

Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής

Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

Εφαρμοσμένη Διαιτολογία-Διατροφή

Προοπτική γενετική μελέτη ασθενών μετά από οξύ
στεφανιαίο επεισόδιο



Μαργαρίτης Στράτος

Αθήνα 2016

Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής

Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών

Εφαρμοσμένη Διαιτολογία-Διατροφή

Προοπτική γενετική μελέτη ασθενών μετά από οξύ
στεφανιαίο επεισόδιο

Μαργαρίτης Στράτος

Επιβλέπων και μέλη:

Δεδούσης Γιώργος, Καθηγητής Κυτταρικής και Μοριακής
Βιολογίας του Ανθρώπου

Γιαννακούρης Νικόλας, Αναπληρωτής Καθηγητής Λειτουργική
Βιολογίας – Ορμονικός έλεγχος μεταβολισμού

Ραλλίδης Λουκιανός, Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας,
ΕΚΠΑ

Αθήνα 2016

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή Γεώργιο Δεδούση, καθηγητή κυτταρικής και μοριακής Βιολογίας του τμήματος της Διαιτολογίας του Χαροκόπειου πανεπιστημίου, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με τη συμμετοχή μου σε αυτή την έρευνα, και για τα όσα έμαθα κατά την πορεία της.

Ευχαριστώ επίσης θερμά την υποψήφια διδάκτορα του τμήματος της Διαιτολογίας του Χαροκοπείου, Έφη Γρηγορίου, χωρίς τη συνεργασία της οποίας δεν θα μπορούσα να κάνω ούτε το πρώτο βήμα σε αυτή την έρευνα. Ήταν εκεί όποτε χρειαζόμουν βοήθεια, για αυτό την ευχαριστώ.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω και την Κωνσταντίνα Κελαϊδώνη, προπτυχιακή του τμήματος βιολογικών εφαρμογών και τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για την ιδανική συνεργασία, και την επιστημονική ανασκόπηση της έρευνας. Καθώς έρευνα χωρίς την επιστημονική κατανόηση αυτού που κάνει ο ερευνητής, είναι άλλη μια τεχνική διαδικασία.

Αφιερωμένη σε όλους όσους

με βοήθησαν να φτάσω να γράφω όσα γράφω,

κι ας μην ξέρουν ότι χωρίς αυτούς δεν θα τα έγραφα

Περιεχόμενα

1.Περίληψη	1
1.1.Λέξεις κλειδιά.....	3
2.Εισαγωγή.....	4
2.1.Ο καρδιακός ιστός.....	5
2.2.Αθηρωμάτωση	6
2.2.1.Σχηματισμός της αθηρωματικής πλάκας	6
2.2.2.Στάδια της αθηροσκλήρωσης	7
2.2.3.Πως αναπτύσσεται η αθηροσκλήρωση	8
Μια σταθερή πλάκα μπορεί να εξελιχθεί σε ασταθή, ευάλωτη πλάκα. Η ευάλωτη πλάκα είναι επιρρεπής σε ρήξη και μπορεί να αποτελέσει την θέση σχηματισμού θρόμβου. Οι ευάλωτες πλάκες έχουν, συγκριτικά λεπτότερες ινώδεις κάψες, αυξημένες ποσότητες ενζύμων αποδόμησης της θεμέλιας ουσίας και μεγάλους, πλούσιους σε λιπίδια, πυρήνες..	8
2.2.4.Κύρια όργανα-στόχοι της αθηροσκλήρωσης.....	9
2.3.Καρδιαγγειακά νοσήματα.....	9
2.3.1.Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο.....	10
2.3.2.Ρευματική καρδιοπάθεια.....	10
2.3.3.Πνευμονική εμβολή	11
2.3.4.Συγγενείς καρδιοπάθειες.....	11
2.3.5.Περιφερική αγγειακή νόσος	11
2.3.6.Στεφανιαία νόσος.....	12
2.4.Επιδημιολογία καρδιαγγειακών νοσημάτων.....	15
2.5.Παράγοντες κινδύνου για τα καρδιαγγειακά νοσήματα.....	17
2.5.1.Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου	18
2.5.2.Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου	18
2.5.3.Κοινωνικοί παράγοντες.....	22
2.6.Εργαλεία πρόγνωσης και κατανόησης του καρδιαγγειακού κινδύνου.....	22
2.6.1. Healthy dieting indicator	22
2.6.2.MedDietScore (MDS).....	23

2.6.3.Hellenic risk score.....	24
2.7.Γενετική προδιάθεση	25
2.7.1.Αλληλούχιση και γονοτύπηση	26
2.7.2.Μοριακή γενετική και ΚΝ.....	26
3.Μεθοδολογία	34
3.1.Το δείγμα της μελέτης	34
3.2.Σχεδιασμός της έρευνας	34
3.3.Συλλογή δεδομένων.....	35
3.3.1.Ανθρωπομετρικά δεδομένα.....	36
3.3.2.Κλινικά δεδομένα.....	36
3.2.3.Ερωτηματολόγιο τρόπου ζωής	36
3.3.4.Καπνιστικές συνήθειες.....	36
3.2.5.Ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας	36
3.2.6.Διατροφικές συνήθειες.....	37
3.2.7.Ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων	37
3.2.8.Ερωτηματολόγιο για την υγεία.....	37
3.2.9.Ερωτηματολόγιο του επανέλεγχου	38
3.2.10.Αιματολογικές εξετάσεις.....	38
3.2.11.Διαχείριση βιολογικών δειγμάτων.....	38
3.4.Ποιοτικός έλεγχος (quality control-QC)	40
3.4.1.Ποιοτικός έλεγχος των αποτελεσμάτων της γονοτύπησης	40
3.4.2.Ποιοτικός έλεγχος σε επίπεδο πολυμορφισμών	44
3.5.Γονοτύπηση.....	46
3.6.Στατιστική επεξεργασία δεδομένων.....	47
4.Αποτελέσματα.....	49
4.1.Χαρακτηριστικά του δείγματος.....	49
4.2.Χαρακτηριστικά συννοσηρότητας στο δείγμα.....	50
4.2.1.Δείκτης μάζας σώματος	50
4.2.2.Συνοδά νοσήματα	50

4.2.3.Οικογενειακό ιστορικό	50
4.3.Τρόπος ζωής και ψυχολογικοί παράγοντες	51
4.3.1.Κάπνισμα	51
4.3.2.Άσκηση	52
4.3.3.Ώρες ύπνου και τηλεθέασης	52
4.3.4.Άγχος και ψυχολογική κατάσταση μετά το επεισόδιο	52
4.4.Διατροφή	53
4.4.1.Διατροφικά στοιχεία	53
4.4.2.MDS	54
4.5.Hellenic risk score	55
4.6.Χαρακτηριστικά του δείγματος του επανελέγχου	56
4.7.Γενετικά αποτελέσματα	57
4.7.1.Χαρακτηριστικά του δείγματος	57
4.7.2.Συχνότητες γνωστών παραγόντων κινδύνου για έμφραγμα του μυοκαρδίου/ καρδιαγγειακά νοσήματα	58
4.7.3.Διαστρωμάτωση δείγματος	61
5.Συζήτηση	63
6.Βιβλιογραφία	69
Παράρτημα – πίνακες και εικόνες	74

1.Περίληψη

Εισαγωγή και σκοπός: Τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι η πρώτη αιτία θανάτου παγκοσμίως, όπως και στη χώρα μας. Περιβαλλοντικοί και γενετικοί παράγοντες, επηρεάζουν την εμφάνιση αλλά και την εξέλιξη της νόσου. Η παρούσα μελέτη έχει σκοπό να αναγνωρίσει γενετικούς δείκτες οι οποίοι σχετίζονται με την καρδιαγγειακή νόσο και ειδικά με το έμφραγμα του μυοκαρδίου και να εντοπίσει παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την εμφάνιση της νόσου όπως η συννοσηρότητα και η διατροφή.

Υλικά και Μέθοδοι: Στην μελέτη εντάχθηκαν ασθενείς που νοσηλεύθηκαν για ΟΕΜ. Μέσω ερωτηματολογίου συλλέχθηκαν στοιχεία που αφορούσαν ανθρωπομετρικά δεδομένα, κλινικά δεδομένα, τον τρόπο ζωής, τις καπνιστικές συνήθειες, τη φυσική δραστηριότητα, τις διατροφικές συνήθειες και την ψυχολογική κατάσταση. Από κάθε ασθενή απομονώθηκαν βιολογικά δείγματα, τα οποία γονοτυπήθηκαν και αναλύθηκαν συγκεκριμένοι πολυμορφισμοί στο γονιδίωμα.

Αποτελέσματα: Ανάμεσα στους ασθενείς βρέθηκε μεγάλο ποσοστό αντρών, σημαντική συννοσηρότητα σε υπερλιπιδαιμία, υπέρταση και ΣΔ2, υψηλά επίπεδα υπέρβαρου-παχύσαρκου, μεγάλο ποσοστό καπνιστών, μεγάλο ποσοστό οικογενειακού ιστορικού καρδιαγγειακών νοσημάτων, αρκετά μειωμένη φυσική δραστηριότητα και μια μέτρια διατροφική εικόνα με μέτρια προσκόλληση στη Μεσογειακή δίαιτα. Αναλύθηκαν 27 πολυμορφισμοί, οι οποίοι σχεδόν στο σύνολό τους είχαν ίδια συχνότητα με την έρευνα THISEAS που πραγματοποιήθηκε κι αυτή στον ελληνικό πληθυσμό. Τα περισσότερα γονίδια που αφορούσαν οι πολυμορφισμοί, βρέθηκαν να επαναλαμβάνονται σε μεγάλο βαθμό και σε άλλες μεγάλες και πολυκεντρικές μελέτες. Στο στάδιο του επανελέγχου, ένα ποσοστό κοντά στο 20% επανανοσηλεύθηκε μέσα στο πρώτο εξάμηνο λόγω καρδιαγγειακού επεισοδίου.

Συμπεράσματα: Λόγω του μικρού δείγματος δεν εξήχθη κάποιο στατιστικό αποτέλεσμα και στην ανάλυση διαστρωμάτωσης δεν βρέθηκε γενετική υποκατηγοριοποίηση όσων υπέστησαν 2^ο επεισόδιο. Στο σημείο αυτό, κι ενώ η συνολική έρευνα είναι εν εξελίξει, φαίνεται ότι η γενετική προδιάθεση είναι καθοριστική για την εμφάνιση και εξέλιξη της ΚΝ αλλά είναι απαραίτητη η διερεύνηση του γενομικού υποβάθρου, δηλαδή των προτύπων μεθυλίωσης και του RNA, για να εξαχθεί ένα πιο στέρεο συμπέρασμα.

Λέξεις κλειδιά: Καρδιαγγειακά νοσήματα, οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, στεφανιαία νόσος, πολυμορφισμός ενός νουκλεοτιδίου, μεσογειακή δίαιτα

Abstract

Introduction and purpose: Coronary artery disease (CAD) is the commonest cause of death, which is also true in our country. Environmental and genetic factors affect the appearance and evolution of the disease. The current study aims to identify genetic markers which are associated with the cardiovascular disease and specifically with the myocardial infarction (MI) and to define risk factors which are related to the disease like the comorbidity and the diet.

Materials and methods: In this study are included patients that were hospitalized for MI. Through questionnaire were collected anthropometric, clinical, lifestyle, smoking habits, physical activity, dietary and psychological data. From each patient were isolated biological samples, which were genotyped and analyzed specific SNPs in the genome.

Results: Among the patients were found a high percentage of: men, hypertension, hyperlipidaemia, diabetes type 2, overweight-obese, smokers, CAD family history. Also the patients had reduced physical activity levels and a mediocre dietary image with a moderate adherence to the Mediterranean diet. Twenty seven SNPs were analyzed, and almost all of them had the same frequency with the THISEAS study, that has taken place also in Greece. The most genes concerning those SNPs, were found also in large multicentre studies. At the 2nd phase (follow up), a percentage approximately of 20% was re-hospitalized within the first 6 months for CAD/MI event.

Conclusion: Due to the small sample there was no statistical result and at the Principal component analysis there was not found any genetical stratification for those who had a second CAD/MI event. At this point, and while the general study is in progress, we can presume that the genetic predisposition plays a key role to the appearance and development of the disease, but it is necessary to investigate the genomic background, ie methylation patterns and RNA, to extract a more solid conclusion.

Key words: cardioartery disease, myocardial infarction, coronary heart disease, single nucleotide polymorphism, Mediterranean diet

1.1.Λέξεις κλειδιά

DNA: δεοξυριβονουκλεοτιδικό οξύ

GWAS: μελέτη σάρωσης ανθρώπινου γονιδιώματος

HDL: high density lipoprotein

LDL: low density lipoprotein

MAF: minor allele frequency

MDS: MedDietScore

RNA: ριβονουκλεοτιδικό οξύ

SNP: πολυμορφισμός ενός μόνο νουκλεοτιδίου

WHO: παγκόσμιος οργανισμός υγείας

AEE: αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο

ΑΠ: αρτηριακή πίεση

ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος

ΕΜ: έμφραγμα του μυοκαρδίου

ΚΝ: καρδιαγγειακά νοσήματα

ΟΕΜ: οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου

ΟΣΣ: οξεία στεφανιαία σύνδρομο

ΣΔ: σακχαρώδης διαβήτης

ΣΝ: στεφανιαία νόσος

ΣΣ: στεφανιαία σύνδρομο

2.Εισαγωγή

Η καρδιά είναι ίσως το πιο σκληρά εργαζόμενο όργανο σε όλο μας το σώμα. Εκκινεί να εργάζεται απ την 6^η βδομάδα της εγκυμοσύνης και τελειώνει τη βάρδιά της μόνο με το θάνατο, και σε όλο το ενδιάμεσο δεν σταματάει να χτυπάει. Σαν να μην έφταναν οι ώρες εργασίας της, της ανατέθηκε η τροφοδοσία ενός γιγαντιαίου δικτύου από αγγεία, αρτηρίες, φλέβες και τα τριχοειδή τους ανάλογα, το οποίο πρέπει την κάθε στιγμή να εφοδιάζει με φρέσκο αίμα. Αυτό τον ηράκλειο άθλο τον επιτυγχάνει μέσω πολλών προσαρμογών που χουν γίνει κατά τη διάρκεια της εξέλιξης. Έτσι βλέπουμε για παράδειγμα τα έντομα να έχουν αιμολέμφο, το σαλιγκάρι να χει δίχωρη καρδιά με ανοιχτό σύστημα, τα ψάρια να χουν δίχωρη καρδιά με κλειστό αγγειακό σύστημα, τα αμφίβια κι ερπετά να έχουν τρίχωρη ενώ τα θηλαστικά και τα πτηνά να χουν τετράχωρη καρδιά. Επιπλέον βλέπουμε το σχηματισμό μιας επιπλέον κυκλοφορίας, της στεφανιαίας, για να εξυπηρετήσεις τις αυξημένες απαιτήσεις του καρδιακού μυός για ανταλλαγή αερίων και θρεπτικών/μεταβολικών προϊόντων. Και αυτά είναι μόνο η μεγάλη εικόνα, την οποία άμα την αναλύσουμε θα δούμε εξαιρετικές προσαρμογές όσων αφορά την μυϊκή ανατομία αλλά και τη νεύρωση της καρδιάς.

Απ την μια λοιπόν έχουμε ένα δυσβάσταχτο πρόγραμμα εργασίας, κι απ την άλλη έχουμε άπλετα δώρα απ την πλευρά της φυσικής επιλογής. Και μπορεί στο μεγαλύτερο μέρος του βίου (και άρα της αναπαραγωγικής ηλικίας) να υπερισχύει το καλό μέρος της πλάστιγγας, αλλά η κόπωση είναι μοιραία. Έτσι έχουμε τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα, που συνδέονται με την καρδιά, να είναι πρώτες παγκοσμίως, με πάνω από 20 εκατομμύρια νεκρούς παγκοσμίως κάθε χρόνο. Κι απ την μία είναι ο θάνατος που είναι απόλυτος, απ την άλλη όμως είναι η νοσηρότητα η οποία αλλάζει άρδην την ποιότητα ζωής του ασθενούς, και τον καθλώνει σε μια κατάσταση μόνιμης επιφυλακής και φόβου.

Οι αιτίες που οδηγούν στο να γύρει η πλάστιγγα προς τη νόσο, δεν είναι φυσικά ο χρόνος ο ίδιος, αλλά οι παράγοντες που εξελίσσονται στο χρόνο. Έτσι όπως είναι το σωστό κι όπως συνηθίζεται, χωρίζουμε αυτούς τους παράγοντες σε τροποποιήσιμους και σε μη τροποποιήσιμους. Ένας άλλος διαχωρισμός θα μπορούσε να ναι το να διακρίνουμε τους περιβαλλοντικούς απ τους γονοτυπικούς παράγοντες. Για την

εκδήλωση δηλαδή της ασθένειας, μπορεί να φταίει ένα “κακό” ή καλύτερα προδιαθεσικό πακέτο γονιδίων που κληρονομήσαμε, αλλά θα συμβάλλει καθοριστικά, για παράδειγμα, και το καθημερινό και μόνιμο άγχος των σύγχρονων κοινωνιών. Απ την μία όμως η ανάλυση του περιβαλλοντικού παράγοντα είναι πιο ευκρινής, με τα σωστά αναλυτικά εργαλεία πάντα, απ την άλλη η γονοτυπική συμμετοχή δεν είναι κάτι τόσο εύκολο να συγκεκριμενοποιηθεί.

Επίσης κάτι που δεν πρέπει να ξεχνάμε, καθώς ποτέ μια έρευνα δεν είναι ανεξάρτητη του χώρου και του χρόνου στα οποία πραγματοποιείται, είναι η κοινωνικο-οικονομική κατάσταση της Ελλάδας τα τελευταία 5 χρόνια. Το υπόστρωμα αυτό, και μόνο λογικά σκεπτόμενοι, επάγει από λίγο έως υπερβολικά τους παράγοντες κινδύνου για τα ΟΣΣ.

2.1.Ο καρδιακός ιστός

Η καρδιά είναι ένα μυϊκό όργανο που περικλείεται από έναν ινώδη σάκο, το περικάρδιο και βρίσκεται στο θώρακα. Ο στενός χώρος μεταξύ του περικαρδίου και της καρδιάς είναι γεμάτος με ένα υδατώδες υγρό το οποίο παίζει το ρόλο λιπαντικού καθώς η καρδιά μετατοπίζεται μέσα στο σάκο.

Τα τοιχώματα της καρδιάς αποτελούνται κύρια από κύτταρα καρδιακού μυός και ονομάζεται μυοκάριο. Η καρδιά χωρίζεται σε δεξιό και αριστερό ημιμόριο, εκ των οποίων το καθένα αποτελείται από έναν κόλπο και μια κοιλία. Μεταξύ του κόλπου και της κοιλίας σε κάθε ημιμόριο της καρδιάς βρίσκονται οι κολποκοιλιακές βαλβίδες, οι οποίες επιτρέπουν τη ροή αίματος από τον κόλπο προς την κοιλία, αλλά όχι από την κοιλία προς τον κόλπο. Η δεξιά βαλβίδα AV ονομάζεται τριγλώχινη βαλβίδα και η αριστερή ονομάζεται μιτροειδής βαλβίδα.

Τα κύτταρα του μυοκαρδίου είναι διατεταγμένα σε στιβάδες οι οποίες είναι σφιχτά δεμένες μεταξύ τους και περικυκλώνουν τελείως τους γεμάτους με αίμα θαλάμους. Όταν τα τοιχώματα ενός θαλάμου συστέλλονται, ενώνονται σαν μια σφιγμένη γροθιά και ασκούν πίεση στο αίμα που εγκλείουν.

Ο καρδιακός μυς συνδυάζει ιδιότητες και σκελετικού και λείου μυός. Τα κύτταρα φέρουν γραμμώσεις λόγω της διάταξης των παχιών νηματίων της μυοσίνης και των λεπτών νηματίων της ακτίνης όπως και στο σκελετικό μυ. Τα μυοκαρδιακά κύτταρα όμως είναι αρκετά κοντύτερα από τις ίνες του σκελετικού μυός και διακλαδίζονται με διάφορους τρόπους. Γειτονικά κύτταρα ενώνονται στα άκρα τους συγκροτώντας τους

ονομαζόμενους εμβόλιμους δίσκους ή κλιμακωτές ταινίες μέσα στους οποίους υπάρχουν δεσμοσώματα που συγκρατούν τα κύτταρα μαζί και προσδένονται τα μυοϊνίδια. Δίπλα στους εμβόλιμους δίσκους βρίσκονται χασματικές συνδέσεις όμοιες με εκείνες που παρατηρούνται σε πολλούς λείους μυς. Περίπου 1% των μυοκαρδιακών ινών έχουν εξειδικευμένα χαρακτηριστικά που είναι βασικά για τη φυσιολογική διέγερση της καρδιάς. Αποτελούν ένα δίκτυο γνωστό ως το σύστημα αγωγής καρδιακής διέγερσης το οποίο επικοινωνεί με άλλες μυοκαρδιακές ίνες μέσω χασματικών συνδέσεων. Το σύστημα αγωγής ξεκινάει τον καρδιακό παλμό και βοηθά τη γρήγορη διάδοση του ερεθίσματος σε ολόκληρη την καρδιά.

Η καρδιά δέχεται άφθονες συμπαθητικές και παρασυμπαθητικές νευρικές ίνες. Οι παρασυμπαθητικές αποτελούν κλάδο του πνευμονογαστρικού νεύρου. Οι συμπαθητικές μεταγαγγλιακές ίνες απελευθερώνουν κύρια νορεπινεφρίνη, ενώ οι παρασυμπαθητικές ακετυλοχολίνη. Οι υποδοχείς νορεπινεφρίνης στον καρδιακό μυ είναι κατά βάση βήτα-αδρενεργικοί. Η ορμόνη επινεφρίνη από τον μυελό των επινεφριδίων ενώνεται με τους ίδιους υποδοχείς όπως και η νορεπινεφρίνη και ασκεί την ίδια δράση στην καρδιά. Οι υποδοχείς της ακετυλοχολίνης είναι μουσκαρινικού τύπου.

Το αίμα που αντλείται μέσω των καρδιακών θαλάμων δεν ανταλλάσσει θρεπτικά συστατικά και μεταβολικά παραπροϊόντα με τα κύτταρα του μυοκαρδίου. Αυτά, όπως και τα κύτταρα όλων των άλλων οργάνων, τροφοδοτούνται με αίμα μέσω αρτηριών που διακλαδίζονται από την αορτή. Οι αρτηρίες που τροφοδοτούν το μυοκάρδιο είναι οι στεφανιαίες αρτηρίες και το αίμα που τρέχει μέσα σε αυτές ονομάζεται στεφανιαία αιματική ροή. Οι περισσότερες από τις στεφανιαίες φλέβες διοχετεύουν το περιεχόμενό τους σε μια μεγάλη φλέβα, το στεφανιαίο κόλπο, ο οποίος εκβάλλει στον δεξιό κόλπο της καρδιάς [1].

2.2.Αθηρωμάτωση

2.2.1.Σχηματισμός της αθηρωματικής πλάκας

Το χαρακτηριστικό γνώρισμα της αθηροσκλήρωσης είναι η συσσώρευση χοληστερόλης στο αρτηριακό τοίχωμα. Η συσσώρευση χοληστερόλης στον αρτηριακό έσω χιτώνα αρχίζει με την στρατολόγηση μονοκυττάρων από το αίμα. Δια μέσου μορίων συγκόλλησης τα μονοκύτταρα εισδύουν στον έσω χιτώνα, όπου υφίστανται διαφοροποίηση σε μακροφάγα. Τα μακροφάγα είναι εφοδιασμένα με τους

ονομαζόμενους υποδοχείς αποκάθαρσης, οι οποίοι συνδέονται και εσωτερικοποιούν τα μόρια της LDL (κακή χοληστερίνη), ιδιαίτερα τα μόρια της οξειδωμένης LDL. Τα μακροφάγα φορτίζονται με χοληστερόλη και μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. Η συσσώρευση των αφρώδων κυττάρων στον έσω χιτώνα αποτελεί ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα της πλάκας. Τα κύτταρα αυτά ενδέχεται να υποστούν κυτταρικό θάνατο και ρήξη, διεργασίες με τις οποίες η εξωκυτταρική χοληστερόλη συσσωρεύεται στην πλάκα. Οι αθηροσκληρωτικές βλάβες αναπτύσσονται στον έσω χιτώνα. Η πρωιμότερη βλάβη είναι η ονομαζόμενη λιπώδης γράμμωση, που εμφανίζεται στην παιδική ηλικία και αποτελείται κυρίως από φορτισμένα με χοληστερόλη μακροφάγα. Οι προχωρημένες αθηροσκληρωτικές βλάβες ονομάζονται ινώδεις πλάκες. Η εστεροποιημένη και η ελεύθερη χοληστερόλη είναι τα επικρατούντα λιπίδια. Μία ινώδης κάψα, που περιέχει λεία μυϊκά κύτταρα, μακροφάγα και T-λεμφοκύτταρα καλύπτει την πλάκα. Οι ινώδεις πλάκες προβάλλουν προς τον αυλό και μπορεί να παρακωλύουν την ροή αίματος.

2.2.2.Στάδια της αθηροσκλήρωσης

Η υπέρταση, η υπερχοληστερολαιμία και οι οξειδωτικές αντιδράσεις, που εμφανίζονται σε όλες τις μορφές της φλεγμονής και στο κάπνισμα, καταστρέφουν (τραυματίζουν) τα ενδοθηλιακά κύτταρα του αγγείου. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την πρόωρη αθηροσκλήρωση, η οποία ξεκινά από το ενδοθήλιο.

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα ρυθμίζουν τη διαστολή των λείων μυϊκών ινών μέσω του νιτρικού οξειδίου (NO) και τη συστολή μέσω της απελευθέρωσης της ενδοθηλίνης.

Η ενδοθελίνη δρα στα αιμοπετάλια και στον υπενδοθηλιακό ιστό. Είναι απαραίτητη για τη συγκόλληση τους με στόχο την επούλωση των μικρών και μέσου μεγέθους τραυμάτων.

Επίσης, διεγείρει τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μονοκύτταρα/μακροφάγα. Η HDL (καλή χοληστερίνη) δεν διαπερνά το ενδοθήλιο. Αντίθετα η LDL (κακή χοληστερίνη) μπορεί να οξειδωθεί και να διαπεράσει το ενδοθήλιο υπό μορφή οξειδωμένων λιπιδίων. Η οξειδωμένη ή εστεροποιηθείσα LDL είναι τοξική για τα μακροφάγα και δεν αποβάλλεται. Τα κύτταρα αυτοκαταστρέφονται και νεκρώνονται - νέκρωση των λιπιδίων κυττάρων (Φάση Ι της αθηροσκλήρωσης = λιπώδεις γραμμώσεις). Κάθε νεκρό κύτταρο είναι ένα επιπλέον ερέθισμα για τον οργανισμό ο οποίος στη συνέχεια προσπαθεί να αυτό-προστατευθεί.

Τα μακροφάγα και τα λεία μυϊκά κύτταρα μεταναστεύουν προς τον αυλό του αγγείου, όπου εγκαθίστανται κάτω από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και πολλαπλασιάζονται. Σαν

αποτέλεσμα, το ενδοθήλιο σταδιακά προβάλλει μέσα στον αυλό και χάνει την λεία του επιφάνεια. Αυτή η συνεχιζόμενη διαδικασία είναι γνωστή ως νεοενδοθηλίωση (φάση II), η οποία στενεύει τον αγγειακό αυλό και έχει σαν αποτέλεσμα την στροβιλώδη ροή του αίματος η οποία ερεθίζει το ενδοθήλιο. Εν τω μεταξύ, μειώνεται η αγγειακή ελαστικότητα, διατηρείται η υπέρταση και σαν αποτέλεσμα τα αγγεία και η καρδιά φορτίζονται (καρδιακή υπερτροφία).

Η αυξημένη διαταραχή στα αγγεία είναι γνωστή σαν αθηροσκλήρωση και καταλήγει σε βλάβη του οργάνου στόχου από την ισχαιμία και τον θρομβοεμβολισμό (φάση III).

Ο τραυματισμός του ενδοθηλίου με τη συγκέντρωση των αιμοπεταλίων ή τη νέκρωση των μακροφάγων προάγει τον πολλαπλασιασμό των μονοκύτταρων και των λείων μυϊκών κυττάρων που μεταναστεύουν στην περιοχή της βλάβης. Η διαδικασία αυτή συνεχίζεται για πολλά χρόνια λόγω της μόνιμης μηχανικής φόρτισης που δέχεται το ενδοθήλιο, ή της λιπιδαιμικής φόρτισης.

2.2.3.Πως αναπτύσσεται η αθηροσκλήρωση

Το τοίχωμα μιας αρτηρίας αποτελείται από διάφορα στρώματα. Η εσωτερική επένδυση ή το εσωτερικό στρώμα (ενδοθήλιο) είναι συνήθως ομαλή και συνεχής. Η αθηροσκλήρωση αρχίζει όταν τραυματίζεται το ενδοθήλιο.

Κατόπιν ορισμένα λευκοκύτταρα του αίματος αποκαλούμενα μονοκύτταρα ενεργοποιούνται και κινούνται από το αίμα και μέσω του τραυματισμένου ενδοθηλίου μιας αρτηρίας στο τοίχωμα αυτής. Μέσα στο τοίχωμα μετασχηματίζονται σε αφρώδη κύτταρα, τα οποία είναι κύτταρα που συλλέγουν τα λιπαρά υλικά, κυρίως χοληστερόλη. Ταυτόχρονα, τα λεία μυϊκά κύτταρα κινούνται από το μέσο χιτώνα προς το ενδοθήλιο και εκεί πολλαπλασιάζονται. Επίσης συνδετικός και ελαστικός ιστός συσσωρεύονται κάτω από το ενδοθήλιο, όπως επίσης και συντρίμια κυττάρων, κρύσταλλοι χοληστερόλης και ασβεστίου. Αυτή η συσσώρευση των αφρωδών κυττάρων, των λείων μυϊκών κυττάρων, και άλλων υλικών διαμορφώνει μια ετερόκλητη συσσώρευση αποκαλούμενη αθήρωμα ή αθηρωματική πλάκα. Καθώς η πλάκα μεγαλώνει από τη συνεχή εναπόθεση των ανωτέρω υλικών, παχύνεται και καταλαμβάνει το εσωτερικό της αρτηρίας. Αυτό δημιουργεί τοπικά στένωση της αρτηρίας που εμποδίζει την ομαλή ροή του αίματος.

Μια σταθερή πλάκα μπορεί να εξελιχθεί σε ασταθή, ευάλωτη πλάκα. Η ευάλωτη πλάκα είναι επιρρεπής σε ρήξη και μπορεί να αποτελέσει την θέση σχηματισμού θρόμβου. Οι ευάλωτες πλάκες έχουν, συγκριτικά λεπτότερες ινώδεις κάψες, αυξημένες ποσότητες

ενζύμων αποδόμησης της θεμέλιας ουσίας και μεγάλους, πλούσιους σε λιπίδια, πυρήνες

2.2.4.Κύρια όργανα-στόχοι της αθηροσκλήρωσης

Καρδιά

Αθηρωμάτωση των στεφανιαίων αγγείων, στηθάγχη, έμφραγμα του μυοκαρδίου. Σαν αποτέλεσμα της στεφανιαίας αθηρωμάτωσης, η τροφοδοσία της καρδιάς με αρτηριακό αίμα είναι μειωμένη. Ο καρδιακός μυς έχει αυξημένο έργο. Η αριστερή κοιλία υπερτρέφεται σαν αποτέλεσμα προσαρμογής της στο αυξημένο έργο που κάνει, όπως π.χ. στην περίπτωση της υπέρτασης. Το έργο είναι μεγαλύτερο και η καρδιά χρειάζεται περισσότερο οξυγόνο. Αποτέλεσμα είναι η εμφάνιση στηθάγχης (ισχαιμία) ή εμφράγματος του μυοκαρδίου (κυτταρική νέκρωση)

Εγκέφαλος

Τα αρχικά σημάδια της αθηρωμάτωσης των καρωτιδικών αρτηριών εμφανίζονται υπό μορφή μικρών εμβόλων που αποσπώνται (παροδικά ισχαιμικά επεισόδια). Ο οργανισμός είναι ικανός να ανταπεξέλθει σ' αυτά τα μικρά θρομβοεμβολικά επεισόδια. Πιο σοβαρή αθηρωμάτωση, ειδικότερα των εγκεφαλικών αρτηριών, έχει σαν αποτέλεσμα δυσλειτουργία σε μεγάλες περιοχές του φλοιού του εγκεφάλου, όπως στο αγγειοεγκεφαλικό επεισόδιο με τις γνωστές νευρολογικές διαταραχές (ημιπάρεση, απώλεια ομιλίας) [2].

2.3.Καρδιαγγειακά νοσήματα

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι μια ομάδα διαταραχών της καρδιάς και του κυκλοφορικού συστήματος και περιλαμβάνουν:

- Στεφανιαία νόσο
- Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο
- Περιφερική αγγειακή νόσο
- Ρευματικές καρδιακές παθήσεις
- Πνευμονική εμβολή
- Συγγενής καρδιοπάθεια [3]

2.3.1.Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας ορίζει ως εγκεφαλικό επεισόδιο, το κλινικό σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από αιφνίδια εισβολή κάποιου εστιακού ελλείμματος, το οποίο διαρκεί τουλάχιστον 24 ώρες ή περισσότερο και οφείλεται σε διαταραχή της εγκεφαλικής λειτουργίας. Με βάση την παθογένειά τους, διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, δηλαδή σε ισχαιμικά και αιμορραγικά εγκεφαλικά [4].

Αν η διάρκεια του επεισοδίου είναι μικρότερη των 24 ωρών και είναι συνέπεια μειωμένης αιμάτωσης ονομάζεται παροδικό ισχαιμικό αγγειακό επεισόδιο, το οποίο χαρακτηρίζεται από παραλήρημα ή προσωρινή απώλεια συνειδήσεως για περίπου 24 ώρες και μπορεί να προκαλέσει μικρή, αλλά αθροιστικά σημαντική, εγκεφαλική βλάβη και συχνά να προηγηθεί ενός μεγάλου επεισοδίου [5].

Τα ΑΕΕ αποτελούν την τρίτη σε συχνότητα αιτία θανάτου στις δυτικές χώρες, μετά τη στεφανιαία νόσο και τα κακοήγη νεοπλασμάτα. Στις Η.Π.Α ένας άνθρωπος πεθαίνει κάθε 40 δευτερόλεπτα από εγκεφαλικό επεισόδιο. Το 2004 στις Η.Π.Α, το 61% των θανάτων από εγκεφαλικό αφορούσε τις 4 γυναίκες, σύμφωνα με στοιχεία που δημοσιεύθηκαν από την Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρία [6].

Τα ισχαιμικά ΑΕΕ είναι αποτέλεσμα μειωμένης προσφοράς αίματος στο εγκεφαλικό παρέγχυμα, που προκαλείται κυρίως από θρόμβωση ή εμβολή. Η θρόμβωση αφορά σε τοπική παραγωγή θρόμβου λόγω αθηροσκλήρωσης και σπασμώδη σε απόφραξη λόγω διαχωρισμού ή ινομυώδους υπερπλασίας, ενώ η εμβολή αφορά σε απόφραξη αρτηρίας από θρόμβο. Η θρόμβωση μπορεί να συμβεί στα μεγάλα αγγεία του εγκεφάλου ή στα μικρά ενδοεγκεφαλικά αγγεία [7].

2.3.2.Ρευματική καρδιοπάθεια

Ρευματική καρδιοπάθεια είναι μια πάθηση κατά την οποία οι βαλβίδες της καρδιάς έχουν υποστεί βλάβες, που οφείλονται στο ρευματικό πυρετό. Η ρευματική καρδιοπάθεια παραμένει μια σημαντική αιτία καρδιαγγειακών παθήσεων στις αναπτυσσόμενες χώρες, αν και ο επιπολασμός της έχει μειωθεί κατακόρυφα στις βιομηχανικές χώρες κατά τη διάρκεια του περασμένου αιώνα. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, 12 εκατομμύρια άνθρωποι πάσχουν από ρευματική καρδιοπάθεια και ρευματικό πυρετό εκ των οποίων τα 2/3 είναι παιδιά ηλικίας 5 έως 15 ετών [3].

2.3.3.Πνευμονική εμβολή

Είναι μια κοινή και συχνά θανατηφόρα ασθένεια. Η θνησιμότητα μπορεί να μειωθεί με την έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία. Δυστυχώς, κλινική εικόνα της πνευμονικής εμβολής είναι μεταβλητή και μη ειδική, καθιστώντας δύσκολη την ακριβή διάγνωση. Η πνευμονική εμβολή είναι η απόφραξη της πνευμονικής αρτηρίας ή κλάδων αυτής με υλικό όπως θρόμβος, όγκος, αέρας ή λίπος, που προέρχεται από διάφορα σημεία του σώματος. Η πνευμονική εμβολή μπορεί να ταξινομηθεί σε οξεία και χρόνια. Ασθενείς με οξεία πνευμονική εμβολή αναπτύσσουν τυπικά συμπτώματα και σημεία αμέσως μετά την απόφραξη των πνευμονικών αγγείων. Σε αντίθεση, οι ασθενείς με χρόνια πνευμονική εμβολή τείνουν να αναπτύξουν βραδέως προοδευτικά επιδεινούμενη δύσπνοια που οφείλεται σε πνευμονική υπέρταση. Η πνευμονική εμβολή είναι μια συχνή επιπλοκή της εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης (DVT), που εμφανίζεται σε περισσότερο από το 50% των περιπτώσεων [8,9].

2.3.4.Συγγενείς καρδιοπάθειες

Η συχνότητα των συγγενών καρδιοπαθειών ανέρχεται σε ποσοστό 1% των νεογέννητων βρεφών. Παρά την συντελεσθείσα πρόοδο στην αντιμετώπιση των συγγενών καρδιοπαθειών, το 20 % των ασθενών καταλήγει μέσα στον πρώτο χρόνο από τη γέννησή του, ενώ το 80 % των επιζώντων ενηλικιώνεται. Διακρίνονται σε κυανωτικές ή μη κυανωτικές, ανάλογα με το αν εμφανίζουν κυάνωση κατά την ηρεμία ή την προσπάθεια. Η αιτιολογία των συγγενών καρδιοπαθειών είναι πολυπαραγοντική. Χρωμοσωμικές ανωμαλίες και γονιδιακές μεταλλάξεις θεωρούνται υπεύθυνες για το 10% των περιπτώσεων. Παράλληλα, οι ιώσεις και ιδιαίτερα οι ιοί της ερυθράς και της ιλαράς θεωρούνται υπεύθυνοι συγγενών καρδιοπαθειών, όταν προσβάλλουν την κυοφορούσα μητέρα κατά το στάδιο της οργανογένεσης του εμβρύου [9].

2.3.5.Περιφερική αγγειακή νόσος

Η περιφερική αγγειακή νόσος αναφέρεται σε ασθένειες των αιμοφόρων αγγείων. Οι κυκλοφορικές διαταραχές της νόσου διακρίνονται σε λειτουργικές και σε οργανικές. Στις οργανικές διαταραχές ανήκει η περιφερική αρτηριακή νόσος, κατά την οποία υπάρχει απόφραξη των περιφερικών αρτηριών, με αποτέλεσμα τη μειωμένη ροή αίματος προς τα άκρα, προκαλώντας αιμωδίες και πόνο. Η περιφερική αρτηριοπάθεια είναι

αποτέλεσμα της αθηροσκλήρωσης και των φλεγμονωδών διεργασιών που πραγματοποιούνται στα αγγεία [10].

2.3.6.Στεφανιαία νόσος

Η στεφανιαία νόσος είναι η πιο συχνή αιτία θανάτου παγκοσμίως. Πάνω από 7εκ. άνθρωποι πεθαίνουν ετησίως από στεφανιαία νόσο, αντιστοιχώντας στο 12,8% όλων των θανάτων παγκοσμίως. Ένας στους έξι άνδρες και μία στις επτά γυναίκες στην Ευρώπη, σύμφωνα με σύγχρονα δεδομένα, θα πεθάνουν από ΣΝ. Πολλοί παράγοντες προδιαθέτουν στην εμφάνιση της ΣΝ, όπως το κάπνισμα, η δυσλιπιδαιμία, ο σακχαρώδης διαβήτης, η παχυσαρκία, η αρτηριακή υπέρταση και το οικογενειακό ιστορικό [11].

Στεφανιαία νόσος είναι η αθηροσκλήρωση των στεφανιαίων αρτηριών και είναι η σοβαρότερη εκδήλωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Οι στεφανιαίες αρτηρίες αποτελούν μια διακλάδωση αρτηριών που δίνουν αίμα στην ίδια την καρδιά, η οποία πρακτικά είναι μυς που στέλνει αίμα και οξυγόνο σε όλο το σώμα. Η αθηροσκλήρωση προσβάλλει το τοίχωμα των στεφανιαίων αρτηριών, οπότε οι φυσιολογικές μαλακές εσωτερικές τους επιφάνειες γίνονται ανώμαλες και παχύνονται, επειδή καλύπτονται από μια ογκώδη πλάκα. Ως αποτέλεσμα, σε ορισμένες περιοχές παρεμποδίζεται η ελεύθερη ροή του αίματος. Η αθηροσκλήρωση είναι μια συστηματική νόσος με ποικίλες εστιακές εκδηλώσεις. Η δοκιμασία κόπωσης, οι ραδιοϊσοτοπικές απεικονίσεις και κυρίως η στεφανιογραφία, είναι πολύ χρήσιμες μέθοδοι στη διάγνωση της στεφανιαίας νόσου. Εκδηλώνεται κλινικά σε χρόνια μορφή με τη στηθάγχη προσπάθειας, ενώ σε οξεία φάση με την ασταθή στηθάγχη, το έμφραγμα του μυοκαρδίου ή τον αιφνίδιο θάνατο. Η ισχαιμία του μυοκαρδίου εκδηλώνεται κλινικά με το σύμπτωμα της στηθάγχης. Η πρώτη περιγραφή της στηθάγχης έγινε από τον Haberdan το 1972. Εκδηλώνεται ως οπισθοστερνικό άλγος, αίσθημα πίεσεως, κάψιμο ή συσφικτικό αίσθημα και μπορεί να αντανακλάται προς τον τράχηλο και την άνω γνάθο, τον αριστερό ώμο, τη μεσοπλάτιο χώρα, την έσω επιφάνεια του αριστερού χεριού ή το επιγάστριο.

Η τριάδα ασταθής στηθάγχη, έμφραγμα του μυοκαρδίου και αιφνίδιος θάνατος συνιστά το οξύ στεφανιαίο σύνδρομο. Το οξύ στεφανιαίο σύνδρομο αντιπροσωπεύει μια απειλητική για τη ζωή εκδήλωση της αθηροσκλήρωσης. Υπόστρωμα των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων είναι η ρήξη της αθηροσκληρωτικής πλάκας ή η διάβρωση του ενδοθηλίου σε συνδυασμό με τη συσσώρευση πάνω σε αυτό ενεργοποιημένων

αιμοπεταλίων (λευκός θρόμβος) και ακολούθως ερυθρών αιμοσφαιρίων (ερυθρός θρόμβος) [12].

Σταθερή στηθάγχη

Η θωρακική δυσφορία που σχετίζεται με την προσπάθεια αποτελεί το κύριο χαρακτηριστικό γνώρισμα της σταθερής στηθάγχης. Η ικανότητα αναπαραγωγής του πόνου και η συσχέτισή του με τη φυσική άσκηση (και σε ορισμένες περιπτώσεις με τη συναισθηματική φόρτιση) αποτελούν τα πιο σημαντικά συμπτώματα που μπορούν να εξαχθούν από τη λήψη του ιστορικού.

Η σταθερή στηθάγχη αποτελεί συνήθως σύμπτωμα στεφανιαίας νόσου αλλά μπορεί να αποτελεί εκδήλωση και άλλων μορφών καρδιοπαθειών, ειδικά σε παθήσεις της αορτικής βαλβίδας και σε υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια. Οι πιο σημαντικές εξετάσεις για να προσδιοριστεί ένα επίπεδο αναφοράς είναι η γενική αίματος, η γλυκόζη νηστείας, η μέτρηση των επιπέδων των λιπιδίων, οι λειτουργικές δοκιμασίες του θυρεοειδούς κ.α. Η δοκιμασία κόπωσης μπορεί να βοηθήσει στην επιβεβαίωση της διάγνωσης και επίσης χρησιμοποιείται για την αναγνώριση των ασθενών που βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο και χρειάζονται περαιτέρω διερεύνηση και αντιμετώπιση.

Οξεία στεφανιαία σύνδρομο

Ο παρατεταμένος και σοβαρός θωρακικός πόνος καρδιακής αιτιολογίας μπορεί να οφείλεται σε ασταθή στηθάγχη (ο όρος περιλαμβάνει την πρόσφατης έναρξης στηθάγχη που περιορίζει το άτομο, τη ραγδαία επιδεινούμενη ή αυξανόμενη (crescendo) στηθάγχη και τη στηθάγχη που εμφανίζεται κατά την ανάπαυση) ή σε οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (ΟΕΜ). Συνολικά, όλες οι παραπάνω καταστάσεις είναι γνωστές με τον όρο οξεία στεφανιαία σύνδρομο. Αν και μπορεί να υπάρχει ιστορικό προηγηθείσας χρόνιας σταθερής στηθάγχης, ένα επεισόδιο θωρακικού άλγους κατά την ανάπαυση αποτελεί συχνά την πρώτη εκδήλωση της στεφανιαίας νόσου.

Υπάρχουν 4 είδη ασθενών με ΟΕΜ ανάλογα με την καρδιακή παροχή και το πνευμονικό οίδημα:

- Φυσιολογική καρδιακή παροχή. Απουσία πνευμονικού οιδήματος. Κανονική δραστηριότητα. Καλή εμφάνιση του ασθενούς ο οποίος δεν χρήζει θεραπείας για καρδιακή ανεπάρκεια.
- Φυσιολογική καρδιακή παροχή. Πνευμονικό οίδημα.
Συνήθως οφείλεται σε μέτριου βαθμού δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας. Ο ασθενής πρέπει να θεραπευτεί με διουρητικά και αγγειοδιασταλτικά φάρμακα.
- Μειωμένη καρδιακή παροχή. Απουσία πνευμονικού οιδήματος.
Συχνά οφείλεται σε συνδυασμό εμφράγματος της δεξιάς κοιλίας και μειωμένου όγκου αίματος, οφειλόμενου σε μειωμένη λήψη υγρών, εμέτους και απρόσφορη διουρητική αγωγή. Οι ασθενείς αυτοί μπορούν να εντοπιστούν ευκολότερα με τοποθέτηση καθετήρα Swan-Ganz και ενδοφλέβια χορήγηση υγρών προκειμένου να επιτευχθούν επίπεδα πίεσης ενσφηνώσεως (PAW) μεταξύ 14 και 16 mmHg.
- Μειωμένη καρδιακή παροχή. Πνευμονικό οίδημα
Συνήθως οφείλεται σε εκτεταμένη βλάβη της αριστερής κοιλίας και συνδυάζεται με πολύ φτωχή πρόγνωση. Ο ασθενής μπορεί να βοηθηθεί από τη χορήγηση διουρητικών, αγγειοδιασταλτικών και ινóτροπων παραγόντων [13].

Το πρώτο σύμπτωμα που θέτει την υποψία για τη διάγνωση και τη διαδικασία λήψης της θεραπευτικής απόφασης είναι ο πόνος στο στήθος, αλλά η ταξινόμηση των ασθενών βασίζεται στο ηλεκτροκαρδιογράφημα. Οι ασθενείς διακρίνονται σε 2 κατηγορίες : 1. Ασθενείς με τυπικό θωρακικό πόνο και επίμονη (>20 min) ανάσπαση του διαστήματος ST (STEMI). Σκοπός της θεραπείας είναι η ταχεία και σταθερή επαναιμάτωση με πρωτογενή αγγειοπλαστική ή θρομβολυτική αγωγή. 2. Ασθενείς με τυπικό θωρακικό πόνο χωρίς επίμονη ανάσπαση του διαστήματος ST, NSTEMI-ACS. Με τη μέτρηση της τροπονίνης, τα NSTEMI-ACS χωρίζονται σε εμφράγματα χωρίς ανάσπαση του διαστήματος ST (NSTEMI) και ασταθή στηθάγχη [14].

Οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου

Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου μπορεί να οριστεί με βάση διάφορα κλινικά, ηλεκτροκαρδιογραφικά, βιοχημικά και παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά. Το έμφραγμα του μυοκαρδίου είναι η αιφνίδια απόφραξη του αυλού της στεφανιαίας αρτηρίας, η οποία προκαλεί νέκρωση της περιοχής του μυοκαρδίου που αρδεύει η αποφρασθείσα αρτηρία. Είναι η πιο συχνή μορφή της στεφανιαίας νόσου. Σπανιότερα, η απόφραξη οφείλεται σε εμβολή μιας στεφανιαίας αρτηρίας από διάφορα έμβολα,

όπως συμβαίνει σε περιπτώσεις σηπτικών εμβόλων των εκβλαστήσεων ή εμβόλων από μύζωμα του αριστερού κόλπου [9].

Βασική αιτία του εμφράγματος θεωρείται η οξεία θρόμβωση των στεφανιαίων αρτηριών από ρήξη αθηροσκληρωτικής πλάκας ή σπανιότερα διάβρωση του ενδοθηλίου της. Αντιθέτως, η χρόνια προοδευτική και τελικώς πλήρης απόφραξη της στεφανιαίας αρτηρίας, που κατά κανόνα συνοδεύεται από στηθάγχη στην προσπάθεια, οδηγεί τελικώς σε ολική απόφραξη της αρτηρίας χωρίς να προκαλείται οξύ έμφραγμα. Αυτό οφείλεται στην ανάπτυξη, αντιρροπιστικά και σταδιακά, σημαντικής παράπλευρης κυκλοφορίας. Τα κριτήρια διάγνωσης του εμφράγματος πληρούνται, όταν υπάρχει αύξηση ή και πτώση των καρδιακών βιοχημικών δεικτών, μαζί με ένδειξη ισχαιμίας του 8 μυοκαρδίου, αλλαγές στο ηλεκτροκαρδιογράφημα, απεικονιστικές ενδείξεις νέας απώλειας βιώσιμου μυοκαρδίου ή νέας ανώμαλης κίνησης περιφερικού τμήματος υπερηχογραφικά [15].

Το έμφραγμα του μυοκαρδίου μπορεί να οδηγήσει σε αιφνίδιο θάνατο, τόσο κατά τη στιγμή που εξελίσσεται όσο και αμέσως μετά. Παράλληλα μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική μείωση της καρδιακής λειτουργίας, οπότε περιορίζονται μακροχρόνια οι σωματικές δραστηριότητες του αρρώστου και τελικά μειώνεται και ο χρόνος ζωής του.

2.4.Επιδημιολογία καρδιαγγειακών νοσημάτων

Ευρώπη

Κάθε χρόνο τα καρδιαγγειακά νοσήματα προκαλούν 4 εκατομμύρια θανάτους στην Ευρώπη και 2 εκ θανάτους στην ευρωζώνη. Αποτελούν το 47% όλων των θανάτων στην Ευρώπη και το 30% στην ευρωζώνη. Αποτελεί την 1^η αιτία θανάτου σχεδόν σε όλες τις χώρες με το ρυθμό θανάτου να είναι υψηλότερος στην κεντρική και ανατολική Ευρώπη. Παρολαυτά η θνησιμότητα πέφτει στις περισσότερες ευρωπαϊκές χώρες.

Το κάπνισμα αποτελεί έναν ισχυρό δημόσιο παράγοντα κινδύνου, καθώς παρόλο που μειώθηκε τα τελευταία χρόνια, τώρα έχει σταθεροποιηθεί κι επίσης έχει αυξηθεί αρκετά στις γυναίκες.

Η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών έχει αυξηθεί σε όλη την Ευρώπη, ενώ η κατανάλωση οποιασδήποτε πηγής λίπους έχει μείνει σταθερή.

Λίγοι ενήλικοι, στις ευρωπαϊκές χώρες, έχουν επαρκές επίπεδο φυσικής δραστηριότητας, με το χαμηλό επίπεδο να ναι πιο κοινό στις γυναίκες παρά στους άνδρες.

Επίσης, τα επίπεδα παχυσαρκίας είναι υψηλά, αλλά οι ρυθμοί ποικίλουν ουσιαστικά ανάμεσα στις χώρες.

Ακόμα, η επίπτωση του διαβήτη είναι πολύ υψηλή, και έχει αυξηθεί πολύ γρήγορα τα τελευταία 10 χρόνια, σε μερικές χώρες και περισσότερο από 50%.

Όλες οι καρδιαγγειακές νόσοι υπολογίζεται να στοιχίσουν στην Ευρώπη 196 δις το χρόνο. Απ το σύνολο του κόστους, υπολογίζεται ότι το 54% πηγαίνει στη νοσηλεία, το 24% στην απώλεια παραγωγικότητας και το 22% στην ανεπίσημη φροντίδα απόμων με καρδιαγγειακά νοσήματα. [16].

Αμερική

Παρά το ότι στις τελευταίες 3 δεκαετίες έχει υπάρξει μείωση κατά 40% των θανάτων που οφείλονται σε καρδιαγγειακά αίτια, η αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσος αποτελεί ακόμη την πιο συχνή αιτία θανάτου στις ΗΠΑ. Συμβαίνουν περίπου 700.000 θάνατοι το χρόνο που σχετίζονται με στεφανιαία αρτηρία και πάνω από 1 εκ εμφράγματα του μυοκαρδίου, με πρώιμο θάνατο στα 10-15% και συνεπαγόμενη θνησιμότητα μετά από 1 έτος στο 10-15%. Η συνεχώς μειούμενη ατομική θνησιμότητα από έμφραγμα του μυοκαρδίου, που οφείλεται στην πρωιμότερη διάγνωση, στην ευρεία χρήση των εντατικών μονάδων φροντίδας της στεφανιαίας, στις προόδους της θεραπείας, στην επαναιμάτωση τόσο με θρομβολυτικούς παράγοντες όσο και με αγγειοπλαστική καθώς και στην καλύτερη εύρεση των ομάδων με υψηλό κίνδυνο για έμφραγμα, μπορεί να εξανεμιστεί από τη γενική γήρανση του πληθυσμού. Αυτοί οι πιο ηλικιωμένοι ασθενείς που είναι σε κίνδυνο για αθηροσκληρωτική καρδιακή νόσο αποτελούν μια ομάδα με υψηλή θνησιμότητα από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου [17].

2.5.Παράγοντες κινδύνου για τα καρδιαγγειακά νοσήματα

Ο ρόλος και η σχετική σημασία πολλών παραγόντων κινδύνου στην ανάπτυξη στεφανιαίας, περιφερικής και εγκεφαλικής αγγειοπάθειας έχουν αναγνωριστεί σε πειραματικές μελέτες σε ζώα, σε επιδημιολογικές μελέτες και σε κλινικές παρεμβατικές μελέτες. Έχουν προκύψει από όλα τα παραπάνω μερικοί παράγοντες κλειδιά, όπως φαίνονται και στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 1:Παράγοντες κινδύνου αρτηριοσκλήρωσης	
Μη τροποποιήσιμοι	
Ηλικία	Οικογενειακό ιστορικό
Φύλο	
Τροποποιήσιμοι	
Κάπνισμα	Μεταβολές της αιμόστασης
Υπέρταση	Καθιστική ζωή
Δυσλιπιδαιμίες	Παχυσαρκία
ΣΔ	Διατροφή

Αλλά κάτι τέτοιο δεν εξηγεί όλους τους κινδύνους. Γι αυτό και άγνωστοι ή μη επιβεβαιωμένοι ακόμα παράγοντες μπορεί να ευθύνονται έως και για το 40% της διακύμανσης του κινδύνου, εξαιτίας της αθηρωματώδους αγγειοπάθειας από το ένα άτομο στο άλλο.

Η επίδραση του γενετικού κινδύνου διευκρινίζεται με τις μελέτες στους διδύμους: για παράδειγμα, ο μονοζυγωτικός δίδυμος αδερφός ασθενούς με ΣΝ, έχει 8 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο προσβολής από την ίδια νόσο, ενώ ο κίνδυνος για ετεροζυγωτικό δίδυμο να αποβιώσει λόγω ΣΝ, είναι τετραπλάσιος (σε σχέση με το γενικό πληθυσμό).

Η δράση των παραγόντων κινδύνου είναι μάλλον πολλαπλασιαστική παρά αθροιστική. Έτσι άτομα με συνδυασμό παραγόντων κινδύνου έχουν υψηλότερη πιθανότητα ανάπτυξης ΣΝ και γι αυτό η εκτίμηση θα πρέπει να βασίζεται σε μια ολιστική προσέγγιση, στην οποία θα λαμβάνονται υπόψη όλοι οι ταυτοποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου.

2.5.1.Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

Ηλικία και φύλο

Η ηλικία είναι ο πιο ισχυρός ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη της αρτηριοσκληρυνσης. Οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες παρουσιάζουν πολύ χαμηλότερες συχνότητες εμφάνισης της νόσου σε σχέση με τους άρρενες αντίστοιχης ηλικίας και κινδύνου. Πάντως οι διαφορές λόγω του φύλου αποκαθίστανται ταχέως μετά την εμμηνόπαυση.

Οικογενειακό ιστορικό

Η αρτηριοσκληρυντική αγγειοπάθεια συχνά προσβάλλει μέλη της ίδιας οικογένειας. Μπορεί να οφείλεται σε ένα συνδυασμό γενετικών, περιβαλλοντικών παραγόντων καθώς και παραγόντων που αφορούν τον τρόπο ζωής (πχ κάπνισμα, διατροφικές συνήθειες κα). Τα πιο συχνά κληρονομικά χαρακτηριστικά κινδύνου (υπέρταση, υπερλιπιδαιμία, διαβήτης) είναι πολυγονιδιακά.

2.5.2.Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

Κάπνισμα

Ο καπνός πιθανώς αποτελεί το σημαντικότερο παράγοντα κινδύνου αρτηριοσκληρυντικής αγγειοπάθειας νόσου, ο οποίος μπορεί να αποφευχθεί. Υπάρχει ισχυρή, σταθερή και δόσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ του καπνίσματος και της εμφάνισης ισχαιμικής καρδιακής νόσου.

Υπέρταση

Η επίπτωση της ΣΝ αυξάνεται με την αύξηση της ΑΠ και ο κίνδυνος σχετίζεται τόσο με τα επίπεδα της συστολικής όσο και με τα επίπεδα της διαστολικής πίεσης. Η χορήγηση αντιυπερτασικής θεραπείας φαίνεται να μειώνει τη θνησιμότητα λόγω ΣΝ, τα ΑΕΕ και την ΚΑ.

Υπερχοληστερολαιμία

Ισχυρά επιδημιολογικά δεδομένα αποδεικνύουν ότι ο κίνδυνος εμφάνισης της ΣΝ και άλλων μορφών της αρτηριοσκληρυντικής αγγειοπάθειας αυξάνονται παράλληλα με τα επίπεδα της συγκέντρωσης της χοληστερόλης του πλάσματος και συγκεκριμένα με τις τιμές της σχέσης ολικής χοληστερόλης προς τη χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας σε λιποπρωτεΐνες (HDL). Εκτεταμένες ευρείας κλίμακας τυχαιοποιημένες μελέτες έδειξαν ότι η μείωση της συγκέντρωσης της ολικής χοληστερόλης και της LDL μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης επεισοδίων του καρδιαγγειακού, όπως ο θάνατος, το ΕΜ και το ΑΕΕ, καθώς και την ανάγκη επαναγγείωσης.

ΣΔ

Αποτελεί ισχυρό παράγοντα κινδύνου για όλες τις μορφές αρτηριοσκληρυντικής αγγειοπάθειας και συχνά συνδέεται με διάχυτη νόσο που είναι δύσκολο να αντιμετωπιστεί. Η παρουσία αντοχής στην ινσουλίνη σχετίζεται με την παχυσαρκία και πολύ μειωμένη φυσική δραστηριότητα, ενώ παράλληλα αποτελεί και ισχυρό παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη ΣΝ. Η δυσανεξία της γλυκόζης ευθύνεται για ένα μεγάλο μέρος της υψηλής επίπτωσης που παρουσιάζει η ισχαιμική καρδιοπάθεια σε συγκεκριμένες εθνικές ομάδες (πχ νότια Ασία).

Παράγοντες που σχετίζονται με την αιμόσταση

Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και τα υψηλά επίπεδα ινωδογόνου και ο παράγοντας VII σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΕΜ (θρόμβωση στεφανιαίων). Άλλες διαταραχές του συστήματος πήξης (ανεπάρκεια βιταμίνης C, πρωτεΐνης S, του παράγοντα V leiden) συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο φλεβικών και αρτηριακών θρομβώσεων.

Φυσική δραστηριότητα

Η έλλειψη φυσικής δραστηριότητας χονδρικά διπλασιάζει τον κίνδυνο για εμφάνιση ΣΝ και αποτελεί ένα κύριο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση ΑΕΕ. Η συστηματική άσκηση φαίνεται πως έχει προστατευτική δράση, η οποία μπορεί να σχετίζεται με την

ικανότητά τους να αυξάνουν τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης, να μειώνουν της ΑΠ, να μειώνουν της πηκτικότητα του αίματος και να προάγουν την ανάπτυξη παράπλευρης κυκλοφορίας.

Παχυσαρκία

Η παχυσαρκία, ιδιαίτερα του κορμού, αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου, αν και συχνά σχετίζεται και με άλλους δυσμενείς παράγοντες όπως η υπέρταση, ο διαβήτης και η μειωμένη φυσική δραστηριότητα.

Αλκοόλ

Η λήψη μέτριας ποσότητας αλκοόλ (2-4 μονάδες ημερησίως) φαίνεται να παρέχει μερική προστασία από την εμφάνιση ΣΝ. Ωστόσο, η κατάχρηση αλκοόλ συνοδεύεται από εμφάνιση υπέρτασης και αυξημένη συχνότητα καρδιακών συμβάντων [13].

Τρόπος ζωής

Μπορούν να τεθούν διάφοροι στόχοι για αλλαγή του τρόπου ζωής με σκοπό τη μείωση του κινδύνου για εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων. Μέσα στους στόχους αυτούς είναι η κατανάλωση ενός υγιεινού διαιτητικού σχήματος, ένα υγιές σωματικό βάρος, η διατήρηση των συνιστώμενων συγκεντρώσεων για LDL-c, HDL-c και τριγλυκεριδίων, η φυσιολογική αρτηριακή πίεση, τα φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα, η αυξημένη σωματική δραστηριότητα και τέλος η αποφυγή χρήσης και έκθεσης σε προϊόντα καπνού. Αυτά πρακτικά σημαίνουν τα παρακάτω:

- Ισορροπία θερμιδικής πρόσληψης και σωματικής δραστηριότητας για επίτευξη
- και διατήρηση υγιούς ΣΒ
- Κατανάλωση δίαιτας πλούσιας σε φρούτα & λαχανικά
- Κατανάλωση ολικής άλεσης και πλούσιων σε ίνες τροφίμων
- Κατανάλωση ψαριού και κυρίως πλούσιου σε λίπος $\geq 2\phi$ / εβδ
- Περιορισμός κορεσμένου λίπους $<7\%$, trans $<1\%$ και χοληστερόλης <300 mg
- (επιλέγοντας άπαχα κρέατα, χαμηλών λιπαρών γαλ/κά και ελαχιστοποιώντας
- τα μερικώς υδρογονωμένα λίπη)

- Ελαχιστοποίηση τροφών & ροφημάτων με πρόσθετα σάκχαρα
- Επιλογή και προετοιμασία φαγητών με λίγο ή και καθόλου αλάτι
- Εάν καταναλώνεται αλκοόλ – κάντε το με μετριοπάθεια
- Όταν καταναλώνετε φαγητό που έχει προετοιμαστεί εκτός σπιτιού [18]

Ειδικά η διαίτα επηρεάζει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων μέσω των αρκετών ενδιάμεσων βιολογικών μηχανισμών. Κάποιοι απ αυτούς είναι τα επίπεδα λιπιδίων, η αρτηριακή πίεση, η θρομβωτική τάση, ο καρδιακός ρυθμός, η ενδοθηλιακή λειτουργία, η συστηματική φλεγμονή, η ινσουλινο-ευαισθησία, το οξειδωτικό στρες και τα επίπεδα ομοκυστεΐνης. Ιδιαίτερα η διαδικασία της αθηροσκλήρωσης είναι μια διαδικασία που ξεκινά ήδη απ τα νεανικά χρόνια, γεγονός που δείχνει και το ότι τα αίτια των καρδιαγγειακών νόσων, τα τροποποιήσιμα απ αυτά, δεν βρίσκονται μόνο στις μεγαλύτερες ηλικίες [19].

Τέλος, πρόσφατα, αρκετοί καινούργιοι παράγοντες έχουν ταυτοποιηθεί ως παράγοντες κινδύνου για τα ΟΣΣ. Μεταξύ αυτών συγκαταλέγονται τα υψηλότερα επίπεδα δεικτών φλεγμονής, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη και η ιντερλευκίνη-6, υψηλότερα επίπεδα δεικτών για την ενδοθηλιακή λειτουργία, η Ε-σελεκτίνη και ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου των ιστών, η λεπτίνη, κι ο δείκτης προΐνσουλίνης για τη λειτουργία των β-κυττάρων του παγκρέατος [20,21,22].

Αντίθετα, τα επίπεδα της αντιπονεκτίνης έχουν συσχετιστεί αντίστροφα με την εμφάνιση ΟΣΣ [23,24].

Είναι πιθανό λοιπόν ότι αυτοί οι καινούργιοι παράγοντες κινδύνου για ΟΣΣ, ειδικά οι δείκτες φλεγμονής, μπορεί να αποτελούν μεσολαβητές της κοινωνικο-οικονομικής θέσης και του κινδύνου για ΟΣΣ [25].

Πρόσφατες έρευνες προτείνουν ότι οι δείκτες του ενδοθελίου, του λιπώδους ιστού και των παγκρεατικών β-κυττάρων μπορούν επίσης να αντιπροσωπεύσουν βιολογικά μονοπάτια που σχετίζονται με τα ΚΟΚ και τον κίνδυνο για ΟΣΣ [26].

2.5.3.Κοινωνικοί παράγοντες

Περισσότερο μορφωμένες και πλουσιότερες ομάδες πέτυχαν μια σημαντική μείωση στους παράγοντες κινδύνου για ΟΣΣ συγκριτικά με τις λιγότερο μορφωμένες και φτωχότερες ομάδες [27].

Στο Ηνωμένο Βασίλειο και σε άλλες δυτικές χώρες, το κοινωνικό μειονέκτημα κατά την διάρκεια της ζωής είναι ένας ισχυρός καθοριστής του κινδύνου για στεφανιαία νόσο [28].

Πιθανές εξηγήσεις στον ρόλο που παίζει ο κοινωνικο-οικονομικός παράγοντας στον κίνδυνο για ΟΣΣ επικεντρώνονται στην εγκαθίδρυση παραγόντων κινδύνου, ειδικά στο κάπνισμα, στην αρτηριακή πίεση, στα λιπίδια του αίματος και στην παχυσαρκία [29,30].

Η κατανόηση, του ποιοι κοινωνικοί και συμπεριφορικοί παράγοντες κινδύνου μπορούν να επηρεάζουν αμοιβαία ο ένας τον άλλον, θα μπορούσε ουσιαστικά να βοηθήσει στην κατανόηση της αιτιολογίας των ΟΣΣ και να προσδιορίσει πιθανές παρεμβάσεις οι οποίες να στοχεύουν στην αντιμετώπιση των αλληλοενισχυόμενων αιτιών των ΟΣΣ [31].

2.6.Εργαλεία πρόγνωσης και κατανόησης του καρδιαγγειακού κινδύνου

2.6.1. Healthy dieting indicator

Η δίαιτα είναι ένας σημαντικός τροποποιήσιμος παράγοντας κινδύνου για τα καρδιαγγειακά νοσήματα, ακόμα και στα γεράματα [32,33].

Για τη μεγιστοποίηση της προστασίας έναντι των καρδιαγγειακών μέσω της διαίτας πολλές διατροφικές συστάσεις, βασιζόμενες σε αποδείξεις, έχουν σχηματιστεί και γίνει λειτουργικές σε διαιτητικούς δείκτες. Παραδείγματα τέτοιων δεικτών είναι ο healthy eating index στις ΗΠΑ [34], και ο dutch healthy eating index [35], οι οποίοι είναι χρήσιμοι για να ερευνούν ειδικές για τις χώρες τους σχέσεις μεταξύ της ποιότητας της διαίτας και των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η συλλογή συγκρίσιμων δεδομένων για την διαιτητική ποιότητα σε πολλές ομάδες απαιτεί ένα παγκόσμια εφαρμόσιμο σκορ υγιεινής διατροφής. Ο healthy diet indicator (HDI) [36] βασισμένος στις συστάσεις για την πρόσληψη συστατικών του παγκόσμιου οργανισμού υγείας του 2003 [37],

για να αποτρέψει χρόνιες νόσους παγκοσμίως, αντιπροσωπεύει έναν παγκόσμια εφαρμόσιμο δείκτη υγιεινής διατροφής που έχει φανεί να σχετίζεται με όλες τις αιτίες θνησιμότητας [38,39].

Ο δείκτης περιλαμβάνει συστάσεις για την πρόσληψη λιπαρών οξέων (που επηρεάζουν τα λιπίδια του αίματος και τις λιποπρωτεΐνες), για τους ολικούς υδατάνθρακες και την ελεύθερη ζάχαρη (που επηρεάζουν γενικά το σωματικό λίπος), για τη χοληστερόλη (ως δείκτη για τα ζωικής προέλευσης προϊόντα), για την πρωτεΐνη (που πιθανά επηρεάζει τη συγκέντρωση των λιπαρών του αίματος, την αρτηριακή πίεση, και το σωματικό βάρος), για το αλάτι (που επηρεάζει την αρτηριακή πίεση), για τα φρούτα και τα λαχανικά (που έχουν αντί-φλεγμονώδη και αντί-οξειδωτική δράση) και για τις φυτικές ίνες (που επηρεάζουν την ινσουλινο-ευαισθησία, την αιματική πίεση, τα λιπίδια και τη φλεγμονή) [40].

2.6.2.MedDietScore (MDS)

Σύμφωνα με τη λογική του μεσογειακού διαιτητικού προτύπου, συμπεριλήφθηκε στο δείκτη MDS η εβδομαδιαία κατανάλωση των εξής ομάδων τροφίμων: μη επεξεργασμένα δημητριακά (ολικής αλέσεως ψωμί και ζυμαρικά, καφέ ρύζι κ), πατάτες, φρούτα, λαχανικά, όσπρια, κρέας και προϊόντα του, πουλερικά, ψάρια, γαλακτοκομικά προϊόντα (όπως τυρί, γιαούρτι, γάλα), ελαιόλαδο και αλκοολούχα ποτά. Βασισμένοι στις συνιστώμενες προσλήψεις χρησιμοποιήθηκαν μονότονες και μη μονότονες συναρτήσεις (αλκοολ) με σκοπό να βαθμολογηθεί η συχνότητα κατανάλωσης αυτών των ομάδων. Συγκεκριμένα, οι βαθμολογίες των ατόμων προσδιορίστηκαν απ το 0 μέχρι το 5 και αντίστροφα, σε κάθε κατηγορία τροφίμων σύμφωνα με τη θέση που κατέχουν στη μεσογειακή πυραμίδα. Για την κατανάλωση αυτών που θεωρούνται κοντά στο μεσογειακό πρότυπο (αυτών που προτείνονται για καθημερινή κατανάλωση ή για εβδομαδιαία κατανάλωση περισσότερες από 3 φορές, δηλαδή τα μη επεξεργασμένα δημητριακά, οι πατάτες, τα φρούτα, τα λαχανικά, τα όσπρια, το ελαιόλαδο και τα ψάρια) δίνεται το σκορ 0 όταν κάποιος αναφέρει μηδενική κατανάλωση, και το 1 έως 5 από τη σπάνια έως τη συχνή κατανάλωση. Για την κατανάλωση αυτών που θεωρούνται ότι είναι μακριά από το μεσογειακό πρότυπο (σπάνια ή μηνιαία κατανάλωση, κρέας και προϊόντα του, πουλερικά και γαλακτοκομικά προϊόντα) δίνεται το αντίστροφο σκορ (από 5 όταν κάποιος αναφέρει μηδενική κατανάλωση μέχρι το 0 όταν κάποιος αναφέρει σχεδόν καθημερινή κατανάλωση. Ειδικά για το αλκοόλ δεν χρησιμοποιείται μονότονη

συνάρτηση. Σκορ 5 παίρνουν για κατανάλωση μικρότερη από 300ml ημερησίως και σκορ 0 για μηδενική κατανάλωση ή κατανάλωση μεγαλύτερη από 700ml ημερησίως και σκορ 1 έως 4 για κατανάλωση 600-700, 500-600, 400-500 και 300-400ml (100ml έχουν 12 gr αιθανόλης συγκέντρωση). Το συνολικό σκορ έχει εύρος 0-55. Υψηλότερο σκορ δείχνει μεγαλύτερη προσκόλληση στη μεσογειακή διαίτα, αλλά δεν προτείνονται συγκεκριμένα κατώφλια.

Έτσι ανάλογα με το σκορ μπορεί κάποιος να μην έχει καθόλου καλή συμμόρφωση με τη μεσογειακή διαίτα, να έχει ανεπαρκή συμμόρφωση, να έχει καλή συμμόρφωση ή και να έχει πολύ καλή συμμόρφωση. Ανάλογα με την κατηγορία που ανήκει κάποιος είναι λιγότερο ή περισσότερο εκτεθειμένος στο οξειδωτικό στρες, στον κίνδυνο για εμφάνιση νοσογόνων καταστάσεων και χρόνιων νοσημάτων. Επίσης ανάλογα με την κατηγορία, προτείνεται η μερική ή σοβαρή αλλαγή του διατροφικού προτύπου, κι η εισαγωγή ή εξαγωγή τροφίμων απ το “καθημερινό μενού”[41].

2.6.3.Hellenic risk score

Πλέον είναι ευρέως αποδεκτό ότι η πρόβλεψη χρόνιων νοσημάτων είναι ένα χρήσιμο εργαλείο σε ατομικό επίπεδο τόσο στην καθημερινή κλινική πράξη, όσο και στις δημόσιες στρατηγικές υγείας έναντι του βάρους των ασθενειών αυτών. Ο δείκτης αυτός είναι ένας λογάριθμος και πίνακες που υπολογίζουν τον 10ετή κίνδυνο για θανατηφόρα καρδιαγγειακά περιστατικά στην Ελλάδα. Βασίζεται στο SCORE project και έχει βαθμονομηθεί για τον ελληνικό πληθυσμό χρησιμοποιώντας εθνικά δεδομένα θνησιμότητα και πληροφορίες για την ηλικία, το φύλο, τις καπνιστικές συνήθειες, την ολική χοληστερόλη και τη συστολική αρτηριακή πίεση, από την επιδημιολογική μελέτη ATTICA. Παρά την ευρεία χρήση πινάκων κινδύνου, όπως ο Framingham ή το SCORE, η γενετική, η εθνική, η κοινωνική και πολιτισμική ποικιλότητα μπορεί να οδηγήσει σε ουσιαστική μεταβλητότητα στην πρόβλεψη καρδιαγγειακών συμβάντων. Έχει ήδη αναφερθεί ότι το σκορ του Framingham Heart Study ή τα μοντέλα πρόβλεψης κινδύνου της βόρειας Ευρώπης, υπερεκτιμούν τον κίνδυνο σε πολλούς πληθυσμούς της νότιας Ευρώπης.

Έτσι η ανάγκη για ειδική βαθμονόμηση έγινε το αίτιο για τη δημιουργία ενός σκορ προσαρμοσμένου στα δεδομένα της χώρας μας [42].

2.7.Γενετική προδιάθεση

Ασθένειες όπως τα ΚΝ, είναι πολυπαραγοντικές και έχουν σύνθετη αιτιολογία, καθώς προκύπτουν απ το συνδυασμό αλληλομόρφων πολλών γονιδίων και επηρεάζονται και από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Για τη μελέτη των πολυπαραγοντικών νόσων οι γενετιστές χρησιμοποιούν μια προσέγγιση που ονομάζεται γενετική συσχέτιση. Σε μια τέτοια μελέτη οι επιστήμονες μετρούν τη συχνότητα συγκεκριμένων παραλλαγών της αλληλουχίας DNA, συνήθως μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) ανάμεσα σε δύο ομάδες. Η μια ομάδα είναι η υπό εξέταση (ένας πληθυσμός μη συγγενικών ατόμων που φέρουν την ασθένεια) και η άλλη είναι η ομάδα αναφοράς (ένας πληθυσμός μη συγγενικών ατόμων της ίδιας εθνικής καταγωγής τα οποία δεν φέρουν την ασθένεια). Κατά τη γενετική συσχέτιση είτε εξετάζεται ένα συγκεκριμένο γονίδιο (μελέτη συσχέτισης υποψήφιου γονιδίου) είτε εξετάζονται πολυμορφικοί δείκτες σε ολόκληρο το γονιδίωμα (μελέτη συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος). Και στις δυο περιπτώσεις ένα γονίδιο πιθανολογείται ότι σχετίζεται με την ασθένεια, όταν συγκεκριμένα αλληλόμορφα του εμφανίζονται σε υψηλότερη συχνότητα στην υπό εξέταση ομάδα απ ότι στην ομάδα αναφοράς. Η ισχύς της συσχέτισης εκφράζεται συνήθως ως λόγος πιθανοτήτων (odds ratio), ο οποίος υπολογίζεται από τη συχνότητα του συγκεκριμένου αλληλομόρφου στην ομάδα των ασθενών και στην ομάδα αναφοράς. Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης διεξάγονται συλλέγοντας κλινικά στοιχεία και δείγματα DNA από ασθενείς, άσχετα από το αν προέρχονται από μια οικογένεια με ιστορικό της ασθένειας. Για τις μελέτες αυτές απαιτείται μεγάλο πλήθος ασθενών και ατόμων αναφοράς. Συχνά χρησιμοποιούνται εκατοντάδες ή χιλιάδες, ώστε το δείγμα να είναι στατιστικά σημαντικό και να είναι δυνατός ο υπολογισμός της ενδεχόμενης συμβολής ενός αλληλομόρφου στην αύξηση του κινδύνου εμφάνισης της ασθένειας. Συνήθως τα γονίδια που προδιαθέτουν για μια νόσο αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισής της μόλις κατά 1,2-1,5 φορές. Τα μέλη των δυο ομάδων θα πρέπει να ανήκουν στον ίδιο πληθυσμό, γιατί η συχνότητα των υπό μελέτη αλληλομόρφων μπορεί να διαφέρει σημαντικά σε ανθρώπινους πληθυσμούς διαφορετικής φυλετικής ή/και εθνολογικής προέλευσης.

Η ΚΝ είναι ένα κλασσικό παράδειγμα πολυπαραγοντικής διαταραχής. Σημαντική ένδειξη υγιούς (ή μη) καρδιάς είναι το χρονικό διάστημα που χρειάζεται ο καρδιακός μυς για να επαναπολωθεί μετά από έναν ηλεκτρικό παλμό, το λεγόμενο διάστημα QT. Η υπερβολική αύξηση ή μείωση αυτού είναι μια σημαντική αιτία σοβαρής ΚΝ [43].

2.7.1.Αλληλούχιση και γονοτύπηση

Η ανάλυση της αλληλουχίας του γονιδιώματος ενός ατόμου είναι το βασικό βήμα για τη γονοτύπηση. Κατά την αλληλούχιση του γονιδιώματος ενός ανθρώπου, πολλά αντίγραφα του DNA σπάνε σε μικρά κομμάτια και καθένα από αυτά αλληλουχείται. Η ύπαρξη πολλών αντιγράφων του DNA σημαίνει ότι τα κομμάτια του DNA είναι, περισσότερο ή λιγότερο, τυχαία κατανεμημένα κατά μήκος του γονιδιώματος. Τα κομμάτια στη συνέχεια ευθυγραμμίζονται στην αναφερόμενη αλληλουχία και ενώνονται μεταξύ τους. Για τον καθορισμό της πλήρους γονιδιακής αλληλουχίας ενός ατόμου με τις ισχύουσες πλατφόρμες χρειάζεται να αλληλουχηθεί το DNA αυτού του ατόμου περίπου 28 φορές. Αν η ποσότητα της αλληλούχισης είναι μόνο κατά μέσο όρο μια φορά κατά μήκος του γονιδιώματος, τότε μεγάλο μέρος της αλληλουχίας θα έχει χαθεί, επειδή κάποιες γονιδιακές θέσεις θα καλύπτονται από πολλά κομμάτια, ενώ άλλες δεν θα έχουν κανένα. Όσο πιο βαθιά είναι η αλληλούχιση, τόσο μεγαλύτερο μέρος του γονιδιώματος θα έχει καλυφθεί τουλάχιστον μια φορά. Επίσης, οι άνθρωποι είναι διπλοϊδείς οργανισμοί. Έτσι όσο περισσότερη είναι η αλληλούχιση, τόσο πιο σίγουρο είναι ότι θα έχουν καλυφθεί και τα δύο χρωμοσώματα για μια γενετική θέση. Επιπλέον, η βαθύτερη κάλυψη είναι ειδικά χρήσιμη για την ανίχνευση δομικών αλληλομόρφων, και επιτρέπει να διορθώνονται λάθη που συμβαίνουν κατά την αλληλούχιση.

Η γονοτύπηση είναι η διαδικασία καθορισμού των διαφορών στο γονότυπο ενός ατόμου με την εξέταση αλληλουχία DNA του ατόμου χρησιμοποιώντας βιολογικές δοκιμασίες και συγκρίνοντάς την με αλληλουχία άλλου ατόμου ή μια αλληλουχία αναφοράς. Αποκαλύπτει τα αλληλόμορφα, τα οποία ένα άτομο έχει κληρονομήσει από τους γονείς του. Συνήθως, η ανάλυση γονοτύπου αφορά τη χρήση των αλληλουχιών DNA, ώστε να καθοριστούν βιολογικοί πληθυσμοί με τη χρήση μοριακών εργαλείων και τις περισσότερες φορές δεν περιλαμβάνει τον καθορισμό των γονιδίων ενός ατόμου. Η γονοτύπηση είναι σημαντική στην έρευνα των γονιδίων και των παραλλαγών των γονιδίων που σχετίζονται με μία νόσο.

2.7.2.Μοριακή γενετική και ΚΝ

Οι γενετικές μελέτες για τα στεφανιαία σύνδρομα και το έμφραγμα του μυοκαρδίου κρύβονται πίσω από άλλες καρδιαγγειακές νόσους. Ο κύριος παράγοντας που

ευθύνεται για την περιορισμένη επιτυχία στο πεδίο της γενετικής των στεφανιαίων νοσημάτων και του εμφράγματος του μυοκαρδίου είναι ότι είναι σύνθετες ασθένειες, οι οποίες πιστεύεται ότι προκαλούνται από πολλούς γενετικούς παράγοντες, περιβαλλοντικούς παράγοντες και αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των παραγόντων. Όντως, πολλοί παράγοντες κινδύνου έχουν ταυτοποιηθεί για τα ΟΣΣ/OEM, συμπεριλαμβανομένου του καπνίσματος, της αυξημένης ηλικίας, του αντρικού φύλου, του σακχαρώδους διαβήτη, της υψηλής συστολικής αρτηριακής πίεσης, του προσωπικού ιστορικού στηθάγχης, του οικογενειακού ιστορικού για ΟΣΣ και OEM, της υψηλής σε λίπη δίαιτας, των λοιμώξεων, της παχυσαρκίας, της αυξημένης ολικής χοληστερόλης και LDL στο πλάσμα, των αυξημένων τριγλυκεριδίων στο πλάσμα και της χαμηλής HDL στο πλάσμα [44,45,46].

Ανάμεσα σε αυτούς τους παράγοντες, το οικογενειακό ιστορικό είναι ένας απ τους πιο σημαντικούς ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για ΟΣΣ/OEM [47].

Οι μελέτες διδύμων επίσης προτείνουν ότι οι γενετικοί παράγοντες συνεισφέρουν στην ανάπτυξη ΟΣΣ και OEM [48].

Η πιο κοινά χρησιμοποιούμενη μέθοδος για ταυτοποίηση ευαίσθητων γονιδίων για ΟΣΣ και OEM είναι η μελέτη ασθενών-μαρτύρων για υποψήφια γονίδια. Μεθοδολογικά, αυτή είναι η ευκολότερη προσέγγιση με την οποία ένα υποψήφιο γονίδιο επιλέγεται με βάση την πιθανή συμμετοχή του στα ΟΣΣ/OEM. Οι πολυμορφισμοί (SNPs) ταυτοποιήθηκαν στο γονίδιο και γονοτυπήθηκαν σε μια ομάδα ασθενών και μια ελέγχου. Οι συχνότητες των αλληλόμορφων των πολυμορφισμών ή των γονοτύπων αναλύονται. Και ένα αλληλόμορφο ή ένας γονότυπος σχετίζονται με τη νόσο αν η ύπαρξή του στις υποθέσεις είναι σημαντικά διαφορετική από την αντίστοιχη στην ομάδα ελέγχου.

Μπορούμε να διαχωρίσουμε τα γονίδια τα οποία σχετίζονται με σύνθετες ανθρώπινες ασθένειες όπως τα ΟΣΣ/OEM σε τρεις κύριες κατηγορίες: γονίδια που προκαλούν την ασθένεια, γονίδια ευαισθησίας και γονίδια που συνδέονται με την ασθένεια. Η πρώτη κατηγορία είναι γονίδια που συνδέονται ευθέως με την παθογένεση της ασθένειας όταν υποστούν μετάλλαξη. Σε αυτή την περίπτωση, οι μεταλλαγές ταυτοποιούνται ως η πρωταρχική αιτία της ασθένειας. Τα γονίδια που προκαλούν την ασθένεια έχουν μεγάλη προβλεπτική αξία και μπορούν να χρησιμοποιηθούν κατευθείαν σε γενετικά τεστ. Τα γονίδια ευαισθησίας είναι τα γονίδια που αυξάνουν ή μειώνουν την πιθανότητα για την ανάπτυξη της ασθένειας και μπορεί να προκαλούν ή και όχι την ασθένεια στο πλαίσιο άλλων γενετικών ή περιβαλλοντικών παραγόντων. Μεταλλάξεις ή πολυμορφισμοί σε

αυτά τα γονίδια μπορεί να είναι παρόντα και στους υγιείς και στους ασθενείς πληθυσμούς, αλλά η συχνότητα διαφέρει. Στα άτομα, τα γονίδια ευαισθησίας έχουν μικρότερη προβλεπτική αξία για την ανάπτυξη και την πρόγνωση της ασθένειας. Τα γονίδια που είναι συνδεδεμένα με την ασθένεια είναι γονίδια που συνδέονται μέσω τεχνικών της μοριακής βιολογίας, των μικροσυστοιχειών, ή της πρωτεομικής ανάλυσης, αλλά η σύνδεσή τους με την ασθένεια ως αίτια ή αποτελέσματα δεν έχει ακόμα διακριβωθεί. Κάποια τέτοια γονίδια μπορεί να εξυπηρετούν ως βιο-δείκτες για την ασθένεια [49].

Γονίδια που προκαλούν την ασθένεια (disease-causing genes)

Γονίδια που προκαλούν την ασθένεια έχουν ταυτοποιηθεί για την οικογενή υπερχοληστερολαιμία και την ασθένεια του Tangier, οι οποίες αυξάνουν τον κίνδυνο της πρώιμης αθηροσκλήρωσης και των ΟΣΣ. Η υπερχοληστερολαιμία χαρακτηρίζεται από αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης στο πλάσμα συνδεδεμένα με τις LDL, ξανθώματα των τενόντων, και αθήρωμα, και μπορεί να προκληθεί από μεταλλάξεις στον υποδοχέα της LDL (LDLR gene) [50], στο γονίδιο της apoB-100 [51], στο γονίδιο της προπρωτεΐνης convertase subtilisin/kexin-type 9 (PCSK9) [52], στο γονίδιο της 7-α-υδροξυλάσης της χοληστερόλης (CYP7A1) [53], και στο γονίδιο ARH [54].

Μόνο ένα γονίδιο που προκαλεί την ασθένεια, το MEF2A, που κωδικοποιεί ένα μέλος της MEF2 οικογένειας των μεταγραφικών παραγόντων, έχει ταυτοποιηθεί ως πρωταρχικό για ΟΣΣ και OEM χωρίς άλλα συνοδά κλινικά χαρακτηριστικά όπως η υπερχοληστερολαιμία και η ασθένεια Tangier.

Σε μια μεγάλη έρευνα σε μια οικογένεια με 13 ασθενείς, μια GWAS μελέτη εντοπίστηκε ο πρώτος γενετικός τόπος για αυτοσωμικό επικρατές γονίδια για ΟΣΣ και OEM στο χρωμόσωμα 15q26 (adCAD1) [55].

Λειτουργικές έρευνες έδειξαν ότι η 21 ζευγών βάσεων έλλειψη εμποδίζει την μεταγραφική ενεργοποίηση του MEF2A από έναν επικρατές αρνητικό μηχανισμό.

Σε επόμενες μελέτες βρέθηκαν κι άλλες τρεις μεταλλάξεις, πάλι στο εξώνιο 7, οι οποίες όμως δεν βρέθηκαν στον υγιή πληθυσμό [56], και σε αντίθεση με την έλλειψη των 21 βάσεων, δεν αναστέλλουν εντελώς τη δράση του γονιδίου, αλλά οδηγούν σε λιγότερο σοβαρές μορφές ΟΣΣ. Τα αποτελέσματα από τέτοιες έρευνες δείχνουν ότι μέχρι και

1,93% όλων των ασθενών με ΟΣΣ/OEM μπορεί να φέρουν μια μεταλλαγή στο MEF2A, που φέρνει το γενετικό τεστ για παθήσεις της καρδιάς ένα βήμα πιο κοντά.

Η σημαντικότητα της ταυτοποίησης του MEF2A ως το πρώτο γονίδιο που προκαλεί την ασθένεια για τα ΟΣΣ και OEM είναι διπλή. Πρώτον κάνει το γενετικό τεστ δυνατό για κάποιους που έχουν υψηλό κίνδυνο για εμφάνιση ΟΣΣ/OEM. Επιθετικές αλλαγές στον τρόπο ζωής και φαρμακευτικές παρεμβάσεις μπορεί να χρησιμοποιηθούν για να καθυστερήσουν ή να εμποδίσουν την ανάπτυξη OEM σε αυτούς που φέρουν τα γονίδια. Δεύτερον προσφέρει έναν μοριακό μηχανισμό για την παθογένεση των ΟΣΣ/OEM.

Γονίδια ευαισθησίας (susceptibility genes)

Γονίδιο μεταγραφικού παράγοντα USF1 και οικογενής συνδυαστική υπερλιπιδαιμία

Η οικογενής συνδυαστική υπερλιπιδαιμία (FCHL) είναι παρούσα σε περίπου 20% απ τους ασθενείς με ΟΣΣ και χαρακτηρίζεται από αυξημένα επίπεδα ολικής χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων στο πλάσμα. Ένας απ τους σημαντικότερους γενετικούς τόπους ευαισθησίας για την FCHL χαρτογραφήθηκε στο χρωμόσωμα 1q21-23 σε έναν φιλανδικό πληθυσμό [57].

Πρόσφατα δύο συνώνυμοι πολυμορφισμοί στο γονίδιο USF1 βρέθηκε ότι σχετίζονται σημαντικά με την FCHL. Το USF1 κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό παράγοντα που ρυθμίζει γονίδια που εμπλέκονται στο μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων, συμπεριλαμβανομένου του ABCA1 και των απολιποπρωτεϊνών CIII, AII και E [58].

Το γονίδιο της κυτοκίνης της λεμφοτοξίνης-α (TNF- α)

Τρεις πολυμορφισμοί στο γονίδιο LTA βρέθηκαν να έχουν σημαντική σχέση με αυξημένο κίνδυνο για OEM όταν ήταν σε ομοζυγωτία. Ο TNF- β είναι μια κυτοκίνη που μεσολαβεί απαντήσεις του ανοσοποιητικού και την φλεγμονή. Όσον αφορά τις λειτουργικές επιρροές των τριών πολύμορφισμών, αυξάνουν την έκφραση μορίων προσκόλλησης και κυτοκινών συμπεριλαμβανομένου των μορίων προσκόλλησης των κυττάρων των αγγείων 1, των ενδοκυτταρικών μορίων προσκόλλησης 1, του TNF, της ιντερλευκίνης 1 α , 1 β , και της σελεκτίνης E 2 φορές. Τα αποτελέσματα από μελέτες λειτουργικότητας ισχυροποιούν το συμπέρασμα ότι οι παραλλαγές του LTA αυξάνουν την ευαισθησία για OEM [59].

Μια άλλη μελέτη ερευνήσε πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με το LTA και βρήκε ότι η γαλεκτίνη 2 (γονίδιο LGALS2), ένα μέλος της οικογένειας των λεκτινών που προσδένεται σε γαλακτόζη, προσδένεται στο LTA και ρυθμίζει την εξωκυττάρια έκκριση του LTA. Ένας πολυμορφισμός, ο 3279C/T, στο εσώνιο 1, του LGALS2 βρέθηκε ότι σχετίζεται σημαντικά με το OEM, και ότι το υπολειπόμενο αλληλόμορφο έχει προστατευτικό ρόλο απέναντι στο OEM. Λειτουργικές μελέτες έδειξαν ότι το υπολειπόμενο αλληλόμορφο Τα μειώνει την έκφραση του LGALS2 κατά 50%. Μειωμένη έκφραση της γαλεκτίνης 2 αναμένεται να μειώνει τα εξωκυττάρια επίπεδα του LTA, οδηγώντας σε μικρότερη φλεγμονή και μειωμένο κίνδυνο για OEM. Παρολαυτά αναμένεται με ενδιαφέρον η επαναληψιμότητα αυτών των αποτελεσμάτων [60].

ALOX5AP πρωτεΐνη ενεργοποίησης της 5-λιποξυγενάσης

Μια μελέτη σύνδεσης ολόκληρου του γονιδιώματος με 296 ισλανδικές οικογένειες αναγνώρισε μια υποψήφια σύνδεση με το OEM στο χρωμόσωμα 13q12-13 στις γυναίκες αλλά όχι στους άνδρες. Το ALOX5AP, που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη ενεργοποίησης της 5 λιποξυγενάσης (FLAP), βρέθηκε στην περιοχή και έγινε ένα καλό υποψήφιο γονίδιο. Ένας απλότυπος (HarA) που περιλαμβάνει 4 πολυμορφισμούς στο ALOX5AP βρέθηκε να σχετίζεται σημαντικά με το OEM (σχετικός κίνδυνος 1.80 $p=0,00023$, στατιστικά σημαντικός σε μικρότερο βαθμό και για το AEE). Ένας άλλος απλότυπος (HarB), ο οποίος περιλαμβάνει άλλους 4 πολυμορφισμούς βρέθηκε σημαντικός σε μια άλλη αγγλική μελέτη, οι οποίες προσφέρουν ενδείξεις για σχέση του γονιδίου ALOX5AP με το OEM [61].

Νωρίτερα, το γονίδιο της 5 λιποξυγενάσης είχε βρεθεί ήδη σημαντικό σε μελέτες με αθηροσκλήρωση σε ποντίκια [62].

Φωσφοδιεστεράση 4D και AEE

Μια μελέτη σύνδεσης όλου του γονιδιώματος σε έναν ισλανδικό πληθυσμό χαρτογράφησε έναν γενετικό τόπο για ευαισθησία για AEE στο χρωμόσωμα 5q12 [63].

Το γονίδιο ευαισθησίας για αυτόν τον τόπο ταυτοποιήθηκε να είναι το PDE4D, ένα γονίδιο που κωδικοποιεί τη φωσφοδιεστεράση 4D. Η πρωτεΐνη του PDE4D αναστέλει το

2^ο μήνυμα cAMP, ένα μόριο-σήμα κλειδί που εμπλέκεται σε απαντήσεις φλεγμονής των κυττάρων των αγγείων στα οξειδωμένα λίπη [64].

Η σύνδεση μεταξύ PDE4D και AEE υποστηρίζεται επίσης από το ότι εμπλέκεται σε ευαισθησία για ισχαιμική εγκεφαλική βλάβη σε ζωικά μοντέλα [65].

Γονίδια που συνδέονται με ΣΣ και ΕΜ

Νέες γενωμικές και πρωτεομικές προσεγγίσεις άρχισαν να ταυτοποιούν γονίδια των οποίων η έκφραση συνδέεται με ΕΜ και ΣΣ. Ανάλυση με microarray επιτρέπει ταυτόχρονη ανάλυση της έκφρασης χιλιάδων γονιδίων σε CAD ιστούς έναντι μη CAD ιστούς. Για παράδειγμα, η έκφραση 49 γονιδίων συνδέθηκε πρόσφατα με τα CAD, και αυτά τα γονίδια περιλαμβάνουν ενδοκυτταρικά μόρια προσκόλλησης 2, PIM2, ECGF1, fusin, ενεργοποιητές β-κυττάρων (BL34, GOS8), πρωτεΐνες ενεργοποιητές 4 Rho GTPασών, υποδοχείς του ρετινοϊκού οξέως, αρρεσίνη β2 και πολλά άλλα [66].

Ο γενετικός τόπος 9p21

Τουλάχιστον τέσσερις μελέτες διασύνδεσης ολόκληρου του γονιδιώματος έχουν ταυτοποιήσει το χρωμόσωμα 9p21 ως ένα κύριο γενετικό τόπο για κίνδυνο από ΟΣΣ ή OEM [67,68,69,70].

Ο γενετικός τόπος αυτός δεν περιορίζεται μόνο στη στεφανιαία αγγείωση, καθώς γενετικές παραλλαγές του έχουν επίσης συνδεθεί με το κοιλιακό αορτικό ανεύρυσμα, την περιφερειακή αρτηριοπάθεια και το εγκεφαλικό(*). Επιπλέον, έχει σχετιστεί με τη δημιουργία της αθηρωματικής πλάκας στις καρωτιδικές αρτηρίες σε υγιή άτομα, προτείνοντας ότι το 9p21 προωθεί την αθηρωματική πλάκα [71].

Ασθενείς με ΟΣΣ είναι πιο τρωτοί σε επαναλαμβανόμενο και θανατηφόρο επόμενο επεισόδιο κατά την διάρκεια των 6 πρώτων μηνών μετά απ το συμβάν, αλλά η ταυτοποίηση αυτών που διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο είναι ακόμα αδύνατη, όταν βασίζεται στον κλινικό φαινότυπο και τα χαρακτηριστικά που παρουσιάζουν. Έτσι η βελτίωση της πρόγνωσης χρησιμοποιώντας ένα συνδυασμό από φαινοτυπικά χαρακτηριστικά και γενετικά τεστ θα μπορούσε να οδηγήσει καλύτερα τη διαλογή των ασθενών και να βελτιώσει τη φροντίδα των ασθενών με οξύ ή μεγαλύτερης διάρκειας νοσηλεία [72].

Γονίδια που σχετίζονται με το ΔΜΣ και τα ΚΝ

Τα CVD είναι μια τάξη ασθενειών που περιλαμβάνουν την καρδιά και τα αγγεία. Έχει αναφερθεί ο δείκτης μάζας σώματος είναι ένας παράγοντας κινδύνου για τα CVD. Παρόλο που διάφορες έρευνες GWAS έχουν προσφέρει σημαντική πληροφορία όσον αφορά τη γενετική των CVD και των παραγόντων κινδύνων τους, ο συγκεκριμένος μηχανισμός μέσω του οποίου ο ΔΜΣ επιδρά στον κίνδυνο για CVD δεν είναι γνωστός. Πιστεύεται ότι ο ΔΜΣ επιδρά μέσω κοινών μονοπατιών. Υπάρχουν ενδείξεις στη βιβλιογραφία που υποστηρίζουν την εμπλοκή της σηματοδότησης του GnRH (εκλυτική ορμόνη των γοναδοτροπινών), τη συστολή των λείων μυϊκών ινών των αγγείων, τη διατακτική μυοκαρδιοπάθεια, τους χασμοσυνδέσμους, τη σηματοδότηση του wnt (διαφοροποίηση κυττάρων), τη σηματοδότηση του ασβεστίου και διάφορων χημειοκινών στα CVD [73].

Για να εκτιμήσουν τη σχέση μεταξύ θανάτων από CVD και ΔΜΣ ο Chen et al., διεξήγαγαν μια συγκεντρωτική ανάλυση από 20 προοπτικές μελέτες κοορτής στην Ασία με πάνω από 1.000.000 άτομα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ένας υψηλός δείκτης ΔΜΣ είναι παράγοντας κινδύνου για θάνατο από όλες τις CVDs, συμπεριλαμβανομένου των ΟΣΣ, του ισχαιμικού ΑΕΕ και του αιμορραγικού ΑΕΕ [74].

Αλλά κι άλλες έρευνες στην Αμερική δείχνανε την ίδια σχέση με την παχυσαρκία και το υπέρβαρο. Ο Loriginzi et al., εξέτασε τη σχέση του λιποβαρούς, υπέρβαρου και της παχυσαρκίας με διάφορα είδη παραγόντων κινδύνου για CVD. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι λιπόβαροι ενήλικες είχαν στατιστικώς σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα CRP, ολικής χοληστερόλης, ολικής χοληστερόλης προς HDL, LDL και τριγλυκεριδίων συγκρινόμενοι με του νορμοβαρείς [75].

Γονίδια που σχετίζονται με την υποξία και τα ΚΝ

Χαμηλότερα επίπεδα οξυγόνου από το φυσιολογικό έχουν ως αποτέλεσμα υποξικό σοκ (υποξία) το οποίο προκαλεί τα κύτταρα να ενεργοποιήσουν ρυθμιστικά μονοπάτια υπεύθυνα να αυξάνουν τη διαθεσιμότητα οξυγόνου και να μεγιστοποιούν το μεταβολισμό υπό περιορισμένη τάση οξυγόνου. Μια σημαντική απάντηση στην υποξία μεσολαβείται από αλλαγές στη γενετική έκφραση, που ρυθμίζονται από το μονοπάτι που αντιλαμβάνεται το οξυγόνο που περιλαμβάνει τους hypoxia-inducible factors (HIFs), για να προωθήσει την προσαρμογή στο χαμηλό περιεχόμενο οξυγόνου.

Σε υποξικά κύτταρα, η έκφραση αρκετών εκατοντάδων mRNAs αλλάζει μέσω ρύθμισης από HIF, που δεσμεύονται στα hypoxia responsive elements (HRE), στις περιοχές του υποκινητή του γονιδίου τους.

Η υποξία έχει κοινώς σχετιστεί με την παθο-βιολογία πολλών ασθενειών όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα (έμφραγμα του μυοκαρδίου, ισχαιμία του μυοκαρδίου και εγκεφαλικό) όπως και με χρόνιες αναπνευστικές νόσους, καρκίνο και φλεγμονή.

Επιπλέον, το οξυγόνο είναι ένας απ τους κύριους καθοριστές της έκφρασης των γονιδίων του μυοκαρδίου. Κάτω από υποξικές συνθήκες, τα πρότυπα έκφρασης των γονιδίων της καρδιάς αλλάζουν σε σημαντικό βαθμό.

Προηγούμενες έρευνες έχουν δείξει ότι οι κύρια ευαίσθητοι στο οξυγόνο μεταγραφικοί παράγοντες HIFs, παίζουν ένα προστατευτικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της μυοκαρδιακής ισχαιμίας και στην από την υπερβολική πίεση συγκοπή, και συνεισφέρουν στην παθογένεση την αρτηριακής πνευμονικής υπέρτασης. Έτσι, η σχέση μεταξύ της υποξίας και των CVDs είναι ουσιαστική στην κατανόηση της παθοβιολογίας αυτών των κοινών διαταραχών.

Δεδομένου ότι η υποξία περιλαμβάνεται στην παθο-βιολογία των CVDs, υποθέτεται ότι τα προκαλούμενα απ την υποξία σηματοδοτικά μονοπάτια μπορεί να είναι στενά συνδεδεμένα με τους μοριακούς μηχανισμούς των CVDs.

Όσον αφορά τα γονίδια της υποξίας, επικεντρωνόμαστε σε αυτά που εκφράζονται διαφορετικά σε απάντηση στο υποξικό στρες στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στις λείες μυϊκές ίνες και στους ινοβλάστες. Έχει φανεί ότι τα γονίδια της υποξίας είναι αρκετά πιο κοντά στα CVD γονίδια όσον αφορά τις πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις στον άνθρωπο απ ότι θα αναμενόταν απ το τυχαίο. Φάνηκε επίσης ότι τα υποξικά γονίδια παίζουν σημαντικό ρόλο γεφύρωσης στη σύνδεση διαφορετικών CVDs. Χαρτογραφώντας τα γονίδια που είναι κοινά για την υποξία και τα CVDs σε σηματοδοτικά μονοπάτια, ταυτοποιήθηκαν αρκετά που είναι κοινά για την υποξία και τα CVDs. Κατασκευάστηκε έτσι ένα διμερές δίκτυο υποξίας-CVDs και βρέθηκαν αρκετές περιπτώσεις με σημαντικά παρόμοια γονιδιακή οντολογία [76].

3.Μεθοδολογία

3.1.Το δείγμα της μελέτης

Το δείγμα της προς μελέτη αποτελείται από 230 ασθενείς με ΟΣΝ από την πρώτη φάση και 58 ασθενείς από τη 2^η φάση. Η συλλογή του δείγματος έγινε από 4 νοσοκομεία:

- Πανεπιστημιακό γενικό νοσοκομείο Αττικών
- Γενικό νοσοκομείο Αθηνών Γεννηματάς
- Γενικό νοσοκομείο Πειραιά Τζάνειο
- Ωνάσειο καρδιοχειρουργικό κέντρο

Η συμμετοχή των εθελοντών στην έρευνα ήταν εθελοντική ύστερα από ενυπόγραφη συναίνεσή τους. Ο σχεδιασμός και η διεξαγωγή της συγκεκριμένης μελέτης είχε την έγκριση της Επιτροπής Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Μετά απ το πέρας τουλάχιστον 6 μηνών πραγματοποιήθηκε επικοινωνία με τους εθελοντές, στους οποίους ζητήθηκε να επισκεφτούν το νοσοκομείο που νοσηλεύτηκαν και συλλέχθηκαν δεδομένα με παρόμοιο τρόπο.

3.2.Σχεδιασμός της έρευνας

Σε αυτή την έρευνα συλλέγουμε ασθενείς με

1. οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (ΟΕΜ) η διάγνωση του οποίου βασίζεται σε στα τυπικά χαρακτηριστικά του ηλεκτρο-καρδιο-γραφήματος (ΗΚΓ), σε θετική δοκιμασία για τροπονίνη και στη νοσηλεία. Επίσης συλλέγουμε ασθενείς με
2. ασταθή στηθάγχη, με ανάσπαση του ST τμήματος ή χωρίς ανάσπαση του ST τμήματος (STEMI-NSTEMI) τα οποία τα βρίσκουμε απ το ηλεκτρο-καρδιο-γράφημα και από θετικούς βιο-δείκτες νέκρωσης όπως η τροπονίνη απουσία ανάσπασης του ST τμήματος.

Εδώ υιοθετείται ο ορισμός του εμφράγματος του μυοκαρδίου όπως δίνεται απ τους Thygesen et al., στο “the third universal definition of myocardial infraction” [77] και περιλαμβάνει ασθενείς με:

- Επίπεδα τροπονίνης 1 μεγαλύτερα ή ίσα από 0,1 ng/ml (ή άλλο καρδιακό βιοδείκτη) και τουλάχιστον ένα απ τα επόμενα: συμπτώματα ισχαιμίας,

καινούργιες ή θεωρούμενα καινούργιες σημαντικές αλλαγές στα κύματα του ST τμήματος ή καινούργιο (LBBB), παθολογικά Q κύματα στο ΗΚΓ, απεικονιστικές αποδείξεις από νέα απώλεια ζωτικού μυοκαρδίου or new regional wall motion abnormality, ταυτοποίηση ενός ενδο-στεφανιαίου θρόμβου στην αγγειογραφία.

- Πρωτογενής αγγειοπλαστική σχετιζόμενη με OEM.
- Θρόμβωση του στεντ που σχετίζεται με OEM όταν ταυτοποιείται από στεφανιαίο αγγειογράφημα.
- Εγχείρηση αορτοστεφανιαίας παρακάμψεως σχετιζόμενη με OEM που ταυτοποιείται από αύξηση των τιμών των βιοδεικτών (5 με 10 φορές ή πάνω απ το 99^ο τεταρτημόριο), with (i) νέα παθολογικά κύματα Q ή νέο LBBB, ή (ii) αγγειογραφικά τεκμηριωμένο νέο μόσχευμα ή καινούργια έμφραξη αρτηρίας, ή (iii) ένα θετικό απεικονιστικό τεστ.

3.3.Συλλογή δεδομένων

Τα στοιχεία συλλέχθηκαν από ένα εκτενές ερωτηματολόγιο και επεξεργασία δείγματος αίματος.

Η συλλογή των στοιχείων του ερωτηματολογίου πραγματοποιήθηκε με συνέντευξη και περιλάμβανε:

- Ανθρωπομετρικά δεδομένα
- Κλινικά δεδομένα
- ερωτηματολόγιο τρόπου ζωής
- καπνιστικές συνήθειες
- ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας
- διατροφικές συνήθειες
- ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων
- ερωτηματολόγιο για την υγεία

Από τον ιατρικό φάκελο του ασθενούς απομονώθηκαν στοιχεία από αιματολογικές εξετάσεις, από την φαρμακευτική αγωγή και η διάγνωση.

Από συνεργαζόμενους ιατρούς έγινε αιμοληψία και απομονώθηκαν δύο δείγματα των 10ml το καθένα αίματος, απ τα οποία απομονώνεται βιολογικό υλικό (DNA, RNA, πλάσμα, ορός, αιματικά κύτταρα).

3.3.1.Ανθρωπομετρικά δεδομένα

Ρωτήθηκε το βάρος και αν υπήρχε αυξομείωση το τελευταίο διάστημα, το ύψος, αν είναι αριστερόχειρας ή δεξιόχειρας, το χρώμα και το σχήμα μαλλιών, το χρώμα ματιών και τέλος ο τύπος και η ηλικία έναρξης της ανδρογενετικής αλωπεκίας.

3.3.2.Κλινικά δεδομένα

Ρωτήθηκαν ή συλλέχθηκαν από τον ιατρικό φάκελο τα εξής στοιχεία: η ομάδα αίματος, η αρτηριακή πίεση, στοιχεία του έμμηνου κύκλου (διάρκεια, ηλικία έναρξης και λήξη, ύπαρξη αμηνόρροιας, ο αριθμός τέκνων κα), η φαρμακευτική αγωγή, χειρουργικές επεμβάσεις, διαγνωσμένες από ιατρό ασθένειες, πόνοι σε ισχίο, γόνατα ή πλάτη, κατάγματα απ την ηλικία των 16ετών, οικογενειακό ιστορικό συγγενών 1^{ου} βαθμού και αν οι γονείς είναι εν ζωή και από τι πέθαναν αν δεν είναι.

3.2.3.Ερωτηματολόγιο τρόπου ζωής

Ρωτήθηκε η συζυγική κατάσταση, το μορφωτικό επίπεδο και η επαγγελματική κατάσταση.

3.3.4.Καπνιστικές συνήθειες

Σε αυτό το τμήμα, ρωτήθηκε το κατά πόσο ο εθελοντής καπνίζει καθημερινά, περιστασιακά ή καθόλου. Στην περίπτωση που κάπνιζε ρωτήθηκε η ηλικία έναρξης (και η ηλικία που το σταμάτησε αν ήταν παλιός καπνιστής), τα χρόνια καπνίσματος, το είδος τους τσιγάρου και η ποσότητα σε ημερήσια βάση, καθώς και αν ήταν παθητικός καπνιστής.

3.2.5.Ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας

Για τον υπολογισμό του επιπέδου της φυσικής δραστηριότητας συλλέχθηκαν στοιχεία που αφορούσαν τις συνθήκες εργασίας, αν ο εθελοντής εργαζότανε, τη φυσική

δραστηριότητα στο σπίτι, τη φυσική δραστηριότητα που αφορούσε την ψυχαγωγία, το είδος και τις ώρες άσκησης ανά εβδομάδα καθώς και το μέσο μετακίνησης που χρησιμοποιούσε περισσότερο.

3.2.6.Διατροφικές συνήθειες

Ο εθελοντής απάντησε στο κατά πόσο ετοίμαζε τα γεύματα μόνος του και κατά πόσο έτρωγε μόνος του, στο πόσο συχνά τρώει μαγειρεμένο φαγητό, στο αν έχει προβλήματα μάσησης, στο κατά πόσο καταναλώνει προμαγειρεμένα φαγητά, στο αν ακολουθεί ειδική διατροφή, στο αν χρησιμοποιεί διατροφικά συμπληρώματα, στο κατά πόσο χρησιμοποιεί το αλάτι και στο αν δεν καταναλώνει τρόφιμα για λόγους θρησκείας.

3.2.7.Ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων

Ο εθελοντής ερωτήθηκε για τη συχνότητα κατανάλωσης διαφόρων τροφίμων απ όλες τις ομάδες τροφίμων και τα σημαντικά τρόφιμα (συνολικά 75 σε αριθμό) εκ των οποίων οι επιλογές ήταν: ποτέ/σπάνια, 1-3 φορές το μήνα, 1-2 φορές τη βδομάδα, 3-6 φορές τη βδομάδα, 1 φορά τη μέρα και 2 ή περισσότερες φορές τη μέρα. Οι μερίδες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι κοινώς αποδεκτές μετρημένες σε συχνά χρησιμοποιούμενες μεζούρες πχ ένα φλιτζάνι ή 30gr τυρί ή ψωμί.

3.2.8.Ερωτηματολόγιο για την υγεία

Ρωτήθηκε αν υπάρχει πρόβλημα και σε τι βαθμό όσον αφορά την κινητικότητα, την αυτοεξυπηρέτηση, στις συνηθισμένες δραστηριότητες, τον πόνο/δυσφορία και το άγχος/θλίψη. Τέλος ζητήθηκε απ τον εθελοντή να απαντήσει στο πως αισθάνεται την υγεία του σημειώνοντας ένα χ σε μια κλίμακα απ το 0 μέχρι το 100, με το 0 να είναι η χειρότερη υγεία που χει φανταστεί και το 100 η καλύτερη.

3.2.9.Ερωτηματολόγιο του επανέλεγχου

Το ερωτηματολόγιο που χρησιμοποιήθηκε στον επανέλεγχο είχε σκοπό την καταγραφή αλλαγών στο διάστημα απ την πρώτη νοσηλεία συνεπώς ρωτήθηκαν στα ίδια πράγματα εκτός από πληροφορίες που δεν θα μπορούσαν να έχουν αλλάξει όπως το ύψος ή οικογενειακό ιστορικό.

3.2.10.Αιματολογικές εξετάσεις

Οι αιματολογικές εξετάσεις περιελάμβαναν την πλήρη εξέταση αίματος και τα επίπεδα σημαντικών παραγόντων όπως η γλυκόζη, η ολική χοληστερόλη, η LDL και άλλα. Ιδανικά η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε μετά από πολύωρη νηστεία.

3.2.11.Διαχείριση βιολογικών δειγμάτων

Απομόνωση RNA

Τα δείγματα διατηρούνται σε θερμοκρασία ψυγείου, δηλαδή κοντά στους 4 βαθμούς. Η απομόνωση του RNA που γίνεται όσο το δυνατόν πιο σύντομα απ την αιμοληψία, πραγματοποιείται με το “NucleoSpin RNA Blood” kit, στο οποίο περιέχονται όλα τα διαλύματα που θα χρησιμοποιηθούν στο πρωτόκολλο. Τα στάδια του πρωτοκόλλου φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 2: στάδια έκλουσης του RNA	
Στάδια	Διαδικασία
1	Λύση του αίματος με διάλυμα λύσης (DL buffer)
2	Λύση των πρωτεϊνών με πρωτεϊνάση (πρωτεϊνάση K), επώαση για 15'
3	Προσθήκη διαλύματος αιθανόλης 70%
4	Μεταφορά του λύματος σε στήλη
5	Προσθήκη διαλύματος αφαλάτωσης (MDB buffer, membrane desalting buffer)
6	Προσθήκη διαλύματος πέψης του DNA (DNase), επώαση για 15'
7	Προσθήκη διαλύματος απενεργοποίησης της DNase (RB2)
8	Προσθήκη διαλύματος RB3 για να στεγνώσει πλήρως η μεμβράνη
9	Έκλουση RNA σε 60μl νερού

Στο τέλος της διαδικασίας απομονώνονται 60μL νερό με RNA, στο οποίο γίνεται φωτομέτρηση και σημειώνεται η συγκέντρωσή του σε διαφορεικά μήκη κύματος. Το RNA στην συνέχεια θα αποθηκευτεί στους -80°C μέχρι να σταλεί για αλληλούχιση.

Απομόνωση DNA

Τα φιαλίδια με το αίμα φυγοκεντρούνται στις 3000 στροφές/λεπτό στους 4 βαθμούς για 10 λεπτά. Μετά το πέρας της φυγοκέντρωσης απομονώνονται 2 σωληνάκια για το πλάσμα, τον ορό και τα κύτταρα του αίματος και αποθηκεύονται στους -80°C. Τα κύτταρα του αίματος θα χρησιμοποιηθούν σε άλλο χρόνο για την απομόνωση του DNA.

Για τη διαδικασία της απομόνωσης του DNA χρησιμοποιείται ειδικό kit "iPrep Purelink Gdna Blood Kit". Η μέθοδος χρησιμοποιεί τα εμπύρνηνα κύτταρα του αίματος ως πηγή DNA. Στο μηχάνημα εισάγονται τυποποιημένες σειρές από πηγαδάκια, καθένα απ τα οποία έχει ένα διαφορετικό διάλυμα. Η διαδικασία γίνεται αυτόματα, καθώς ο βραχίονας κινείται μπρός-πίσω και ολοκληρώνει τη διαδικασία αυτόματα. Μια σειρά με 10 πηγαδάκια αντιστοιχεί στο κάθε δείγμα το περιεχόμενο των οποίων φαίνεται στον από κάτω πίνακα.

Πίνακας 3: αντιδραστήρια ανά πηγάδι	
Αντιδραστήριο	Αριθμός πηγαδιού
Δλμ λύσης	1
Πρωτεΐνάση K	2
Δλμ ξεπλύματος	3
"Dynabeads MyOne"	4
Ισοπροπανόλη 100%	5
Δλμ έκλούσης 1	6
Δλμ έκλούσης 1	7
Δλμ έκλούσης 2	8
Δλμ έκλούσης 2	9
Δλμ έκλουσης	10

3.4.Ποιοτικός έλεγχος (quality control-QC)

Εδώ χρησιμοποιήθηκε η πορεία ποιοτικού ελέγχου απ το “Data quality control in genetic case-control association studies” από τον Anderson et al [78].

Τα λάθη μπορούν να βρίσκονται σε πολλά διαφορετικά βήματα

- Θέματα που αφορούν τη συλλογή του δείγματος
- Θέματα που αφορούν το χειρισμό του δείγματος
- Θέματα που αφορούν το chip της γονοτύπησης
- Θέματα που αφορούν τις επιδράσεις της παρτίδας του δείγματος

Πιο συγκεκριμένα, στον αφορά τα άτομα της μελέτης, μπορεί να υπάρξουν θέματα σχετικά με το χειρισμό του δείγματος DNA, όπως η κακή ποιότητα DNA ή χαμηλή συγκέντρωση, η επιμόλυνση και λάθη στη σήμανση των δειγμάτων. Επιπλέον κατά την επιλογή του δείγματος μπορεί να υπάρξουν ζητήματα σχετικά με τη δομή του πληθυσμού αλλά και το ενδεχόμενο συγγένειας μεταξύ κάποιων συμμετεχόντων. Σε αυτές τις περιπτώσεις απαιτούνται μέτρα για να απομακρυνθούν άτομα που δεν θα γονοτυπηθούν σωστά.

Σχετικά με τους πολυμορφισμούς (SNPs), οι συστάδες γονοτύπησης πολλών από αυτών παρουσιάζουν χαμηλή ποιότητα γονοτύπησης λόγω χαμηλής συγκέντρωσης DNA, φτωχής σύνδεσης και ανταγωνιστικής σύνδεσης από άλλες αλληλουχίες και παραλλαγές ως προς τη δομή και τον αριθμό των αντγράφων. Δεν είναι δυνατό να εφαρμόσουν ποιοτικό έλεγχο σε κάθε SNP. Εδώ χρειάζονται μέτρα για να απομακρύνουμε τα SNPs χαμηλής ποιότητας.

3.4.1.Ποιοτικός έλεγχος των αποτελεσμάτων της γονοτύπησης

Κατά τον ποιοτικό έλεγχο των δειγμάτων αναγνωρίζονται και αποκλείονται από την ανάλυση άτομα στα οποία το φύλο που προκύπτει από την γονοτύπηση (λεπτομέρειες παρακάτω) δεν συμφωνεί με το φύλο που έχει καταγραφεί κατά την συλλογή του δείγματος, χαμηλό ποσοστό καλέσματος γονοτύπων κ αυξημένο ποσοστό ομοζυγωτίας ή ετεροζυγωτίας, διπλότυπα δείγματα και δείγματα που παρουσίασαν κάποιο βαθμό συγγένειας και άτομα μη Ευρωπαϊκής καταγωγής (επειδή στην συγκεκριμένη μελέτη επικεντρώναμε στον Ελληνικό πληθυσμό). Παρακάτω αναλύονται τα βασικά βήματα του ποιοτικού ελέγχου σε επίπεδο ατόμων: .

α) Έλεγχος και διόρθωση σύμφωνα με το φύλο του εθελοντή

Το λογισμικό PLINK χρησιμοποιεί πληροφορίες από το χρωμόσωμα X για να καθορίσει το φύλο (υπολογίζει το ρυθμό ετεροζυγωτίας στα SNPs του X χρωμοσώματος για κάθε άτομο στο δείγμα και τον συγκρίνει με τον αναμενόμενο. Τυπικά ένα δείγμα άντρα αναμένεται να έχει ένα βαθμό ομοζυγωτίας περίπου 1 ενώ ένα δείγμα γυναίκας περίπου 0,2). Σε περίπτωση που το φύλο που υπολογίζεται από το λογισμικό διαφέρει από αυτό που έχει δηλωθεί στα φαινοτυπικά δεδομένα θα πρέπει να αποκλείσουμε το ενδεχόμενο λάθους στην καταγραφή κατά τη συλλογή του δείγματος και έπειτα να αποκλείσουμε το δείγμα αυτό από την ανάλυση καθώς υπάρχει η περίπτωση να έχει γονοτυπηθεί δείγμα από άλλον εθελοντή.

β) Αποκλεισμός ατόμων με ποσοστό ανάκλησης γονοτύπων <95%

Στο σημείο αυτό ελέγχεται ο βαθμός καλέσματος γονοτύπων ανά δείγμα, που ορίζεται ως ο αριθμός των μη χαμένων γονοτύπων (γονότυποι που έχουν κληθεί) διαιρούμενος από το συνολικό αριθμό των γονοτυπημένων δεικτών. Χαμηλό ποσοστό είναι ενδεικτικό χαμηλής ποιότητας του δείγματος DNA (πχ χαμηλή συγκέντρωση DNA)

γ) Αποκλεισμός ατόμων με αυξημένο βαθμό ομοζυγωτίας/ετεροζυγωτίας

Σαν ποσοστό ετεροζυγωτίας (ανά άτομο) ορίζεται ο αριθμός των συνολικών μη χαμένων γονοτύπων πλην των ομόζυγων γονοτύπων διαιρεμένος με το συνολικό αριθμό των μη χαμένων γονοτύπων. Ο βαθμός αυτός διαφέρει μεταξύ πληθυσμών και των διαφορετικών πλατφόρμων γονοτύπησης. Ο αυξημένος βαθμός ετεροζυγωτίας υποδηλώνει πιθανή επιμόλυνση, ενώ μικρότερη από την αναμενόμενη ετεροζυγωτία δηλώνει πιθανή ενδογαμία. Το λογισμικό PLINK υπολογίζει τον παρατηρούμενο και τον αναμενόμενο αριθμό των ομοζυγωτών και τον εκτιμώμενο συντελεστή ενδογαμίας (F).

δ) Αποκλεισμός διπλασιασμένων και πρώτου ή δεύτερου βαθμού συγγενών

Βασική υπόθεση του κανονικού πληθυσμού στις έρευνες ασθενών μαρτύρων είναι ότι οι συμμετέχοντες δεν σχετίζονται (ο μέγιστος βαθμός συγγένειας μεταξύ δύο ατόμων είναι μικρότερος από δεύτερου βαθμού συγγενείς). Η παρουσία διπλοτύπων και συγγενών

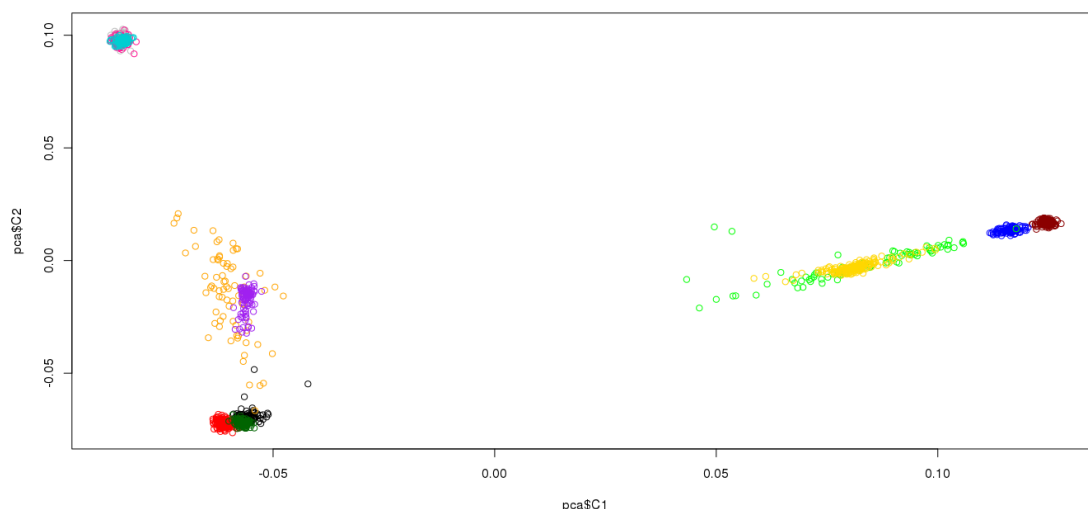
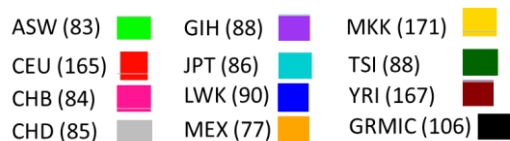
στα δεδομένα μπορεί να εισάγει προκατάληψη (bias) και να προκαλέσει γονοτύπους σε οικογένειες που να αντιπροσωπεύονται περισσότερο και συγγενών στους συμμετέχοντες που έχουν γονοτυπηθεί μπορεί να εισάγει προκατάληψη (bias) καθώς γονότυποι που εμφανίζονται μέσα σε οικογένειες θα αντιπροσωπεύονται περισσότερο και δεν θα αντανakλούν τις συχνότητες των πολυμορφισμών αυτών στο γενικότερο πληθυσμό. Για να ανιχνεύσουμε αυτά τα άτομα, υπολογίσαμε την ταυτότητα καταγωγής ανά ζεύγη (genome-wide pair-wise identity by descent, IBD) για κάθε άτομο. Στη συγκεκριμένη ανάλυση κανένα ζευγάρι ατόμων δεν έχουν ένα r^2 μεγαλύτερο από ένα δεδομένο όριο (τυπικά 0,2) επομένως δεν αποκλείστηκε κάποιο άτομο στο συγκεκριμένο στάδιο ποιοτικού ελέγχου.

Ο βαθμός της πρόσφατης κοινής προγονικότητας για ένα ζευγάρι ατόμων (IBD, identity by descent), μπορεί να εκτιμηθεί χρησιμοποιώντας μια βάση δεδομένων όλου του γονιδιώματος χρησιμοποιώντας το PLINK. Αναμένονται οι τιμές IBD=1 για διπλότυπους ή μονοζυγωτικούς διδύμους, IBD=0,5 για 1^{ου} βαθμού συγγενείς και 0,25 για 2^{ου} βαθμού συγγενείς (0,125 για 3^{ου} βαθμού).

ε) Αναγνώριση ατόμων με αποκλίνοντες προγόνους με τη μέθοδο PCA (principal component analysis, PCA για την εθνικότητα)

Αυτό το βήμα πραγματοποιείται με το δείγμα ατόμων που προκύπτει μετά τους παραπάνω ποιοτικούς ελέγχους. Στην περίπτωση των γενετικών μελετών, όπου το ενδιαφέρον είναι η γενετική διανομή, η κύρια πηγή της σύγχυσης είναι η διαστρωμάτωση του πληθυσμού, στην οποία οι γενετικές διαφορές μεταξύ των ασθενών και της ομάδας ελέγχου παράγονται εξαιτίας της διαφορετικής καταγωγής του πληθυσμού παρά από την όποια επίδραση στην ασθένεια. Λόγω του πρωτοκόλλου της παρούσας μελέτης έπρεπε να αποκλειστούν άτομα μη Ευρωπαϊκής καταγωγής. Για την διερεύνηση της εθνικότητας κατασκευάσαμε διαγράμματα πολυδιάστατης κλίμακας (multidimensional scaling, MDS) (Εικόνα x.x). Η ανάλυση κύριων συνιστωσών χρησιμοποιήθηκε για τον εντοπισμό ατόμων αποκλίνουσας γενετικής καταγωγής συνδυάζοντας τα δείγματα από την παρούσα μελέτη με άτομα από διαφορετικούς πληθυσμούς του προγράμματος HarMapIII με τη χρήση του λογισμικού PLINK. Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει τον υπολογισμό της γενετικής απόστασης (genetic distance, DST) για κάθε ζεύγος ατόμων λαμβάνοντας υπόψη τον αριθμό των

πολυμορφισμών για τους οποίους τα άτομα αυτού του ζεύγους έχουν κανένα, ένα ή δύο κοινά αλληλόμορφα.



Εικόνα 1 Διάγραμμα πολυδιάστατης κλίμακας (multidimensional scaling, MDS) για τον εντοπισμό ατόμων μη Ευρωπαϊκής καταγωγής που συμμετέχουν στην παρούσα μελέτη (GRMIC). Κάθε κουκίδα αντιπροσωπεύει ένα διαφορετικό άτομο ενώ οι διαφορετικοί πληθυσμοί σημειώνονται με διαφορετικό χρώμα κουκίδας. Χρησιμοποιήθηκαν άτομα γνωστής γενετικής καταγωγής από το πρόγραμμα HarMap III (ASW (African ancestry in Southwest USA), CEU (Utah residents with Northern and Western European ancestry from the CEPH collection), CHB (Han Chinese in Beijing, China), CHD (Chinese in Metropolitan Denver, Colorado), GIH (Gujarati Indians in Houston, Texas), JPT (Japanese in Tokyo, Japan), LWK (Luhya Webuye, Kenya), MXL (Mexican ancestry in Los Angeles, California), MKK (Maasai in Kinyawa, Kenya), TSI (Toscani in Italia), YRI (Yoruba in Ibadan, Nigeria)). Έπειτα από την ολοκλήρωση του ποιοτικού ελέγχου το δείγμα της μελέτης με διαθέσιμα γενετικά δεδομένα αποτελείται από 103 άτομα (87 άντρες, 16 γυναίκες).

3.4.2.Ποιοτικός έλεγχος σε επίπεδο πολυμορφισμών

Ο ποιοτικός έλεγχος των πολυμορφισμών περιλαμβάνει τα εξής βασικά βήματα:

- Ταυτοποίηση των SNPs με μεγάλο ποσοστό πολυμορφισμών που δεν καλέστηκαν
- Ταυτοποίηση των SNPs που παρουσιάζουν σημαντική παρέκκλιση από την ισορροπία Hardy-Weinberg
- Ταυτοποίηση των SNPs με σημαντικά διαφορετικό ποσοστό γονοτύπων που δεν καλέστηκαν μεταξύ ασθενών και μαρτύρων
- Η απομάκρυνση όλων των δεικτών με χαμηλή συχνότητα ελάσσονος αλληλομόρφου

Η συχνότητα των SNPs με «χαμένο» γονότυπο και συχνότητα ελάσσονος αλληλομόρφου του SNP (MAF-minor allele frequency).

Οι πολυμορφισμοί, οι οποίοι δεν προσδιορίζονται με ακρίβεια σε μία συστάδα, θεωρείται πως έχουν χαθεί στη γονοτύπηση. Η υψηλή έλλειψη συχνά υποδηλώνει ότι ο διαχωρισμός για έναν συγκεκριμένο SNP μέσα στη συστάδα ήταν κακός και ο SNP πρέπει να απομακρυνθεί. Προκειμένου να ελεγχθεί η συχνότητα χαμένων γονοτύπων, γενικά χρησιμοποιείται ένα κατώφλι από 1-5%.

Ιδιαίτερα σημαντικό βήμα είναι ο έλεγχος συχνότητα ελάσσονος αλληλομόρφου (MAF-minor allele frequency), η εμφάνιση του οποίου δεν είναι τόσο κοινή μέσα σε έναν πληθυσμό. Η MAF χρησιμοποιείται ευρέως σε μελέτες πληθυσμιακής γενετικής, διότι παρέχει πληροφορίες για τη διαφοροποίηση μεταξύ των κοινών και σπάνιων παραλλαγών στον πληθυσμό. Τυπικά, ένα όριο της MAF είναι 1-2%, αλλά οι μελέτες με μικρό μέγεθος του δείγματος ενδέχεται να χρειαστεί να ρυθμίσουν ένα υψηλότερο όριο. Οι γονοτυπικοί αλγόριθμοι δεν λειτουργούν καλά για SNPs με χαμηλή MAF. Η ομαδοποίηση εξαρτάται πολύ από το μέγεθος του δείγματος με χαμηλής MAF SNPs. Η ισχύς για την αναγνώριση σχέσης σε SNPs με χαμηλή MAF είναι χαμηλή (εκτός αν το μέγεθος του δείγματος είναι πολύ μεγάλο). Συνεπώς τα SNPs χαμηλής MAF εξαιρούνται (συνήθως 1%). Στη συγκεκριμένη μελέτη κατά τον ποιοτικό έλεγχο αποκλείσαμε SNPs με: MAF κάτω από 1%, MAF 1-3%, αν το call rate (δεν το έχεις ορίσει παραπάνω, είναι το ποσοστό καλέσματος γονοτύπων) είναι κάτω από 99%, MAF

πάνω από 3%, αν το call rate είναι κάτω από 98% και SNPs με call rate μικρότερο από 98% .

Ισορροπία Hardy-Weinberg

Ο νόμος Hardy-Weinberg δηλώνει ότι μια ισορροπία συχνοτήτων των αλληλόμορφων γονιδίων και των γονοτύπων σε μια δεξαμενή γονιδίων (που χρησιμοποιεί έναν τύπο $p^2 + 2pq + q^2$) παραμένει στην ουσία σε κάθε διαδεχόμενη γενεά ενός σεξουαλικά αναπαραγόμενου πληθυσμού εάν πέντε όροι ικανοποιούνται:

1. Καμία μεταλλαγή: δεν εμφανίζεται καμία αλληλόμορφη αλλαγή.
2. Καμία ροή γονιδίων: δεν εμφανίζεται μετανάστευση αλληλόμορφων γονιδίων από ή προς τον πληθυσμό.
3. Τυχαίο ζευγάρωμα: ζευγάρι ατόμων κατά τύχη και όχι σύμφωνα με τους γονοτύπους ή τους φαινότυπούς τους.
4. Καμία γενετική παρέκκλιση: ο πληθυσμός είναι μεγάλος έτσι αλλαγές στις συχνότητες των αλληλόμορφων γονιδίων λόγω τύχης είναι ασήμαντες.
5. Καμία επιλογή: καμία εκλεκτική πίεση δεν ευνοεί έναν γονότυπο ως προς έναν άλλο.

Ο έλεγχος για την ισορροπία πραγματοποιείται με τον υπολογισμό της συχνότητας αλληλομόρφων, χρησιμοποιώντας παρατηρημένο αριθμό γονοτυπήσεων και τον υπολογισμό του αναμενόμενου αριθμού γονοτυπήσεων, χρησιμοποιώντας τη συχνότητα του αλληλομόρφου. Κατόπιν πραγματοποιείται σύγκριση των παρατηρημένων με τα αναμενόμενα, μέσω του χ^2 τεστ.

Αποκλίσεις από την ισορροπία μπορεί να οφείλονται σε σφάλματα κατά τη γονοτύπηση, σε υποδιαιρεμένο πληθυσμό και σε οποιαδήποτε παράβαση των όρων της ισορροπίας. Συνήθως οι πολυμορφισμοί που αποκλίνουν από την ισορροπία Hardy-Weinberg εξετάζονται μόνο στα άτομα «μάρτυρες» κ όχι σε ασθενείς. Επειδή το δείγμα ατόμων της συγκεκριμένης μελέτης περιλαμβάνει μόνο ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου στο συγκεκριμένο στάδιο της μελέτης δεν προχωρήσαμε σε πιο ειδικό ποιοτικό έλεγχο. Επίσης σε επόμενα στάδια της μελέτης που περιλαμβάνουν την προσομοίωση γονοτύπων (imputation) θα πρέπει να γίνει πιο αυστηρός ποιοτικός έλεγχος των γονοτυπικών δεδομένων σε επίπεδο ατόμων και πολυμορφισμών όπως αυτό ορίζεται από το προαναφερθέν πρωτόκολλο.

3.5.Γονοτύπηση

Στόχος της γενετικής ανάλυσης είναι η συσχέτιση τη γενετικής ποικιλίας όλου του γονιδιώματος, με δευτερεύοντα καρδιακά συμβάντα ή/και θάνατο σχετιζόμενο με την καρδιά.

Πραγματοποιήθηκε στο κέντρο γενομικής του πανεπιστημίου Queen Mary του Λονδίνου και ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο της Illumina για τα Infinium HTS arrays.

Μια βασική μέθοδος γονοτύπησης είναι η ανάλυση με τη χρήση chips, τα οποία περιέχουν γενετικούς δείκτες. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν μικροσυστοιχίες γονιδίων τύπου HumanCoreExome από την εταιρία Illumina, οι οποίες αποτελούνται από περίπου 250.000 κοινά SNP's και 250.000 κατά κύριο λόγο σπάνια αλληλόμορφα. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε το chip: human core exome-24 v1.0 exome chip. Οι παραλλαγές στις περιοχές κωδικοποίησης ('exome variants') έχουν επιλεγεί με προσοχή με βάση τα δεδομένα αλληλούχισης περιοχών κωδικοποίησης σε 12000 άτομα.

Τα βήματα του πρωτοκόλλου πιο αναλυτικά είναι:

Μέτρηση της συγκέντρωσης του DNA με τη χρήση φθορισμού με τη μέθοδο Qubit που είναι ακριβής και ευαίσθητη, με επιθυμητή συγκέντρωση 50ng/ul και μέτρηση της ποιότητας/ακεραιότητας του DNA με την ανάλυση Genomic Screentape (Tapestation) σε μια υπο-ομάδα των δειγμάτων. Επιπλέον, υπολογίζονται οι λόγοι των απορροφήσεων A 260/280 και A 260/230 ώστε να αξιολογηθεί η καθαρότητα του DNA, με αναμενόμενες τιμές 1,8-2,0 και 2,0-2,2 αντίστοιχα.

Ενίσχυση του DNA. Στη συνέχεια το Genome Centre προχώρησε στη γονοτύπηση όσων δειγμάτων πέρασαν τον έλεγχο της συγκέντρωσης κ ακεραιότητας (ο αριθμός τους ήταν πολλαπλάσιος του 24 γιατί τόσο είναι η χωρητικότητα της μικροσυστοιχίας). Ακολούθησαν ένα συνδυασμό χειροκίνητου κ αυτοματοποιημένου πρωτοκόλου της Illumina για την γονοτύπηση το HumanCoreExome BeadChip. Εδώ σπάει η διπλή έλικα και παράγονται χιλιάδες αντίγραφα του DNA.

Κατακερματισμός του DNA. Σε αυτό το στάδιο τα ενισχυμένα δείγματα DNA κατακερματίζονται ενζυματικά. Ένα «σημείο διακοπής του κατακερματισμού» χρησιμοποιείται για να αποφευχθεί η υπερβολική κατάτμηση.

1. Επαναίωση του DNA με τα κατάλληλα αντιδραστήρια

2. Υβριδισμός των τμημάτων DNA. Στο στάδιο αυτό το γενετικό υλικό υβριδοποιείται με τους δείκτες του chip με τη χρήση κατάλληλων αντιδραστηρίων και την επώαση σε ειδικό μηχάνημα.
3. Επαναιώρηση με αιθανόλη και πλύση του chip ώστε να ακολουθήσει η χρήση της χρωστικής με έγχρωμους δείκτες.
4. Απομάκρυνση των μη ειδικά υβριδισμένων δειγμάτων DNA, επέκταση των εκκινητές που υβριδοποιήθηκε στο chip. Ουσιαστικά ενσωματώνονται σημασμένα νουκλεοτίδια στους προς επέκταση εκκινητές και με κατάλληλα αντιδραστήρια γίνεται εμφάνιση των αποτελεσμάτων της γονοτύπησης.
5. Χρήση iScan για να γίνουν ορατοί οι γενετικοί δείκτες, και να έχουμε ορατό αποτέλεσμα.

Τέλος γίνεται η κλήση των γονοτύπων με τη χρήση του Illumina's Genome Studio, ενός λογισμικού που επιτρέπει την οπτικοποίηση και την ανάλυση των δεδομένων της γονοτύπησης (GenCall) Κάθε πολυμορφισμός μελετάται ξεχωριστά για την αναγνώριση του γονοτύπου συγκρίνοντας τα δεδομένα από την διαδικασία της γονοτύπησης με αντίστοιχα δεδομένα-αναφορά. Έπειτα από την ολοκλήρωση της κλήσης των γονοτύπων το Genome Studio επιτρέπει την εξαγωγή των αποτελεσμάτων-γονοτυπικών δεδομένων σε μορφή κατάλληλη για μετέπειτα ποιοτικό έλεγχο κ ανάλυση με κατάλληλο λογισμικό πρόγραμμα

3.6.Στατιστική επεξεργασία δεδομένων

Συνολικά, αν εξαιρέσουμε τα μοριακά δεδομένα, συλλέγονται πάνω από 200 διαφορετικοί χαρακτήρες για κάθε άτομο. Αυτός ο αριθμός χαρακτηριστικών συλλέγεται με προσοχή, έτσι ώστε να ανταποκρίνονται στην πραγματικότητα. Η διαδικασία που ακολουθεί τα προηγούμενα στάδια είναι η εισαγωγή τους σε μια βάση δεδομένων. Γι αυτή τη δουλειά χρησιμοποιήθηκαν τα φύλλα Microsoft Excel, όπου δημιουργήθηκε μια βάση με κατάλληλο τρόπο ώστε να ακολουθήσει η στατιστική τους επεξεργασία. Αυτό για παράδειγμα συνεπάγεται την εισαγωγή των ποιοτικών μεταβλητών σε 0-1, των ποσοτικών σε μορφή ποιοτικών όπως η ηλικία ή τα χρόνια καπνίσματος με αραβικούς αριθμούς κοκ. Η ίδια η φύση του ερωτηματολογίου και των συνθηκών κάτω απ τις οποίες γινόταν δυστυχώς άφηνε κάποια κενά, που ο ερευνητής πάσχιζε να ναι όσο πιο περιορισμένα γινόταν.

Επεξεργασία δεδομένων

Η ανάλυση και επεξεργασία των δεδομένων έγινε με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος SPSS 20. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση, ενώ οι κατηγορικές μεταβλητές ως απόλυτες τιμές και ποσοστά. Για τη σύγκριση κατηγορικών μεταβλητών εφαρμόστηκε ο έλεγχος χ^2 του spearman, ενώ για τη σύγκριση συνεχών μεταβλητών ο έλεγχος t-test του Student και η ανάλυση διακύμανσης One-Way ANOVA. Όλοι οι έλεγχοι πραγματοποιήθηκαν σε επίπεδο σημαντικότητας 95% και στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν οι τιμές με $p < 0,05$.

Πιο συγκεκριμένα, στην περιγραφική ανάλυση συμπεριλήφθηκε το φύλο, η ηλικία και η εκπαίδευση. Στη συνέχεια υπολογίστηκαν στατιστικά ο ΔΜΣ, τα συνοδά νοσήματα, η παρουσία οικογενειακού ιστορικού, το κάπνισμα, η άσκηση, οι ώρες ύπνου και τηλεθέασης και η παρουσία άγχους. Μια άλλη επεξεργασία που έγινε αφορούσε εξ ολοκλήρου τη διατροφή. Τα δεδομένα απ το FFQ, ταξινομήθηκαν στις βασικές ομάδες τροφίμων (γαλακτοκομικά, φρούτα, λαχανικά κοκ) και υπολογίστηκε η κατανάλωση τους. Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε ο δείκτης MDS, για να υπολογίσουμε την προσκόλληση στη μεσογειακή δίαιτα και το Hellenic risk score, για να χουμε μια εικόνα του τι κίνδυνο θα είχαν οι εθελοντές στην περίπτωση που δεν είχαν νοσήσει εν τέλει. Ακόμα, ακολούθησε ένας έλεγχος ανάμεσα σε διάφορους παράγοντες, για να βρεθεί η ύπαρξη ή η μη ύπαρξη σχέσης ή συσχέτισης μεταξύ τους. Τέλος υπολογίστηκαν κάποιοι σχετικοί λόγοι, λαμβάνοντας υπόψη κάποια επιδημιολογικά δεδομένα απ τον υγιή πληθυσμό.

4.Αποτελέσματα

4.1.Χαρακτηριστικά του δείγματος

Το δείγμα προς ανάλυση αποτελείται από 230 άτομα εκ των οποίων οι 41 (17,8%) είναι γυναίκες και οι 189 (82,2%) είναι άντρες. Η ηλικία των ατόμων ήταν από 40 μέχρι 82 χρονών, με το μέσο όρο να ναι στα 60 χρόνια.

Όσον αφορά το επίπεδο εκπαίδευσης οι κατηγορίες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν καθόλου εκπαίδευση, δημοτικό σχολείο, γυμνάσιο-λύκειο και πανεπιστήμιο.

Το 29% των ασθενών είχε τελειώσει μόνο το δημοτικό σχολείο, το 47,8% είχε ολοκληρώσει το λύκειο ενώ ένα 19% ήταν πανεπιστημιακής εκπαίδευσης. Ο μέσος όρος εκπαίδευσης βρέθηκε στα 11 χρόνια περίπου.

Η μορφή εργασίας χωρίστηκε στις εξής κατηγορίες: δημόσιος ή ιδιωτικός υπάλληλος μερικής ή πλήρους απασχόλησης, αυτοαπασχολούμενος, άνεργος και συνταξιούχος ή οικιακά

Ένα 28% ήταν δημόσιοι υπάλληλοι πλήρους ή μερικής απασχόλησης, ένα 4,3% ήταν ιδιωτικοί υπάλληλοι πλήρους ή μερικής απασχόλησης, ένα 14,8% ήταν αυτοαπασχολούμενοι, ένα 9,1% ήταν άνεργοι, ένα 37% ήταν συνταξιούχοι ενώ ένα 7% ασχολούταν με τα οικιακά.

Στον πίνακα 4 παρουσιάζονται τα περιγραφικά δεδομένα των εθελοντών της μελέτης.

Πίνακας 4: Περιγραφικά χαρακτηριστικά εθελοντών πρώτης φάσης	
Ηλικία (χρόνια)	60±9,5
Φύλο (άνδρες σε %)	82,2
Δημοτικό (%)	29
Γυμνάσιο-Λύκειο (%)	48
Πανεπιστήμιο (%)	20
Δημόσιος-ιδιωτικός υπάλληλος (%)	32
Αυτοαπασχολούμενος (%)	15
Άνεργος (%)	9
Σύνταξη-οικιακά (%)	44

4.2.Χαρακτηριστικά συννοσηρότητας στο δείγμα

4.2.1.Δείκτης μάζας σώματος

Ένας απ τους παράγοντες που έχει φανεί ότι επηρεάζουν την εμφάνιση καρδιαγγειακών νόσων, όπως προαναφέρθηκε, είναι και η παχυσαρκία, οπότε μετρήθηκε το ύψος και το βάρος και υπολογίστηκε ο δείκτης μάζας σώματος. Συγκεκριμένα βρέθηκε ότι το ¼ περίπου του δείγματος, είναι στα φυσιολογικά όρια, το ½ είναι υπέρβαρο και το άλλο ¼ είναι παχύσαρκο.

4.2.2.Συνοδά νοσήματα

Εξετάζοντας τη συννοσηρότητα η υπέρταση, η υπερλιπιδαιμία και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 βρεθήκανε σε μεγαλύτερα ποσοστά. Τα ποσοστά αυτά βγήκαν συνυπολογίζοντας την δήλωση του ασθενούς, τα φάρμακά τους και τις αιματολογικές εξετάσεις τους. Συγκεκριμένα για τις εξετάσεις, τα κριτήρια για την υπέρταση ήταν η συστολική αρτηριακή πίεση να είναι μεγαλύτερη από 140 χιλιοστών υδραργύρου και η συστολική από 90 χιλιοστά, για την υπερλιπιδαιμία τα κριτήρια ήταν η ολική χοληστερόλη να είναι μεγαλύτερη από 200mg/dL ή/και η LDL από 130mg/dL, και ο ΣΔ2 να είναι μεγαλύτερος από 125mg/dL.

Ένα ποσοστό του 50% είχε ήδη υπέρταση πριν το επεισόδιο, ένα ποσοστό του 43,5% είχε υπερλιπιδαιμία και ένα ποσοστό του 32,2% είχε σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Το επόμενο συνοδό νόσημα στη λίστα ήταν τα προβλήματα του θυρεοειδούς με ένα ποσοστό 13,2% και όλα τα υπόλοιπα που εξετάστηκαν ήταν αμελητέα συγκριτικά με αυτά τα τέσσερα.

Επιπλέον, όταν συνυπολογίσαμε και τις τρεις νόσους ταυτόχρονα βρήκαμε ότι ένα ποσοστό του 24% δεν είχε καμία, ένα 36,5% είναι μια απ τις τρεις, ένα 30% είχε δυο απ τις τρεις και τέλος ένα 10% είχε και τις τρεις νόσους ταυτόχρονα. Τέλος ένα ποσοστό του 17,4% είχε ταυτόχρονα και υπέρταση και υπερλιπιδαιμία.

4.2.3.Οικογενειακό ιστορικό

Ένα άλλο σημαντικό στοιχείο, αυτό του οικογενειακού ιστορικού επίσης συλλέχθηκε και επεξεργάστηκε στατιστικά. Βρέθηκε ότι το 22,6% είχε ελεύθερο οικογενειακό ιστορικό.

Απ το υπόλοιπο ποσοστό, το 23,5% είχε οικογενειακό ιστορικό των συνοδών νοσημάτων, αυτών που έχουν βρεθεί να έχουν τη μεγαλύτερη σχέση με τα καρδιαγγειακά, δηλαδή υπέρταση, διαβήτη τύπου 2 και υπερλιπιδαιμία. Τέλος, το μεγαλύτερο ποσοστό, το 53,9% είχε οικογενειακό ιστορικό καρδιαγγειακών νοσημάτων. Το μεγαλύτερο επιπολασμό ανάμεσά τους είχαν τα OEM και τα ΑΕΕ, κυρίως τα ισχαιμικά.

Στον πίνακα 5 που ακολουθεί, συνοψίζονται τα ποσοστά των εθελοντών σε κάθε συνοδό νόσημα και το οικογενειακό ιστορικό που αφορούσε καρδιαγγειακές νόσους και συνοδά νοσήματα.

Πίνακας 5: Δεδομένα νοσημάτων και καπνίσματος	
Υπέρβαροι (%)	49
Παχύσαρκοι (%)	26,5
Υπέρταση (%)	50
Υπερλιπιδαιμία (%)	43,5
ΣΔ2 (%)	32,2
Οικ. Ιστορικό με καρδιαγγειακά νοσήματα (%)	54
Οικ. Ιστορικό με συνοδά νοσήματα (%)	23,5

4.3.Τρόπος ζωής και ψυχολογικοί παράγοντες

4.3.1.Κάπνισμα

Το κάπνισμα είναι απ τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου που είναι τροποποιήσιμοι και έχουν να κάνουν αρκετά με την κοινωνία και με το σύστημα παιδείας. Τα ευρήματα και σε αυτό τον τομέα ήταν αναμενόμενα. Το 23% απ τους ασθενείς, δεν έχει καπνίσει ποτέ του. Δηλαδή σε αδρούς αριθμούς, οι 4 στους 5 απ τους ασθενείς της έρευνας καπνίζουν ή κάπνιζαν. Συγκεκριμένα το 63,5% κάπνιζε μέχρι το επεισόδιο καθημερινά και το 13,5% κάπνιζε στο παρελθόν.

Πιο συγκεκριμένα εξετάστηκε η ηλικία που ξεκινήσανε οι ασθενείς το κάπνισμα, το αριθμό τσιγάρων που κάνουν καθημερινά αλλά και τα χρόνια που καπνίζανε μέχρι τώρα.

Σχεδόν όλοι οι ασθενείς ξεκινήσανε το κάπνισμα σε νεαρές ηλικίες, χωρίς να λείπουν τα περιστατικά που το ξεκίνησαν μετά από κάποιο συμβάν αργότερα στη ζωή τους. Τα χρόνια καπνίσματος πάλι παρουσιάζουν μια διακύμανση κοντά στα 20 χρόνια

καπνίσματος. Τέλος αριθμός των τσιγάρων είναι που παρουσιάζει το μεγαλύτερο εύρος και διακύμανση, καθώς ενώ οι περισσότεροι καπνίζανε κοντά στα 20 τσιγάρα, δηλαδή ένα πακέτο, υπήρχαν αρκετοί καπνιστές που καπνίζανε υπερβολικό αριθμό τσιγάρων, δηλαδή 3 και 4 πακέτα.

4.3.2.Άσκηση

Η άσκηση και τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας επηρεάζουν επίσης την κατάσταση του καρδιαγγειακού συστήματος. Έτσι μετρήθηκε, αρχικά ποιοτικά, το πόσοι έκαναν οποιαδήποτε άσκηση, και βρέθηκε ότι μόνο ένα 18,3% κάνει οποιαδήποτε μορφή άσκησης. Τονίζεται το οποιαδήποτε, γιατί πολλές φορές στην οποιαδήποτε μορφή εντάχθηκε ακόμα και το περπάτημα στο πλαίσιο της άσκησης, όταν αυτό γινόταν με οργανωμένο τρόπο. Επίσης μετρήθηκαν και οι ώρες της άσκησης σε αυτούς που την έκαναν, με το μεγαλύτερο ποσοστό ακόμα κι αυτών που έκαναν άσκηση να μην ξεπερνάει τη 1 ώρα τη μέρα σε ότι έκανε.

4.3.3.Ώρες ύπνου και τηλεθέασης

Και το ένα και το άλλο έχει τη σημασία του. Απ την μια ο ύπνος είναι μια χαμηλή μεταβολικά κατάσταση, στην οποία η καρδιά δουλεύει στον μικρότερο βαθμό κι απ την άλλη η τηλεθέαση είναι άλλη μια παράμετρος για το πόσο καθιστική ζωή έκανε ο ασθενής.

Στον ύπνο βρέθηκαν φυσιολογικές μετρήσεις, με τις τιμές να βρίσκονται σε μεγαλύτερο βαθμό περίξ του οκταώρου. Αλλά και η ώρα τηλεθέασης δεν βρέθηκε πολύ μεγάλη, με πάνω απ τους μισούς να παρακολουθούν 3 ώρες τη μέρα τηλεόραση, κάτι που αν συμπεριληφθεί η ηλικία και το ότι πολλοί ήταν και στη σύνταξη, δεν είναι πολύ.

4.3.4.Άγχος και ψυχολογική κατάσταση μετά το επεισόδιο

Ρωτήθηκε το επίπεδο του άγχους που έχει ο ασθενής σε καθημερινή βάση και η ψυχολογική κατάσταση που είχε μετά το επεισόδιο. Ένα ποσοστό του 27,2% ισχυρίστηκε ότι έχει λίγο έως καθόλου άγχος στην καθημερινότητά του, ένα 25,3% επίσης είπε ότι έχει μέτριο άγχος και τέλος ένα 47,4% μας είπε ότι έχει σοβαρό έως υπερβολικό άγχος στη ζωή του.

Και τέλος, ρωτήθηκε απ' τους ασθενείς, να σημειώσουν σε μια κλίμακα των των 100 πόσο καλά αισθάνονται την υγεία τους εκείνη τη μέρα. Με το 0 να είναι η χειρότερη που μπορούν να φανταστούν και 100 να ναι η καλύτερη υγεία που μπορούν να φανταστούν. Μόνο ο ένας στους τέσσερις αισθανόταν την υγεία του προς το αρνητικό μισό. Ο μέσος όρος ήταν στο 64 με το $\frac{1}{4}$ να κινείται κάτω απ το 50 και το άλλο $\frac{1}{4}$ να κινείται πάνω απ το 80.

Στον πίνακα 6 συνοψίζονται τα δεδομένα που αναλύθηκαν παραπάνω, και αφορούν τόσο τους τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα, όσο και την ψυχολογική επίδραση.

Πίνακας 6: Δεδομένα τρόπου ζωής και ψυχολογικής κατάστασης	
Κάπνισμα (%)	63,5
Κάπνισμα στο παρελθόν (%)	13,5
Άσκηση (%)	18,3
Ώρες άσκησης	7,3±6,3
Ώρες ύπνου	7,3±1,8
Ώρες τηλεθέασης	3±2,2
ελάχιστο άγχος (%)	27,2
Μέτριο άγχος (%)	25,3
Σοβαρό άγχος (%)	47,5
Ψυχολογικό τεστ	64,2±24,2

4.4.Διατροφή

4.4.1.Διατροφικά στοιχεία

Η διατροφική αξιολόγηση των ασθενών έγινε με ένα FFQ (food frequency questionnaire). Στην παρούσα επεξεργασία επιλέχθηκαν οι σημαντικότερες ομάδες τροφίμων, για να φτιάξουμε μια εικόνα για την κατανάλωση τους τελευταίους, τουλάχιστον, 6 μήνες απ την εισαγωγή τους στο νοσοκομείο.

Στον πίνακα 7 παρουσιάζεται η κατανάλωση των εθελοντών ανά ομάδα τροφίμων, όπως αυτή έγινε αναγωγή στην ημέρα, για να μπορεί να συγκριθεί και με τις συστάσεις για πρόσληψη ανά ομάδες τροφίμων.

Πίνακας 7: Δεδομένα κατανάλωσης ανά ομάδα τροφίμων	
Ομάδα τροφίμων	Κατανάλωση μερίδων την ημέρα
Γαλακτοκομικά	1,6
Κρέας (πουλερικά)	0,8 (0,2)
Ψάρια	0,3
Λαχανικά	1,4
Φρούτα	1,9
Γλυκά (ζάχαρη σκέτη)	1,5 (1)
Αλκοόλ	0,6

Παρόλο που είναι επίφοβο να γίνεται αναγωγή στη μέρα από ένα ερωτηματολόγιο FFQ, δημιουργείται μια αδρή εικόνα της διατροφής τους. Συγκεκριμένα φαίνεται ότι τα φρούτα και τα λαχανικά αν και δεν βρίσκονται σε έλλειψη, είναι σε χαμηλότερα επίπεδα απ τις μέσες συστάσεις για αυτές τις δύο ομάδες τροφίμων, τα ψάρια, τα γαλακτοκομικά, τα γλυκά και το αλκοόλ βρίσκονται σε καλό επίπεδο κατανάλωση και τέλος το κρέας είναι λίγο αυξημένο ως προς την κατανάλωση.

4.4.2.MDS

Για την διατροφική αξιολόγηση χρησιμοποιήθηκε, επίσης, ο δείκτης MDS. Ουσιαστικά εφόσον η προσκόλληση στη μεσογειακή διατροφή έχει φανεί ότι έχει προστατευτικό ρόλο, θέλαμε να δούμε την προσκόλληση των ανθρώπων αυτών το τελευταίο εξάμηνο πριν το επεισόδιο. Ο τρόπος που αξιολογήσαμε διατροφικά τους ασθενείς, ήταν κυρίως ένα εκτενές ερωτηματολόγιο FFQ ενώ οι συνιστώσες του MDS είναι σε μερίδες ανά βδομάδα. Αυτό φυσικά σημαίνει ότι προηγήθηκε μια επίπονη διαδικασία μετατροπής δεδομένων.

Στον συγκεκριμένο δείκτη υπάρχουν 11 συνιστώσες: ολικής αλέσεως δημητριακά, πατάτες, φρούτα, λαχανικά, ψάρια, όσπρια, γαλακτοκομικά, πουλερικά, κόκκινο κρέας, ελαιόλαδο και αλκοόλ. Στις ομάδες που θεωρούνται συναφείς με τη μεσογειακή δίαιτα η βαθμολογία είναι υψηλότερη σε μεγαλύτερη συχνότητα κατανάλωσης και το αντίστροφο.

Αναλύοντας λοιπόν τα δεδομένα βρέθηκε ο μέσος όρος να είναι στα $30,2 \pm 4,4$ που συνεπάγεται καλή συμμόρφωση με τη μεσογειακή δίαιτα, καθώς το σκορ παίρνει τιμές 0-55.

Πιο αναλυτικά στον πίνακα 8 παρουσιάζεται η κατάταξη των εθελοντών μας στις κατηγορίες τους δείκτη MDS

Πίνακας 8: Συμμόρφωση στα πρότυπα της μεσογειακής δίαιτας (%)	
Καθόλου καλή (0-13)	0
Ανεπαρκής (14-27)	26,5
Καλή (28-41)	73
Πολύ καλή (42-55)	0,5

Η τυπική απόκλιση είναι πολύ μικρή, οπότε ίσως η εικόνα που παρουσιάζει η μετατροπή των δεδομένων σε κατατάξιμη ποιοτική μεταβλητή να μπερδεύει παρά να ξεκαθαρίζει το τοπίο στα συγκεκριμένα δεδομένα. Δηλαδή υπάρχει μια σαφής συγκέντρωση στα άνω όρια της ανεπαρκούς συμμόρφωσης και τα κάτω όρια της καλής συμμόρφωσης, δηλαδή θα λέγαμε μια μέτρια συμμόρφωση ως προς τα πρότυπα της μεσογειακής διατροφής.

4.5.Hellenic risk score

Χρησιμοποιήθηκε επίσης ο δείκτης Hellenic risk score, όχι τόσο για μια πρόγνωση, καθώς οι εθελοντές μας μόλις υπέστησαν το επεισόδιο, αλλά για να εξεταστεί τι πρόγνωση θα είχανε τον τελευταίο καιρό πριν το νοσοκομείο, πιο πολύ για πειραματικούς λόγους. Ο δείκτης αυτός, που προσαρμόζει την ευρωπαϊκή στην ελληνική πραγματικότητα, χρησιμοποιεί ως μεταβλητές το φύλο, την ηλικία, τη συστολική πίεση, το κάπνισμα και την ολική χοληστερόλη. Μέχρι τώρα έχει βρεθεί ότι το μέσο όρο ηλικίας βρέθηκε κοντά στα 60, η συντριπτική πλειοψηφία των εθελοντών είναι άντρες (82,2%), και η μεγάλη πλειοψηφία κάπνιζε μέχρι το επεισόδιο (63,5%) ενώ πολύ λίγοι δεν είχαν καπνίσει ποτέ (23%) και τέλος ότι ένα 40% είχε υπέρταση κι ένα 33,5% είχε υπερλιπιδαιμία. Οπότε η μεγάλη εικόνα σε σχέση με τον κίνδυνο είναι δεδομένη. Παρολαυτά δοκιμάστηκε η επεξεργασία των δεδομένων με το δείκτη αυτό.

Έτσι στον πίνακα 9 φαίνονται τα ποσοστά των εθελοντών ανά κατηγορία κινδύνου για εμφάνιση καρδιαγγειακού επεισοδίου στη δεκαετία.

Πίνακας 9: Hellenic risk score	
1-4% (χαμηλός κίνδυνος)	29
5-9% (σοβαρός κίνδυνος)	32
>10% (πολύ σοβαρός κίνδυνος)	23

Ο μέσος όρος του κινδύνου είναι στο $9,3 \pm 6,7\%$, δηλαδή της εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου στη δεκαετία. Το 29% του δείγματος βρέθηκε με χαμηλό κίνδυνο, το 32% βρέθηκε με μέτριο κίνδυνο, το 16% με σοβαρό κίνδυνο και τέλος το 23% με πολύ σοβαρό κίνδυνο για εμφάνιση καρδιαγγειακού νοσήματος.

4.6.Χαρακτηριστικά του δείγματος του επανελέγχου

Το δείγμα προς ανάλυση αποτελείται από 58 άτομα εκ των οποίων οι 9 (16,7%) είναι γυναίκες και οι 45 (83,3%) είναι άντρες.

Ο αριθμός των 58 εθελοντών του επανελέγχου αντιστοιχεί στους 142, πρώτους χρονικά, εθελοντές της πρώτης φάσης, κι όχι του δείγματος των 230 ατόμων της πρώτης φάσης που αναλύεται. Αυτό συμβαίνει, λόγω του ότι η συνολική έρευνα είναι εν εξελίξει. Το ποσοστό των εθελοντών που συμμετείχαν στον επανέλεγχο του εξαμήνου είναι συνεπώς 40,85%.

Μετρήθηκε το ύψος και το βάρος και υπολογίστηκε ο δείκτης μάζας σώματος και στο δείγμα της 2^{ης} φάσης. Συγκεκριμένα βρέθηκε ότι μόνο το 20% των εθελοντών της 2^{ης} φάσης ήταν νορμοβαρείς, ενώ το ακριβώς 1/3 απ αυτούς ήταν πάνω απ το όριο της παχυσαρκίας, δηλαδή με $\Delta M\Sigma > 30 \text{Kg/m}^2$.

Όσον αφορά το κάπνισμα, που είναι από τους σημαντικότερους τροποποιήσιμους συμπεριφορικούς παράγοντες κινδύνου, βρέθηκε ότι το απ αυτούς που καπνίζανε πριν από το 1^ο επεισόδιο το 47% έκοψε το κάπνισμα ενώ το 53% το συνέχισε.

Όσον αφορά την άσκηση και τις ώρες άσκησης στους εθελοντές της 2^{ης} φάσης, βρέθηκε ότι το 1/3 κάνει κάποιας μορφής άσκηση, συμπεριλαμβανομένου και του περπατήματος, ενώ τα υπόλοιπα 2/3 όχι. Επίσης ο μέσος όρος άσκησης στο 1/3 του δείγματος που έκανε κάποιας μορφής άσκηση, ήταν περίπου 1 ώρα τη μέρα. Επίσης μετρήθηκε κι η ώρα τηλεθέασης των ατόμων, ως δείκτης καθιστικής δραστηριότητας, με το μέσο όρο τηλεθέασης να είναι στις 3 ώρες τη μέρα.

Άλλες μετρήσεις που έγιναν κι είναι σημαντικές, είναι αυτές των ωρών ύπνου, του άγχους και της ψυχολογικής κατάστασης. Όσον αφορά τις ώρες ύπνου ο μέσος όρος βρέθηκε στις 7 ώρες και 20 λεπτά με μικρή τυπική απόκλιση. Η κατάσταση άγχους βρέθηκε αυξημένη στο 26% των εθελοντών ενώ η ψυχολογική κατάσταση, μετρούμενη

με την ψυχολογική κλίμακα των 100 μονάδων, έδειξε ένα μέσο όρο στο 65 με μια τυπική απόκλιση 18.

Τέλος, ο επανέλεγχος έγινε στους 6 μήνες, κι εκεί ερωτήθηκε και η ύπαρξη επανανοσηλείας μέσα στο εξάμηνο. Απ τους 58 εθελοντές, οι 12 είχαν επανανοσηλευθεί μέσα στο εξάμηνο, απ την πρώτη φάση, δηλαδή ένα ποσοστό του 20,7%.

4.7.Γενετικά αποτελέσματα

4.7.1.Χαρακτηριστικά του δείγματος

Εδώ αναλύεται η πρώτη ομάδα από το συνολικό δείγμα της πρώτης φάσης που πέρασε σε γενετική επεξεργασία. Στο σημείο αυτό, λοιπόν, συμμετείχαν οι 170 πρώτοι εθελοντές απ την πρώτη φάση, και τα δείγματα αίματος τους πέρασαν έναν ποιοτικό έλεγχο με σκοπό να γονοτυπηθούν. Οι 15 είχαν αποκλειστεί λόγω πρωτοκόλλου μετά τη συλλογή των δειγμάτων, ήδη απ την πρώτη φάση. Απ τους 155 αποκλείστηκαν 24 δείγματα, για λόγους που αναλύθηκαν στην μεθοδολογία, όπως η έλλειψη διάγνωσης. Έτσι, γονοτυπήθηκαν 131 δείγματα, απ τα οποία όμως, αποκλείστηκαν για λόγους που αναλύονται λεπτομερώς στη μεθοδολογία, 28 δείγματα, κι έτσι ο τελικός αριθμός των ατόμων που αναλύθηκε γενετικά, ήταν 103 δείγματα.

Πιο παραστατικά φαίνονται στον πίνακα 10

Πίνακας 10: αριθμός δειγμάτων ανά στάδιο ελέγχου	
Στάδιο ελέγχου	Αριθμός δειγμάτων/ατόμων
Αρχικοί εθελοντές	170
εθελοντές που έμειναν στο πρωτόκολλο στην 1 ^η φάση	155
Δείγματα που γονοτυπήθηκαν	131
Αριθμός ατόμων που πέρασε τα στάδια του ποιοτικού ελέγχου	103

4.7.2. Συχνότητες γνωστών παραγόντων κινδύνου για έμφραγμα του μυοκαρδίου/ καρδιαγγειακά νοσήματα

Εξαιτίας του μικρού δείγματος (εν τέλει 103 άτομα περάσανε τον ποιοτικό έλεγχο) η ανάλυση στερείται ισχύος, οπότε αυτό που είναι ενδιαφέρον σε αυτό το σημείο, είναι το να υπολογιστούν οι συχνότητες όλων των επικίνδυνων SNPs για KN/EM, και να συγκριθούν με τα περιστατικά της έρευνας THISEAS (καρδιαγγειακά νοσήματα). 58 γενετικοί τόποι για KN/EM έχουν αναγνωριστεί ως τώρα, στο ισχυρότερο κατώφλι της στατιστικής σημαντικότητας για έρευνες που αφορούν όλο το γονιδίωμα (5×10^{-8}) [79-81]. Ωστόσο, μόνο ένα μέρος απ αυτά περιλαμβάνονται στο the Human Core Exome Chip 1.0 (Illumina), οπότε έχουμε γονοτύπηση και δεδομένα συχνότητας μόνο για 27 γενετικούς τόπους

Τα αποτελέσματα του κυρίαρχου SNP του κάθε γενετικού τόπου, του οποίου έχουμε δεδομένα γονοτύπησης, βρίσκονται στον από κάτω πίνακα.

Πίνακας 11: Γονοτυπική ανάλυση των πολυμορφισμών								
SNP	Χρ	θέση	Γονίδια ανά γενετικό τόπο	Υπ. Αλ.	Επ. Αλ.	Συχνότητα υπ. Αλ.- GRMIC (n=103)	Συχνότητα υπ. Αλ.- THISEAS ασθενείς (n=426)	Συχνότητα υπ. Αλ.- THISEAS υγιείς (n=594)
rs4845625	1	154422067	IL6R	A	G	0.4563	0.46362	0.46801
rs11206510	1	55496039	PCSK9	G	A	0.2087	0.2031	0.1886
rs12740374	1	109817590	SORT1	A	C	0.1942	0.18188	0.22723
rs4299376	2	44072576	ABCG5/ABCG8	C	A	0.4175	0.3768	0.3468
rs10211596	2	233699415	GIGYF2	A	G	0.4854	0.5751	0.5513
rs1801251	2	233633460	KCNJ13/ GIGYF2	A	G	0.4272	0.3380	0.3594
rs17087335	4	57838583	NOA1	A	C	0.1796	0.1819	0.1827
rs273909	5	131667353	SLC22A4/SLC2 2A5	G	A	0.09709	0.08413	0.08890
rs3130683	6	31888367	C2	G	A	0.02913	0.04343	0.04545
rs9349379	6	12903957	PHACTR1	G	A	0.3932	0.42606	0.39141
rs1053924	6	32120715	PRRT1	A	G	0.2039	0.2183	0.2189
rs2327429	6	134209837	TCF21	G	A	0.2573	0.28756	0.26852
rs2074633	7	19035920	HDAC9	G	A	0.233	0.28873	0.26431
rs256	8	19811967	LPL	A	G	0.1796	0.15493	0.17593
rs633862	9	136155444	ABO	G	A	0.4272	0.4331	0.4074
rs564398	9	22029547	CDKN2BAS	G	A	0.2794	0.31455	0.32155
rs11124523 0	9	113169775	SVEP1	G	A	0.05825	0.06250	0.06308
rs17115100	10	104591393	CYP17A1/CNN M2/NT5C2	A	C	0.1068	0.10211	0.12121

rs974819	11	103660567	PDGFD	A	G	0.3786	0.36620	0.36616
rs964184	11	116648917	ZNF259/APOA5/ APOA1	C	G	0.8301	0.8435	0.8420
rs11042937	11	10745394	11p15	A	C	0.4903	0.5293	0.5236
rs11172113	12	57527283	LRP1	G	A	0.3058	0.3427	0.3628
rs11057830	12	125307053	SCARB1	A	G	0.233	0.24035	0.22326
rs17293632	15	67442596	SMAD3	A	G	0.2087	0.1957	0.2099
rs1800775	16	56995236	CETP	A	C	0.4078	0.4636	0.4806
rs8080784	17	59017025	BCAS3	G	A	0.1699	0.1737	0.1515
rs9982601	21	35599128	gene_desert/KC NE2	A	G	0.1408	0.1392	0.1317

Χρ: χρωμόσωμα, Υπ. Αλ.: υπολειπόμενο αλληλόμορφο, Επ. Αλ.: επικρατές αλληλόμορφο

Τα γονίδια που εμφανίζονται στον παραπάνω πίνακα, οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούν, οι λειτουργίες τους αλλά και οι γενικές κατηγορίες στις οποίες ανήκουν, φαίνονται στον πίνακα 12:

Πίνακας 12: Χαρακτηριστικά των γονιδίων που χρησιμοποιήθηκαν					
Γονίδιο	χρωμόσωμα	Ιστός	Λειτουργία	Πρωτεΐνη	Γενική λειτουργία στον οργανισμό
IL6R	1	Νεφροί, λέμφος	Η IL είναι ένας αναπτυξιακός ισχυρός πλειοτροπικός παράγοντας που ρυθμίζει κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση κα	Υποδοχέας της ιντερλευκίνης 6	Κυτταρική λειτουργία
PCSK9	1	ήπαρ	Αδρανοποιεί τον υποδοχέα της LDL στο ήπαρ, κι έτσι δεν μπορεί να απομακρυνθεί απ το αίμα	Ένζυμο που συνδέεται με τον υποδοχέα της LDL	Μεταβολισμός λιπιδίων
SORT1	1	Μυελός, μύες, τ-κύτταρα, αιμοπετάλια	Διακίνηση πρωτεϊνών προς την μεμβράνη ή τα κυτταρικά διαμερίσματα	Πρωτεΐνη υποδοχέα	Κυτταρική λειτουργία
ABCG5/ABCG8	2	Ήπαρ	Πυρηνικός υποδοχέας στο μεταβολισμό των λιπιδίων	Κασέτα δέσμευσης του ATP, μέλος 5 και 8	Μεταβολισμός λιπιδίων
GIGYF2	2	Ήπαρ	Πυρηνικός υποδοχέας στο μεταβολισμό των λιπιδίων	Κασέτα δέσμευσης του ATP, μέλος 5 και 8	Μεταβολισμός λιπιδίων
KCNJ13/ GIGYF2	2	Μυελός, οφθαλμός, ιππόκαμπος, λεπτό έντερο, όρχεις	Υποδοχέας Καλίου/Ρύθμιση της σηματοδότησης του υποδοχέα της τυροσινικής κινάσης	Υποδοχέας καλίου/Πρωτεΐνη του τομέα GYF (γλυκίνη-τυροσίνη-φαινυλαλανίνη)	Βασικός μεταβολισμός
NOA1	4	Παντού	Αναπνευστική αλυσίδα και	Πυρηνική	Ενεργειακός

			βιοσύνθεση μιτοχονδριακών πρωτεϊνών	GTPάση που δρά στα μιτοχόνδρια	μεταβολισμός
SLC22A4/SLC22A5	5	Κόλον, εμβρυϊκό ήπαρ	Υποδοχείς στη μεμβράνη και στο πλάσμα, εξαφάνιση μικρών οργανικών κατιόντων όπως ναρκωτικά και τοξίνες	Υποδοχέας κατιόντων	ομοιόσταση
C2	6	Λιπώδης ιστός, εγκέφαλος, κόλον, ήπαρ, πλάσμα, λεπτό έντερο	Μονοπάτι συμπληρώματος	Συστατικό συμπληρώματος 2	Ανοσοποιητικό
PHACTR1	6	Μυελός	Αναδιοργάνωση κυτταροσκελετού ακτίνης και μεταβολισμός υδατανθράκων και όχι μόνο	Ρυθμιστής πρωτεϊνικής φωσφατάσης 1 και ακτίνης	Μεταβολισμός και κυτταρική λειτουργία
PRRT1	6	Μυελός, παρεγκεφαλίδα, δέρμα	Απόκριση σε ερεθίσματα στην κυτταρική μεμβράνη	Πλούσια σε προλίνη διαμεμβρανική πρωτεΐνη 1	Κυτταρική επικοινωνία
TCF21	6	Πάγκρεας, πλακούντας	Μεταγραφική καταστολή και πρωτεϊνικός διμερισμός	Μεταγραφικός παράγοντας 21	Γονιδιακή έκφραση
HDAC9	7	Μυελός, επιθήλιο, φακοί, ήπαρ, σπλήνας	Εξαρτώμενη από σήμα ρύθμιση της μυογένεσης	Αποσκευτάση 9 της ιστόνης	Δομή χρωμοσωμάτων
LPL	8	Λιπώδης ιστός, εγκέφαλος, γάλα, πλακούντας	Υδρολύει τα τριγλυκερίδια στις λιποπρωτεΐνες	Λιποπρωτεϊνική λιπάση	Μεταβολισμός λιπιδίων
ABO	9	Αίμα	Καθορισμός αντιγόνων που καθορίζουν τις ομάδες αίματος ABO	Τρανσφεράση A και B	Αιμοποιητικό σύστημα
CDKN2BAS	9		μεταγραφική καταστολή	Μη κωδικοποιησιμο RNA	Κυτταρική λειτουργία
SVEP1	9	Ενδοθήλιο στο κόλον, μαστικός αδένας πλακούντας	Δέσμευση ιόντων ασβεστίου, δέσμευση χρωματίνης κα	Πρωτεΐνη 1 της οικογένειας SVEP	Κυτταρική λειτουργία
CYP17A1/CNNM2/NT5C2	10	Μυελός, μεσολόβιο	Μονοοξυγενάσες που καταλύουν τη σύνθεση χοληστερόλης, στεροειδών ορμονών, λιπιδίων κα, εμπλέκονται στο μεταβολισμό των φαρμάκων κα / ομοιόσταση του μαγνησίου / μεταβολισμός πουρινών	Πολυπεπτιδίο του κυτοχρώματος P450/ μεταφορείς μαγνησίου/υδρολάση πουρινών	Βασικός μεταβολισμός
PDGFD	11	Αορτή, ίριδα, όρχεις	Παράγοντας ανάπτυξης για κυτταρική ανάπτυξη, διαφοροποίηση κα	Οικογένεια αναπτυξιακού παράγοντα των αιμοπεταλίων D	Κυτταρική λειτουργία
ZNF259/APOA5/APOA1	11	Μυελός, πάγκρεας, δέρμα / ήπαρ	Νευρωνική ανάπτυξη και διαφοροποίηση / Ρύθμιση του επιπέδου των τριγλυκεριδίων	Πρωτεΐνη που συνεργιστικά επιδρά στο προ-	Μεταβολισμός λιπιδίων

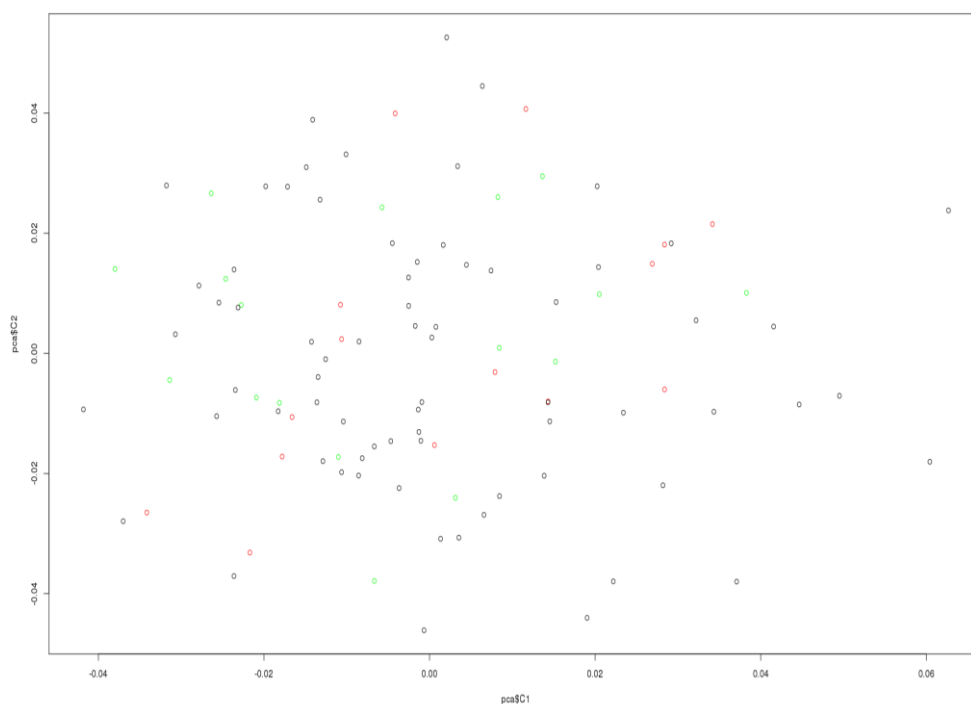
			στο αίμα	mRNA / Απολιποπρωτεΐ νη	
11p15	11		Έλεγχος της ανάπτυξης		Έλεγχος της ανάπτυξης
LRP1	12	Αίμα, εγκέφαλος, ήπαρ, πνεύμονες, πλακούντας, πλάσμα, προστάτης, δέρμα	Υποδοχέας στην ενδοπλασματική μεμβράνη σχετιζόμενος με την ενδοκύττωση	Σχετιζόμενη με την LDL πρωτεΐνη 1	Μεταβολισμός λιπιδίων
SCARB1	12	Μυελός, ήπαρ, προστάτης κα	Ο υποδοχέας αναγνωρίζει τροποποιημένες LDL από ακετυλίωση ή οξειδωση	Πρωτεΐνη του υποδοχέα scavenger	Μεταβολισμός λιπιδίων
SMAD3	15	Μυελός, πάγκρεας, σπλήνας κα	μετατροπείς σήματος και μεταγραφικοί διαμορφωτές που μεσολαβούν πολλαπλές οδούς σηματοδότησης	Μέλος 3 της οικογένειας SMAD πρωτεϊνών	Κυτταρική λειτουργία
CETP	16	Ήπαρ, πάγκρεας, πλάσμα, σπλήνας	Μεταφέρει εστέρες CHOL μεταξύ λιποπρωτεϊνών	Πρωτεΐνη που μεταφέρει εστέρες χοληστερόλης	Μεταβολισμός λιπιδίων
BCAS3	17	Μυελός των οστών, μυελός, κόλον, ήπαρ, τράχηλος	Παίζει ρόλο στην αγγειογένεση και στη μετανάστευση/πόλωση των κυττάρων	Ενισχυμένη ακολουθία του μαστικού καρκινώματος	Κυτταρική λειτουργία
gene_desert/KCNE2	21	Καρδιά, μύες	Τασεο-εξαρτώμενο κανάλι Καλίου, καρδιακός ρυθμός κα	Πρωτεΐνη του διαύλου Καλίου	Βασικός μεταβολισμός, καρδιακή λειτουργία κα

4.7.3 Διαστρωμάτωση δείγματος

Εφαρμόζεται PCA (Principal component analysis) για τη βάση δεδομένων της GRMIC για να φανεί αν υπάρχει οποιαδήποτε απόδειξη για υποκατηγοριοποίηση/διαχωρισμό των λίγων περιπτώσεων επανελέγχου που έχουμε με αναφερόμενο 2^ο συμβάν, όπως και για τα δείγματα της 1^{ης} φάσης που έχουν αναφέρει ιατρικό ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου (εικόνα 1)

Δεν υπήρχε τέτοια απόδειξη. Αυτό που μπορούμε να συμπεράνουμε, είναι ότι η γενετική πληροφορία μόνη της δεν είναι ικανή για την πρόβλεψη 2^{ου} συμβάντος, γι αυτό είναι απαραίτητο να συνεχιστεί η ανάλυση του RNA και της μεθυλίωσης. Σημαντικό επίσης είναι το γεγονός του μικρού αριθμού του δείγματος που έχει συλλεχθεί μέχρι στιγμής. Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται και γραφικά η μη διαστρωμάτωση του δείγματος.

Εικόνα 2: διαστρωμάτωση των ασθενών της έρευνας



Πιο συγκεκριμένα, κάθε κουκίδα αναπαριστά ένα διαφορετικό άτομο. Η χρωματική αντιπροσώπευση έχει ως εξής: Με μαύρο βλέπουμε όλους τους ασθενείς/εθελοντές που συμμετείχαν στην έρευνα, και είχαν είτε ΕΜ είτε ΟΣΣ. Με πράσινο φαίνονται οι ασθενείς που είχαν δηλώσει ιατρικό ιστορικό ΕΜ. Με κόκκινο φαίνονται όλοι οι ασθενείς που ανέφεραν 2^ο συμβάν ΚΝ κατά την περίοδο απ την πρώτη φάση μέχρι τον επανέλεγχο.

5.Συζήτηση

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα ευθύνονται για 17,5 εκατομμύριο θανάτους ετησίως, δηλαδή ένα 31% όλων των θανάτων, πάνω απ το 75% των οποίων αφορά χαμηλού κοινωνικο-οικονομικού επιπέδου χώρες. Το 80% των θανάτων από ΚΝ αφορούν εμφράγματα και εγκεφαλικά. Όπως υποστηρίζει η πρόσφατη βιβλιογραφία, γενετικοί και διατροφικοί παράγοντες αποτελούν τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση χρόνιων ασθενειών όπως τα ΚΝ. Η βιβλιογραφία αυτή υποστηρίζει ότι υπάρχουν γονίδια και πολυμορφισμοί που επηρεάζουν σε σημαντικό βαθμό την εμφάνιση και την εξέλιξη των ΚΝ, είτε ανεξάρτητα είτε σε συνέργια με άλλους παράγοντες που έχουν να κάνουν με τον τρόπο ζωής, όπως η διατροφή και συμπεριφορές όπως το κάπνισμα. Όσον αφορά την εξέλιξη της νόσου, και συγκεκριμένα του ΕΜ, υπάρχει η υπόθεση αλλά και οι ενδείξεις, ότι ίδιοι ή άλλοι πολυμορφισμοί, επηρεάζουν την επανεμφάνιση του επεισοδίου και την εξέλιξη του ΚΝ γενικότερα.

Η παρούσα εργασία βρίσκεται εντός του πλαισίου μιας ευρύτερης έρευνας, που διερευνά την ύπαρξη τέτοιων πολυμορφισμών σε συνδυασμό με άλλα κλινικά και διατροφικά χαρακτηριστικά του ασθενούς. Το στάδιο που αυτή βρίσκεται, δεν της επιτρέπει να δρα συμπερασματικά ως προς τις υποθέσεις που αυτή μελετά, αλλά αναδεικνύει τις όποιες υποθέσεις, και τα όσα ασφαλή συμπεράσματα μπορούν να βγουν στο στάδιο της έρευνας που αυτή γίνεται.

Τα δείγματα της μελέτης, ακριβώς εξαιτίας της δυναμικής και εν εξελίξει γενικότερης έρευνας, είναι τρία. Το ένα είναι το δείγμα της πρώτης φάσης, που αποτελείται από 230 άτομα, στο οποίο γίνεται ανάλυση των γενικότερων χαρακτηριστικών του. Το δεύτερο είναι το δείγμα του επανελέγχου, το οποίο είναι 58 άτομα, τα οποία έχουν αντιστοίχιση με τα πρώτα 142 άτομα της πρώτης φάσης. Και το τρίτο δείγμα, είναι απ τα πρώτα 170 άτομα της μελέτης, το οποίο έχει υποστεί γενετική επεξεργασία, με στόχο την ανάλυση των πολυμορφισμών που ίσως αποτελούν παράγοντες κινδύνου για τη νόσο.

Στο 1^ο δείγμα, αυτό της πρώτης φάσης που αριθμεί 230 άτομα, υπάρχει μέσος όρος ηλικίας στα 60 χρόνια περίπου, με την μεγαλύτερη αναλογία να έχουν οι άντρες (82%). Τα ¾ του δείγματος είναι υπέρβαρα/παχύσαρκα, το 50% έχει εγκατεστημένη υπέρταση,

το 44% έχει υπερλιπιδαιμία και το 32% ΣΔ2. Όσον αφορά το ιστορικό των ατόμων, πάνω απ τους μισούς είχαν οικογενειακό ιστορικό ΚΝ και ένα 23% ιστορικό συννοσηρότητας στην οικογένεια όπως υπερχοληστερολαιμία και υπέρταση.

Όσον αφορά τον τρόπο ζωής το 64% ήταν καπνιστές, το 47% ισχυρίστηκε ότι είχε σοβαρό άγχος στην καθημερινότητά του ενώ μόνο ένα 18% ισχυρίστηκε ότι κάνει οποιαδήποτε μορφής άσκηση, συμπεριλαμβανομένου του περπατήματος. Αναλύοντας το διατροφικό πρότυπο σύμφωνα με το MedDietScore βρέθηκε ότι η διατροφική κατάσταση δεν ήταν τόσο κακή, με τους περισσότερους απ το δείγμα να είναι σε μια στενή ζώνη ανάμεσα στην ανεπαρκή και καλή συμμόρφωση στα μεσογειακά πρότυπα. Τέλος, εφαρμόζοντας το Hellenic risk score, αν και ετεροχρονισμένα, βρέθηκε ότι το 29% θα διέτρεχε χαμηλό κίνδυνο, το 32% σοβαρό και το 23% πολύ σοβαρό κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ στη δεκαετία. Πάντα στην υπόθεση αν δεν είχαν πάθει το συμβάν.

Στο 2^ο δείγμα, έχουμε 58 άτομα που αντιστοιχούν στα 142 αρχικά της πρώτης φάσης, δηλαδή το ποσοστό επανελέγχου είναι κοντά στο 41%. Απ του ασθενείς αυτούς, το 21% περίπου είχε επανανοσηλευτεί μέσα στο πρώτο εξάμηνο, εξαιτίας κακής εξέλιξης της ΚΝ. Το ποσοστό του υπέρβαρου παχύσαρκου παρέμεινε πολύ υψηλό, με το 20% μόνο να είναι νορμοβαρείς, ενώ το 1/3 ήταν πάνω απ το όριο της παχυσαρκίας.

Όσον αφορά λοιπούς παράγοντες του τρόπου ζωής, ο ένας στους δύο καπνιστές, σταμάτησε το κάπνισμα, το 1/3 δήλωσε ότι κάνει κάποιας μορφής άσκηση, ενώ σοβαρό άγχος αυτή τη φορά δήλωσε μόνο ο ένας στους τέσσερις.

Στο 3^ο δείγμα, αυτό της γενετικής ανάλυσης, έγινε ένας έλεγχος που αφορούσε τα τυχόν λάθη που είχαν γίνει σε σχέση με το πρωτόκολλο, κι ένας ποιοτικός έλεγχος που αφορούσε τα δείγματα του DNA των ατόμων. Ο αριθμός των ατόμων που εν τέλει γονοτυπήθηκαν για να ελεγχθούν οι συχνότητες των αλληλομόρφων και των πολυμορφισμών, ήταν 103.

Εξαιτίας του μικρού αυτού δείγματος, η ανάλυση στερείται ισχύος. Χρησιμοποιήθηκε η έρευνα THISEAS, ως συγκριτικός πυλώνας, για να συγκριθούν οι συχνότητες των πολυμορφισμών. Η σύγκριση αυτή έγινε έχοντας δεδομένο ότι η έρευνα αυτή έγινε στον Ελλαδικό χώρο, κι έτσι οι συχνότητες των αλληλομόρφων θα έχουν κοινό πεδίο αναφοράς τον ίδιο πληθυσμό. Τα περιστατικά της THISEAS ήταν περιστατικά με διαγνωσμένη ΚΝ και η ομάδα ελέγχου. Η ανάλυση έγινε στους μισούς απ τους

υποψήφιους πολυμορφισμούς κινδύνου, δηλαδή σε μια παρτίδα 27 πολυμορφισμών. Σχεδόν σε όλους, βρέθηκαν κοινές συχνότητες αλληλομόρφων, με εξαίρεση τον πολυμορφισμό rs3130683 στο χρωμόσωμα 6 στο γενετικό τόπο C2 που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη του συμπληρώματος (complement component 2), που ανήκει στο κλασσικό μονοπάτι του συμπληρώματος, με λειτουργία πρωτεάσης. Ο πολυμορφισμός σε αυτή τη θέση, βρέθηκε να βρίσκεται σε αρκετά μικρότερη συχνότητα στον πληθυσμό μας (όσον αφορά το έλασσον αλληλόμορφο-minor allele frequency), συγκριτικά πάντα με την έρευνα THISEAS. Τα υπόλοιπα γονίδια, που φαίνονται στον πίνακα 12 και έχουν βρεθεί ότι σχετίζονται με την εμφάνιση ΚΝ, βρέθηκαν στις ίδιες συχνότητες MAF συγκριτικά με την THISEAS. Οι βασικές κατηγορίες αυτών των γονιδίων αφορούν το μεταβολισμό και την ομοιόσταση των λιπιδίων (6 γονίδια), τον βασικό και ενεργειακό μεταβολισμό (6 γονίδια), πυρηνικές ή κυτταροπλασματικές λειτουργίες (11 γονίδια), το καρδιαγγειακό και το ανοσοποιητικό σύστημα.

Όσον αφορά τη διαστρωμάτωση του δείγματος με τη χρήση PCA, δεν βρέθηκε υποκατηγοριοποίηση των δειγμάτων. Ελέγχθηκε δηλαδή αν υπήρχε κάποια κοινή γονιδιακή διαστρωμάτωση στα περιστατικά που εμφάνισαν 2^ο συμβάν ΕΜ ή άλλης εκδήλωσης ΚΝ, και δεν καταφέρθηκε να αποδειχτεί κάτι τέτοιο. Με τα μέχρι τώρα δεδομένα, αυτό σημαίνει ότι η γενετική πληροφορία δεν μπορεί να βοηθήσει στην πρόγνωση 2^{ου} συμβάντος όσον αφορά την ΚΝ. Είναι απαραίτητο λοιπόν, να γίνει ανάλυση, επιπλέον, του RNA και των προτύπων μεθυλίωσης, για να ελεγχθεί η γενωμική προδιάθεση ασθενών που έχουν υποστεί ένα 1^ο έμφραγμα, και κινδυνεύουν να υποστούν 2^ο.

Από τους 547644 δείκτες που ήταν σύνολο, αποκλείσαμε του 265375 κατά τη διάρκεια του ποιοτικού ελέγχου, κι έτσι μας έμειναν 281948 σύνολο.

Για να έχουμε καλύτερη εικόνα των επιδημιολογικών μας δεδομένων θα χρησιμοποιήσουμε την έρευνα HELIOS (HELlenic Infraction Observation Study), μια μεγάλη επιδημιολογική μελέτη με 1840 ασθενείς από 31 νοσοκομεία που αφορά τον ελληνικό πληθυσμό, για να συγκρίνουμε τα επιδημιολογικά της στοιχεία με τα δικά μας ευρήματα. Ακολουθεί ο πίνακας 13 στον οποίο υπάρχουν τα επιδημιολογικά στοιχεία απ τις 2 έρευνες.

Πίνακας 2: επιδημιολογική σύγκριση με την έρευνα HELIOS

Χαρακτηριστικό	HELIOS	Αποτελέσματα	Σύγκριση
Ηλικία	68±13	60±9,5	↓↓
Καπνιστές ή πρώην καπνιστές	71%	77%	↑
Υπέρταση	59%	50%	↓
Υπερλιπιδαιμία	50%	43,5%	↓
ΣΔ 2	31%	32,2%	-
Οικογενειακό ιστορικό ΚΝ	22%	54%	↑↑
ΔΜΣ	27,4±4,2	27,9±4,3	-
Υπέρβαροι-παχύσαρκοι	73%	75,5%	-
Παχύσαρκοι	22%	26,5%	↑
Άνδρες	75%	82,2%	↑

Όπως βλέπουμε και στον παραπάνω πίνακα, έχουμε χαμηλότερο μέσο όρο ηλικίας εμφράγματος το οποίο μπορεί να οφείλεται και στο ότι δεν έχει υπολογιστεί το ποσοστό αυτών που είχαν υποστεί και προηγούμενο επεισόδιο, ενώ στην HELIOS είναι 26%. Πολύ υψηλότερο ποσοστό έχουμε στο οικογενειακό ιστορικό καρδιαγγειακών νόσων, το οποίο στη δική μας περίπτωση ξεπερνά τον 1 στους 2. Μικρότερες διαφορές έχουμε υπέρταση και υπερχοληστερολαιμία, που έχουμε βρει ελαφρώς χαμηλότερα ποσοστά. Επίσης, παρόλο που έχουμε βρει παρόμοιο ΔΜΣ, έχουμε ελαφρώς περισσότερους παχύσαρκους στο δείγμα μας. Τέλος, οι άνδρες σε μας βρίσκονταν σε μεγαλύτερο ποσοστό, ενώ κι οι καπνιστές ήταν λίγο περισσότεροι [82].

Σε αυτό το σημείο θα βάλουμε τα ευρήματά μας στο πλαίσιο δυο μετα-αναλύσεων του 2013 και 2015 πάνω σε GWAS μελέτες, την “large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease” και την “a comprehensive 1000 Genomes-based genome-wide association meta-analysis of coronary artery disease” [79, 80].

Σε αυτές τις μετα-αναλύσεις τα δείγματα ήταν 63.000 περιστατικά ΚΝ και 130.000 ομάδα ελέγχου και 60.000 περιστατικά και 120.000 ομάδα ελέγχου αντίστοιχα. Τα γονίδια στα οποία βρέθηκαν οι πολυμορφισμοί που σχετίζονται με τα ΚΝ είναι γονίδια που σχετίζονται με το λιπιδαιμικό προφίλ, με την αρτηριακή πίεση, γονίδια που σχετίζονται με βιολογικές διαδικασίες στα τοιχώματα των αρτηριών κα. Σε αυτές τις έρευνες το δείγμα

Όπως και σε μας, πολλά γονίδια σχετίζονται με το μεταβολισμό των λιπιδίων, με τη διαφορά ότι η δική μας ομάδα γονιδίων είναι αρκετά μικρή ακόμα λόγω του σταδίου της έρευνας. Συγκεκριμένα, τα γονίδια που είναι κοινά, με το χρωμόσωμα που εδράζονται σε παρένθεση είναι τα:

Για την πρώτη έρευνα:

SOR1, PCSK9, IL6R (1), ABCG5/ABCG8 (2), SLC22A4/SLC22A5 (5), PHACTR1, TCF21 (6), LPL (8), ABO, CDKN2BAS (9), CYP17A1/CNNM2/NT5C2 (10), ZNF259/APOA5/APOA1, PDGFD (11), gene desert (KCNE2) (21).

Για τη δεύτερη έρευνα:

SOR1, PCSK9, IL6R (1), ABCG5/ABCG8 (2), NOA1 (4), SLC22A4/SLC22A5 (5), PHACTR1, TCF21 (6), HDAC9 (7), LPL (8), ABO, CYP17A1/CNNM2/NT5C2 (10), ZNF259/APOA5/APOA1, PDGFD (11), SMAD3 (15), BCAS3 (17), gene desert (KCNE2) (21).

Απ τα 27 γονίδια στα οποία ερευνούνται οι πολυμορφισμοί, τα 14 στην πρώτη περίπτωση και τα 17 στην δεύτερη, είναι κοινά. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχει μια επαναληψιμότητα σε συγκεκριμένα γονίδια. Αναφερόμαστε σε γονίδια, γιατί σε σχεδόν όλες τις περιπτώσεις ήταν διαφορετικοί οι πολυμορφισμοί. Στην πρώτη μόνο έρευνα, στα γονίδια PCSK9 (1), IL6R (1), SLC22A4/SLC22A5 (5), PDGFD (11), KCNE2 (21), χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιοι πολυμορφισμοί. Ακόμα όμως και σε αυτές τις 5 περιπτώσεις, μόνο στην περίπτωση του PDGFD στο 11^ο χρωμόσωμα υπήρχε σύμπτωση του ίδιο ζευγαριού βάσεων επικρατούς/υπολειπόμενου και συγκεκριμένα του A/G. Στην περίπτωσή μας η συχνότητα του υπολειπόμενου αλληλομόρφου δηλαδή της G ήταν 0.38, ενώ στην άλλη έρευνα αναφερόταν η συχνότητα του αλληλομόρφου επίδρασης σε σχέση με αυτό που δεν είχε επίδραση σε 0,29 (δηλαδή της A προς G).

Οι περιορισμοί της μελέτης είχαν να κάνουν απ τη μια με το περιβάλλον του νοσοκομείου, κι απ την άλλη με τις δυνατότητες της ίδιας της έρευνας όσον αφορά τους στόχους της σε σχέση με το απαιτούμενο δείγμα που έπρεπε να συλλεχθεί για να εξαχθεί στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. Η συνεργασία του ερευνητή με τους ιατρούς γινόταν εν ώρα εφημερίας, δηλαδή γινόταν με ανθρώπους που οριακά δεν είχαν κοιμηθεί 1,5 μέρα και την ίδια ώρα που ενημέρωναν τον ερευνητή, έτρεχαν από περιστατικό σε περιστατικό. Η συλλογή των στοιχείων των εθελοντών επίσης

δυσχεραινόταν από τον όγκο της πληροφορίας που ζητούταν κι απ το γεγονός ότι οι ασθενείς ήταν σε μερικό σοκ, έτσι σε μερικές περιπτώσεις ήταν αδύνατη η καθολική συλλογή στοιχείων με αποτέλεσμα να χάνεται πολύτιμη πληροφορία. Απ την άλλη το στάδιο της μελέτης αλλά και οι δυνατότητες των ερευνητών δεν καταφέρανε να καταλήξουν σε σημαντικό ερευνητικό αποτέλεσμα μέχρι το στάδιο που γράφεται αυτή η διατριβή. Έτσι η ανάλυση του δείγματος δεν παρέχει στατιστική ισχύ. Το μειονέκτημα του μικρού δείγματος είναι πάντα σε συνδυασμό με το ότι η μελέτη στοχεύει στη συσχέτιση του γονοτύπου με το φαινότυπο (KN).

Συνολικά, είναι φανερό ότι η γενετική προδιάθεση είναι καθοριστική για την εμφάνιση και εξέλιξη της KN. Επίσης, χρειάζεται οι μελέτες που ερευνούν το γενετικό υπόβαθρο για τόσο σοβαρές χρόνιες νόσους όπως η KN, να γίνονται σε ένα ευρύτερο πλαίσιο, με πολλά πανεπιστήμια και νοσοκομεία της χώρας, δηλαδή να γίνονται με μια κεντρική διαχείριση. Έτσι η μεθοδολογία της έρευνας και η συλλογή δεδομένων θα γίνεται με πολύ καλύτερο βαθμό, και τα αποτελέσματα θα μπορούν να αντιπροσωπεύσουν ποιοτικά τον ελληνικό πληθυσμό. Τέλος, όπως και αυτή η μελέτη έχει συνειδητοποιήσει, το επίκεντρο αυτών των ερευνών πρέπει να είναι το γενομικό υπόβαθρο, γιατί τα γονίδια από μόνα τους δεν φτάνουν.

6.Βιβλιογραφία

1. Vander A, Sherman J, Luciano D, Τσακόπουλος Μ, 2001. Φυσιολογία του ανθρώπου. Ιατρικές εκδόσεις Πασχαλίδη
2. Incardiology. Σχηματισμός της αθηρωματικής πλάκας. Προσπελάστηκε στις 25 Δεκέμβρη 2015, στο http://www.incardiology.gr/pathiseis_lipidia/lipidia_plaka.html
3. World Health Organization .Types of cardiovascular disease, 2013
4. WHO MONICA Project Principal Investigators, "The World Health Organization MONICA Project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): major international collaboration". J Clin Epidemiol 1988, p.105-114.
5. Johnsen SP, Overvad K, HT Sorensen, Tjonneland A, Husted SE. Predictive value of stroke and transient ischemic attack discharge diagnoses in The Danish National Registry of Patients .J Clin Epidemion 2002, 55(6):p.602-7.
6. American Heart Associasion. Heart disease and stroke,2008
7. Κραδίνης Α, Παρασκευίδης Ι .(2012) Απεικόνιση στις καρδιαγγειακές παθήσεις . Αθήνα : Εκδόσεις Πασχαλίδης .
8. Girard P et al .Diagnosis of pulmonary embolism in patients with proximal deep vein thrombosis: specificity of symptoms and perfusion defects at baseline and during anticoagulant therapy. Am J Respir Crit Care Med 2001, 164(6):p.1033-7.
9. Κρεμαστινός, Δ.Θ 2009. ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΑ. ΑΘΗΝΑ: Εκδόσεις Πασχαλίδης. Σελ:452-80.
10. American Heart Association .Smoking and Cardiovascular Disease,2012
11. Yusuf S et al. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. Lancet 2005, 366(9497):p.1640-9.
12. Stone GW et al. A prospective natural-history study of coronary atherosclerosis. N Engl J Med 2011, 364(3):p.226-235.
13. Colledge N, Walker B, Ralston S 2014. Davidson's Γενικές αρχές και κλινική πράξη της ιατρικής παθολογίας. Εκδόσεις Παρισιάνου ΑΕ
14. Bassand J-P, Hamm WC, Ardissino D. On behalf committee for Guidelines for the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. Eur Heart J 2007, 28(13):p.1598-1660.
15. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. JACC 2000, 36 (3):p.959-69.
16. European Heart Network and European Society of Cardiology, September 2012
17. Stein J, Hutton J, Kohler P, O'Rourke R, Reynolds H, Samuels M, Sande M, Trier J, Zvaifler N, 1997. Παθολογία. Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης
18. Lichtenstein, A. H., L. J. Appel, et al. (2006). "Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee." Circulation 114(1): 82-96.

19. Hu, F. B. and W. C. Willett (2002). "Optimal diets for prevention of coronary heart disease." *Jama* 288(20): 2569-2578.
20. Danesh, J., S. Kaptoge, et al. (2008). "Long-term interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease: two new prospective studies and a systematic review." *PLoS Med* 5(4): 0050078.
21. Sarwar, N., N. Sattar, et al. (2007). "Circulating concentrations of insulin markers and coronary heart disease: a quantitative review of 19 Western prospective studies." *Eur Heart J* 28(20): 2491-2497.
22. Sattar, N., G. Wannamethee, et al. (2009). "Leptin and coronary heart disease: prospective study and systematic review." *J Am Coll Cardiol* 53(2): 167-175.
23. Sattar, N., G. Wannamethee, et al. (2006). "Adiponectin and coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis." *Circulation* 114(7): 623-629.
24. Zhang, H., X. Mo, et al. (2013). "Adiponectin levels and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of prospective studies." *Am J Med Sci* 345(6): 455-461.
25. Gimeno, D., E. J. Brunner, et al. (2007). "Adult socioeconomic position, C-reactive protein and interleukin-6 in the Whitehall II prospective study." *Eur J Epidemiol* 22(10): 675-683.
26. Rasmussen-Torvik, L. J., C. L. Wassel, et al. (2012). "Associations of body mass index and insulin resistance with leptin, adiponectin, and the leptin-to-adiponectin ratio across ethnic groups: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)." *Ann Epidemiol* 22(10): 705-709.
27. Kanjilal S, Gregg EW, Cheng YJ, Zhang P, Nelson DE, Mensah G, Beckles GL Socioeconomic status and trends in disparities in 4 major risk factors for cardiovascular disease among US adults, 1971-2002. *Arch Intern Med*. 2006 Nov 27; 166(21):2348-55.
28. Lammintausta A., Immonen-Raiha P., Airaksinen J.K., Torppa J., Harald K., Ketonen M. Socioeconomic inequalities in the morbidity and mortality of acute coronary events in Finland: 1988 to 2002. *Ann. Epidemiol*. 2012;22:87–93 Measuring social class in US public health research: concepts, methodologies, and guidelines.
29. Krieger N, Williams DR, Moss NE *Annu Rev Public Health*. 1997; 18():341-78.
30. Emberson J.R., Whincup P.H., Morris R.W., Walker M. Social class differences in coronary heart disease in middle-aged British men: implications for prevention. *Int. J. Epidemiol*. 2004;33:289–296.
31. Rose G., Marmot M.G. Social class and coronary heart disease. *Br. Heart J*. 1981;45:13–19.
32. Gohlke H *Eur J* 2013 J Is it worth offering cardiovascular disease prevention to the elderly? *Prev Cardiol*. Feb; 20(1):121-6.
33. Tourloui E, Matalas AL, Panagiotakos 2009 DB Dietary habits and cardiovascular disease risk in middle-aged and elderly populations: a review of evidence. *Clin Interv Aging.*; 4():319-30.
34. Guenther PM, Reedy J, Krebs-Smith SM Development of the Healthy Eating Index-2005. *J Am Diet Assoc*. 2008 Nov; 108(11):1896-901
35. van Lee L, Geelen A, van Huysduynen EJ, de Vries JH, van't Veer P, Feskens EJ The Dutch Healthy Diet Index (DHD-index): an instrument to measure adherence to the Dutch Guidelines for a Healthy Diet. *Nutr J* 2012;11:49.
36. Huijbregts P, Feskens E, Räsänen L, Fidanza F, Nissinen A, Menotti A, Kromhout D *BMJ*. 1997 Dietary pattern and 20 year mortality in elderly men in Finland, Italy, and The Netherlands: longitudinal cohort study. Jul 5; 315(7099):13-7.

37. Joint WHO/FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation, Geneva, Switzerland: 2003;916:104–17.
38. Jankovic N, Geelen A, Streppel MT, de Groot LC, Orfanos P, van den Hooven EH, Pikhart H, Boffetta P, Trichopoulou A, Bobak M, Bueno-de-Mesquita HB, Kee F, Franco OH, Park Y, Hallmans G, Tjønneland A, May AM, Pajak A, Malyutina S, Kubinova R, Amiano P, Kampman E, Feskens EJ Adherence to a healthy diet according to the World Health Organization guidelines and all-cause mortality in elderly adults from Europe and the United States. *Am J Epidemiol*. 2014 Nov 15; 180(10):978-88.
39. Knuops KT, Groot de LC, Fidanza F, Alberti-Fidanza A, Kromhout D, van Staveren WA. Comparison of three different dietary scores in relation to 10-year mortality in elderly European subjects: the HALE project. *Eur J Clin Nutr*. 2006 Jun; 60(6):746-55.
40. Srinath Reddy K, Katan MB Diet, nutrition and the prevention of hypertension and cardiovascular diseases. *Public Health Nutr*. 2004 Feb; 7(1A):167-86.
41. Panagiotakos, DB; Pitsavos, C; Stefanadis, C (Dec 2006). "Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk". *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. **16** (8): 559–68. [doi:10.1016/j.numecd.2005.08.006](https://doi.org/10.1016/j.numecd.2005.08.006)
42. Panagiotakos D, Fitzgerald A, Pitsavos C, Pipilis A, Graham I, Stefanidis C. Statistical Modelling of 10-Year Fatal Cardiovascular Disease Risk in Greece: The HellenicSCORE (a Calibration of the ESC SCORE Project). *Hellenic J Cardiol* 2007 48: 55-63.
43. Watson J, M. R., Caudy A, Witkowski J. (2007). Ανασυνδιασμένο DNA, γονίδια και γονιδιώματα-μια συνοπτική παρουσίαση, Ακαδημαϊκές εκδόσεις Ι. Μπάσδρα και ΣΙΑ Ο.Ε.
44. Colditz, G. A., M. J. Stampfer, et al. (1986). "A prospective study of parental history of myocardial infarction and coronary heart disease in women." *Am J Epidemiol* **123**(1): 48-58.
45. Slack, J. and K. A. Evans (1966). "The increased risk of death from ischaemic heart disease in first degree relatives of 121 men and 96 women with ischaemic heart disease." *J Med Genet* **3**(4): 239-257.
46. Wang Q, Chen Q. Cardiovascular disease and congenital heart defects. *Nature Encyclopedia of Human Genome*. 2003;1:396–411.
47. Schildkraut, J. M., R. H. Myers, et al. (1989). "Coronary risk associated with age and sex of parental heart disease in the Framingham Study." *Am J Cardiol* **64**(10): 555-559.
48. Marenberg, M. E., N. Risch, et al. (1994). "Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins." *N Engl J Med* **330**(15): 1041-1046.
49. Wang, Q. (2005). "Molecular genetics of coronary artery disease." *Curr Opin Cardiol* **20**(3): 182-188.
50. Hobbs, H. H., D. W. Russell, et al. (1990). "The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia: mutational analysis of a membrane protein." *Annu Rev Genet* **24**: 133-170.
51. Lund-Katz, S., P. M. Laplaud, et al. (1998). "Apolipoprotein B-100 conformation and particle surface charge in human LDL subspecies: implication for LDL receptor interaction." *Biochemistry* **37**(37): 12867-12874.
52. Abifadel, M., M. Varret, et al. (2003). "Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia." *Nat Genet* **34**(2): 154-156.

53. Pullinger, C. R., C. Eng, et al. (2002). "Human cholesterol 7alpha-hydroxylase (CYP7A1) deficiency has a hypercholesterolemic phenotype." *J Clin Invest* **110**(1): 109-117.
54. Garcia, C. K., K. Wilund, et al. (2001). "Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein." *Science* **292**(5520): 1394-1398.
55. Wang, L., C. Fan, et al. (2003). "Mutation of MEF2A in an inherited disorder with features of coronary artery disease." *Science* **302**(5650): 1578-1581.
56. Bhagavatula, M. R., C. Fan, et al. (2004). "Transcription factor MEF2A mutations in patients with coronary artery disease." *Hum Mol Genet* **13**(24): 3181-3188.
57. Pajukanta, P., I. Nuotio, et al. (1998). "Linkage of familial combined hyperlipidaemia to chromosome 1q21-q23." *Nat Genet* **18**(4): 369-373.
58. Pajukanta, P., H. E. Lilja, et al. (2004). "Familial combined hyperlipidemia is associated with upstream transcription factor 1 (USF1)." *Nat Genet* **36**(4): 371-376.
59. Ozaki, K., Y. Ohnishi, et al. (2002). "Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction." *Nat Genet* **32**(4): 650-654.
60. Ozaki, K., K. Inoue, et al. (2004). "Functional variation in LGALS2 confers risk of myocardial infarction and regulates lymphotoxin-alpha secretion in vitro." *Nature* **429**(6987): 72-75.
61. Helgadottir, A., A. Manolescu, et al. (2004). "The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke." *Nat Genet* **36**(3): 233-239.
62. Mehrabian, M., H. Allayee, et al. (2002). "Identification of 5-lipoxygenase as a major gene contributing to atherosclerosis susceptibility in mice." *Circ Res* **91**(2): 120-126.
63. Gretarsdottir, S., S. Sveinbjornsdottir, et al. (2002). "Localization of a susceptibility gene for common forms of stroke to 5q12." *Am J Hum Genet* **70**(3): 593-603.
64. Gretarsdottir, S., G. Thorleifsson, et al. (2003). "The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke." *Nat Genet* **35**(2): 131-138.
65. Funalot, B., O. Varenne, et al. A call for accurate phenotype definition in the study of complex disorders, *Nat Genet*. 2004 Jan;36(1):3; author reply 3-4.
66. Archacki, S. R., G. Angheloiu, et al. (2003). "Identification of new genes differentially expressed in coronary artery disease by expression profiling." *Physiol Genomics* **15**(1): 65-74.
67. Samani, N. J., J. Erdmann, et al. (2007). "Genomewide association analysis of coronary artery disease." *N Engl J Med* **357**(5): 443-453.
68. McPherson, R., A. Pertsemlidis, et al. (2007). "A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease." *Science* **316**(5830): 1488-1491.
69. Helgadottir, A., G. Thorleifsson, et al. (2007). "A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction." *Science* **316**(5830): 1491-1493.
70. Buysschaert, I., K. F. Carruthers, et al. (2010). "A variant at chromosome 9p21 is associated with recurrent myocardial infarction and cardiac death after acute coronary syndrome: the GRACE Genetics Study." *Eur Heart J* **31**(9): 1132-1141.
71. Yamagishi, K., A. R. Folsom, et al. (2009). "A genetic variant on chromosome 9p21 and incident heart failure in the ARIC study." *Eur Heart J* **30**(10): 1222-1228.
72. Fox, K. A., O. H. Dabbous, et al. (2006). "Prediction of risk of death and myocardial infarction in the six months after presentation with acute coronary syndrome: prospective multinational observational study (GRACE)." *Bmj* **333**(7578): 10.

73. Zhao, X., J. Gu, et al. (2015). "Pathway analysis of body mass index genome-wide association study highlights risk pathways in cardiovascular disease." Sci Rep **5**(13025).
74. Chen, Y., W. K. Copeland, et al. (2013). "Association between body mass index and cardiovascular disease mortality in east Asians and south Asians: pooled analysis of prospective data from the Asia Cohort Consortium." Bmj **1**(347).
75. Loprinzi, P. D., C. J. Crespo, et al. (2015). "Association of body mass index with cardiovascular disease biomarkers." Am J Prev Med **48**(3): 338-344.
76. Wang, R. S., W. M. Oldham, et al. (2014). "Network-based association of hypoxia-responsive genes with cardiovascular diseases." New J Phys **16**(10): 105014.
77. Thygesen K, Albert J, Jaffe A, Simoons L, Chaitman B, White H. Third universal definition of myocardial infarction. European Heart Journal (2012) 33, 2551-2567 doi:10.1093/eurheartj/ehs184
78. Anderson, C. A., F. H. Pettersson, et al. (2010). "Data quality control in genetic case-control association studies." Nat. Protocols **5**(9): 1564-1573.
79. The CARDIoGRAMplusC4D Consortium, Deloukas P, Kanoni S et al. Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease. Nat Genet. 2013 45(1):25-33
80. The CARDIoGRAMplusC4D Consortium, et al. A comprehensive 1,000 Genomes-based genome-wide association meta-analysis of coronary artery disease. Nat Genet. 2015 Oct;47(10):1121-30
81. Stitzel NO, Stirrups KE, Masca NGD, et al. Coding variation in *ANGPTL4*, *LPL*, and *SVEP1* and Risk of Coronary Disease, N Eng J Med in press)
82. Andrikopoulos, G., A. Pipilis, et al. (2007). "Epidemiological characteristics, management and early outcome of acute myocardial infarction in Greece: the HELLenic Infarction Observation Study." Hellenic J Cardiol **48**(6): 325-334.

Παράρτημα – πίνακες και εικόνες

Πίνακας 1: Παράγοντες κινδύνου αρτηριοσκλήρωσης	
Μη τροποποιήσιμοι	
Ηλικία	Οικογενειακό ιστορικό
Φύλο	
Τροποποιήσιμοι	
Κάπνισμα	Μεταβολές της αιμόστασης
Υπέρταση	Καθιστική ζωή
Δυσλιπιδαιμίες	Παχυσαρκία
ΣΔ	Διατροφή

Πίνακας 2: στάδια έκλουσης του RNA	
Στάδια	Διαδικασία
1	Λύση του αίματος με διάλυμα λύσης (DL buffer)
2	Λύση των πρωτεϊνών με πρωτεϊνάση (πρωτεϊνάση K), επώαση για 15'
3	Προσθήκη διαλύματος αιθανόλης 70%
4	Μεταφορά του λύματος σε στήλη
5	Προσθήκη διαλύματος αφαλάτωσης (MDB buffer, membrane desalting buffer)
6	Προσθήκη διαλύματος πέψης του DNA (DNase), επώαση για 15'
7	Προσθήκη διαλύματος απενεργοποίησης της DNase (RB2)
8	Προσθήκη διαλύματος RB3 για να στεγνώσει πλήρως η μεμβράνη
9	Έκλυση RNA σε 60μl νερού

Πίνακας 3: αντιδραστήρια ανά πηγάδι	
Αντιδραστήριο	Αριθμός πηγαδιού
Δλμ λύσης	1
Πρωτεϊνάση K	2
Δλμ ξεπλύματος	3
"Dynabeads MyOne"	4
Ισοπροπανόλη 100%	5
Δλμ έκλυσης 1	6
Δλμ έκλυσης 1	7
Δλμ έκλυσης 2	8
Δλμ έκλυσης 2	9
Δλμ έκλυσης	10

Πίνακας 4: Περιγραφικά χαρακτηριστικά εθελοντών πρώτης φάσης	
Ηλικία (χρόνια)	60±9,5
Φύλο (άνδρες σε %)	82,2
Δημοτικό (%)	29
Γυμνάσιο-Λύκειο (%)	48
Πανεπιστήμιο (%)	20
Δημόσιος-ιδιωτικός υπάλληλος (%)	32
Αυτοαπασχολούμενος (%)	15
Άνεργος (%)	9
Σύνταξη-οικιακά (%)	44

Πίνακας 5: Δεδομένα νοσημάτων και καπνίσματος	
Υπέρβαροι (%)	49
Παχύσαρκοι (%)	26,5
Υπέρταση (%)	50
Υπερλιπιδαιμία (%)	43,5
ΣΔ2 (%)	32,2
Οικ. Ιστορικό με καρδιαγγειακά νοσήματα (%)	54
Οικ. Ιστορικό με συνοδά νοσήματα (%)	23,5

Πίνακας 6: Δεδομένα τρόπου ζωής και ψυχολογικής κατάστασης	
Κάπνισμα (%)	63,5
Κάπνισμα στο παρελθόν (%)	13,5
Άσκηση (%)	18,3
Ωρες άσκησης	7,3±6,3
Ωρες ύπνου	7,3±1,8
Ωρες τηλεθέασης	3±2,2
ελάχιστο άγχος (%)	27,2
Μέτριο άγχος (%)	25,3
Σοβαρό άγχος (%)	47,5
Ψυχολογικό τεστ	64,2±24,2

Πίνακας 7: Δεδομένα κατανάλωσης ανά ομάδα τροφίμων	
Ομάδα τροφίμων	Κατανάλωση μερίδων την ημέρα
Γαλακτοκομικά	1,6
Κρέας (πουλερικά)	0,8 (0,2)
Ψάρια	0,3
Λαχανικά	1,4
Φρούτα	1,9
Γλυκά (ζάχαρη σκέτη)	1,5 (1)
Αλκοόλ	0,6

Πίνακας 8: Συμμόρφωση στα πρότυπα της μεσογειακής δίαιτας (%)	
Καθόλου καλή (0-13)	0
Ανεπαρκής (14-27)	26,5
Καλή (28-41)	73
Πολύ καλή (42-55)	0,5

Πίνακας 9: Hellenic risk score	
1-4% (χαμηλός κίνδυνος)	29
5-9% (σοβαρός κίνδυνος)	32
>10% (πολύ σοβαρός κίνδυνος)	23

Πίνακας 9: Hellenic risk score	
1-4% (χαμηλός κίνδυνος)	29
5-9% (σοβαρός κίνδυνος)	32
>10% (πολύ σοβαρός κίνδυνος)	23

Πίνακας 11: Γονοτυπική ανάλυση των πολυμορφισμών

SNP	Χρ	θέση	Γονίδια ανά γενετικό τόπο	Υπ. Αλ.	Επ. Αλ.	Συχνότητα υπ. Αλ.- GRMIC (n=103)	Συχνότητα υπ. Αλ.- THISEAS ασθενείς (n=426)	Συχνότητα υπ. Αλ.- THISEAS υγιείς (n=594)
rs4845625	1	154422067	IL6R	A	G	0.4563	0.46362	0.46801
rs11206510	1	55496039	PCSK9	G	A	0.2087	0.2031	0.1886
rs12740374	1	109817590	SORT1	A	C	0.1942	0.18188	0.22723
rs4299376	2	44072576	ABCG5/ABCG8	C	A	0.4175	0.3768	0.3468
rs10211596	2	233699415	GIGYF2	A	G	0.4854	0.5751	0.5513
rs1801251	2	233633460	KCNJ13/ GIGYF2	A	G	0.4272	0.3380	0.3594
rs17087335	4	57838583	NOA1	A	C	0.1796	0.1819	0.1827
rs273909	5	131667353	SLC22A4/SLC2 2A5	G	A	0.09709	0.08413	0.08890
rs3130683	6	31888367	C2	G	A	0.02913	0.04343	0.04545
rs9349379	6	12903957	PHACTR1	G	A	0.3932	0.42606	0.39141
rs1053924	6	32120715	PRRT1	A	G	0.2039	0.2183	0.2189
rs2327429	6	134209837	TCF21	G	A	0.2573	0.28756	0.26852
rs2074633	7	19035920	HDAC9	G	A	0.233	0.28873	0.26431
rs256	8	19811967	LPL	A	G	0.1796	0.15493	0.17593
rs633862	9	136155444	ABO	G	A	0.4272	0.4331	0.4074
rs564398	9	22029547	CDKN2BAS	G	A	0.2794	0.31455	0.32155
rs11124523 0	9	113169775	SVEP1	G	A	0.05825	0.06250	0.06308
rs17115100	10	104591393	CYP17A1/CNN M2/NT5C2	A	C	0.1068	0.10211	0.12121
rs974819	11	103660567	PDGFD	A	G	0.3786	0.36620	0.36616
rs964184	11	116648917	ZNF259/APOA5/ APOA1	C	G	0.8301	0.8435	0.8420
rs11042937	11	10745394	11p15	A	C	0.4903	0.5293	0.5236
rs11172113	12	57527283	LRP1	G	A	0.3058	0.3427	0.3628
rs11057830	12	125307053	SCARB1	A	G	0.233	0.24035	0.22326
rs17293632	15	67442596	SMAD3	A	G	0.2087	0.1957	0.2099
rs1800775	16	56995236	CETP	A	C	0.4078	0.4636	0.4806
rs8080784	17	59017025	BCAS3	G	A	0.1699	0.1737	0.1515
rs9982601	21	35599128	gene_desert/KC NE2	A	G	0.1408	0.1392	0.1317

Πίνακας 12: Χαρακτηριστικά των γονιδίων που χρησιμοποιήθηκαν

Γονίδιο	χρωμόσωμα	Ιστός	Λειτουργία	Πρωτεΐνη	Γενική λειτουργία στον οργανισμό
IL6R	1	Νεφροί, λέμφος	Η IL είναι ένας αναπτυξιακός ισχυρός πλειοτροπικός παράγοντας που ρυθμίζει κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση κα	Υποδοχέας της ιντερλευκίνης 6	Κυτταρική λειτουργία
PCSK9	1	ήπαρ	Αδρανοποιεί τον υποδοχέα της LDL στο ήπαρ, κι έτσι δεν μπορεί να απομακρυνθεί απ το αίμα	Ένζυμο που συνδέεται με τον υποδοχέα της LDL	Μεταβολισμός λιπιδίων
SORT1	1	Μυελός, μύες, τ-κύτταρα, αιμοπετάλια	Διακίνηση πρωτεϊνών προς την μεμβράνη ή τα κυτταρικά διαμερίσματα	Πρωτεΐνη υποδοχέα	Κυτταρική λειτουργία
ABCG5/ABCG8	2	Ήπαρ	Πυρηνικός υποδοχέας στο μεταβολισμό των λιπιδίων	Κασέτα δέσμευσης του ATP, μέλος 5 και 8	Μεταβολισμός λιπιδίων
GIGYF2	2	Ήπαρ	Πυρηνικός υποδοχέας στο μεταβολισμό των λιπιδίων	Κασέτα δέσμευσης του ATP, μέλος 5 και 8	Μεταβολισμός λιπιδίων
KCNJ13/ GIGYF2	2	Μυελός, οφθαλμός, ιππόκαμπος, λεπτό έντερο, όρχεις	Υποδοχέας Καλίου/Ρύθμιση της σηματοδότησης του υποδοχέα της τυροσινικής κινάσης	Υποδοχέας καλίου/Πρωτεΐνη του τομέα GYF (γλυκίνη-τυροσίνη-φαινυλαλανίνη)	Βασικός μεταβολισμός
NOA1	4	Παντού	Αναπνευστική αλυσίδα και βιοσύνθεση μιτοχονδριακών πρωτεϊνών	Πυρηνική GTPάση που δρά στα μιτοχόνδρια	Ενεργειακός μεταβολισμός
SLC22A4/SLC22A5	5	Κόλον, εμβρυϊκό ήπαρ	Υποδοχείς στη μεμβράνη και στο πλάσμα, εξαφάνιση μικρών οργανικών κατιόντων όπως ναρκωτικά και τοξίνες	Υποδοχέας κατιόντων	ομοιόσταση
C2	6	Λιπώδης ιστός, εγκέφαλος, κόλον, ήπαρ, πλάσμα, λεπτό έντερο	Μονοπάτι συμπληρώματος	Συστατικό συμπληρώματος 2	Ανοσοποιητικό
PHACTR1	6	Μυελός	Αναδιοργάνωση κυτταροσκελετου ακτίνης και μεταβολισμός υδατανθρακών και όχι μόνο	Ρυθμιστής πρωτεϊνικής φωσφατάσης 1 και ακτίνης	Μεταβολισμός και κυτταρική λειτουργία
PRRT1	6	Μυελός, παρεγκεφαλίδα, δέρμα	Απόκριση σε ερεθίσματα στην κυτταρική μεμβράνη	Πλούσια σε προλίνη διαμεμβρανική πρωτεΐνη 1	Κυτταρική επικοινωνία

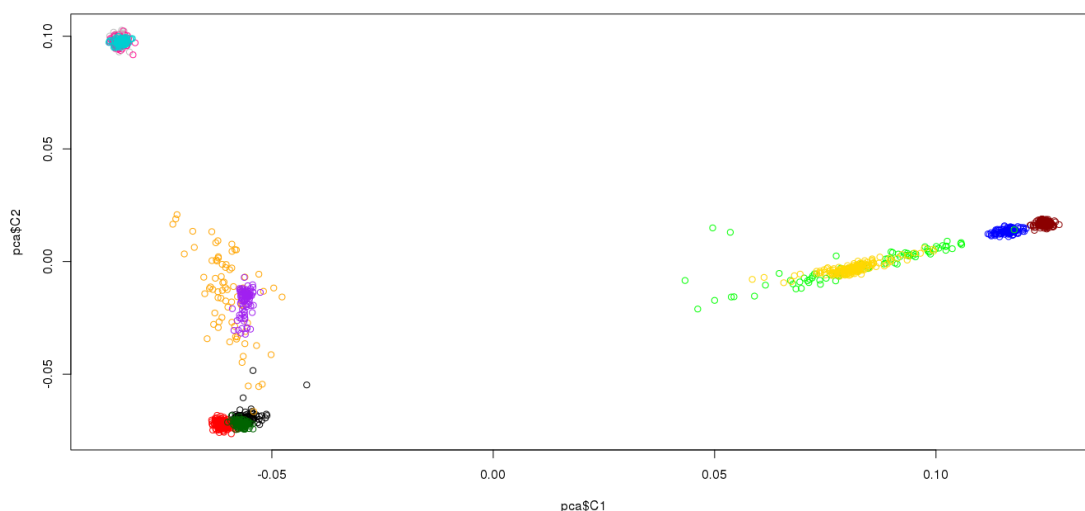
TCF21	6	Πάγκρεας, πλακούντας	Μεταγραφική καταστολή και πρωτεϊνικός διμερισμός	Μεταγραφικός παράγοντας 21	Γονιδιακή έκφραση
HDAC9	7	Μυελός, επιθήλιο, φακοί, ήπαρ, σπλήνας	Εξαρτώμενη από σήμα ρύθμιση της μυογένεσης	Αποακετυλάση 9 της ιστόνης	Δομή χρωμοσωμάτων
LPL	8	Λιπώδης ιστός, εγκέφαλος, γάλα, πλακούντας	Υδρολύει τα τριγλυκερίδια στις λιποπρωτεΐνες	Λιποπρωτεϊνική λιπάση	Μεταβολισμός λιπιδίων
ABO	9	Αίμα	Καθορισμός αντιγόνων που καθορίζουν τις ομάδες αίματος ABO	Τρανσφεράση A και B	Αιμοποιητικό σύστημα
CDKN2BAS	9		μεταγραφική καταστολή	Μη κωδικοποιησιμο RNA	Κυτταρική λειτουργία
SVEP1	9	Ενδοθήλιο στο κόλον, μαστικός αδένας πλακούντας	Δέσμευση ιόντων ασβεστίου, δέσμευση χρωματίνης κα	Πρωτεΐνη 1 της οικογένειας SVEP	Κυτταρική λειτουργία
CYP17A1/CNNM2/NT5C2	10	Μυελός, μεσολόβιο	Μονοοξυγενάσες που καταλύουν τη σύνθεση χοληστερόλης, στεροειδών ορμονών, λιπιδίων κα, εμπλέκονται στο μεταβολισμό των φαρμάκων κα / ομοιόσταση του μαγνησίου / μεταβολισμός πουρινών	Πολυπεπτίδιο του κυττοχρώματος P450/ μεταφορείς μαγνησίου/υδρολάση πουρινών	Βασικός μεταβολισμός
PDGFD	11	Αορτή, ίριδα, όρχεις	Παράγοντας ανάπτυξης για κυτταρική ανάπτυξη, διαφοροποίηση κα	Οικογένεια αναπτυξιακού παράγοντα των αιμοπεταλίων D	Κυτταρική λειτουργία
ZNF259/APOA5/APOA1	11	Μυελός, πάγκρεας, δέρμα / ήπαρ	Νευρωνική ανάπτυξη και διαφοροποίηση / Ρύθμιση του επιπέδου των τριγλυκεριδίων στο αίμα	Πρωτεΐνη που συνεργιστικά επιδρά στο προ-mRNA / Απολιποπρωτεΐνη	Μεταβολισμός λιπιδίων
11p15	11		Έλεγχος της ανάπτυξης		Έλεγχος της ανάπτυξης
LRP1	12	Αίμα, εγκέφαλος, ήπαρ, πνεύμονες, πλακούντας, πλάσμα, προστάτης, δέρμα	Υποδοχέας στην ενδοπλασματική μεμβράνη σχετιζόμενος με την ενδοκύττωση	Σχετιζόμενη με την LDL πρωτεΐνη 1	Μεταβολισμός λιπιδίων
SCARB1	12	Μυελός, ήπαρ, προστάτης κα	Ο υποδοχέας αναγνωρίζει τροποποιημένες LDL από ακετυλίωση ή οξειδωση	Πρωτεΐνη του υποδοχέα scavenger	Μεταβολισμός λιπιδίων
SMAD3	15	Μυελός, πάγκρεας, σπλήνας κα	μετατροπείς σήματος και μεταγραφικοί διαμορφωτές που μεσολαβούν πολλαπλές οδούς σηματοδότησης	Μέλος 3 της οικογένειας SMAD πρωτεϊνών	Κυτταρική λειτουργία
CETP	16	Ήπαρ, πάγκρεας, πλάσμα, σπλήνας	Μεταφέρει εστέρες CHOL μεταξύ λιποπρωτεϊνών	Πρωτεΐνη που μεταφέρει	Μεταβολισμός λιπιδίων

				εστέρες χοληστερόλης	
BCAS3	17	Μυελός των οστών, μυελός, κόλον, ήπαρ, τράχηλος	Παίζει ρόλο στην αγγειογένεση και στη μετανάστευση/πόλωση των κυττάρων	Ενισχυμένη ακολουθία του μαστικού καρκινώματος	Κυτταρική λειτουργία
gene_desert/KCNE2	21	Καρδιά, μύες	Τασεο-εξαρτώμενο κανάλι Καλίου, καρδιακός ρυθμός κα	Πρωτεΐνη του διαύλου Καλίου	Βασικός μεταβολισμός, καρδιακή λειτουργία κα

Πίνακας 2: επιδημιολογική σύγκριση με την έρευνα HELIOS

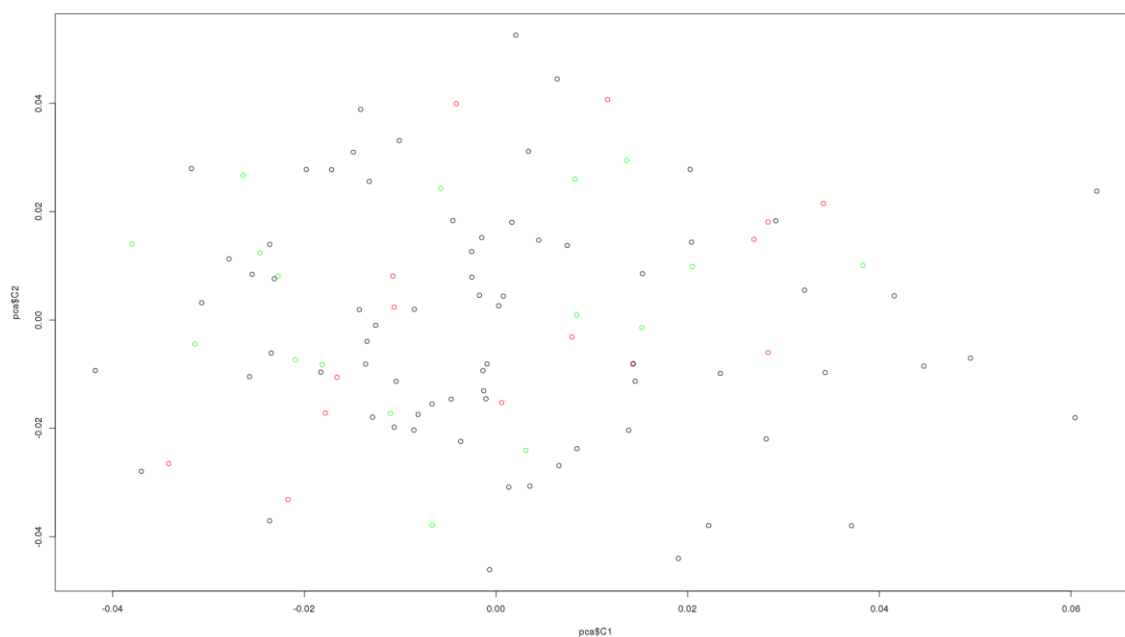
Χαρακτηριστικό	HLIOS	Αποτελέσματα	Σύγκριση
Ηλικία	68±13	60±9,5	↓↓
Καπνιστές ή πρώην καπνιστές	71%	77%	↑
Υπέρταση	59%	50%	↓
Υπερλιπιδαιμία	50%	43,5%	↓
ΣΔ 2	31%	32,2%	-
Οικογενειακό ιστορικό ΚΝ	22%	54%	↑↑
ΔΜΣ	27,4±4,2	27,9±4,3	-
Υπέρβαροι-παχύσαρκοι	73%	75,5%	-
Παχύσαρκοι	22%	26,5%	↑
Ανδρες	75%	82,2%	↑

Εικόνα 1



Εικόνα 1 Διάγραμμα πολυδιάστατης κλίμακας (multidimensional scaling, MDS) για τον εντοπισμό ατόμων μη Ευρωπαϊκής καταγωγής που συμμετέχουν στην παρούσα μελέτη (GRMIC). Κάθε κουκίδα αντιπροσωπεύει ένα διαφορετικό άτομο ενώ οι διαφορετικοί πληθυσμοί σημειώνονται με διαφορετικό χρώμα κουκίδας. Χρησιμοποιήθηκαν άτομα γνωστής γενετικής καταγωγής από το πρόγραμμα HapMap III (ASW (African ancestry in Southwest USA), CEU (Utah residents with Northern and Western European ancestry from the CEPH collection), CHB (Han Chinese in Beijing, China), CHD (Chinese in Metropolitan Denver, Colorado), GIH (Gujarati Indians in Houston, Texas), JPT (Japanese in Tokyo, Japan), LWK (Luhya Webuye, Kenya), MXL (Mexican ancestry in Los Angeles, California), MKK (Maasai in Kinyawa, Kenya), TSI (Toscani in Italia), YRI (Yoruba in Ibadan, Nigeria). Έπειτα από την ολοκλήρωση του ποιοτικού ελέγχου το δείγμα της μελέτης με διαθέσιμα γενετικά δεδομένα αποτελείται από 103 άτομα (87 άντρες, 16 γυναίκες).

Εικόνα 2



Εικόνα 2: διαστρωμάτωση των ασθενών της έρευνας .Εφαρμόζεται PCA (Principal component analysis) για τη βάση δεδομένων της GRMIC για να φανεί αν υπάρχει οποιαδήποτε απόδειξη για υποκατηγοριοποίηση/διαχωρισμό των λίγων περιπτώσεων επανελέγχου που έχουμε με αναφερόμενο 2^ο συμβάν, όπως και για τα δείγματα της 1^{ης} φάσης που έχουν αναφέρει ιατρικό ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου