσίες που προκαλούν συστολή, όπως για παράδειγμα η νορεπινεφρίνη. Η συστολή αορτής ποντικών παρουσία προβινόλης ήταν μικρότερη σε σχέση με την αντίστοιχη συστολή του γκρουπ ελέγχου, όπου δεν υπήρχε το μίγμα των πολυφαινολών (Diebolt et al., 2001). Η μείωση αυτή φαίνεται να συνδέεται στενά με την ενδοκυττάρια συγκέντρωση Ca. Προσθήκη θαψιγαργίνης (thapsigargin), ενός αναστολέα της σαρκοπλασματικής Ca^{2+} -ATPάσης (Cohen et al., 1999), δεν επηρέασε τη συστολή στο γκρουπ ελέγχου. Αντιθέτως άμβλυνε την απόκριση στη νοραδρεναλίνη στο γκρουπ όπου υπήρχαν οι RWPCs. Αυτό σημαίνει ότι οι RWPCs κατάφεραν να ρυθμίσουν την ενδοκυττάρια απελευθέρωση Ca μέσω ενός θαψιγαργίνο-ευαίσθητου μηχανισμού και να ελαττώσουν έτσι τα επίπεδα συστολής (Diebolt et al., 2002). Επειδή η ανασταλτική δράση της θαψιγαργίνης αντιστράφηκε από L-NAME (αναστολέας NO), ODQ (oxadiazolo-quinoxaline, αναστολέας γουανυλικής κυκλάσης) και από Rp-8Br-c GMPs (Rp isomer 8-Bromoguanosine-3'-5-cyclic monophosphorothioate, αναστολέας γουανυλικής κυκλάσης) αποδεικνύεται η συσχέτιση του NO με τη ρύθμιση του ασβεστίου (Diebolt et al., 2002). Εξάλλου είναι γνωστό ότι το NO επηρεάζει τον μεταβολισμό του ασβεστίου με διάφορους τρόπους καθώς εμποδίζει την είσοδο του στα κύτταρα, επάγει την αποβολή του και αυξάνει την απομάκρυνση του από τις ενδοκυττάρια αποθήκες, μειώνοντας την ευαισθησία του κυττάρου σε ασβέστιο (Cohen et al., 1999). Συνεπώς οι πολυφαινόλες μπορούν να ρυθμίζουν την αγγειοκίνηση μέσω οδού γουανυλικής κυκλάσης και NO, μειώνοντας την απάντηση των αγγείων σε ουσίες που προκαλούν συστολή.

Πολυφαινόλες & αγγειοσυστολή

Η προστατευτική δράση του κόκκινου κρασιού μπορεί να σχετίζεται επίσης με μειωμένη σύνθεση αγγειοσυσταλτικών ουσιών: διήθημα από πολυφαινόλες προκάλεσε δόσοεξαρτώμενη αναστολή της παραγωγής ενδοθηλίνης-1 (ET-1), πιθανώς επηρεάζοντας την ενζυμική δραστηριότητα των υποδοχέων τύπου τυροσινικής κινάσης (Khan et al., 2002). Η έρευνα έγινε σε αορτικά ενδοθηλιακά κύτταρα βοός και μετρήθηκε η παραγωγή ενδοθηλίνης σε σύγκριση με βασική παραγωγή (απουσία πολυφαινολών). Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον πίνακα 3.2. Η δελφινίνη και η πεντουनिδίνη μείωσαν την παραγωγή ET-1 μόνο σε υψηλή

συγκέντρωση (30μM). Η πελαργονιδίνη, η κυανιδίνη και η δελφινίνη 3-ο-β-γλυκοκυραανισίδη δεν επηρέασαν τη σύνθεση ET-1. Πιθανώς η γλυκοζύλιωση της δελφινίνης μπλοκάρει το τμήμα του μορίου που είναι υπεύθυνο για την ανασταλτική δράση. Από τα φλαβονοειδή, η κατεχίνη και η επικατεχίνη δεν είχαν κάποια ιδιαίτερη επίδραση ενώ η ρεσβερατρόλη και η κερκετίνη προκάλεσαν μία μικρή μείωση όταν ήταν σε υψηλή συγκέντρωση (30μM).

Πίνακας 3.2- Απελευθέρωση ET-1 από ανθοκυανίνες και πολυφαινολικά συστατικά

Συστατικό	%απελευθέρωση ET-1 ανάλογα με τη συγκέντρωση των συστατικών (3μM, 10μM, 30μM)		
Ανθοκυανίνες	3μ M	10μ M	30μ M
Δελφινίνη	109	98	26
Δελφινίνη 3-ο-β-γλυκοκυραανισίδη	115	112	116
Πελαργονιδίνη	104	110	110
Κυανιδίνη	112	116	106
Πεντουνιδίνη	111	109	40
Ρεσβερατρόλη	101	101	83
Κερκετίνη	99	101	75
(-) κατεχίνη	102	100	98
(+) κατεχίνη	98	97	97
(-) επικατεχίνη	97	98	97
(+) επικατεχίνη	93	99	102

%απελευθέρωση ενδοθελίνης-1 από ανθοκυανίνες και πολυφαινόλες. Το κάθε συστατικό βρίσκεται σε 3 συγκεντρώσεις (3μM, 10μM, 30μ M) και έχει μετρηθεί η παραγωγή ενδοθελίνης από αορτικά ενδοθηλιακά κύτταρα για την κάθε συγκέντρωση του ξεχωριστά.

(Khan et al. Comparison of red wine extract and polyphenols constituents on endothelin-1 synthesis by cultured endothelial cells. Clinical sciences 2002; 103(48):72-75).

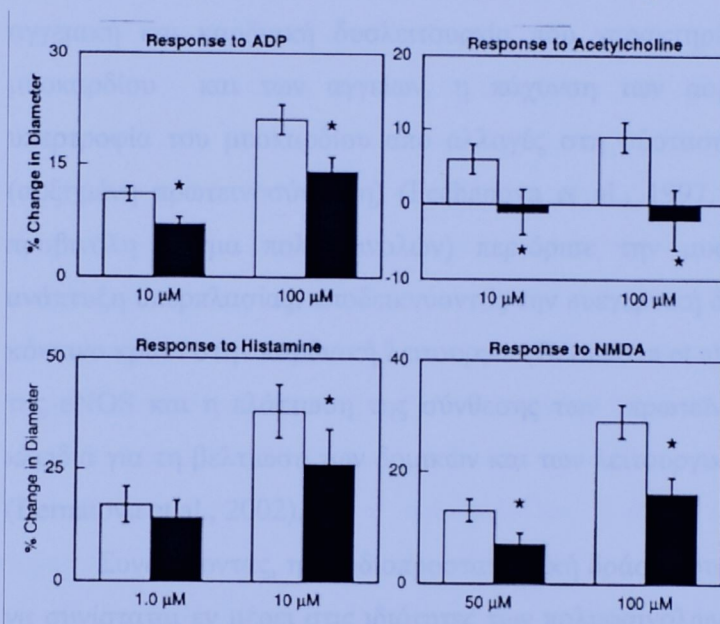
Και με το αλκοόλ τι συμβαίνει;

Αν και απ' ό τι φαίνεται οι πολυφαινόλες προάγουν την αγγειοχάλαση, ο ρόλος της αιθανόλης δεν έχει ακόμη διαλευκανθεί. Είναι γνωστό ότι το αλκοόλ σε μακροχρόνια κατανάλωση υψηλών ποσοτήτων αυξάνει την αρτηριακή πίεση και προκαλεί υπέρταση (Utkan et al., 2001). Αυτή με τη σειρά της επηρεάζει τη διαστολή των αγγείων με 3 τουλάχιστον διαφορετικούς μηχανισμούς: μειώνει την ενδοθηλιακή σύνθεση NO, οξύνει την καταστροφή NO και προκαλεί δομικές και μορφολογικές αλλαγές που ελαττώνουν περαιτέρω την αγγειοδιασταλτική ικανότητα του ενδοθηλίου (Kelm et al., 1996). Έτσι, η χρόνια κατανάλωση αλκοόλ (>8 χρόνια ιστορικό) οδηγεί σε μείωση της ενδοθήλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής, όπως βρέθηκε από έρευνα των Maiorano et al. (1999). Άτομα που κατανάλωναν συστηματικά αλκοόλ παρουσίασαν μικρότερη % αλλαγή στη διάμετρο της βραχιαίας αρτηρίας μετά από αντιδραστική υπεραιμία σε σχέση με άτομα του γκρουπ ελέγχου που δεν κατανάλωναν καθόλου αλκοόλ (Maiorano et al., 1999). Αποχή από το αλκοόλ για 3 μήνες δεν κατάφερε να αναστρέψει αυτή τη διαφορά. Ωστόσο αποτελέσματα ερευνών in vitro δείχνουν ότι το αλκοόλ ενισχύει την παραγωγή eNOS και προάγει την αγγειοδιαστολή. Οι Hendrickson et al. παρατήρησαν ότι η αιθανόλη προκαλεί δόσοεξαρτώμενη αύξηση της δραστηριότητας της eNOS σε συνθήκες ηρεμίας αλλά και μετά από υψηλή ροή αίματος (Hendrickson et al., 1999). Πιο συγκεκριμένα, χορήγηση αιθανόλης σε αορτικά ενδοθηλιακά κύτταρα βοός σε συγκεντρώσεις 0,8-160 mM ενίσχυσε τη δραστηριότητα της eNOS με τη μέγιστη δράση (διπλασιασμός της ενζυμικής δραστηριότητας) να εκδηλώνεται στα 40mM αιθανόλης. Οι ερευνητές υποστηρίζουν ότι αυτή η δράση της αιθανόλης στη βασική αιματική ροή ή σε αυξημένη διαμεσολαβείται εν μέρει από έναν μηχανισμό που περιλαμβάνει τις G-πρωτεΐνες (Hendrickson et al., 1999).

Οι διαφορές μεταξύ των ερευνών πιθανώς να μην οφείλονται στο αλκοόλ αλλά στον τρόπο κατανάλωσης του. Αυτό σημαίνει ότι η άμεση δράση της αιθανόλης στην αγγειοδιαστολή είναι διαφορετική από την επίδραση της *χρόνιας* κατανάλωσης αλκοόλ σε *υψηλές* ποσότητες. Για παράδειγμα χορήγηση αλκοόλ σε ποντικούς για χρονικό διάστημα 2-3 εβδομάδων δεν είχε κάποια επίδραση στην αγγειοδιαστολή που προκλήθηκε από διάφορους αγωνιστές μεταξύ των οποίων η ακετυλοχολίνη και το ADP. Εν τούτοις όταν η χορήγηση συνεχίστηκε για 2-6 μήνες, η αγγειοδιασταλτική ικανότητα των αρτηριδίων μειώθηκε (Sun et al., 2001). Προσθήκη SOD(superoxide dismutase-δισμουτάση του υπεροξειδίου) ανέστρεψε τη μείωση, γεγονός που

αποδεικνύει ότι η μεταβολή της αγγειοδιασταλτικής ικανότητας λόγω χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλ οφείλεται εν μέρει στην εκτεταμένη απελευθέρωση ενεργών ριζών οξυγόνου. Αντίστοιχα, οι Mayan&Didion παρατήρησαν ότι έκθεση εγκεφαλικών αρτηριδίων σε μέτρια ποσότητα αιθανόλης (20-60mmol/l) δεν προκάλεσε καμμία αλλαγή. Αντιθέτως υψηλότερη ποσότητα αιθανόλης (80-100mmol/l) άμβλυνε την αγγειοδιαστολή (βλ. σχήμα 3.1)(Mayan and Didion, 1995).

Σχήμα 3.1 επίδραση αλκοόλ στην αγγειοδιαστολή



Επίδραση 100mmol/l αιθανόλης στην αγγειοδιαστολή. Ως αγωνιστές χρησιμοποιήθηκαν το ADP (σε συγκέντρωση 10μM και 100μM), η ακετυλοχολίνη (10μM, 100μM), η ισταμίνη (1 μM και 10 μM) και η N-μέθυλ-D-ασπαρτάμη (NMDA 50 μM και 100 μM). Οι λευκές μπάρες αντιπροσωπεύουν την % αύξηση της αγγειακής διαμέτρου απουσία αιθανόλης ενώ οι μαύρες την αντίστοιχη κατόπιν χορήγησης 100mmol/l αιθανόλης για χρονικό διάστημα 1 ώρας.

(Mayhan W., Didion S. Acute effects of ethanol on responses of cerebral arterioles. Stroke 1995;26:2097-2102)

Η ανασταλτική δράση της αιθανόλης μπορεί να εξηγηθεί από μεταβολές στη λειτουργία των ενδοθηλιακών υποδοχέων ή στη διαπερατότητα της μεμβράνης των ενδοθηλιακών κυττάρων, που εμποδίζουν τη σύνθεση και την απελευθέρωση NO (Mayan and Didion, 1995). Επιπρόσθετα, το αλκοόλ επάγει την παραγωγή αγγειοσυσταλτικών ουσιών (π.χ. ενδοθηλίνη-1) (Slomiany et al., 1999), οι οποίες δεν επιτρέπουν την αύξηση της αγγειακής διαμέτρου. Εξάλλου, όπως ήδη αναφέρθηκε, η αιθανόλη ενισχύει την παραγωγή και την απελευθέρωση ενεργών ριζών οξυγόνου,

γεγονός που αυξάνει την καταστροφή του NO και αναστέλλει την ενδοθηλίο-εξαρτώμενη ανταπόκριση στις μεταβολές της αιματικής ροής (Sun et al., 2001).

Τέλος, θα πρέπει να τονιστεί ότι το κρασί μπορεί επίσης να περιορίσει ιστολογικές και μορφολογικές μεταβολές στην καρδιά που παρατηρούνται σε παθοφυσιολογικές καταστάσεις και σχετίζονται με τη ρύθμιση του αγγειακού τόνου. Π.χ. είναι γνωστό ότι η μακροχρόνια χορήγηση L-NAME οδηγεί σε έλλειψη NO, βασική αγγειοδιασταλτική ουσία (Zhang et al., 2001). Άμεση συνέπεια είναι η αγγειακή και καρδιακή δυσλειτουργία που χαρακτηρίζεται από σκλήρυνση του μυοκαρδίου και των αγγείων, η πάχυνση των αορτικών τοιχωμάτων και η υπερτροφία του μυοκαρδίου από αλλαγές στη σύσταση του εξωκυττάριου υλικού (αυξημένη πρωτεϊνοσύνθεση) (Pechanova et al., 1997, Pechanova et al., 1999). Η προβινόλη (μίγμα πολυφαινόλων) περιόρισε την μυοκαρδιακή ίνωση και την ανάπτυξη υπερπλασίας, αποδεικνύοντας την ευεγερτική δράση που μπορεί να έχει το κόκκινο κρασί στην καρδιακή λειτουργία (Bernatova et al., 2002). Η αυξημένη δράση της eNOS και η ελάττωση της σύνθεσης των πρωτεϊνών θεωρούνται τα σημεία-κλειδιά για τη βελτίωση των δομικών και των λειτουργικών καρδιακών παραμέτρων (Bernatova et al., 2002).

Συνοψίζοντας, η καρδιοπροστατευτική δράση του κόκκινου κρασιού φαίνεται να συνίσταται εν μέρει στις ιδιότητες των πολυφαινόλων του, οι οποίες είναι ικανές να μειώσουν την πίεση και να περιορίσουν την αθηροσκλήρυνση, τουλάχιστον μέχρι έναν ορισμένο βαθμό. Όσον αφορά την αιθανόλη τα δεδομένα είναι συγκεχυμένα αλλά φαίνεται ότι η βλαπτική της επίδραση στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου προέρχεται από την υψηλή και μακροχρόνια κατανάλωση αλκοόλ. Όπως και αν είναι απαιτείται εκτενέστερη έρευνα στο συγκεκριμένο πεδίο προκειμένου να διευκρινιστεί ο ακριβής τρόπος δράσης των πολυφαινόλων και της αιθανόλης και κατ' επέκταση του κόκκινου κρασιού στο σύνολο του.

4. ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ: ΠΗΞΗ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ&ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ

Είναι γνωστό ότι η υψηλή κατανάλωση αλκοόλ έχει δυσμενείς επιπτώσεις για τον ανθρώπινο οργανισμό όπως μυοκαρδιοπάθεια, αρρυθμίες και υπέρταση (Kannel et al., 1996). Ωστόσο τα τελευταία χρόνια φαίνεται να υπάρχει θετική σχέση μεταξύ της μέτριας πρόσληψης αλκοόλ και της μείωσης του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων (Di Castelnuovo et al., 2002). Η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ υπό μορφή μπύρας, κρασιού ή άλλων ποτών μπορεί να επηρεάσει διάφορες παραμέτρους που σχετίζονται με τη στεφανιαία νόσο όπως π.χ. τα επίπεδα χοληστερόλης (HDL, LDL) (Buemann et al., 2002). Επίσης μπορεί να εμποδίσει τη θρομβογένεση μέσω της ικανότητας που έχει να επεμβαίνει στην πήξη του αίματος (Buemann et al., 2002). Σ' αυτήν την περίπτωση ιδιαίτερα δραστικό φαίνεται να είναι το κόκκινο κρασί σε σχέση με τα υπόλοιπα αλκοολούχα ροφήματα. Η ευεγερτική του δράση συνίσταται στην αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων (de Lange et al., 2003, Freedman et al., 2001, Keevil et al., 2000) καθώς και στην ελάττωση των συγκεντρώσεων διαφόρων παραγόντων που σχετίζονται με τη στεφανιαία νόσο όπως το ινωδογόνο, ο παράγοντας v WF, ο ιστικός παράγοντας κ.α. (Mennen et al., 1999, Pendurthi et al., 1999) Ωστόσο δεν είναι γνωστό αν υπεύθυνοι για τις θετικές του δράσεις είναι το αλκοόλ, οι πολυφαινόλες ή άλλα συστατικά που πιθανώς να περιέχονται.

Πολυφαινόλες έναντι αλκοόλ

Κάνοντας μία πρώτη εκτίμηση δεν είναι το αλκοόλ αυτό που εμποδίζει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων αλλά τα φαινολικά συστατικά του κρασιού (de Lange et al., 2003). Η χορήγηση in vitro μίγματος πολυφαινολών (βλ. πίνακα 4.1) ανέστειλε τελείως τη συσσώρευση που προκλήθηκε από το ADP, ακόμα και όταν η συγκέντρωση του ADP ήταν υψηλή (10μg/ml). Το ADP προωθεί την αιμοπεταλιακή συσσώρευση μέσω ενός μηχανισμού που περιλαμβάνει ταχεία αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης ασβεστίου. Αντιδρά με τους υποδοχείς P2Y_{1,2}, οι οποίοι συνδέονται με τη φωσφολιπάση C (Fox et al., 2004). Έτσι σύνδεση του ADP με τους αντίστοιχους υποδοχείς θα οδηγήσει σε ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C και έναρξη των αντιδράσεων για την παραγωγή ουσιών που προωθούν την πήξη (θρομβοξάνες). Το μίγμα των πολυφαινολών περιείχε κατά κύριο λόγο κατεχίνη, επικατεχίνη, κερκετίνη και γαλακτικό οξύ (de Lange et al., 2003). Σημαντική αναστολή άρχισε να παρατηρείται από συγκέντρωση πολυφαινολών 45mg/l και άνω. Παρομοίως το κόκκινο κρασί μείωσε τη συσσώρευση και μάλιστα η μείωση ήταν

ισχυρότερη για υψηλότερα ποσοστά αλκοόλ (0,48% με 2,29mgπολυφαιν./l έναντι 0,24% με 1,15mg/l).

Πίνακας 4.1-Συγκέντρωση πολυφαινολών στο κρασί και στο μίγμα.

Φαινολικό συστατικό	Κόκκινο κρασί (Rioja) Συγκέντρωση (mg/l)	Μίγμα πολυφαινολών Συγκέντρωση (mg/100mg)
Ρεσβερατρόλη	-	-
Κατεχίνη	11	1,1
Επικατεχίνη	5	0,74
Κερκετίνη	1	0,13
Γαλακτικό οξύ	45	0,35
Συνολικό φαινολικό περιεχόμενο	62mg/l	2,32mg/100mg

De Lange et al. Red wine and red wine polyphenolic compounds but not alcohol inhibit ADP-induced platelet aggregation. European Journal of Internal Medicine 2003;14:361-366

Ωστόσο επώαση των αιμοπεταλίων με αλκοόλ δεν προκάλεσε καμία αλλαγή στη συσσώρευση τους από ADP, ακόμα και όταν χρησιμοποιήθηκαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αλκοόλ ή όταν έγινε για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (30' έναντι 2'). Συνεπώς, απ' ότι φαίνεται η συσσώρευση των αιμοπεταλίων όταν χρησιμοποιείται ως αγωνιστής το ADP αναστέλλεται μόνο από τις πολυφαινόλες και όχι από το αλκοόλ. Τα παραπάνω συμπεράσματα αφορούν τις άμεσες επιπτώσεις του κόκκινου κρασιού *in vitro* σε απομονωμένα αιμοπετάλια και είναι άγνωστο αν παρατηρούνται και *in vivo*. Επειδή όμως απαιτήθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις πολυφαινολών για να έχουν κάποια επίδραση *in vitro* στην αιμοπεταλιακή συσσώρευση και επειδή 2-3 ποτήρια κρασί (συνήθης κατανάλωση) δεν περιέχουν τέτοιες ποσότητες πολυφαινολών, πιθανώς το κόκκινο κρασί να μην έχει σημαντική δράση στην πήξη του αίματος *in vivo* (de Lange et al., 2003). Εξάλλου είναι πιθανό τα διαφορετικά φαινολικά συστατικά να εξασκούν διαφορετική ανασταλτική δράση ανάλογα με την απορρόφηση τους, καθώς τα περισσότερα μεταβολίζονται (μεθυλιωμένα παράγωγα, γλυκουρονίδια κτλ.) και μόνο ένα μικρό ποσοστό (1%-2%) βρίσκεται στο πλάσμα σε ελεύθερη μορφή. (Chen et al. 1997, Morand et al. 1998, Donovan et al., 1999).

Σύγκριση μεταξύ κόκκινου και λευκού κρασιού και χυμού από σταφύλι ενισχύει την άποψη ότι δεν είναι το αλκοόλ αυτό που ασκεί προστατευτική δράση. Οι Demrow et al. χρησιμοποίησαν ως μέτρο αναστολής της αιμοπεταλιακής δράσης τον περιορισμό των κυκλικών μειώσεων στη στεφανιαία ροή του αίματος (cyclic flow reductions-CFRs): πρόκειται για επαναλαμβανόμενες κυκλικές αυξομειώσεις της αιματικής ροής που προκαλούνται μετά από σχηματισμό θρόμβου σε αποφραγμένες αρτηρίες (Kawano et al., 1999). Αυτό που μετριέται ουσιαστικά είναι η συχνότητα των κύκλων για ένα δεδομένο χρονικό διάστημα (κύκλου/ώρα) και η ταχύτητα της ροής του αίματος σε σχέση με τις φυσιολογικές της τιμές (Ragni et al., 2000). Κατόπιν ενδοφλέβιας χορήγησης σε σκύλους βρέθηκε ότι το κόκκινο κρασί και ο χυμός από σταφύλι κατέστρεψαν τις CFRs, σε αντίθεση με το λευκό (Demrow et al., 1995). Δεδομένου ότι ο χυμός και συνεπώς και το κόκκινο κρασί έχουν υψηλότερα ποσοστά πολυφαινόλων, κυρίως κερκετίνης, σε σχέση με το λευκό, η αναστολή αποδόθηκε σε αυτές τις ουσίες. Επιπλέον το κόκκινο κρασί και ο χυμός έδρασαν και όταν χορηγήθηκαν ενδογαστρικά, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι τα υπεύθυνα συστατικά μπορούν να απορροφηθούν και να μεταφερθούν στην κυκλοφορία του αίματος (Demrow et al., 1995). Έτσι, εφόσον τα επίπεδα αλκοόλ αίματος (blood alcohol concentration BAC) κατόπιν κατανάλωσης κόκκινου κρασιού ήταν μόλις το 12% των αντίστοιχων BAC των σκύλων που έλαβαν καθαρή αιθανόλη, δεν είναι το αλκοόλ υπεύθυνο για την αναστολή της αιμοπεταλιακής δράσης (Keller et al., 1988). Αν συνέβαινε κάτι τέτοιο θα ήταν αναμενόμενο να ενισχύεται η αναστολή όσο αυξάνονται τα επίπεδα BAC. Αντιθέτως, έχει βρεθεί ότι το ποσό της αιθανόλης που απαιτείται για να περιορίσει τις CFRs μειώνεται σταδιακά με την κατανάλωση κόκκινου κρασιού παρά καθαρού αλκοόλ. Άρα θα πρέπει να υπάρχουν και άλλα συστατικά στο κόκκινο κρασί ανάλογα με αυτά του χυμού από σταφύλι με ισχυρή αντιθρομβωτική δράση, και όχι μόνο η αιθανόλη (Demrow et al., 1995).

Αντίστοιχα συμπεράσματα ενισχύονται και από τα αποτελέσματα άλλων ερευνών. Π.χ. έχει βρεθεί ότι *in vitro* επώαση των αιμοπεταλίων με χυμό σταφυλιού και η απευθείας χορήγηση του σε υγιείς εθελοντές προκαλεί δοσοεξαρτώμενη αναστολή της αιμοπεταλιακής δράσης, συμβάλλοντας στην απελευθέρωση NO και περιορίζοντας την παραγωγή υπεροξειδίου (Freedman et al., 2001). Το υπεροξείδιο παράγεται από τα αιμοπετάλια και αντιδρά με το NO, μειώνοντας τη βιοδιαθεσιμότητα του (Rubanyi et al., 1986). Μ' αυτόν τον τρόπο επάγει περαιτέρω τον πολλ/μο τους. Ο χυμός από σταφύλι όμως εμπόδισε την απελευθέρωση

υπεροξειδίου και κατ' επέκταση την ενεργοποίηση των πηκτικών μηχανισμών. Τα πολυμερή ανθοκυανινών και προανθοκυανινών άσκησαν σημαντική ανασταλτική δράση σε όλο το αίμα. Οι κατεχίνες και άλλα μονομερή μείωσαν την απελευθέρωση NO σε απομονωμένα αιμοπετάλια αλλά η επίδραση τους σε όλο το αίμα ήταν μικρή (βλ. πίνακα 4.2) (Freedman et al., 2001).

Πίνακας 4.2-In vivo χορήγηση χυμού από σταφύλι

	Πριν τη χορήγηση	Μετά τη χορήγηση
Αιμοπεταλιακή συσσώρευση %	57,6	38,5
Παραγωγή NO (pmol/10 ⁸ αιμοπετάλια)	3,5	6,0
Παραγωγή υπεροξειδίου (A.U.)	29,5	19,2

Freedman et al. Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibit platelet function and enhance nitric oxide release. Circulation 2001;103:2792-2798

Η τριπλάσια συγκέντρωση πολυφαινόλων στα σταφύλια φαίνεται να είναι υπεύθυνη για την υπεροχή τους έναντι των χυμών από πορτοκάλι ή γκρέιπφρουτ. Κατανάλωση 2 φλιτζανιών χυμού από σταφύλι (purple grape juice-PGJ) τη μέρα μειώνει την αιμοπεταλιακή συσσώρευση που προκαλείται από το κολλαγόνο για μία εβδομάδα ενώ ο ίδιος ρυθμός κατανάλωσης και η ίδια ποσότητα από χυμό πορτοκάλι ή γκρέιπφρουτ δεν έχουν καμμία επίδραση (Keevil et al., 2000). Εδώ θα πρέπει να σημειωθεί ότι το κολλαγόνο επάγει τη συσσώρευση μέσω της παραγωγής H₂O₂, το οποίο δρα ως δεύτερο μηνυματοφόρο μόριο και ενεργοποιεί την οδό της φωσφολιπάσης C και τον μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος για παραγωγή ουσιών που μετέχουν στον σχηματισμό αιμοπεταλιακού θρόμβου (π.χ. θρομβοξάνη, προστακυκλίνη κ.α) (Pignatelli et al. 1998). Η διαφορά αυτή μεταξύ των χυμών δικαιολογείται αν ληφθεί υπόψη ότι οι πολυφαινόλες βρίσκονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στο χυμό σταφυλιού απ' ότι σε άλλους χυμούς. Ενδεικτικό παράδειγμα είναι η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος: 2,26gr/l για το σταφύλι, 0,86gr/l για το γκρέιπφρουτ και 0,75gr/l για το πορτοκάλι (Keevil et al., 2000). Επιπρόσθετα η σύσταση των φρούτων είναι διαφορετική, με τα σταφύλια να περιέχουν κυρίως φλαβονόλες (ανθοκυανίνες και προανθοκυανίνες) και τα εσπεριδοειδή φλαβόνες και φλαβονόνες. Έτσι είναι πιθανό οι φλαβονόλες να είναι ισχυροί αναστολείς της

δράσης των αιμοπεταλίων ενώ οι φλαβόνες των εσπεριδοειδών να έχουν μικρή ή καθόλου αντίστοιχη δράση (Keevil et al., 2000). Επίσης οι διαφορές μπορεί να οφείλονται στην πέψη, την απορρόφηση και την ηπατική επεξεργασία των φλαβονοειδών, οι οποίες επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα τους (Scalbert et al., 2000 14P-41). Ωστόσο αξίζει να σημειωθεί ότι ο χυμός σταφυλιού δεν κατάφερε να εμποδίσει την αιμοπεταλιακή συσσώρευση όταν χρησιμοποιήθηκαν ως αγωνιστές το ADP ή η θρομβίνη αντί του κολλαγόνου (Keevil et al. 2000, Pace-Asciak et al. 1996).

Συνεργιστική δράση πολυφαινόλων

Γενικά

Η αντιαιμοπεταλιακή δράση του κόκκινου κρασιού ενισχύεται από το γεγονός ότι περιλαμβάνει πολυφαινόλες όχι μόνο από τον καρπό του σταφυλιού (grape seed-GSD) αλλά και από το εξωτερικό του περίβλημα (grape skin-GSK). Πιο συγκεκριμένα συγκεντρώσεις GSD και GSK που δεν επηρεάζουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μεμονωμένα, έχουν αντίθετη δράση όταν ενεργούν σε συνδυασμό (Shanmuganayagam et al. 2002). Π.χ. διήθημα από GSD (50mg/l) και GSK (250mg/l) ανέστειλλε την αιμοπεταλιακή συσσώρευση κατά 40,5% ενώ δεν είχε κανένα αποτέλεσμα όταν οι ίδιες ποσότητες έδρασαν ξεχωριστά. Συνδυασμός 100mg/l GSD και 500mg/l GSK προκάλεσε ακόμη μεγαλύτερη αναστολή (96,5%). Από τη χημική ανάλυση βρέθηκε ότι τα κύρια συστατικά του GSD είναι ολιγομερή κατεχίνης και επικατεχίνης εστεροποιημένα με γαλακτικό οξύ (PGPF) ενώ του GSK είναι υδροξυκινναιμικά οξέα και εστέρες τους, φλαβονόλες και PGPF. Αυτές οι ουσίες έχουν αντιαιμοπεταλιακές ιδιότητες και ειδικά τα υδροξυκινναιμικά οξέα παρουσιάζουν και αντιοξειδωτική δράση (Janssen et al. 1998, Rein et al. 2000). Επομένως τα αποτελέσματα πιθανώς να οφείλονται στο συνολικό ποσό των PGPF, που είναι μεγαλύτερο σε συνολικά διηθήματα GSD-GSK, και στην αναλογία των PGPF προς τα υπόλοιπα φαινολικά συστατικά. Έτσι η αντιαιμοπεταλιακή δράση είναι επακόλουθο της αλληλεπίδρασης των PGPF με τις φαινόλες που βρίσκονται στο εξωτερικό περίβλημα του σταφυλιού.

Η συνέργεια μεταξύ των διαφόρων συστατικών του κρασιού αναφέρεται συχνά και φαίνεται να εξηγεί πολλές από τις θετικές του δράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό (Pignatelli et al. 2000, Chan et al. 2000). Καθώς περισσότερα από ένα φλαβονοειδή κυκλοφορούν στο αίμα κατόπιν κατανάλωσης κρασιού είναι πιθανή η αλληλεπίδραση τους εφόσον το κρασί περιέχει χαμηλότερες συγκεντρώσεις φλαβονοειδών σε σχέση με αυτές που επηρεάζουν τη δράση των αιμοπεταλίων (de Lange et al. 2003). Πιο συγκεκριμένα η συνεργιστική δράση κερκετίνης και κατεχίνης εμποδίζει την προσκόλληση των αιμοπεταλίων που προκαλείται από το κολλαγόνο (βλ. πίνακα 4.3). In vitro επώση με 5μmol/l κερκετίνης και 20μmol/l κατεχίνης που ξεχωριστά δεν επέφεραν καμμία αλλαγή, μείωσε σημαντικά τη δράση των αιμοπεταλίων ακόμα και σε υψηλές συγκεντρώσεις κολλαγόνου (8-20mg/l) (Pignatelli et al. 2000). Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από το κολλαγόνο είναι ένα πολύπλοκο γεγονός. Έχει δειχτεί ότι ένα από τα στάδια της πρόσδεσης κολλαγόνου στα αιμοπετάλια οδηγεί σε απελευθέρωση υπεροξειδίου του υδρογόνου, το οποίο με τη σειρά του επάγει την αιμοπεταλιακή δράση κατόπιν κινητοποίησης ασβεστίου και σχηματισμού τριφωσφορικής ινοσιτόλης (1,3,4-inositol triphosphate IP₃) (Pignatelli et al. 1998). Στην προκείμενη περίπτωση τα φλαβονοειδή ανέστειλλαν σημαντικά την παραγωγή υπεροξειδίου, όπως επίσης και την παραγωγή IP₃ και την κινητοποίηση του ασβεστίου. Η αναστολή όμως της παραγωγής υπεροξειδίου έγινε σε μεγαλύτερο βαθμό απ' ό,τι η γενικότερη αναστολή της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το υπεροξείδιο αποτελεί μόνο έναν από τους τρόπους με τους οποίους το κολλαγόνο ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια. Διαφορετικά η αναστολή θα ήταν ίδια και στις δύο περιπτώσεις (παραγωγή υπεροξειδίου, συσσώρευση αιμοπεταλίων) (Pignatelli et al. 2000). Συνοψίζοντας, η συνέργεια μεταξύ κερκετίνης και κατεχίνης ενισχύεται αλλά δεν μπορεί να τεκμηριωθεί καθώς είναι άγνωστο αν οι συγκεκριμένες συγκεντρώσεις των συστατικών αυτών παρατηρούνται και στο αίμα κατόπιν κατανάλωσης κόκκινου κρασιού, μια και τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτουν από την in vitro δράση τους.

Η κερκετίνη προκαλεί δοσο-εξαρτώμενη αναστολή της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης και όταν δρα σε συνδυασμό με την trans-ρεσβερατρόλη (Pace-Asciak et al. 1995) (βλ. πίνακα 4.3). Πιθανολογούμενος μηχανισμός δράσης είναι η ενεργοποίηση της αδενυλικής κυκλάσης, η οποία αυξάνει την παραγωγή c AMP και έτσι καταστέλλει την απάντηση των αιμοπεταλίων στους αγωνιστές ADP και θρομβίνη (Gewaltig et al. 2002). Ωστόσο μπορεί να δρουν με διαφορετικούς τρόπους, αν ληφθεί υπόψη η διαφορετική τους επίδραση στη σύνθεση των εικονοσανοειδών από αραχιδονικό οξύ:

η ρεσβερατρόλη εμποδίζει τη σύνθεση θρομβοξανθίνης B₂ (TxB₂-σταθερός μεταβολίτης της TxA₂), ενώ η κερκετίνη όχι. Η θρομβοξανθίνη ανήκει στην οικογένεια των θρομβοξανθινών και προάγει την συσσώρευση των αιμοπεταλίων και την αγγειοσύσπαση (Μουτσόπουλος, 2002). Έτσι η ρεσβερατρόλη μείωσε τον σχηματισμό αιμοπεταλιακού θρόμβου επειδή ανέστειλλε την παραγωγή TxB₂. Η κερκετίνη ελάττωσε επίσης την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων αλλά δεν επηρέασε την παραγωγή TxB₂. Άρα έδρασε με έναν διαφορετικό μηχανισμό απ' ότι η ρεσβερατρόλη- π.χ. πιθανώς ανέστειλε την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C, η οποία συμβάλλει στην παραγωγή αραχιδονικού οξέος από υδρόλυση του φωσφατιδύλοϊνositή (Pace-Asciak et al. 1995). Ωστόσο και πάλι είναι άγνωστο αν αυτά που παρατηρήθηκαν in vitro συμβαίνουν και in vivo. Σε μεταγενέστερη έρευνα των ίδιων η αναστολή της παραγωγής TxB₂ από ρεσβερατρόλη in vitro ήταν μεγαλύτερη από το κόκκινο κρασί σε σχέση με το λευκό (Pace-Asciak et al. 1996). Εν τούτοις η κατανάλωση κόκκινου κρασιού in vivo δεν είχε κάποιο πλεονέκτημα ως προς το λευκό, παρόλο που το πρώτο έχει 20πλάσια ποσότητα πολυφαινόλων. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί σε διαφορές μεταξύ βραχυχρόνιων (in vitro) και μακροχρόνιων (in vivo) επιπτώσεων αιθανόλης και ρεσβερατρόλης. Π.χ. πιθανώς η αιθανόλη να επιταχύνει την απομάκρυνση TxB₂ από το πλάσμα χωρίς να επηρεάζει το ρυθμό παραγωγής της και έτσι να εμποδίζει σε μεγαλύτερο βαθμό τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων απ' ότι η ρεσβερατρόλη. Οι ερευνητές καταλήγουν ότι μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού (2 ποτήρια/μέρα, <375ml) επηρεάζει το μεταβολισμό των εικονοσανοειδών και τη δράση των αιμοπεταλίων ανάλογα με την απορρόφηση των διαφόρων συστατικών, τον μεταβολισμό τους και το χρόνο που παραμένουν στην κυκλοφορία του αίματος (Pace-Asciak et al., 1995).

Η παραγωγή ιστικού παράγοντα από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μονοκύτταρα επηρεάζεται από τη συνδυασμένη δράση ρεσβερατρόλης και κερκετίνης. Είναι γνωστό ότι η έκφραση του ιστικού παράγοντα δε γίνεται υπό φυσιολογικές συνθήκες παρά μόνο μετά από επίδραση ουσιών όπως η LPS, ο TNF-a και η IL-1β (Bevilaqua et al., 1987). Η έκφραση των γονιδίων του ελέγχεται από τους μεταγραφικούς παράγοντες c-Rel/p65 που ανήκουν στην οικογένεια NF-κβ (Oeth et al., 1997). Βρέθηκε ότι η ρεσβερατρόλη και η κερκετίνη εμποδίζουν τη δράση του ιστικού παράγοντα στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μονοκύτταρα (Disanto et al., 2003). Η αναστολή ήταν δόσοεξαρτώμενη και σχεδόν πλήρης σε συγκέντρωση 25μΜ του κάθε συστατικού. Επίσης οι δύο πολυφαινόλες επέδρασαν και στην έκφραση του mRNA του ιστικού παράγοντα (tissue factor, TF) καθώς εμποδίζουν την πρωτεολυτική καταστροφή της IκΒα και κατ' επέκταση τη δράση των c-Rel/p65. Πιο συγκεκριμένα σε ανερέθιστα μονοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα, οι μεταγραφικοί παράγοντες c-Rel/p65 βρίσκονται προσδεδεμένοι στο κυτταρόπλασμα από μία πρωτεΐνη, την IκΒα. Σύνδεση των LPS, TNF-a ή IL-1β στους αντίστοιχους υποδοχείς οδηγεί σε φωσφορυλίωση της IκΒα. Επομένως η IκΒα αποσυντίθεται και οι παράγοντες c-Rel/p65 μεταναστεύουν στον πυρήνα, επάγοντας τη μεταγραφή του ιστικού παράγοντα (Oeth et al. 1997, Read et al. 1994). Ο τρόπος με τον οποίο αναστέλλεται η πρωτεολυτική καταστροφή της IκΒα δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί, αν και έχει αναφερθεί ότι η κερκετίνη ελαττώνει τη δράση των κινασών IKKα και IKKβ, υπεύθυνες για τη φωσφορυλίωση της IκΒα (Peel et al., 1999).

Πίνακας 4.3-Συνεργιστική δράση πολυφαινολών

ΣΥΝΕΡΓΙΣΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ	
Κερκετίνη&κατεχίνη	Αναστέλλουν παραγωγή H ₂ O ₂ και IP ₃
Κερκετίνη&ρεσβερατρόλη	Επάγουν δράση αδενυλικής κυκλάσης και αυξάνουν επίπεδα c AMP Μειώνουν την έκφραση και τη δράση του ιστικού παράγοντα στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μονοκύτταρα

Δράση ρεσβερατρόλης

Ωστόσο τα παραπάνω συμπεράσματα διαφέρουν από παρόμοια έρευνα των Pendurthi et al., οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση της ρεσβερατρόλης στους αντίστοιχους τύπους κυττάρων. Η ρεσβερατρόλη μείωσε και πάλι την παραγωγή ιστικού παράγοντα όταν χρησιμοποιήθηκαν ως αγωνιστές οι LPS, TNF- α , IL-1 β (Pendurthi et al., 1999). Η δραστικότητα του TF μετρήθηκε ως η ικανότητα του να ενεργοποιήσει τον παράγοντα πήξης X, παρουσία του παράγοντα VIIa. Συγκέντρωση της ρεσβερατρόλης που μείωσε στο μισό τη δράση του ιστικού παράγοντα (10 μ mol/l στα μονοκύτταρα και 20 μ mol/l στα ενδοθηλιακά) ήταν παρόμοια με αυτή που εμποδίζει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και τη σύνθεση των εικονοσανοειδών (Pace-Asciak et al., 1995). Η ανασταλτική δράση της ρεσβερατρόλης συνίσταται σε αλλαγή της γονιδιακής μεταγραφής του ιστικού παράγοντα, εφόσον μείωσε την έκφραση του mRNA του TF. Επίσης, εμπόδισε την έκφραση των κυτταροκινών TNF- α και IL-1 β οπότε πιθανώς να ασκεί αρνητική δράση στους αντίστοιχους μεταγραφικούς παράγοντες αλλά ο ακριβής μηχανισμός δεν ήταν δυνατό να προσδιοριστεί. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ρεσβερατρόλη δεν είχε καμμία επίδραση στην παραγωγή TFPI, PAI-1, UPA, γεγονός που δείχνει ότι η ανασταλτική της δράση στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων περιορίζεται στη μείωση της δραστικότητας του ιστικού παράγοντα (Pendurthi et al., 1999). Σε αντίθεση με τη ρεσβερατρόλη, η αιθανόλη δεν επηρέασε καθόλου τα επίπεδα του ιστικού παράγοντα.

Η αναστολή της βιολογικής δράσης των αιμοπεταλίων από τη ρεσβερατρόλη επιβεβαιώνεται και από άλλες έρευνες. Επώαση απομονωμένων αιμοπεταλίων με διάφορες ποσότητες ρεσβερατρόλης (25,50,100 μ g/ml) εμπόδισε την προσκόλληση τους στο κολλαγόνο τύπου I και στο ινωδογόνο κατόπιν δράσης LPS (ασθενής αγωνιστής) και θρομβίνης (ισχυρός αγωνιστής) (Olas et al., 2002). Η μεγαλύτερη αναστολή έγινε από τη μεγαλύτερη ποσότητα ρεσβερατρόλης (100 μ g/ml). Οι Kirk et al. βρήκαν ότι η ρεσβερατρόλη μειώνει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων που προέρχεται από ADP, θρομβίνη και κολλαγόνο (Kirk et al., 2000). Ειδικά για το κολλαγόνο, η αναστολή εξαρτάται από τη συγκέντρωση του. Όσο πιο μικρή είναι, τόσο πιο ισχυρή η αναστολή. Π.χ. για δεδομένη συγκέντρωση ρεσβερατρόλης (10 μ M) η συσσώρευση μειώθηκε κατά 92% με ποσότητα κολλαγόνου 1 μ g/ml, 71% για 5 μ g/ml και 50% για 10 μ g/ml. Ωστόσο η ρεσβερατρόλη έχει φτωχή αντιπηκτική δράση σε όλο το αίμα: χρειάστηκαν 200 μ M ρεσβερατρόλης για να μειωθεί η

συσσώρευση των αιμοπεταλίων στην κυκλοφορία του αίματος μόνο κατά 30%. Δεδομένου ότι τα ερυθροκύτταρα δεσμεύουν 5 φορές περισσότερη ρεσβερατρόλη απ' ό,τι τα αιμοπετάλια, απαιτούνται μεγαλύτερες ποσότητες της για να αναστείλουν την αιμοπεταλιακή δράση (Blache et al., 1997). Εξάλλου η ρεσβερατρόλη μοιάζει σε δομή με το συνθετικό οιστρογόνο διαιθυλστυλβεστρόλη άρα πιθανώς να αντιδρά με πρωτεΐνες του πλάσματος και να μειώνεται η δράση της (Kopp et al., 1998). Μια ουσία με τροποποιημένη δομή ρεσβερατρόλης και μεγαλύτερη χημική συγγένεια για τα αιμοπετάλια παρά για τα ερυθροκύτταρα μπορεί να χρησιμεύσει ως θεραπευτικό μέσο (Kirk et al., 2000). Θα πρέπει να τονιστεί όμως ότι είναι άγνωστο αν η δράση της ρεσβερατρόλης σε παθολογική κατάσταση είναι παρόμοια με αυτή που παρατηρείται στα υγιή κύτταρα, επομένως δεν μπορεί να εξαχθεί κάποιο γενικό συμπέρασμα καθώς απαιτείται περαιτέρω έρευνα.

Πίνακας 4.4

ΔΡΑΣΕΙΣ ΡΕΣΒΕΡΑΤΡΟΛΗΣ ΣΤΗΝ ΠΗΞΗ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

- Μειώνει την παραγωγή θρομβοξάνης B_2
- Περιορίζει την έκφραση του m RNA του ιστικού παράγοντα
- Ελαττώνει τη δραστικότητα του ιστικού παράγοντα
- Εμποδίζει την παραγωγή των κυτταροκινών TNF- α και IL-8
- Αναστέλλει την αιμοπεταλιακή συσσώρευση από κολλαγόνο, ADP και θρομβίνη

Δράση λιπιδίων κόκκινου κρασιού

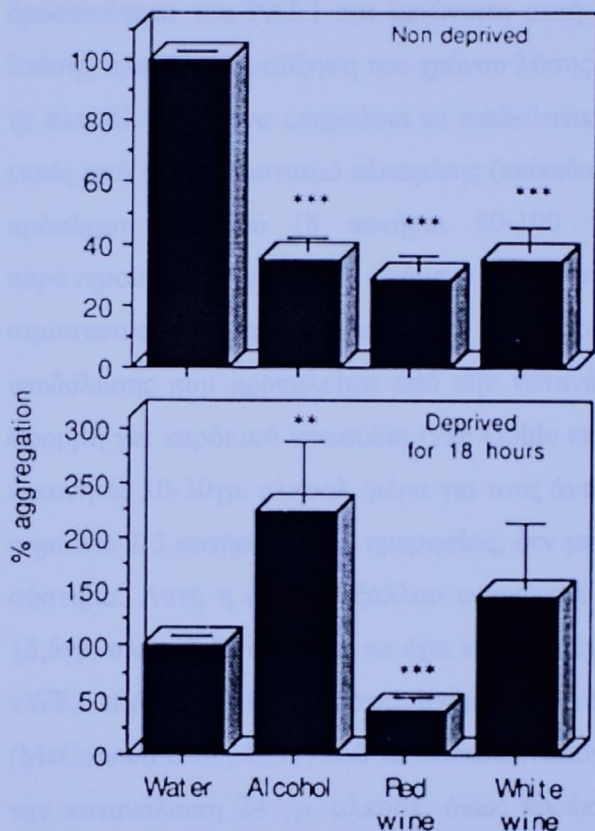
Μελέτη έχει γίνει και για τα βιολογικώς ενεργά λιπίδια που περιέχονται στο κόκκινο κρασί και αφορά την *in vitro* ικανότητα τους να αναστείλουν τη δράση του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF-platelets activator factor) και της θρομβίνης (Fragopoulou et al., 2000). Τα λιπίδια χωρίστηκαν σε ουδέτερα και πολικά και έπειτα τα πολικά σε γλυκολιπίδια και φωσφολιπίδια. Βρέθηκε ότι η πλειοψηφία των γλυκολιπιδίων ανέστειλε τη συσσώρευση που οφείλεται σε PAF και θρομβίνη. Η ανασταλτική τους δράση ήταν σχεδόν ίση και για τις δύο ουσίες. Αντιθέτως μόνο δύο τάξεις φωσφολιπιδίων εμπόδισαν τη δράση του PAF και της θρομβίνης ενώ οι υπόλοιπες συνέβαλλαν στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Επομένως εκτός από τις πολυφαινόλες, το κόκκινο κρασί περιέχει και αναστολείς υπό τη μορφή

Επίδραση κόκκινου κρασιού στο ινωδολυτικό σύστημα

Διάφορες έρευνες έχουν βρει συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης κόκκινου κρασιού και της ινωδόλυσης. Για παράδειγμα έχει βρεθεί ότι >4 ποτήρια κρασί (40-50γρ. αιθανόλης) αναστέλλουν ισχυρά την ινωδόλυση καθώς αυξάνεται η δραστικότητα του PAI-1 και μειώνεται αυτή του tPA (van de Wiel et al., 2001). Επίσης προκαλείται αύξηση του χρόνου λύσης του θρόμβου, γεγονός που δείχνει ότι το αλκοόλ μπορεί να επηρεάσει το ινωδολυτικό σύστημα και με διαφορετικό τρόπο εκτός από τον σχηματισμό πλασμίνης (επίπεδα tPA, PAI-1). Με ακόμη μεγαλύτερη πρόσληψη κρασιού (8 ποτήρια 80-100 γρ. αιθανόλης) οι αλλαγές αυτές παρατηρούνται μέχρι και το επόμενο πρωί. Δεδομένου όμως ότι τις πρωινές ώρες η αιμοστατική ισορροπία ευνοεί το θρομβογενετικό στάδιο, η ελάττωση της ινωδόλυσης που προκαλείται από την κατανάλωση αλκοόλ μπορεί να αποτελέσει αφορμή για καρδιακά επεισόδια (van Golde et al., 2003). Πάντως, σύμφωνα με τους ερευνητές 10-30γρ. αλκοόλ /μέρα για τους άντρες και 10-20γρ. για τις γυναίκες, που σημαίνει 2-3 ποτήρια κρασί ημερησίως, δεν μπορούν να επηρεάσουν το ινωδολυτικό σύστημα. Αυτή η άποψη εξάλλου ενισχύεται και από άλλες έρευνες: η πρόσληψη 13,5γρ. αλκοόλ δε φαίνεται να έχει κάποια αξιοσημείωτη επίδραση στα επίπεδα των vWF, tPA, PAI-1 και στο σχηματισμό συμπλόκου θρομβίνης-αντιθρομβίνης (McConnell et al., 1997) ενώ τα επίπεδα ινωδογόνου δε μεταβάλλονται σημαντικά με την κατανάλωση 24 γρ. αλκοόλ, όπως προέκυψε από τι μετρήσεις που έγιναν 20 λεπτά και 6 ώρες κατόπιν τη κατανάλωσης (Lacost et al., 2001).

Ειδικά για το ινωδογόνο, φαίνεται η συγκέντρωση του να είναι υψηλότερη στα άτομα που δεν καταναλώνουν καθόλου αλκοόλ σε σχέση με εκείνα που η πρόσληψη τους είναι 20-60γρ/μέρα (2-6 ποτήρια) (Mennen et al., 1999). Κατανάλωση κόκκινου κρασιού μέχρι 0,5-1l/μέρα μειώνει τα επίπεδα ινωδογόνου ενώ ποσότητες >1l έχουν αντίστροφη δράση. Αντίθετα με το κρασί, δεν υπήρξε συσχέτιση μεταξύ μύρας και ινωδογόνου. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Gorinstein et al., οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση 330ml μύρας /μέρα (20γρ. αλκοόλ) για 30 μέρες και δε βρήκαν κάποια αλλαγή στα επίπεδα του ινωδογόνου (Gorinstein et al., 1997). Πιθανώς στην μύρα να υπάρχουν άλλες ουσίες που εμποδίζουν τη θετική δράση του αλκοόλ στο ινωδογόνο (Belleville et al., 2002). Δεδομένου ότι το ινωδογόνο αποτελεί ενδιάμεσο στάδιο μεταξύ της πρόσληψης αλκοόλ και της εμφάνισης στεφανιαίας νόσου, η αποχή από το αλκοόλ αλλά και η

Διάγραμμα 4.1-platelet rebound effect



Επίπεδα % αιμοπεταλιακής συσσώρευσης με χορήγηση νερού (ομάδα ελέγχου), αλκοόλ, κόκκινου κρασιού και άσπρου κρασιού. Επάνω: συνεχής χορήγηση. Κάτω: διακοπή χορήγησης (αποχή 18 ωρών). (Ruf et al. Platelet rebound effect of alcohol withdrawal and wine drinking in rats. Relation to tannins and lipid peroxidation. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1995;15: 140-144)

γλυκολιπιδίων και ορισμένων φωσφολιπιδίων που ελαχιστοποιούν τις βιολογικές δράσεις του PAF στα διάφορα είδη των κυττάρων.

Platelet rebound effect

Ένα ενδιαφέρον φαινόμενο που παρατηρείται με την πρόσληψη αλκοόλ αλλά όχι κρασιού είναι το platelet rebound effect. Πιο συγκεκριμένα, η χορήγηση αλκοόλ (6% αιθανόλη), κόκκινου και άσπρου κρασιού σε ποντικούς κατάφερε να αναστείλει την αιμοπεταλιακή συσσώρευση από θρομβίνη στον ίδιο περίπου βαθμό (70%) (Ruf et al., 1995). Από κει και πέρα, η διακοπή της χορήγησης αλκοόλ για τις επόμενες 18ώρες είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης έως και 124% (δηλ., υψηλότερα επίπεδα απ' ό τι πριν τη χορήγηση του αλκοόλ) (Ruf et al., 1995). Αντιθέτως, οι ποντικοί που στερήθηκαν το κόκκινο κρασί δεν εμφάνισαν αυτήν την αύξηση. Αυτό σημαίνει ότι η ανασταλτική επίδραση του κόκκινου κρασιού συνεχίστηκε ακόμα και για 18ώρες κατόπιν της χορήγησης του. Επομένως το platelet rebound effect παρατηρήθηκε μόνο στην ομάδα που κατανάλωσε αλκοόλ, σε πολύ μικρότερο βαθμό στην ομάδα του λευκού κρασιού και καθόλου στην ομάδα του κόκκινου κρασιού (βλ. διάγραμμα 4.1).

Επειδή βρέθηκαν υψηλά επίπεδα συζευγμένων διενίων στο γκρουπ με το αλκοόλ, φαίνεται ότι το rebound effect σχετίζεται με την οξείδωση των λιπών (Ruf et al., 1995). Προφανώς το κρασί περιέχει διάφορες ουσίες που προστατεύουν από το σχηματισμό των υπεροξειδίων και κατ' επέκταση από την εκδήλωση του rebound effect. Περαιτέρω διερεύνηση έδειξε ότι αυτές οι ουσίες είναι οι ταννίνες (σε συγκέντρωση 0,05%) ενώ η γλυκερόλη δεν είχε κάποια ιδιαίτερη επίδραση (σε συγκέντρωση 0,8%). Απ' ό τι φαίνεται πάντως το platelet rebound effect γίνεται πιο έντονο με περιστασιακή κατανάλωση αλκοόλ (binge drinking), ενώ αμβλύνεται με την κατανάλωση κόκκινου κρασιού συγκριτικά με άλλα ποτά (Renaud et al., 1996)

υψηλή κατανάλωση (>6 ποτήρια) αυξάνουν τον κίνδυνο καρδιοαγγειακών νοσημάτων καθώς αυξάνουν τη συγκέντρωση του ινωδογόνου (Mennen et al., 1999)

Απ' ότι φαίνεται η υψηλή πρόσληψη κόκκινου κρασιού έχει αρνητική επίδραση στο ινωδολυτικό σύστημα υπό συνθήκες ηρεμίας. Οι Johansen et al. διερεύνησαν την επίδραση του μετά από φυσική δραστηριότητα. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν τα επίπεδα tPA και PAI-1, η έκκριση κυτταροκινών (IL-8, TNF-a) και ο χρόνος λύσης θρόμβου (whole blood clot lysis time-WBCLT) για την ομάδα ελέγχου, για την ομάδα χαμηλής κατανάλωσης κρασιού (500ml) και για την ομάδα υψηλής κατανάλωσης (1000ml). Η άσκηση αύξησε τα επίπεδα tPA, PAI-1 και την έκκριση κυτταροκινών (IL-8, TNF-a) και ελάττωσε το χρόνο λύσης των θρόμβων. Για τις ομάδες που κατανάλωσαν κρασί βρέθηκε μία δόσοεξαρτώμενη αύξηση στα επίπεδα PAI-1 και μία επιμήκυνση του WBCLT σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Επίσης παρατηρήθηκε μία τάση για αύξηση του tPA ανάλογα με την ποσότητα του κόκκινου κρασιού αλλά αυτό ήταν στατιστικά σημαντικό μόνο για το γκρουπ υψηλής κατανάλωσης (1000ml). Ωστόσο η αύξηση του tPA ήταν ασθενής σε σχέση με αυτή του PAI-1. Δηλ., η κατανάλωση κρασιού >500ml (>4ποτήρια) μείωσε την ινωδολυτική ικανότητα λόγω αύξησης των επιπέδων PAI-1 κατόπιν άσκησης, όπως συνέβη και σε κατάσταση ηρεμίας. Όσον αφορά στην έκκριση κυτταροκινών, δε βρέθηκε καμμία στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 ομάδων, απλώς η ομάδα ελέγχου εμφάνισε μία μεγαλύτερη τάση για παραγωγή TNF-a. Επίσης, η αύξηση IL-8 που προκλήθηκε μετά την άσκηση ήταν μικρότερη στα άτομα που είχαν καταναλώσει κρασί. Τελικώς, η πιο αξιοσημείωτη θετική επίδραση που είχε το κόκκινο κρασί ήταν να καταστέλλει ελαφρώς τις αντιδράσεις που προκάλεσε η άσκηση (Johansen et al., 1999). Έτσι, η αύξηση των επιπέδων tPA, PAI-1, TNF-a και IL-8 κατόπιν της άσκησης καθώς και η ελάττωση του WBCLT ήταν μεγαλύτερες στο γκρουπ ελέγχου σε σχέση με τα άτομα που κατανάλωσαν κρασί.

Εν τούτοις τα δεδομένα για την επίδραση του κόκκινου κρασιού στο ινωδολυτικό σύστημα είναι αντιφατικά. Σε συνθήκες ηρεμίας έχουν παρατηρηθεί και θετικές δράσεις της μέτριας πρόσληψης κρασιού. Κατανάλωση 40γρ. αλκοόλ κατά το δείπνο με τη μορφή μπύρας (1000ml), κρασιού (400ml) ή spirits (144ml) άλλαξε τη δραστηριότητα των PAI-1 και tPA, επάγοντας έτσι τη λύση των θρόμβων και μειώνοντας τον κίνδυνο για καρδιοαγγειακά νοσήματα (Hendriks et al., 1994). Η συγκέντρωση του PAI-1 αυξήθηκε σημαντικά με την πρόσληψη αλκοόλ και είχε τη μέγιστη δράση 5 ώρες μετά το δείπνο. Αυτό οδήγησε σε μείωση της δραστηριότητας

του tPA, παρόλο που τα επίπεδα του αυξήθηκαν. Αυτή η αύξηση ήταν ελαφρώς μεγαλύτερη για τις ομάδες που κατανάλωσαν αλκοόλ αλλά όχι στατιστικά σημαντική. Κατά τη διάρκεια της νύχτας όμως ο PAI-1 επέστρεψε στα κανονικά επίπεδα ενώ η συγκέντρωση του tPA παρέμεινε υψηλή, οδηγώντας σε μία απότομη αύξηση της δραστηριότητας του μέχρι και 95% νωρίς το πρωί. Εφόσον ο tPA συμβάλλει στη λύση και την απομάκρυνση των θρόμβων (βλ. εισαγωγή), η μέτρια πρόσληψη αλκοόλ μπορεί να αναστείλει μερικώς την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Η θετική συσχέτιση μεταξύ κατανάλωσης αλκοόλ και επιπέδων tPA δε φαίνεται να επηρεάζεται από λιπιδαιμικούς παράγοντες όπως η ολική χοληστερόλη πλάσματος ή η HDL ή από άλλους παράγοντες κινδύνου όπως η ηλικία, ο ΔΜΣ, το οικογενειακό ιστορικό και η πίεση του αίματος (Ridker et al., 1994). Έτσι, έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα tPA είναι πιο υψηλά σε άτομα που καταναλώνουν καθημερινώς αλκοόλ, ανεξάρτητα από το λιπιδαιμικό τους προφίλ, και πιο χαμηλά σε εκείνα που καταναλώνουν σπανίως ή καθόλου (Ridker et al., 1994). Επομένως, ακόμη και μέτριες ποσότητες αλκοόλ (5-25γρ./μέρα) μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο στεφανιαίας νόσου, καθώς εντείνουν τη δράση του tPA, ειδικά τις πρώτες πρωινές ώρες (Hendriks et al., 1994).

Πίνακας 4.5

ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ & ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ	
t PA	Αυξάνει τα επίπεδα και επάγει τη δράση του
PAI-1	Αυξάνει τα επίπεδα αλλά η αύξηση είναι μικρότερη από την αντίστοιχη του t PA
Ινωδογόνο	Μειώνει τη συγκέντρωση του (μέτρια πρόσληψη)
Χρόνος λύσης θρόμβου (WBCLT)	Επιμηκώνεται (σε συνθήκες ηρεμίας)

Επίλογος

Αξίζει να σημειωθεί πάντως ότι υπήρξαν μελέτες που δε βρήκαν κάποια ιδιαίτερη επίδραση του κόκκινου κρασιού στην πήξη του αίματος. Οι van Golde et al. μελέτησαν την επίδραση του κρασιού στο χρόνο κεφαλίνης, στο σχηματισμό συμπλόκου θρομβίνης-αντιθρομβίνης και στους παράγοντες VII, VIII και vWF. Επιμήκυνση του χρόνου κεφαλίνης θα έδειχνε αναστολή της πήξης. Αύξηση των επιπέδων συμπλόκου θρομβίνης-αντιθρομβίνης ή των παραγόντων VII, VIII και Vwf θα σήμαινε ενεργοποίηση των πηκτικών μηχανισμών (Ruggeri et al. 1999, van Deijen et al. 1980). Ωστόσο δεν παρατηρήθηκε καμμία στατιστικά σημαντική αλλαγή, είτε η κατανάλωση κρασιού ήταν χαμηλή (500ml), είτε ήταν υψηλή (1000ml). Αυτό ίσως να οφείλεται στο μικρό αριθμό συμμετοχόντων ή στους παράγοντες που μετρήθηκαν οι οποίοι παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις μεταξύ των ατόμων (van Golde et al., 2003).

Κλείνοντας, θα πρέπει να τονιστεί ότι εκτιμήσεις για τις ευεγερτικές επιδράσεις του κρασιού στους αιμοστατικούς παράγοντες δεν μπορούν να γίνουν με σιγουριά (Rimm et al., 1999). Λίγες είναι οι έρευνες που έχουν επιχειρήσει να αξιολογήσουν τις συγκεντρώσεις ινωδογόνου, πλασμινογόνου, tPA, PAI-1, vWF και τα αποτελέσματά τους δε συμπίπτουν πάντα. Π.χ. έχει βρεθεί μείωση της δράσης του tPA κατόπιν κατανάλωσης κρασιού που πιθανώς να οφείλεται στο αλκοόλ (van de Wiel et al., 2001) ή στη ρεσβερατρόλη (Pendurthi et al., 1999) αλλά και αύξηση του (Hendriks et al. 1994, Ridker et al., 1994). Όσο για τα επίπεδα PAI-1 φαίνεται να αυξάνονται κατόπιν πρόσληψης κρασιού (van de Wiel et al. 2001, Johansen et al. 1999), αν και παραμένουν αμετάβλητα με την επίδραση ρεσβερατρόλης (Pendurthi et al., 1999). Πάντως στις περισσότερες έρευνες το ινωδογόνο μειώθηκε με μέτρια πρόσληψη κρασιού (Lacost et al. 2001, Mennel et al. 1999). Από τη μετα-ανάλυση των Rimm et al. βρέθηκε ότι 30γρ. αλκοόλ μπορούν να αυξήσουν τα επίπεδα tPA κατά 1,25ng/ml, πλασμινογόνου κατά 1.47% και να μειώσουν τη συγκέντρωση ινωδογόνου κατά 7,5mg/dl (Rimm et al., 1999). Επαρκή δεδομένα δεν υπήρξαν για τους παράγοντες πήξης FVII και vWF, οπότε δεν είναι δυνατόν να εξαχθούν αντίστοιχα συμπεράσματα.

5. ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ & ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Η αθηρωμάτωση χαρακτηρίζεται από εκτεταμένη μετανάστευση λευκοκυττάρων και προσκόλληση τους στο ενδοθηλιακό τοίχωμα, η οποία διαμεσολαβείται από τα μόρια προσκόλλησης (VCAM-1, ICAM-1, σελεκτίνες). Έκκριση κυτταροκινών (TNF- α , IL-1 α κτλ.) που προκαλείται σε περίπτωση ιστικής βλάβης, επάγει την έκφραση αυτών των μορίων. Δεδομένου ότι η αυξημένη εναπόθεση λίπους κατά την αθηρωμάτωση προκαλεί βλάβη του ενδοθηλίου, άμεσο αποτέλεσμα είναι αντιδράσεις φλεγμονής που έχουν ως σκοπό την επούλωση του τραύματος. Έτσι υπάρχει υπερέκφραση των μορίων προσκόλλησης που οδηγεί σε πάχυνση του ενδοθηλιακού τοιχώματος λόγω μετανάστευσης λευκοκυττάρων και λείων μυικών κυττάρων. Άμεση συνέπεια είναι η στένωση του εσωτερικού χιτώνα και η μείωση της αιματικής ροής (ισχαιμία) που εμποδίζει την ομαλή λειτουργία των ιστών και των οργάνων.

Η μέτρια πρόσληψη κόκκινου κρασιού φαίνεται να περιορίζει τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις και μ' αυτόν τον τρόπο να προστατεύει από την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου. Τα συστατικά του κόκκινου κρασιού δρουν με διάφορους μηχανισμούς για να εξασφαλίσουν την ομαλή ροή του αίματος στο αρτηριακό τοίχωμα. Από τη μια ελαττώνουν την έκφραση των μορίων προσκόλλησης και κατ' επέκταση τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο. Κάτι τέτοιο επιτυγχάνεται με τη δράση της ρεσβερατρόλης, της κερκετίνης, του γαλλικού οξέος κ.α. Από την άλλη αμβλύνουν την παραγωγή NO από τα μακροφάγα, μέσω αναστολής της ενζυματικής δράσης της iNOS ή μέσω άλλων μηχανισμών που δεν έχουν διερευνηθεί προς το παρόν. Ιδιαίτερα ανασταλτικές είναι η κερκετίνη, η ρεσβερατρόλη και η αιθανόλη, οι οποίες έχουν πιο ισχυρή δράση όταν ενεργούν σε συνδυασμό παρά ξεχωριστά η καθεμία. Επιπρόσθετα, το κόκκινο κρασί ρυθμίζει τα επίπεδα διαφόρων κυτταροκινών όπως η MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1, μονοκυτταρική χημειοτακτική πρωτεΐνη-1) ή η ιντερλευκίνη 6 και άλλων χημικών μεσολαβητών της φλεγμονής όπως είναι η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-reactive protein, CRP). Μ' αυτόν τον τρόπο καταστέλλει σε σημαντικό βαθμό την επέκταση της ιστικής βλάβης που προκαλεί η αθηρωμάτωση και μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης δυσμενών επιπτώσεων για την υγεία.

Επίδραση ρεσβερατρόλης

ι) αναστολή προσκόλλησης λευκοκυττάρων μέσω ελάττωσης της έκφρασης μορίων προσκόλλησης

Εστιάζοντας καταρχήν στη δράση της ρεσβερατρόλης, έχει παρατηρηθεί ότι εμποδίζει την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο. Επώαση ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων (human umbilical vein endothelial cells-HUVECs) με 15μmol/l ρεσβερατρόλης ανέστειλλε τη σύνδεση τους με μονοκύτταρα σειράς U937 (αγωνιστής: βακτηριακή ενδοτοξίνη-lipopolysaccharide, LPS 1μmol/l) (Carluccio et al., 2003). Για τους ίδιους τύπους κυττάρων και τον ίδιο αγωνιστή αλλά διαφορετικό χρόνο επώασης (2ώρες), οι Pendurthi et al. διαπίστωσαν ότι η ρεσβερατρόλη σε συγκεντρώσεις 10-25μM αναστέλλει την προσκόλληση κατά 50% ή περισσότερο (Pendurthi et al. 2002). Σε αυτές τις συγκεντρώσεις η ρεσβερατρόλη εμποδίζει και άλλες αντιδράσεις όπως π.χ. την έκφραση t PA (Pendurthi et al., 1999), τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (Pace-Asciak et al., 1995) και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων (Hsiek et al., 1999). Απ' ότι φαίνεται πάντως η προκαλούμενη αναστολή από την ρεσβερατρόλη δεν εξαρτάται από τον αγωνιστή που χρησιμοποιείται. Η μείωση της προσκόλλησης λευκοκυττάρων και ουδετερόφιλων στο ενδοθηλιακό τοίχωμα έχει παρατηρηθεί για διάφορους αγωνιστές όπως π.χ. TNF-α, LPS, IL-1β, PMA (Carluccio et al. 2003, Pendurthi et al. 2002, Ferrero et al. 1998).

Η αναστολή αποδίδεται στη μειωμένη έκφραση των μορίων προσκόλλησης. Έχει βρεθεί ότι η ρεσβερατρόλη προκαλεί δοσοεξαρτώμενη αναστολή της έκφρασης της E-selectin στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων αλλά και του mRNA της E-selectin. 100μM ρεσβερατρόλης κατέστρεψαν την έκφραση του mRNA της E-selectin όταν χρησιμοποιήθηκε ως αγωνιστής η LPS (1μg/ml) (Pendurthi et al. 2002). Η συγκέντρωση της ρεσβερατρόλης που ήταν ικανή να εμποδίσει την μονοκυτταρική προσκόλληση κυμαινόταν στα ίδια επίπεδα με τη συγκέντρωση που εμπόδιζε την έκφραση της E-selectin, αποδεικνύοντας ότι αυτά τα γεγονότα συνδέονται στενά. Επιπρόσθετα, η ρεσβερατρόλη επηρεάζει και την έκφραση των VCAM-1, ICAM-1. Οι Ferrero et al., χρησιμοποιώντας συγκεντρώσεις αντίστοιχες με αυτές που έχουν ανιχνευτεί στο πλάσμα (100nmol/l, 1μmol/l) (Asensi et al., 2002), παρατήρησαν ότι η ρεσβερατρόλη αναστέλλει την έκφραση VCAM-1 και ICAM-1 (Ferrero et al, 1998). Η μείωση της TNF-α εξαρτώμενης έκφρασης του ICAM-1 ήταν συγκρίσιμη με τη μείωση της TNF-α προκαλούμενης προσκόλλησης των ουδετερόφιλων στο

ενδοθήλιο. Ωστόσο σε συνθήκες ηρεμίας (απουσία αγωνιστή) η ρεσβερατρόλη δεν είχε καμμία επίδραση στην έκφραση του ICAM-1 και στην προσκόλληση των ουδετερόφιλων.

Ταυτόχρονη 24ωρη επώαση ενδοθηλιακών κυττάρων με ρεσβερατρόλη (100nmol/l, 1μmol/l) και LPS (4mg/l) ή IL-1α μείωσε την έκφραση VCAM-1 (Ferrero et al, 1998). Προσθήκη ρεσβερατρόλης (30μmol/l) 30 λεπτά πριν τη δράση των αγωνιστών (LPS 1μg/ml, TNF-α 10ng/ml, PMA 6,3ng/ml) κατέστειλε την έκφραση VCAM-1 (Carluccio et al., 2003). Μάλιστα η δράση της ρεσβερατρόλης ήταν πιο ισχυρή σε σχέση με άλλων αντιοξειδωτικών όπως π.χ. η Ν-ακετυλ-κυστείνη. Π.χ. 30μmol/l ρεσβερατρόλης ανέστειλλαν την έκφραση VCAM-1 κατά 50%, ενώ σ' αυτή τη συγκέντρωση η επίδραση της Ν-ακετυλ-κυστείνης δεν ήταν αξιόλογη. Η ρεσβερατρόλη μείωσε την έκφραση του mRNA του VCAM-1 ανεξάρτητα από τον αγωνιστή που χρησιμοποιήθηκε, αποδεικνύοντας ότι δρα με οποιοδήποτε μεμβρανικό υποδοχέα. Επίσης, ελάττωσε τη δραστικότητα του υποκινητή του VCAM-1 επιδρώντας στους μεταγραφικούς παράγοντες NF-k B και AP-1 (activator protein): 15μmol/l ρεσβερατρόλης μείωσαν την ενεργοποίηση του NF-k B κατά 60% και της AP-1 κατά 40% (Carluccio et al., 2003).

ii) Μείωση απελευθέρωσης NO μέσω αναστολής iNOS και μέσω άλλων μηχανισμών

Επιπλέον οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες της ρεσβερατρόλης συνίστανται και στην αναστολή της iNOS (inducible nitric oxide synthase). Πρόκειται για μία μορφή του ενζύμου NOS που παράγεται από τα μακροφάγα σε περίπτωση φλεγμονής (π.χ. αθηρωμάτωση) και συμβάλλει στον σχηματισμό NO και μεταβολιτών του (ρίζες αζώτου, peroxynitrite) σε ποσότητες υψηλές και τοξικές για το κύτταρο (Nathan 1997, Wilcox et al. 1997). Έτσι διήθηση μακροφάγων στο ενδοθηλιακό τοίχωμα αυξημένη έκφραση iNOS προκαλεί βλάβη στα αγγεία. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι υπάρχει αντίστροφη σχέση μεταξύ iNOS και eNOS (MacNaul et al. 1993). Παρόλο που στα σημεία του θρόμβου τα επίπεδα NO είναι υψηλά, η συγκέντρωση eNOS παρουσιάζεται ελαττωμένη. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι προφλεγμονώδεις ουσίες (LPS, κυτταροκίνες) επάγουν την έκφραση iNOS, με άμεσο αποτέλεσμα τον αυξημένο σχηματισμό NO από τα μακροφάγα.

Οι Tsai et al. παρατήρησαν ότι προσθήκη ρεσβερατρόλης (3-30μM) σε μονοκύτταρα μειώνει την παραγωγή NO μέσω αναστολής της γονιδιακής έκφρασης της iNOS (Tsai et al., 1999). Ως αγωνιστής χρησιμοποιήθηκε η LPS (50ng/ml) και η

IC₅₀ για την iNOS ήταν 5μM ρεσβερατρόλης. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις LPS (1μg/ml) η ρεσβερατρόλη ανέστειλε την παραγωγή NO από 10μM και άνω (Cho et al., 2002). Απ' ότι φαίνεται δηλ. αυξημένες συγκεντρώσεις αγωνιστών απαιτούν μεγαλύτερη ποσότητα ρεσβερατρόλης προκειμένου να γίνει αναστολή της παραγωγής NO. Επίσης, από έρευνα των Wadsworth et al. βρέθηκε ότι η ρεσβερατρόλη προκαλεί δόσοεξαρτώμενη μείωση της απελευθέρωσης NO κατά 16% με συγκέντρωση 0,05m M και κατά 34% για συγκέντρωση 0,1mM μόνο σε ενεργοποιημένα μακροφάγα (LPS:100ng/ml), χωρίς να επηρεάζει τον σχηματισμό NO σε συνθήκες ηρεμίας (Wadsworth et al., 1999). Στη συγκεκριμένη περίπτωση παρατηρήθηκε μία ελαφρά αύξηση του mRNA iNOS, η οποία έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα των προαναφερθείσων ερευνών.

Πώς όμως η ρεσβερατρόλη καταφέρνει να μειώσει την έκφραση της iNOS και κατ' επέκταση την απελευθέρωση NO; Καθώς φαίνεται η ρεσβερατρόλη αναστέλλει τη δραστηριότητα του μεταγραφικού παράγοντα NF-κ B, ο οποίος αποτελεί τμήμα του υποκινητή της iNOS και συμμετέχει στην ενεργοποίηση της από την LPS (Xie et al., 1994). Σε συνθήκες ηρεμίας ο NF-κ B εκκρίνεται στο κυτταρόπλασμα και βρίσκεται συνδεδεμένος με την ανασταλτική πρωτεΐνη IκB (Holmes-McNary et al., 2000). Διάφορα εξωκυτταρικά ερεθίσματα μπορούν να τον ενεργοποιήσουν, όπως π.χ. κυτταροκίνες (TNF-α). Αρχικά γίνεται φωσφορυλίωση της IκB από το σύμπλοκο IκK. Άμεση συνέπεια είναι η καταστροφή της και η απελευθέρωση του NF-κ B, ο οποίος μεταναστεύει στον κυτταρικό πυρήνα και επάγει την έκφραση των γονιδίων (Holmes-McNary et al., 2000). Έτσι η ρεσβερατρόλη σε συγκέντρωση 30Μμ κατάφερε να εμποδίσει τη γονιδιακή έκφραση της iNOS καθώς ανέστειλε τη δεσμευτική ικανότητα του NF-κB (Tsai et al., 1999). Αυτό συνέβη διότι εμπόδισε την καταστροφή της IκBa και επομένως την πυρηνική μετανάστευση του NF-κB. Έτσι η ρεσβερατρόλη μπορεί να αναστείλλει τη συστηματική φλεγμονώδη απάντηση εφόσον ο NF-κB δε συμμετέχει μόνο στην έκφραση της iNOS, αλλά και στη γονιδιακή έκφραση διαφόρων άλλων μορίων όπως τα μόρια προσκόλλησης, οι σελεκτίνες, η μονοκυτταρική χημειοελκτική πρωτεΐνη κτλ. (Holmes-McNary et al. 2000, Blanco-Colio et al., 2000).

Ωστόσο η μείωση της απελευθέρωσης NO από τη ρεσβερατρόλη δε φαίνεται να διαμεσολαβείται μόνο από την ανασταλτική της δράση στην έκφραση της iNOS. Στην έρευνα των Cho et al. η ρεσβερατρόλη εμπόδισε την παραγωγή NO σε συγκεντρώσεις 10-25μM αλλά δεν κατάφερε να αναστείλλει την έκφραση της iNOS

(χρειάστηκαν 50μM), ούτε την πυρηνική μετανάστευση του NF-κB (χρειάστηκαν 100μM) (Cho et al.,2002). Αυτό δείχνει ότι η iNOS και ο NF-κB δεν αποτελούν τον κύριο στόχο της ρεσβερατρόλης. Εξάλλου το μεγάλο χρονικό διάστημα μεταξύ της έκφρασης της iNOS και της απελευθέρωσης NO οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η ρεσβερατρόλη χρησιμοποιεί και άλλα μονοπάτια για την αναστολή της παραγωγής NO και όχι μόνο την αναστολή της iNOS και του NF-κB. Π.χ. ίσως να εμποδίζει τη δράση της πρωτεϊνικής κινάσης C, η οποία σχετίζεται με τον σχηματισμό NO (Stewart et al. 1999, Sands et al. 1994) ή της AP-1 (Manna et al. 2000), ενός μεταγραφικού παράγοντα υπεύθυνου για τη γονιδιακή έκφραση των μορίων προσκόλλησης. Επίσης μπορεί να αυξάνει την καταστροφή των παραγώγων του NO, δρώντας ως εκκαθαριστής ελεύθερων ριζών (scavenger) (Chan et al., 2000). Παρόλο που πιθανολογείται ότι η ρεσβερατρόλη έχει οιστρογονική δράση (Gehm et al., 1997), διερεύνηση για το ρόλο των οιστρογόνων στην αναστολή του NO από τη ρεσβερατρόλη δεν έδειξε κάποια συσχέτιση. Κι αυτό διότι όταν χρησιμοποιήθηκαν αγωνιστές υποδοχέων οιστρογόνων, η αναστολή έγινε μόνο σε υψηλές συγκεντρώσεις ενώ παρουσία ανταγωνιστών δεν είχε καμμία επίδραση στη δράση της ρεσβερατρόλης (Cho et al.,2002).

Επίδραση κερκετίνης και αιθανόλης στην αναστολή της iNOS

Θα πρέπει να τονιστεί πάντως ότι αναστολή της iNOS δεν παρατηρείται μόνο με την επίδραση της ρεσβερατρόλης. Αντίστοιχη δράση παρουσιάζει η αιθανόλη αλλά και η κερκετίνη. Χορήγηση αιθανόλης σε ποντικούς (4,5gr/kg) άμβλυνε την έκφραση mRNA iNOS in vivo και μείωσε τα πρωτεϊνικά αποθέματα της iNOS (Greenberg et al., 1997). Η αιθανόλη έδρασε σε μεταγραφικό επίπεδο και εμπόδισε την ενεργοποίηση του NF-κB από την LPS. Αυτό διαπιστώθηκε με τη βοήθεια του DETC (αναστολέας NF-κB), ο οποίος ελαχιστοποίησε την επίδραση της αιθανόλης στη ρύθμιση του mRNA της iNOS. Αντίστοιχη δράση με την αιθανόλη φαίνεται να έχει και η κερκετίνη, η οποία προκάλεσε δοσοεξαρτώμενη μείωση της απελευθέρωσης NO (κατά 24% σε συγκέντρωση 0,1m M και κατά 74% με 0,2m M), καθώς ανέστειλλε την έκφραση mRNA iNOS από την LPS (Wadsworth et al., 1999). Πιθανολογείται ότι ο μηχανισμός δράσης περιλαμβάνει αναστολή NF-κB αλλά και άλλων μεταγραφικών παραγόντων. Απ' ότι βρέθηκε πάντως η κερκετίνη εμπόδισε την ενεργοποίηση των τμημάτων p50/p65, p50/p50 του NF-κB από την LPS.

Συνεργιστική δράση κερκετίνης, ρεσβερατρόλης και αιθανόλης

Δεδομένου ότι η αιθανόλη, η ρεσβερατρόλη και η κερκετίνη αναστέλλουν ξεχωριστά η καθεμία την έκφραση της iNOS και την παραγωγή NO από τα μακροφάγα, είναι πιθανό η καρδιοπροστατευτική δράση του κρασιού να οφείλεται στη συνέργεια των τριών αυτών συστατικών. Πιο συγκεκριμένα, η ρεσβερατρόλη και η κερκετίνη ελαττώνουν την παραγωγή NO από τα μακροφάγα και η δράση τους ενισχύεται παρουσία αιθανόλης (Chan et al., 2000) (βλ. πίνακα 5.1). Έτσι για δεδομένη συγκέντρωση ρεσβερατρόλης ή κερκετίνης, η ελάττωση γίνεται πιο ισχυρή καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση της αιθανόλης.

Αναστολή της γονιδιακής έκφρασης της iNOS και εκκαθαρισμός NO είναι οι δύο τρόποι με τους οποίους μειώνονται τα επίπεδα NO. Παρουσία αιθανόλης 0,3% ήταν αρκετή για εκκαθαρισμό >50% του NO και των μεταβολιτών του από τις πολυφαινόλες (Chan et al., 2000). Αναστολή της έκφρασης iNOS από την κερκετίνη έγινε μόνο με συγκέντρωση αιθανόλης >0,5%. Αντιθέτως 30μM κερκετίνης δεν κατάφεραν να μειώσουν την iNOS όταν η αιθανόλη ήταν 0,1% ή 0,25% (Chan et al., 2000). Γενικά φαίνεται ότι η ρεσβερατρόλη και η κερκετίνη δρουν κατά κύριο λόγο μέσω της καταστροφής των παραγώγων NO παρά με αναστολή της γονιδιακής έκφρασης της iNOS. Κι αυτό διότι χωρίς επαρκή ποσότητα αιθανόλης δεν ήταν ιδιαίτερες αποτελεσματικές στη μείωση του mRNA της iNOS. Κάτι τέτοιο έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα των προηγούμενων ερευνών αλλά δικαιολογείται από το γεγονός ότι χρησιμοποιήθηκε πιο υψηλή συγκέντρωση LPS (200ng/ml έναντι 50ng/ml από τους Chai et al. και 100ng/ml από τους Wadsworth et al.). Μία ακόμη αντίφαση είναι η εξής: ενώ οι Chan et al βρήκαν ότι η κερκετίνη και η ρεσβερατρόλη δρουν ως εκκαθαριστές του NO που παράγεται από SNP (sodium nitroprusside-δότης NO), οι Wadsworth et al. παρατήρησαν ενίσχυση της δράσης του SNP. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε διαφορετικές πειραματικές συνθήκες και συγκεντρώσεις των φαινολικών συστατικών.

Πίνακας 5.1-Αναστολή NO από κερκετίνη και ρεσβερατρόλη σε διάφορες συγκεντρώσεις αιθανόλης

Ρεσβερατρόλη:60μM

Αιθανόλη	0,1%	0,25%	0,50%	0,75%
%παραγωγή NO σε σχέση με παραγωγή NO από ομάδα ελέγχου	74%	55%	45%	31%

Κερκετίνη:30μM

Αιθανόλη	0,1%	0,25%	0,50%	0,75%
%παραγωγή NO σε σχέση με παραγωγή NO από ομάδα ελέγχου	58%	38%	30,7%	20,7%

Ως αγωνιστές χρησιμοποιήθηκαν LPS και IFN-γ. Η ομάδα ελέγχου περιείχε μακροφάγα στα οποία είχαν προστεθεί μόνο οι αγωνιστές (απουσία αιθανόλης, κερκετίνης, ρεσβερατρόλης). Ως 100% θεωρείται η παραγωγή NO από την ομάδα ελέγχου. (Chan et al. Synergy between ethanol and grape polyphenols, quercetin and resveratrol, in the inhibition of the inducible nitric oxide synthase pathway. Biochemical Pharmacol. 2000; 60:1539-1548).

Ο μηχανισμός με τον οποίο πραγματοποιείται η συνεργιστική δράση των συστατικών του κρασιού είναι άγνωστος. Από τη μια, η αιθανόλη μπορεί να διευκολύνει την πρόσληψη των πολυφαινόλων από τα κύτταρα (Chan et al., 2000). Από την άλλη πιθανώς η συντονισμένη δράση των συστατικών στα διάφορα ρυθμιστικά μονοπάτια να οδηγεί σε πιο ισχυρή αναστολή απ' ότι του κάθε συστατικού ξεχωριστά (Chan et al., 2000). Έτσι η αιθανόλη και η κερκετίνη μπορεί να μειώνουν την έκφραση του mRNA της iNOS σε πιο μεγάλο βαθμό όταν δρουν σε συνδυασμό παρά όταν δρουν ξεχωριστά.

Επίδραση κερκετίνης στην έκφραση των μορίων προσκόλλησης

Όσον αφορά την κερκετίνη, εκτός από την ανασταλτική της δράση στην παραγωγή NO, έχει την ικανότητα να ρυθμίζει την έκφραση των μορίων προσκόλλησης, όπως η ρεσβερατρόλη. Π.χ. επώαση ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων με κερκετίνη μείωσε την TNF- α (1ng/ml) επαγόμενη έκφραση της E-selectin με IC₅₀ 4,5 μ M (Takano-Ishikawa et al., 2003). 50 μ M κερκετίνης μείωσαν την έκφραση ICAM-1 in vitro κατά 55% όταν χρησιμοποιήθηκε ως αγωνιστής το PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate, 100nM) και κατά 35% για τον TNF- α (10ng/ml) (Kobuchi et al., 1999). Εμφανή δράση παρουσιάστηκε από συγκέντρωση μεγαλύτερη 1 μ M. Η κερκετίνη ελάττωσε επίσης τα επίπεδα mRNA ICAM-1, χωρίς να επηρεάσει τη σταθερότητα του mRNA. Η αναστολή της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης από την κερκετίνη έγινε σε μεταγραφικό επίπεδο.

Προκειμένου να διερευνηθεί ο ακριβής τρόπος με τον οποίο έδρασε, πραγματοποιήθηκε έλεγχος για την ενεργοποίηση των μεταγραφικών παραγόντων NF- κ B και AP-1, που συμμετέχουν στην γονιδιακή έκφραση του ICAM-1 (υποκινητής) αλλά και άλλων μορίων προσκόλλησης. Βρέθηκε ότι η κερκετίνη εμποδίζει την ενεργοποίηση της AP-1 από τους TNF- α , PMA και μάλιστα σε έκταση ανάλογη με την καταστολή της έκφρασης mRNA ICAM-1 (Kobuchi et al., 1999). Η κερκετίνη επενέβη στη δράση της κινάσης JNK (c-Jun NH₂-terminal kinase): πρόκειται για μία MAP (mitogen-activator protein) κινάση, η οποία φωσφορυλιώνει το γονίδιο c-Jun και μ' αυτόν τον τρόπο ενεργοποιεί την AP-1 (Fleegal et al., 2003). Η κερκετίνη σε συγκέντρωση 50 μ M ανέστειλλε τελείως τη δράση της JNK και επομένως την ενεργοποίηση της AP-1. Ωστόσο δεν κατάφερε να εμποδίσει την PMA, TNF- α προκαλούμενη ενεργοποίηση του NF- κ B, καθώς δεν επηρέασε τις κινάσες που εμπλέκονται στην πυρηνική του μετανάστευση (I κ B α) (Kobuchi et al., 1999). Έρευνα των Schubert et al., έδειξε ότι η κερκετίνη αναστέλλει την πυρηνική μετανάστευση της πρωτεΐνης p65, η οποία ανήκει στην οικογένεια του NF- κ B και κατ' επέκταση την ενεργοποίηση του NF- κ B (Schubert et al., 2002). Αντίστοιχα οι Moon et al. βρήκαν ότι η κερκετίνη μειώνει τη δεσμευτική ικανότητα όχι μόνο της AP-1, αλλά και του NF- κ B (αγωνιστής: TNF- α 100ng/ml) σε ανθρώπινα αορτικά λεία μυϊκά κύτταρα (HASMC-human aortic smooth muscle cells) (Moon et al, 2003). Έτσι καταστέλλει τη δράση του υποκινητή της MMP-9 (matrix metalloproteinase-9), μιας μεταλλοπρωτεϊνάσης η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των λείων μυϊκών κυττάρων κατά την αθηρωμάτωση (Goldin et al.,

2000). Επομένως δεν μπορούν να εξαχθούν σαφή συμπεράσματα για την επίδραση της κερκετίνης στην ενεργοποίηση του NF-κΒ.

Επίδραση γαλλικού οξέος στην έκφραση των μορίων προσκόλλησης

Εκτός όμως από την κερκετίνη, ένα ακόμη συστατικό του κόκκινου κρασιού φαίνεται να συσχετίζεται με την πυρηνική μετανάστευση του NF-κΒ και συνεπώς με την έκφραση των μορίων προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Πρόκειται για το γαλλικό οξύ, το οποίο σε συγκέντρωση 3-10 μ mol/l κατέστειλε σημαντικά την έκφραση ICAM-1, VCAM-1, E-selectin όταν χρησιμοποιήθηκαν ως επαγωγείς η ιντερλευκίνη 1 α (IL-1 α) και ο TNF- α (Murase et al., 1999). Έτσι εμπόδισε την προσκόλληση των κυττάρων HL-60 (promyelomonocytic cell line) με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Πιο συγκεκριμένα, το γαλλικό οξύ προκαλεί χρονο-εξαρτώμενη αναστολή της ενεργοποίησης του NF-κΒ, καθώς δεν επιτρέπει τη μετανάστευση του p65 στον πυρήνα. Ωστόσο είναι άγνωστος ο τρόπος με τον οποίο δρα εφόσον δεν μπορεί να εμποδίσει τη δέσμευση του NF-κΒ στο DNA, ούτε την καταστροφή της I κ B α , η οποία είναι απαραίτητη για την πυρηνική μετανάστευση (Schubert et al., 2002). Ίσως να αναστέλλει άλλες πρωτεΐνες όπως είναι η I κ B β , η p105/I κ B γ , η I κ B δ κ.α. ή να επιδρά σε άλλους μεταγραφικούς παράγοντες, οι οποίοι ρυθμίζουν την έκφραση των μορίων προσκόλλησης (Murase et al., 1999). Ο εκτεταμένος χρόνος επώασης των HUVECs με γαλλικό οξύ (15ώρες) πιθανώς να αποδεικνύει ότι το γαλλικό οξύ δεν μπορεί να διαπεράσει εύκολα την κυτταροπλασματική μεμβράνη.

Επίδραση κόκκινου κρασιού στην έκφραση των κυτταροκινών

Μελέτη των Blanco-Colio et al. έδειξε ότι κατόπιν κατανάλωσης γεύματος υψηλού σε λιπαρά αυξήθηκε η ενεργοποίηση του NF-κΒ στα περιφερειακά μονοκύτταρα του αίματος (Blanco-Colio et al., 2000). Η αύξηση ήταν χρονοεξαρτώμενη και συνοδεύτηκε από πυρηνική μετανάστευση των υπομονάδων p65, p50. Πρόσληψη κόκκινου κρασιού ανέστειλε την ενεργοποίηση του NF-κΒ ενώ πρόσληψη βότκας δεν είχε καμία επίδραση, αποδεικνύοντας ότι δεν ήταν η αιθανόλη υπεύθυνη γι' αυτή την αναστολή. Αν ληφθεί υπόψη ότι ο NF-κΒ ρυθμίζει την έκφραση όχι μόνο των μορίων προσκόλλησης αλλά και διαφόρων κυτταροκινών (MCP-1, IL-8, IL-10 κ.α.) που συμμετέχουν στη φλεγμονή τότε η αναστολή του από

το κόκκινο κρασί αποκτά ιδιαίτερη σημασία (Bai et al. 2004, Adlerberth et al. 1996). Οι Feng et al. μελέτησαν την επίδραση του κρασιού στην έκφραση της MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1, μονοκυτταρική χημειοτακτική πρωτεΐνη-1), η οποία προάγει την προσέλκυση των μονοκυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα (Messberg et al. 2003). Έτσι βρέθηκε ότι η κατανάλωση κόκκινου (12,5%, 5ml/kg) αλλά και λευκού (13,3%, 5ml/kg) κρασιού μειώνει τα επίπεδα mRNA MCP-1 και περιορίζει σημαντικά την πρωτεϊνική της έκφραση (Feng et al., 1999). Η επίδραση του κόκκινου κρασιού *in vivo* ήταν πιο ισχυρή σε σχέση με το λευκό. Ως αποτέλεσμα το κόκκινο κρασί κατάφερε να περιορίσει σημαντικά τις επιπλοκές (υπερπλασία αρτηριακού τοιχώματος) κατόπιν αγγειοπλαστικής εγχείρησης σε κουνέλια, τα οποία ακολουθούσαν δίαιτα υψηλή σε χοληστερόλη, αποδεικνύοντας την αντιαθηρωματική του δράση.

Επιπρόσθετα οι πολυφαινόλες του κόκκινου κρασιού επηρεάζουν την έκφραση του CINC (cytokine-induced neutrophil chemoattractant, χημειοελκτικός παράγοντας ουδετερόφιλων), μίας χημειοκίνης ανάλογης της ιντερλευκίνης 8 (IL-8), η οποία προωθεί τη συσσώρευση και τη μετακίνηση των ουδετερόφιλων (Iida et al., 1992). Ουσιαστικά οι πολυφαινόλες μειώνουν τη δραστηριότητα του NF-κΒ, ο οποίος εμπλέκεται στη γονιδιακή μεταγραφή της CINC (Ohtsuka et al., 1996) και μ' αυτόν τον τρόπο μειώνουν τα επίπεδα mRNA CINC. Κάτι τέτοιο βρέθηκε από έρευνα των Canali et al. όπου διαπιστώθηκε ότι η έλλειψη ψευδαργύρου σε ποντικούς επάγει την έκφραση TNF-α και CINC και καταστέλλει την αντίστοιχη της ιντερλευκίνης 10 (IL-10) (αντιφλεγμονώδης κυτταροκίνη). Χορήγηση πολυφαινολών από κόκκινο κρασί ανέστρεψε αυτές τις αλλαγές καθώς επανέφερε τον TNF-α και την IL-10 σε φυσιολογικά επίπεδα και μείωσε την έκκριση της CINC (Canali et al., 2000).

Ρόλος αιθανόλης

Κλείνοντας θα πρέπει να σημειωθεί ότι εκτός από τις πολυφαινόλες, σημαντικό ρόλο παίζει και η αιθανόλη που περιέχεται στο κόκκινο κρασί για τη ρύθμιση των επιπέδων των δεικτών φλεγμονής. Οι Williams et al παρατήρησαν ότι κατανάλωση κόκκινου κρασιού (4ml/kg) από άντρες με στεφανιαία νόσο αύξησε σημαντικά τα επίπεδα ιντερλευκίνης 6 (IL-6) στο πλάσμα- κατά 56% με κόκκινο κρασί και κατά 63% με άσπρο (Williams et al., 2004). Η αύξηση αυτή παρατηρήθηκε 6 ώρες μετά την πρόσληψη του κρασιού, ενώ ίδια ποσότητα ισοθερμικού μη αλκοολούχου σκευάσματος δεν επηρέασε τη συγκέντρωση της IL-6. Η IL-6

απελευθερώνεται από τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα και διαμεσολαβεί πολλές από τις συστηματικές αντιδράσεις στη λοίμωξη και το τραύμα (Vander et al., 2001). Στην προκείμενη έρευνα η έκφραση των VCAM-1, ICAM-1 δεν μεταβλήθηκε άρα η αύξηση της IL-6 δεν οφείλεται σε συστηματική φλεγμονώδη απάντηση. Αντιθέτως, μέτρηση που έγινε 6 ώρες μετά την κατανάλωση του κρασιού έδειξε ότι η συγκέντρωση πλάσματος της IL-6 συσχετίζεται με την αντίστοιχη συγκέντρωση αλκοόλ 1 ώρα κατόπιν της πρόσληψης κρασιού. Επειδή το αλκοόλ προκαλεί οξειδωτικό στρες (Reinke et al., 2002), φαίνεται ότι η μεταβολή στη συγκέντρωση της IL-6 αποτελεί την απόκριση του οργανισμού σε αυτό. Έτσι η IL-6 που παράγεται κατά κύριο λόγο στο ήπαρ, εμποδίζει την ηπατοκυτταρική αναγέννηση ελεύθερων ριζών από την αιθανόλη (Hong et al., 2002) και προστατεύει τα κύτταρα από απόπτωση.

Επιπλέον το αλκοόλ επηρεάζει και τα επίπεδα πλάσματος της C- αντιδρώσας πρωτεΐνης (C-reactive protein, CRP). Πρόκειται για μία πρωτεΐνη που παράγεται στο ήπαρ σε υψηλές ποσότητες κατά τη διάρκεια της φλεγμονής και η συγκέντρωση της συνδέεται στενά με την πιθανότητα εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Αυτό σημαίνει ότι υψηλά επίπεδα CRP οξύνουν τον κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου ή εγκεφαλικό και αυξάνουν την καρδιοαγγειακή θνησιμότητα (Rohde et al., 1999). Έρευνα που έγινε σε 1732 άντρες και 1101 γυναίκες (Pravastatin Inflammation/CRP Evaluation Study) έδειξε ότι τα επίπεδα CRP ήταν πιο χαμηλά σε άτομα με μέτρια πρόσληψη αλκοόλ σε σχέση με τα άτομα που απείχαν τελείως ή κατανάλωναν αλκοόλ περιστασιακά (Albert et al., 2003) (βλ. πίνακα 5.2).

Ετσι η κατανάλωση των ποτών ήταν προδικαστική καθώς αυξάνεται η πρόσληψη του αλκοόλ. Εν τούτοις κατανάλωση μεγαλύτερη από δύο ποτά ημερησίως είχε ως αποτέλεσμα να αρχίσουν να αυξάνονται και πάλι τα επίπεδα CRP. Ουσιαστικά παρατηρήθηκε μία σχέση σχήματος U μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και της CRP. Αντίστοιχα ήταν και τα αποτελέσματα των Froehlich et al. από έρευνα που έγινε στην Α. Γερμανία το διάστημα 1987-1993 σε 781 άντρες και 995 γυν. (βλ. βιβλίο). Βρέθηκε και πάλι σχέση σχήματος U, που σημαίνει ότι άτομα που απείχαν τελείως από το αλκοόλ και άτομα με μεγάλη κατανάλωση (>60gr ημερησίως) είχαν και υψηλά επίπεδα από τα άτομα με μέτρια πρόσληψη αλκοόλ (Froehlich et al., 2001). Η συσχέτιση αυτή ήταν λιγότερο ισχυρή για τις γυναίκες (βλ. διάγραμμα 5.1). Μελέτη για τα διάφορα

Πίνακας 5.2- Επίπεδα CRP ανάλογα με πρόσληψη αλκοόλ

	<1 ποτό/μήνα n=1585	1-3 ποτά/μήνα n=471	1-4 ποτά/εβδομάδα n=422	5-7 ποτά/εβδομάδα n=225	>2 ποτά/ημέρα n=130
CRP (mg/l)					
Άτομα με ιστορικό ΣΝ	2,80	2,60	2,40	1,70	2,20
Άτομα χωρίς ιστορικό ΣΝ	2,40	2,00	1,50	1,40	1,50
Σύνολο ατόμων	2,60	2,20	1,70	1,60	1,80

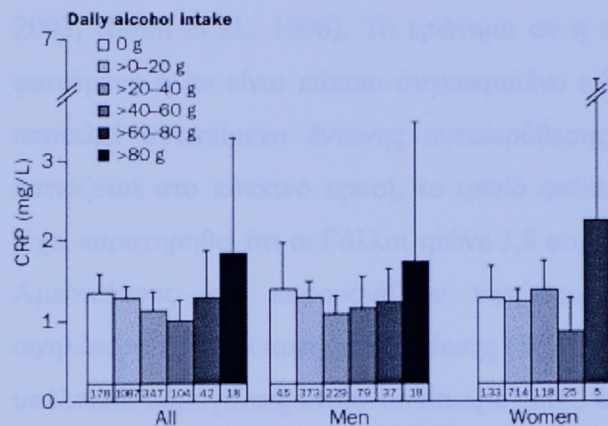
ΣΝ: Στεφανιαία Νόσος

(Albert et al. Alcohol consumption and plasma concentration of C-reactive protein. Circulation 2003; 107:443-447)

Έτσι η ελάττωση των επιπέδων ήταν προοδευτική καθώς αυξανόταν η πρόσληψη του αλκοόλ. Εν τούτοις κατανάλωση μεγαλύτερη από δύο ποτά ημερησίως είχε ως αποτέλεσμα να αρχίσουν να αυξάνονται και πάλι τα επίπεδα CRP. Ουσιαστικά παρατηρήθηκε μία σχέση σχήματος U μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και της CRP. Αντίστοιχα ήταν και τα αποτελέσματα των Froehlich et al. από έρευνα που έγινε στην Α. Γερμανία το διάστημα 1987-1988 σε 781 άντρες και 995 γυναίκες. Βρέθηκε και πάλι σχέση σχήματος U, που σημαίνει ότι άτομα που απείχαν τελείως από το αλκοόλ και άτομα με μεγάλη κατανάλωση (>60gr ημερησίως) είχαν πιο υψηλά επίπεδα από τα άτομα με μέτρια πρόσληψη αλκοόλ (Froehlich et al.,2001). Η συσχέτιση αυτή ήταν λιγότερο ισχυρή για τις γυναίκες (βλ. διάγραμμα 5.1). Μελέτη για τα διάφορα

είδη αλκοολούχων ποτών έδειξε ότι το κρασί συγκεκριμένα συνδέεται με τη μείωση των επιπέδων CRP (Wannamethee et al., 2003).

Διάγραμμα 5.1



Συσχέτιση επιπέδων CRP ανάλογα με πρόσληψη αλκοόλ στο σύνολο των ατόμων, στους άντρες και στις γυναίκες. Κάθετος άξονας: επίπεδα CRP. Οριζόντιος άξονας: πρόσληψη αλκοόλ. (Froehlich et al. Effect of alcohol consumption on systemic markers of inflammation. *Lancet* 2001;357(9258):763-7

Συνοψίζοντας το κόκκινο κρασί μπορεί να μειώσει σε σημαντικό βαθμό τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της αθηροσκλήρυνσης. Αναστέλλει την έκφραση των μορίων προσκόλλησης VCAM-1, ICAM-1, E-selectin και κατ' επέκταση την προσκόλληση μονοκυττάρων και λείων μυϊκών κυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα. Επίσης περιορίζει τη δράση της iNOS και συνεπώς την παραγωγή NO από τα μακροφάγα. Ταυτόχρονα ελαττώνει την έκκριση κυτταροκινών όπως η MCP-1 ή η CINC, αν και η αιθανόλη φαίνεται να επάγει την έκκριση IL-6. Ο κύριος τρόπος δράσης βασίζεται στην αναστολή μεταγραφικών παραγόντων (AP-1, NF-κB), που ελέγχουν την έκφραση των κυτταροκινών και των μορίων προσκόλλησης. Επίσης, η μέτρια πρόσληψη κόκκινου κρασιού συμβάλλει στη μείωση των επιπέδων CRP, ενός από τους πιο σημαντικούς δείκτες φλεγμονής. Μ' αυτόν τον τρόπο επιβεβαιώνεται η αντιαθηρωματική δράση του κόκκινου κρασιού και ενισχύεται η άποψη ότι προστατεύει σε μεγάλο βαθμό από τα καρδιαγγειακά νοσήματα.

6. ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ & ΟΞΕΙΔΩΣΗ

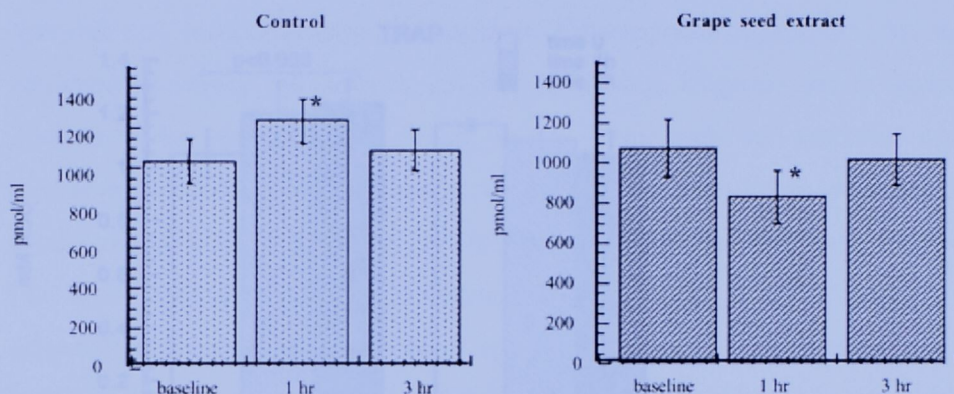
Τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερες επιδημιολογικές έρευνες αποδεικνύουν ότι η μέτρια πρόσληψη αλκοόλ συμβάλλει στη μείωση της θνησιμότητας από καρδιαγγειακά νοσήματα (Gronbaek et al., 1995, Klatsky et al., 2003, Rimm et al., 1996). Το ερώτημα αν η αιθανόλη είναι υπεύθυνη γι' αυτό το φαινόμενο ή αν είναι κάποιο συγκεκριμένο είδος ποτού και όχι γενικά το αλκοόλ, αποτελεί αντικείμενο έντονης αντιπαράθεσης. Εν τούτοις ιδιαίτερο ενδιαφέρον εστιάζεται στο κόκκινο κρασί, το οποίο φαίνεται να εξηγεί το γαλλικό παράδοξο: Έχει παρατηρηθεί ότι οι Γάλλοι τρώνε 3,8 φορές πιο πολύ βούτυρο σε σχέση με τους Αμερικάνους και παρουσιάζουν υψηλότερη συγκέντρωση χοληστερόλης και υψηλότερα επίπεδα αρτηριακής πίεσης (WHO MONICA REPORT, 1989). Αν και οι υπόλοιποι παράγοντες κινδύνου όπως ο ΔΜΣ και το κάπνισμα κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα με αυτά των Αμερικανών, ο ρυθμός θανάτου από καρδιαγγειακά νοσήματα στη Γαλλία είναι 2,5 φορές χαμηλότερος (Ulbricht et al., 1991). Κάτι τέτοιο φαίνεται να συνδέεται με την υψηλή κατανάλωση κόκκινου κρασιού (Renaud, 1992). Το κόκκινο κρασί μπορεί να περιορίζει τον κίνδυνο εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου, επεμβαίνοντας στην διαδικασία της αθηρωμάτωσης. Όπως έχει ήδη αναλυθεί στην εισαγωγή, τα αυξημένα επίπεδα οξειδωμένης LDL κατά την αθηρωμάτωση μεταβάλλουν την ενδοθηλιακή λειτουργία, γι' αυτό άλλωστε και αποτελούν έναν από τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου. Το κόκκινο κρασί έχει την ικανότητα να επηρεάζει την ενδοθηλιακή λειτουργία με διάφορους τρόπους και να καθυστερεί τη διαδικασία της αθηρωμάτωσης. Π.χ. όπως έχει ήδη αναφερθεί στα προηγούμενα κεφάλαια, οι ουσίες που περιέχει εμποδίζουν την αιμοπεταλιακή συσσώρευση και την πήξη του αίματος, προάγουν την αγγειοδιαστολή και την ινωδόλυση και περιορίζουν την εκδήλωση φλεγμονωδών αντιδράσεων καθώς καταστέλλουν την έκφραση μορίων προσκόλλησης και τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο.

Εκτός των παραπάνω, η προστατευτική δράση του κόκκινου κρασιού συνίσταται επίσης και στην ικανότητα του να αναστέλλει την οξειδωση των λιποπρωτεϊνών. Το κόκκινο κρασί αποτελεί την κύρια πηγή πολυφαινολών στη Μεσογειακή διατροφή, οι οποίες περιορίζουν την τοξική δράση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου (reactive oxygen species-ROS) και εμποδίζουν την ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας. Είναι γνωστό ότι αυξημένα επίπεδα ROS οδηγούν στην οξειδωση μικρών και πυκνών μορίων LDL (Yokohama, 2004). Η οξειδωμένη

LDL(ox-LDL) συμβάλλει στη μετατροπή των μακροφάγων σε αφρώδη κύτταρα που επικάθονται στο ενδοθηλιακό τοίχωμα και συμβάλλουν στο σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας, εμποδίζοντας την ομαλή ροή του αίματος (Holvoet et al., 1998). Το κόκκινο κρασί είναι ικανό να αναστείλει την οξείδωση της LDL αλλά και της HDL. Η οξείδωση της HDL δεν επιτρέπει τη μεταφορά χοληστερόλης από τα κύτταρα στο ήπαρ, με άμεσο αποτέλεσμα τη συσσώρευση της στους ιστούς και την επέκταση της αθηρωματικής πλάκας (Morel, 1994). Έτσι επώαση μακροφάγων της σειράς J774.A1 με κόκκινο κρασί (0,2mg αιθανόλης/ml) ανέστειλλε την οξείδωση της LDL και της HDL από το χαλκό (2μM). Ως μέτρο αναστολής χρησιμοποιήθηκε η μείωση του σχηματισμού συζευγμένων διενίων και ενεργών ουσιών θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARS- thiobarbituric-acid-reactive-substance). Η οξείδωση της HDL συνοδεύτηκε από μείωση συζευγμένων διενίων κατά 78,9% και από μείωση της παραγωγής TBARS κατά 81,7% ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά για την LDL ήταν 85,7% και 96,5% (Rifici et al., 1999).

Αν ληφθεί υπόψη ότι το κρασί καταναλώνεται κυρίως κατά τη διάρκεια των γευμάτων, η προστατευτική του δράση έναντι των λιποπρωτεϊνών δικαιολογεί τη μείωση του μεταγευματικού οξειδωτικού στρες. Πιο συγκεκριμένα, η κατανάλωση γεύματος υψηλού σε λιπαρά επάγει την παραγωγή ελεύθερων ριζών και την οξείδωση των λιπιδίων και καταστέλλει τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς (Natella et al., 2002). Αυτή η έλλειψη ισορροπίας χαρακτηρίζεται ως οξειδωτικό στρες. Το κόκκινο κρασί είναι ικανό να αμβλύνει τέτοιου είδους μεταβολές, αντισταθμίζοντας την προοξειδωτική επίδραση του γεύματος. Πχ. Μέτρηση οξειδωμένων λιπιδίων στο πλάσμα έδειξε ότι ήταν 1,5φορά υψηλότερα στο γκρουπ ελέγχου αναφορικά με το γκρουπ που είχε καταναλώσει 300mg διηθήματος από σταφύλι πλούσιο σε ανθοκυανίνες (Natella et al., 2002) (βλ. διάγραμμα 6.1).

Διάγραμμα 6.1-επίπεδα υπεροξειδίων των λιπιδίων σε κατάσταση νηστείας και μεταγευματικά

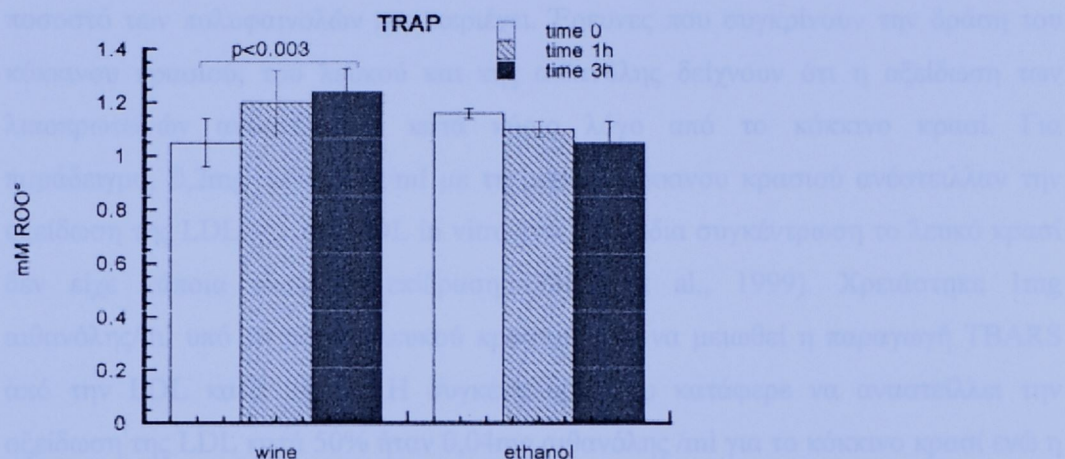


Μεταβολή της συγκέντρωσης των lipid hydroperoxides (pmol/ml πλάσματος) στην ομάδα ελέγχου (αριστερά) και στην ομάδα που είχε καταναλώσει το διήθημα των ανθοκυανινών (baseline:νηστεία, 1 ώρα και 3 ώρες κατόπιν της κατανάλωσης)

(Natella et al. Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans. J Agric Food Chem 2002; 50:7720-7725)

Επίσης, αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος κατά τη μεταγευματική φάση παρατηρήθηκε μόνο στην περίπτωση που το γεύμα συνοδευόταν απ' αυτό το διήθημα. Σε προγενέστερη έρευνα των ίδιων είχε παρατηρηθεί ότι 400ml κόκκινου κρασιού προκαλούν σημαντική αύξηση της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος μεταγευματικά (βλ. διάγραμμα 6.2), η οποία συνδέεται με αυξημένη αντίσταση της LDL στην οξείδωση και με αναστολή της μείωσης των επιπέδων των αντιοξειδωτικών στο πλάσμα (πχ α-τοκοφερόλη) (Natella et al., 2001). Αντιθέτως πρόσληψη ίδιας ποσότητας αιθανόλης δεν κατάφερε να περιορίσει τη μεταγευματική παραγωγή ελευθέρων ριζών, με αποτέλεσμα τη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Διάγραμμα 6.2-αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος κατόπιν κατανάλωσης αιθανόλης και κόκκινου κρασιού



Χρονοεξαρτώμενη μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος μετά την κατανάλωση του ίδιου γεύματος, παρουσία αιθανόλης ή κόκκινου κρασιού. Η οξείδωση έγινε παρουσία AAPH και μετρήθηκε η ικανότητα του πλάσματος για εκκαθαρισμό των ελεύθερων ριζών (mM ROO⁻).

(Natella et al. Red wine mitigates the postprandial increase of LDL susceptibility to oxidation. Free Radical Biology&Medecine. 2001; 30(9):1036-1044)

Στις ενότητες που ακολουθούν αναλύεται η επίδραση του κόκκινου κρασιού στην οξείδωση. Αρχικά εξηγείται ο ρόλος των πολυφαινολών και πώς επηρεάζουν την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών και κατόπιν γίνεται αναφορά για την προοξειδωτική επίδραση του αλκοόλ και για το μηχανισμό μέσω του οποίου επάγει την παραγωγή ελευθέρων ριζών. Τέλος, υπάρχει μία σύντομη ενότητα που δεν αφορά την οξείδωση αλλά τη σχέση μεταξύ του αλκοόλ και των επιπέδων της HDL.

A. ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ

Αντιοξειδωτική δράση πολυφαινολών in vitro

Ο αντιοξειδωτικός ρόλος του κόκκινου κρασιού αποδίδεται στο υψηλό ποσοστό των πολυφαινολών που περιέχει. Έρευνες που συγκρίνουν την δράση του κόκκινου κρασιού, του λευκού και της αιθανόλης δείχνουν ότι η οξείδωση των λιποπρωτεϊνών αναστέλλεται κατά κύριο λόγο από το κόκκινο κρασί. Για παράδειγμα, 0,2mg αιθανόλης/ml με τη μορφή κόκκινου κρασιού ανέστειλλαν την οξείδωση της LDL και της HDL in vitro ενώ στην ίδια συγκέντρωση το λευκό κρασί δεν είχε κάποια ιδιαίτερη επίδραση (Rifici et al., 1999). Χρειάστηκε 1mg αιθανόλης/ml υπό τη μορφή λευκού κρασιού για να μειωθεί η παραγωγή TBARS από την LDL κατά 84,1%. Η συγκέντρωση που κατάφερε να αναστείλλει την οξείδωση της LDL κατά 50% ήταν 0,04mg αιθανόλης /ml για το κόκκινο κρασί ενώ η αντίστοιχη συγκέντρωση για το λευκό κρασί ήταν 0,7mg αιθανόλης /ml (Rifici et al., 1999). Κάτι τέτοιο αποδεικνύει ότι η ανασταλτική δράση του κρασιού δεν οφείλεται στο αλκοόλ αλλά στο φαινολικό του περιεχόμενο καθώς το ποσοστό αλκοόλ κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα για το κόκκινο και το λευκό κρασί, όχι όμως και αυτό των πολυφαινολών. Αντίστοιχα, οι Serafini et al., παρατήρησαν ότι και τα δύο είδη κρασιού παρουσίασαν αντιοξειδωτική δράση in vitro (απουσία αλκοόλ) αλλά το κόκκινο κρασί με συγκέντρωση πολυφαινολών $363 \pm 48 \text{ mg/L}$ ήταν πολύ πιο δραστικό ($40,2 \text{ mmol}$ κατεστραμμένων ελεύθερων ριζών/L κρασιού) σε σχέση με το λευκό ($1,9 \text{ mmol}$ κατεστραμμένων ελεύθερων ριζών/L κρασιού) το οποίο είχε συγκέντρωση πολυφαινολών $31 \pm 1 \text{ mg/L}$ (Serafini et al., 1998). Μεταγενέστερη έρευνα των ίδιων με διάφορα ροφήματα πλούσια σε πολυφαινόλες (κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλ, πράσινο και μαύρο τσάι) έδειξε ότι ο βαθμός αναστολής της οξείδωσης της LDL ήταν ανάλογος του φαινολικού περιεχομένου (Serafini et al., 2000) (βλ. πίνακα 6.1).

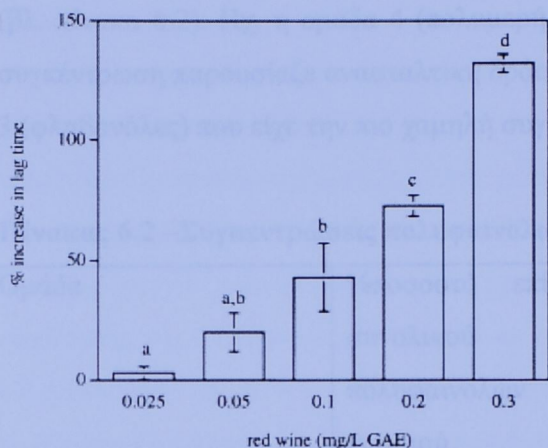
Πίνακας 6.1-Οξείδωση LDL από διάφορα ροφήματα

	AAPH		Μεθυμυογλοβίνη/H ₂ O ₂	
	QE	PnA oxidized(%)	QE	PnA oxidized(%)
Κόκκινο κρασί	3,0±0,24	39,5±0,3	0,6±0,02	56,1±0,6
Πράσινο τσάι	2,5±0,03	60,4±0,3	0,4±0,02	49,9±0,7
Μαύρο τσάι	1,1±0,07	71,3±0,2	0,2±0,01	65,0±0,5
Λευκό κρασί	0,2±0,01	98,0±0,2	0,05±0,01	99,0±0,5

Χρησιμοποιήθηκε το ίδιο ποσό από όλα τα ροφήματα για οξείδωση της LDL από 0,5μL AAPH (2-2'-azobis(2, aminopropane) hydrochloride) ή 0,1μL μεθυμυογλοβίνης/H₂O₂. Η οξείδωση εκφράζεται ως ποσοστό %οξειδωμένου PnA (parinaric acid) (100% είναι τα επίπεδα οξειδωμένου PnA στην ομάδα ελέγχου, απουσία των ροφημάτων).(Serafini et al. inhibition of human LDL lipid peroxidation by phenol-rich beverages and their impact on plasma total antioxidant capacity in humans. J Nutr Biochem 2000; 11:585-590)

Σύγκριση μεταξύ κόκκινου κρασιού, αιθανόλης και κόκκινου κρασιού χωρίς το φαινολικό του περιεχόμενο έδειξε ότι η αναστολή της οξείδωσης της LDL in vitro απαιτεί την παρουσία των πολυφαινόλων και όχι του αλκοόλ. Η % επιμήκυνση του lag time (χρόνος σχηματισμού συζευγμένων διενίων-μέτρο αναστολής της οξείδωσης) (βλ. διάγραμμα 6.3) αλλά και η ελάττωση των TBARS ήταν δοσοεξαρτώμενες με την αιθανόλη και το κρασί χωρίς τις πολυφαινόλες να μην έχουν κάποια ιδιαίτερη επίδραση (Kerry& Abbey, 1997).

Διάγραμμα 6.3-δοσοεξαρτώμενη αύξηση του lag time από το κόκκινο κρασί



Οξείδωση LDL (50mg protein/l) από χαλκό (5μ M) και αύξηση του lag time από διάφορες ποσότητες κόκκινου κρασιού (μέτρηση σε ανάλογα γαλλικού οξέος, mg/l). (Kerry&Abbey. Red wine and fractionated phenolic compounds prepared from red wine inhibit LDL oxidation in vitro. Atherosclerosis; 1997 (135): 93-102)

Οι Miyagi et al. μελέτησαν την επίδραση του κόκκινου και λευκού κρασιού, μύρας και χυμού από σταφύλι στην in vitro οξείδωση της LDL από χαλκό (Miyagi et al.,1997). Βρήκαν ότι η αναστολή πραγματοποιείται μόνο από το κόκκινο κρασί και το χυμό από σταφύλι, αποδεικνύοντας ότι υπεύθυνες είναι οι πολυφαινόλες, οι οποίες βρίσκονται σε πολύ μικρότερα ποσοστά στη μύρα και το λευκό κρασί. Αντίστοιχα, οι Stein et al. παρατήρησαν ότι χυμός από σταφύλι μπορεί να βελτιώσει την ενδοθηλιακή λειτουργία, εφόσον κατάφερε να αυξήσει τον lag time κατά 34,5%, κάνοντας έτσι την LDL πιο ανθεκτική στην οξείδωση (Stein et al., 1999).

Πολυφαινόλες που παρουσιάζουν πιο ισχυρή αντιοξειδωτική δράση

Θεωρώντας δεδομένο τον αντιοξειδωτικό ρόλο των πολυφαινολών, τουλάχιστον in vitro, μπορεί να διερευνηθεί ποια κατηγορία είναι η πιο δραστική. Διαχωρισμός των πολυφαινολών σε 4 ομάδες έδειξε ότι η πιο δραστική είναι η ομάδα που περιλαμβάνει κατεχίνες και μονομερή ανθοκυανινών, ακολουθεί η ομάδα των φαινυλοξέων ενώ τα πολυμερή των ανθοκυανινών και οι φλαβονόλες έχουν πιο μικρή επίδραση. Όλες οι ομάδες προκάλεσαν επιμήκυνση του lag time και ελάττωση του σχηματισμού TBARS αλλά η πιο ισχυρή ήταν η ομάδα με τις κατεχίνες και τα μονομερή των ανθοκυανινών (Kerry& Abbey, 1997). Οι συγκεντρώσεις των πολυφαινολών ήταν αντίστοιχες με αυτές που υπάρχουν στο κόκκινο κρασί αλλά δεν

υπήρξε απόλυτη συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων και του βαθμού αναστολής (βλ. πίνακα 6.2). Πχ. η ομάδα 4 (πολυμερή ανθοκυανινών) που είχε την πιο υψηλή συγκέντρωση παρουσίαζε ανασταλτική δράση στον ίδιο περίπου βαθμό με την ομάδα 3 (φλαβονόλες) που είχε την πιο χαμηλή συγκέντρωση στο κρασί

Πίνακας 6.2 –Συγκεντρώσεις πολυφαινολών και αντιοξειδωτική ικανότητα

Ομάδα	%ποσοστό επί του συνολικού ποσού πολυφαινολών του κρασιού	Φθίνουσα ταξινόμηση ανάλογα με:	
		Συγκέντρωση πολυφαινολών στο κρασί	Αντιοξειδωτική ικανότητα
1. Φαινολοξέα	29±4%	4	2
2.Κατεχίνες&μονομερή ανθοκυανινών	25±4%	1	1
3.Φλαβονόλες	14±1%	2	4
4.πολυμερή ανθοκυανινών	33±3%	3	3

Ως 100% θεωρείται το σύνολο των πολυφαινολών του κρασιού. Με μειούμενη αντιοξειδωτική δράση οι ομάδες ταξινομούνται 2>1>4>3. Με μειούμενη συγκέντρωση τους στο κόκκινο κρασί ταξινομούνται ως εξής : 4>1>2>3.

Οι Rifici et al. παρατήρησαν ότι η αντιοξειδωτική δράση του κόκκινου κρασιού οφείλεται κατά κύριο λόγο στην κατεχίνη και την επικατεχίνη. Η αναστολή ήταν ανάλογη με τις συγκεντρώσεις των συστατικών στο κόκκινο κρασί: έτσι η κατεχίνη (1,32μmol/l) ανέστειλλε την οξείδωση της LDL κατά 83,2%, η επικατεχίνη (0,56μmol/l) κατά 60,6% ενώ συστατικά με μικρότερες συγκεντρώσεις (κερκετίνη 0,04μmol/l, ρεσβερατρόλη 0,012μmol/l) δεν είχαν κάποια ιδιαίτερη επίδραση (Rifici et al., 2002).

Η χαμηλή δραστικότητα της ρεσβερατρόλης οφείλεται στη χαμηλή της συγκέντρωση;

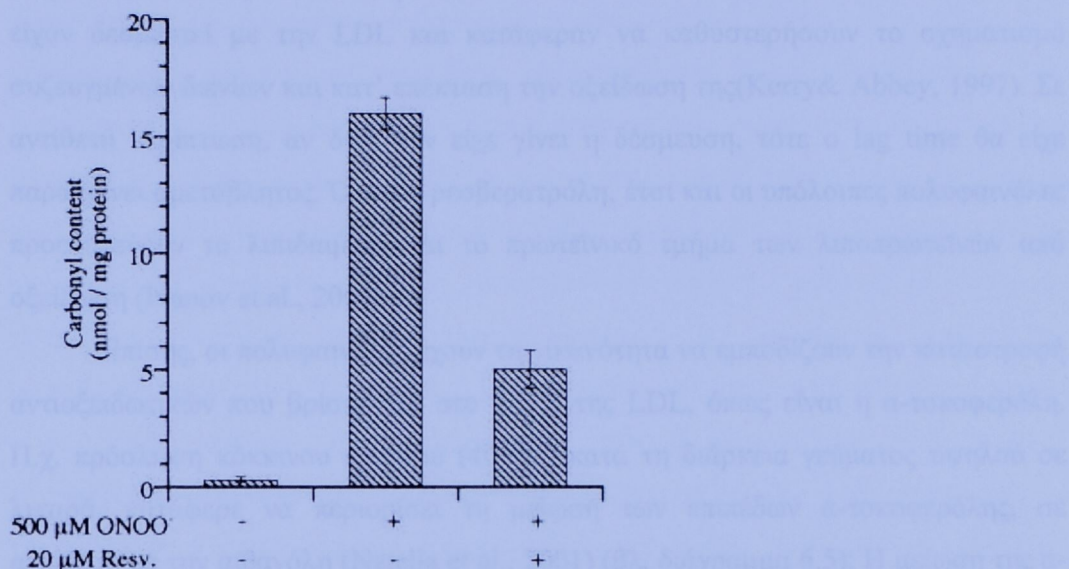
Η χαμηλή δραστικότητα της ρεσβερατρόλης εξηγείται εν μέρει από τη χαμηλή της συγκέντρωση, καθώς πιο υψηλές ποσότητες μπορούν να αναστείλλουν την οξείδωση. Έτσι συγκέντρωση ρεσβερατρόλης ίση με 1 $\mu\text{mol/l}$ κατάφερε να εμποδίσει την *in vitro* οξείδωση της LDL κατά 27,8% (Rifici et al., 2002). Οι Sanchez-Moreno et al. βρήκαν ότι η ρεσβερατρόλη σε συγκέντρωση 1,1 $\mu\text{mol/l}$ προκαλεί αναστολή της οξείδωσης της LDL παρουσία χαλκού σε επίπεδα ανάλογα με 1,38 $\mu\text{mol/l}$ κατεχίνης (Sanchez-Moreno et al., 2000). Οι Belguendouz et al. αναφέρουν ότι η trans-ρεσβερατρόλη προκαλεί δοσοεξαρτώμενη αναστολή στην οξείδωση της LDL καθώς σε συγκεντρώσεις 0,5, 1, 1,5 μM προκάλεσε επιμήκυνση του lag time, καθυστερώντας τον σχηματισμό συζευγμένων διενίων (Belguendouz et al., 1997).

Προκειμένου να διερευνηθούν οι διαφορές μεταξύ των ερευνών θα πρέπει να ληφθεί υπόψη όχι μόνο η συγκέντρωση της ρεσβερατρόλης αλλά και ο μηχανισμός δράσης της. Γενικά, η προστασία του μορίου της LDL γίνεται με δύο τρόπους: ο ένας συνίσταται στη χυλοποίηση του χαλκού και ο άλλος στον εκκαθαρισμό ελεύθερων ριζών που δημιουργούνται παρουσία ισχυρών οξειδωτικών μέσων (free radical generator) όπως είναι το AAPH (2-2' azobis (2 amidinopropane) dihydrochloride) (Fremont et al., 1999). Η ρεσβερατρόλη είναι πιο αποτελεσματική στη χυλοποίηση του χαλκού και λιγότερο αποτελεσματική στον εκκαθαρισμό ελευθέρων ριζών. Ενδεικτικά 1 μM ρεσβερατρόλης επιμήκυνε το lag time κατά 3,4 φορές παρουσία χαλκού και μόνο κατά 1,4 φορά παρουσία AAPH (Belguendouz et al., 1997). Αντιθέτως τα φλαβονοειδή (κατεχίνη, επικατεχίνη) δρουν κατά κύριο λόγο ως εκκαθαριστές ελεύθερων ριζών (Fremont et al., 1999). Έτσι λιποπρωτεϊνική οξείδωση που έχει γίνει παρουσία AAPH αναστέλλεται κυρίως από τα φλαβονοειδή και σε μικρότερο βαθμό από τη ρεσβερατρόλη. Το αντίθετο συμβαίνει όταν η οξείδωση γίνεται παρουσία χαλκού. Το γεγονός ότι διήθημα από κόκκινο κρασί αναστέλλει την οξείδωση της LDL στον ίδιο περίπου βαθμό, ανεξάρτητα από το οξειδωτικό μέσο (χαλκός, AAPH) είναι αναμενόμενο και εξηγείται από την ύπαρξη διαφόρων ομάδων πολυφαινόλων και τη συνεργιστική τους δράση (Fremont et al., 1999).

Η αναστολή της οξείδωσης της LDL από τη ρεσβερατρόλη, είτε μέσω της χυλοποίησης του χαλκού, είτε μέσω εκκαθαρισμού ελευθέρων ριζών μεταφράζεται σε προστασία του πρωτεϊνικού αλλά και του λιπιδαιμικού τμήματος του μορίου της LDL από οξειδωτικές μεταβολές. Πιο συγκεκριμένα, η ρεσβερατρόλη έχει την ικανότητα

να συνδέεται με τις λιποπρωτεΐνες in vitro (Belguendouz et al., 1997). Μάλιστα, η ικανότητα της είναι ανάλογη του λιπιδαιμικού περιεχομένου ($HDL < LDL < VLDL$) αποδεικνύοντας τον λιπόφιλο χαρακτήρα της (Belguendouz et al., 1998). Αυτό σημαίνει ότι συνδέεται πιο εύκολα με τις λιποπρωτεΐνες που έχουν υψηλό ποσοστό λίπους και μικρότερο πρωτεϊνών: έτσι παρουσιάζει μεγαλύτερη ικανότητα σύνδεσης με τις VLDL, ακολουθεί η LDL και τέλος η HDL. Δέσμευση της ρεσβερατρόλης στο μόριο της LDL εμποδίζει την οξειδωση των λιπιδίων, όπως φαίνεται και από έρευνα των Brito et al.: προσθήκη ρεσβερατρόλης (2, 4, 6 μM) εμπόδισε την οξειδωση των λιπιδίων από τη φερυμογλοβίνη καθώς ελάττωσε σε σημαντικό βαθμό το σχηματισμό συζευγμένων διενίων (δείκτης οξειδωσης λιπιδίων) (Brito et al., 2002). Επίσης η ρεσβερατρόλη συνδέεται και με το πρωτεϊνικό τμήμα των λιποπρωτεϊνών, πιθανώς μέσω υδρογονοδεσμών. Η ρεσβερατρόλη έχει μεγαλύτερη ικανότητα να δεσμεύεται στις λιποπρωτεΐνες παρά σε πρωτεΐνες του πλάσματος (5,5mmol ρεσβερατρ./mg λιποπρωτεϊν. έναντι 2,2mmol ρεσβερατρ./mg πρωτεϊνών πλάσματος) (Belguendouz et al., 1998). Μ' αυτόν τον τρόπο προστατεύει και το πρωτεϊνικό τμήμα της LDL (απολιποπρωτεΐνη Β): σε συγκέντρωση 20 μM ανέστειλλε έως και 70% το σχηματισμό καρβονυλικών ομάδων (δείκτης πρωτεϊνικής οξειδωσης) από $ONOO^-$ (peroxynitrite) (Brito et al., 2002) (βλ. διάγραμμα 6.4). Το $ONOO^-$ προέρχεται από την αντίδραση μεταξύ H_2O_2 και NO και επάγει την οξειδωση διαφόρων μορίων (πρωτεΐνες, λίπη, υδατάνθρακες, DNA κ.α.) (Arteel et al., 1999). Η ρεσβερατρόλη εμπόδισε τη δράση του πιθανώς μέσω της δημιουργίας φαινοξυλικών ριζών (Brito et al., 2002).

Διάγραμμα 6.4- αναστολή οξείδωσης LDL από τη ρεσβερατρόλη



Προστατευτική δράση ρεσβερατρόλης στην *in vitro* οξείδωση της απολιποπρωτεΐνης της LDL από ONOO⁻. Σχηματισμός καρβονυλικών ομάδων στο πρωτεϊνικό τμήμα του μορίου παρουσία και απουσία 20μM ρεσβερατρόλης.

(Brito et al. The interaction of resveratrol with ferrylmyoglobin and peroxynitrite; protection against LDL oxidation. Free Radical Research 2002;36(6):621-631)

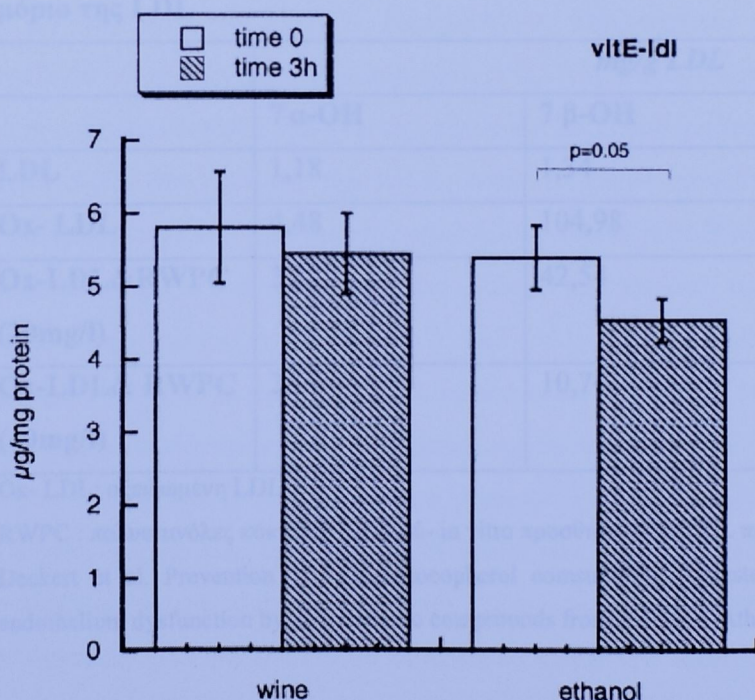
Μηχανισμός δράσης πολυφαινολών

Η σύνδεση των λιποπρωτεϊνών με τις πολυφαινόλες είναι ένα γενικότερο φαινόμενο και δεν αποτελεί ξεχωριστό τρόπο δράσης μόνο για τη ρεσβερατρόλη. Οι πολυφαινόλες του κόκκινου κρασιού έχουν την ικανότητα να συνδέονται με τις λιποπρωτεΐνες και να τις κάνουν πιο ανθεκτικές στην οξείδωση. Επώαση πλάσματος χωρίς λιποπρωτεΐνες με κόκκινο κρασί (0-2,5% αιθανόλη) και αντίστοιχη επώαση απομονωμένης LDL και απομονωμένης HDL έδειξε ότι η HDL και η LDL είχαν διπλάσια αντιοξειδωτική ικανότητα (όπως μετρήθηκε από ανάλογα trolox) σε σχέση με το πλάσμα χωρίς λιποπρωτεΐνες, η οποία αυξανόταν βαθμιαία με υψηλότερες ποσότητες κρασιού (Ivanov et al., 2001). Κάτι τέτοιο αποδεικνύει ότι η σύνδεση των συστατικών του κόκκινου κρασιού με τις λιποπρωτεΐνες είναι απαραίτητη, καθιστώντας τις πιο ανθεκτικές στην οξείδωση. Αντίστοιχα, στο πείραμα των Kerry et al. έγινε προεπώαση του πλάσματος με κόκκινο κρασί (75mEq γαλλικού οξέος) και κατόπιν απομόνωση της LDL. Η μείωση του lag time (κατά 60%) που παρατηρήθηκε

στην απομονωμένη LDL κατόπιν προσθήκης χαλκού απέδειξε ότι οι πολυφαινόλες είχαν δεσμευτεί με την LDL και κατάφεραν να καθυστερήσουν το σχηματισμό συζευγμένων διενίων και κατ' επέκταση την οξείδωση της (Kerry & Abbey, 1997). Σε αντίθετη περίπτωση, αν δηλ. δεν είχε γίνει η δέσμευση, τότε ο lag time θα είχε παραμείνει αμετάβλητος. Όπως η ρεσβερατρόλη, έτσι και οι υπόλοιπες πολυφαινόλες προστατεύουν το λιπιδαιμικό και το πρωτεϊνικό τμήμα των λιποπρωτεϊνών από οξείδωση (Ivanov et al., 2001).

Επίσης, οι πολυφαινόλες έχουν την ικανότητα να εμποδίζουν την καταστροφή αντιοξειδωτικών που βρίσκονται στο μόριο της LDL, όπως είναι η α-τοκοφερόλη. Π.χ. πρόσληψη κόκκινου κρασιού (400ml) κατά τη διάρκεια γεύματος υψηλού σε λιπαρά, κατάφερε να περιορίσει τη μείωση των επιπέδων α-τοκοφερόλης, σε αντίθεση με την αιθανόλη (Natella et al., 2001) (βλ. διάγραμμα 6.5). Η μείωση της α-τοκοφερόλης εξηγείται από τη μετακίνηση της από την LDL στα χυλομικρά και τις VLDL.

Διάγραμμα 6.5-επίπεδα α-τοκοφερόλης ανάλογα με πρόσληψη κόκκινου κρασιού ή αιθανόλης



Η μεταγευματική μείωση των επιπέδων της α-τοκοφερόλης ήταν μεγαλύτερη με την κατανάλωση αιθανόλης (από 5,4μg/mg πρωτεΐνης πριν το γεύμα σε 4,6μg/mg πρωτεΐνης μετά από 3 ώρες) σε σχέση με την κατανάλωση κρασιού (από 5,8μg/mg πρωτεΐνης πριν το γεύμα σε 5,5μg/mg πρωτεΐνης μετά από 3 ώρες). (Natella et al. Red wine mitigates the postprandial increase of LDL susceptibility to oxidation. Free Radical Biology & Medicine. 2001; 30(9):1036-1044).

Επιπρόσθετα, η εξαφάνιση ενδογενούς α-τοκοφερόλης οδηγεί στην ανίχνευση οξειδωμένων μορφών χοληστερόλης (οξυστερολών: 7-α-υδροξυστερόλη, 7-β-υδροξυστερόλη, 7-κετοστερόλη), οι οποίες είναι τοξικές και επάγουν τον κυτταρικό θάνατο (Spyridopoulos et al., 2001). Οι πολυφαινόλες όμως έχουν τη δυνατότητα να περιορίσουν την παραγωγή οξυστερολών καθώς αναστέλουν την καταστροφή της α-τοκοφερόλης: χορήγηση μίγματος πολυφαινολών κόκκινου κρασιού σε διάφορες ποσότητες, προκάλεσε δοσοεξαρτώμενη αναστολή της παραγωγής οξειδωμένων μορφών χοληστερόλης (βλ. πίνακα 6.3), προστατεύοντας την α-τοκοφερόλη (Deckert et al., 2002). Μάλιστα, η υψηλότερη δόση (40mg/l) επέτρεψε την ανίχνευση α-τοκοφερόλης ακόμα και 24 ώρες μετά την επώαση με CuSO₄. Αναγέννηση της α-τοκοφερόλης ή οξείδωση των πολυφαινολών αντί αυτής είναι κάποιοι από τους πιθανούς προστατευτικούς μηχανισμούς των πολυφαινολών (Deckert et al., 2002).

Πίνακας 6.3 –Επίδραση πολυφαινολών στο σχηματισμό υδροξυστερολών στο μόριο της LDL

	<i>mg/g LDL</i>		
	7 α-OH	7 β-OH	7-κέτο
LDL	1,18	1,34	1,65
Ox- LDL	4,48	104,98	168,95
Ox-LDL&RWPC (20mg/l)	3,87	42,54	73,64
Ox-LDL& RWPC (40mg/l)	2,67	10,74	20,20

Ox- LDL: οξειδωμένη LDL

RWPC : πολυφαινόλες κόκκινου κρασιού- in vitro προσθήκη στην LDL πριν την οξείδωση

Deckert et al. Prevention of LDL α-tocopherol consumption, cholesterol oxidation, and vascular endothelium dysfunction by polyphenolic compounds from red wine. Atherosclerosis 2002;165:41-50.

Η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών in vitro επιβεβαιώνεται και in vivo;

Από τα αποτελέσματα όλων των παραπάνω ερευνών εξάγεται το συμπέρασμα ότι οι πολυφαινόλες έχουν σημαντικό αντιοξειδωτικό ρόλο in vitro και μπορούν να προστατεύουν τα μόρια των λιποπρωτεϊνών. Εν τούτοις το φαινολικό περιεχόμενο του κρασιού δεν αποτελεί από μόνο του δείκτη αντιαθηρωματικής δράσης. Η αποτελεσματικότητα των πολυφαινολών in vivo εξαρτάται από το ποσό που απορροφάται και από την επακόλουθη παραγωγή ενεργών μεταβολιτών τους. Π.χ. όσον αφορά τη ρεσβερατρόλη έχει επιβεβαιωθεί η δέσμευση της από την LDL και έχει προσδιοριστεί ο τρόπος δράσης της. Ωστόσο η in vivo κατανάλωση κόκκινου κρασιού προσφέρει χαμηλά ποσά ρεσβερατρόλης (0,5-10mg/l) (Fremont, 2000R). Ακόμα και αν απορροφηθεί όλο το ποσό, η συγκέντρωση που τελικά θα φτάσει στο πλάσμα θα είναι πιθανώς κάτω από το όριο της διαλυτότητας (Belguendouz et al., 1997). Έτσι θα μπορεί να διαφύγει από το πλάσμα, εκτός αν καταφέρει να συνδεθεί με τις λιποπρωτεΐνες. Εξάλλου, η δραστική μορφή της ρεσβερατρόλης είναι η trans. Δεν μπορεί να αποκλειστεί το ενδεχόμενο μετατροπής της σε cis μορφή (ισομερίωση) in vivo, περιορίζοντας σημαντικά την αντιοξειδωτική της ικανότητα (Belguendouz et al., 1998). Από την άλλη, οι Kerry&Abbey παρατήρησαν ότι χορήγηση κόκκινου κρασιού με συγκέντρωση πολυφαινολών 0,15mg/l αναλόγων γαλλικού οξέος (gallic acid equivalents-GAE) μείωσε την οξείδωση LDL που διαμεσολαβείται από το χαλκό κατά 60% (επιμήκυνση lag time), όταν το μίγμα προστέθηκε κατευθείαν στην απομονωμένη LDL (in vitro) (Kerry&Abbey, 1997). Αντιθέτως, όταν η χορήγηση του κόκκινου κρασιού έγινε αρχικά στο πλάσμα και κατόπιν απομονώθηκε η LDL και προστέθηκε χαλκός, χρειάστηκαν 75mg/l GAE για να μειωθεί η οξείδωση στον ίδιο βαθμό. Αυτή η μεγάλη διαφορά αποδεικνύει ότι μόνο ένα μικρό ποσοστό των αντιοξειδωτικών του κόκκινου κρασιού συνδέεται με την LDL (περίπου 0,2%).

Σύγκριση μεταξύ κόκκινου κρασιού χωρίς αλκοόλ, πράσινου και μαύρου τσαγιού έδειξε ότι πιο ισχυρό in vitro είναι το κόκκινο κρασί, κάτι που δεν επιβεβαιώθηκε in vivo. Η % αύξηση της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος ήταν μόνο 21% με το κόκκινο κρασί ενώ έφτασε το 40% με το πράσινο τσάι και το 52% με το μαύρο (Serafini et al., 2000). Επιπλέον, η αύξηση αυτή εμφανίστηκε 30' κατόπιν της κατανάλωσης πράσινου τσαγιού αλλά χρειάστηκαν 50' με το κόκκινο κρασί. Η μείωση της δραστικότητας του κρασιού in vivo μπορεί να οφείλεται στη δημιουργία αδιάλυτων συμπλεγμάτων πρωτεϊνών και ταννινών, που

συμβαίνουν μετά την απομάκρυνση της αιθανόλης και περιορίζουν τη βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών (Serafini et al., 2000).

Η απουσία της αιθανόλης πιθανώς να εξηγεί και την παρατηρούμενη διαφορά στη δράση χυμού από σταφύλι in vitro και in vivo. Παρόλο που ο χυμός άμβλυνε την οξειδωση LDL in vitro σε επίπεδα αντίστοιχα με το κόκκινο κρασί, δεν είχε αξιόλογη επίδραση in vivo (Miyagi et al., 1997). Απ' ότι φαίνεται δηλ. τα φλαβονοειδή απορροφώνται πιο αποτελεσματικά από το κρασί παρά από το χυμό. Κι αυτό διότι ορισμένα είναι υδατοδιαλυτά ενώ άλλα γίνονται καθώς αυξάνεται η περιεκτικότητα του κρασιού σε αλκοόλ (Whitehead et al., 1995). Άλλωστε τα φλαβονοειδή στα φρούτα και τα λαχανικά είναι σε πολυμερείς και γλυκοζυλιωμένες μορφές και δεν μπορούν να απορροφηθούν εύκολα. Κατά την επεξεργασία του κρασιού όμως καταβολίζονται σε μονομερείς ενώσεις και παρουσιάζουν έτσι υψηλότερη βιοδιαθεσιμότητα (Miyagi et al., 1997).

In vivo έρευνες

Παρά τους παραπάνω προβληματισμούς, υπάρχουν έρευνες που δείχνουν ότι οι πολυφαινόλες του κόκκινου κρασιού αναστέλλουν την οξειδωση των λιποπρωτεϊνών και in vivo. Έτσι μετά από 2 εβδομάδες χορήγησης κόκκινου κρασιού (375 ml/ημέρα), μίγματος πολυφαινολών σε μορφή κάψουλας (1g/day-αντιστοιχεί σε 375 ml κόκκ.κρασιού/ημέρα) και μίγματος πολυφαινολών διαλυμένες σε άσπρο κρασί (ίδια ποσότητα), προκλήθηκε σημαντική αναστολή της οξειδωσης της LDL: ο lag time αυξήθηκε κατά 17,8' με το κόκκινο κρασί, κατά 14,2' με τις πολυφαινόλες σε μορφή κάψουλας και κατά 11,7' με τις διαλυμένες σε λευκό κρασί (Nigdikar et al., 1998). Επίσης ελαττώθηκε η παραγωγή TBARS, συζευγμένων διενίων και οξειδωμένων λιπιδίων (lipid peroxide) ενώ αυξήθηκε η συγκέντρωση των πολυφαινολών στο πλάσμα και στο μόριο της LDL. Από έρευνα των Chopra et al. βρέθηκε ότι διήθημα από κόκκινο κρασί (1gr/day-αντιστοιχεί σε 375 ml κόκκ.κρασιού/ημέρα) (απουσία αλκοόλ) μείωσε την in vivo οξειδωση της LDL από το χαλκό (επιμήκυνση lag time από 40±11' σε 47±6' μετά από 2 εβδομάδες) (Chopra et al., 2000). Επιπλέον, αντιοξειδωτική δράση in vivo έδειξε συγκεκριμένα η κερκετίνη-κατανάλωση 30mg ημερησίως επιμήκυναν το lag time από 44±11' σε 51±7'.

Οι Serafini et al. υποστηρίζουν ότι η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών in vivo και in vitro σχετίζεται άμεσα με τη συγκέντρωση των

πολυφαινολών. Από πειράματα που έκαναν παρατήρησαν προοδευτική αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος καθώς αυξάνονταν τα επίπεδα των πολυφαινολών στο πλάσμα. 50' μετά την κατανάλωση 113ml κόκκινου κρασιού, η συγκέντρωση των πολυφαινολών, όπως μετρήθηκε σε ανάλογα κερκετίνης (quercetin equivalents-QE), αυξήθηκε κατά 2,98 mg QE/L (Serafini et al.,1998). Η αντίστοιχη αύξηση της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος στα 50' ήταν 159μmol/l μεγαλύτερη απ' ότι πριν την κατανάλωση κόκκινου κρασιού (βλ. πίνακα 6.2). Κάτι τέτοιο βρίσκεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του in vitro πειράματος, όπου αύξηση της τάξης 2,5mg/l κερκετίνης οδήγησε σε αύξηση της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος κατά 140 μmol/l, ενισχύοντας την άποψη ότι η συγκέντρωση των πολυφαινολών στο πλάσμα αποτελεί έναν αξιόπιστο δείκτη της αντιοξειδωτικής του ικανότητας in vivo και in vitro,όχι όμως και τον μοναδικό (Serafini et al.,1998).

Πίνακας 6.4-συγκέντρωση πολυφαινολών και αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος

Χρόνος (min)	TRAP (μmol/L)		Συγκέντρωση πολυφαινολών πλάσματος (mg QE/L)	
	Νερό	Κόκκινο κρασί (χωρίς αλκοόλ)	Νερό	Κόκκινο κρασί (χωρίς αλκοόλ)
0	1130±46	1108±48	6,09±0,74	7,17±0,41
30	1142±25	1157±57	7,07±0,57	8,52±0,80
50	1145±41	1267±56**	7,01±0,54	10,15±1,21*
120	1145±47	1114±51	7,01±0,58	M 8,48±0,93

Κατανάλωση 113ml νερού και μετρήσεις (TRAP, επίπεδα πολυφαινολών) και μετά από 1 εβδομάδα κατανάλωση της ίδιας ποσότητας κόκκινου κρασιού χωρίς αλκοόλ και επανάληψη των μετρήσεων. Η κατανάλωση αφορούσε τα ίδια άτομα (control του εαυτού τους). TRAP: total radical-trapping antioxidant parameter εκφράζει τα μmol εκκαθαρισμού ριζών περοξειδίων από 1 L νερού ή κρασιού.

*Στατιστικά σημαντικά ($p<0,05$) από τη χρον. στιγμή 0

** Στατιστικά σημαντικά ($p<0,004$) από τη χρον. στιγμή 0

(Serafini et al. Alcohol free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. J Nutr 1998; 128: 1003-1007)

Συνοψίζοντας, οι πολυφαινόλες του κόκκινου κρασιού παρουσιάζουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση *in vitro*. Συνδέονται με την LDL και την HDL και προστατεύουν το πρωτεϊνικό και το λιπώδες τμήμα τους από οξείδωση. Δρουν ως εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών (κυρίως τα φλαβονοειδή και δευτερευόντως η ρεσβερατρόλη) και εμποδίζουν την καταστροφή των αντιοξειδωτικών, όπως η ατοκοφερόλη. Ωστόσο, η απορρόφηση τους και ο μεταβολισμός καθορίζουν την αποτελεσματικότητά τους *in vivo*. Οι διαφορετικές ποσότητες πολυφαινολών στο κρασί, η συνεργιστική τους δράση, η συγκέντρωσή τους στο πλάσμα κατόπιν της πρόσληψης κόκκινου κρασιού, η αλληλεπίδραση με θρεπτικά συστατικά, η χημική φύση της φαινόλης ή του οξειδωτικού μέσου είναι κάποιοι από τους παράγοντες που θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής τους δράσης (Serafini et al., 2000). Κατ' επέκταση αυτό που μπορούμε να πούμε είναι ότι η αντιοξειδωτική δράση του κρασιού οφείλεται μεν στις πολυφαινόλες που περιέχει αλλά απαιτείται περαιτέρω έρευνα προκειμένου να διαπιστωθεί αν τελικά η κατανάλωση του μπορεί να καταστείλει την αθηρωμάτωση και να αναστρέψει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.

B ΑΛΚΟΟΛ

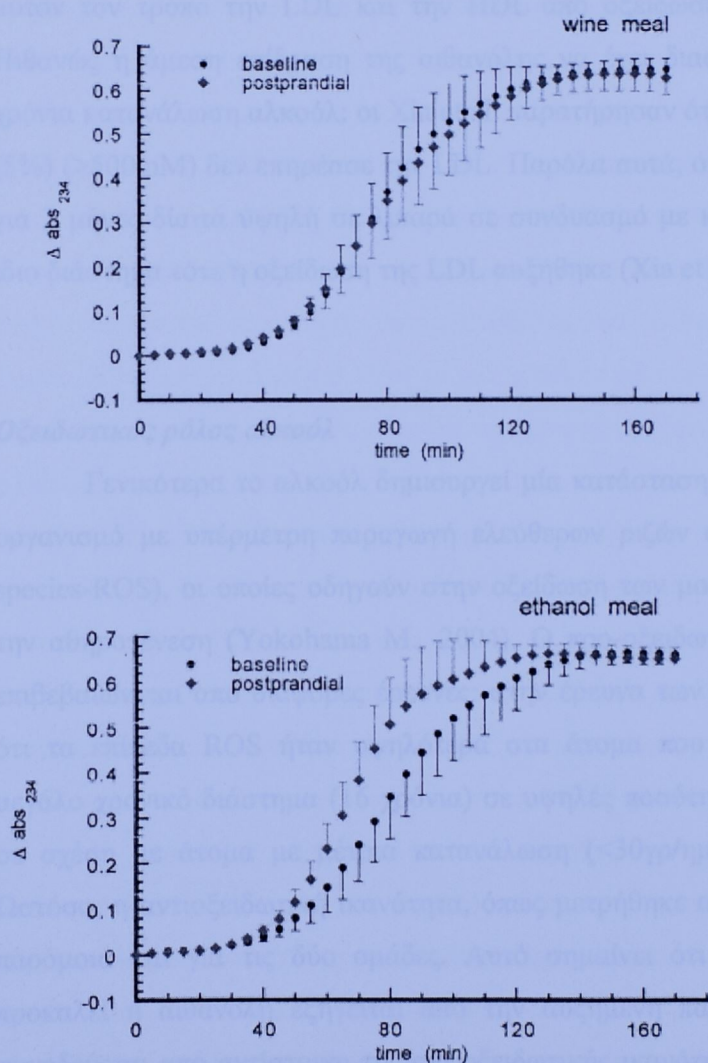
Μέχρι στιγμής αναφερθήκαμε στις πολυφαινόλες. Δε θα πρέπει να αγνοηθεί όμως ότι το συστατικό του κρασιού με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση είναι το αλκοόλ. Ανεξάρτητα λοιπόν από τον τρόπο δράσης των πολυφαινολών τους, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη και ο ρόλος του αλκοόλ. Εικάζεται ότι η αιθανόλη συμβάλλει στην καλύτερη απορρόφηση των πολυφαινολών, ενισχύοντας την αντιοξειδωτική τους δράση (Miyagi et al., 1997). Ωστόσο, η χρόνια κατανάλωση αλκοόλ συνδέεται με καταστολή των αντιοξειδωτικών μηχανισμών και παραγωγή ελεύθερων ριζών και περοξειδίων, που έχουν αντίθετα αποτελέσματα από αυτά των πολυφαινολών (Trotti et al., 2001). Επομένως, η τελική επίδραση του κόκκινου κρασιού στην οξείδωση των λιποπρωτεϊνών θα είναι η συνισταμένη μεταξύ των ιδιοτήτων των πολυφαινολών και της αιθανόλης.

Επίδραση του αλκοόλ στην LDL

Προς το παρόν, τα δεδομένα για την επίδραση της αιθανόλης στην LDL είναι αντιφατικά και δεν είναι δυνατή η εξαγωγή αξιόλογων συμπερασμάτων. Υπάρχουν έρευνες που δείχνουν ότι το αλκοόλ επάγει το σχηματισμό περοξειδίων των λιπιδίων και την οξείδωση της LDL, όπως επιβεβαιώνεται από την ελάττωση του lag time

(Navder et al., 1999). Οι Natella et al. παρατήρησαν ότι η πρόσληψη αιθανόλης κατά τη διάρκεια του γεύματος (400ml, 12%) ενίσχυσε την ex vivo οξείδωση της LDL μεταγευματικά, γεγονός που αντιστράφηκε όταν η πρόσληψη αιθανόλης ήταν υπό τη μορφή κόκκινου κρασιού (Natella et al., 2001).

Διάγραμμα 6.6-ex vivo λιποπρωτεϊνική οξείδωση



Ex vivo οξείδωση της LDL (50μg/ml) από 5 μM χαλκού. Μετράται ο χρόνος σχηματισμού συζευγμένων διενίων και η απορρόφηση στα 234nm. Στο άνω διάγραμμα είναι η επίδραση του κρασιού και στο κάτω της αιθανόλης. Οι κύκλοι δείχνουν την οξείδωση σε κατάσταση νηστείας και οι ρόμβοι τη μεταγευματική.

Natella et al. Red wine mitigates the postprandial increase of LDL susceptibility to oxidation. Free Radical Biology&Medecine. 2001; 30(9):1036-1044.

Η ενίσχυση σχετίστηκε με την ελάττωση των επιπέδων της α-τοκοφερόλης: η αιθανόλη δεν κατάφερε να αναστείλει τη μεταγευματική μείωση της α-τοκοφερόλης σε αντίθεση με το κόκκινο κρασί. Αυτό δείχνει ότι το αλκοόλ επάγει την οξείδωση της LDL και ότι ο αντιοξειδωτικός ρόλος του κρασιού οφείλεται στις πολυφαινόλες.

Ωστόσο, από την έρευνα των Trevithck et al. η in vitro χορήγηση αιθανόλης (6%) επιμήκυνε το lag time (από 79' σε 98') και μείωσε τον σχηματισμό υπεροξειδίων των λιπιδίων (από $5,9 \pm 0,8 \mu\text{M}$ σε $5,0 \pm 0,5 \mu\text{M}$), προστατεύοντας μ' αυτόν τον τρόπο την LDL και την HDL από οξείδωση (Trevithck et al., 1999). Πιθανώς η άμεση επίδραση της αιθανόλης να έχει διαφορετική επίδραση από τη χρόνια κατανάλωση αλκοόλ: οι Xia et al. παρατήρησαν ότι in vitro χορήγηση αλκοόλ (5%) ($>500\text{mM}$) δεν επηρέασε την LDL. Παρόλα αυτά, όταν ποντικοί ακολούθησαν για 2 μήνες δίαιτα υψηλή σε λιπαρά σε συνδυασμό με κατανάλωση αλκοόλ για το ίδιο διάστημα τότε η οξείδωση της LDL αυξήθηκε (Xia et al., 1998).

Οξειδωτικός ρόλος αλκοόλ

Γενικότερα το αλκοόλ δημιουργεί μία κατάσταση οξειδωτικού στρες για τον οργανισμό με υπέρμετρη παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου (reactive oxygen species-ROS), οι οποίες οδηγούν στην οξείδωση των μορίων της LDL και επάγουν την αθηρογένεση (Yokohama M., 2004). Ο προ-οξειδωτικός ρόλος της αιθανόλης επιβεβαιώνεται από διάφορες έρευνες: στην έρευνα των Trotti et al. παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα ROS ήταν υψηλότερα στα άτομα που κατανάλωναν αλκοόλ για μεγάλο χρονικό διάστημα (16 χρόνια) σε υψηλές ποσότητες (περίπου 233γρ/ημέρα) σε σχέση με άτομα με μέτρια κατανάλωση ($<30\text{γρ/ημέρα}$) (Trotti et al., 2001). Ωστόσο, η αντιοξειδωτική ικανότητα, όπως μετρήθηκε από τα επίπεδα HClO, ήταν παρόμοια και για τις δύο ομάδες. Αυτό σημαίνει ότι το οξειδωτικό στρες που προκαλεί η αιθανόλη εξηγείται από την αυξημένη παραγωγή ROS, η οποία δε συνοδεύεται από αντίστοιχη της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Από τα ευρήματα της έρευνας των Zima et al., άτομα με συστηματικά υψηλή κατανάλωση αλκοόλ παρουσίαζαν πιο υψηλά επίπεδα οξειδωμένης LDL και μεταβολιτών NO (νιτρώδη/νιτρικά) αναφορικά με την ομάδα ελέγχου (απέχοντες από το αλκοόλ), επιβεβαιώνοντας την εκτεταμένη παραγωγή ROS (Zima et al., 2001). Και πάλι οι συγκεντρώσεις των αντιοξειδωτικών (ρετινόλη, α-τοκοφερόλη) ήταν παρεμφερείς και για τις δύο ομάδες, γεγονός που δείχνει ότι η παραγωγή των ROS δεν

αντισταθμίστηκε από ενίσχυση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Η μακροχρόνια χορήγηση αιθανόλης (36% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης) σε ποντικούς αύξησε τα επίπεδα πλάσματος TBARS, ενός δείκτη της οξείδωσης των λιπιδίων και ανέστειλλε την ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (Sun et al., 2001). Παρόλα αυτά, η έρευνα του Porto E. σε ποντικούς έδειξε αύξηση των επιπέδων TBARS μόνο στην περίπτωση που η διαίτα που ακολουθούσαν ήταν χαμηλή σε βιταμίνη E. Αντιθέτως, τα επίπεδα TBARS δε διέφεραν μεταξύ της ομάδας ελέγχου και της ομάδας των ποντικών που κατανάλωσαν την ίδια ποσότητα αλκοόλ αλλά σε συνδυασμό με διαίτα υψηλή σε βιταμίνη E (Porto, 1997). Επομένως, η εμφάνιση οξειδωτικού στρες πιθανώς να μην εξαρτάται μόνο από την κατανάλωση αλκοόλ αυτή καθ' εαυτή αλλά και από τη διαίτα που ακολουθείται.

Επίσης, το αλκοόλ ενισχύει τη δραστικότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως είναι η MnSOD (δισμουτάση υπεροξειδίου του μαγνησίου). Η δράση της έγκειται στην ικανότητα που έχει να μεταβάλλει τα ενδοκυτταρικά επίπεδα ROS, προστατεύοντας κατά κύριο λόγο τα μιτοχόνδρια από οξειδωτικό στρες (Kanbagli et al., 2002). Άμεση χορήγηση αλκοόλ σε ποντικούς (5γρ αιθανολ./kg ΣΒ) όξυνε τη δραστικότητα της MnSOD, η οποία έφτασε στο μέγιστο σημείο της 9 ώρες μετά (Koch et al., 1994). Η μακροχρόνια χορήγηση αλκοόλ αύξησε επίσης την έκφραση της MnSOD, δρώντας σε μεταγραφικό επίπεδο. Ακόμα και όταν μειώθηκαν τα επίπεδα της MnSOD, 20 μέρες μετά, η ενζυματική της δραστικότητα παρέμεινε υψηλή. Η μεταβολή της δραστικότητας της MnSOD κατόπιν χορήγησης αλκοόλ αντιπροσωπεύει έναν ειδικό προσαρμοστικό μηχανισμό σε μία κατάσταση στρες που προκύπτει μετά από την αυξημένη παραγωγή ROS (Koch et al., 1994).

Η παραγωγή οξυστερολών και υδροξειδίων χοληστερόλης αποτελεί μία ακόμη απόδειξη για τον οξειδωτικό ρόλο του αλκοόλ. Πιο συγκεκριμένα, οι οξυστερόλες και τα οξείδια τους είναι τοξικά παράγωγα της οξειδωμένης LDL, που επάγουν τον κυτταρικό θάνατο μέσω της κινητοποίησης ασβεστίου (Spyridopoulos et al., 2001). Η χορήγηση αιθανόλης αυξάνει τα επίπεδα τους, όπως προκύπτει και από την έρευνα των Fujita et al., που έγινε σε σκελετικούς μύες ποντικών (Fujita et al., 2002). Στην έρευνα των Spyridopoulos et al. παρατηρήθηκε ότι το κόκκινο κρασί και διάφορες αλκοόλες, ανάμεσα τους και η αιθανόλη, προκάλεσαν δοσοεξαρτώμενη αύξηση της τοξικότητας των οξυστερολών in vitro, με τη μέγιστη επίδραση στη συγκέντρωση 0,05% αιθανόλης (Spyridopoulos et al., 2001). Κάτι τέτοιο διαμεσολαβήθηκε από τη δραματική αύξηση της εισόδου ασβεστίου στο κυτοσόλιο

των ενδοθηλιακών κυττάρων. Χρησιμοποίηση αναστολέων των διαύλων ασβεστίου κατάφερε να αμβλύνει τον καταστρεπτικό ρόλο του αλκοόλ καθώς εμπόδισε την είσοδο ασβεστίου στα κύτταρα και συνεπώς την τοξική δράση των οξυστερολών, περιορίζοντας την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Μηχανισμός δράσης αλκοόλ

Εν συντομία, η οξειδωτική δράση του αλκοόλ πραγματοποιείται μέσω 3 διαφορετικών οδών: της αλκοολικής αφυδρογονάσης, του μικροσωμικού οξειδωτικού συστήματος αιθανόλης (microsomal ethanol oxidizing system- MEOS) και μέσω της καταλάσης. Καθένα δρα με ξεχωριστό τρόπο αλλά όλα οδηγούν τελικά στην παραγωγή ακεταλδεύδης, ενός ιδιαίτερος τοξικού προϊόντος που επάγει το σχηματισμό ελεύθερων ριζών και μεταβολιτών αλλά και την αδρανοποίηση διαφόρων αντιοξειδωτικών ενζύμων (π.χ. γλουταθειόνη), με άμεσο αποτέλεσμα την οξείδωση των λιπιδίων (Lieber, 1997). Πιο συγκεκριμένα, η αλκοολική δευδρογονάση συμβάλλει στη μετατροπή της αιθανόλης σε ακεταλδεύδη με ταυτόχρονη μεταφορά ενός ατόμου H από το ένζυμο στο συμπάράγοντα NAD, ο οποίος μετατρέπεται σε NADH (Lieber, 1997). Έτσι, εκτός από την καταστρεπτική δράση της ακεταλδεύδης ενισχύεται και η συσσώρευση του NADH, που ενεργοποιεί το ένζυμο οξειδάση της ξανθίνης, με άμεσο αποτέλεσμα την επιπλέον παραγωγή ROS (Minana et al., 2002). Έτσι, η χορήγηση αιθανόλης (20mmol/l) σε απομονωμένα ηπατικά κύτταρα ποντικών προκάλεσε κυτταρικό θάνατο, γεγονός που αντιστράφηκε παρουσία δισουλφιράμης (αναστολέας αλκοολ. δευδρογον.), αποδεικνύοντας τον ενεργό ρόλο του ενζύμου. (Minana et al., 2002).

Εκτός αυτού, ένας ακόμη μηχανισμός που εξηγεί την αυξημένη παραγωγή ROS από το αλκοόλ περιλαμβάνει και το σύστημα MEOS. Κύριος εκπρόσωπος είναι το κυτόχρωμα P-450 2E1: υψηλά επίπεδα προωθούν την παραγωγή ακεταλδεύδης μέσω σχηματισμού H_2O_2 , επάγοντας μ' αυτόν τον τρόπο την οξείδωση των λιπιδίων (Lieber, 1997). Μάλιστα, έχει παρατηρηθεί ότι κύτταρα που εκφράζουν P-450 2E1 (π.χ. ηπατικά G2 κύτταρα, σειράς E47) παρουσιάζουν υψηλό ρυθμό σύνθεσης γλουταθειόνης (Casey et al., 2001). Αυτό αποτελεί ουσιαστικά έναν προστατευτικό μηχανισμό των κυττάρων έναντι της οξειδωτικής επίδρασης του κυτοχρώματος. Τέλος, η καταλάση συμμετέχει στο μεταβολισμό της αιθανόλης προς ακεταλδεύδη με

ταυτόχρονη μετατροπή του H₂O₂ προς H₂O. Συμβάλλει στην οξείδωση των λιπαρών οξέων και η δράση της επάγεται από υψηλά ποσά H₂O₂ (Lieber, 1997).

Επίλογος

Ανακεφαλαιώνοντας, η αντιοξειδωτική δράση που έχει παρατηρηθεί κατά την πρόσληψη κόκκινου κρασιού οφείλεται στο υψηλό ποσοστό των πολυφαινολών που περιέχει, σε αντίθεση με άλλα αλκοολούχα ποτά, όπως είναι το λευκό κρασί. Εν τούτοις, το κόκκινο κρασί περιέχει και αλκοόλ, το οποίο δρα προοξειδωτικά και επάγει την παραγωγή ελεύθερων ριζών, με άμεσο αποτέλεσμα την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Μάλιστα, οι διαφορές μεταξύ των in vivo και in vitro ερευνών μπορεί να οφείλονται εν μέρει στις εκ διαμέτρου αντίθετες δράσεις του αλκοόλ και των πολυφαινολών. Πχ. έρευνα των van Golde et al. έδειξε ότι το κρασί in vitro είχε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση: 375ml κόκκινου κρασιού (30γρ. αιθανόλης) επιμήκυναν το lag time κατά 35% (από 85,9' σε 114,1'), υποδεικνύοντας αναστολή της οξείδωσης της LDL (van Golde et al.,1999). Αντιθέτως, αιθανόλη 12% και λευκό κρασί μείωσαν το lag time, διευκολύνοντας την οξείδωση της LDL. Παρόλα αυτά, η αντιοξειδωτική δράση του κόκκινου κρασιού αμβλύνθηκε 2 εβδομάδες κατόπιν καθημερινής κατανάλωσης 375ml. (βλ. πίνακα 6.6).

Πίνακας 6.5- επιμήκυνση lag time ανάλογα με πρόσληψη αλκοολούχου ποτού

Lag time (min)	Ομάδα ελέγχου	Αιθανόλη 12%	Λευκό κρασί	Κόκκινο κρασί
Έναρξη (in vitro)	85,9	79,6	74,3	114,1
% μεταβολή	100%	93,9%	87,9%	135,1%
Μετά από 2 εβδομάδες	56,3	55	54,1	94,6
% μεταβολή	100%	98%	95,6%	171%

Ως 100% θεωρείται ο lag time της ομάδας ελέγχου (αποχή από το αλκοόλ). Τιμές >100% σημαίνουν επιμήκυνση του lag time (κόκκινο κρασί) ενώ τιμές <100% ελάττωση (αιθανόλη, λευκό κρασί). Παρατηρούμε ότι ο lag time ήταν μεγαλύτερος κατά την έναρξη του πειράματος και μειώθηκε μετά από 2 εβδομάδες σε όλες τις ομάδες, χωρίς να εξαιρείται η ομάδα του κόκκινου κρασιού. (Van Golde et al. The role of alcohol in the anti low density lipoprotein oxidation activity of red wine. Atherosclerosis 1999;147:365-370).

Ο lag time ήταν και πάλι αυξημένος στην ομάδα του κόκκινου κρασιού σε σχέση με την ομάδα ελέγχου και τις ομάδες της αιθανόλης (12%) και του άσπρου κρασιού αλλά ήταν μικρότερος απ' ό,τι ήταν στην αρχή του πειράματος (πριν 2 εβδομάδες). Έτσι προκύπτει το συμπέρασμα ότι η αντιοξειδωτική δράση του κρασιού *in vitro*, που οφείλεται στις πολυφαινόλες, αντιστρέφεται από την προοξειδωτική επίδραση του αλκοόλ *in vivo*. Δηλ. το αλκοόλ υπερισχύει έναντι των πολυφαινολών, κάνοντας την LDL πιο εύαλωτη στην οξείδωση.

Κλείνοντας θα μπορούσαμε να πούμε ως συμπέρασμα ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα του κόκκινου κρασιού που εκδηλώνεται *in vitro* σχετίζεται με το φαινολικό του περιεχόμενο αλλά η τελική του επίδραση *in vivo* θα εξαρτηθεί από την ισορροπία μεταξύ των προοξειδωτικών ιδιοτήτων του αλκοόλ και των αντιοξειδωτικών των πολυφαινολών.

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

7. ΑΛΚΟΟΛ & HDL

Ολοκληρώνοντας τη βιβλιογραφική ανασκόπηση για την επίδραση του κόκκινου κρασιού στην ενδοθηλιακή λειτουργία κατά τη στεφανιαία νόσο, θα ήταν παράλειψη να μην αναφερθεί η σχέση του με τις λιποπρωτεΐνες. Στο προηγούμενο κεφάλαιο αναλύθηκε ο μηχανισμός δράσης των συστατικών του όσον αφορά την οξειδωση, με το αλκοόλ να έχει προοξειδωτικό ρόλο και τις πολυφαινόλες αντιοξειδωτικό. Στην παρούσα ενότητα θα εξεταστεί η επίδραση του κόκκινου κρασιού στη ρύθμιση των λιποπρωτεϊνικών επιπέδων. Πιο συγκεκριμένα, θα αναφερθούμε στο αλκοόλ και στην ικανότητα που έχει να ρυθμίζει τα επίπεδα της HDL, των τριγλυκεριδίων, της απολιποπρωτεΐνης (α) κ.α.: από έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί, έχει παρατηρηθεί ότι οι μεταβολές προκαλούνται απ' όλα τα αλκοολούχα ποτά και δεν αποδίδονται μόνο στο κόκκινο κρασί (van der Gaag et al., 1999, Gaziano et al., 1993). Αυτό σημαίνει ότι το υπεύθυνο συστατικό είναι η αιθανόλη. Επίσης, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι εκτός από την LDL (βλ. προηγούμενο κεφάλαιο), η μόνη από τις υπόλοιπες λιποπρωτεΐνες που σχετίζεται με την ενδοθηλιακή λειτουργία είναι η HDL. Το αλκοόλ μεταβάλλει τις συγκεντρώσεις και άλλων παραγόντων που συνδέονται με τη στεφανιαία νόσο αλλά κυρίως οι μεταβολές της HDL μπορούν να επηρεάσουν τη λειτουργία του ενδοθηλίου, έμμεσα μέσω της αντίστροφης μεταφοράς χοληστερόλης. Επομένως, επειδή το θέμα αφορά την επίδραση του κόκκινου κρασιού στην ενδοθηλιακή λειτουργία συγκεκριμένα, θα εστιάσουμε την προσοχή μας κυρίως στη ρύθμιση των επιπέδων της HDL και στον προστατευτικό της ρόλο έναντι της αθηρωμάτωσης, και όχι στις λοιπές λιποπρωτεΐνες. Έτσι το πρώτο τμήμα περιλαμβάνει έρευνες που δείχνουν τη ρύθμιση των επιπέδων της HDL με την πρόσληψη αλκοόλ ενώ το δεύτερο περιγράφει το προστατευτικό τρόπο δράσης της HDL έναντι της ενδοθηλιακής λειτουργίας.

Αύξηση των επιπέδων της HDL

Διερευνώντας την επίδραση του αλκοόλ στη ρύθμιση των επιπέδων της HDL, έχει παρατηρηθεί ότι άτομα που καταναλώνουν συστηματικά αλκοόλ έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις HDL, αναφορικά με τα άτομα που απέχουν, ανεξάρτητα από το είδος του ποτού. Η υψηλή συγκέντρωση HDL συνδέεται με μείωση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου: ενδεικτικά, 30γρ. αιθανόλης μπορούν να αυξήσουν την HDL κατά 3,99mg/dl, μειώνοντας τον κίνδυνο για στεφανιαία νόσο κατά 16,8% (Rimm et al., 1999). Έρευνα των Gaziano et al. στην περιοχή της Βοστώνης έδειξε στατιστικά σημαντική αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ (όπως αξιολογήθηκε από κατάλληλο ερωτηματολόγιο) και του κινδύνου για οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου: άτομα που κατανάλωναν 3 ποτά ημερησίως, είχαν 50% μικρότερη πιθανότητα από τα άτομα που κατανάλωναν λιγότερο από 1 ποτό μηνιαίως (Gaziano et al., 1993). Αυτή η διαφορά αποδόθηκε στα υψηλά επίπεδα HDL (HDL₂, HDL₃) στην ομάδα της συχνής κατανάλωσης αλκοόλ. Αντίστοιχα, καθημερινή κατανάλωση 40γρ αλκοόλ για 3 εβδομάδες αύξησε τα επίπεδα HDL κατά 13,5%, χωρίς σημαντικές διαφορές για τα διάφορα είδη ποτών (κόκκινο κρασί, μύρα, spirits) (van der Gaag et al., 1999). Οι Budzynski et al. παρατήρησαν ότι άτομα που κατανάλωναν αλκοόλ (γκρουπ α) είχαν πιο υψηλά επίπεδα HDL από άτομα που απείχαν (γκρουπ β), κατόπιν όμως αποχής 4 εβδομάδων από το αλκοόλ, το γκρουπ α κατέληξε τελικά να έχει μικρότερα επίπεδα HDL από το γκρουπ β, αποδίδοντας τη μείωση αυτή στη διακοπή του αλκοόλ (Budzynski et al., 2003). Ανάλογη έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε γυναίκες έδειξε ότι η κατανάλωση αλκοόλ (>40γρ./ημέρα) συνδέεται με αύξηση της HDL, κυρίως μέσω αύξησης στην HDL₃ (Sillanauke et al., 2000). Ωστόσο αποχή από το αλκοόλ για 2 εβδομάδες οδήγησε σε σημαντική ελάττωση των επιπέδων HDL₃. 3% αύξηση της HDL βρέθηκε μετά από 6 εβδομάδες μέτριας κατανάλωσης αλκοόλ (5% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης) από γυναίκες φυσιολογικού ΔΜΣ και νορμολιπιδαιμικές, οι οποίες ακολούθησαν δίαιτα υψηλή σε λιπαρά (38% ενέργεια από λίπος) (Rumpler et al., 1999). Εν τούτοις, η αύξηση εδώ προήλθε από αύξηση της HDL₂ και όχι της HDL₃. Επίσης, το κλάσμα LDL/HDL ελαττώθηκε κατά 14%, αποδεικνύοντας για μία ακόμη φορά τη θετική επίδραση του αλκοόλ στα επίπεδα της HDL. Παρόλα αυτά, όταν το ίδιο πείραμα έγινε με δίαιτα χαμηλή σε λίπος (18% ενέργεια από λίπος) δεν παρατηρήθηκαν αντίστοιχα αποτελέσματα, γεγονός που θέτει σε αμφισβήτηση την (ελάχιστη) επίδραση του αλκοόλ στα επίπεδα της HDL.

προστατευτική δράση του αλκοόλ και δείχνει ότι πιθανώς αυτή να επηρεάζεται και από εξωτερικούς παράγοντες.

Προστατευτική δράση HDL

Ο αντιαθηρωματικός ρόλος της HDL συνίσταται αφενός μεν στη σύνδεση της με το ένζυμο παραοξονάση και αφετέρου στην ικανότητα της να μεταφέρει χοληστερόλη από τους ιστούς στο ήπαρ, μία διαδικασία γνωστή ως αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης (Vander et al., 2001). Πιο συγκεκριμένα, η παραοξονάση 1 (PON) είναι ένα ένζυμο του ορού που συνδέεται με την απολιποπρωτεΐνη Α της HDL και παρουσιάζει μεγάλη δραστικότητα στο ήπαρ και το αίμα (Mackness et al., 2002). Πρόκειται για μία ασβεστίο-εξαρτώμενη υδρολάση, η οποία εμποδίζει την οξείδωση της LDL, την πρόσληψη οξειδωμένης LDL από τα μακροφάγα και επίσης μετατρέπει την οξειδωμένη LDL σε βιολογικά ανενεργές ενώσεις (Rao et al., 2003, Durrington et al., 2001). Καθημερινή πρόσληψη κόκκινου κρασιού (40γρ) για 3 εβδομάδες αύξησε τη δραστικότητα της παραοξονάσης σε κατάσταση νηστείας κατά 6,9% (van der Gaag et al., 1999). Αντίστοιχα ήταν τα αποτελέσματα όταν η ίδια ποσότητα αλκοόλ καταναλώθηκε υπό τη μορφή μπύρας ή spirits, αποδεικνύοντας ότι το υπεύθυνο συστατικό είναι η αιθανόλη. Στην έρευνα των Rao et al. βρέθηκε ότι η ελαφρά κατανάλωση αλκοόλ από ποντικούς (10% της θερμιδικής πρόσληψης) για 8 εβδομάδες αύξησε σημαντικά τα επίπεδα παραοξονάσης ορού κατά 20% και τη δραστικότητα της κατά 25% (Rao et al., 2003). Εν τούτοις, η υψηλή κατανάλωση αλκοόλ (36% της θερμιδικής πρόσληψης) είχε αρνητική επίπτωση με μείωση της δραστικότητας της στον ορό και το ήπαρ κατά 25%. Στους ανθρώπους, σε σχέση με τα άτομα που απείχαν από το αλκοόλ, τα άτομα με χαμηλή κατανάλωση αλκοόλ (13-40γρ./ημέρα, 1-3ποτά) παρουσίαζαν 395% υψηλότερη δραστικότητα παραοξονάσης ενώ τα άτομα με υψηλή (>80γρ./ημέρα, >6ποτά) 45% χαμηλότερη δραστικότητα (Rao et al., 2003).

Αντίστοιχα, η μέτρια πρόσληψη αλκοόλ επάγει τη μεταφορά της χοληστερόλης από τα κύτταρα στο ήπαρ, περιορίζοντας την αθηρωματική διαδικασία: καθημερινή πρόσληψη 40γρ αλκοόλ για 3 εβδομάδες από 11 υγιείς άντρες αύξησε τη μετακίνηση της χοληστερόλης από τα περιφερειακά κύτταρα (cholesterol efflux capacity) κατά 6,2%, ένα από τα πρώτα βήματα της αντίστροφης

μεταφοράς χοληστερόλης (van der Gaag et al., 2001). Εκτός αυτού, η κατανάλωση αλκοόλ (40γρ) υπό τη μορφή μπύρας ή spirits ενίσχυσε την εστεροποίηση της χοληστερόλης κατά 10,8%, γεγονός που δεν παρατηρήθηκε όταν το αλκοόλ ήταν υπό τη μορφή κρασιού (van der Gaag et al., 2001). Η εστεροποίηση της ελεύθερης χοληστερόλης διαμεσολαβείται από το σύμπλεγμα λεκιθίνης : χοληστερο-τρανσφεράσης και συμβάλλει στην ενσωμάτωση της χοληστερόλης στο μόριο της HDL (Glomset et al., 1966). Αντιθέτως, η χρόνια και υψηλή κατανάλωση αλκοόλ έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης: οι Rao et al παρατήρησαν μείωση της ικανότητας της HDL να παραλαμβάνει χοληστερόλη από τα μακροφάγα κατά 83% σε άτομα που κατανάλωναν >80γρ. αιθανόλης ημερησίως (Rao et al., 2000). Στην ίδια ομάδα, η ικανότητα της HDL να αποδίδει χοληστερόλη στο ήπαρ ήταν ελαττωμένη κατά 54%. Οι ερευνητές καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η κατανάλωση αλκοόλ συνδέεται με υψηλότερα ποσά HDL στο πλάσμα, αλλά η HDL είναι λιγότερο αποτελεσματική. Έτσι, η υψηλότερη συγκέντρωση της HDL αντισταθμίζεται από τη μειωμένη ικανότητα των μορίων να μεταφέρουν χοληστερόλη στα ηπατικά κύτταρα.

Συνεπώς, η μέτρια πρόσληψη αλκοόλ και άρα και κόκκινου κρασιού, αυξάνει τα επίπεδα της HDL, ανεξάρτητα από το είδος του προτιμώμενου ποτού. Δηλαδή το κόκκινο κρασί στην προκείμενη περίπτωση δεν φαίνεται να υπερισχύει έναντι των άλλων ποτών καθώς η αύξηση αυτή έχει παρατηρηθεί με την κατανάλωση αλκοόλ γενικά. Άσχετα πάντως μ' αυτό, η αύξηση της HDL πιθανώς να μπορεί να επηρεάσει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία κατά την αθηρωμάτωση, μέσω της αντίστροφης μεταφοράς της χοληστερόλης από τα κύτταρα και τους ιστούς προς το ήπαρ. Έτσι η χαμηλή κατανάλωση αλκοόλ μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο για εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων, ειδικά αν είναι με τη μορφή κόκκινου κρασιού, συνδυάζοντας όλες τις δράσεις του στις λειτουργίες του ενδοθηλίου, οι οποίες αναλύθηκαν λεπτομερειακά στα προηγούμενα κεφάλαια.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μία εκτεταμένη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας σχετικά με την επίδραση του κόκκινου κρασιού στις παραμέτρους της ενδοθηλιακής λειτουργίας κατά τη στεφανιαία νόσο. Αρχικά έγινε αναφορά στις λειτουργίες των ενδοθηλιακών κυττάρων: πρόκειται για μία ευρεία ομάδα κυττάρων που επικαλύπτουν την εσωτερική επιφάνεια των αγγείων και κατ' επέκταση όλο το καρδιαγγειακό σύστημα, από την καρδιά έως τα πιο μικρά τριχοειδή. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν πολλές και σημαντικές λειτουργίες. Χρησιμεύουν ως φραγμός διαπερατότητας για την ανταλλαγή θρεπτικών συστατικών και προϊόντων του μεταβολισμού ανάμεσα στο πλάσμα και το μεσοκυττάριο υγρό. Εκκρίνουν παρακρινείς παράγοντες που επενεργούν στα κύτταρα του λείου μυός των αγγείων και μ' αυτόν τον τρόπο ρυθμίζουν τον αγγειακό τόνο, δηλ. την ικανότητα του λείου μυός να επιδεικνύει συστολή ή διαστολή ανάλογα με τα ερεθίσματα που δέχεται. Ο κυριότερος αγγειοδιασταλτικός παράγοντας είναι το NO. Από τα ενδοθηλιακά κύτταρα απελευθερώνονται και αγγειοσυσταλτικοί παράγοντες, με κυριότερο εκπρόσωπο την ενδοθηλίνη (ET-1). Επιπρόσθετα, το ενδοθήλιο έχει αντιπηκτικό και αντιθρομβωτικό ρόλο καθώς εμποδίζει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και συμβάλλει στη λύση των θρόμβων. Επιπλέον, τα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν αυξητικούς παράγοντες (bFGF, VEGF) και συμμετέχουν στις φλεγμονώδεις αντιδράσεις μέσω της σύνθεσης των μορίων προσκόλλησης: πρόκειται για ανοσογλοβίνες που προσελκύουν λευκοκύτταρα από την κυκλοφορία του αίματος και προωθούν την προσκόλληση τους στο αγγειακό τοίχωμα για αποκατάσταση ιστικής βλάβης. Τέλος, το ενδοθήλιο συμμετέχει στην αγγειογένεση, μέσω της απελευθέρωσης του παράγοντα VEGF για την παραγωγή νέων τριχοειδών. Θα πρέπει να τονιστεί ότι η ενδοθηλιακή λειτουργία είναι εκτενής και περιλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό ουσιών και παραγόντων, αλλά εδώ ενδεικτικά αναφέρθηκαν οι πιο σημαντικοί, οι οποίοι φαίνεται να επηρεάζονται από την κατανάλωση κόκκινου κρασιού, όπως αναλύθηκε στα προηγούμενα κεφάλαια.

Η εκδήλωση στεφανιαίας νόσου συνδέεται άμεσα με την ενδοθηλιακή λειτουργία. Η στεφανιαία νόσος οφείλεται σε βλάβη του μυοκαρδίου λόγω ανεπαρκούς παροχής αίματος στην καρδιά (ισχαιμία). Το κύριο αίτιο είναι η παρουσία αθηροσκλήρυνσης : πρόκειται για μία πάθηση που χαρακτηρίζεται από πάχυνση των αιμοφόρων αγγείων εξαιτίας της εκτεταμένης προσκόλλησης κυττάρων που ονομάζονται "αφρώδη κύτταρα". Η υψηλή συγκέντρωση χοληστερόλης (LDL) αποτελεί έναν από τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου. Κι αυτό διότι ο μηχανισμός με τον οποίο η αθηροσκλήρυνση μειώνει την αιματική ροή συνίσταται στην οξείδωση της LDL από ελεύθερες ρίζες, την

έκκριση κυτταροκινών και τελικά τη δημιουργία παθολογικών κυττάρων (αφρώδη) που επικάθονται στο αγγειακό τοίχωμα και προκαλούν στένωση του εσωτερικού χιτώνα (μείωση της αγγειακής διαμέτρου). Άμεση συνέπεια είναι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία καθώς απελευθερώνονται υπέρμετρα αγγειοσυσταλτικές ουσίες (ET-1) και ανεπαρκώς αγγειοδιασταλτικές (NO, προστακυκλίνη), επάγεται η αιμοπεταλιακή συσσώρευση (αύξηση της συγκέντρωσης των παραγόντων της πήξης) και εμποδίζεται η ινωδόλυση, ενώ ταυτόχρονα αυξάνεται η έκφραση των μορίων προσκόλλησης. Αυτές οι διεργασίες είναι προοδευτικές και οδηγούν τελικά σε πλήρη απόφραξη με τη δημιουργία θρόμβων στις στενωμένες αθηρωσκληρωτικές αρτηρίες και τελικά στην εμφάνιση εμφραγμάτων.

Το κόκκινο κρασί φαίνεται να προστατεύει από την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου: έρευνες δείχνουν ότι η μέτρια πρόσληψη κόκκινου κρασιού συνδέεται με μείωση της θνησιμότητας από καρδιαγγειακά νοσήματα. Έτσι, άτομα που καταναλώνουν συστηματικά χαμηλές ποσότητες κόκκινου κρασιού παρουσιάζουν μικρότερο κίνδυνο θανάτου, όπως δείχνει και το Γαλλικό Παράδοξο. Έχει παρατηρηθεί ότι στη Γαλλία η συχνότητα των καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι χαμηλά παρά το γεγονός ότι η πρόσληψη κορεσμένου λίπους είναι υψηλή ενώ οι υπόλοιποι παράγοντες κινδύνου (αρτηριακή πίεση, ΔΜΣ, κάπνισμα) δε διαφέρουν από αυτούς των άλλων Δυτικοευρωπαϊκών χωρών. Κάτι τέτοιο ενδεχομένως να οφείλεται στην υψηλή κατανάλωση κόκκινου κρασιού. Το κόκκινο κρασί αποτελεί βασικό στοιχείο της Μεσογειακής διατροφής (και όχι μόνο). Το υψηλότερο σε συγκέντρωση συστατικό του είναι το αλκοόλ, ακολουθούν οι πολυφαινόλες, ενώ περιλαμβάνει και διάφορα άλλα συστατικά όπως ανόργανα, σάκχαρα ή αζωτούχες ενώσεις. Η ευεγερτική του δράση αποδίδεται στην ιδιαιτέρως υψηλή περιεκτικότητά του σε πολυφαινόλες, σε σύγκριση με το λευκό κρασί ή άλλα αλκοολούχα ποτά. Κυριότερος εκπρόσωπος είναι η ρεσβερατρόλη, όμως εξίσου δραστικές είναι η κερκετίνη, η κατεχίνη, το γαλλικό οξύ κ.α.

Η επίδραση του κόκκινου κρασιού στην ενδοθηλιακή λειτουργία είναι η συνισταμένη μεταξύ της δράσης των πολυφαινολών και της δράσης του αλκοόλ. Ωστόσο θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι δεν έχει ακόμη διαλευκανθεί πλήρως ο ρόλος των πολυφαινολών και του αλκοόλ σε κάποιες από τις λειτουργίες του ενδοθηλίου. Π.χ. όσον αφορά τη ρύθμιση του αγγειακού τόνου, πιθανώς οι πολυφαινόλες να επάγουν την αγγειοδιαστολή. Πολλές είναι οι έρευνες που δείχνουν ότι η ρεσβερατρόλη, η κατεχίνη, η επικατεχίνη και γενικότερα μίγματα πολυφαινολών αυξάνουν την ενζυμική δραστηριότητα της eNOS και συνεπώς την απελευθέρωση του NO, προκαλώντας χάλαση του λείου μυός των αγγείων. Εν τούτοις, κάτι τέτοιο δεν έχει επιβεβαιωθεί εφόσον υπάρχουν και έρευνες,

στις οποίες δεν έχει παρατηρηθεί αύξηση της eNOS με την in vitro χορήγηση πολυφαινόλων. Επίσης, ούτε τα δεδομένα για τον ρόλο της αιθανόλης στην αγγειοδιαστολή επιτρέπουν την εξαγωγή συμπερασμάτων. Η χρόνια κατανάλωση αλκοόλ φαίνεται να οδηγεί στη μείωση της ενδοθήλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής, γεγονός που έρχεται σε αντιδιαστολή με αποτελέσματα ερευνών όπου η in vitro χορήγηση αλκοόλ ενισχύει την παραγωγή e NOS. Πιθανώς, η άμεση δράση της αιθανόλης να επάγει την αγγειοδιαστολή αλλά η πρόσληψη αλκοόλ σε υψηλές ποσότητες μπορεί μακροχρόνια να έχει αντίθετα αποτελέσματα. Συνεπώς, η επίδραση του κόκκινου κρασιού στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου δεν έχει ακόμη διαλευκανθεί πλήρως, από την στιγμή που δε γνωρίζουμε ακόμη τον ακριβή τρόπο δράσης ούτε των πολυφαινόλων, ούτε του αλκοόλ.

Όσον αφορά την πήξη του αίματος, οι πολυφαινόλες δρουν συνεργιστικά και αναστέλλουν την αιμοπεταλιακή συσώρευση που προκαλείται από αγωνιστές όπως το ADP, το κολλαγόνο και η θρομβίνη. Ταυτόχρονα μειώνουν τις συγκεντρώσεις διαφόρων παραγόντων της πήξης που σχετίζονται με τη στεφανιαία νόσο όπως είναι το ινωδογόνο, ο ιστικός παράγοντας κ.α. Ενδεικτικά, η ρεσβερατρόλη μειώνει την παραγωγή θρομβοξάνης και εμποδίζει την έκκριση των κυτταροκινών TNF-α και IL-8. Επίσης δρα σε συνδυασμό με την κερκετίνη και καταστέλλει την έκφραση και τη δράση του ιστικού παράγοντα στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μονοκύτταρα. Επιπρόσθετα, το κόκκινο κρασί είναι ικανό να μειώσει τη συγκέντρωση ινωδογόνου. Εν τούτοις, τα αποτελέσματα των ερευνών για του υπόλοιπους παράγοντες του ινωδολυτικού συστήματος είναι αντιφατικά. Αυτό δικαιολογείται από το γεγονός ότι λίγες είναι οι έρευνες που έχουν επιχειρήσει να αξιολογήσουν τις συγκεντρώσεις του ινωδογόνου, του πλασμινογόνου, του tPA και του PAI-1 και τα αποτελέσματα τους δε συμπίπτουν πάντα. Συνεπώς, αν και οι πολυφαινόλες φαίνεται να έχουν αντιπηκτική δράση, προς το παρόν δεν μπορούν να γίνουν εκτιμήσεις με σιγουριά για την ευεγερτική επίδραση του κόκκινου κρασιού στους αιμοστατικούς παράγοντες.

Παρόλα αυτά το κόκκινο κρασί μπορεί να μειώσει σε σημαντικό βαθμό τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της αθηρωμάτωσης. Από τη μια, οι πολυφαινόλες αναστέλλουν την έκφραση των μορίων προσκόλλησης (VCAM-1, ICAM-1, E-selectin) και κατ' επέκταση την προσκόλληση των μονοκυττάρων και των λειών μυϊκών κυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα. Επίσης, περιορίζουν τη δράση της iNOS και την παραγωγή NO από τα μακροφάγα και συγχρόνως ελαττώνουν την έκκριση κυτταροκινών όπως η MCP-1. Από την άλλη, η αιθανόλη συμβάλλει στη μείωση των επιπέδων της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, ενός από τους πιο σημαντικούς δείκτες φλεγμονής.

Μ' αυτόν τον τρόπο, το κόκκινο κρασί καταστέλλει την επέκταση της ιστικής βλάβης και περιορίζει τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις που προκαλεί η αθηρωματική διαδικασία.

Τέλος, η κυριότερη από τις προστατευτικές δράσεις του κόκκινου κρασιού στην ενδοθηλιακή λειτουργία αφορά την οξειδωση των λιποπρωτεϊνών. Οι πολυφαινόλες παρουσιάζουν *in vitro* ισχυρή αντιοξειδωτική δράση καθώς καταστέλλουν την οξειδωση της LDL και της HDL. Συνδέονται με τις λιποπρωτεΐνες και προστατεύουν το πρωτεϊνικό και το λιπιδαιμικό τους τμήμα από οξειδωση. Δρουν ως εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών και εμποδίζουν την καταστροφή αντιοξειδωτικών, όπως η α-τοκοφερόλη. Επομένως, καταστέλλουν την αθηρωμάτωση και πιθανώς να έχουν την ικανότητα να αναστρέψουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, τουλάχιστον εν μέρει. Εν τούτοις, το αλκοόλ παρουσιάζει αντίθετη δράση, καθώς επάγει την παραγωγή ελευθέρων ριζών και περοξειδίων και καταστέλλει τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς. Μ' αυτόν τον τρόπο ενισχύει την οξειδωση της LDL, η οποία αποτελεί σήμα για την έναρξη δημιουργίας της αθηρωματικής πλάκας. Σ' αυτό το σημείο αξίζει να αναφερθεί ότι το αλκοόλ έχει μεν αρνητική επίδραση στην οξειδωση των λιποπρωτεϊνών αλλά έχει θετική επίδραση στη ρύθμιση των επιπέδων της HDL. Η μέτρια πρόσληψη του αυξάνει τα επίπεδα της HDL, γεγονός που σχετίζεται με τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου.

Κλείνοντας θα μπορούσαμε να πούμε ότι δυστυχώς προς το παρόν δεν έχουν διαλευκανθεί πλήρως οι μηχανισμοί μέσω των οποίων το κόκκινο κρασί ασκεί την καρδιοπροστατευτική του δράση. Η δυσκολία συνίσταται στον διαφορετικό τρόπο δράσης των πολυφαινόλων και του αλκοόλ. Εξάλλου η μελέτη της ενδοθηλιακής λειτουργίας απαιτεί προσεκτική διερεύνηση της επίδρασης των επιμέρους συστατικών του κόκκινου κρασιού σε ένα πλήθος παραγόντων (αιμοστατικοί, αγγειοδιασταλτικοί, δείκτες φλεγμονής, κυτταροκίνες, λιποπρωτεΐνες κ.α.), γεγονός που χρειάζεται μεγάλο χρονικό διάστημα και εκτεταμένη έρευνα για να πραγματοποιηθεί. Οι διαφορετικές πειραματικές συνθήκες εξηγούν τα πολλές φορές αντικρουόμενα αποτελέσματα των διαφόρων ερευνών. Πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες και συστηματικά σφάλματα μπορούν να παρερμηνεύουν συμπεράσματα επιδημιολογικών ερευνών που δείχνουν μείωση της εμφάνισης στεφανιαίας νόσου σε άτομα με μέτρια πρόσληψη κόκκινου κρασιού. Άλλωστε, θα πρέπει να τονιστεί ότι η επίδραση του κόκκινου κρασιού στην ενδοθηλιακή λειτουργία εξαρτάται από την απορρόφηση των συστατικών του. Έτσι, αν κάποιο συστατικό (π.χ. η ρεσβερατρόλη) είναι ιδιαίτερος δραστικός *in vitro*, αυτό δε σημαίνει απαραίτητα ότι παρουσιάζει την αντίστοιχη δράση και *in vivo*. Η ποσότητα και η συχνότητα πρόσληψης του κόκκινου κρασιού, η περιεκτικότητά του σε πολυφαινόλες και αλκοόλ και ο τρόπος κατανάλωσης του (binge

drinking ή κατά τη διάρκεια των γευμάτων) αποτελούν σημαντικούς παράγοντες που καθορίζουν τη δράση του στο αγγειακό σύστημα. Συνεπώς, αν και φαίνεται να έχει θετική επίδραση στην ενδοθηλιακή λειτουργία κατά τη στεφανιαία νόσο, περιορίζοντας τις δυσμενείς επιπτώσεις της αθηρωμάτωσης, χρειάζεται να γίνει επιπλέον έρευνα για να επιβεβαιωθεί τελικά ο προστατευτικός του ρόλος όχι μόνο *in vitro* αλλά και *in vivo*. Μέχρι τότε όμως μπορεί να συνιστάται με επιφύλαξη η μέτρια κατανάλωση του, καθώς σίγουρα δεν μπορεί να βλάψει τον οργανισμό-αντιθέτως μπορεί μακροχρόνια να αποδειχτεί ωφέλιμη, αν τελικά επιβεβαιωθούν όλα αυτά που είναι προς το παρόν υπό διερεύνηση.

1. Agardh E, Wacht K, Douglas R, Whalley G, Donnelly M, Sharpe N. Olive: a plant oil that improves endothelial function? *Eur Heart J* 2006; 27:74-78
2. Albert C, Manson J, Cook N, Ajani U, Gaziano M. Moderate alcohol consumption and the risk of sudden cardiac death among US male physicians. *Circulation* 1999; 100: 944-950
3. Albert M, Glynn R, Ridker P. Alcohol consumption and plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation* 2003;107:443-447
4. Lameiro G, Van Veldhuisen DJ, Rense A.J., Maan M. Pathophysiology of vascular endothelium and circulating platelets: implications for coronary revascularization and treatment. *International journal of cardiology* 2001;79:265-273
5. Anderson R, Dart AM, Starr J, Shaw J, Chiu-Dusting JF. Plasma C-reactive protein, but not protein S, VCAM-1 nor Willebrand factor or P-selectin, is associated with endothelial dysfunction in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2004;172(2):345-51
6. Andriambeloson B, Magnien C, Lobstein A, Antier R, Barziz A, Sassi J. Natural dietary polyphenolic compounds cause endothelium-dependent vasorelaxation in rat thoracic aorta. *J Nutr*. (28):2324-2333, 1998
7. Artori GE, Briviba K, Sies H. Protection against peroxynitrite. *FEBS Lett* 1999;445:226-230
8. Arandi M, Medina I, Ortega A, Castano J, Bano M, Obrador E, Barcia M. Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to its low bioavailability. *Free Radical Biology & Medicine* 2002; 33(3):387-398

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Adams RH., Wilkinson GA., Weiss C., Diella F., Gale NW. Roles of ephrinB ligands and EphrinB receptors in cardiovascular development: demarcation of arterial/venous domains, vascular morphogenesis, and sprouting angiogenesis. *Genes Dev* 1999;13:295-306
2. Adlerberth I., Ahrne S., Johansson ML, Molin G, Hanson LA, Wold A. A mannose-specific adherence mechanism in *Lactobacillus plantarum* conferring binding to the human colonic cell line HT-29. *Appl Environ Microbiol* 1996;62(7):2244-51
3. Agewall S., Wright S., Doughty R., Whalley G., Duxbury M., Sharpe N. Does a glass of red wine improve endothelial function? *Eur Heart J* 2000; 21:74-78
4. Albert C., Manson J., Cook N., Ajani U. Gaziano M. Moderate alcohol consumption and the risk of sudden cardiac death among US male physicians. *Circulation* 1999; 100: 944-950
5. Albert M., Glynn R., Ridker P. Alcohol consumption and plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation* 2003;107:443-447
6. Amoroso G., Van Veldhuisen D.J., Rene A.T., Mariani M. Pathophysiology of vascular endothelium and circulating platelets: implications for coronary revascularization and treatment. *International journal of cardiology* 2001;79:265-275
7. Anderson R., Dart AM., Starr J., Shaw J., Chin-Dusting JP. Plasma C-reactive protein, but not protein S, VCAM-1 von Willebrand factor or P-selectin, is associated with endothelium dysfunction in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2004;172(2):345-51
8. Andriambeloson E., Magnier C., Lobstein A., Anton R., Beretz A., Stoclet J. Natural dietary polyphenolic compounds cause endothelium-dependent vasorelaxation in rat thoracic aorta. *J. Nutr.* 128:2324-2333, 1998
9. Arteel GE., Briviba K., Sies H. Protection against peroxynitrite. *FESEB Lett* 1999;445:226-230
10. Asensi M., Medina I., Ortega A., Carretero J., Bano M., Obrador E., Estrela M. Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to its low bioavailability. *Free Radical Biology & Medicine* 2002; 33(3):387-398

11. Au-Yeung KK., Woo CW., Sung FL., Yip JG., Siow YL. Hyperhomocysteinemia activates nuclear factor-kappa B in endothelial cells via oxidative stress. *Circ Res* 2004;94(1):28-36
12. Bai AP, Ouyang Q, Zhang W. Probiotics inhibit TNF-a-induced interleukin-8 secretion HT29 cells. *World J Gastroenterol* 2004;10(3):455-7
13. Bajzar L., Morser J., Nesheim M. TAFI or plasma procarboxypeptidase-B, couples the coagulation and fibrinolytic cascades through the thrombin-thrombomodulin complex. *J Biol Chem* 1996;271:16603-16608
14. Behrendt D., Ganz P. Endothelial function: from vascular biology to clinical implications. *Am J Cardiol* 2002;90:40-48
15. Belgore F., Lip YH., Blanna AD. Basic fibroblast growth factor induces the secretion of vascular endothelial growth factor by human aortic smooth muscle cells but not by endothelial cells. *European Journal of Clinical Investigation* 2003;33(10):833-839
16. Belguendouz L., Fremont L., Gozzelino M-T. Interaction of transresveratrol with plasma lipoproteins. *Biochemical Pharmacology* 1998; 55:811-816
17. Belguendouz L., Fremont L., Linard A. Resveratrol inhibits metal ion-dependent and independent peroxidation of porcine low-density lipoproteins. *Biochemical Pharmacology* 1997; 53:1347-1355
18. Belleville J. The French paradox: possible involvement of ethanol in the protective effect against cardiovascular diseases. *Nutrition* 2002;18:173-177
19. Bertanova I., Pechanova O., Babal P., Kysela S., Stvrtina S. Wine polyphenols improve cardiovascular remodeling and vascular function in NO-deficient hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;282:H942-H948
20. Bevilacqua M., Pober J., Mendrick D., Cotran R., Gimbrone M. Identification of an inducible endothelial-leukocyte adhesion molecule. *Proc Natl Acad Sci* 1987;84:9238-9242
21. Blache D., Rustan I., Durand P., Lesgards G., Loreau N. Gas chromatographic analysis of resveratrol in plasma, lipoproteins and cells after in vitro incubations. *J Chromatogr.* 1997;702:103-110
22. Blanco-Colio L., Valderrama M., Bustos C., Ortego M., Cancelas P., Millan J., Edigo J. Red wine intake prevents NF-k B activation in peripheral blood mononuclear cells of healthy volunteers during postprandial lipemia. *Circulation* 2000; 102:1020-1026

23. Bradamante S., Barenghi L., Piccinini F., Bertelli A., Beemster P. Resveratrol provides late-phase cardioprotection by means of a nitric oxide- and adenosine-mediated mechanism. *Eur J Of Pharmacology* 465 (2003) 115-123
24. Brito P., Almeida L., Dinis T. The interaction of resveratrol with ferrylmyoglobin and peroxynitrite; protection against LDL oxidation. *Free Radical Research* 2002;36(6):621-631
25. Budzynski J., Klopocka M., Swiatkowski M. Lipoprotein (a) in alcohol-dependent male patients during a six-month abstinence period. *Alcohol&Alcoholism* 2003;38(2):157-162
26. Buemann B., Dyerberg J., Astrup A. Alcohol drinking and cardiac risk. *Nutrition Research Reviews* 2002;15:91-121
27. Burnier M. Angiotensin II type I receptor blockers. *Circulation* 2001;103:904-912
28. Burns J., Gardner P., O' Neil J., Crawford S., Morecroft I., Lister C., Matthews D., Lean M., Duthie G., Crozier A. Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity and phenolic content of red wines. *J Agric Food Chem* 2000;48:220-230
29. Canali R., Vignolini F., Nobili F., Mengheri E. Reduction of oxidative stress and cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC) expression by red wine polyphenols in zinc deficiency induced intestinal damage of rat. *Free Radical Biology & Medicine* 2000;28(11):1661-1670
30. Carluccio M., Siculella L., Ancora M., Massaro M., Scoditti E., Storelli C., Visioli F., Distant A., Caterina R. Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation. *Antiatherogenic properties of Mediterranean Diet Phytochemicals. Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23:622-629
31. Camargo C., Stampfer M., Glynn R., Gaziano M., Manson J., Goldhaber S. Prospective study of moderate alcohol consumption and risk of peripheral arterial disease in US male physicians. *Circulation* 1997; 35:577-580
32. Casey C., Nanji A., Cederbaum A., Adachi M., Takahashi T. Alcoholic liver disease and apoptosis. *Alcohol Clin Exp Res* 2001;25(5):49-53
33. Chan M., Mattiacci J., Hwang H., Shah A., Fong D. Synergy between ethanol and grape polyphenols, quercetin and resveratrol in the inhibition of the

- inducible nitric oxide synthase pathway. *Biochemical Pharmacology* 2000;60:1539-1548
34. Chen L., Lee MJ., Yang CS. Absorption, distribution, elimination of tea polyphenols in rats. *Drug Metab Dispos* 1997;25(9):1045-50
35. Cho D-I., Koo N-Y., Chung W., Kim T-S. Effects of resveratrol-related hydroxystilbenes on the nitric oxide production in macrophage cells: structural requirements and mechanism of action. *Life Sciences* 2002; 71:2071-2082
36. Chopras M., Fitzsimons P., Strain J., Thurnham D., Howard A. Non-alcoholic red wine extract and quercetin inhibit LDL oxidation without affecting plasma antioxidant vitamin and carotenoid concentrations. *Clinical Chemistry* 2000;46:1162-1170
37. Cohen R., Weisbrod R., Gericke M., Yaghoubi M., Bierl C., Bolotina V. Mechanism of nitric oxide-induced vasodilation. Refilling of intracellular stores by sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase and Inhibition of store-operated Ca^{2+} influx. *Circ Res.* 1999;84:210-219
38. De Lange DW., van Golde PH., Scholman WLG., Kraaijenhagen RJ., Akkerman JWN., van de Weil A. Red wine and red wine polyphenolic compounds but not alcohol inhibit ADP-induced platelet aggregation. *European Journal of Internal Medicine* 2003;14:361-366
39. de Lorgeril M., Salen P., Martin J-L., Boucher F. Wine drinking and risks of cardiovascular complications after recent acute myocardial infarction. *Circulation* 2002; 106:1465-1469
40. Deckert V., Desrumaux C., Athias A., Duverneuil L., Palleau V., Gambert P., Masson D., Lagrost L. Prevention of LDL a-tocopherol consumption, cholesterol oxidation, and vascular endothelium dysfunction by polyphenolic compounds from red wine. *Atherosclerosis* 2002;165:41-50
41. Demrow H., Slane P., Folts J. Administration of wine and grape juice inhibits in vivo platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. *Circulation* 1995;91:1182-1188 (CFR's)
42. Di Castelnuovo A., Rotondo S., Iacoviello L., Donati M., de Gaetano G. Meta-analysis of wine and beer consumption in relation to vascular risk. *Circulation* 2002; 105: 2836-2844

43. Diebolt M., Andriantsitohaina R. Wine polyphenols modulate calcium handling in rat aorta: involvement of nitric oxide pathway. *Fundamental&clinical pharamacology* 2002; 16: 289-296
44. Diebolt M., Bucher B., Andriantsitohaina R. Wine polyphenols decrease blood pressure, improve NO vasodilation and induce gene expression. *Hypertension* 2001;38:159-165
45. Disanto A., Mezzetti A., Napoleone E., Di Tommaso R., Donati M., De Gaetano G., Lorenzet R. Resveratrol and quercetin down-regulate tissue factor expression by human stimulated vascular cells. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2003;1:1089-1095
46. Donovan JL., Bell JR, Kasim-Krakas S., German JB. Catechin is present as metabolites in human plasma after consumption of red wine. *J Nutr* 1999;129(9):1662-8
47. Durrington PN., Mackness B., Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(4):473-80
48. Feng A-N., Chen Y-L., Ding Y-Z., Lin S-J. Red wine inhibits monocyte chemotactic protein-1 expression and modestly reduces neointimal hyperplasia after balloon injury in cholesterol-fed rabbits. *Circulation* 1999;100:2254-2259
49. Ferrara N. Role of endothelial growth in the regulation of angiogenesis. *Kidney international* 1999;56:794-214
50. Ferrero M., Bertelli A., Fulgenzi A., Pellegatta F., Corsi M., Bonfrate M., Ferrara F., Giovannino L., Bertelli B. Activity in vitro of resveratrol on granulocyte and monocyte adhesion to endothelium. *Am J Clin Nutr* 1998;68:1208-14
51. Fleegal MA, Sumners C. Angiotensin II induction of AP-1 in neurons requires stimulation of PI3-K and JNK. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;310(2):470-7
52. Flesch M., Schwarz A., Bohm M. Effects of red and white wine on endothelium-dependent vasorelaxation of rat aorta and human coronary arteries. *Am J Physiol* 275:H1183-1190, 1998
53. Fox SC., Behan M., Heptinstall S. Inhibition of ADP-induced intracellular Ca^{2+} responses and platelet aggregation by the $P2Y_{12}$ receptor antagonists AR-C69931MX and clopidogrel is enhanced by prostaglandin E_1 . *Cell Calcium* 2004;35:39-46

54. Fragopoulou E., Nomikos T., Antonopoulou S., Mitsopoulou C., Demopoulos C. Separation of biologically active lipids from red wine. *J Agric Food Chem* 2000;48:1234-1238
55. Freedman J., Parker C., Li L., Perlman J., Frei B., Ivanov V., Deak L., Iafrazi M., Folts J. Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibit platelet function and enhance nitric oxide release. *Circulation* 2001;103:2792-2798
56. Fremont L. Biological effects of resveratrol. *Life sciences* 2000;66(8):663-673
57. Fremont L., Belguendouz L., Delpal S. Antioxidant activity of resveratrol and alcohol-free wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fatty acids. *Life Sciences* 1999; 64 (26): 2511-2521
58. Froehlich M., Imhof A., Brenner H., Boeing H. Effect of alcohol consumption on systemic markers of inflammation. *Lancet* 2001; 357(9258):763-7
59. Fujita T., Adachi J., Ueno Y., Peters T., Preedy V. Chronic ethanol feeding increases 7-hydroperoxycholesterol and oxysterols in rat skeletal muscle. *Metabolism* 2002;51(6):737-742
60. Fukuda Y., Aoyama Y., Wada A., Igarashi Y. Identification of PECAM-1 association with sphingosine kinase 1 and its regulation by agonist-induced phosphorylation. *Biochim Biophys Acta* 2004;1636(1):12-21
61. Funayama H., Kubo N., Katayama T., Yasu T., Saito M., Kawakami M. Increases in interleukin-6 and matrix metalloproteinase-9 in the infarct-related coronary artery of acute myocardial infarction. *Circ J* 2004;68:451-454
62. Fuste B., Mazzara R., Escolar G., Merino A., Ordinas A., Ricart M. Granulocyte colony-stimulating factor increases expression of adhesion receptors on endothelial cells through activation of p38 MAPK. *Haematologica* 2004;89(5):578-85
63. Gaziano M., Goldhaber S., Rosner B., Hennekens C. Moderate alcohol intake, increased levels of HDL and its subfractions, and decreased risk of myocardial infarction. *NEJM* 1993;329:1829-1834
64. Gaziano M., Hennekens C., Godfried S., Sesso H., Glynn R., Breslow J., Buring J. Type of alcoholic beverage and risk of myocardial infarction *Am J Cardiol* 1999; 83: 52-27
65. Gehm BD., McAndrews JM, Chien PY, Jameson JL. Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the

- estrogen receptor. Proceedings of the national academy of sciences of USA 1997;94:14138-43
66. Gewaltig M., Kojda G. Vasoprotection by NO: mechanisms and therapeutic potential. Cardiovascular research 2002;55:250-260
 67. Glomset JA., Janssen ET., Kennedy R., Dobbins J. Role of plasma lecithin:cholesterol acyltransferase in the metabolism of high density lipoproteins. J Lipid Res 1966;7(5):639-48
 68. Goldin D., Ivan E., Johnson C., Magid R., Galis ZS. Remodeling of carotid artery is associated with increased expression of matrix metalloproteinases in mouse blood flow cessation model. Circulation 2000;102(23):2861-6
 69. Golino P., Ravera A., Ragni M., Cirillo P., Piro O. Involvement of tissue factor pathway inhibitor in the circulation of patients with acute coronary syndromes. Circulation 2003;108 (23):2864-9
 70. Gorinstein S., Zemser M., Lichman I., Berebi A., Kleipfish A., Libman I., Caspi A. Moderate beer consumption and the blood coagulation in patients with coronary artery disease. Journal of Internal Medicine 1997;241:47-51
 71. Govers R., Rabelink TJ. Cellular regulation of endothelial nitric oxide synthase. Am J Physiol 2001; 280:F193-F206
 72. Greenberg S., Ouyang J., Zhao X., Xie J., Wang J-F., Giles T. Interaction of ethanol with inducible nitric oxide synthase messenger RNA and protein: Direct effects on autacoids and endotoxin in vivo. JPET 1997; 282:1044-1054
 73. Gronbaek M., Deis A., Sorensen A., Becker U., Muller C. Influence of sex, age, body mass index and smoking on alcohol intake and mortality. BMJ 1994; 308:302-306
 74. Gronbaek M., Deis A., Sorensen T., Becker U., Schnohr P., Jensen G. Mortality associated with moderate intakes of wine, beer, or spirits. BMJ 1995;310:1165-1169
 75. Gronbaek M., Johansen D., Sorensen T., Becker U., Schnohr P., Jensen G., Hein H. Type of alcohol consumed and mortality from all causes, coronary heart disease and cancer. Ann Intern Med 2000;133:411-419
 76. Haim M., Tanne D., Boyko V. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and long-term risk of acute coronary events inpatients with chronic coronary heart disease:data from the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) study. J Am Coll Cardiol 2002;39:1133-8

77. Hashimoto M., Seungbum K., Masato E., Ako A., Yoshizumi M., Akishita M., Kondo K., Ouchi Y. Effect of acute intake of red wine on flow-mediated vasodilation of the brachial artery. *The American journal of cardiology* 88:1457-1459, 2001
78. Hendricks H., Veenstra J., Shaafsma G., Kluft C. Effect of moderate dose of alcohol with evening meal on fibrinolytic factors. *BMJ* 1994;308:1003-1006
79. Hendrickson RJ., Cahill PA., Sitzmann JV., Redmond EM. Ethanol induces basal and flow-stimulated nitric oxide synthase activity in vitro by activating an inhibitory guanine nucleotide-binding protein. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 289(3): 1293-300
80. Hirsh J., Anand SS, Halperin JL, Fuster V. Guide to anticoagulant therapy. Heparin: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 2001; 103:2994-3018
81. Hobbs SK, Monsky WL, Roberts WG, Griffith L, Torchilin VP, Jain RK. Regulation of transport pathways in tumor vessels: role of tumor type and microenvironment. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:4607-4612
82. Holmes-McNary M., Baldwin A. Chemo preventive properties of trans-resveratrol are associated with inhibition of activation of the I κ B kinase. *Cancer Research* 2000; 60:3477-3483
83. Holvoet M. Oxidation of LDL in the pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998;137(1):33-38
84. Horn TF., Wolf G., Duffy S., Weiss S., Keilhoff G. Nitric oxide promotes intracellular calcium release from mitochondria in striatal neurons. *FASEB* 2002;16(12):1611-22
85. Hsieh T., Juan G., Darzynkiewicz Z., Wu J. Resveratrol increases NOS, induces accumulation of p53 and p21 and suppresses cultured bovine pulmonary artery endothelial cell proliferation by perturbing progression through S and G₂. *Cancer Research* 1999; 59: 2596-2601
86. Iida M., Watanabe K., Tsurufuji M., Iizuka Y., Tsurufuji S., Takaishi K. Level of neutrophil chemotactic factor CINC/gro, a member of the interleukin-8 family, associated with LPS-induced inflammation in rats. *Infect. Immun.* 1992;60:1268-1272

87. Ivanov V., Carr A., Frei B. Red wine antioxidants bind to human lipoproteins and protect them from metal ion -dependent and independent oxidation. *J Agric Food Chem* 2001; 49:4442-4449
88. Jansen K., Mensink R., Cox F., Katan M. Effects of the flavonoids quercetin and apiganin on hemostasis in healthy volunteers: results from an in vitro and a dietary supplemnt study. *Am J Clin Nutr* 1998;67:255-262
89. Johansen K., Skorpe S., Olsen J., Osterud B. The effect of red wine on the fibrinolytic system and the cellular activation reactions before and after exercise. *Thrombosis Research* 1999;96:355-363
90. Jovin I., Willuweit A., Taborski U., Lehnhardt A., Schreiner K., Klovekorn W-P., Berghaus-Muller G. LDL induce the polar secretion of PAI-1 by endothelial cells in culture. *Am J of Hemat* 2003;73:66-68
91. Kanbagli O., Balkan J., Aykan-toker G., Uysal M. Hepatic mitochondrial prooxidant and antioxidant status in ethanol-induced liver injury in rats. *Biol Pharm Bull* 2002; 25(11):1482-1484
92. Kannagi R., Izawa M., Tetsurri K., Miyazaki K., Kimura N. Carbohydrate-mediated cell adhesion in cancer metastasis and angiogenesis. *Canc Sci* 2004;95(5):377-384
93. Kannel W., Ellison C. Alcohol and coronary heart disease: the evidence for a protective effect. *Clinica Chimica Acta* 1996;246:59-76
94. Kawano K., Ikeda Y., Kondo K., Umemura K. Sureriority of platelet integrin GPIIb-GPIIIa receptor antagonist over aspirin inpreventing cyclic flow reductions in the guinea pig middle cerebral artery. *European Journal of Pharmacology* 1999;374:377-385
95. Keevil J., Osman H., Reed J., Folts J. Grape juice but6 not orange juice or grapefruit juice, inhibits human platelet aggregation. *J Nutr* 2000;130:53-56
96. Keller J. Folts JD. Relative effects of cigarette smoke and ethanol on acute platelet thrombus formation in stenosed coronary arteries. *Cardiovasc Res* 1988;22:73-78
97. Kelm M., Preik M., Hafner DJ., Strauer BE. Evidence for multifactorial process involved in the impaired flow response to nitric oxide in hypertensive patients with endothelial dysfunction. *Hypertension* 1996; 27:346-53

98. Kerry N., Abbey M. Red wine and fractionated phenolic compounds prepared from red wine inhibit low density lipoprotein oxidation in vitro. *Atherosclerosis* 1997;135:93-102
99. Key TJA., Thorogood M., Appleby PN., Burr ML. Dietary habits and mortality in 11.000 vegetarians and health conscious people: results of a 17 year follow up. *BMJ* 1996;313:775-9
100. Khan BV., Harrison DG, Olbrych MT, Medford RM. Nitric oxide regulates vascular cell adhesion molecule 1 gene expression and redox-sensitive transcriptional events in human vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:9114-9119
101. Khan N., Lees D., Carrier M., Corder R. Comparison of red wine extract and polyphenol constituents on endothelin-1 synthesis by cultured endothelial cells. *Clinical science* 2002; 103:72-75
102. Kirk R., Deitch J., Wu J., Lerea K. Resveratrol decreases early signaling events in washed platelets but has little effect on platelet aggregation in whole blood. *Blood cells, Molecules and Diseases*. 2000;26(2):144-150
103. Klatsky A., Friedmann G., Armstrong M. Red wine, white wine, liquor, beer and risk for coronary artery disease hospitalisation. *Am J Cardiol* 1997; 80:416-420
104. Klatsky A., Friedmann G., Armstrong M., Kipp H. Wine, liquor, beer and mortality. *Am J Epidemiol* 2003; 158:585-595
105. Kobuchi H., Roy S., Sen C., Ngyen H., Packer L. Quercetin inhibits inducible ICAM-1 expression in human endothelial cells through the JNK pathway. *Am J Physiol* 1999;277: C403-C411
106. Koch O., De Leo M., Borrello S., Palombini G., Galeotti T. Ethanol treatment up-regulates the expression of mitochondrial manganese superoxide dismutase in rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1994;201(3):1356-1365
107. Kopp P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the "French paradox"?. *European Journal of Endocrinology* 1998;138:619-620
108. Kropp S., Becher H., Nieters A., Chang-Claude J. Low-to-moderate alcohol consumption and breast cancer risk by age 50 years among women in Germany. *Am J Epidemiol* 2001; 154: 624-34

109. Lacoste L., Hung J., Lam J. Acute and delayed antithrombotic effects of alcohol in humans. *Am J Cardiol* 2001;87:82-85
110. Lamping K. Interactions between NO and c AMP in the regulation of vascular tone. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:729-730
111. Laroia S., Ganti A.K., Laroia A., Tenduliar K. Endothelium and the lipid metabolism :the current understanding. *International journal of cardiology* 2003; 88:1-9
112. LavalleeM., Takamura M., Parent R., Thorin E. Crosstalk between endothelin and nitric oxide in the control of vascular tone. *Heart Fail Rev* 2001;6:265-276
113. Leikert j., Rathel T., Wohlfart P., Cheynier V. Red wine polyphenols enhance endothelial nitric oxide release from endothelial cells.*Circulation* 2002;106:1614-1617
114. Lenz S., Goldberg M., Labreche F. Association between alcohol consumption and postmenopausal breast cancer: results of a case-control study in Montreal, Quebec, Canada. *Cancer Causes and Control* 2002; 13:701-710
115. Liao F., Berliner JA., Mehrabian M., Navab M., Demer LL., Fogelman AM. Minimally modified low density lipoprotein is biologically active in vivo in mice. *J Clin Invest* 1991;87(6):2253-7
116. Lieber C. Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. *Clinica Chimica Acta* 1997;257:59-84
117. Locher R., Suter PM., Vetter W. Ethanol supresses smooth muscle cell proliferation in the postprandial state: a new antiatherosclerotic mechanism of ethanol? *Am J Clin Nutr* 1998; 67:338-341
118. Longnecker MP. Alcohol consumption and risk of cancer in humans: an overview. *Alcohol* 1995; 12(2):87-96
119. Mackness MI., Mackness B., Durrington PN. Paraoxonase and coronar heart disease. *Atheroscler Suppl.* 2002;3(4):49-55
120. MacNaul KL and Hutchinson NI. Differential expression of i NOS and c NOS m RNA in human smooth muscle cells and endothelial cells under normal and inflammatory conditions. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;196:1330-1334

121. Maiorano G., Bartolomucci F., Contursi V., Minenna FS., Di Mise R., Palasciano A., Allegrini B., Amoroso M., Kozakova M. Noninvasive detection of vascular dysfunction in alcoholic patients. *Am J Hypertens* 1999; 12:137-4
122. Malyszko J., Malyszko JS., Hryszko T., Mysliwiec M. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor in kidney transplant recipient with dyslipidemia. *Transplant Proc.* 2003;35(6):2219-21
123. Mann L., Folts J. Effects of ethanol and other constituents of alcoholic beverages on coronary heart disease: a review. *Pathophysiology* 2004; 10: 105-112
124. Manna SK., Aggarwal BB. Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF- κ B, AP-1 and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. *Journal of Immunology* 2000;164:6509-19
125. Mayan WG., Didion SP. Acute effects of ethanol on responses of cerebral arterioles. *Stroke* 1995; 26(11):2097-102
126. McConnell M., Vavouranakis I., Wu L., Vaughan D., Ridker P. Effects of a single, daily alcoholic beverage on lipid and hemostatic markers of cardiovascular risk. *The American Journal of Cardiology* 1997;80:1226-1228
127. McDonald M., Hughes M., Burns J., Lean M., Crozier A. Survey of the free and conjugated myricetin and quercetin content of red wines of different geographical origins. *J Agric Food Chem* 1998;46:368-375
128. Mennen L., Balkau B., Vol S., Caces E., Eschwege E. Fibrinogen a possible link between alcohol consumption and cardiovascular disease? *Arterioscle Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 887-892
129. Messberg S, Vogt F, Dickfeld T, Brand K, Page S, Gawaz M. Activated platelets trigger an inflammatory response and enhance migration of aortic smooth muscle cells. *Thromb Res* 2003;110(4):187-94
130. Michiels C. Endothelial cell functions. *Journal of cellular physiology* 2003; 196:430-443
131. Miller YI., Worrall DS., Funk CD., Feramisco JR. Actin polymerization in macrophages in response to oxidized LDL and apoptic cells:role of 12/15 -lipooxygenase and phosphoinositide 3-kinase. *Mol Biol Cell* 2003;14(10):4196-206

132. Minamiya Y., Saito S., Kalina U., Saito H., Terada K. Antithrombin III diminishes production of oxygen radical in endotoxin-infused rat lung. *Shock* 2004;21(2):139-143
133. Minana J., Lloret A., Pallardo F., Olmo J., Escudero A. Rodrigo J., Pellin A. Mitochondrial oxidative stress and CD95 ligand: a dual mechanism for hepatocyte apoptosis in chronic alcoholism. *Hepatology* 2002;35:1205-1214
134. Miyagi Y., Miwa K., Inoue H. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation by flavonoids in red wine and grape juice. *American Journal of Cardiology* 1997;80:1627-1631
135. Moon S-K., Cho G., Jung S., Gal S., Kwon T., Kim C. Quercetin exerts multiple inhibitory effects on vascular smooth muscle cells: role of ERK 1/2, cell-cycle regulation and matrix metalloproteinase-9. *BBRC* 2003; 301:1069-1078
136. Morand C., Crespy V., Manach C., Besson C., Demigne C., Remesy C. Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *Am J Physiol* 1998;275:212-9
137. Morel DW. Reduced cholesterol efflux to mildly oxidized high density lipoproteins. *Biochem Biophys Res Comm* 1994; 200:408-418
138. Mukamal K., Conigrave K., Mittleman M., Camargo C., Rimm E. Roles of drinking pattern and type of alcohol consumed in coronary heart disease in men. *N Engl J Med* 2003; 348:109-18
139. Mumakal K., Rimm E. Alcohol's effects on the risk for coronary heart disease. *National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism* 2004.
140. Murase T., Kume N., Hase T., Shibuya Y. Kita T. Gallates inhibit cytokine-induced nuclear translocation of NF-k B and expression of leukocyte adhesion molecules in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:1412-1420
141. Natella F., Belelli F., Gentili V., Ursini F., Scaccini C. Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans. *J Agric Food Chem* 2002 ;50 :7720-7725
142. Natella F., Ghiselli A., Guidi A., Ursini F., Scaccini C. Red wine mitigates the postprandial increase of LDL susceptibility to oxidation. *Free Radical Biology & Medicine* 2001;30(9):1036-1044

143. Nathan C. Inducible nitric oxide synthase: what difference does it make? *J Clin Invest* 1997;100:2417-2423
144. Navder K., Baraona E., Leo M., Lieber C. Oxidation of LDL in baboons is increased by alcohol and attenuated by polyenylphosphatidylcholine. *J Lipid Res* 1999;40:983-987
145. Ndiaye M., Chataigneau T., Andriantsitohaina R. Red wine polyphenols cause endothelium-dependent EDHF-mediated relaxations in porcine coronary arteries via a redox-sensitive mechanism. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2003;310:371-377
146. Ness AR, Powles JW. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *Int J Epidemiol* 1997; 26: 1-13
147. Newman E., Spratt DE., Moscher J., Cheyne B., Wilson DL., Weiberg JB., Smith SM., Salerno JC., Guillemette JG. Differential activation of nitric oxide synthase isoenzymes by calmodulin-troponin C chimeras. *J Biol Chem* 2004; [Epub ahead of print]
148. Nigdikar S. Williams N., Griffin B., Howard A. Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. *Am J Clin Nutr* 1998;68:258-65
149. Nishishita T., Lin PC. Angiopoietin 1 PDGF-B and TGF-beta gene regulation in endothelial cell and smooth muscle cell interaction. *J Cell Biochem* 2004; 91(3):584-93
150. Oeth P., Parry GNC, Mackman N. Regulation of the tissue factor gene in human monocytic cells. Role of AP-1, NF-k B/Rel and Sp1 proteins in uninduced and lipopolysaccharide-induced expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:365-74
151. Ohtsuka T., Kubota A., Hirano T., Watanabe K., Yoshida H. Glucocorticoid-mediated gene suppression of rat cytokine-induced neutrophil chemoattractant CINC/gro, a member of the interleukin-8 family, through impairment of NF- k B activation. *J Biol Chem* 1996;271:1651-1659
152. Olas B., Wachowicz B., Saluk-Juszczak J., Zielinski T. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on platelet activation induced by endotoxin or thrombin. *Thrombosis Research* 2002;107: 141-145

153. Omland T., Lie RT., Aakvaag A., Aarsland T., Dickstein K. Plasma endothelin determination as a prognostic indicator of 1-year mortality after acute myocardial infarction. *Circulation* 1994;89:1573-9
154. Orallo F., Alvarez E., Camina M., Leiro J., Gomez E. The possible implication of trans-resveratrol in the cardioprotective effects of long-term moderate wine consumption. *Mol Pharmacol* 2002; 61:294-302
155. Orpana P., Joensuu M. Leukocytes and platelets with cancer contain high levels of VEGF. *Clin Canc Res* 1999;5:487-91
156. Pace-Asciak C., Hahn S., Diamandis E., Soleas G., Goldberg D. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease. *Clinica Chimica Acta* 1995;235:270-219
157. Pace-Asciak C., Rounova O., Hahn S., Diamandis E., Goldberg D. Wine and grape juices as modulators of platelet aggregation in healthy human subjects. *Clinica Chimica Acta* 1996;246:163-182
158. Papanga G., Rice-Evans C. The identification of flavonoids as glucosides in human plasma. *FEBS Lett.* 401:78-82 1997
159. Pechanova O., Bertanova I., Pelouch V., Babal P. L-NAME-Induced protein remodeling and fibrosis in the rat heart. *Physiol Res* 1999;48:353-362
160. Pechanova O., Bertanova I., Pelouch V., Simko F. Protein remodelling of the heart in NO-deficient hypertension : the effect of catopril. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:3365-3374
161. Peet GW, Li J. IkappaB kinases alpha and beta show a random sequential kinetic mechanism and are inhibited by staurosporine and quercetin. *J Biol Chem* 1999;274:32655-61
162. Pendurthi U., Rao Mohan V. Resveratrol suppresses agonist-induced monocyte adhesion to cultured human endothelial cells. *Thrombosis Research* 2002; 106:243-248
163. Pendurthi U., Williams T., Rao V. Resveratrol, a polyphenolic compound found in wine, inhibits tissue factor expression in vascular cells. A possible mechanism for the cardiovascular benefits associated with moderate consumption of wine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:419-426
164. Pignatelli P., Pulcinelli F., Celestini A., Lenti L., Ghiselli A., Gazzaniga P., Violi F. The flavonoids quercetin and catechin synergistically

- inhibit platelet function by antagonizing the intracellular production of hydrogen peroxide. *Am J Clin Nutr* 2000;72: 1150-5
165. Pignatelli P., Pulcinelli F., Lenti L., Gazzaniga P., Violi F. Hydrogen peroxide is involved in collagen-induced platelet activation. *Blood* 1998;91(2):484-490
166. Porta E. Dietary modulation of oxidative stress in alcoholic liver disease in rats. *J Nutr* 1997;127:912-915
167. Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P. The endothelial surface layer. *Pflugers Arch* 2000;440:653-666
168. Ragni M., Golino P., Cirillo P., Ponticelli P., Ramunno L., Chiariello M. Endogenous tissue factor pathway inhibitor modulates thrombus formation in an in vivo model of rabbit carotid artery stenosis and endothelial injury. *Circulation* 2000;102:113-117
169. Rao M., Liu G-H., Marmillot P., Seeff L., Strader D., Lakshman M.R. HDL from human alcoholics exhibit impaired reverse cholesterol transport function. *Metabolism* 2000;49(11):1406-1410
170. Rao M., Marmillot P., Gong M., Palmer D., Seeff L., Strader D., Lakshman M. Light but not heavy alcohol drinking, stimulates paraoxonase by upregulating liver m RNA in rats and humans. *Metabolism* 2003;52(10):1287-1294
171. Ray C., Abbas M., Marshall J., Coney A. Interactions of adenosine, prostaglandins and nitric oxide in hypoxia-induced vasodilation: in vivo and in vitro studies. *Journal of physiology* 2002 544.1: 195-209
172. Read MA., Whitkey M. Williams AJ. NF-kappa B and I kappa Ba: an inducible regulatory system in endothelial activation. *J Exp Med* 1994;179:503-12
173. Rein D., Paglieroni T.G. Pearson D. Cocoa and wine polyphenols modulate platelet activation and function. *J Nutr* 2000;130:2120-2126
174. Reinke LA. Spin trapping evidence for alcohol-associated oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2002;32:953-957
175. Renaud S., de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992; 339:1523-1526
176. Renaud S., Gueguen R., Siest G. Wine beer and mortality in middle-aged men from eastern France. *Arch Intern Med* 1999; 159:1865-1870

177. Renaud S., Ruf J-C. Effects of alcohol on platelet functions. *Clinica Chimica Acta* 1996;246:77-89
178. Ridker P., Hennekens C., Stampfer M., Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998;351:88-92
179. Ridker P., Vaughan D., Stampfer M., Glynn R., Hennekens C. Association of moderate alcohol consumption and plasma concentration of endogenous tissue-type plasminogen activator. *JAMA* 1994;272:929-933
180. Rifici V., Schneider S., Khachadurian A. Lipoprotein oxidation mediated by J774 murine macrophages is inhibited by individual red wine polyphenols but not by ethanol. *J Nutr* 2002;132:2532-2537
181. Rifici V., Stephan E., Schneider S., Khachadurian A. Red wine inhibits the cell-mediated oxidation of LDL and HDL. *Journal of the American College of Nutrition* 1999;18(2):137-143
182. Rimm E., Klatsky A., Grobbee D., Stampfer M. Review of moderate alcohol consumption and reduced risk of coronary heart disease: is the effect due to beer, wine, or spirits? *BMJ* 1996; 312:731-736
183. Rimm E., Williams P., Foscher K., Criqui M., Stampfer M. Moderate alcohol intake and lower risk of coronary heart disease: meta-analysis of effects on lipids and haemostatic factors. *BMJ* 1999; 319: 1523-1528
184. Rohde L., Hennekens C., Ridker P. Survey of C-reactive protein and cardiovascular risk factors in apparently healthy men. *Am J Cardiol* 1999;84:1018-1022
185. Rubanyi G.M., Vanhoutte P.M. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 1986;250: H822-H827
186. Ruf J-C, Berger J-L., Renaud S. Platelet rebound effect of alcohol withdrawal and wine drinking in rats. Relation to tannins and lipid peroxidation. *Arterioscl Thromb and Vasc Biol* 1995;15:140-144
187. Ruggeri Z., Dent J., Saldivar E. Contribution to distinct adhesive interaction to platelet aggregation in flowing blood. *Blood* 1999;94(1):172-78
188. Rumpler W., Clevidence B., Muesing R., Rhodes D. Changes in women's plasma lipid and lipoprotein concentrations due to moderate

- consumption of alcohol are affected by dietary fat level. *J Nutr* 1999;129:1713-1717
189. Russo G., Leopold S., Lascenzo J. Vasoactive substances: NO and endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Vascular pharmacology* 2002; 38:259-269
190. Sanchez-Moreno C., Jimenez-Escrig B., Saura-Calixto F. Study of low density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols. *Nutr Rev* 2000;20:941-953
191. Sands WA., Clark JS., Liew FY. The role of a phosphatidylcholine-specific phospholipase C in the production of diacylglycerol for nitric oxide synthesis in macrophages activated by INF- γ and LPS. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;199:461-6
192. Sazonova IY., Robinson BR., Gladysheva IP., Castellino FJ. Alpha domain deletion converts streptokinase into a fibrin-dependent plasminogen activator through mechanisms akin to staphylokinase and tissue plasminogen activator. *J Biol Chem* 2004;[Epub ahead of print]
193. Scalbert A., Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 2000;130:2073-2085
194. Schiffrin E. Beyond blood pressure: the endothelium and atherosclerosis progression. *AJH* 2002; 15:115-122
195. Schubert S., Neeman I., Resnick N. A novel mechanism for the inhibition of NF- κ B activation in vascular endothelial cells by natural antioxidants. *FASEB* 2002;1931-1933
196. Segarra G., Medina P., Vila JM., Chuan P., Domenech C., Torondel B., Lluich A. Inhibition of nitric oxide activity by arginine analogues in human renal arteries. *Am J Hypertens* 2001;14:1142-8
197. Selwyn A. Prothrombotic and antithrombotic pathways in acute coronary syndromes. *Am J Cardiol* 2003; 91(suppl):3-11
198. Semenza G. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J Appl Physiol* 2000;88:1474-1480
199. Serafini M., Laranjinha J., Almeida L., Maiani G. Inhibition of human LDL lipid peroxidation by phenol-rich beverages and their impact on plasma total antioxidant capacity in humans. *J Nutr Biochem* 2000; 11:585-590

200. Serafini M., Maiani G., Ferro-Luzzi A. Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *J Nutr* 1998; 128:1003-1007
201. Shan PK., Falk E., Badimon JJ., Fernandez-Ortiz A., Villareal-Levy G., Fallin JT., Regnstrom J., Fuster V. Human monocyte-derived macrophages induce collagen breakdown in fibrous caps of atherosclerotic plaques. Potential role of matrix-degradating metalloproteinases and implications for plaque rupture. *Circulation* 1995;92(6):1565-9
202. Shanmuganayagam D., Beahm M., Osman H., Krueger C., Reed J., Folts J. Grape seed and grape skin extracts elicit a greater antiplatelet effect than when used individually in dogs and humans. *J Nutr* 2002;132:3592-3598
203. Shi W., Haberland ME., Jien ML., Shi DM., Lusis AJ. Endothelial responses to oxidised lipoproteins determine genetic susceptibility to atherosclerosis in mice. *Circulation* 2000;102(1):75-81
204. Sillanauke P., Koivula T., Jokela H., Pitkajarvi T., Seppa K. Alcohol consumption and its relation to lipid-based cardiovascular risk factors among middle-aged women: the role of HDL₃ cholesterol. *Atherosclerosis* 2000;152:503-510
205. Slomiany BL., Piotrowski J., Slomiany A. Role of endothelin-1 and interleukin-4 in buccal mucosal ulcer healing: effect of chronic alcohol ingestion. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;257(2):373-7
206. Smalley D., Lin J., Curtis M., Kobari Y., Stemerman M., Kirkwood A., Pritchard J. Native LDL increases endothelial cell adhesiveness by inducing intercellular adhesion molecule-1. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1996;16:585-590
207. Soleas G., Diamandis E., Goldberg D. Resveratrol: a molecule whose time has come? And gone? *Clinical biochemistry* 1997;30(2): 91-113 (b)
208. Soleas G., Diamandis E., Goldberg D. Wine as a biological fluid: history, production and role in disease prevention. *Journal of clinical laboratory analysis* 1997; 11:287-313 (a)
209. Spyridopoulos I., Wischhusen J., Rabenstein B., Mayer P., Axel D., Frohlich K-U., Karsch K. Alcohol enhances oxysterol-induced apoptosis in human endothelial cells by a calcium-dependent mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:439-444

210. Stein J., Keevil J., Wiebe D., Aeschlimann S., Folts J. Purple grape juice improves endothelial function and reduces the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1999;100:1050-1055
211. StewartJR., Ward NE., Ioannides CG., O' Brian CA. Resveratrol preferentially inhibits protein kinase C-catalysed phosphorylation of a cofactor-independent, arginine-rich protein substrate by a novel mechanism. *Biochemistry* 1999;38:13244-51
212. Sun H., Mayan W. Temporal effect of alcohol consumption on reactivity of pial arterioles: role of oxygen radicals. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280:H992-H1001
213. Takamo-Ishikawa Y., Goto M., Yamaki K. Inhibitory effects of several flavonoids on E-selectin expression on human umbilical vein endothelial cells stimulated by tumor necrosis factor- α . *Phytother. Res.* 2003;17:1224-1227
214. Tamura Y., Osuga JI., Adachi H., Tozawa RI., Ohashi K., Kadowaki T., Tsujimoto M., Arai H., Yamada N. Scavenger receptor expressed by endothelial cells-I mediates the uptake of acetylated LDL by macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *J Biol Chem* 2004; [Epub ahead of print]
215. Thogersen A., Jansson J., Boman K., Nilsson TK., Weinehall L/ High plasminogen activator inhibitor levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women: evidence for the fibrinolytic system as an independent primary risk factor. *Circulation* 1998;98:2241-7
216. Thun M., Peto R., Lopez A., Monaco J., Henley J., Heath C., Doll R. Alcohol consumption and mortality among middle-aged and elderly U.S. adults. *The New England Journal of Medicine* 1997;337:1705-1714
217. Tjonneland A. Gronbaek M., Stripp C., Overvad K. Wine intake and diet in a random sample of 48763 Danish men and women. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 49-54
218. Tomera J. Current knowledge of the health benefits and disadvantages of wine consumption. *Trends in food science&technology* 1999; 10:129-138
219. Trepakova S., Cohen RA, Bolotina VM. Nitric oxide inhibits capacitative cation influx in human platelets by promoting sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca-ATPase-dependent refilling of Ca stores. *Circ Res* 1999;84:201-209

220. Trevithick C.C. Vinson J.A., Caulfeild J., Rahamn F., Derksen T., Bocksch L., Homg S., Stefan A., Teufel K., Wu N., Hirst M., Trevithick J.R. Is ethanol an important antioxidant in alcoholic beverages associated with risk reduction of cataract and atherosclerosis? *Redox Report* 1999;4(3):89-93
221. Trotti R., Carratelli M., Bo P., Rondanelli M., Micieli G., Bosone D. Oxidative stress and thrombophilic condition in alcoholics without severe liver disease. *Haematologia* 2001;86:85-91
222. Truelsen T., Gronbaek M., Schnohr P., Boysen G. Intake of beer, wine, and spirits and risk of stroke. The Copenhagen City Heart Study. *Stroke* 1998; 29:2467-2472
223. Ulbright TLV., Southgate DAT. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 1991;338:985-992
224. Utkan T. Yildiz F., Ilbay G., Ozdemirel S., Faruk B., Gacar N., Ulak G. Blood pressure and vascular reactivity to endothelin-1, phenylephrine, serotonin KCL and acetylcholine following chronic alcohol consumption in vitro. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 2001;15:157-165
225. Van de Wiel A., Van Golde P.M., Kraaijenhagen R.J., von dem Borne P., Bouma B., Hart H.C. Acute inhibitory effect of alcohol on fibrinolysis. *European Journal of Clinical Investigation* 2001;31:164-170
226. Van der Gaag M., van Tol A., Scheek L., James R., Urgert R., Schaafsma G/. Handriks H. Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity; a diet-controlled, randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1999; 147: 405-410
227. Van der Gaag M.S., van Tol A., Vermunt F., Scheek M., Schaafsma G., Hendriks H.F.J. Alcohol consumption stimulates early steps in reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 2001;42:2077-2083
228. van der Gaag MS., Ubbink JB., Sillanaukee P., Nikkari S. Moderate consumption of red wine, beer and spirits on serum homocysteine. *Lancet* 2000; 355:1522-1529
229. Van Dieijen G., Tans G., Rosing J., Hemker C. The role of phospholipids and factor VIII_a in the activation of bovine factor X. *The Journal of Biological Chemistry* 1981;256(7):3433-3442

230. Van Golde P., Kraaijenhagen R., Bouma B., van de Weil A.. No acute effect of red wine on the coagulation pathway in healthy men. *Alcohol* 2003;29:183-186
231. Van Golde P., Sloots L., Vermeulen W., Wielders J., Hart H., Bouma B., van de Wiel. The role of alcohol in the anti low density lipoprotein oxidation activity of red wine. *Atherosclerosis* 1999;147:365-370
232. Vander A., Sherman J., Luciano D., Τσακόπουλος Μ. (2001) *Φυσιολογία του ανθρώπου*, Αθήνα: ιατρικές εκδόσεις Πασχαλίδης
233. Verma S., Anderson T. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation* 2002; 105:546-549
234. Vermeulen EGJ, Stehouwer CDA., Twisk JWR., van der Berg M., de Jong SC., Mackaay AJC. Effect of homocysteine-lowering treatment with folic acid plus vitamin B₆ on progression of subclinical atherosclerosis: a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2000;355:517-522.
235. Vollset SE., Refsum H., Tell GS., Veland PM., Nygard O. Plasma levels of homocysteine and cardiovascular and noncardiovascular mortality: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 2001 Jul; 74(1):130-6
236. Wadsworth T., Koop D. Effects of the wine polyphenolics quercetin and resveratrol on pro-inflammatory cytokine expression in RAW 264.7 macrophages. *Biochemical Pharmacology* 1999;57:941-949
237. Wallerath T., Deckert G., Ternes T., Anderson H. Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin present in red wine, enhances expression and activity of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2002;106:1652-1658
238. Wallerath T., Poleo D., Huige L., Fostermann U. Red wine increases the expression of human endothelial nitric oxide synthase. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:471-8
239. Wannamethee SG., Lowe GD., Shaper G., Whincup P., Rumley A., Lennon L. The effects of different alcoholic drinks on lipids, insulin and hemostatic and inflammatory markers in older men. *Thromb Haemost* 2003; 90(6):1080-7
240. Weiping Fu., Brian S., Lin P., Lumsden A., Yao Q., Chen C. Red wine prevents homocysteine-induced endothelial dysfunction in porcine coronary arteries. *Journal of surgical Research* 2003;115: 82-91

241. Whitehead TP., Robinson D., Allaway S., Syms J., Hale A. Effect of red wine ingestion on the antioxidant capacity of serum. *Clin Chem* 1995;41:32-35
242. Wilansky M., Gokce N., Keaney J., Vita J. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42:1149-1160
243. Wilcox JN., Subramanian RR., Sundell CL., Tracey WR., Pollock JS., Harrison DG, Marsden PA. Expression of multiple isoforms of nitric oxide synthase in normal and atherosclerotic vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17:2479-2488
244. Williams M., Sutherland W., Whelan A., McCormick M., Jong S. Acute effect of drinking red and white wines on circulating levels of inflammation-sensitive molecules in men with coronary artery disease. *Metabolism* 2004; 53(3): 318-323
245. World Health Organization. The WHO MONICA Report: a world-wide monitoring system for cardiovascular disease. In : *World Health Statistics Annual*. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1989:27-59
246. Xia J., Allenbrand B., Sun G. Dietary supplementation of grape polyphenols and chronic ethanol administration on LDL oxidation and platelet function in rats. *Life Sciences* 1998;63(5):383-390
247. Xie Q-W., Kashiwabara Y., Nathan C. Role of the transcription factor NF-k B/Rel in induction of nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 1994;269: 4705-4708
248. Yokohama M. Oxidant stress and atherosclerosis. *Curr Opin Pharmacol.* 2004;4(2):110-5
249. Zampelas A., Giapappa Th. The effect of antioxidant vitamins on cardiovascular diseases. A critical review. *Iatriki* 2000; 77(6):519-
250. Zenebe W., Pechanova O., Andriantsitohaina R. Red wine polyphenols induce vasorelaxation by increased nitric oxide bioactivity. *Physiol. Res.* 2003; 52:425-432
251. Zhang X., Hintze T. cAMP signal transduction cascade, a novel pathway for the regulation of endothelial nitric oxide production in coronary blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:797-803

252. Zima T., Fialova L., Mestek O., Janebova M., Crkovska J., Malbohan I., Stipek S., Mikulikova L., Popov P. Oxidative stress, metabolism of ethanol and alcohol-related diseases. J Biomed Sci 2001;8:59-70
253. Αλεξιάκης Α. Το κρασί και η παραγωγή του. Αθήνα:Εκδόσεις Μ. Σιδέρη, 2003
254. Ανδρικόπουλος. Χημεία και τεχνολογία τροφίμων. Καλλιθέα, 1998
255. Δημόπουλος Κ., Αντωνοπούλου Σ. Βασική βιοχημεία. Αθήνα, 2000.
256. Μαρμαράς. Βιολογία του κυττάρου. Εκδόσεις Τυποrama. Πάτρα, 2000.
257. Μουτσόπουλος Χ., McPhee Stephen (2002) *Παθολογική φυσιολογία*, Αθήνα: ιατρικές εκδόσεις Λίτσας

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΡΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΖΙ ΕΑΙ
ΕΥΔΟΘΗΛΙΑΚΗ...

ΠΤΥ ΣΗΦ

ΣΗΦΑΚΑΚΗ Μ.

0984

10058

**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



★ 1 2 9 8 4 ★