



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

Σχολή Επιστημών Υγείας & Αγωγής
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής
Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
«Εφαρμοσμένη Διαιτολογία-Διατροφή»
Κατεύθυνση Κλινικής Διατροφής

**«Διερεύνηση της σχέσης της ειδικής δραστηριότητας της Lp-PLA₂ και του
μεταβολικού συνδρόμου σε ελληνικό πληθυσμό»**

Διπλωματική Εργασία

Ευσταθία Σ. Γιαννοπούλου

Γεωπόνος-Επιστήμης & Τεχνολογίας Τροφίμων



Αθήνα, 2018



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

Σχολή Επιστημών Υγείας & Αγωγής
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής
Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
«Εφαρμοσμένη Διαιτολογία-Διατροφή»
Κατεύθυνση Κλινικής Διατροφής

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Σμαραγδή Αντωνοπούλου (Επιβλέπουσα)

Καθηγήτρια Βιοχημείας με έμφαση στα λιποειδή, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής,
Σχολή Επιστημών Υγείας & Αγωγής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Ελισσάβετ Φραγκοπούλου

Επίκουρη καθηγήτρια Βιολογικής Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Επιστήμης
Διαιτολογίας-Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας & Αγωγής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Δημοσθένης Παναγιωτάκος

Καθηγητής Βιοστατιστική-Επιδημιολογίας της Διατροφής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-
Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας & Αγωγής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Η Ευσταθία Σ. Γιαννοπούλου δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1)** Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.

- 2)** Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Η Πρόοδος οικοδομή είναι μεγάλη – φέρει
καθείς τον λίθον του· ο εις λόγους, βουλάς, ο άλλος
πράξεις – καθημερινώς την κεφαλήν της αίρει
υψηλοτέραν. Θύελλα, αιφνιδιός τις σάλος

εάν επέλθῃ, σωρηδόν οι αγαθοί εργάται
ορμώσι και το φρούδον των υπερασπίζοντ' έργον.
Φρούδον, διότι καθενός ο βίος δαπανάται
υπέρ μελλούσης γενεάς, κακώσεις, πόνους στέργων,

ίνα η γενεά αυτή γνωρίσει ευτυχίας
άδολον, και μακράν ζωήν, και πλούτον και σοφίαν
χωρίς ιδρώτα ποταπόν ή δούλην εργασίαν.

Αλλ' η μυθώδης γενεά ουδέποτε θα ζήσῃ·
η τελειότης του αυτή το έργον θα κρημνίσῃ
κ' εκ νέου πας ο μάταιος κόπος αυτών θ' αρχίσῃ.

«Κτίσται» Κ.Π. Καβάφης
(Από τα Αποκηρυγμένα, Ίκαρος, 1983)

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Επιβλέπουσα της παρούσας εργασίας με θέμα «Διερεύνηση της σχέσης της ειδικής δραστηριότητας της Lp-PLA₂ και του μεταβολικού συνδρόμου σε ελληνικό πληθυσμό» είναι η κυρία Σμαραγδή Αντωνοπούλου, Καθηγήτρια Βιοχημείας στο Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής της Σχολής Επιστημών & Υγείας του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου Αθηνών. Την ευχαριστώ για την ανάθεση, την οργάνωση και την καθοδήγηση της εργασίας μου, τις διορθώσεις αλλά και την υποστήριξη και υπομονή της σε όλη τη διάρκεια της βιβλιογραφικής μου προσέγγισης έως και την ολοκλήρωσή της.

Ακόμη ευχαριστώ θερμά την κυρία Λίζα Φραγκοπούλου, Επίκουρη Καθηγήτρια Βιολογικής Χημείας Φυσικών Προϊόντων, για την οργάνωση, την βοήθειά της στο πειραματικό μέρος της εργασίας καθώς και για την καθοδήγηση και τις συμβουλές που μου προσέφερε για τη συγγραφή της παρούσας εργασίας. Στο σημείο αυτό, θα ήθελα να ευχαριστήσω και τον κύριο Τζώρτζη Νομικό, Επίκουρο Καθηγητή Βιοχημείας, για την παροχή εξηγήσεων και πληροφοριών κατά την έναρξη της πειραματικής πορείας της εργασίας.

Επιπρόσθετα, θέλω να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον κύριο Δημοσθένη Παναγιωτάκο, καθηγητή Βιοστατιστικής-Επιδημιολογίας της Διατροφής στο Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής της Σχολής Επιστημών & Υγείας του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου Αθηνών, για την επιλογή μου στο πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών «Εφαρμοσμένη Διαιτολογία - Διατροφή» και στην Κατεύθυνση της Κλινικής Διατροφής και για την αξιολόγηση της στατιστικής ανάλυσης των δεδομένων της μελέτης.

Δεν θα ήθελα να παραλείψω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στην Αγαθή Ντζουβάνη, Διδάκτωρ του Τμήματος Διαιτολογίας-Διατροφής, του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου Αθηνών, για τη βοήθειά της και την ουσιαστική συμμετοχή της στην πειραματική διαδικασία, τα δεδομένα και τη συμβολή της στην αξιολόγηση της παρούσας εργασίας, αλλά και για την προσωπική της συμπαράσταση. Νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω και τους συναδέλφους μου στο πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών για το χρόνο που περάσαμε, την εποικοδομητική συνεργασία και τη στήριξή τους.

Επιθυμώ να εκφράσω την αγάπη και ευγνωμοσύνη μου προς τους γονείς μου και να ευχηθώ ψυχική δύναμη στον πατέρα μου για τα θέματα υγείας που αντιμετωπίζει. Ευχαριστώ τον σύζυγό μου για την υπομονή του και για το ωραίο σχέδιό του στο εξώφυλλο της εργασίας.

Αφιερώνω την παρούσα εργασία στα παιδιά μου, με την ευχή να διατηρήσουν τη φλόγα τους για ζωή και πρόοδο, να αρπάξουν τη γνώση και να συμβάλλουν στην εξέλιξή της, από όποιον χώρο και αν επιλέξουν.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	11
ABSTRACT.....	13
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	15
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	17
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....	19
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	20
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	24
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Η Βιοχημική όψη της Lp-PLA ₂	24
1.1 Ορισμός και έκφραση	24
1.2 Ιδιότητες της Lp-PLA ₂	24
1.3 Εξειδίκευση υποστρώματος	25
1.4 Το παράδοξο της ευαισθησίας στην οξείδωση	26
1.5 Ρύθμιση έκκρισης	27
1.6 Ειδική ρύθμιση έκκρισης Lp-PLA ₂ στα διάφορα είδη	27
1.7 Επίδραση της Lp-PLA ₂ στις κατηγορίες των κυττάρων.....	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Η Επιδημιολογική όψη της Lp-PLA ₂	29
2.1 Η σχέση της Lp-PLA ₂ με τα καρδιαγγειακά.....	29
2.1.1 Αθηροσκλήρωση.....	34
2.1.2 Εμπλεκόμενος μηχανισμός αθηροσκλήρωσης	34

2.1.3 Σχηματισμός αθηρωματικής πλάκας	40
2.1.4 Οι προσπάθειες αναστολής της Lp-PLA ₂	43
2.2 Η σχέση της Lp-PLA ₂ με το μεταβολικό σύνδρομο	48
2.2.1 Ορισμός Διαβήτη, Προδιαβήτη, Μεταβολικού Συνδρόμου	50
2.2.2 Ταξινόμηση Διαβήτη	51
2.2.3 Διαγνωστικά Κριτήρια Διαβήτη και Προδιαβήτη	53
2.2.4 Διαγνωστικά Κριτήρια Μεταβολικού Συνδρόμου	54
2.2.5 Αξιολόγηση Μεταβολικού Συνδρόμου μέσω της Lp-PLA ₂	59
ΣΚΟΠΟΣ	68
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	69
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Πειραματική πορεία και Στατιστική ανάλυση	69
3.1 Σχεδιασμός	69
3.1.1 Συμμετέχοντες	69
3.1.2 Κριτήρια αποκλεισμού	70
3.1.3 Αξιολόγηση παραγόντων τρόπου ζωής	70
3.1.4 Κλινική αξιολόγηση	72
3.1.5 Αιμοληψία και συλλογή ορού πλάσματος	73
3.1.6 Βιοχημικές αναλύσεις	74
3.2 Μέτρηση συγκέντρωσης ινσουλίνης ορού	75
3.2.1 Αρχή μεθόδου μέτρησης	75

3.2.2 Όργανα – Αντιδραστήρια	75
3.2.3 Προετοιμασία διαλυμάτων	76
3.2.4 Πειραματική πορεία	77
3.2.5 Υπολογισμός	77
3.3 Προσδιορισμός δραστικότητας Lp-PLA ₂ (εξωκυτταρικής PAF-AH)	77
3.3.1 Αρχή μεθόδου μέτρησης	78
3.3.2 Όργανα – Αντιδραστήρια	80
3.3.3 Προετοιμασία διαλυμάτων	81
3.3.4 Πειραματική πορεία	82
3.3.5 Υπολογισμός	83
3.4 Εκτίμηση νεφρικής λειτουργίας και ινσουλινο-αντίστασης	85
3.5 Ορισμός μεταβολικού συνδρόμου (ΜΣ) κατά AHA/NHLBI	86
3.6 Στατιστική Ανάλυση	87
3.6.1 Περιγραφικά και διατροφικά χαρακτηριστικά στο σύνολο και βάσει παρουσίας ΜΣ ..	87
3.6.2 Έλεγχος κανονικής κατανομής.....	87
3.6.3 Περιγραφικά κι διατροφικά χαρακτηριστικά βάσει των τεταρτημορίων της δραστικότητας της Lp-PLA ₂	88
3.6.4 Διωνυμική λογαριθμική παλινδρόμηση με εξαρτημένη μεταβλητή το ΜΣ	88
3.6.5 Πολυωνυμική λογαριθμική παλινδρόμηση με εξαρτημένη μεταβλητή τα τεταρτημόρια της δραστικότητας της Lp-PLA ₂	90
3.7 Βιοηθική	91

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	92
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Διερεύνηση δραστικότητας της Lp-PLA ₂ σε σχέση με δείκτες φλεγμονής, διατροφικούς δείκτες και μεταβολικό σύνδρομο.....	92
4.1 Μεταβολικό Σύνδρομο: Περιγραφικά και διατροφικά χαρακτηριστικά.....	92
4.2 Δραστικότητα Lp-PLA ₂ , συνεχής μεταβλητή: Συσχετίσεις με ανθρωπομετρικούς, βιοχημικούς, κλινικούς και διατροφικούς δείκτες.....	97
4.3 Δραστικότητα Lp-PLA ₂ , κατηγορική μεταβλητή: Περιγραφικά και διατροφικά χαρακτηριστικά.....	99
4.4 Επίδραση διατροφικών παραγόντων, αντιπονεκτικής και δραστικότητας Lp-PLA ₂ στο ΜΣ	105
4.5 Επίδραση ενεργειακής πρόσληψης και αντιπονεκτικής στη δραστικότητα της Lp-PLA ₂ .	108
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	111
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Σχολιασμός - Περιορισμοί - Συμπεράσματα	111
5.1 Δραστικότητα της Lp-PLA ₂ και Μεταβολικό Σύνδρομο.....	111
5.2 Δραστικότητα της Lp-PLA ₂ και ανθρωπομετρικοί, βιοχημικοί, κλινικοί δείκτες	114
5.3 Δραστικότητα Lp-PLA ₂ και διατροφικοί δείκτες	117
5.4 Δραστικότητα Lp-PLA ₂ και φύλο, ηλικία, κάπνισμα	121
5.5 Επίδραση της ενεργειακής πρόσληψης στη δραστικότητα της Lp-PLA ₂	123
5.6 Επίδραση της αντιπονεκτικής στη δραστικότητα της Lp-PLA ₂	124
5.7 Περιορισμοί.....	125
5.8 Συμπεράσματα	126
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	128

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η λιποπρωτεϊνική φωσφολιπάση A2 (Lp-PLA₂) είναι μια ανεξάρτητη ασβεστίου φωσφολιπάση A2 η οποία μεταφέρεται στο πλάσμα συνδεδεμένη με τις λιποπρωτεΐνες, κυρίως με τις χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL). Σε μικρό ποσοστό συνδέεται με τις υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (HDL), τη λιποπρωτεΐνη-α και τις πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL). Αρχικά η Lp-PLA₂ θεωρήθηκε ότι είναι ένα αντιφλεγμονώδες και αντιαθηρογόνο ένζυμο, εξαιτίας της πρώτης ενζυμικής της δράσης που ήταν η υδρόλυση και απενεργοποίηση του προαθηρογόνου και προφλεγμονώδους παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF), προς Lyso-PAF και οξικό (γνωστή ως PAF-ακετυλοϋδρολάση). Αργότερα, σε πολλές κλινικές μελέτες και μετα-αναλύσεις διαπιστώθηκε ότι η αύξηση των επιπέδων του ενζύμου στο πλάσμα σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων, ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες κινδύνου, εξαιτίας της συμμετοχής της στα διάφορα στάδια ανάπτυξης της αθηρωματικής πλάκας.

Σκοπός: Δεδομένου ότι τα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου, σκοπό της μελέτης ήταν α) να μελετήσουμε τη δραστικότητα της Lp-PLA₂ σε σχέση με το μεταβολικό σύνδρομο, β) να διερευνήσουμε τη σχέση της δραστικότητας της Lp-PLA₂ με δείκτες φλεγμονής (αντιπονεκτίνη) και διατροφικούς δείκτες.

Μεθοδολογία: Η συγχρονική μελέτη πραγματοποιήθηκε το 2011-2012 στην Αθήνα και στην ευρύτερη περιοχή του νομού Αττικής. Συμμετείχαν 159 άνδρες και 125 γυναίκες, ηλικίας άνω των 30 ετών, από το γενικό πληθυσμό. Ορίστηκε το ΜΣ βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI και μετρήθηκε η δραστικότητα της Lp-PLA₂, στον ορό, με τη μέθοδο ανοσολογικού προσδιορισμού ELISA.

Αποτελέσματα: Αξιολογήθηκαν περιγραφικά και διατροφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, κλινικές και βιοχημικές παράμετροι και πραγματοποιήθηκε πολλαπλή πολυωνυμική παλινδρόμηση για τον έλεγχο των συσχετίσεων. Η δραστικότητα της Lp-PLA₂ συσχετίζεται αρνητικά και ανεξάρτητα με την αντιπονεκτίνη, σε τιμές Lp-PLA₂

>27nmol/min/mL. Παρατηρήθηκε επίσης ότι το κάπνισμα και η αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη συνδέονται με αυξημένη δραστικότητα Lp-PLA₂, για τιμές >22 nmol/min/mL). Συγκεκριμένα το κάπνισμα αυξάνει την πιθανότητα αυξημένης δραστικότητας της Lp-PLA₂ (>27 nmol/min/mL) κατά 2,773 φορές έναντι της πιθανότητας μειωμένης δραστικότητας της Lp-PLA₂. Αντίστοιχα, η αύξηση της ενεργειακής πρόσληψης κατά 100 kcal/ημέρα αυξάνει την πιθανότητα αυξημένης δραστικότητας της Lp-PLA₂, κατά 1,094 φορές έναντι της πιθανότητας μειωμένης δραστικότητας της Lp-PLA₂ (<15 nmol/min/mL). Επίσης, η Lp-PLA₂ δεν συνδέθηκε άμεσα με το ΜΣ, ωστόσο φάνηκε μια τάση συσχέτισης της με τις συνιστώσες του ΜΣ.

Συμπεράσματα: Η δραστικότητα της Lp-PLA₂ είτε ως συνεχής είτε ως κατηγορική μεταβλητή, δεν επιδρά σημαντικά στην παρουσία ΜΣ (AHA/NHLBI), συνδέεται όμως με τις συνιστώσες του ΜΣ. Η LDL-χοληστερόλη συνδέεται με αυξημένη δραστικότητα της Lp-PLA₂. Η αντιπονεκτίνη παρουσιάζει μια αντίστροφη σχέση με την δραστικότητα της Lp-PLA₂. Το κάπνισμα και η αύξηση της ενεργειακής πρόσληψης συνδέονται με αυξημένη δραστικότητα του ενζύμου. Η δραστικότητα της Lp-PLA₂ είναι υψηλότερη στους άνδρες, συγκριτικά με τις γυναίκες με ΜΣ.

Λέξεις κλειδιά: λιποπρωτεϊνική φωσφολιπάση A2 (Lp-PLA₂), μεταβολικό σύνδρομο

ABSTRACT

Introduction: Lipoprotein phospholipase A2 (Lp-PLA₂) is a calcium-independent phospholipase A2 which is transported to plasma, associated with lipoproteins, mainly low-density lipoproteins (LDL). In a small percentage it is associated with high density lipoproteins (HDL), lipoprotein- α and very low density lipoproteins (VLDL). Lp-PLA₂ was initially considered to be an anti-inflammatory and antiatherogenic enzyme due to its first enzyme activity, which was the hydrolysis and inactivation of the platelet activating and proinflammatory factor (PAF), to Lyso-PAF and acetate (known as PAF-acetylhydrolase) . Later, in many clinical studies and meta-analyzes, it was found that elevated plasma enzyme levels are associated with an increased risk of developing cardiovascular disease regardless of other risk factors due to its participation in the various stages of atherosclerotic plaque development.

Aims: Since individuals with metabolic syndrome are at increased risk of developing cardiovascular disease, the aim of the present thesis was a) to study the activity of Lp-PLA₂ in relation to the metabolic syndrome; b) to investigate the relationship of Lp-PLA₂ activity to inflammatory markers (antipodectin) and dietary indices.

Methodology: The cross-study was carried out during 2011-2012 in Athens and the wider area of the Attica province. 159 men and 125 women, aged over 30, were recruited from the general population. Definition of MetS was based on the AHA / NHLBI criteria and serum Lp-PLA₂ activity was measured by the ELISA immunoassay method.

Results: We evaluated the descriptive and nutritional characteristics of the participants, the clinical and biochemical parameters and we performed a multiple regression to test for correlations. The activity of Lp-PLA₂ correlates negatively and independently with the antiponectin, at Lp-PLA₂ values >27nmol/min/mL. It was also noticed that both smoking and increased energy intake are associated with increased Lp-PLA₂ activity, for values >22nmol/min/mL. In particular, smoking increases the possibility of increased activity of Lp-PLA₂ (>27nmol/min/mL) by 2,773 times against the possibility of reduced activity of Lp-PLA₂. Correspondingly, an increase in energy intake of 100 kcal/day increases the possibility of

increased Lp-PLA2 activity (<15nmol/min/mL). Although, Lp-PLA2 activity was not directly linked to the MetS, however it tended to be related to the components of the MetS.

Conclusions: The activity of Lp-PLA2, either as a continuous or as a categorical variable, does not significantly affect the presence of MetS (AHA/NHLB), but it is associated with its components. LDL-cholesterol is associated with increased activity of Lp-PLA₂. The adiponectin seems to have an inverse correlation with the activity of Lp-PLA2. Smoking and increased energy intake are associated with increased enzyme activity. The activity of Lp-PLA2 was found higher in males with MetS than in women.

Keywords: lipoprotein phospholipase A2 (Lp-PLA₂), metabolic syndrome

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Βιοσύνθεση του PAF και Lyso-PAF μέσω της πορείας αναδιαμόρφωσης, enzymatic remodeling pathway	26
Εικόνα 2. Διαφορές μεταξύ εκκριτικής PLA ₂ και Lp-PLA ₂	28
Εικόνα 3. Αναλογίες κινδυνού (RR) για στεφανιαία καρδιακή νόσο, ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, αγγειακή και μη αγγειακή θνησιμότητα για τυπική απόκλιση 1 SD υψηλότερη δραστηριότητα Lp-PLA ₂ ή μάζα κατά την έναρξη, μετά από προσαρμογή για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες κινδύνου	31
Εικόνα 4. Παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και δραστηριότητα της Lp-PLA ₂	33
Εικόνα 5. Η χημική δομή του μορίου 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine	35
Εικόνα 6. De novo πορεία για τη σύνθεση του PAF	36
Εικόνα 7. Πορεία ανασχηματισμού (remodeling) για τη σύνθεση του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF).....	37
Εικόνα 8. Η εμπλοκή της Lp-PLA ₂ στην αθηρογένεση	38
Εικόνα 9. Ο ρόλος της Lp-PLA ₂ στον καταβολισμό του PAF και την παραγωγή φωσφολιπιδίων .	38
Εικόνα 10. Σχηματική παράσταση του προτεινόμενου προ-αθηρογόνου μηχανισμού της Lp-PLA ₂ στο τοίχωμα του αγγείου	39
Εικόνα 11. Παθοφυσιολογία της αθηροσκλήρωσης	40
Εικόνα 12. Τα προτεινόμενα αποτελέσματα της Lp-PLA ₂ στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης ..	41
Εικόνα 13. Απεικόνιση ενός πτερυγίου της αορτικής βαλβίδας.....	45
Εικόνα 14. Υψηλή ακαμψία στη δομή της Lp-PLA ₂	46

Εικόνα 15. Η δημιουργία θραυσμάτων για την αναστολή αυξημένων επιπέδων της Lp-PLA ₂ ...	47
Εικόνα 16. Η ανάλυση Kruskal-Wallis των αναλογιών sdLDL (A και C) και του μεγέθους σωματιδίων LDL (B και D) μεταξύ των συμμετεχόντων σε ομάδες ανάλογα με τις συγκεντρώσεις των τριγλυκεριδίων στον ορό και τη συνολική δραστικότητα της Lp-PLA ₂ πλάσματος (A και C) ή της non-HDL-Lp-PLA ₂ (B και D).....	57
Εικόνα 17. Αρχή μεθόδου για τον προσδιορισμό της δραστικότητας της Lp-PLA ₂	78
Εικόνα 18. Σχηματική απεικόνιση φασματοφωτόμετρου ορατού και υπεριώδους (UV-VIS).....	79
Εικόνα 19. Απεικόνιση της τοποθέτησης των διαλυμάτων (Buffer, DTNB και ορού) σε ELISA plate, με πολυκάναλη πιπέτα	83

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Επιδημιολογικές μελέτες για την αξιολόγηση των σχέσεων της Lp-PLA ₂ και των πρωτογενών και δευτερογενών αποτελεσμάτων για καρδιαγγειακά νοσήματα.....	30
Πίνακας 2. Συσχετίσεις μεταξύ LysoPC 16:0, 18:0, 18:1, LPA, Lp-PLA ₂ της πλάκας και κυτοκινών της πλάκας	42
Πίνακας 3. Συσχετίσεις μεταξύ LysoPC 16:0, 18:0, 18:1, Lp-PLA ₂ , και ιστολογίας της πλάκας ...	43
Πίνακας 4. Αιτιολογική ταξινόμηση σακχαρώδους διαβήτη	52
Πίνακας 5. Κριτήρια για τη διάγνωση του διαβήτη (ADA, 2016).....	53
Πίνακας 6. Κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου σε ενήλικες	55
Πίνακας 7. Εναρμονισμένος ορισμός μεταβολικού συνδρόμου	56
Πίνακας 8. Μέση συγκέντρωση των ox-LDL και ICAM-1 σε υπο-ομάδες της μελέτης <i>ARIC</i>	60
Πίνακας 9. Συσχέτιση των ox-LDL και ICAM-1 με κριτήρια του μεταβολικού συνδρόμου και φλεγμονώδεις δείκτες στην προοπτική μελέτη <i>ARIC</i>	62
Πίνακα 10. Χαρακτηριστικά Μεσογειακής Διατροφής	67
Πίνακα 11. Ποσότητες διαλυμάτων	82
Πίνακας 12. Εξισώσεις υπολογισμού του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (eGFR), CKD-EPI ..	86
Πίνακας 13. Περιγραφικά χαρακτηριστικά συμμετεχόντων 10-ετούς επανελέγχου μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, στο σύνολο και βάσει παρουσίας ΜΣ.....	93
Πίνακας 14. Διατροφικά χαρακτηριστικά συμμετεχόντων 10-ετούς επανελέγχου μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, στο σύνολο και βάσει παρουσίας ΜΣ	95

Πίνακας 15. Σημαντικές συσχετίσεις δραστικότητας Lp-PLA ₂ με ανθρωπομετρικούς, βιοχημικούς και διατροφικούς δείκτες	98
Πίνακας 16. Περιγραφικά χαρακτηριστικά συμμετεχόντων 10-ετούς επανελέγχου μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, βάσει των τεταρτημορίων της δραστικότητας της Lp-PLA ₂	100
Πίνακας 17. Διατροφικά χαρακτηριστικά συμμετεχόντων 10-ετούς επανελέγχου μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, βάσει των τεταρτημορίων της δραστικότητας της Lp-PLA ₂	103
Πίνακας 18. Επίδραση διατροφικών παραγόντων, αντιπονεκτίνης και δραστικότητας της Lp-PLA ₂ στο ΜΣ (ΑΗΑ/ΝΗΛΒΙ) με συγχυτικές μεταβλητές την ηλικία και το φύλο	107
Πίνακας 19. Επίδραση αντιπονεκτίνης και ενεργειακής πρόσληψης στη δραστικότητα της Lp-PLA ₂ με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο, το κάπνισμα και την LDL-χοληστερόλη.....	110

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1. Διάγραμμα ροής. Αριθμός συμμετεχόντων στην αρχική και τελική αξιολόγηση **69**

Σχήμα 2. Γραφική παράσταση της απορρόφησης (OD) του DTNB σε μήκος κύματος 340 nm (A_{405}) συναρτήσει του χρόνου (t,min), $t = f(A_{405})$ συναρτήσει του χρόνου (t, min), $t = f(A_{405})$... **84**

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

Αγγλικοί όροι

A1C / HbA1c	Hemoglobin A1c; Glycohemoglobin; Glycated hemoglobin
AACE	American Association of Clinical Endocrinologists
AG-PUFA	Acylglycerol n-3 PUFA
AHA	American Heart Association
AIR Study	Atherosclerosis and Insulin Resistance Study
apo-A1	Apolipoprotein A1
apo-B-100	Apolipoprotein B-100
ARIC Study	Atherosclerosis Risk in Communities Study
BMI	Body Mass Index (ή Quetelet index)
BP	Blood Pressure
CAD	Coronary Artery Disease
CD68	Cluster of Differentiation
CDA	Canadian Diabetes Association
CHD	Coronary Heart Disease
CC	<i>Chrysanthemum coronarium</i> (κοιν. μαντηλίδα)
CRP	C-reactive protein
CVDs	Cardiovascular Disease
CCa	<i>Cynara cardunculus</i> (κοιν. αγριαγκινάρα)
DBP	Diastolic Blood Pressure
DHA	Docosahexaenoic acid
DCs	Dendritic cells
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
DTNB	
EE-PUFA	Ethyl esters n-3 PUFA
eGFR	estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR, CKD-EPI)
EGIR	European Group for Study of Insulin Resistance
ELISA	Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay
EPA	Eicosapentaenoic acid
EPIC-Norfolk	European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition
FDA	Food and Drug Administration
FPG	Fasting Plasma Glucose

γ -GT	Serum gamma-glutamyltransferase
GDM	Gestational Diabetes Mellitus
GRAN	Polymorphonuclear leukocytes
HC	Hematocrit
HDL	High Density Lipoprotein
HDL-C	HDL-cholesterol
HGB	Hemoglobin
HOMA-IR	Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance
<i>HPFS</i>	Health Professionals Follow-Up Study
HR	Hazard Ratio
hs-CRP	High-sensitive C-reactive protein
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
IDF	International Federation
IFG	Impaired Fasting Glycemia
IFN- α , γ	Interferon alpha, gamma
IGT	Impaired Glucose Tolerance
IL-1, 1 α , 1 β , 4, 6, 8, 10, 12	Interleukin 1, 1 α , 1 β , 4, 6, 8, 10, 12
LDL	Low Density Lipoprotein
LDL-C	LDL-cholesterol
LDL-P	LDL-Particle
Lp(a)	Lipoprotein-a
LPA	Lysophosphatidic acid
Lp-PLA ₂	Lipoprotein-associated phospholipase A2
LPS	Lipopolysaccharides
LTA	Lipoteichoic Acid
LYMPH	Lymphocytes
Lyso-PAF-AT	acetylCoA:lyso-PAF acetyltransferase
Lyso-PC	Lysophosphatidylcholine
MACE	Major adverse cardiac events
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1
MD	Mediterranean Diet
MetS	Metabolic Syndrome
MIP-1 β	Macrophage Inflammatory Protein
MM6	Monocyte Macrophage-6
MODY	Maturity-Onset Diabetes of the Young

mRNA	messenger RNA
n-3 PUFA	Omega-3 PUFA
NCEP-ATP III	National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
NDY	Neonatal Diabetes
NEFA	Non-Esterified Fatty Acids
NFkB	Nuclear Factor kappaB
NFL	National Football League
NGSP	National Glycohemoglobin Standardization Program
NHLBI	National Heart Lung and Blood Institute
<i>NHS</i>	Nurse' Health Study
NKT	Natural killer T- cells
NO	Nitric oxide
<i>NPHS-II</i>	Northwick Park Heart Study II
OGTT	Oral Glucose Tolerance Test
ORM	orosomucoid / a1AGp: alpha-a-acid glycoprotein
OR	Odds Ratio
Ox-LDL	Oxidized low-density lipoprotein
Ox-PAPC	1-palmitoyl-2-arachidonoylsn-glycero-3-phosphorylcholine
OxPL	Oxidized Phospholipids
<i>p</i>	p value
P38 MAPK	p38 Mitogen-Activated Protein Kinases
PAF	Platelet-activating factor
PAF	l-0-alkyl-2-acetyl-sn-glyceryl-3-phosphorylcholine
PAF-AH	Platelet-activating factor acetylhydrolase
PAF-CPT	CDP-choline:1-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol cholinephosphotransferase;
PAMPS	Pathogen Associated Molecular Patterns
PG	Plasma Glucose
PLA2G7	phospholipase A2 group VII (human)
PLT	Platelets
<i>PREDIMED</i>	Prevention with Mediterranean Diet
PUFA	Polyunsaturated fatty acid
Q1, 2, 3, 4	Quartiles
RANTES	Regulated on activation normal T-cell
RBC	Red blood cells
RES	Resveratrol

ROS	Reactive Oxygen Species
RP	<i>Reichardia Picroides</i> (κοιν. γαλατσίδα)
RR	Risk Ratios
SBP	Systolic Blood Pressure
SD	Standard Deviation
SDG	Secoisolariciresinoldi glucoside
sdLDL	small dense LDL
SGOT	Serum glutamic oxaloacetic transaminase
SGPT	Serum glutamic pyruvic transaminase
sICAM-1	soluble intercellular adhesion molecule-1
STABILITY	Stabilization of Atherosclerotic Plaque by Initiation of Darapladib Therapy
TAG	Triacylglycerol
TG	Triglycerides, τριγλυκερίδια
TGF-B	Transforming growth factor Beta
TGL	C-reactive protein
TLR	Toll Like Receptor
TNB	5-thio-2-nitrobenzoic acid
TNF-a	Tumor Necrosis Factor-alpha
UV	<i>Urospermum picroides</i> (κοιν. αγριοζοχός)
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule 1
VLDL	Very-Low-Density Lipoprotein
WBC	Leukocytes
WC	Waist Circumference
WHO	World Health Organization
WHR	Waist-to-Hip Ratio

Ελληνικοί όροι

ΑΠ	Αρτηριακή πίεση
ΔΜΣ	Δείκτης μάζας σώματος
ΚΑΑΝ	Καρδιαγγειακά νοσήματα
ΚΝ	Καρδιακή νόσος
ΛΜΚ	Λεία μυϊκά κύτταρα
ΜΣ	Μεταβολικό Σύνδρομο
ΠΟΥ	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
ΣΔΤ2	Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2
ΣΝ	Στεφανιαία νόσος

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Η Βιοχημική όψη της Lp-PLA₂

1.1 Ορισμός και έκφραση

Η λιποπρωτεϊνική φωσφολιπάση A₂ (Lp-PLA₂) ανήκει στην εκτεταμένη υπεροικογένεια των δομικά διαφοροποιημένων ενζύμων της φωσφολιπάσης A₂ (PLA₂), η οποία αποτελείται από 11 ομάδες (I-XI) PLA₂'s, βάσει τεσσάρων κριτηρίων ταξινόμησης, όπως έχει περιγραφεί εμπειριστατωμένα (Six & Dennis, 2000). Ουσιαστικά πρόκειται για την PAF-ακετυλοϋδρολάση (PAF-AH) πλάσματος που αρχικά ανακαλύφθηκε *in vitro*, καθώς αποικοδομεί το φλεγμονώδη μεσολαβητή, παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων, PAF. Στην κυκλοφορία, το ένζυμο συνδέεται με υψηλής και χαμηλής πυκνότητας σωματίδια λιποπρωτεΐνης (HDL και LDL, αντίστοιχα). Στο ανθρώπινο πλάσμα έχει παρατηρηθεί ότι το 70-80% της συνολικής δραστηριότητας του ενζύμου συνδέεται με μικρές πυκνές λιποπρωτεΐνες (LDL) και το 20-30% με τη λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (HDL) (Stafforini et al., 1987, McCall et al., 1999).

Στο πλάσμα ατόμων με φυσιολογικά επίπεδα λιπιδαιμικών δεικτών, κύριοι φορείς της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ είναι ειδικές υποκατηγορίες των σωματιδίων λιποπρωτεΐνης HDL και LDL (Tselepis et al., 1995, Benítez et al., 2003). Η PAF-AH ή Lp-PLA₂ τείνει να συνδέεται με το πυκνότερο και πιο ηλεκτροαρνητικό κλάσμα LDL (Sanchez-Quesada, et al., 2005, Bancells et al., 2008), ενώ μικρή ποσότητα φαίνεται να συνδέεται και με πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL) (Stafforini et al., 1992, Tellis et al. 2013, Cao et al., 1998). Μπορεί να βρεθεί και στη λιποπρωτεΐνη ενδιάμεσης πυκνότητας (IDL) καθώς και στη λιποπρωτεΐνη Lp(a) (Cao et al., 1998).

1.2 Ιδιότητες της Lp-PLA₂

Πολλοί υποτύποι λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων ίσως στερούνται του ενζύμου (Stafforini et al., 1992, Tellis et al. 2013), καθώς πρόκειται για μια υδρόφοβη πρωτεΐνη

χαμηλής αφθονίας (45 kDa) με 441 αμινοξέα. Διακρίνεται από τα άλλα μέλη της οικογένειας της φωσφολιπάσης A₂, στο ότι δεν εξαρτάται από το ασβέστιο, δηλαδή δεν απαιτεί Ca²⁺ για τη δράση της, όπως συμβαίνει με τις περισσότερες φωσφολιπάσες (Tjoelker et al., 1995).

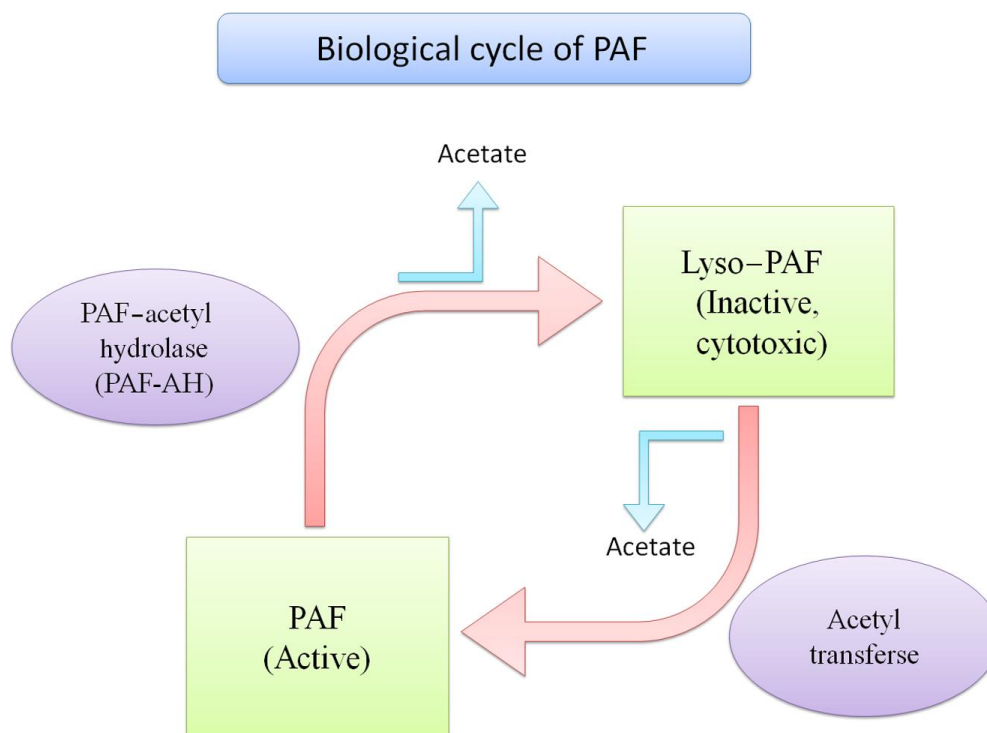
Συντίθενται και εκκρίνεται από τα μακροφάγα σε μεγάλες ποσότητες (Elstad et al. 1989, Stafforini et al., 1990). Συγκεκριμένα οι ιστοί που φιλοξενούν μεγάλους αριθμούς μακροφάγων (θύμος αδένας, αμυγδαλές, πλακούντας και πνεύμονας) (Stafforini et al., 1997, Cao et al., 1998, Howard et al., 2009) εκφράζουν το *PAFAH*mRNA, ενώ μια σειρά ακόμη ιστών όπως η ανθρώπινη αορτή (Tsoukatos et al., 2008), το ήπαρ (Sato et al., 1994, Tarbet et al., 1991), τα εντερικά κύτταρα (Riehl et al., 1995), ο μαστός (Lee et al., 2005) και οι αδένες του προστάτη (Massoner et al., 2013) φαίνεται να εκφράζουν την Lp-PLA₂. Η βασική της έκφραση συχνά αυξάνεται μετά από διέγερση με φλεγμονώδεις ανταγωνιστές (Howard & Olson, 2000).

1.3 Εξειδίκευση υποστρώματος

Το βασικό χαρακτηριστικό γνώρισμα που αναγνωρίζεται από την Lp-PLA₂ στα φωσφολιπίδια είναι το μήκος και το είδος της ακυλομάδας. Υδρολύει ακυλομάδες μικρής αλύσου στην sn-2 θέση του σκελετού της γλυκερίνης, προς σχηματισμό λυσο-PAF και οξικού (Stremmler et al., 1989, Kriska et al., 2007). Τα φωσφολιπίδια μακράς αλύσου, αντίθετα, φαίνεται ότι μεταβολίζονται αργά (Stafforini et al., 2006, Kriska et al., 2007). Επιπλέον, υπάρχουν αναφορές ότι το ένζυμο αυτό μπορεί να απομακρύνει ακετυλομάδες και από ομάδες σακχάρων (Avramopoulou & Antonopoulou, 1997).

Κοινό χαρακτηριστικό γνώρισμα των προϊόντων που προκύπτουν από τη δράση της Lp-PLA₂ επί των υποστρωμάτων που μεταβολίζει η Lp-PLA₂ φαίνεται να είναι η αλλαγή της μοριακής δομής τους προς αύξηση πολικότητας/υδροφιλικότητας, γεγονός που φαίνεται να επηρεάζει την ρευστότητα και ακεραιότητα των κυτταρικών μεμβρανών.

Το καταβολικό ένζυμο του PAF, η ακετυλοϋδρολάση PAF-AH ή Lp-PLA₂ είναι το ένζυμο που διασπά την ακυλομάδα στη θέση sn-2 με αποτέλεσμα το σχηματισμό του βιολογικά αδρανούς λυσο-PAF (Εικόνα 1) και την εν τέλει απομάκρυνση του PAF (Nomikos, Fragopoulou & Antonopoulou, 2007).



Εικόνα 1. Βιοσύνθεση του PAF και Lyso-PAF μέσω της πορείας αναδιαμόρφωσης, enzymatic remodeling pathway (Nomikos, Fragopoulou & Antonopoulou, 2007).

1.4 Το παράδοξο της ευαισθησίας στην οξείδωση

Η ενζυμική δραστηριότητα της Lp-PLA₂ φαίνεται να αναστέλλεται, παραδόξως, από το οξειδωμένο περιβάλλον που δημιουργείται σε συνθήκες οξειδωτικού στρες, όταν αυτή υδρολύει τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια (Ambrosio et al., 1994, Sharma et al., 2011), ενώ από μελέτες φαίνεται ότι επηρεάζεται και η σχέση της με την LDL (MacRitchie et al., 2007).

Αρκετές μελέτες υποστηρίζουν ότι τα κύτταρα και οι ιστοί αναπτύσσουν στρατηγικές άμυνας, ανταποκρινόμενοι στα σήματα οξειδωτικού στρες, μέσω της ενεργοποίησης αντιφλεγμονωδών διεργασιών από τα προϊόντα οξείδωσης. Τέτοιες στρατηγικές είναι η επαγωγή σηματοδοτικών μονοπατιών που οδηγούν στη ρύθμιση αντιφλεγμονωδών γονιδίων, η αναστολή συζευγμένων σηματοδοτικών μονοπατιών, μέσω της έκφρασης προφλεγμονωδών γονιδίων καθώς και η πρόληψη αλληλεπίδρασης προφλεγμονωδών βακτηριακών προϊόντων με κύτταρα του ξενιστή (Bochkov & Leitinger, 2003, Bochkov et al., 2016).

1.5 Ρύθμιση έκκρισης

Η έκκριση της Lp-PLA₂ ρυθμίζεται από αρκετά εξωγενή ερεθίσματα όπως είναι τα διάφορα είδη υποστρωμάτων, κάποιοι αντί- ή φλεγμονώδεις παράγοντες, οι κυτταροκίνες και οι στεροειδείς ορμόνες (Cao et al., 1998). Κάποιες μελέτες έχουν δείξει ότι προφλεγμονώδεις μεσολαβητές όπως IL-1α, IL-1β και TNF-α μειώνουν την έκκριση της Lp-PLA₂ στα μακροφάγα του φθαρτού ιστού (ιστός μεμβράνης που περικλύει το έμβρυο, προσαρτημένη στο όριο του πλακούντα) (Narahara, Frenkel & Johnston, 1993), ή παρουσιάζεται εξασθενημένη έκκριση της Lp-PLA₂ μετά από διέγερση με IFN-γ, IFN-α, IL-1, IL-4, IL-6, TNF-α, GM-CSF, M-CSF (Cao et al., 1998). Αντίθετες μελέτες έδειξαν ότι προ-φλεγμονώδη ερεθίσματα όπως IL-1, G-CSF και TNF-α αυξάνουν τη σύνθεση και έκκριση της λειτουργικής Lp-PLA₂ στα μονοκύτταρα (Wu et al., 2004, Shi et al., 2007). Φαίνεται δηλαδή ότι ο βαθμός κυτταρικής διαφοροποίησης επηρεάζει και την βασική έκφραση της Lp-PLA₂.

1.6 Ειδική ρύθμιση έκκρισης Lp-PLA₂ στα διάφορα είδη

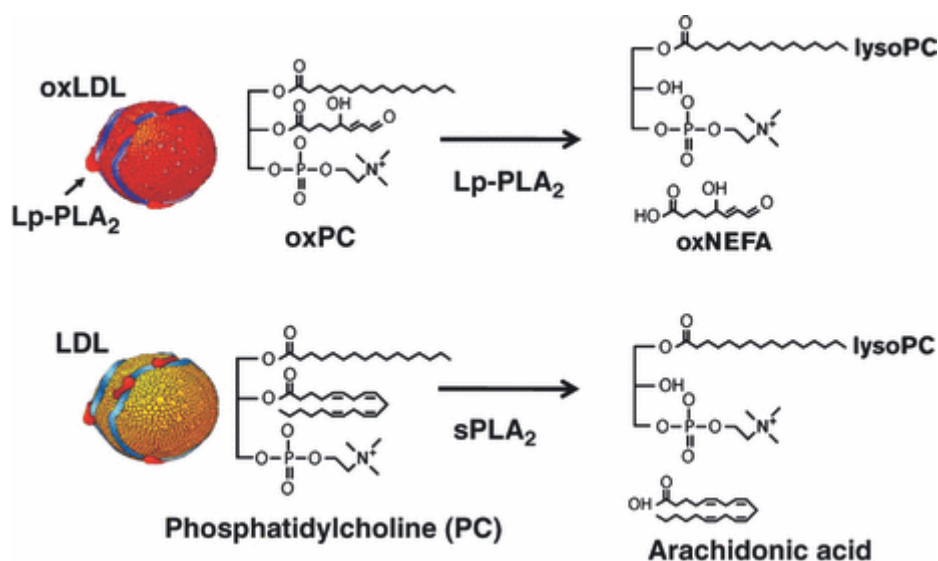
Το επίπεδο έκφρασης της Lp-PLA₂ πλάσματος διαφέρει ανάμεσα στα διάφορα είδη θηλαστικών. Έχει παρατηρηθεί ότι η βασική δραστηριότητα είναι σημαντικά χαμηλότερη, σχεδόν υποδεκαπλάσια, στο ανθρώπινο πλάσμα συγκριτικά με τα ποντίκια (Gardner et al., 2008). Οι βιολογικές επιπτώσεις που σχετίζονται με τις μεγάλες διακυμάνσεις στα επίπεδα της Lp-PLA₂ στο πλάσμα, μένουν να διευκρινιστούν, ωστόσο είναι γνωστό ότι στον άνθρωπο η Lp-PLA₂ σχετίζεται κυρίως με LDL σωματίδια, ενώ στα τρωκτικά σχετίζεται με HDL σωματίδια.

1.7 Επίδραση της Lp-PLA₂ στις κατηγορίες των κυττάρων

Στην κατηγορία PAF-AH, συναντώνται τρεις ισομορφές του ενζύμου, δυο ενδοκυτταρικές και μια εξωκυτταρική. Ουσιαστικά η Lp-PLA₂ ή PAF-AH πλάσματος αναφέρεται στην εξωκυτταρική μορφή.

Το γονίδιο της Lp-PLA₂ (PLA2G7) σχηματίζεται από 12 εξώνια που βρίσκονται στο χρωμόσωμα 6p21.2 έως 6p21.12. Τρία αμινοξέα, τα Y205 (Tyr, Tyrosin, τυροσίνη), W115 (Trp, Tryptophan, τρυπτοφάνη) και L116 (Leu, Leucine, λευκίνη), αναγνωρίστηκαν ως βασικοί παράγοντες διευκόλυνσης της δέσμευσης Lp-PLA₂ στην LDL. Ενώ έχουν ταυτοποιηθεί αρκετές γενετικές παραλλαγές του PLA2G7 και έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν τη δράση Lp-PLA₂, η κλινική σημασία αυτών των γενετικών πολυμορφισμών δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί.

Η Lp-PLA₂ δεν δρα επί της μη τροποποιημένης LDL εντός της κυκλοφορίας (Εικόνα 2). Ωστόσο, μόλις τροποποιηθεί η LDL, η δράση της Lp-PLA₂ στα τροποποιημένα φωσφολιπίδια δημιουργεί τους δύο φλεγμονώδεις μεσολαβητές. Αντίθετα από την εκκριτική sPLA₂ που εντοπίζεται σε πολυάριθμους τύπους ιστών, η Lp-PLA₂ έχει αγγειακή εξειδίκευση (Erps & Wilensky, 2011).



Εικόνα 2. Διαφορές μεταξύ εκκριτικής PLA₂ και Lp-PLA₂. Εικόνα που παρέχεται από τον C. Macphree, PhD (Erps & Wilensky, 2011).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Η Επιδημιολογική όψη της Lp-PLA₂

2.1 Η σχέση της Lp-PLA₂ με τα καρδιαγγειακά

Για τη διερεύνηση των επιδημιολογικών δεδομένων που πληρούν τα κριτήρια της μελέτης, αναζητήσαμε πρωτότυπες ερευνητικές εργασίες, συγχρονικές ή προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες, στις μηχανές αναζήτησης SCOPUS και MEDLINE από το 2008 έως το 2017. Η αναζήτηση απέδωσε συνολικά 47 μελέτες, εκ των οποίων μόνο δυο ερευνητικές εργασίες σχετίζονταν με την Lp-PLA₂ και το Μεταβολικό Σύνδρομο (ΜΣ). Ως εκ τούτου, προσπαθήσαμε να εντοπίσουμε περαιτέρω μελέτες που έχουν ερευνήσει τη σχέση γενικότερα μεταβολιτών και την παρουσία ΜΣ.

Η Lp-PLA₂ αποτελεί ένα νέο και μοναδικό ίσως ειδικό βιοδείκτη για την αγγειακή φλεγμονή και την αθηροσκλήρωση. Ήδη, από επιδημιολογικές έχουν αποδειχθεί τόσο οι προαθηρογόνες ιδιότητες του ενζύμου, όσο και η εμπλοκή του με τα καρδιαγγειακά συμβάντα. Η αύξηση των επιπέδων του ενζύμου Lp-PLA₂ έχει φανεί ότι σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών παθήσεων, ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες κινδύνου (Cai et al., 2013). Έχει υποστηριχθεί επίσης η χρησιμότητα αξιολόγησης της Lp-PLA₂ στην εκτίμηση του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου και η χρήση του ελέγχου της Lp-PLA₂ στην προληπτική και εξατομικευμένη κλινική ιατρική (Colley, Wolfert & Cobble, 2011).

Στον πίνακα 1 συνοψίζονται οι επιδημιολογικές μελέτες και μετα-αναλύσεις κλινικών ερευνών για τη διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ της Lp-PLA₂ και των πρωτογενών ή δευτερογενών αποτελεσμάτων των καρδιαγγειακών νοσημάτων (Cai et al., 2013).

Η πρώτη μελέτη WOSCOPS το 2000, κατέληγε στο συμπέρασμα ότι οι συμμετέχοντες στο πρώτο τεταρτημόριο Lp-PLA₂ διέτρεχαν διπλάσιο κίνδυνο σε σχέση με εκείνους στο τέταρτο τεταρτημόριο (Packard et al., 2000).

Περαιτέρω μελέτες έχουν διεξαχθεί προκειμένου να αποσαφηνίσουν τη σχέση της Lp-PLA₂ και της πρόγνωσης του κινδύνου ΚΑΑΝ. Σε μελέτη διατομής παρατηρήθηκε ότι οι συμμετέχοντες με το υψηλότερο τεταρτημόριο της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ έχουν 1,8 φορές αυξημένο κίνδυνο ΣΝ, σε σύγκριση με εκείνους του πρώτου τεταρτημορίου, μετά από έλεγχο της επίδρασης κλινικών και μεταβολικών παραγόντων (Blankenberg et al., 2003).

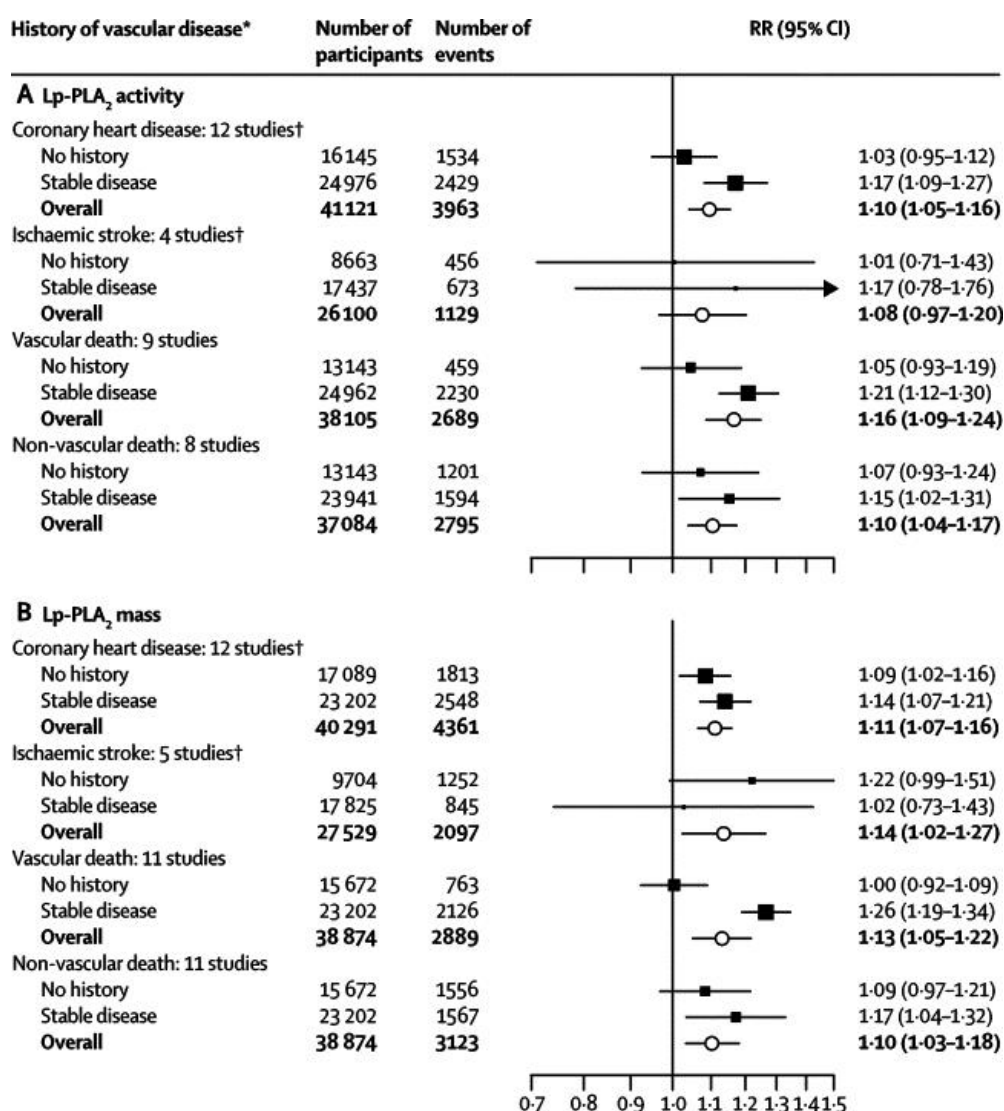
Πίνακας 1. Επιδημιολογικές μελέτες για την αξιολόγηση των σχέσεων της Lp-PLA₂ και των 1) πρωτογενών αποτελεσμάτων για στεφανιαία καρδιακή νόσο (CHD), καρδιαγγειακά νοσήματα (CVD), ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο (IS) ή 2) δευτερογενών αποτελεσμάτων για έμφραγμα μυοκαρδίου (MIs), στεφανιαία αρτηριακή νόσο (CAD), οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (ACS), καρδιαγγειακά επεισόδια (CV)

Επιδημιολογικές Μελέτες	Πληθυσμός μελέτης	Καρδιαγγειακός κίνδυνος	Κύρια ευρήματα μελέτης για τη συσχέτιση της Lp-PLA ₂
WOSCOPS (Packard et al., 2000)	580 ασθενών CVD 1.160 μαρτύρων	CHD	Πρωτογενή αποτελέσματα: 5 ^ο (υψηλότερο) έναντι 1 ^{ου} (χαμηλότερου) πεμπτημορίου των επιπέδων της Lp-PLA ₂ : 2-πλάσιος κίνδυνος CHD
WHI (Blake et al., 2001)	123 ασθενών 123 μαρτύρων (γυναίκες)	CHD, MIs (μη θανατηφόρο), IS	Πρωτογενή αποτελέσματα: Δεν υπήρξε διαφορά μεταξύ των ομάδων. Η Lp-PLA ₂ δεν ήταν δυνατός παράγοντας πρόβλεψης του μελλοντικού κινδύνου CVDs μεταξύ των μη επιλεγμένων γυναικών.
ARIC (Ballantyne et al., 2004)	608 ασθενών 740 μαρτύρων	CHD	Πρωτογενή αποτελέσματα: Η Lp-PLA ₂ και η CRP μπορεί να είναι συμπληρωματικοί δείκτες στον εντοπισμό ατόμων υψηλού κινδύνου CHD, των οποίων η LDL-C <130mg/dL.
The Rotterdam Study (Oei et al., 2005)	308 ασθενών CHD, 110 περιστατικά IS, 1.820 μαρτύρων	CHD, IS	Πρωτογενή αποτελέσματα: Η δραστηριότητα της Lp-PLA ₂ ήταν ανεξάρτητος παράγοντας πρόβλεψης κινδύνου, CHD και ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου στο γενικό πληθυσμό
Malmo (Persson et al., 2007)	131 περιστατικά IS 131 μη θανατηφόρου MIs	CVD	Πρωτογενή αποτελέσματα: Υψηλότερα επίπεδα της Lp-PLA ₂ αύξησαν τον κίνδυνο περιστατικών CVD.
The Rancho Bernardo Study (Daniels et al., 2008)	1.077 άνδρες και γυναίκες	CHD	Πρωτογενή αποτελέσματα: Αυξημένα επίπεδα Lp-PLA ₂ προβλέπουν τα συμβάντα CHD σε φαινομενικά υγιείς ενήλικες μεγαλύτερης ηλικίας.
The Bruneck Study (Kiechl et al., 2009)	765 άτομα	CVD	Πρωτογενή αποτελέσματα: Αυξημένη δραστηριότητα της Lp-PLA ₂ συσχετίστηκε με συμβάντα θανατηφόρα και μη- CVDs.
The Cardiovascular Health Study (Jenny et al., 2010)	508 μη θανατηφόρα MIs 565 εγκεφαλικά επεισόδια IS 665 θανατηφόρα CVD	CVD	Πρωτογενή αποτελέσματα: Η μάζα και η δραστηριότητα της Lp-PLA ₂ συσχετίστηκε με περιστατικά επεισοδίων CVD σε ενήλικες μεγαλύτερης ηλικίας.
Association of Lp-PLA₂ with CAD and the major adverse events (Brilakis et al., 2004)	504 σταθερών ασθενών CAD	CAD και κύριες ανεπιθύμητες ενέργειες	Δευτερογενή αποτελέσματα: Υψηλότερα επίπεδα Lp-PLA ₂ συσχετίστηκαν με υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης σημαντικών ανεπιθύμητων ενεργειών.
The HELICOR study (Khuseyinova et al., 2005)	312 ασθενών CAD 479 μαρτύρων	CAD	Δευτερογενή αποτελέσματα: Αυξημένες συγκεντρώσεις Lp-PLA ₂ συσχετίστηκαν με την παρουσία σταθερών CAD.
The PROVE IT-TIMI (Wilensky et al., 2007)	3.648 ACS ασθενών	CV επεισόδια	Δευτερογενή αποτελέσματα: Η δραστηριότητα της Lp-PLA ₂ συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών συμβάντων CV.
The KAROLA study (Koenig et al., 2006)	1.051 ασθενών CHD	CHD	Δευτερογενή αποτελέσματα: Αυξημένες συγκεντρώσεις της Lp-PLA ₂ προβλέπουν τον μελλοντικό κίνδυνο καρδιαγγειακών επεισοδίων σε ασθενείς με εκδηλώσεις CHD.
The PEACE trial (Sabatine et al., 2007)	3.766 σταθερών ασθενών CAD	CV επεισόδια	Δευτερογενή αποτελέσματα: Σε σταθερά CAD, αυξημένα επίπεδα Lp-PLA ₂ : σημαντικός προγνωστικός παράγοντας πρόβλεψης ανεπιθύμητων μη θανατηφόρων εκβάσεων CVs.
The Veterans Affairs HDL Intervention Trial (Robins et al., 2008)	1.451 άντρες	CV επεισόδια	Δευτερογενή αποτελέσματα: Η υψηλή Lp-PLA ₂ προέβλεπε ανεξάρτητα το συμβάν CV.
Expression of Lp-PLA₂ in carotid artery plaques predicts cardiac outcome (Herrmann et al, 2009)	162 σταθερών ασθενών	CV επεισόδια	Δευτερογενή αποτελέσματα: Η έκφραση της Lp-PLA ₂ στις πλάκες της καρωτιδικής αρτηρίας είναι ένας προγνωστικός δείκτης μελλοντικής καρδιακής έκβασης.

CAD, Coronary Artery Disease, CHD, Coronary Heart Disease, CVD, Cardiovascular Disease, IS, Ischemic Stroke, MI, Myocardial infarction, ACS, Acute Coronary Syndrome, CV, Cardiovascular events

Πηγή: Cai et al., 2013

Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση που συμπεριέλαβε 32 προοπτικές μελέτες, είχε ως σκοπό την αξιολόγηση της σχέσης μάζας ή δραστικότητας της Lp-PLA₂ στην κυκλοφορία με την επίπτωση στεφανιαίας καρδιακής νόσου, ισχαιμικού, αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου και θνησιμότητας. Παρατηρήθηκε συσχέτιση της δραστικότητας και της μάζας της Lp-PLA₂ με τον κίνδυνο στεφανιαίας νόσου και αγγειακής θνησιμότητας, σε βαθμό παρόμοιο με την HDL-χοληστερόλη ή τη συστολική αρτηριακή πίεση (Εικόνα 3). Οι αναλογίες κινδύνου (RR, risk ratios) δεν διέφεραν σημαντικά σε άτομα με και χωρίς αρχική σταθερή αγγειακή νόσο, εκτός από τον αγγειακό θάνατο με τη μάζα της Lp-PLA₂ (Thompson et al., 2010).



Εικόνα 3: Αναλογίες κινδύνου (RR) για στεφανιαία καρδιακή νόσο, ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, αγγειακή και μη αγγειακή θνησιμότητα για τυπική απόκλιση 1 SD υψηλότερη δραστικότητα Lp-PLA₂ ή μάζα κατά την έναρξη, μετά από προσαρμογή για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες κινδύνου (Thompson et al., 2010).

RR, Risk Ratios.

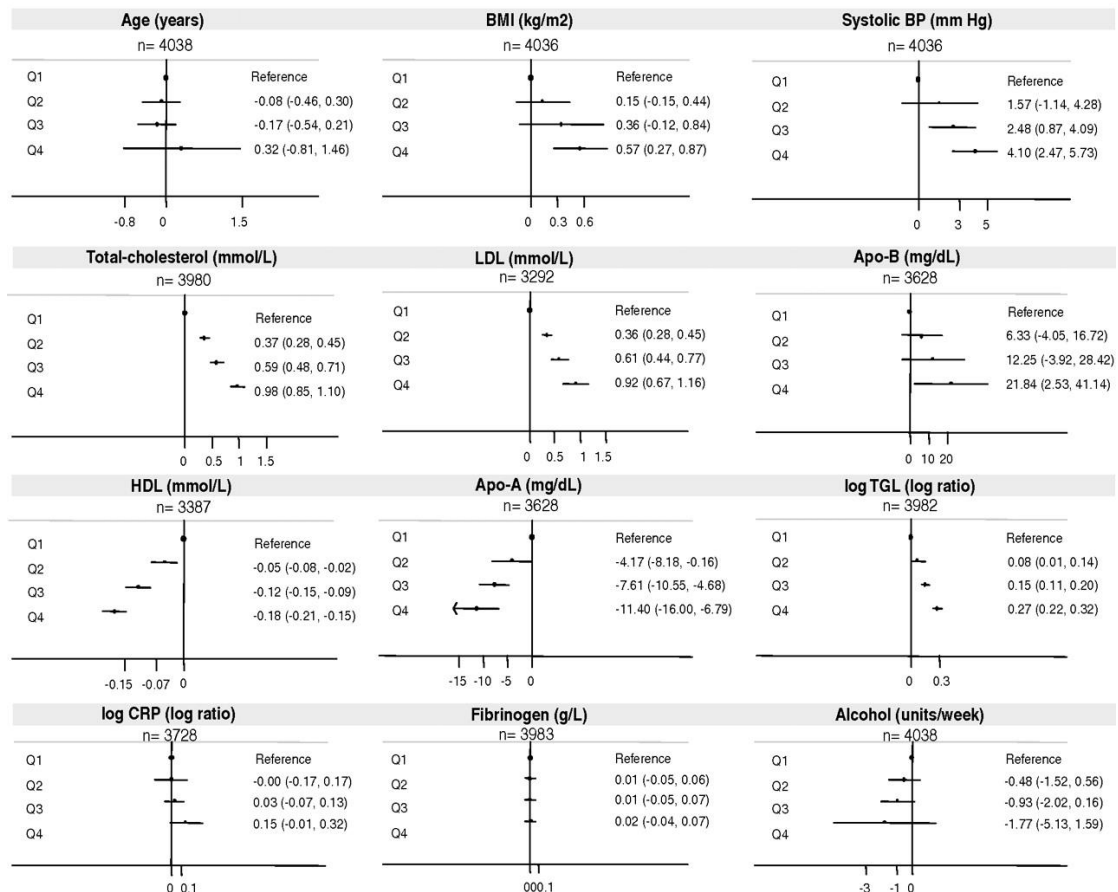
Από παρατηρήσεις προερχόμενες από τη μελέτη Dallas Heart Study (Brilakis et. al. 2008), σε ένα πολυεθνικό δείγμα αποτελούμενο από 3.332 άτομα ηλικίας 30-65 ετών, διαπιστώθηκε ότι υπήρξε μια διαφοροποίηση στη δραστικότητα της Lp-PLA₂, καθώς ήταν μικρότερη στις γυναίκες σε σύγκριση με τους άνδρες και στους μαύρους έναντι των λευκών, ακόμα και μετά από προσαρμογή συγχυτικών παραγόντων όπως ηλικία, δείκτης μάζας σώματος (Body Mass Index, BMI), κάπνισμα, ολική χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (LDL), υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (HDL), χοληστερόλη, τριγλυκερίδια και υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (hs-CRP). Παρόμοιες ήταν οι παρατηρήσεις και για τη μάζα της Lp-PLA₂ (Brilakis et al., 2008).

Στην προοπτική μελέτη WHI-OS (Women's Health Initiative Observational Study) συγκρίθηκαν 1.821 περιπτώσεις καρδιαγγειακών συμβάντων με 1.992 περιπτώσεις γυναικών αναφοράς, προκειμένου να αξιολογηθεί η συσχέτιση της μάζας και της δραστικότητας της Lp-PLA₂ με την έκβαση καρδιαγγειακών συμβάντων. Ενώ αρχικά τόσο η μάζα όσο και η δραστικότητα της Lp-PLA₂ συσχετίστηκαν θετικά με τα περιστατικά CVDs, μετά από προσαρμογή για την ηλικία και τη φυλή, φάνηκε ότι η μάζα, και όχι η δραστικότητα, συσχετίστηκε ανεξάρτητα με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο (Cook et al., 2012).

Αντίθετα με τη δραστικότητα της Lp-PLA₂, οι παραλλαγές PLA2G7 που συνδέονται με μέτρια αποτελέσματα της δραστικότητας Lp-PLA₂, δεν φαίνεται να συσχετίζονται με δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου, στεφανιαίο αθήρωμα ή στεφανιαία νόσο.

Σε δυο προοπτικές μελέτες (*NPHS-II* και *EPIC-Norfolk*), παρατηρήθηκε αύξηση των τιμών ΔΜΣ, αρτηριακής πίεσης, ολικής χοληστερόλης, LDL-χοληστερόλης, απολιποπρωτεΐνης Β και τριγλυκεριδίων, με την αύξηση των τεταρτημορίων της δραστικότητας της Lp-PLA₂. Αντίθετα, η δραστικότητα της Lp-PLA₂ ήταν αντιστρόφως ανάλογη με την HDL χοληστερόλη και την απολιποπρωτεΐνη Α₁. Δεν παρατηρήθηκαν συσχετίσεις με τους παράγοντες καρδιακού κινδύνου, ινωδογόνο και C-αντιδρώσα πρωτεΐνη.

Mean difference (95%CI) in cardiovascular traits by quartile of Lp-PLA₂ activity



Εικόνα 4. Παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και δραστικότητα της Lp-PLA₂. Μέσες διαφορές στα καρδιαγγειακά χαρακτηριστικά σε σχέση με τα τεταρτημόρια (Q) της δραστικότητας της Lp-PLA₂ στις μελέτες NPHS-II και EPIC-Norfolk. Τα άτομα του τεταρτημορίου Q1 χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου. Συντομογραφίες: δείκτης μάζας σώματος (BMI), η αρτηριακή πίεση (BP), η απολιποπρωτεΐνη A (Apo-A), τα τριγλυκερίδια (TGL), και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), BMI, Body Mass Index, BP, Blood pressure, Apo-Apolipoprotein-A, TGL, Triglycerides Level, CRP, C-reactive Protein (Casas et al., 2010).

Σε μελέτη παρατήρησης που διεξήχθη σε 2.298 ασθενείς με επιβεβαιωμένη και 661 χωρίς επιβεβαιωμένη αγγειογραφικά στεφανιαία νόσο (Coronary Artery Disease, CAD), σημειώθηκε ότι η συγκέντρωση της Lp-PLA₂ προβλέπει τον κίνδυνο ολικής και καρδιαγγειακής θνησιμότητας ανεξάρτητα από καθιερωμένους παράγοντες κινδύνου και επισημαίνει τον κίνδυνο θνησιμότητας από καρδιαγγειακό νόσημα, ακόμη και σε ασθενείς με υψηλά επίπεδα hsCRP. Σε ασθενείς με hsCRP >33 mg/L και Lp-PLA₂ >392 ng/mL ο κίνδυνος καρδιαγγειακού θανάτου ήταν σχεδόν δύο φορές υψηλότερος σε σύγκριση με τους ασθενείς με χαμηλή hsCRP και χαμηλή Lp-PLA₂ με HR 1,98 (95% CI 1,50 - 2,62, $p < 0,001$) (Kleber et al., 2010).

Μετα-ανάλυση 15 προοπτικών μελετών με 30.857 συμμετέχοντες που σκοπό είχε τη διερεύνηση της προγνωστικής αξίας της Lp-PLA₂ για τη στεφανιαία καρδιαγγειακή νόσο (ΣΝ), έδειξε ότι η προγνωστική αξία τόσο της δραστηριότητας όσο και της μάζας του ενζύμου, αφορούσε ασθενείς με στεφανιαία νόσο που δεν ελάμβαναν κάποια θεραπεία για την αναστολή της Lp-PLA₂ (Li et al., 2016).

2.1.1 Αθηροσκλήρωση

Έχει χαρακτηριστεί ως η κυριότερη ασθένεια της εποχής μας. Η αθηροσκλήρωση και οι κλινικές εκδηλώσεις της είναι ευρέως διαδεδομένες σε ολόκληρο τον κόσμο, με συνέπειες στην στεφανιαία, εγκεφαλική και περιφερειακή αρτηρία, αποτελώντας την αιτία όλων των αποφρακτικών φαινομένων.

Η αθηρογένεση είναι εξαιρετικά πολύπλοκη και χαρακτηρίζεται από πολυάριθμους γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου, όπως έχει φανεί από πολλές επιδημιολογικές μελέτες. Το μεγαλύτερο μέρος των επιστημονικών και κλινικών ερευνών καταλήγουν ότι η φλεγμονή παίζει σημαντικό ρόλο στην αθηρογένεση και την εξέλιξή της. Η φλεγμονή επηρεάζει δυσμενώς τον χειρισμό και το μεταβολισμό των ενδοαγγειακών λιπιδίων, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη αφρωδών κυττάρων και μακροφάγων, λιπαρής ράβδου και το σχηματισμό αθηρωματικών πλακών στο τοίχωμα των αρτηριών. Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι η συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνη φωσφολιπάση A₂ (Lp-PLA₂) ενισχύει την ενδοαγγειακή φλεγμονή και την αθηροσκλήρωση και ότι ο ρόλος του ενζύμου στην αθηροσκλήρωση μπορεί να εξαρτάται από τον τύπο του σωματιδίου λιποπρωτεΐνης με το οποίο συνδέεται η πλασματική μορφή του ενζύμου (Colley et al., 2011, Tellis & Tselepis, 2014).

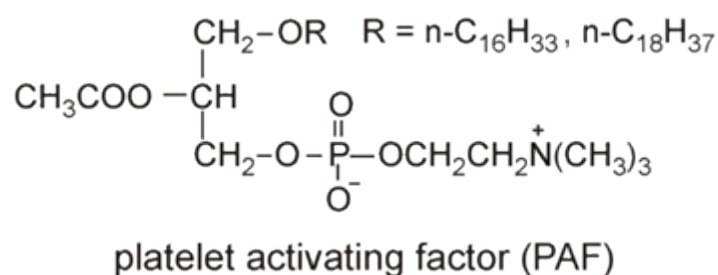
2.1.2 Εμπλεκόμενος μηχανισμός αθηροσκλήρωσης

Η αθηροσκλήρωση και η θρόμβωση αποτελούν σημαντικούς παθογόνους μηχανισμούς που σχετίζονται με την πλειονότητα των καρδιαγγειακών συμβάντων. Από επιδημιολογικά δεδομένα φαίνεται μια περίπλοκη σχέση μεταξύ παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και ανεπιθύμητων κλινικών συμβάντων (Abbott et al., 1988).

Οι μεσολαβητές λιπιδίων είναι μια ετερογενής ομάδα βιοδραστικών λιπιδίων που περιλαμβάνει εικοσανοειδή, ρεσολβίνες, ενδοκανναβινοειδή, σφιγγολιπίδια, φωσφολιπίδια και οξειδωμένα λιπίδια. Μεσολαβούν σε αρκετές φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες, αλλά συμμετέχουν επίσης στην παθογένεση πολλών ασθενειών όπως ο διαβήτης, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, οι αυτοάνοσες ασθένειες και ο καρκίνος (Nomikos, Fragoroulou & Antonopoulou, 2007).

Ο Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (Platelet-Activating Factor, PAF, είναι το πρώτο βιολογικά δραστικό φωσφολιποειδές που βρέθηκε στη φύση και αποτελεί έναν κρίσιμο μεσολαβητή στη φλεγμονώδη απόκριση. Είναι γνωστό ότι ο PAF και τα ανάλογα του (PAF-like λιπίδια) παράγονται κατά την οξείδωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL) και οδηγούν σε δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, καθιστώντας αυτά τα μόρια ως εκκινητές της αθηροσκλήρωσης (Demopoulos, Karantonis & Antonopoulou, 2013).

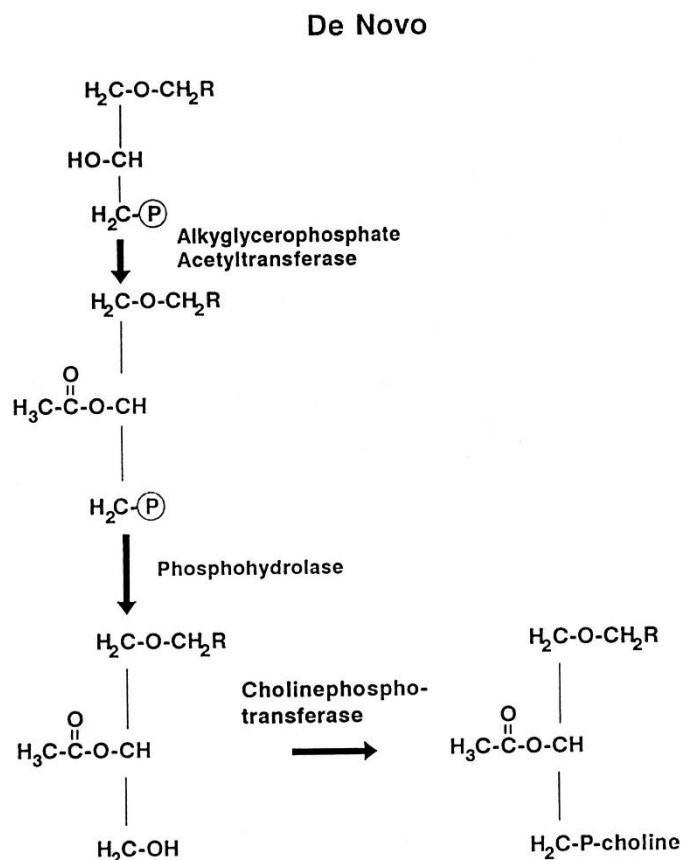
Η ημισυνθετική μορφή του PAF (1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine) που δομικά προσδιορίζει την ένωση ως ένα γλυκεριναιθερικό ανάλογο της φωσφατιδυλοχολίνης (Εικόνα 5), φαίνεται ότι έχει την ίδια βιολογική και χημική συμπεριφορά με αυτή του φυσικά απομονωμένου PAF (Demopoulos, Pinckard & Hanahan et al., 1979).



Εικόνα 5. Η χημική δομή του μορίου 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine (Demopoulos, Pinckard & Hanahan et al., 1979).

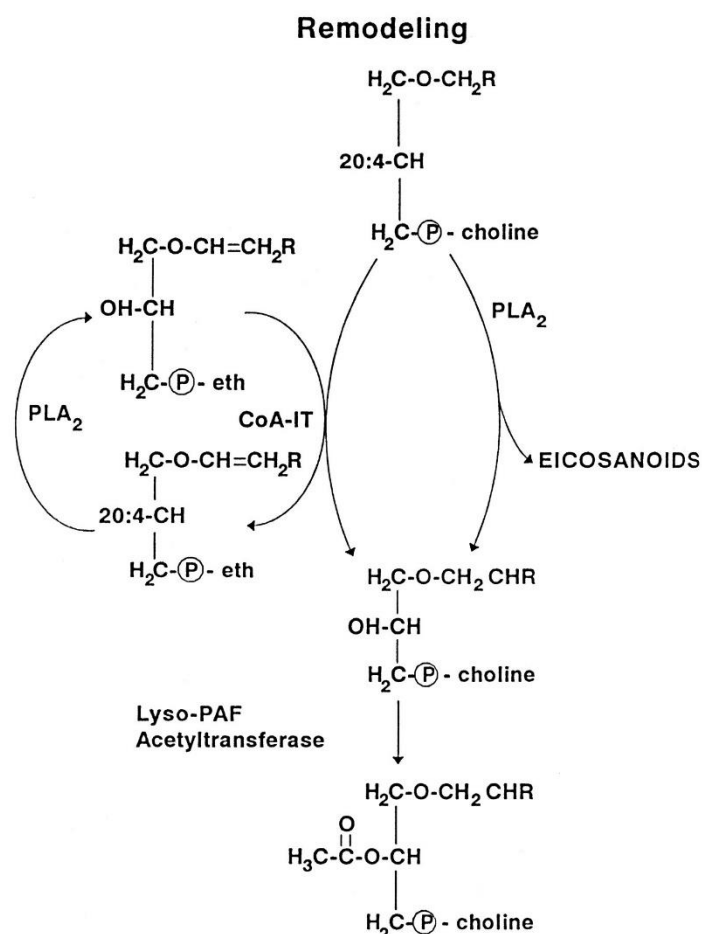
Παράλληλα με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, ο PAF προκαλεί την απελευθέρωση ελευθέρων ριζών οξυγόνου (ROS), γεγονός που οδηγεί σε περαιτέρω οξείδωση λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας. Τα μακροφάγα καταλαμβάνουν την οξειδωμένη λιποπρωτεΐνη χαμηλής

πυκνότητας (oxLDL) μέσω υποδοχέων δέσμευσης (όπως CD36) και σχηματίζουν αφρώδη κύτταρα. Η σύνθεση του PAF εκ νέου (de novo πορεία βιοσύνθεσης) θεωρείται υπεύθυνη για την παραγωγή βασικών επιπέδων του PAF στον οργανισμό (Εικόνα 6).



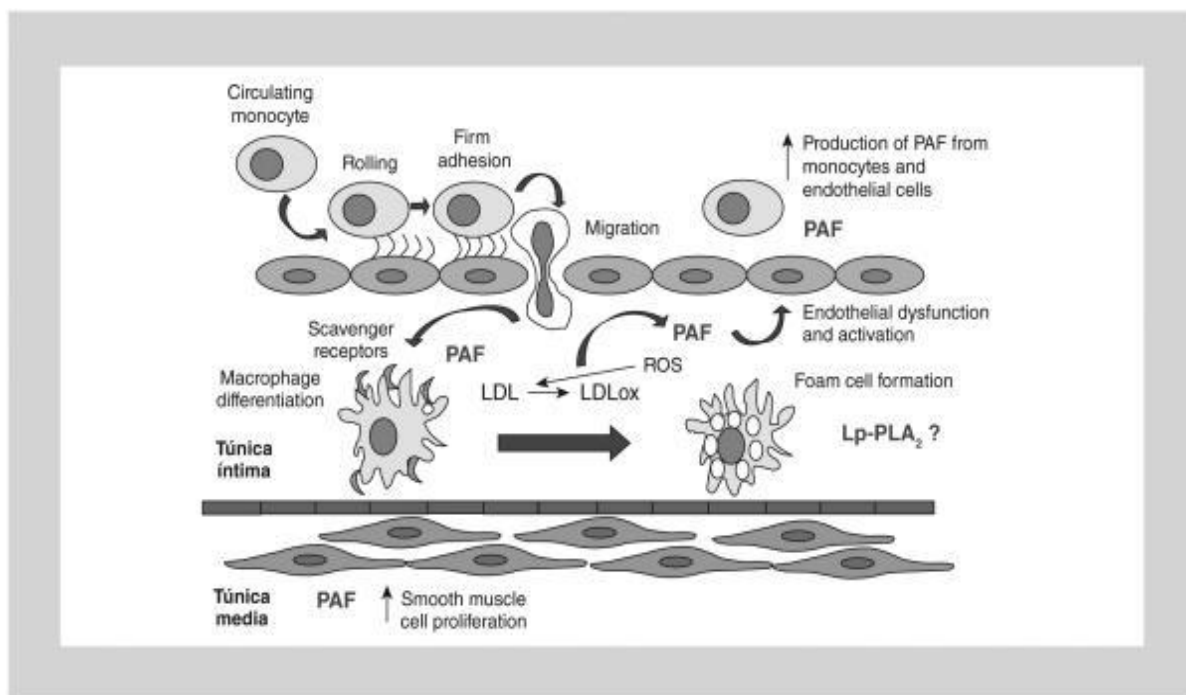
Εικόνα 6. De novo πορεία για τη σύνθεση του PAF. Αυτή η πορεία εμπλέκεται κυρίως στη συστατική σύνθεση του PAF και ρυθμίζεται μόνο από τη διαθεσιμότητα υποστρωμάτων. Σε αυτή την πορεία, το 1-Ο-αλκυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφορικό ακετυλιώνεται με ακετυλοτρανσφεράση 1-Ο-αλκυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφορική: ακετυλο-CoA και μετασχηματίζεται με ειδική φωσφοϋδρολάση σε 1- αλκυλ-2-ακετυλ-sn-γλυκερόλη. Το τελευταίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε PAF με μία CDP-χολινοφωσφοτρανσφεράση που δεν είναι ανθεκτική στη διθειοθρεϊτόλη (Montrucchio et al., 2000).

Η αυξημένη δραστηριότητα του PAF λειτουργεί με έναν μηχανισμό αναδιαμόρφωσης (Εικόνα 7), καθώς ενεργοποιεί τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα κύτταρα του αίματος για περαιτέρω παραγωγή PAF και προάγει την αθηρογένεση (Montrucchio et al., 2000, Nording, Seizer & Langer, 2015).



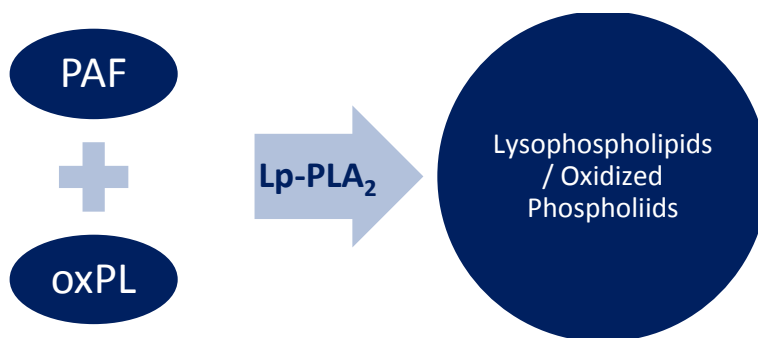
Εικόνα 7. Πορεία ανασχηματισμού (remodeling) για τη σύνθεση του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF). Η σύνθεση του PAF ξεκινά με την ενεργοποίηση της φωσfolιπάσης A_2 (PLA_2), η οποία μπορεί να δράσει σε 1-O-αλκυλο-2-αραχιδονυλο γλυκεροφωσφοχολίνη για να δώσει lyso-PAF και ελεύθερο αραχιδονικό οξύ. Ο lyso-PAF ακετυλιώνεται από μια ειδική ακετυλοτρανσφεράση, το ένζυμο lyso-PAF, χρησιμοποιώντας ακετυλο συνένζυμο A ως δότη. Εναλλακτικά, η PLA_2 μπορεί να δράσει σε φωσφατιδυλαιθανολαμίνη που περιέχει αραχιδονικό άλας για να απελευθερώσει ελεύθερο αραχιδονικό. Η λυσο-φωσφατιδυλαιθανολαμίνη μπορεί να δρα ως δέκτης για το αραχιδονικό σε αντίδραση transacylation από τον πρόδρομο PAF με σχηματισμό του lyso-PAF. Επομένως, η ενεργοποίηση της PLA_2 είναι απαραίτητη για την παραγωγή του lyso-PAF και την ενεργοποίηση των οδών αναδιαμόρφωσης. Η ενεργοποίηση της ακετυλοτρανσφεράσης lyso-PAF, η οποία διαμορφώνεται με κύκλο φωσφορυλίωσης/ αποφωσφορυλίωσης, είναι ένας περιοριστικός παράγοντας για την παραγωγή βιολογικώς δραστικού PAF (Montrucchio et al., 2000).

Το καταβολικό ένζυμο του PAF, η $Lp-PLA_2$, έχει διπλό ρόλο στη φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες (Εικόνα 8) και πολύπλοκα αποτελέσματα στην αθηρογένεση (Nording, Seizer & Langer, 2015).



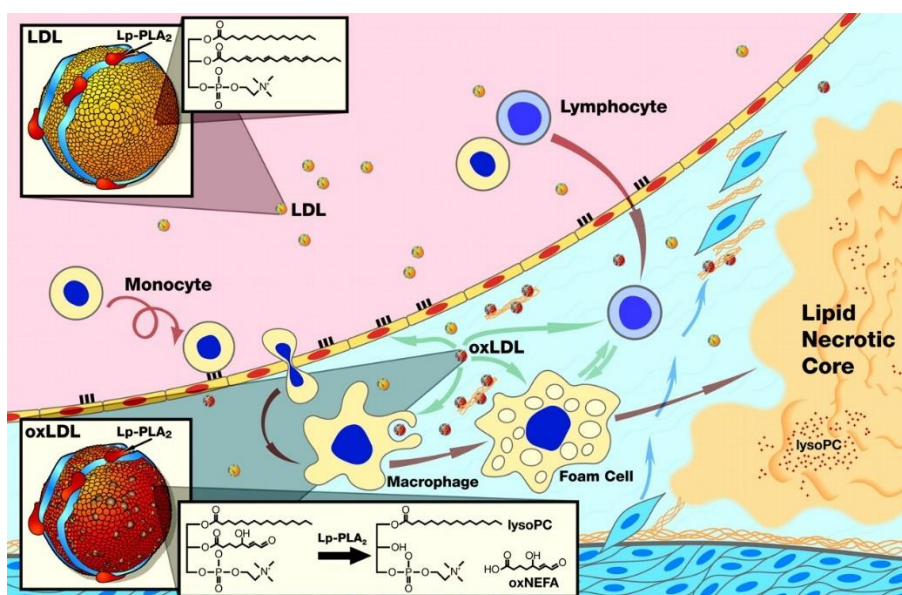
Εικόνα 8. Η εμπλοκή της Lp-PLA₂ στην αθηρογένεση (Nording, Seizer & Langer, 2015).

Η συγκέντρωση του PAF ρυθμίζεται από τη δράση της Lp-PLA₂, καθώς είναι ειδική για την υδρόλυσή του και για την υδρόλυση των βιοδραστικών λιπιδίων, που θεωρείται ότι δρουν προστατευτικά, μειώνοντας της βιολογική τους δραστηριότητα, προς παραγωγή λυσοφωσfolιπιδίων (Εικόνα 9) (Chen et al., 2007, Blank et al., 1981, Stremmler et al., 1991).



Εικόνα 9. Ο ρόλος της Lp-PLA₂ στον καταβολισμό του PAF και την παραγωγή των φωσfolιπιδίων. PAF, Platelet-activating factor, oxPL, Oxidized Phospholipids.

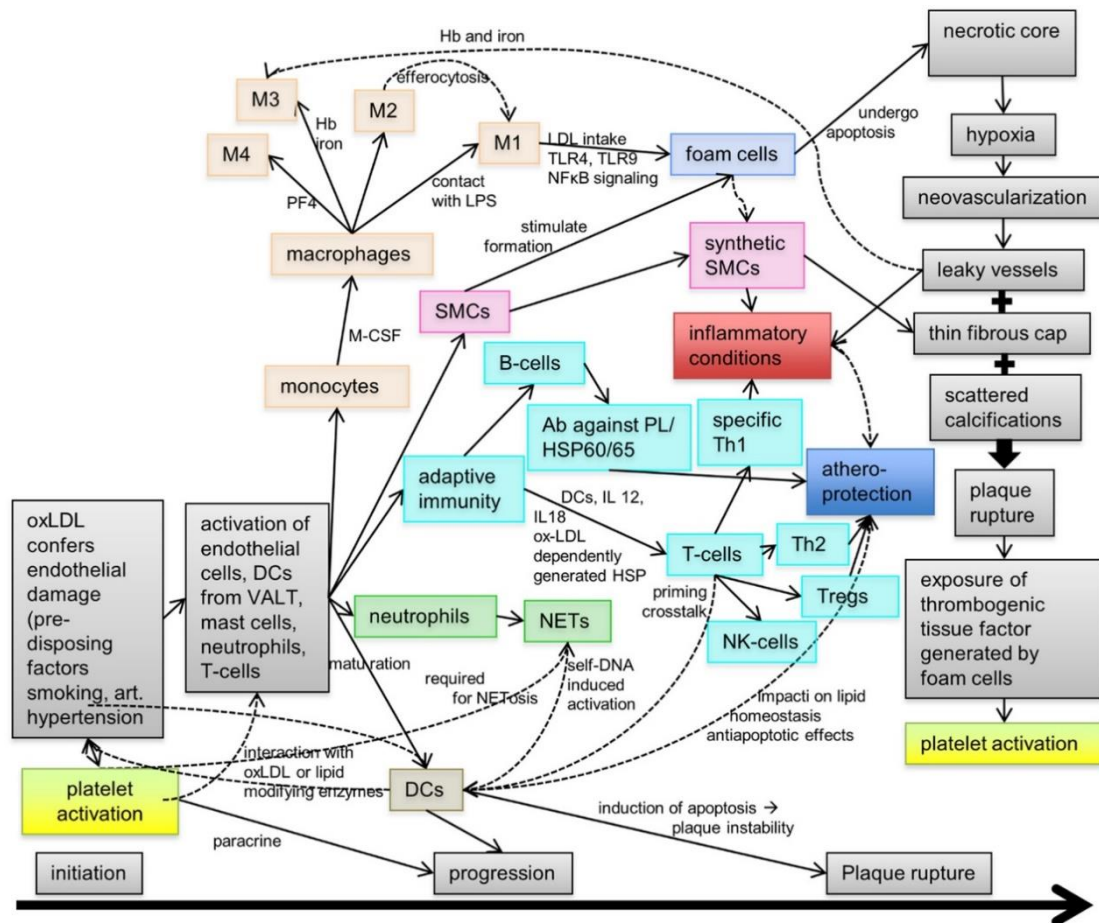
Η Lp-PLA₂ συνδέεται με την apo-B στην LDL τον πρωτεύοντα φορέα της, ο οποίος διανέμει την Lp-PLA₂, σε τμήματα επιρρεπή στη βλάβη αρτηριακού τοιχώματος (Εικόνα 10). Ακολουθεί η οξείδωση της LDL, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό φωσφολιπιδίου στη θέση sn-2, η οποία είναι ευαίσθητη στην ενζυμική υδρόλυση από την Lp-PLA₂. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία 2 βιοδραστικών μεσολαβητών λιπιδίων, της λυσοφωσφατίδυλοχολίνης (lysoPC) και των οξειδωμένων μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων (Non-Esterified Fatty Acids, NEFA), τα οποία πρόκειται να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην προσέλκυση φλεγμονωδών κυττάρων (μακροφάγων) σε περιοχές επιρρεπείς σε βλάβες καθώς και τοπικές αυξήσεις φλεγμονωδών μεσολαβητών. Μέσω μορίων προσκόλλησης λαμβάνει χώρα η εισροή φλεγμονωδών κυττάρων (μονοκυττάρων) που εκφράζουν Lp-PLA₂ και συνεπώς προκαλείται αύξηση της συγκέντρωσης της Lp-PLA₂ στο τοίχωμα του αγγείου. Τα μακροφάγα είναι εφοδιασμένα με υποδοχείς που εσωκλείουν τα μόρια της LDL χοληστερόλης, ιδιαίτερα τα μόρια της οξειδωμένης LDL χοληστερόλης. Έτσι, τα μακροφάγα φορτίζονται με χοληστερόλη και μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. Οι βιοδραστικοί μεσολαβητές λιπιδίων (lysoPC και NEFA) που παράγονται από την Lp-PLA₂ είναι κυτταροτοξικοί για τα μακροφάγα, προκαλώντας τους κυτταρικό θάνατο και διευκολύνοντας τη συσσώρευση τους στον έσω χιτώνα και το σχηματισμό ενός νεκρωτικού λιπιδικού πυρήνα, σε προχωρημένες αθηροσκληρωτικές αλλοιώσεις (Zalewski & MacPhee, 2005).



Εικόνα 10. Σχηματική παράσταση του προτεινόμενου προ-αθηρογόνου μηχανισμού της Lp-PLA₂ στο τοίχωμα του αγγείου (Zalewski & MacPhee, 2005).

2.1.3 Σχηματισμός αθηρωματικής πλάκας

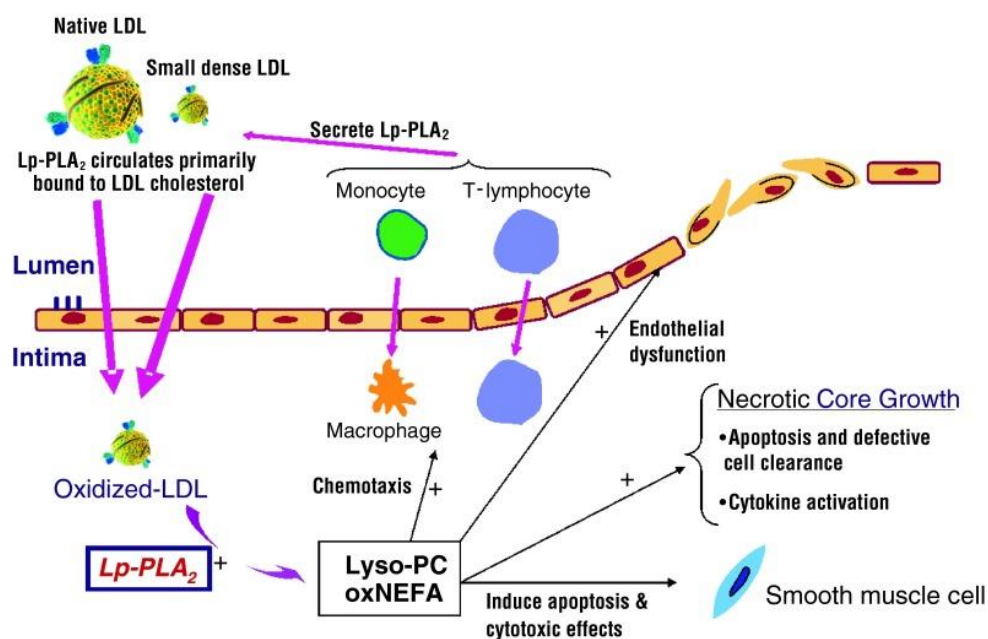
Κατά τη διάρκεια της αθηρογένεσης σχηματίζεται μια πλάκα στην έσω πλευρά του αρτηριακού τοιχώματος, μέσω μια πολύπλοκης διαδικασίας που χαρακτηρίζεται από φλεγμονή σε όλα τα στάδια εξέλιξης της αθηροσκλήρωσης (Εικόνα 11). Σε μεταγενέστερα στάδια, η αθηροσκληρωτική πλάκα αναπτύσσει έναν νεκρωτικό πυρήνα με περιοχές νεοαγγειοποίησης, λεπτό ινώδες υμένα και διάσπαρτες ασβεστοποιήσεις. Η ρήξη της πλάκας, τελικά, αποκαλύπτει το θρομβογόνο αθηροσκληρωτικό πυρήνα που προάγει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και στη συνέχεια την αλληλουχία πήξης (Gofman et al., 1950, Linton et al., 2015, Nording, Seizer & Langer, 2015).



Εικόνα 11. Παθοφυσιολογία της αθηροσκλήρωσης (Nording, Seizer & Langer, 2015).

Ο σχηματισμός της αθηρωματικής πλάκας εξελίσσεται μέσω μιας σύνθετης διαδικασίας που περιλαμβάνει τη συσσώρευση λιπιδίων, την κυτταρική ενεργοποίηση που επάγει τον μετασχηματισμό και τη διαφοροποίηση των μονοκυττάρων σε αφρώδη κύτταρα, καθώς και διάφορες ανοσολογικές αντιδράσεις που προκαλούνται από T- και B-κύτταρα, ουδετερόφιλα, κοκκιοκύτταρα, και δενδριτικά κύτταρα (dendritic cells, DCs). Ως εκ τούτου, η εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης καθοδηγείται από φλεγμονή, αν και μερικά από αυτά τα φλεγμονώδη κύτταρα/παράγοντες, μπορεί επίσης να προκαλούν αθηροπροστασία υπό ορισμένες συνθήκες (Nording, Seizer & Langer, 2015).

Η Lp-PLA₂ κυκλοφορεί κυρίως συνδεδεμένη σε χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL) και είναι περισσότερο συγκεντρωμένη στα μικρά πυκνά σωματίδια LDL (Εικόνα 12). Στην αθηροσκληρωτική πλάκα, πιστεύεται η Lp-PLA₂ υδρολύει τροποποιημένα φωσfolιπίδια σε οξειδωμένα σωματίδια LDL για να παράγει φωσφατιδυλοχολίνη (lysoPC) και οξειδωμένα μη εστεροποιημένα ελεύθερα λιπαρά οξέα (NEFA). Οι in vitro επιδράσεις αυτών των ενώσεων περιλαμβάνουν ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, χημειοταξία, ενεργοποίηση κυτοκινών και κυτταροτοξικές επιδράσεις. Αυτοί οι προ-φλεγμονώδεις μεσολαβητές πιστεύεται ότι συμβάλλουν στην φλεγμονή της αθηροσκληρωτικής πλάκας και στην αστάθεια, οδηγώντας έτσι σε περαιτέρω εξέλιξη της ασθένειας και σε αστάθεια της πλάκας (Motiwala & O' Donoghue, 2011).



Εικόνα 12. Τα προτεινόμενα αποτελέσματα της Lp-PLA₂ στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης (Motiwala & O' Donoghue, 2011).

Κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η Lp-PLA₂ εμπλέκεται όχι μόνο στην έναρξη και πρόοδο της αθηροσκλήρωσης, αλλά σχετίζεται επίσης και με τη ρήξη της πλάκας, σε άλλες μέσω της αύξησης της δραστηριότητάς της και σε άλλες μέσω της μάζας της. Σε μοντέλα ποντικών, με ανεπάρκεια από-λιποπρωτεΐνης E, η εξασθένιση της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ βελτιώνει σημαντικά τη φλεγμονώδη αντίδραση και εμποδίζει το σχηματισμό πλάκας (Wang et al., 2011).

Η Lp-PLA₂ εισήχθη ως ένας υποκείμενος σημαντικός παθογόνος παράγοντας που συμμετέχει στη δημιουργία προ-αθηρογόνων μεταβολιτών, όπως τα οξειδωμένα ελεύθερα λιπαρά οξέα και η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη (lysoPC). Οι συσχετίσεις Lp-PLA₂, lysoPCs, LPA και κάποιων χημειοκινών (προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, proinflammatory cytokines) σε ανθρώπινες πλάκες υποδηλώνουν ότι οι lysoPCs διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη φλεγμονή, την ιστολογία και την ευπάθεια της πλάκας (Πίνακες 2 και 3). Ως εκ τούτου υποστηρίζεται ότι η αναστολή της Lp-PLA₂ ίσως αποτελεί μια πιθανή στρατηγική για τη μείωση της αθηροσκλήρωσης και την πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων (Gonçalves et al., 2012).

Πίνακας 2. Συσχετίσεις μεταξύ LysoPC 16:0, 18:0, 18:1, LPA, Lp-PLA₂ της πλάκας και κυτοκινών της πλάκας.

Κυτοκίνες	LysoPC 16:0	LysoPC 18:0	LysoPC 18:1	LPA	Lp-PLA ₂
IL-1β	$r=0.296^{***}$	$r=0.297^{***}$	$r=0.296^{***}$	$r=0.25^{***}$	$r=0.362^{***}$
IL-6	$r=0.750^{***}$	$r=0.756^{***}$	$r=0.718^{***}$	$r=0.294^{***}$	$r=0.686^{***}$
MCP-1	$r=0.790^{***}$	$r=0.793^{***}$	$r=0.737^{***}$	$r=0.411^{***}$	$r=0.750^{***}$
MIP-1β	$r=0.699^{***}$	$r=0.693^{***}$	$r=0.656^{***}$	$r=0.367^{***}$	$r=0.716^{***}$
RANTES	$r=0.580^{***}$	$r=0.583^{***}$	$r=0.534^{***}$	$r=0.283^{***}$	$r=0.606^{***}$
TNF-α	$r=0.554^{***}$	$r=0.544^{***}$	$r=0.519^{***}$	$r=0.399^{***}$	$r=0.537^{***}$
IL-10	$r=0.318^{***}$	$r=0.307^{***}$	$r=0.306^{***}$	$r=0.112$	$r=0.372^{***}$
IL-12 (p40)	$r=0.295^{***}$	$r=0.299^{***}$	$r=0.273^{***}$	$r=0.173$	$r=0.341^{***}$
IL-12 (p70)	$r=-0.045$	$r=-0.05$	$r=-0.003$	$r=0.22^{**}$	$r=-0.011$
Eotaxin	$r=-0.391^{***}$	$r=-0.393^{***}$	$r=-0.382^{***}$	$r=-0.176^*$	$r=-0.455^{***}$

IL, Interleukin (ιντερλευκίνη); MCP, Monocyte Chemoattractant Protein (μονοκυτταρική χημειοτακτική πρωτεΐνη); MIP, Macrophage Inflammatory Protein (φλεγμονώδης πρωτεΐνη των μακροφάγων); TNF, Tumor Necrosis Factor (παράγοντας νέκρωσης όγκων); RANTES, Regulated on Activation Normal T-cell Expressed and Secreted

(ρυθμιζόμενη μετά από ενεργοποίηση, φυσιολογικά εκφραζόμενη και εκκρινόμενη από Τ-κύτταρα); LPA, Lysophosphatidic Acid (λυσοφωσφατιδικό οξύ), Eotaxin, υποοικογένεια χημειοκινών, ηωσινόφιλων, χημειοτακτικών πρωτεϊνών.

Βαθμός σημαντικότητας σημειωμένος ως $*p < 0,05$, $**p < 0,01$ και $***p < 0,005$.

Πηγή: Gonçalves et al., 2012

Πίνακας 3. Συσχετίσεις μεταξύ LysoPC 16:0, 18:0, 18:1, Lp-PLA₂ και της ιστολογίας της πλάκας.

Ιστολογία πλάκας	LysoPC 16:0	LysoPC 18:0	LysoPC 18:1	LPA	Lp-PLA ₂
α-actin	$r = -0.281^{***}$	$r = -0.262^{***}$	$r = -0.288^{***}$	$r = -0.079$	$r = -0.253^{***}$
CD68	$r = 0.288^{***}$	$r = 0.283^{***}$	$r = 0.297^{***}$	$r = 0.225^{**}$	$r = 0.216^{**}$
Oil Red O	$r = 0.476^{***}$	$r = 0.462^{***}$	$r = 0.497^{***}$	$r = 0.145$	$r = 0.352^{***}$
Masson	$r = -0.06$	$r = -0.021$	$r = -0.001$	$r = -0.021$	$r = -0.072$

α-actin, ακτίνη (πρωτεΐνη που εκφράζεται στα μυϊκά κύτταρα), CD68, Oil Red O, λιποδιαλυτή χρωστική για τη χρώση ουδέτερων τριγλυκεριδίων, λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών, Masson, Masson's trichrome, τριχρωματική του Masson (πρωτόκολλο χρώσης τριών χρωμάτων που χρησιμοποιούνται στην ιστολογία).

Βαθμός σημαντικότητας: σημειώνεται ως $**p < 0,01$ και $***p < 0,005$.

Πηγή: Gonçalves et al., 2012

2.1.4 Οι προσπάθειες αναστολής της Lp-PLA₂

Η Lp-PLA₂ έχει χαρακτηριστεί από τον Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων & Φαρμάκων (FDA) ως ένας βιολογικός δείκτης για την αγγειακή φλεγμονή, μια κατάσταση που σχετίζεται με τη συσσώρευση πλάκας στις αρτηρίες που παρέχουν αίμα στην καρδιά. Με την πάροδο, αυτή η συσσώρευση μπορεί να οδηγήσει σε στένωση των αρτηριών και να οδηγήσει σε κίνδυνο στεφανιαίας καρδιοπάθειας (coronary heart disease, CHD).

Έχει δημιουργηθεί μεγάλο ενδιαφέρον για την ανάπτυξη ενός αξιόπιστου μέτρου της δραστηριότητας της αθηροσκληρωτικής νόσου που να μπορεί να χρησιμεύσει ως δείκτης

απόκρισης στις αντιαθηροσκληρωτικές θεραπείες. Η Lp-PLA₂ είναι μέρος μιας οικογένειας λιπασών που εμπλέκονται στην τροποποίηση των λιπιδίων εντός του αθηρώματος και έχει πλέον θεωρηθεί ότι μπορεί να είναι ένας θεραπευτικός στόχος για τη μείωση της LDL-C σε ασθενείς με προχωρημένη αθηροσκλήρωση (McCullough, 2009).

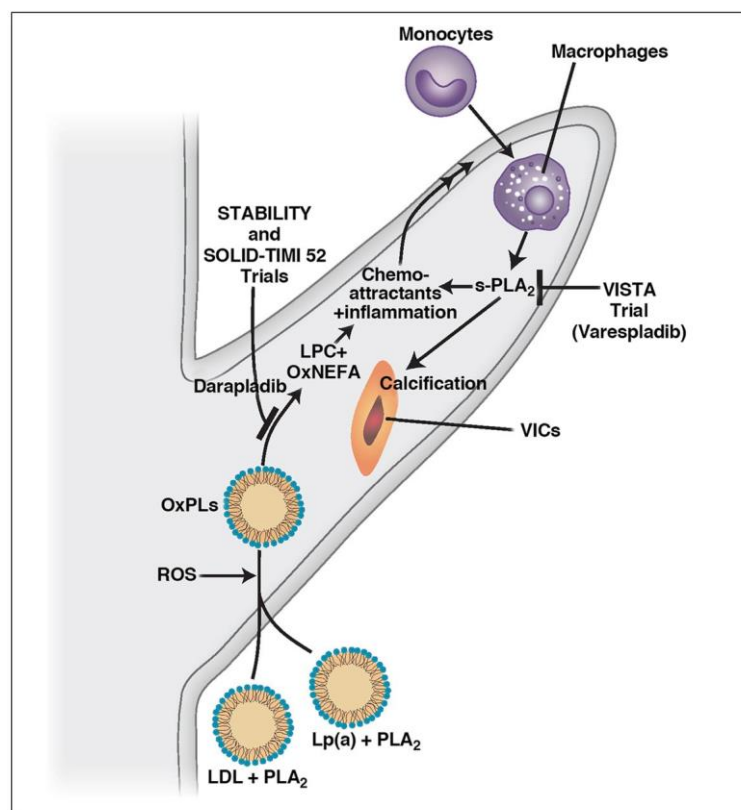
Οι ερευνητικές προσπάθειες ανεύρεσης αναστολέων της Lp-PLA₂, οδήγησαν στη δημιουργία φαρμάκων της Lp-PLA₂. Από την κατηγορία των αναστολέων, το SB-480848, με την εμπορική ονομασία Darapladib (Glaxo Smith Kline, Philadelphia, PA) έχει κυρίως χρησιμοποιηθεί στις κλινικές μελέτες. Το 2008 η ομάδα Mohler et al. των σε μια τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή κλινική μελέτη, στην οποία αναλύθηκαν η δραστικότητα Lp-PLA₂ και άλλων βιοδεικτών, μετά από του στόματος χορήγηση darapladib και εικονικού φαρμάκου, έδειξαν παρατεταμένη αναστολή της δραστικότητας Lp-PLA₂ πλάσματος στους ασθενείς που λάμβαναν εντατική θεραπεία με ατορβαστατίνη. Ταυτόχρονα, σημειώθηκαν μεταβολές στην IL-6 και hs-CRP και σε διαφορετικές αρχικές τιμές LDL-C και HDL-C, γεγονός που υποδηλώνει πιθανή μείωση του φλεγμονώδους φορτίου (Mohler et al., 2008).

Περαιτέρω μελέτες ασχολήθηκαν με τη συσχέτιση της αναστολής Lp-PLA₂, και πιθανών ευνοϊκών επιδράσεων στα συμβάντα CVDs. Πρόσφατα, εκτιμήθηκε η δραστικότητα της Lp-PLA₂ σε ασθενείς με σταθερή στεφανιαία καρδιακή νόσο πριν και κατά τη διάρκεια της θεραπείας με Darapladib, σε σχέση με τα αποτελέσματα της μελέτης STABILITY (Stabilization of Atherosclerotic Plaque by Initiation of Darapladib Therapy). Η εν λόγω μελέτη είναι μια τυχαιοποιημένη, διπλά-τυφλή, ελεγχόμενη, κλινική μελέτη, με 15.828 συμμετέχοντες ασθενείς με χρόνια στεφανιαία νόσο οι οποίοι ελάμβαναν καθημερινά 160 mg φαρμάκου ή εικονικού φαρμάκου. Από τη μελέτη φάνηκε ότι το Darapladib δεν μείωσε σημαντικά το βαθμό των αρχικών καταλυτικών συμβάντων καρδιαγγειακού θανάτου, εμφράγματος του μυοκαρδίου ή εγκεφαλικού επεισοδίου (Stability Investigators et al., 2014).

Βασιζόμενοι στην ίδια μελέτη οι Wallentin και συνεργάτες προσδιόρισαν την δραστικότητα της Lp-PLA₂ πλάσματος κατά την έναρξη, σε ένα μήνα και διαδοχικά σε 3, 6, 18 μήνες και στο τέλος της θεραπείας. Η θεραπεία με Darapladib οδήγησε σε σταθερή μείωση της μέσης δραστικότητας της Lp-PLA₂ έως 65%, ωστόσο η φαρμακολογική μείωση της δραστικότητας του ενζύμου δεν μείωσε σημαντικά τα καρδιακά συμβάντα σε ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο, ανεξάρτητα από τη γραμμή αναφοράς και το μέγεθος αλλαγής της δραστικότητας της Lp-PLA₂. Ως εκ τούτου, φαίνεται ότι η συσχέτιση της υψηλής δραστικότητας

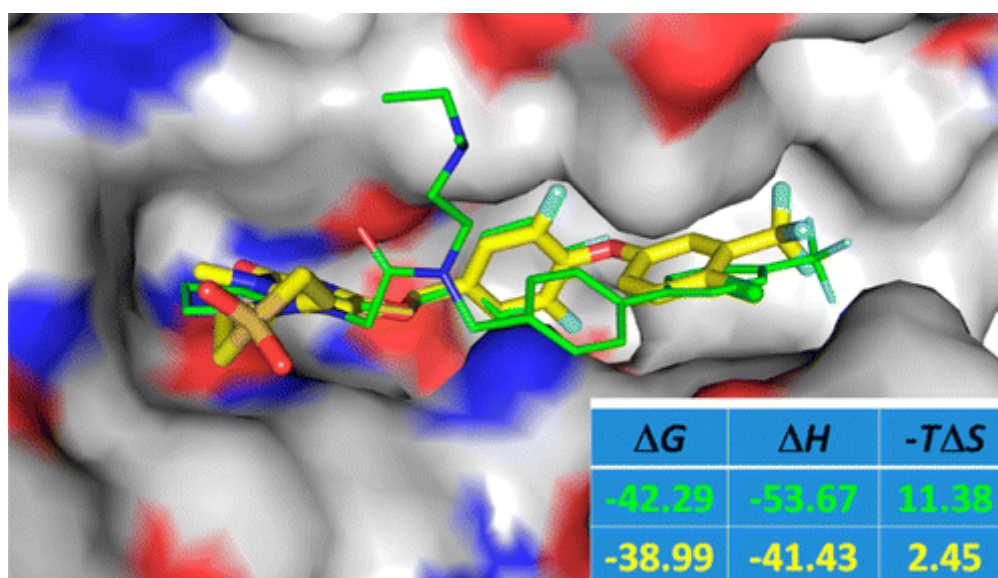
της Lp-PLA₂ με τον αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών επεισοδίων την καθιστούν ως έναν αξιόπιστο δείκτη, αλλά όχι ένα αποτελεσματικό αιτιακό στόχο σε ασθενείς με σταθερή νόσο (Wallentin et al., 2016).

Η αποτυχία του αναστολέα Darapladib της Lp-PLA₂, για τη μείωση του κινδύνου μείζονος στεφανιαίας νόσου υποδεικνύει ότι αυτό το ένζυμο μπορεί να είναι βιοδείκτης της αγγειακής φλεγμονής και όχι αιτιακής οδού καρδιαγγειακών παθήσεων. Αυτά τα ευρήματα, μαζί με την αποτυχία του εκκριντικού αναστολέα PLA₂ varespladib, που χρησιμοποιήθηκε στη δοκιμή VISTA-16 (Nicholls et al., 2014), για τη θεραπεία της καρδιαγγειακής νόσου δείχνουν ότι απαιτούνται βαθύτερες γνώσεις σχετικά με αυτά τα ένζυμα (Kokotou et al., 2017).



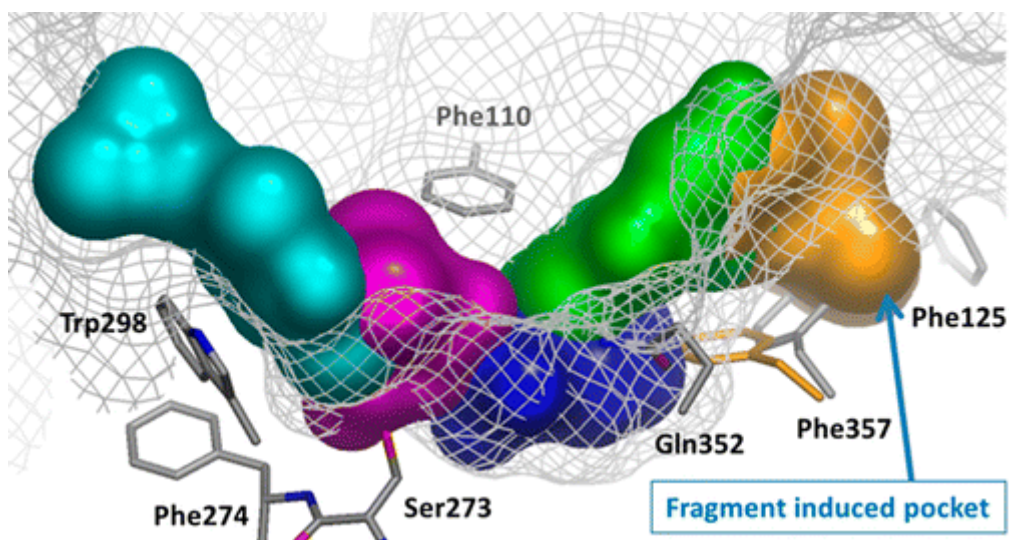
Εικόνα 13. Απεικόνιση ενός πτερυγίου της αορτικής βαλβίδας. Η εικόνα δείχνει τους στόχους του darapladib (Lp-PLA₂ αναστολέας) που χρησιμοποιήθηκε στις δοκιμές SOLID-TIMI 52 και STABILITY και του varespladib (s-PLA₂ αναστολέας) που χρησιμοποιήθηκε στη δοκιμή VISTA-16 (Nicholls et al., 2014).

Η Lp-PLA₂ είναι ένα ένζυμο που εκφράζεται από φλεγμονώδη κύτταρα. Μεταφέρεται στην κυκλοφορία όπου συνδέεται κυρίως με λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL) + PLA₂ και με την Lp(a) [Lp(a)+PLA₂]. Η LDL και η Lp(a) υφίσταται οξείδωση με αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS) στην αορτική βαλβίδα. Αυτά τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια (OxPLs) στη συνέχεια μετατρέπονται σε φωσφατιδυλοχολίνη (LPC) και οξειδωμένα μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα (OxNEFA), τα οποία προσλαμβάνουν μονοκύτταρα στη βαλβίδα. Ενεργοποιημένα μονοκύτταρα / μακροφάγα απελευθερώνουν εκκριτική φωσφολιπάση A₂ (s-PLA₂), η οποία προάγει την περαιτέρω διάσπαση των OxPLs (Εικόνα 13). Η φωσφατιδυλοχολίνη (LPC) είναι επίσης ένα ερέθισμα για την ασβεστοποίηση των ενδιάμεσων κυττάρων βαλβίδας (VICs) (Nicholls et al., 2014).



Εικόνα 14. Υψηλή ακαμψία στη δομή της Lp-PLA₂ (Liu et al., 2016).

Σε πρόσφατη μελέτη, γίνεται αναφορά στις πρώτες κρυσταλλικές δομές της Lp-PLA₂ δεσμευμένες με αναστρέψιμους αναστολείς και στο θερμοδυναμικό χαρακτηρισμό συμπλόκων (Εικόνα 14). Από την υψηλή ακαμψία της δομής της Lp-PLA₂, φάνηκε ότι η ανασταλτική δραστηριότητα αφενός έχει μοριακή βάση, αφετέρου αναδεικνύονται κάποια βασικά χαρακτηριστικά αναγνώρισης του ενζύμου με αναστρέψιμους αναστολείς (Liu et al., 2016).



Εικόνα 15. Η δημιουργία θραυσμάτων ως στόχος για την αναστολή των αυξημένων επιπέδων της Lp-PLA₂ (Woolford et al., 2016).

Οι τελευταίες έρευνες έχουν στραφεί στην παρατήρηση θραυσμάτων (Εικόνα 15) και την εκμετάλλευση νέων θυλάκων της Lp-PLA₂, για τη δημιουργία νέων μοριακών χημειοτύπων που δεν αλληλεπιδρούν με τα καταλυτικά υπολείμματα (Woolford et al., 2016).

2.2 Η σχέση της *Lp-PLA₂* με το μεταβολικό σύνδρομο

Το μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ) και η αθηροσκλήρωση αποτελούν χρόνιες φλεγμονώδεις καταστάσεις (Park et al., 2009). Πλέον, το μεταβολικό σύνδρομο χαρακτηρίζεται από έναν αριθμό ισχυρών αλληλένδετων παραγόντων που αυξάνουν τον κίνδυνο για καρδιαγγειακές παθήσεις. Αυτοί περιλαμβάνουν τη δυσλιπιδαιμία, την υπέρταση, την παχυσαρκία (ιδιαίτερα την κεντρική παχυσαρκία) και την αντίσταση στην ινσουλίνη (Scott et al., 2003, Isomaa et al., 2003).

Έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί που προσπαθούν να εξηγήσουν τη συσσώρευση των μεταβολικών διαταραχών και των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και τη συσχέτιση της εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων με το μεταβολικό σύνδρομο, μέσω ενός αξιόπιστου δείκτη συστηματικής φλεγμονής (Isomaa et al., 2003, Sattar et al., 2003). Ένας τέτοιος μηχανισμός έχει εξετασθεί μέσω της αξιολόγησης της έκφρασης της *Lp-PLA₂*, σε μια διασταυρούμενη μελέτη, που έλαβε χώρα σε μια ομάδα φοιτητών με ΜΣ. Τα επίπεδα των μετρήσεων του mRNA της *Lp-PLA₂*, ήταν υψηλότερα σε ασθενείς με ΜΣ και επίσης συσχετίστηκαν σημαντικά με την περίμετρο της μέσης ($r=0.462$, $p=0,003$) και τη συστολική πίεση του αίματος ($r=0.392$, $p=0,015$), καθώς επίσης και με τη χοληστερόλη λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας ($r= -0.453$, $p=0,003$). Στα συμπεράσματα της μελέτης, προτάθηκε η πρόβλεψη των αγγειακών επιπλοκών στο μεταβολικό σύνδρομο, μέσα από τα επίπεδα έκφρασης της *Lp-PLA₂*, καθώς η συστηματική φλεγμονή φαίνεται να έχει ρόλο στην παθογένεση της αθηροσκλήρωσης σε ασθενείς με ΜΣ (Garg et al., 2016).

Φαρμακολογική μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε καλλιέργειες κυττάρων (MM6, monocyte-macrophage-6), προσπάθησε να εξηγήσει την ικανότητα προφλεγμονωδών παραγόντων, όπως του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF) και του λιποπολυσακχαρίτη (LPS) να επάγουν την έκφραση της ακετυλοϋδρολάσης του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF-AH), μέσω της ρύθμισης της έκφρασης του *PAF-AH*, με τη χρήση φαρμακολογικών αναστολέων. Τα επίπεδα mRNA του *PAF-AH* αυξήθηκαν κατά την έκθεση σε LPS ή PAF με τρόπο δοσο-εξαρτώμενο. Ο LPS προκάλεσε μια μεγαλύτερη και ταχύτερη αύξηση στην έκφραση του *PAF-AH* συγκριτικά με την απόκριση λόγω έκθεσης στον PAF. Ωστόσο, η ταυτόχρονη χορήγηση οδήγησε σε ισχυρότερη απόκριση συγκριτικά με την αποκλειστική χορήγηση LPS, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο PAF αυξάνει την απόκριση που διεγείρεται με LPS. Η έκφραση του *PAF-AH* λόγω LPS υπέστη μερική αναστολή από τον

παράγοντα P38 MAPK και ανταγωνιστές του υποδοχέα του PAF. Η αύξηση της έκφρασης του *PAF-AH* λόγω PAF μεσολαβείται μόνο μέσω του υποδοχέα PAF και είναι ανεξάρτητη από τον P38 MAPK (Howard et al., 2011).

Έχει παρατηρηθεί ότι οι συνταξιούχοι παίκτες ποδοσφαίρου (National Football League, NFL), έχουν παρουσιάσει υψηλότερο επιπολασμό παχυσαρκίας, σύμφωνα με τον ορισμό του δείκτη μάζας σώματος ($\Delta M\S \geq 30 \text{ kg/m}^2$) και του μεταβολικού συνδρόμου συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό (Hanley et al., 2005). Επίσης, από επιδημιολογικά δεδομένα έχει φανεί υψηλό ποσοστό παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου σε αυτήν την κατηγορία αθλητών, αν και εμφάνιζαν υψηλά επίπεδα καρδιοαναπνευστικής αντοχής, ως ενεργοί παίκτες (Hartgens & Kuipers, 2004, Angell et al., 2012). Διασταυρούμενη μελέτη των Pokharel και συνεργατών που έγινε σε αυτόν τον πληθυσμό, είχε ως σκοπό να εξετάσει αν υφίσταται η σχέση της Lp-PLA₂ με τα καρδιαγγειακά που παρατηρείται στο γενικό πληθυσμό. Μετρήθηκε η μάζα της Lp-PLA₂, σε διάφορες υποομάδες, χωρίς ωστόσο να φανεί κάποια σχέση με την στεφανιαία νόσο (CAC, coronary artery calcium) και την πλάκα καρωτιδικής αρτηρίας (CAP, carotid artery plaque). Παράλληλα, παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση της Lp-PLA₂ με τις αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες, τη χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας (LDL) και την χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας (HDL), ενώ παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση με την συγκέντρωση των σωματιδίων LDL (LDL-P) και το δείκτη μάζας σώματος ($\Delta M\S$). Ουδεμία σχέση παρατηρήθηκε με την hs-CRP (high-sensitivity C-reactive protein) (Pokharel et al., 2014). Ωστόσο, οι παρατηρήσεις που προέκυψαν αφορούν περιορισμένο είδος δείγματος.

Έχει προταθεί ότι οι διαφορετικές θέσεις της Lp-PLA₂ στις λιποπρωτεΐνες LDL/HDL επηρεάζουν τη λειτουργία και το φυσιολογικό ρόλο της Lp-PLA₂ και η μη φυσιολογική κατανομή μπορεί να συσχετιστεί με ασθένειες (Tellis & Tselipis, 2009). Η Lp-PLA₂ έχει αποδειχθεί ότι είναι περισσότερο δραστική όταν εντοπίζεται σε σωματίδια LDL σε σχέση με HDL (Stafforini et al., 1989). Γενικά, οι LDLs είναι οι προτιμώμενοι φορείς λιποπρωτεΐνης για την Lp-PLA₂ στην κυκλοφορία, γεγονός που θα μπορούσε να εξηγήσει γιατί οι προηγούμενες προοπτικές κλινικές μελέτες συνδέουν υψηλά επίπεδα Lp-PLA₂ στο πλάσμα με δυσμενείς καρδιαγγειακές εκβάσεις (Brilakis et al., 2004, Koenig et al., 2004, Sabatine et al., 2007).

Το μεταβολικό σύνδρομο έχει αναφερθεί ως προ-φλεγμονώδης κατάσταση (Ritchie, Miller & Smiciklas-Wright, 2005). Οι προ-αθηρογονικές δράσεις της Lp-PLA₂ στην LDL (LDL-Lp-PLA₂) θεωρείται ότι αποδίδονται στα οξειδωμένα ελεύθερα λιπαρά οξέα και τα

λυσωφωσφολιπίδια, τους δύο φλεγμονώδεις μεσολαβητές που παράγονται από την υδρόλυση των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων (oxPL) από την Lp-PLA₂ (Tellis & Tselepis, 2009).

2.2.1 Ορισμός Διαβήτη, Προδιαβήτη, Μεταβολικού Συνδρόμου

Σύμφωνα με την Καναδική Διαβητολογική Ένωση (Canadian Diabetes Association, CDA), ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μια μεταβολική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από την παρουσία της υπεργλυκαιμίας, λόγω ελαττωματικής έκκρισης ινσουλίνης, ελαττωματική δράση της ινσουλίνης ή και τα δύο. Σε καταστάσεις χρόνιας υπεργλυκαιμίας από την παρουσία διαβήτη, έχουν παρατηρηθεί μακροχρόνια ειδικές επιπλοκές, μικροαγγειακές, που επηρεάζουν τα μάτια, τα νεφρά και τα νεύρα, καθώς και αυξημένος κίνδυνος για καρδιαγγειακή νόσο (CVD).

Ο όρος «προδιαβήτης» αναφέρεται σε διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας (Impaired Fasting Glycemia, IGF), διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη (Impaired Glucose Tolerance, IGT) ή αυξημένη γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (Glycohemoglobin, HbA1c ή A1c), τοποθετώντας τα άτομα σε κατηγορία υψηλού κινδύνου σε σχέση με την εμφάνιση διαβήτη ή τις επιπλοκές του. Ένα σημαντικό ποσοστό ατόμων που διαγνώστηκαν με IGF ή IGT θα επανέλθουν σε κανονικά επίπεδα γλυκαιμίας. Συνεπώς δεν προχωρούν υποχρεωτικά σε διαβήτη όλα τα άτομα με προδιαβήτη. Ωστόσο, τα άτομα με προδιαβήτη, στο πλαίσιο εμφάνισης μεταβολικού συνδρόμου, θα επωφεληθούν από την τροποποίηση των παραγόντων κινδύνου (Goldenberg & Punthakee, 2013).

Πλέον αυξανόμενος αριθμός ανθρώπων έρχονται αντιμέτωποι με μια διάγνωση μεταβολικού συνδρόμου (Metabolic Syndrome, MetS). Σχεδόν το 25% του ευρωπαϊκού πληθυσμού και το 32% του αμερικανικού πληθυσμού έχουν μεταβολικό σύνδρομο. Ουσιαστικά, το μεταβολικό σύνδρομο, αποτελεί ένα σύνολο συμπτωμάτων και κλινικών ευρημάτων το οποίο εμπεριέχει όλους εκείνους τους παράγοντες κινδύνου οι οποίοι σχετίζονται με την εμφάνιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων, όπως είναι η υψηλή αρτηριακή πίεση (υπέρταση), η μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη στο αίμα νηστείας και/ή αντίσταση στην ινσουλίνη, τα μη φυσιολογικά επίπεδα λιπιδίων στο αίμα (δυσλιπιδαιμία) και η κοιλιακή παχυσαρκία. Από κλινικές μελέτες έχει φανεί ότι τα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο

διατρέχουν πολλαπλάσιο κίνδυνο να εμφανίσουν καρδιαγγειακή νόσο ή/και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (Goldenberg & Punthakee, 2013).

2.2.2 Ταξινόμηση Διαβήτη

Ο σακχαρώδης διαβήτης μπορεί να ταξινομηθεί στις ακόλουθες γενικές κατηγορίες (American Diabetes Association, 2016):

- Διαβήτης τύπου 1, λόγω καταστροφής των β-κυττάρων του παγκρέατος, που συνήθως οδηγεί σε απόλυτη ανεπάρκεια ινσουλίνης.
- Διαβήτης τύπου 2, λόγω της προοδευτικής απώλειας της έκκρισης ινσουλίνης παρουσία αντίστασης στην ινσουλίνη.
- Διαβήτης κύησης (Gestational diabetes mellitus, GDM) που αναφέρεται σε διαβήτη που διαγνώστηκε στο δεύτερο ή τρίτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης και μπορεί να είναι αναστρέψιμος.
- Ειδικοί τύποι διαβήτη που οφείλονται σε άλλες αιτίες, συμπεριλαμβανομένων των συνδρόμων μονογονιδιακού διαβήτη, όπως ο νεογνικός διαβήτης (neonatal diabetes, NDY) και ο σακχαρώδης διαβήτης των νέων [maturity-onset diabetes of the young, MODY]), των ασθενειών του εξωκρινικού παγκρέατος (όπως κυστική ίνωση) και φαρμάκων- ή χημικών- (όπως με τη χρήση γλυκοκορτικοειδών, στη θεραπεία του HIV / AIDS ή μετά από μεταμόσχευση οργάνων).
- Σπάνιες μορφές διαβήτη, όπου απαντώνται τα σύνδρομα Wolfram, Wolcott-Rallison, Alstrom, Berardinelli-Seip, Λεπρεκρωνισμός.

Στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται οι μορφές σακχαρώδους διαβήτη και οι αντίστοιχοι αιτιολογικοί παράγοντες, όπως περιγράφονται από τα Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά (ΕΔΧ, 2010).

Πίνακας 4. Αιτιολογική ταξινόμηση σακχαρώδους διαβήτη.

Κατηγορίες ΣΔ	Μορφές ΣΔ	Αιτιολογικοί παράγοντες
ΣΔ τύπου 1	Αυτοάνοσος, ιδιοπαθής	Καταστροφή των β-κυττάρων που οδηγεί σε πλήρη ανεπάρκεια ινσουλίνης
ΣΔ τύπου 2	Κυμαινόμενος από κυρίαρχη ινσουλινο-αντίσταση με σχετική ανεπάρκεια ινσουλίνης μέχρι κυρίαρχη διαταραχή στην έκκριση ινσουλίνης με συνοδό ινσουλινο-αντίσταση.	
Ειδικό ΣΔ	Γενετικές λειτουργικές διαταραχές β-κυττάρων	Χρωμόσωμα 12, HNF-1α (MODY 3), Χρωμόσωμα 7, ανεπάρκεια γλυκοκινάσης (MODY 2), Χρωμόσωμα 20, HNF-4α (MODY 1), Χρωμόσωμα 13, προαγωγέας ινσουλίνης IPF-1 (MODY 4), Χρωμόσωμα 17, HNF-1β (MODY 5), Χρωμόσωμα 2, NeuroD1 (MODY 6), Μιτοχονδριακό DNA, Άλλες διαταραχές
	Γενετικές διαταραχές δράσης της ινσουλίνης	Αντίσταση στην ινσουλίνη τύπου A, Λέπρα, Σύνδρομο Rabson-Mendenhall, Λιποατροφικός διαβήτης, Άλλες διαταραχές
	Παθήσεις εξωκρινούς μοίρας παγκρέατος	Παγκρεατίτιδα, Τραύμα/παγκρεατεκτομή, Νεοπλασία, Κυστική ίνωση, Αιμοχρωμάτωση, Ινσασβεστοποιός παγκρεατοπάθεια, Άλλες παθήσεις
	Ενδοκρινοπάθειες	Ακρομεγαλία, Σύνδρομο Cushing, Γλουκαγόνωμα, Φαιοχρωμοκύττωμα, Υπερθυρεοειδισμός, Σωματοστατίνωμα, Αλδοστερόνωμα, Άλλες παθήσεις
	Φαρμακευτικός ή χημικός ΣΔ	Vacor, Πενταμιδίνη, Νικοτινικό οξύ, Γλυκοκορτικοειδή, Θυρεοειδικές ορμόνες, Διαζοξίδη, Β-αδρενεργικοί αγωνιστές, Θειαζίδες, Dilantin, Α-ιντερφερόνη
		Άλλοι παράγοντες
	Λοιμώξεις	Συγγενής ερυθρά, Κυτταρομεγαλοϊός, Άλλες
ΣΔ κύησης	Οποιοσδήποτε βαθμός διαταραχής της ανοχής στη γλυκόζη με επιδείνωση ιδίως στο τρίτο τρίμηνο.	
Σπάνιες μορφές ΣΔ	Μορφές αυτοάνοσου ΣΔ	Σύνδρομο “stiff-man”, Αντισώματα έναντι του υποδοχέα της ινσουλίνης, Άλλες μορφές
	Άλλα γενετικά σύνδρομα σχετιζόμενα με ΣΔ	Σύνδρομο Down, Σύνδρομο Klinefelter, Σύνδρομο Turner, Σύνδρομο Wolfram, Αταξία Friedreich, Χορεία Huntington, Σύνδρομο Laurence-Moon-Biedl, Μυοτονική δυστροφία, Πορφυρία, Σύνδρομο Prader-Wili, Άλλα σύνδρομα

Πηγή: Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά 23, 1:78-86, 2010

2.2.3 Διαγνωστικά Κριτήρια Διαβήτη και Προδιαβήτη

Η επιλογή των κριτηρίων ελέγχου για τη διάγνωση του διαβήτη επαφίεται στην κλινική κρίση. Τα ίδια κριτήρια χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση και διάγνωση του διαβήτη και για την ανίχνευση ατόμων με προδιαβήτη. Ο διαβήτης μπορεί να εντοπιστεί είτε σε άτομο με φαινομενικά χαμηλό κίνδυνο που έτυχαν της δοκιμασίας γλυκόζης, είτε σε άτομα που εξετάστηκαν προκειμένου να γίνει εκτίμηση κινδύνου για εμφάνιση διαβήτη και σε συμπτωματικούς ασθενείς (American Diabetes Association, 2016).

Τα διαγνωστικά κριτήρια για τον διαβήτη συνοψίζονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5. Κριτήρια για τη διάγνωση του διαβήτη (ADA, 2016).

Γλυκόζη νηστείας, Fasting Plasma Glucose, FPG ≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L). Η νηστεία ορίζεται ως μηδενική θερμιδική πρόσληψη για τουλάχιστον 8 h.
Μεταγευματική γλυκόζη πλάσματος, μετά 2ωρο, Plasma Glucose, 2-h PG ≥ 200 mg/dL (75g OGTT≥ 11.1 mmol/L), κατά τη διάρκεια ενός ελέγχου ανοχής στη γλυκόζη (Oral Glucose Tolerance Test, OGTT). Η δοκιμασία πρέπει να εφαρμόζεται με βάση τις οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO), χρησιμοποιώντας ένα φορτίο γλυκόζης το οποίο περιέχει το ισοδύναμο 75g άνυδρης γλυκόζης διαλυμένης σε νερό. *
Γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη, Glycated hemoglobin, HbA1c $\geq 6.5\%$ (48 mmol/mol). Η δοκιμασία θα πρέπει να διεξάγεται σε εργαστήριο με τη χρήση μεθόδου που είναι πιστοποιημένη κατά NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program) και έχει τυποποιημένη μέθοδο αναφοράς (Diabetes Control and Complications Trial, DCCT). *
Ή
Σε έναν ασθενή με κλασσικά συμπτώματα υπεργλυκαιμίας ή υπεργλυκαιμικής κρίσης, μια τυχαία γλυκόζη πλάσματος GP ≥ 200mg/dL (11.1 mmol/L) , ανεξάρτητα από την πρόσληψη τροφής. Τα κλασσικά συμπτώματα υπεργλυκαιμίας περιλαμβάνουν πολυουρία, πολυδιψία και ανεξήγητη απώλεια βάρους.
* Εφόσον δεν υπάρχει μονοσήμαντη υπεργλυκαιμία, τα αποτελέσματα θα πρέπει να επιβεβαιώνονται με επαναλαμβανόμενη δοκιμή, σε επόμενη μέρα.

2.2.4 Διαγνωστικά Κριτήρια Μεταβολικού Συνδρόμου

Έχουν διατυπωθεί προτάσεις τεκμηρίωσης του μεταβολικού συνδρόμου από διεθνείς οργανισμούς προκειμένου να αναγνωρίζονται οι ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization, WHO, 1998) εισήγαγε την αντίσταση στην ινσουλίνη ως πρωταρχικό παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη του μεταβολικού συνδρόμου και συνεπώς βασικό διαγνωστικό κριτήριο (Alberti et al., 1998), παράλληλα με δύο πρόσθετους παράγοντες κινδύνου (WHO, 1998). Η Ευρωπαϊκή Ομάδα για τη Μελέτη της Ινσουλινο-αντίστασης (European Group for Study of Insulin Resistance, EGIR, 1999) επιβεβαίωσε την πρόταση του ΠΟΥ, με μια διαφοροποίηση, δίνοντας έμφαση στην κοιλιακή παχυσαρκία (Balkau et al., 1999).

Η 3^η έκθεση του Εθνικού Εκπαιδευτικού Προγράμματος για την αντιμετώπιση της Χοληστερόλης των Ενηλίκων (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III, NCEP - ATP III, 2001), στόχευσε στον ευκολότερο προσδιορισμό του μεταβολικού συνδρόμου στην κλινική πράξη, ώστε να είναι εύκολα αναγνωρίσιμα τα άτομα υψηλού κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα. Όρισε τη συνύπαρξη τριών εκ των πέντε κριτηρίων, προκειμένου να γίνει η διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου και έδωσε έμφαση στην κεντρικού τύπου παχυσαρκία, ως βασική αιτία ινσουλινοαντίστασης (Adult Treatment Panel III, 2002). Η Αμερικανική Εταιρεία Κλινικών Ενδοκρινολόγων (American Association of Clinical Endocrinologists, AACE, 2003), επανέρχεται στην επισήμανση της αντίστασης στην ινσουλίνη, συστήνοντας την εξέταση ανοχής στη γλυκόζη (Oral Glucose Tolerance Test, OGTT).

Η Διεθνής Ομοσπονδία για τη Διαβήτη (International Diabetes Federation, IDF, 2005) έχει επισημάνει την ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στην κοιλιακή παχυσαρκία και την ινσουλινο-αντίσταση και έχει συμπεριλάβει την κοιλιακή παχυσαρκία χωρίς την αντίσταση στην ινσουλίνη στη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου. Το Διεθνές Καρδιολογικό, Πνευμονολογικό, Αιματολογικό Ινστιτούτο (National Heart, Lung and Blood Institute, NHLBI), σε συνεργασία με την Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία (American Heart Association, AHA), αφαίρεσε την κοιλιακή παχυσαρκία από απαραίτητη προϋπόθεση ορισμού του μεταβολικού συνδρόμου και προσδιόρισε πέντε παράγοντες κινδύνου με τρεις τουλάχιστον να αποτελούν κριτήρια διάγνωσης (Grundy et al., 2005). Στον πίνακα 6, παρουσιάζονται τα κριτήρια διάγνωσης συνοπτικά.

Πίνακας 6. Κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου σε ενήλικες

Κλινικές μετρήσεις	Harmonization (2009)	AHA/NHLBI (2005)	IDF (2005)	AACE (2003)	NCEP-ATP III (2001)	EGIR (1999)	Π.Ο.Υ. (1999)
Ινσουλινο-αντίσταση	Κανένα κριτήριο + 3 από τους παρακάτω παράγοντες	Κανένα κριτήριο + 3 από τους παρακάτω παράγοντες	Κανένα κριτήριο	IGT, IGF + 1 από τους παρακάτω παράγοντες	Κανένα κριτήριο, 3 από τους παρακάτω παράγοντες	Ινσουλίνη πλάσματος >75° εκατοστημόριο + 2 από τους παρακάτω παράγοντες	IGT, IGF, T2D ή χαμηλή ινσουλινο- ευαισθησία + 2 από τους παρακάτω παράγοντες
Περιφέρεια μέσης / παχυσαρκία	Άνδρες: >102cm Γυναίκες: >88cm	Άνδρες: >102cm Γυναίκες: >88cm	Άνδρες: >94cm Γυναίκες: >80cm	BMI >25kg/m ²	Άνδρες: >102cm Γυναίκες: >88cm	Άνδρες: >94 cm Γυναίκες: >80cm	Άνδρες:>0.90 Γυναίκες:>0.85
Λιπίδια αίματος / δυσλιπιδαιμία	TG >150 mg/dL ή σε θεραπευτική αγωγή Άνδρες: HDL-C< 40 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 50 mg/dL ή σε θεραπευτική αγωγή	TG >150 mg/dL ή σε θεραπευτική αγωγή Άνδρες: HDL-C< 40 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 50 mg/dL ή σε θεραπευτική αγωγή	TG >150 mg/dL ή σε θεραπευτική αγωγή Άνδρες: HDL-C< 40 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 50 mg/dL ή σε θεραπευτική αγωγή	TG >150 mg/dL και Άνδρες: HDL-C< 40 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 50 mg/dL	TG >150 mg/dL και Άνδρες: HDL-C< 40 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 50 mg/dL	TG >150 mg/dL και/ή HDL-C< 39 mg/dL	TG >150 mg/dL και/ή Άνδρες: HDL-C< 35 mg/dL Γυναίκες: HDL- C< 39 mg/dL
Αρτηριακή πίεση / υπέρταση	>130 mm Hg SBP ή >85 mm Hg DBP ή σε θεραπευτική αγωγή (Rx)	>130 mm Hg SBP ή >85 mm Hg DBP ή σε θεραπευτική αγωγή (Rx)	>130 mm Hg SBP ή >85 mm Hg DBP ή σε θεραπευτική αγωγή (Rx)	>130/85 mm Hg	>130/85 mm Hg	>140/90 mm Hg ή σε θεραπευτική αγωγή (Rx)	>140/90 mm Hg
Γλυκόζη νηστείας / υπεργλυκαιμία	>100 mg/dL ή T2D	>100 mg/dL ή T2D	>100 mg/dL ή T2D	IGT, IFG	>110 mg/dL ή T2D	IGT, IFG	IGT, IFG ή T2D
Παράγοντες ινσουλινο-αντίστασης	-	-	-	√	-	-	-
Μικροαλβουμινουρία	-	-	-	-	-	-	√

Συντομογραφίες: IGT, Impaired Glucose Tolerance; IFG, Impaired Fasting Glucose; T2D, Type 2 Diabetes Mellitus; WHR, Waist-to-Hip Ratio; BMI, Body Mass Index; TG, Triglycerides; HDL-C, HDL-Cholesterol; WC, Waist Circumference; SBP, Systolic Blood Pressure; DBP, Diastolic Blood Pressure;* Ινσουλινο-ευαισθησία όπως αξιολογείται σε συνθήκες υπερινσουλιναϊμίας – ευγλυκαιμίας;

**Οικογενειακό ιστορικό T2D, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, καθιστικός τρόπος ζωής, προχωρημένη ηλικία, εθνότητες με αυξημένη προδιάθεση για εμφάνιση T2D

πηγές: Grundy et al., 2005, Alberti et al., 2009

Αν και έχουν δημοσιευθεί διάφορα πρωτόκολλα για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, όλα συμφωνούν στους 5 βασικούς παράγοντες κινδύνου. Για να διαγνωστεί κάποιος με μεταβολικό σύνδρομο, θα πρέπει να εμφανίζει τουλάχιστον 3 από τα παρακάτω ή να είναι σε φαρμακευτική αγωγή για κάποιο/α από αυτά (Zubin Punthakee, 2013):

1. Περίμετρος Μέσης >94 cm για τους άνδρες και >80 cm για τις γυναίκες
2. Τριγλυκερίδια ορού >150 mg/dl
3. HDL-C <40 mg/dl για τους άνδρες και <50 mg/dl για τις γυναίκες
4. ΑΠ >130/85 mmHg
5. Γλυκόζη νηστείας >100 mg/dl

Σύμφωνα με τον Αμερικάνικη Ένωση για το Διαβήτη (Canadian Diabetes Association, CDA), ο εναρμονισμένος ορισμός του μεταβολικού συνδρόμου φαίνεται από τα κριτήρια του Πίνακα 7:

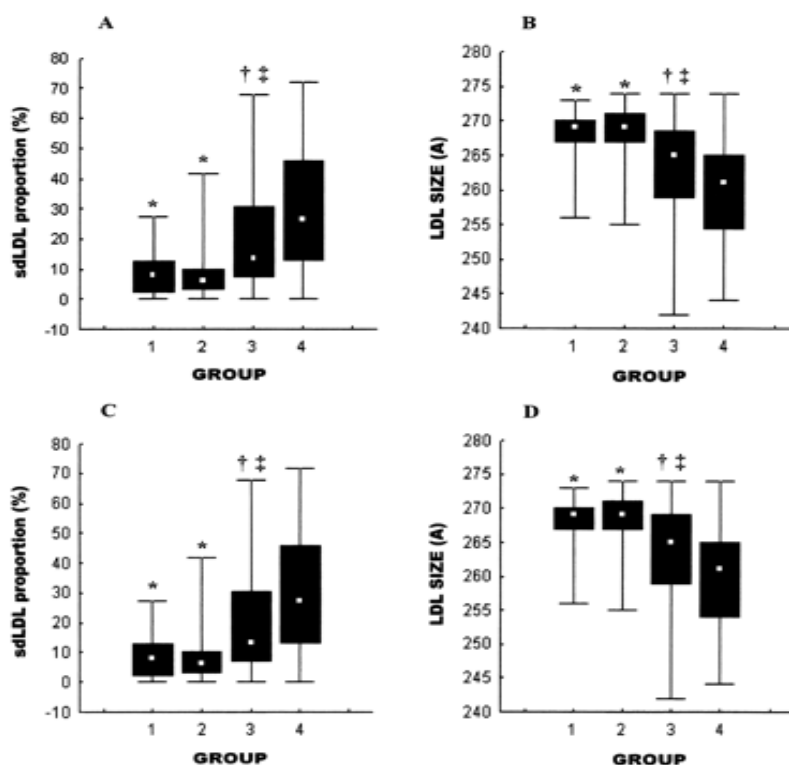
Πίνακας 7. Εναρμονισμένος ορισμός μεταβολικού συνδρόμου: απαιτούνται ≥ 3 μετρήσεις για να γίνει η διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου.

Μέτρηση	Κατηγορικές μεταβλητές	
	Άντρες	Γυναίκες
Κεντρική παχυσαρκία (βάσει πληθυσμού): • Καναδάς, Ηνωμένες Πολιτείες • Ευρώπη, Μέση Ανατολή, Υποσαχάρια Αφρική, Μεσόγειος • Ασία, Ιαπωνία, Νότια και Κεντρική Αμερική	Περιφέρεια μέσης (WC) ≥ 102 cm ≥ 94 cm ≥ 90 cm	Περιφέρεια μέσης (WC) ≥ 88 cm ≥ 80 cm ≥ 80 cm
Δυσλιπιδαιμία: • Αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων TG στο αίμα (ή φαρμακευτική αγωγή) • Χαμηλά επίπεδα HDL-C (ή φαρμακευτική αγωγή)	≥ 1.7 mmol/L (150mg/dl) < 1.0 mmol/L στους άνδρες, < 1.3 mmol/L στις γυναίκες	
Υπέρταση: Υψηλή αρτηριακή πίεση (ΑΠ) (ή αντί-υπερτασική φαρμακευτική αγωγή)	Συστολική (ΣΑΠ) ≥ 130 mm Hg και/ή Διαστολική (ΔΑΠ) ≥ 85 mm Hg	
Υπεργλυκαιμία: Αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα νηστείας (FPG) (ή φαρμακευτική αγωγή)	≥ 5.6 mmol/L (100mg/dl)	

Συντομογραφίες: BP, blood pressure; FPG, fasting plasma glucose; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; SBP, Systolic Blood Pressure; DBP; Diastolic Blood Pressure, TG, triglycerides; WC, Waist Circumference.

Πηγή: Alberti et al., 2009

Αρκετές μελέτες έχουν αναφερθεί σε διαφορές στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των λιποπρωτεϊνών, μεταξύ υγιών και διαβητικών ατόμων. Στο σημείο αυτό πρέπει να σημειωθεί ότι οι διαταραχές του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών που παρατηρούνται στις δυσλιπιδαιμίες αποτελούν τον κύριο παράγοντα μεταβολής των επιπέδων της Lp-PLA₂ στο πλάσμα. Πρωτογενής φορέας της Lp-PLA₂ στο πλάσμα αποτελεί η sdLDL (μικρά πυκνά σωματίδια LDL) (Gazi et al., 2005).



Εικόνα 16: Η ανάλυση Kruskal-Wallis των αναλογιών sdLDL (A και C) και του μεγέθους σωματιδίων LDL (B και D) μεταξύ των συμμετεχόντων σε ομάδες ανάλογα με τις συγκεντρώσεις των τριγλυκεριδίων στον ορό και τη συνολική δραστικότητα της Lp-PLA₂ πλάσματος (A και C) ή της non-HDL-Lp-PLA₂ (B και D). □, διάμεσος; ■, 25ο-75ο εκατοστημόριο. Γραμμές σφάλματος, ελάχιστο-μέγιστο. **(A και B):** Ομάδα 1, δραστικότητα Lp-PLA₂ <53,8 nmol · mL⁻¹ · min⁻¹ και τριγλυκερίδια <1,356 mmol/L; Ομάδα 2, δραστικότητα Lp-PLA₂ >53,8 nmol · mL⁻¹ · min⁻¹ και τριγλυκερίδια <1,356 mmol/L; Ομάδα 3, δραστικότητα Lp-PLA₂ <53,8 nmol · mL⁻¹ · min⁻¹ και τριγλυκερίδια >1,356 mmol/L; Ομάδα 4, δραστικότητα Lp-PLA₂ >53,8 nmol · mL⁻¹ · min⁻¹ και τριγλυκερίδια >1,356 mmol/L. *, P < 0,01 σε σύγκριση με τις ομάδες 3 και 4, †, P < 0,01 σε σύγκριση με τις ομάδες 3 και 4, ‡, p < 0,01 σε σύγκριση με την ομάδα 4. **(C και D):** Ομάδα 1, δραστικότητα non-HDL-Lp-PLA₂ <51,4 nmol · mL⁻¹ · min⁻¹ και τριγλυκερίδια <1,356 mmol/L; Ομάδα 2, δραστικότητα non-HDL-Lp-PLA₂ >51,4 nmol · mL⁻¹ · min⁻¹ και τριγλυκερίδια <1,356 mmol/L; Ομάδα 3, δραστικότητα non-HDL-Lp-PLA₂ <51,4 nmol · mL⁻¹ · min⁻¹ και τριγλυκερίδια >1,356 mmol/L; Ομάδα 4, δραστικότητα non-HDL-Lp-PLA₂ >51,4 nmol · mL⁻¹ · min⁻¹ και τριγλυκερίδια >1,356 mmol/L. *, P < 0,01 σε σύγκριση με τις ομάδες 3 και 4, †, P < 0,01 σε σύγκριση με τις ομάδες 3 και 4, ‡, p = 0,001 σε σύγκριση με την ομάδα 4 (Gazi et al, 2005).

Η Lp-PLA₂ έχει χαρακτηριστεί ως δείκτης μικρών πυκνών σωματιδίων LDL στο ανθρώπινο πλάσμα. Σε συγκεντρώσεις τριγλυκεριδίων στον ορό >1,356 mmol/L, η συνολική δραστικότητα της ολικής Lp-PLA₂ πλάσματος και η non-HDL-Lp-PLA₂ έχει φανεί ότι συνεισφέρουν σημαντικά στην πρόβλεψη της παρουσίας sdLDL στο πλάσμα. Ωστόσο η κατανομή της Lp-PLA₂ έχει αναλυθεί σε υγιή άτομα, όχι σε ασθενείς με διαβήτη. Ως συμπέρασμα της μελέτης των Gazi et al. (Gazi et al, 2005) σημειώθηκε ότι η δραστικότητα της Lp-PLA₂ και όχι η μάζα του ενζύμου αποτελεί δείκτη της sdLDL στο ανθρώπινο πλάσμα (Εικόνα 16).

Στην περίπτωση ασθενών με διαβήτη έχει φανεί ότι τα επίπεδα των oxLDL, και γλυκοζυλιωμένης (gl-LDL) είναι αυξημένα (Hoogveen et al., 2007, Cohen, Lautenslager & Shea, 1993) και μπορούν να διαφοροποιηθούν περαιτέρω ανάλογα με το φαινότυπο LDL των ασθενών, όταν το μέγεθος σωματιδίων της LDL είναι πάρα πολύ μικρό (φαινότυπος B, LDL<25,5nm). Μια πιθανή εξήγηση, θα μπορούσε να είναι ότι το sdLDL χαρακτηρίζεται από μειωμένο ρυθμό κάθαρσης από το πλάσμα, ο οποίος θα μπορούσε να οδηγήσει σε αυξημένο χρόνο παραμονής στο αίμα και να ευνοήσει περαιτέρω τροποποιήσεις.

Όταν εξετάσθηκε η κατανομή της Lp-PLA₂, φάνηκε ότι η σχετιζόμενη με την apo-B και η συνολική δραστικότητα της Lp-PLA₂, ήταν υψηλότερες σε ασθενείς με φαινότυπο B σε σχέση με την ομάδα ελέγχου και την ομάδα με φαινότυπο A (LDL>25,5nm), ενώ ήταν μικρότερη η σχετιζόμενη με την HDL δραστικότητα της Lp-PLA₂. Συνεπώς, τα μικρότερα σωματίδια LDL (ομάδα με φαινότυπο B) συσχετίστηκαν με μικρότερη αναλογία Lp-PLA₂ σχετιζόμενη με HDL και υψηλότερη λιποπρωτεϊνών apo-B (Sánchez-Quesada, et al., 2013).

Μελέτες επίσης σε φαινομενικά υγιή ελληνικό πληθυσμό, έχουν δείξει ότι η δραστικότητα της Lp-PLA₂ στους άνδρες, σχετίζεται με την κοιλιακή παχυσαρκία, που θεωρείται ανεξάρτητος παράγοντας εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων και αποτελεί επίσης κριτήριο μεταβολικού συνδρόμου. (Detoroulou et al., 2009).

2.2.5 Αξιολόγηση Μεταβολικού Συνδρόμου μέσω της Lp-PLA₂

Η ανάλυση της Lp-PLA₂ έχει προταθεί για την πληρέστερη αξιολόγηση του μεταβολικού συνδρόμου, σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2, καθώς έχει συσχετιστεί σημαντικά με τη σχέση μέσης-ισχίου, τα τριγλυκερίδια, την HDL-χοληστερόλη και την LDL-χοληστερόλη. Η Lp-PLA₂ έχει βρεθεί σημαντικά υψηλότερη σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο σε σχέση με εκείνα χωρίς αυτό, ενώ έχει παρατηρηθεί ότι υπάρχει μια γραμμική αύξηση της Lp-PLA₂ με την αύξηση του αριθμού των κριτηρίων του μεταβολικού συνδρόμου (Noto, Chitkara & Raskin, 2006).

Αντίστοιχα, έχει φανεί μείωση των επιπέδων του ενζύμου, σε περιπτώσεις βελτίωσης του λιπιδαιμικού προφίλ. Ένα πρόγραμμα παρέμβασης που διεξήχθη σε 28 παχύσαρκες μη διαβητικές γυναίκες, είχε ως σκοπό να μελετήσει την επίδραση της απώλειας βάρους στη δραστικότητα της Lp-PLA₂ και το φαινότυπο LDL των ατόμων αυτών. Μια μέση απώλεια βάρους ίση με 10 (SD: 5) kg, οδήγησε σε βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ, μέσω της μείωσης των επιπέδων της ολικής χοληστερόλης, της LDL-χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων και μείωση της Lp-PLA₂. Η μέση διάμετρος των LDL σωματιδίων δεν άλλαξε, μετά από το πρόγραμμα απώλειας βάρους (Filippatos et al., 2006).

Από μια άλλη μελέτη των επιπτώσεων της δίαιτας χαμηλών θερμίδων στη δραστικότητα της Lp-PLA₂, εξετάσθηκε η αλλαγή της δραστικότητας της Lp-PLA₂ με τις μεταβολές της sdLDL, πρωτογενή φορέα της Lp-PLA₂ στο πλάσμα. Αξιολογήθηκαν οι ανθρωπομετρικές παράμετροι, οι παράμετροι του μεταβολισμού της γλυκόζης, το προφίλ των λιπιδίων, η δραστικότητα της Lp-PLA₂, και ο φαινότυπος LDL. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι μια δίαιτα που προκαλεί 10% απώλεια βάρους σε παχύσαρκες γυναίκες, είχε ως αποτέλεσμα σημαντική βελτίωση στις περισσότερες παραμέτρους του μεταβολισμού λιπιδίων και γλυκόζης και ταυτόχρονα μια σημαντική μείωση της δραστικότητας της Lp-PLA₂ (-10.2%, $p < 0.01$). Η μέση διάμετρος των σωματιδίων της LDL δεν άλλαξε μετά το πρόγραμμα απώλειας βάρους. Τα επίπεδα χοληστερόλης της λιποπρωτεΐνης πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) και τα πολύ πυκνά σωματίδια χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL) μειώθηκαν σημαντικά, αλλά ούτε τα επίπεδα χοληστερόλης των σωματιδίων sdLDL ούτε η σχετική αναλογία της sdLDL-χοληστερόλης επί της συνολικής LDL-χοληστερόλης άλλαξε μετά την παρέμβαση του προγράμματος. Ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι η μεταβολή της δραστικότητας της Lp-PLA₂ πλάσματος συσχετίστηκε με τις αλλαγές στα επίπεδα της VLDL-χοληστερόλης ($r = 0,39$, $p < 0.05$), όχι όμως με τις αλλαγές στις ανθρωπομετρικές μεταβλητές και τα άλλα λιπίδια. Η

σχέση της δίαιτας χαμηλών θερμίδων με την απώλεια βάρους και την μείωση των επιπέδων της Lp-PLA₂, θα μπορούσε να θεωρηθεί ως ένας δυνητικά νέος προγνωστικός παράγοντας για τα περιστατικά αθηροσκληρωτικής νόσου του πλάσματος (Tzotzas et al., 2008).

Πίνακας 8. Μέση συγκέντρωση^a των ox-LDL και ICAM-1 σε υπο-ομάδες της μελέτης ARIC.

Ομάδα	ox-LDL (U/l)			ICAM-1 (ng/ml)		
	Μέση τιμή	95% CI	p	Μέση τιμή	95% CI	p
Σύνολο	39,3	38,1-40,5		266,0	259,5-272,5	
Φύλο:			0,005			0,448
Άντρες	41,6	39,6-43,6		263,0	254,3-271,7	
Γυναίκες	38,0	36,5-39,5		267,7	258,9-276,5	
Εθνικότητα:			0,595			<0,001
Λευκοί	39,4	38,0-40,9		278,0	270,6-285,5	
Αφρικανοί-Αμερικάνοι	38,8	37,1-40,5		218,1	205,1-231,2	
Καπνιστές:			0,321			<0,001
Ναι	40,5	37,8-43,1		317,0	300,9-333,1	
Όχι	39,0	37,7-40,3		251,4	244,1-258,6	
Μεταβολικό Σύνδρομο:			0,031			0,287
Με ΜΣ	42,3	39,4-45,2		264,4	257,4-271,4	
Χωρίς ΜΣ	38,7	37,3-40,0		273,7	257,7-289,6	
Συστηματική φλεγμονή (σκορ):			0,309			<0,001
>4 δείκτες ΜΣ	38,5	36,5-40,5		284,7	274,6-294,8	
>3 δείκτες ΜΣ	39,8	38,3-41,3		254,8	245,9-263,6	

^aδιόρθωση ως προς ηλικία, φύλο, εθνικότητα και κάπνισμα.

Πηγή: Hoogeveen et al., 2007.

Στη μελέτη των Hoogeven et al. (Hoogeven et al, 2007), βασισμένη στα δεδομένα της προοπτικής μελέτης ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities Study), σκοπός ήταν η αξιολόγηση του ρόλου του οξειδωτικού στρες στην αιτιολογία του διαβήτη τύπου 2. Τα αυξημένα επίπεδα ox-LDL και sICAM-1 στο πλάσμα συσχετίστηκαν με αυξημένο κίνδυνο διαβήτη τύπου 2. Στις παρατηρήσεις της μελέτης μεταξύ άλλων, αναφέρεται ότι τα επίπεδα της ox-LDL πλάσματος ήταν σημαντικά υψηλότερα στα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο έναντι εκείνων χωρίς μεταβολικό σύνδρομο, στους άνδρες έναντι των γυναικών, ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στο πλάσμα μεταξύ λευκών και Αφρικανών Αμερικανών, καπνιστών και μη καπνιστών ή ατόμων με ή χωρίς συστηματική φλεγμονή. Αντίθετα, τα μέσα επίπεδα της sICAM-1 ήταν σημαντικά υψηλότερα στους Αφρικανούς Αμερικανούς, στους καπνιστές έναντι των μη καπνιστών και στα άτομα με υψηλότερη βαθμολογία συστηματικής φλεγμονής, ενώ δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών ή μεταξύ ατόμων με μεταβολικό σύνδρομο και εκείνων χωρίς μεταβολικό σύνδρομο (Πίνακας 8). Με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης, θα μπορούσαν να αξιολογηθούν και άλλα μέτρα σχετιζόμενα με τη συστηματική φλεγμονή, όπως η Lp-PLA₂, αλλά και να αξιολογηθούν συγκεκριμένες οδοί αναστολής για την πρόληψη του διαβήτη, αλλά και επωφελείς στην πρόληψη του μεταβολικού συνδρόμου (Hoogeven et al., 2007).

Τα επίπεδα sICAM-1 στο πλάσμα συσχετίστηκαν θετικά με τα επίπεδα των φλεγμονωδών δεικτών που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της βαθμολογίας φλεγμονής (με συντελεστές συσχέτισης Spearman 0,09 - 0,23) (Πίνακας 9). Με την εξαίρεση μιας μέτριας θετικής συσχέτισης με το σιαλικό οξύ ($r = 0,12$), δεν φάνηκαν σημαντικοί συσχετισμοί μεταξύ των επιπέδων ox-LDL στο πλάσμα και των άλλων φλεγμονωδών δεικτών. Ως προς το μεταβολικό σύνδρομο, η ox-LDL στο πλάσμα συσχετίστηκε θετικά με την τριακυλογλυκερόλη, την περιφέρεια μέσης, τη γλυκόζη αίματος και τη συστολική ΑΠ (με συντελεστές συσχέτισης Spearman 0,04- 0,28) και αρνητικά με την HDL-C ($r = -0,25$). Τα επίπεδα ox-LDL στο πλάσμα είχαν ισχυρή θετική συσχέτιση με την LDL-C ($r = 0,56$, $p < 0,0001$). Τα επίπεδα κυκλοφορούντος sICAM-1 συσχετίστηκαν θετικά με την τριακυλογλυκερόλη πλάσματος ($r = 0,20$) και αρνητικά με την HDL-C στο πλάσμα ($r = -0,18$). Δεν βρέθηκαν σημαντικοί συσχετισμοί μεταξύ των επιπέδων του sICAM-1 στο πλάσμα και της περιφέρειας της μέσης, της γλυκόζης νηστείας ή της συστολικής ΑΠ (Hoogeven et al., 2007).

Πίνακας 9. Συσχέτιση των ox-LDL και ICAM-1 με κριτήρια του μεταβολικού συνδρόμου και φλεγμονώδεις δείκτες στην προοπτική μελέτη *ARIC*.

Παράγοντας	ox-LDL		ICAM-1	
	Spearman <i>R</i>	<i>p</i> value	Spearman <i>R</i>	<i>p</i> value
Δείκτες φλεγμονής				
Οροσωματιδιακή (ORM, α1AGp) orosomucoid	0.02	0.69	0.23	<0.001
CRP	0.04	0.27	0.12	0.001
IL-6	-0.02	0.59	0.19	<0.001
White blood cell count	-0.02	0.53	0.21	<0.001
Σιαλικό οξύ	0.12	0.002	0.10	0.013
Ινωδογόνο	0.004	0.91	0.09	0.021
Σκορ φλεγμονής	0.03	0.40	0.22	<0.001
Κριτήρια μεταβολικού συνδρόμου				
HDL-χοληστερόλη	-0.25	<0.001	-0.18	<0.001
Τριακυλογλυκερόλη	0.28	<0.001	0.20	<0.001
Περιφέρεια μέσης	0.13	0.001	0.06	0.15
Γλυκόζη νηστείας	0.10	0.01	-0.01	0.88
Συστολική ΑΠ	0.04	0.29	-0.01	0.86

Πηγή: Hoogeveen et al., 2007.

Σε διπλά τυφλή, τυχαιοποιημένη, διασταυρούμενη δοκιμή, που διεξήχθη σε 25 άτομα (2 υγιείς, μη καπνιστές άνδρες και 23 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες), με μέτρια υπερτριγλυκεριδαιμία, (TG=150-500mg/dL) για συνολικό διάστημα 14 εβδομάδων (8 εβδομάδες θεραπεία και 6 εβδομάδες έκπλυση), χορηγήθηκε 0 γρ./ημέρα EPA+DHA, 0,85 γρ./ημέρα EPA+DHA (χαμηλή δόση), και 3,4γρ./ημέρα EPA+DHA (υψηλή δόση). Σκοπός της

μελέτης ήταν να συγκριθούν οι επιδράσεις των δυο συγκεντρώσεων στη μάζα και τη δραστικότητα της Lp-PLA₂. Αν και σε μικρό δείγμα, η θεραπεία με την υψηλή δόση φάνηκε να μειώνει στατιστικά σημαντικά τις συγκεντρώσεις των apoB και apoC-III και έδειξε μια μέτρια μείωση της μάζας, αλλά μη στατιστικά σημαντική (6%, $p=0,1$) και της δραστικότητας της Lp-PLA₂ (16 ng/mL, $p=0,03$) (Ann, Alauronic & Kris-Etherton, 2015).

Οι Russo και συνεργάτες αξιολόγησαν την επίδραση αλλαγών στον τρόπο ζωής, μέσα από ένα πρόγραμμα άσκησης με συχνότητα δυο φορές την εβδομάδα σε μια μικρή ομάδα υπέρβαρων / παχύσαρκων ατόμων. Παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση του μεταβολικού προφίλ, συμπεριλαμβανομένου του δείκτη μάζας σώματος, της περιφέρειας μέσης, της συστολικής και διαστολικής αρτηριακής πίεσης, της γλυκόζης και των τριγλυκεριδίων πλάσματος. Ταυτόχρονα παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της μέγιστης κατανάλωσης οξυγόνου και της μυϊκής ισχύος. Από μετρήσεις σε γνωστούς αθηρογόνους παράγοντες παρατηρήθηκε βελτίωση του αθηρογόνου προφίλ. Η βελτίωση προέρχεται από αντι-αθηρογόνες αλλαγές, όπως σημαντική αύξηση στις δραστικότητες παραοξονάσης και λακτονάσης και στη συγκέντρωση των απολιποπρωτεϊνών A1 (apoA1) και μείωση των επιπέδων oxLDL στην κυκλοφορία, χωρίς μεταβολές στα επίπεδα των κυκλοφορούντων LDL και HDL (Russo et al., 2016).

Αρκετές μελέτες, έχουν ασχοληθεί με την επίδραση διατροφικών παραγόντων και φαρμάκων στη δράση της Lp-PLA₂. Μια εντατική θεραπεία με στατίνες έχει θεωρηθεί υπεύθυνη για το 20% της μείωσης της LDL-Lp-PLA₂ (O'Donoghue, et al., 2006).

Η φαρμακευτική θεραπεία, όταν συνδυάζεται με την τροποποίηση των παραγόντων του τρόπου ζωής, όπως δίαιτα και άσκηση, έχει φανεί ότι μπορεί να μειώσει σημαντικά τα επίπεδα τόσο της LDL χοληστερόλης όσο και της Lp-PLA₂ (Reddy et al., 2009).

Σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο, οι οποίοι ακολουθούσαν δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά και λάμβαναν φαρμακευτική αγωγή για την υπερχοληστερολαιμία, χορηγήθηκε ορλιστάτη (orlistat) ή φενοφιβράτη (fenofibrate) ή συνδυασμός των δυο φαρμάκων, για διάστημα 6 μηνών. Παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της δραστικότητας της Lp-PLA₂, σε όλες τις ομάδες (14%, 22% και 35%, αντίστοιχα) σε σύγκριση με τη δραστικότητα

προ έν αρχής της παρέμβασης. Συνεπώς, προτάθηκε ο συνδυασμός των δυο θεραπειών ως βέλτιστη θεραπεία (Filippatos et al., 2007).

Στη μελέτη των Pedersen και συνεργατών (Pedersen et al., 2009) δεν παρατηρήθηκε επίδραση στη δραστικότητα της Lp-PLA₂, στο πλάσμα, κατά τη χορήγηση ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) σε 60 υγιείς εθελοντές, ηλικίας 21-57 ετών (μέση ηλικία 38 έτη) σε κανένα από τα δυο επίπεδα δόσεων που μελετήθηκαν (χαμηλή δόση, 2,0 g, ή υψηλή δόση 6,6 g) (Pedersen et al., 2009).

Ωστόσο, με τη χορήγηση χοληστερόλης σε πειραματικές μελέτες που έχουν γίνει σε κουνέλια, προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της διατροφής, έχει παρατηρηθεί αύξηση της δραστικότητας της LDL-Lp-PLA₂, που εν συνεχεία μειώνεται εξαιτίας της χορήγησης του φαρμάκου σιμβαστατίνη (simvastatin), ως θεραπεία (Zhang et al., 2006).

Στη μελέτη NHS (Nurses' Health Study), τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση της δραστικότητας της Lp-PLA₂, με τη λήψη ορμονικής θεραπείας κατά την εμμηνόπαυση, με την αντικατάσταση του 5% της ενέργειας των υδατανθράκων από πρωτεΐνες και με την αύξηση της κατανάλωσης αλκοόλ κατά 15 γρ./ημέρα. Αντίθετα, το κάπνισμα, το σωματικό βάρος (BMI: 25 – 29,9 kg/m²), η λήψη ασπιρίνης, η ηλικία και η υπερχοληστερολαιμία συσχετίστηκαν με αύξηση της δραστικότητας της Lp-PLA₂. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στους άνδρες που συμμετείχαν στη μελέτη HPFS (Health Professionals Follow-Up Study). Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκαν θετικές συσχετίσεις ανάμεσα στη δραστικότητα της Lp-PLA₂ και την ηλικία, το σωματικό βάρος (BMI: 25 – 29,9 kg/m²) και την υπερχοληστερολαιμία. Αντίθετα, παρατηρήθηκαν αρνητικές συσχετίσεις με τη λήψη φαρμακευτικής αγωγής για υπερχοληστερολαιμία και κατανάλωση αλκοόλ (Hatoum et al., 2010).

Ωστόσο, η μέτρια κατανάλωση αιθανόλης (40γρ./ημέρα), για διάστημα 3 εβδομάδων, δεν φάνηκε να επηρεάζει τη δραστικότητα της Lp-PLA₂, παρά την αύξηση της συγκέντρωσης της HDL-χοληστερόλης και τη μείωση της LDL-χοληστερόλης κατά 18,2% και 7,8% αντίστοιχα, σε νεαρούς άνδρες (18-25 ετών) (Beulens, Joline, et al., 2008).

Πρόσφατη τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, προοπτική μελέτη διερεύνησε την επίδραση 3,36 γρ. ω-3 λιπαρών οξέων (DHA+EPA) στην αρτηριακή δυσκαμψία σε υπερτασικά άτομα, μέσω της ταχύτητας παλμικού κύματος (PWV, pulse wave velocity) και των δεικτών φλεγμονής ορού. Φάνηκε μια μικρή, μη στατιστικά σημαντική επίδραση στην μάζα της Lp-PLA₂. Ωστόσο,

δεν ελέγχθηκαν τυχόν αλληλεπιδράσεις των ω-3 λιπαρών οξέων (n-3 PUFA) με την δραστικότητα του ενζύμου στο πλάσμα (Krantz et al., 2015).

Σε διπλά τυφλή, τυχαιοποιημένη, κλινική μελέτη, με εικονικό σκεύασμα, που διεξήχθη σε 120 άτομα με επίπεδα τριακυλογλυκερόλης πλάσματος μη νηστείας 1,7-5,65 mmol/l (150-500 mg/dL), διερευνήθηκαν οι επιδράσεις από τη χορήγηση 3 γρ./ημέρα μακράς αλύσου ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (EPA, DHA), για διάστημα 8 εβδομάδων. Η χορήγηση αιθυλεστέρων ω3 PUFA (EE-PUFA), είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της μάζας της Lp-PLA₂ (p<0.001) και την αύξηση του δείκτη ω-3 λ.ο. (περιεκτικότητα μεμβράνης ερυθροκυττάρων σε EPA+DHA). Η χορήγηση ω3 PUFA με τη μορφή μορίων ακυλογλυκερόλης (AG-PUFA) είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του καρδιακού ρυθμού κατά 3 παλμούς ανά λεπτό και της γλυκόζης πλάσματος μη νηστείας, καθώς και την αύξηση της HDL-χοληστερόλης (Hedengran, et al., 2015).

Η μεταγευματική αύξηση της δραστικότητας και της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην παθογένεση του μεταβολικού συνδρόμου. Σε πειραματικές μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε κουνέλια, έχει βρεθεί ότι η κατανάλωση εκχυλισμάτων άγριων χόρτων (*Reichardia Picroides* ή γαλατσίδα, *Cynara cardunculus* ή αγριαγκινάρα, *Urospermum picroides* ή αγριοζοχός, *Chrysanthemum coronarium* ή μαντηλίδα) αναστέλλουν σημαντικά την επαγόμενη από τον παράγοντα PAF, συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων. Σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο παρατηρήθηκε μείωση της αύξησης της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων μεταγευματικά, μετά από κατανάλωση άγριων χόρτων (Fragoroulou et al., 2012).

Η φυσική αντιφλεγμονώδης ένωση ρεσβερατρόλη μεταβολίζεται κατά την κατάποση. Οι θειωμένοι μεταβολίτες της ρεσβερατρόλης (RES, resveratrol) έχουν παρουσιάσει ένα ενδιαφέρον ευεργετικό δυναμικό για την εξασθένιση των φλεγμονωδών ανοσοποιητικών διεργασιών, καθώς έχει φανεί μια αντιοξειδωτική ικανότητα in vitro. Η αυξημένη λιποφιλία έχει αναφερθεί ότι βελτιώνει την απορρόφηση, ως εκ τούτου διαφαίνεται ότι απαιτείται σε βάθος έρευνα για την επεξήγηση των μηχανισμών των αντιφλεγμονωδών διεργασιών των φαινολικών ενώσεων (Schueller et al., 2015, Pignitter et al., 2016).

Η επίδραση της κατανάλωσης οίνου στη δραστικότητα των μεταβολικών ενζύμων του PAF και στα επίπεδα της IL-6 ως φλεγμονώδη δείκτη κυτοκινών, αξιολογήθηκε συγκριτικά με

την κατανάλωση κρασιού (κρασί Robola ή Cabernet Sauvignon), ή διαλύματος αιθανόλης ή νερού, παράλληλα με ένα τυποποιημένο γεύμα. Διαπιστώθηκε σημαντική μείωση στη δραστικότητα της ακετυλοτρανσφεράσης Lyso-PAF (Lyso-PAF-AT) και της PAF-χολινوترανσφεράσης (PAF-CPT), ενώ δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση στα επίπεδα της Lp-PLA₂ και της IL-6 (Argyrou, et al., 2017).

Ωστόσο, έχει φανεί μια αντίστροφη σχέση του PAF και των βιοσυνθετικών ενζύμων του με τροφές πλούσιες σε αντιοξειδωτικά, με ένα συνολικό αντιοξειδωτικό διαιτητικό πρότυπο (DAC, dietary antioxidant capacity) καθώς και με ένα υγιεινό διαιτητικό πρότυπο που χαρακτηρίζεται από όσπρια, λαχανικά, πουλερικά και ψάρια. Ως προς τα ένζυμα καταβολισμού του PAF, η δραστικότητα της PAF-ακετυλοϋδρολάσης (PAF-AH), ενδοκυτταρικής ισομορφής της Lp-PLA₂, φάνηκε να συσχετίζεται αρνητικά με τον καφέ και θετικά με την κατανάλωση αλκοόλ. Η δραστικότητα της Lp-PLA₂ δεν συσχετίστηκε με κάποια ομάδα τροφίμων (Detoroulou et al., 2015).

Έχει προταθεί ότι πρέπει να μελετώνται συνολικά διαιτητικά πρότυπα, καθώς τα μεμονωμένα είδη τροφίμων θα μπορούσαν να έχουν συνεργιστική και ανταγωνιστική επίδραση στην υγεία (Panagiotakos et al., 2006).

Το διαιτητικό πρότυπο που φαίνεται να πλησιάζει περισσότερο τους μηχανισμούς δράσεις και να έχει περισσότερο ευεργετικές επιδράσεις στην ενδοθηλιακή λειτουργία είναι η Μεσογειακή Διατροφή (MD, Mediterranean Diet). Στη μελέτη των Επτά χωρών σημειώθηκαν τα ευεργετικά αποτελέσματα της Μεσογειακής Διατροφής στην πρόληψη των καρδιαγγειακών παθήσεων. Επίσης, οι παρεμβάσεις με Μεσογειακή Διατροφή έχουν δείξει μείωση των καρδιαγγειακών συμβάντων, τόσο στην πρωτογενή, όπως στη μελέτη PREDIMED, όσο και στη δευτερογενή πρόληψη, όπως στη μελέτη Lyon Diet Heart Study (Detoroulou et al., 2015).

Σύμφωνα με τον ορισμό της, η Μεσογειακή Διατροφή ουσιαστικά περιγράφει την παραδοσιακή κρητική διατροφή που έχει τα χαρακτηριστικά που συνοψίζονται στον Πίνακα 10 (Trichopoulou & Lagiou, 2001, Trichopoulou et al., 2005).

Πίνακα 10. Χαρακτηριστικά Μεσογειακής Διατροφής.

Χαρακτηριστικά Μεσογειακής Διατροφής (MD, Mediterranean Diet)
Υψηλή περιεκτικότητα σε ολικό λίπος (30-40% της ενέργειας)
Χαμηλή περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά (<9% της ενέργειας)
Αυξημένος λόγος μονοακόρεστων προς κορεσμένα λιπαρά οξέα (>2:1)
Υψηλή περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες, μικροθρεπτικά συστατικά και φυσικά αντιοξειδωτικά/φυτοχημικά
Μέτρια περιεκτικότητα σε ζωικές πρωτεΐνες
Μέτρια περιεκτικότητα σε αλκοόλ (άνδρες: 10 – 50 γρ. αιθανόλης/ημέρα, γυναίκες: 5 – 25 γρ. αιθανόλης/ημέρα) και ιδιαίτερα κρασί (1-2 ποτηράκια/ημέρα)

Πηγή: Trichopoulou & Lagiou, 2001, Trichopoulou et al., 2005

Η Μεσογειακή Διατροφή έχει παρουσιάσει προστατευτική δράση έναντι της ανάπτυξης μεταβολικού συνδρόμου (Chrysoshoou & Panagiotakos, 2004).

Από τη σύγκριση της Μεσογειακής Διατροφής με δίαιτα χαμηλή σε λιπαρά, διαπιστώθηκε ότι το 44% των ασθενών που ακολουθούσαν Μεσογειακή Διατροφή εξακολουθούσαν να παρουσιάζουν μεταβολικό σύνδρομο, έναντι του 86% των ασθενών της ομάδας ελέγχου (Rumawas et al., 2009).

Επίσης, στη μελέτη PREDIMED, οι παρεμβάσεις με Μεσογειακή Διατροφή, όπως ο εμπλουτισμός με ελαιόλαδο και με μείγμα ξηρών καρπών, οδήγησαν σε μείωση του μεταβολικού συνδρόμου (Bullo, Lamuela-Raventos & Salas-Salvado, 2011, Casas-Agustench et al., 2011).

Σύμφωνα με μετανάλυση 50 επιδημιολογικών και κλινικών μελετών, η προσκόλληση στη Μεσογειακή Διατροφή οδήγησε στη μείωση των τριγλυκεριδίων, της συστολικής και διαστολικής ΑΠ, της γλυκόζης πλάσματος και της περιμέτρου μέσης, και αύξησε την HDL-χοληστερόλη. Συνεπώς, συσχετίζεται με μείωση του κινδύνου ανάπτυξης του μεταβολικού συνδρόμου (Koloverou & Panagiotakos, 2014).

ΣΚΟΠΟΣ

Τα αυξημένα επίπεδα της Lp-PLA₂ στο πλάσμα, συσχετίζονται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο, όπως φαίνεται μέσα από επιδημιολογικές μελέτες. Η Lp-PLA₂ διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της αθηροσκλήρωσης. Το σύνολο των μεταβολικών διαταραχών που συνιστούν το μεταβολικό σύνδρομο, οδηγούν σε αθηροσκλήρωση. Η Lp-PLA₂ είναι μια εξειδικευμένη φωσφολιπάση που καταλύει τη υδρόλυση του PAF και των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων που παράγονται από την οξείδωση της LDL εμφανίζουν ισχυρές προ-φλεγμονώδεις δράσεις. Οι συνιστώσες του μεταβολικού συνδρόμου, κεντρικού τύπου παχυσαρκία, δυσλιπιδαιμία, υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης, με κοινό παρανομαστή την ινσουλινο-αντίσταση, μαζί με το κάπνισμα, ερμηνεύουν ένα μεγάλο ποσοστό καρδιαγγειακών επεισοδίων. Περιορισμένες μελέτες έχουν εξετάσει το ρόλο του ενζύμου σε σχέση με το μεταβολικό σύνδρομο. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν διπλός και αφορούσε στη διερεύνηση της επίδρασης:

1. της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ σε δείγμα από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ,
2. της αντιπονεκτικής και διατροφικών παραγόντων στη δραστηριότητα της Lp-PLA₂.

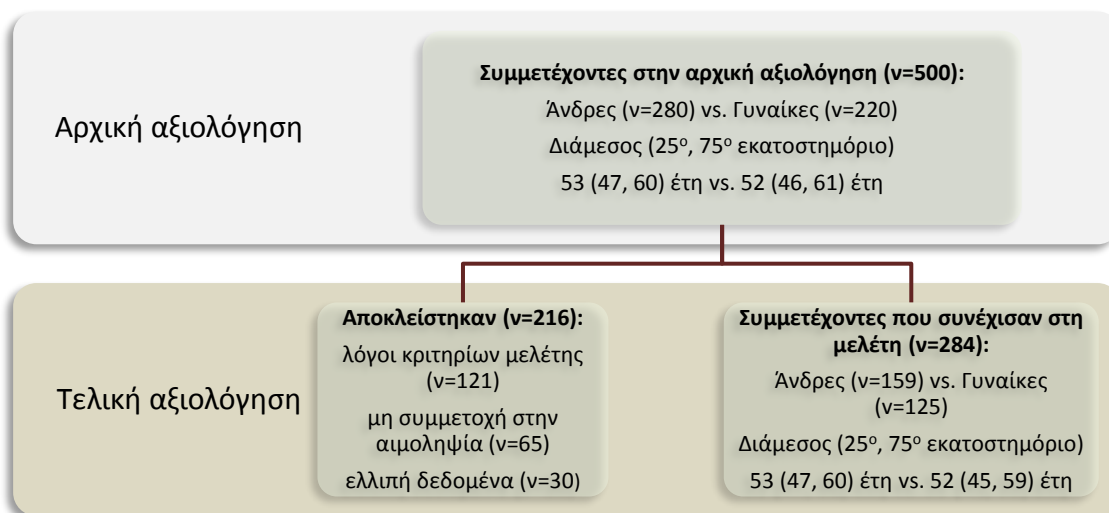
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Πειραματική πορεία και Στατιστική ανάλυση

3.1 Σχεδιασμός

3.1.1 Συμμετέχοντες

Η συγχρονική μελέτη πραγματοποιήθηκε από το 2011 έως το 2012 στην Ελλάδα και συγκεκριμένα στην Αθήνα και την ευρύτερη περιοχή του νομού Αττικής. Οι συμμετέχοντες στη μελέτη προέρχονται από το γενικό πληθυσμό ηλικίας, άνω των 30 ετών και ανταποκρίθηκαν σε πρόσκληση αξιολόγησης της υγείας τους, η οποία αναρτήθηκε στο χώρο εργασίας τους. Στην αρχική αξιολόγηση συμμετείχαν 500 εργαζόμενοι από τους οποίους αποκλείστηκαν συνολικά 216 άτομα, λόγω ελλειπών δεδομένων ή μη τήρησης των κριτηρίων της μελέτης. Συγκεκριμένα, 120 άτομα αποκλείστηκαν λόγω κριτηρίων συμμετοχής στη μελέτη, 65 άτομα λόγω μη συμμετοχής στην αιμοληψία και 30 λόγω ελλειπών δεδομένων σχετικά με την κλινική αξιολόγηση και τους παράγοντες του τρόπου ζωής (Σχήμα 1).



Σχήμα 1. Διάγραμμα ροής. Αριθμός συμμετεχόντων στην αρχική και τελική αξιολόγηση.

3.1.2 Κριτήρια αποκλεισμού

Η εκτίμηση της κλινικής εικόνας των συμμετεχόντων πραγματοποιήθηκε από καρδιολόγους, παθολόγους και νοσηλευτές. Τα κριτήρια αποκλεισμού από την παρούσα μελέτη ήταν 1) η παρουσία καρδιαγγειακής νόσου, 2) οξέος ή χρόνιου φλεγμονώδους νοσήματος, 3) ιογενούς νοσήματος, 4) γρίπης ή κοινού κρυολογήματος, 5) οξείας λοίμωξης του αναπνευστικού, 6) νεφρικής νόσου, 7) σακχαρώδους διαβήτη τύπου 1, 8) οδοντικών προβλημάτων, 9) οποιασδήποτε χειρουργικής επέμβασης κατά τον μήνα που προηγήθηκε της μελέτης.

Αναλυτικά, τα κριτήρια αποκλεισμού εξαιτίας καρδιαγγειακής νόσου αφορούσαν έμφραγμα του μυοκαρδίου, στηθάγχη, καθιερωμένες μορφές ισχαιμίας, αποκατάσταση της αιματώσεως των στεφανιαίων αρτηριών, όπως στην περίπτωση της αορτοστεφανιαίας παράκαμψης και της διαδερμικής παρέμβασης στα στεφανιαία αγγεία, καρδιακή ανεπάρκεια, χρόνια αρρυθμία, εγκεφαλικό επεισόδιο). Ως προς τα οξέα ή χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα αποκλείστηκαν οι περιπτώσεις ρευματοειδούς αρθρίτιδας, φλεγμονώδους νόσου του εντέρου και ατοπικής δερματίτιδας.

Οι συμμετέχοντες στην τελική αξιολόγηση του 10-ετούς επανελέγχου της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ ήταν 284 εργαζόμενοι οι οποίοι πληρούσαν τα κριτήρια της μελέτης και για τους οποίους είχαμε πλήρη δεδομένα σχετικά με τους βιοχημικούς δείκτες, την κλινική εικόνα και τους παράγοντες του τρόπου ζωής. Οι συμμετέχοντες στη μελέτη δεν διέφεραν από εκείνους που αποκλείστηκαν από αυτήν όσον αφορά στην ηλικία και την κατανομή των φύλων ($p > 0,30$). Οι 159 συμμετέχοντες ήταν άνδρες και οι 125 γυναίκες (μέση ηλικία $\pm$ τυπική απόκλιση: 53 ± 9 και 52 ± 9 έτη, αντιστοίχως).

3.1.3 Αξιολόγηση παραγόντων τρόπου ζωής

Η αξιολόγηση των παραγόντων του τρόπου ζωής πραγματοποιήθηκε από εκπαιδευμένους διαιτολόγους.

Οι διατροφικές συνήθειες αξιολογήθηκαν με τη χρήση έγκυρου ημι-ποσοτικού ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (food frequency questionnaire, FFQ) (Bountziouka et al., 2012) και τον υπολογισμό του βαθμού συμμόρφωσης με το πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής (MedDietScore, εύρος τιμών 0-55) (Panagiotakos et al., 2006). Το πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής χαρακτηρίζεται από: (α) καθημερινή κατανάλωση μη

επεξεργασμένων δημητριακών και προϊόντων τους (8 μικρομερίδες/ημέρα), λαχανικών (2-3 μικρομερίδες/ημέρα), φρούτων (4-6 μικρομερίδες/ημέρα), ελαιόλαδου (ως το κύριο προστιθέμενο λίπος) και άπαχων γαλακτοκομικών προϊόντων ή γαλακτοκομικών προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (1-2 μικρομερίδες/ημέρα), (β) εβδομαδιαία κατανάλωση πατατών (4-5 μικρομερίδες/εβδομάδα), ψαριών (4-5 μικρομερίδες/εβδομάδα), ελιών, οσπρίων, ξηρών καρπών (>4 μικρομερίδες/εβδομάδα), πουλερικών (1-3 μικρομερίδες/εβδομάδα), αυγών και γλυκών (1-3 μικρομερίδες/εβδομάδα), (γ) μηνιαία κατανάλωση κόκκινου κρέατος και προϊόντων κρέατος (4-5 μικρομερίδες/μήνα). Ειδικότερα, η κατανάλωση τροφίμων που είναι κοντά σε αυτό το διατροφικό πρότυπο βαθμολογήθηκε με 0 για σπάνια ή καθόλου κατανάλωση, 1 για κατανάλωση 1-4 μικρομερίδων/μήνα, 2 για κατανάλωση 5-8 μικρομερίδων/μήνα, 3 για 9-12 μικρομερίδων/μήνα, 4 για κατανάλωση 13-18 μικρομερίδων/μήνα και 5 για κατανάλωση >18 μικρομερίδων/μήνα (καθημερινή κατανάλωση). Αντιθέτως, η κατανάλωση τροφίμων που απομακρύνονται από την παραδοσιακή Μεσογειακή Διατροφή, όπως το κρέας και τα προϊόντα κρέατος, βαθμολογήθηκε αντιστρόφως, δηλαδή 0 για σχεδόν καθημερινή κατανάλωση έως 5 για σπάνια ή καθόλου κατανάλωση. Σχετικά με την κατανάλωση αλκοολούχων ποτών, η βαθμολογία ήταν 5 για κατανάλωση μικρότερη των 300 mL ημερησίως, 4 για 300 mL/ημέρα, 3 για 400 mL/ημέρα, 2 για 500 mL/ημέρα, 1 για 600 mL/ημέρα και 0 για κατανάλωση είτε >700 mL/ημέρα είτε μηδενική κατανάλωση. Υψηλότερες τιμές του προτεινόμενου διατροφικού δείκτη υποδεικνύουν συμμόρφωση με την παραδοσιακή Μεσογειακή Διατροφή, ενώ χαμηλότερες τιμές υποδεικνύουν συμμόρφωση με το δυτικό πρότυπο διατροφής (Panagiotakos et al., 2006).

Επίσης, αξιολογήθηκαν η κατανάλωση ομάδων τροφίμων, τυριά υψηλής, μέτριας, χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος, γάλα/γιαούρτι πλήρη και μειωμένα σε λιπαρά, αυγά, λευκό ψωμί και αρτοσκευάσματα, ολικής αλέσεως ψωμί και αρτοσκευάσματα, δημητριακά πρωινού, ρύζι και ζυμαρικά, πατάτες, κρέας, κρεατοσκευάσματα υψηλής και χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος, ψάρια, θαλασσινά, όσπρια, λαχανικά, φρούτα, χυμοί φρούτων, αποξηραμένα φρούτα, ξηροί καρποί και σπόροι, γλυκά, επιδόρπια και αλμυρά σνακ, προστιθέμενα σάκχαρα, αλκοολούχα ποτά, αναψυκτικά με και χωρίς ζάχαρη, καφές, σοκολάτα ρόφημα, τσάι και άλλα αφεψήματα, προστιθέμενα λίπη και έλαια. Η κατανάλωση ομάδων τροφίμων εκφράζεται σε μερίδες ανά εβδομάδα. Στη συνέχεια αξιολογήθηκαν η ενεργειακή πρόσληψη, η πρόσληψη μακροθρεπτικών συστατικών (συνολική πρωτεΐνη, συνολικό, κορεσμένο, μονοακόρεστο και πολυακόρεστο λίπος, συνολικοί υδατάνθρακες) καθώς και η πρόσληψη χοληστερόλης,

διαιτητικών ινών και αιθανόλης. Η ενεργειακή πρόσληψη εκφράζεται σε kcal/ημέρα, η πρόσληψη των μακροθρεπτικών συστατικών σε γρ./ημέρα και ως ποσοστό επί της ενεργειακής πρόσληψης, η πρόσληψη διαιτητικών ινών και αιθανόλης σε γρ./ημέρα και χοληστερόλης σε χιλ. γρ./ημέρα. Ο υπολογισμός των παραπάνω συστατικών πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια πινάκων (Τριχοπούλου Α., 2004) και (US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory, Release 28). Τέλος, υπολογίστηκε ο λόγος μονοακόρεστου-προς-κορεσμένου λίπους.

Ως καπνιστές χαρακτηρίστηκαν εκείνοι οι συμμετέχοντες που κάπνιζαν καθημερινά τουλάχιστον ένα τσιγάρο ή είχαν διακόψει το κάπνισμα κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους που προηγήθηκε της μελέτης. Οι υπόλοιποι συμμετέχοντες χαρακτηρίστηκαν ως μη καπνιστές. Ως παθητικοί καπνιστές χαρακτηρίστηκαν εκείνοι οι συμμετέχοντες που είχαν εκτεθεί στον καπνό ενεργών καπνιστών για χρονικό διάστημα άνω των 30 λεπτών την ημέρα και με συχνότητα μεγαλύτερη των 5 ημερών την εβδομάδα. Τα κριτήρια ορισμού του παθητικού καπνίσματος προέκυψαν από μελέτες που έχουν ερευνήσει τις επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στο καρδιαγγειακό σύστημα (Panagiotakos et al., 2004, Barnoya et al., 2005).

Το επίπεδο σωματικής δραστηριότητας αξιολογήθηκε με τη χρήση του διεθνούς ερωτηματολογίου αξιολόγησης της σωματικής δραστηριότητας (International Physical Activity Questionnaire, IPAQ) όπως αυτό τροποποιήθηκε και προσαρμόστηκε στον ελληνικό πληθυσμό. Επίσης, στο ίδιο ερωτηματολόγιο καταγράφηκε η διάρκεια καθιστικών δραστηριοτήτων η οποία εκφράστηκε σε ώρες (Parathanasiou et al., 2009). Η συνολική σωματική δραστηριότητα, η σωματική δραστηριότητα έντονης και μέτριας έντασης, η σωματική δραστηριότητα λόγω περπατήματος εκφράζονται ως μεταβολικά ισοδύναμα (MET) επί την διάρκεια σε λεπτά ανά εβδομάδα (MET.min.week-1).

3.1.4 Κλινική αξιολόγηση

Μετρήθηκε η αρτηριακή πίεση στον δεξιό βραχίονα με τη βοήθεια ηλεκτρονικού πιεσόμετρου. Πραγματοποιήθηκαν δύο μετρήσεις με τους συμμετέχοντες σε καθιστή θέση και μετά την παρέλευση τουλάχιστον 30 λεπτών σε κατάσταση ηρεμίας. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε από καρδιολόγους ή εκπαιδευμένους διαιτολόγους. Οι συμμετέχοντες κατέγραψαν μόνοι τους σε ερωτηματολόγιο την παρουσία διαγνωσμένης από ιατρό

υπέρτασης, υπερλιπιδαιμίας και σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, καθώς και την φαρμακευτική θεραπευτική αντιμετώπιση αυτών των νοσημάτων.

Μετρήθηκαν και καταγράφηκαν η περιφέρεια μέσης, η περιφέρεια ισχίων, το ύψος και το βάρος. Η περιφέρεια μέσης μετρήθηκε στην περιοχή που ορίζεται από τη 12η θωρακική πλευρά και το λαγόνιο οστόν. Η περιφέρεια ισχίων μετρήθηκε στην περιοχή των γλουτών στο ύψος της μέγιστης έκτασης. Το ύψος μετρήθηκε χωρίς υποδήματα, με ακρίβεια 0,5 εκατοστών και το βάρος μετρήθηκε με τη βοήθεια ζυγού με ράβδο εξισορρόπησης (lever balance), χωρίς υποδήματα και με ελαφρά ένδυση, με ακρίβεια 100 γραμμαρίων. Οι περιφέρειες μέσης και ισχίων εκφράζονται σε εκατοστά (cm), το ύψος σε εκατοστά (cm) και το βάρος σε χιλιόγραμμα (kg). Τέλος, υπολογίστηκε ο δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) σε χιλιόγραμμα (kg) ανά τετραγωνικό μέτρο (m^2) ($\text{βάρος}/\text{ύψος}^2$). Βάσει των κριτηρίων του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (Π.Ο.Υ.), το υπερβάλλον βάρος ορίστηκε ως ΔΜΣ από 25 έως και 29,9 kg/m^2 και η παχυσαρκία ορίστηκε ως ΔΜΣ μεγαλύτερος από 29,9 kg/m^2 .

3.1.5 Αιμοληψία και συλλογή ορού πλάσματος

Η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε σε φάση 12ωρης νηστείας, μεταξύ 08:00 και 10:00, στο βιοχημικό εργαστήριο του Ιπποκρατείου Γενικού Νοσοκομείου ή στον εργασιακό χώρο των συμμετεχόντων. Συλλέχθηκε φλεβικό αίμα, με τους συμμετέχοντες σε καθιστή θέση. Είχαν δοθεί οδηγίες σωστής προετοιμασίας των συμμετεχόντων για την ημέρα πριν και ανήμερα της αιμοληψίας σχετικά με την αποχή από την κατανάλωση φαγητού, την ενυδάτωση, το κάπνισμα, την άσκηση και τη λήψη φαρμάκων. Οι οδηγίες αυτές δόθηκαν είτε τηλεφωνικά είτε μέσω ηλεκτρονικού μηνύματος.

Για την παραλαβή του ορού, συλλέχθηκαν 10 mL αίματος σε πλαστικό σωλήνα υπό κενό (BD Vacutainer) με επικάλυψη σιλικόνης και παράγοντα ενεργοποίησης (clot activator, CAT). Μετά τη συλλογή του δείγματος αίματος και την επαρκή ανάμειξη του αίματος με τον παράγοντα ενεργοποίησης (αναποδογύρισμα του σωλήνα 5 φορές), αφέθηκε το αίμα στον σωλήνα να πήξει σε θερμοκρασία δωματίου ($18 - 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) για 60 λεπτά, σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας (BD Vacutainer® Venous Blood Collection, Tube Guide). Η ίδια διαδικασία εφαρμόστηκε σε όλα τα δείγματα. Αμέσως μετά την παρέλευση των 60 λεπτών, πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρωση των σωλήνων στα 1500 x g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και έγινε παραλαβή του ορού ο οποίος μοιράστηκε ισομερώς σε 5 Eppendorf.

Για την παραλαβή του πλάσματος, συλλέχθηκαν 6 mL αίματος σε πλαστικό σωλήνα υπό κενό (BD Vacutainer) με επικάλυψη του αντιπηκτικού παράγοντα EDTA (αιθυλενο-διαμινο τετραοξικό οξύ), συγκεκριμένα καλιούχου άλατος αυτού του παράγοντα (K₂-EDTA ή K₂E, EDTA dipotassium salt). Μετά τη συλλογή του δείγματος αίματος, αναμείχθηκε επαρκώς το αίμα με τον αντιπηκτικό παράγοντα (αναποδογύρισμα του σωλήνα 8 φορές), σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας (BD Vacutainer® Venous Blood Collection, Tube Guide). Η ίδια διαδικασία εφαρμόστηκε σε όλα τα δείγματα. Η τελική συγκέντρωση του αντιπηκτικού παράγοντα μετά την ανάμειξη υπολογίστηκε σε 4 mmol/L. Πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρωση των σωλήνων εντός 60 λεπτών από την αιμοληψία, στα 1500 x g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και παρελήφθη το πλάσμα το οποίο μοιράστηκε ισομερώς σε 5 Eppendorf.

Αμέσως μετά την απομόνωσή τους, τα δείγματα ορού και πλάσματος αποθηκεύτηκαν σε καταψύκτη στους -80 °C μέχρι να χρησιμοποιηθούν.

3.1.6 Βιοχημικές αναλύσεις

Στον πληθυσμό της μελέτης μετρήθηκαν στο πλαίσιο προηγούμενων μελετών, η συγκέντρωση της ολικής χοληστερόλης, της HDL-χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων, της γλυκόζης, των ηπατικών ενζύμων (AST/GOT, ALT/GPT, γ-GT), του ουρικού οξέος και της κρεατινίνης στον ορό. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε στον αναλυτή COBAS 8000/ ROCHE στο βιοχημικό εργαστήριο της ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗΣ Α.Ε. (διαπίστευση ELOT EN ISO: 15189, Ελληνικό Σύστημα Διαπίστευσης, Ε.ΣΥ.Δ.). Η μέθοδος προσδιορισμού των παραπάνω βιοχημικών δεικτών ήταν η φασματοφωτομετρία σε συγκεκριμένο μήκος κύματος χαρακτηριστικό για κάθε βιοχημικό δείκτη. Η ακρίβεια της μεθόδου για τη μέτρηση της ολικής χοληστερόλης είναι 2,06% (intra-assay CV) και 0,94% (inter-assay CV), της HDL-χοληστερόλης 1,50% και 0,80%, των τριγλυκεριδίων 1,80% και 1,98%, της γλυκόζης 1,97% και 1,28%, του ενζύμου AST/GOT 0,96% και 2,97%, του ενζύμου ALT/GPT 1,94% και 2,67%, του ενζύμου γ-GT 1,07% και 1,48%, της κρεατινίνης 2,23% και 1,94%. Η LDL-χοληστερόλη υπολογίστηκε βάσει της εξίσωσης Friedewald: (ολική χοληστερόλη) – (HDL-χοληστερόλη) – (τριγλυκερίδια/5) (Friedewald et al., 1972). Η εξίσωση αυτή χρησιμοποιήθηκε σε όλους τους συμμετέχοντες δεδομένου ότι κανένας δεν είχε συγκέντρωση τριγλυκεριδίων >400 mg/dL. Όλοι οι παραπάνω βιοχημικοί δείκτες μετρήθηκαν εις διπλούν και οι συγκεντρώσεις τους εκφράζονται σε mg/dL για την ολική

χοληστερόλη, την HDL-χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, τη γλυκόζη και την κρεατινίνη, ενώ οι συγκεντρώσεις των ηπατικών ενζύμων εκφράζονται σε U/L.

Στην παρούσα μελέτη, μετρήθηκαν τα επίπεδα της ινσουλίνης στον ορό και η δραστικότητα της Lp-PLA₂.

3.2 Μέτρηση συγκέντρωσης ινσουλίνης ορού

Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Κλινικής Διαιτολογίας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν, καθώς και το πρωτόκολλο μέτρησης που ακολουθήθηκε είναι εμπορικά διαθέσιμα (AIA-PACK IRI). Η ακρίβεια της μεθόδου για τη μέτρηση της συγκέντρωσης ινσουλίνης είναι <3% (intra- και inter-assay CV). Η συγκέντρωση ινσουλίνης εκφράζεται σε mU/L.

3.2.1 Αρχή μεθόδου μέτρησης

Η μέθοδος προσδιορισμού της συγκέντρωσης της ινσουλίνης είναι συνδυασμός ανοσολογικής τεχνικής, παρουσία δύο αντισωμάτων, με ενζυμική αντίδραση (two-site immunoenzymometric assay, ST AIA-PACK IRI). Η αρχή της μεθόδου περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια: 1) η ινσουλίνη του δείγματος συνδέεται με ακινητοποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα, 2) το οποίο συνδέεται με δεύτερο μονοκλωνικό αντίσωμα που φέρει ένζυμο, 3) το οποίο επώάζεται με φθορίζον υπόστρωμα (4-methylumbelliferyl phosphate, 4MUP). Η ποσότητα του μονοκλωνικού αντισώματος που φέρει το ένζυμο και η συγκέντρωση της ινσουλίνης στο δείγμα είναι ευθέως ανάλογα ποσά και ο προσδιορισμός της άγνωστης συγκέντρωσης ινσουλίνης στο δείγμα υπολογίζεται με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης αναφοράς.

3.2.2 Όργανα – Αντιδραστήρια

Όργανα:

- ❖ Αναλυτής TOSOH AIA-600 II

Αναλώσιμα:

- ❖ Tips (άσπρα, κίτρινα, μπλε)
- ❖ Αυτόματες πιπέτες
- ❖ Απεσταγμένο νερό

Αντιδραστήρια

- ❖ ST AIA-PACK IRI (Cat. No. 0025260)
 - 5 trays x 20 plastic test cups (περιέχουν λυοφιλοποιημένα 8 μαγνητικά σφαιρίδια επικεκαλυμμένα με μονοκλωνικό αντίσωμα ινσουλίνης και 100 μ L μονοκλωνικού αντισώματος ινσουλίνης συζευγμένου με αλκαλική φωσφατάση)
- ❖ AIA-PACK substrate SET II (Cat. No. 0020968)
 - AIA-PACK substrate reagent II
 - AIA-PACK substrate reconstituent II
- ❖ AIA-PACK IRI calibrator set (Cat. No. 0020360)
 - AIA-PACK IRI calibrator (1) 0 μ U/mL
 - AIA-PACK IRI calibrator (2) 20 μ U/mL
 - AIA-PACK IRI calibrator (3) 40 μ U/mL
 - AIA-PACK IRI calibrator (4) 80 μ U/mL
 - AIA-PACK IRI calibrator (5) 160 μ U/mL
 - AIA-PACK IRI calibrator (6) 340 μ U/mL
- ❖ AIA-PACK IRI sample diluting solution (Cat. No. 0020560)
- ❖ AIA-PACK wash concentrate (Cat. No. 0020955)
- ❖ AIA-PACK diluent concentrate (Cat. No. 0020956)
- ❖ Sample cups (Cat. No. 0018581)
- ❖ AIA-PACK detector standardization test cup (Cat. No. 0020970)
- ❖ AIA-PACK sample treatment cup (Cat. No. 0020971)

3.2.3 Προετοιμασία διαλυμάτων

⇒ Παρασκευάζουμε το διάλυμα υποστρώματος. Αναμειγνύουμε το περιεχόμενο του αντιδραστήριου AIA-PACK substrate reconstituent II με το λυοφιλοποιημένο περιεχόμενο του αντιδραστήριου AIA-PACK substrate reagent II.

- ⇒ Παρασκευάζουμε το διάλυμα πλύσης. Αραιώνουμε το περιεχόμενο του αντιδραστηρίου AIA-PACK wash concentrate (100 mL) με απεσταγμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 2,5 L.
- ⇒ Αραιώνουμε το περιεχόμενο του αντιδραστηρίου AIA-PACK diluent concentrate (100 mL) με απεσταγμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 5 L.

3.2.4 Πειραματική πορεία

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας. Η διαδικασία έχει ως εξής:

- ⇒ Κατασκευάζουμε την καμπύλη βαθμονόμησης (calibration curve). Αναδιαλύουμε τα λυοφιλοποιημένα αντιδραστήρια AIA-PACK IRI calibrator (2)-(6) με 1 mL απεσταγμένου νερού, ενώ το αντιδραστήριο AIA-PACK IRI calibrator (1) είναι έτοιμο προς χρήση. Κάθε μέτρηση πραγματοποιείται εις τριπλούν.
- ⇒ Τοποθετούμε τα δείγματα ορού στον αναλυτή και πραγματοποιούμε τη μέτρηση ινσουλίνης βάσει των οδηγιών χειρισμού του αναλυτή. Η μέτρηση της συγκέντρωσης της ινσουλίνης στον ορό πραγματοποιήθηκε μία φορά.

3.2.5 Υπολογισμός

Οι αναλυτές συστημάτων TOSOH AIA εκτελούν αυτόματα όλες τις διαδικασίες χειρισμού δειγμάτων και αντιδραστηρίων. Οι αναλυτές συστημάτων TOSOH AIA διαβάζουν τον ρυθμό παραγωγής φθορισμού από την αντίδραση και μετατρέπουν αυτόματα τον ρυθμό σε συγκέντρωση ινσουλίνης.

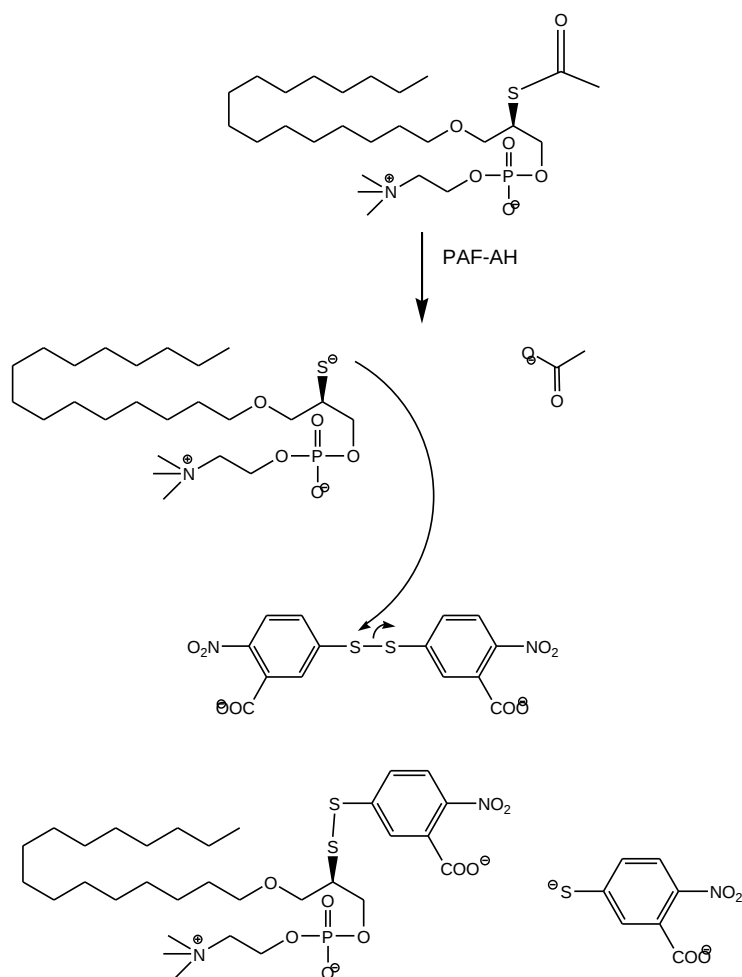
3.3 Προσδιορισμός δραστικότητας Lp-PLA₂ (εξωκυτταρικής PAF-AH)

Ο προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Βιολογίας, Βιοχημείας, Φυσιολογίας και Μικροβιολογίας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Η μέτρηση της δραστικότητας της Lp-PLA₂, στον ορό πραγματοποιήθηκε βάσει πρωτοκόλλου που αναπτύχθηκε από το ομώνυμο εργαστήριο. Το πρωτόκολλο περιγράφεται ως ακολούθως:

3.3.1 Αρχή μεθόδου μέτρησης

Ο παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF) μετατρέπεται στο βιολογικά ανενεργό αλκύλιο-ομόλογό του, liso-PAF, από το ένζυμο PAF ακετυλο-υδρολάση (PAF acetylhydrolase, PAF-AH). Οι PAF-AHs βρίσκονται και ενδοκυτταρικά (PAF-AH) και εξωκυτταρικά (Lp-PLA₂).

Η υδρόλυση του θειοεστερικού δεσμού στην sn-2 θέση του υποστρώματος (thio-PAF) από την ακετυλοϋδρολάση απελευθερώνει θειόλες (liso-PAF) που δεσμεύονται από το DTNB, όπως φαίνεται στην εικόνα 17. Από τα διάφορα πρωτεϊνικά μόρια που υπάρχουν, πιθανά δεσμεύεται και η Lp-PLA₂. Το 5-θειο-2-νιτρο βενζοϊκό οξύ (5-thio-2-nitrobenzoic acid, TNB) που παράγεται δίνει απορρόφηση στα 412nm με μοριακή απορροφητικότητα $\epsilon=13600\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.



Εικόνα 17. Αρχή μεθόδου για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της Lp-PLA₂

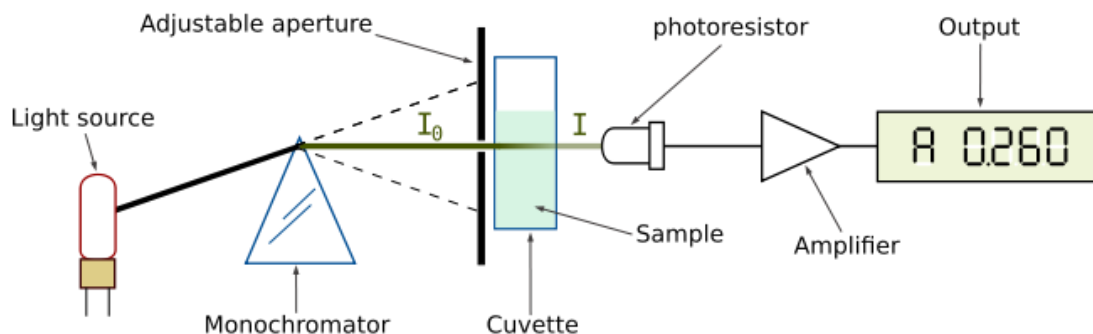
Η μοριακή απορροφητικότητα συνιστά την απορρόφηση που θα είχε διάλυμα 1 Μ όταν αυτό βρίσκεται σε κυψελίδα πάχους 1 cm. Η μοριακή απορροφητικότητα εξαρτάται από το μήκος κύματος, το διαλύτη, τη μοριακή δομή της απορροφούσας ουσίας και σε μικρότερο βαθμό από τη θερμοκρασία. Είναι μέτρο της ικανότητας μια ένωσης να απορροφά σε ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος ανεξαρτήτως της συγκέντρωσής της. Γνωρίζοντας το ϵ (βιβλιογραφικά) μπορούμε να υπολογίσουμε και τη συγκέντρωση του διαλύματος με μια απλή φασματοφωτομέτρηση, σύμφωνα με το Νόμο Lambert-Beer. Ο νόμος αυτός σχετίζεται με την ένταση (ποσότητα) του φωτός που προσπίπτει στο διάλυμα και την ένταση (ποσότητα) που απορροφάται από αυτό σε σχέση με την περιεκτικότητα σε διαλυμένη ουσία. Συγκεκριμένα εκφράζεται από τον τύπο:

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c$$

όπου $A = -\log(I/I_0)$, είναι ο λογάριθμος του λόγου εντάσεως του προσπιπτομένου φωτός (I_0) προς το φως (I) που τελικά περνάει από το διάλυμα και εξέρχεται από την κυψελίδα. Η ποσότητα $I_0 - I$ απορροφήθηκε από το δείγμα (εικόνα 18).

l = το μήκος του δείγματος (πάχος της κυψελίδας σε cm),

c = η συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας σε (mole/l)



Εικόνα 18. Σχηματική απεικόνιση φασματοφωτόμετρου ορατού και υπεριώδους (UV-VIS).

Ο νόμος Lambert-Beer προϋποθέτει ότι:

1. Ο μόνος μηχανισμός αλληλεπίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και της διαλυμένης ουσίας είναι η απορρόφηση
2. Η προσπίπτουσα ακτινοβολία είναι μονοχρωματική
3. Η απορρόφηση λαμβάνει χώρα σε όγκο διαλύματος ομοιόμορφης διατομής και
4. τα απορροφούνται σωματίδια δρουν ανεξάρτητα το ένα με το άλλο και το ένα δεν επηρεάζει την απορρόφηση του άλλου.

Όπως όλοι οι νόμοι, έτσι και ο Lambert-Beer δεν ισχύει πάντα, αλλά έχει αποκλίσεις (αρνητικές ή θετικές). Οπότε κατασκευάζουμε καμπύλη απορροφήσεων/συγκέντρωσης από γνωστά διαλύματα και ανάγουμε τις μετρήσεις σε αυτήν ώστε να ελαχιστοποιούμε τα σφάλματα.

3.3.2 Όργανα – Αντιδραστήρια

Όργανα:

- ❖ Καταγραφέας απορρόφησης ELISA
- ❖ Φυγόκεντρος Eppendorf
- ❖ Θερμοστατούμενο υδατόλουτρο
- ❖ Κυκλοαναδευτήρας (Vortex)

Αναλώσιμα

- ❖ Αυτόματες πιπέτες 1-10, 10-100, 100-1000μL
- ❖ Σωλήνες πολυπροπυλενίου μιας χρήσης (vials) όγκου 20mL
- ❖ Tips (άσπρα, κίτρινα, μπλε)
- ❖ Buffer 1, Ρυθμιστικό Διάλυμα Tris-HCl / EGTA
- ❖ Μεμβράνη μεταφοράς (porablot PVDF membrane, Macherey-Nagel)
- ❖ Ποτήρι ζέσεως 200 ml
- ❖ Ογκομετρική φιάλη 100 ml
- ❖ Σπάτουλα
- ❖ Χαρτί ημιδιάφανο
- ❖ Χαρτιά μιας χρήσεως
- ❖ Απεσταγμένο νερό
- ❖ Υδροβολέας
- ❖ Ψαλιδάκι

Αντιδραστήρια

- ❖ EGTA, το οποίο δεσμεύει το Ca^{2+} που είναι αναστολέας της de novo πορείας βιοσύνθεσης του PAF, γιατί το ένζυμο δρα ανεξάρτητα του Ca^{2+} .

- ❖ Το ρυθμιστικό διάλυμα (Buffer) περιέχει:
 - Διάλυμα 1mM DTNB σε Tris-HCl (άχρωμο προς υποκίτρινο)
 - Διάλυμα αποθήκευσης υποστρώματος 2.5μg/ μL (4.63mM) thio-PAF
 - Διάλυμα υποστρώματος 198.5μM thio-PAF



3.3.3 Προετοιμασία διαλυμάτων

- ⇒ Ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl/EGTA (Buffer).
 - 1mM EGTA: Ζυγίζουμε 0.0038 g 1mM EGTA (MW=380.35) για 10 mL διαλύματος.
 - 0.1M Tris-HCl pH 7.2. Ζυγίζουμε 1.1211 Tris (MW=121.14) για 10 mL διαλύματος.
 - Ρυθμίζουμε το pH στο 7.2 με διάλυμα HCl, στους 25 °C.
- ⇒ Διάλυμα 1mM DTNB σε Tris-HCl. Ζυγίζουμε 0.00396 g DTNB (MW=396.35) για 10 mL διαλύματος. Διατηρούμε το διάλυμα αυτό στο σκοτάδι στους 0 °C για 8 ώρες και το παρασκευάζουμε την ημέρα που το χρησιμοποιούμε.
- ⇒ Διάλυμα αποθήκευσης υποστρώματος (Stock) 2.5μg/ μL (4.63mM) thio-PAF. Εξατμίζουμε μέχρι ξηρού το διάλυμα της συσκευασίας, το οποίο περιέχει 5mg thio-PAF (MW=539.8). Με την εξατμισμό, απομακρύνουμε το διαλύτη. Αναδιαλύουμε σε 2 ml αιθανόλης και μοιράζουμε σε κατάλληλο αριθμό Eppendorf, τα οποία περιέχουν 130 μl διαλύματος. Σε κάθε aliquot περιέχονται 325 μg thio-PAF. Φυλάσσουμε τα aliquots στους -80 °C μέχρι την ενζυμική δοκιμασία.

⇒ Διάλυμα υποστρώματος (Working) 198.5μM thio-PAF. Λαμβάνουμε 1 aliquot stock διαλύματος thio-PAF. Εξατμίζουμε το διαλύτη σε ρεύμα αζώτου και αναδιαλύουμε το περιεχόμενο σε 3 mL Buffer. Διατηρούμε το διάλυμα στους -20 °C για μια εβδομάδα.

3.3.4 Πειραματική πορεία

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας. Η διαδικασία έχει ως εξής:

Σε ELISA plate 96 πηγαδιών τοποθετούμε τις κατάλληλες ποσότητες ρυθμιστικού διαλύματος (Buffer), διαλύματος DTNB και το δείγμα του ορού (συνολικά 55μL), όπως φαίνεται στον πίνακα 11. Αφήνουμε ένα πηγαδάκι ως τυφλό (blanc), χωρίς την τοποθέτηση ορού, αντικαθιστώντας με ισόποση δόση Buffer.

Πίνακας 11. Ποσότητες διαλυμάτων

	Buffer (μL)	Ορός (μL)	DTNB (μL)	Διάλυμα υποστρώματος (μL)
Τυφλό	15	-	40	170
Δείγμα	5	10	40	170

Στη συνέχεια, με αυτόματη πιπέτα, προχωράμε στην προσθήκη 170μL διαλύματος υποστρώματος thio-PAF, οπότε γίνεται και η έναρξη της αντίδρασης (Εικόνα 19). Ανακινούμε για 30 δευτερόλεπτα (30 sec) και καταγράφουμε το χρόνο εκκίνησης (t=0) της αντίδρασης. Σκεπάζουμε και επωάζουμε για 30 λεπτά σε σκοτεινό μέρος. Τέλος, πραγματοποιούμε φωτομέτρηση στα 405nm στις στιγμές 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 min μετά την εκκίνηση προς σχηματισμό καμπύλης.



Εικόνα 19. Απεικόνιση της τοποθέτησης των διαλυμάτων (Buffer, DTNB και ορού) σε ELISA plate, με πολυκάναλη πιπέτα.

3.3.5 Υπολογισμός

Υπολογίζουμε τη δραστικότητα του ενζύμου ως εξής:

1. Αρχικά προσδιορίζουμε τη μεταβολή της απορρόφησης ανά λεπτό:

Με επιλογή δύο σημείων (t_1 και t_2) από την καμπύλη $Abs=f(t)$ της ενζυμικής δοκιμασίας και υπολογισμό της μεταβολής της απορρόφησης, σύμφωνα με τον τύπο:

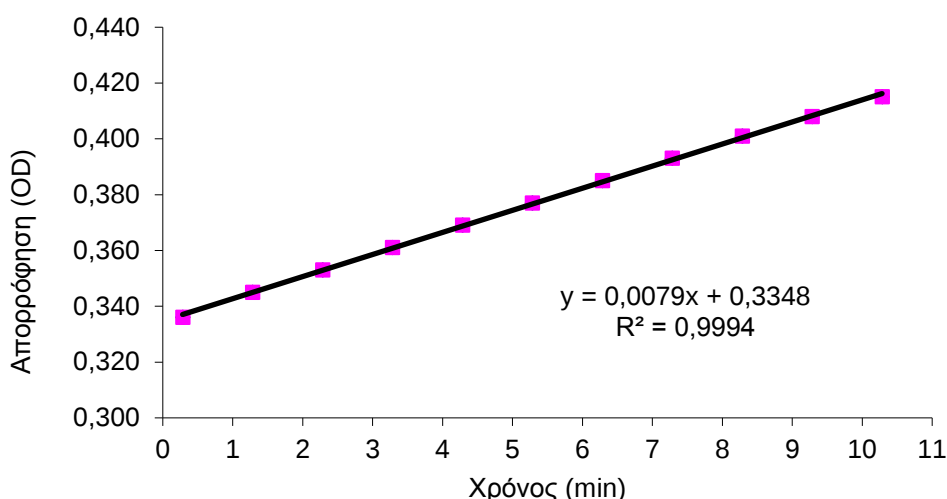
$$\Delta A_{405} / \text{min} = \frac{A_{405}^{t_2} - A_{405}^{t_1}}{t_2 - t_1}$$

2. Προσδιορίζουμε το ρυθμό μεταβολής της απορρόφησης του τυφλού ($\Delta A_{405}/\text{min}$, blank) και τον αφαιρούμε από τον ρυθμό μεταβολής της απορρόφησης των δειγμάτων ($\Delta A_{405}/\text{min}$, sample). Με αυτόν τον τρόπο υπολογίζουμε τον ρυθμό μεταβολής της απορρόφησης που οφείλεται αποκλειστικά στη μείωση της συγκέντρωσης του DTNB, λόγω της μετατροπής σε TNB:

$$\Delta A_{405}/\text{min, sample} - \Delta A_{405}/\text{min, blank}$$

3. Σχεδιάζουμε το γράφημα της απορρόφησης του DTNB στα 405nm (A_{405}) σε συνάρτηση με το χρόνο (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 και 11 min) και καταγράφουμε την κλίση του ευθύγραμμου τμήματος της καμπύλης η οποία αντιστοιχεί στο ρυθμό μεταβολής της απορρόφησης του DTNB ($\Delta A_{405}/\text{min}$). Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται για όλα τα

δείγματα, καθώς και για το τυφλό κάθε σειράς μετρήσεων. Επειδή η απορρόφηση του DTNB αυξάνεται με το χρόνο, με ταυτόχρονη αύξηση της χρωμοφόρου ένωσης TNB (η κλίση της ευθείας έχει θετική τιμή), λαμβάνουμε την τιμή της κλίσης για τον υπολογισμό της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ (Σχήμα 2).



Σχήμα 2. Γραφική παράσταση της απορρόφησης (OD) του DTNB σε μήκος κύματος 340 nm (A_{405}) συναρτήσει του χρόνου (t , min), $t = f(A_{405})$.

4. Η μοριακή απορροφητικότητα (ϵ) του DTNB σε μήκος κύματος 405nm είναι $0,0128 \mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ και εκφράζει την απορρόφηση $1\mu\text{M}$ DTNB για μήκος οπτικής διαδρομής ίσο με 1 cm. Ωστόσο, το μήκος της οπτικής διαδρομής στο πείραμα είναι ίσο με 0,784cm και συνεπώς ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης ισούται με $0,0100\mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.
5. Διαιρώντας το ρυθμό μεταβολής της απορρόφησης ($\Delta A_{405}/\text{min}$, sample - $\Delta A_{405}/\text{min}$, blank) με το συντελεστή μοριακής απορρόφησης του DTNB στο μήκος της οπτικής διαδρομής του πειράματος, δηλαδή $0,0100\mu\text{M}^{-1}$, υπολογίζουμε τη συγκέντρωση του DTNB (μM) που καταναλώνεται ανά λεπτό (min). Ωστόσο, για τον υπολογισμό της δραστηριότητας της Lp-LA₂, πρέπει να γνωρίζουμε τα μmol DTNB. Συνεπώς πολλαπλασιάζουμε τα $\mu\text{M}/\text{min}$ με τον τελικό όγκο της ενζυμικής αντίδρασης (225 μL). Για τον υπολογισμό της δραστηριότητας της Lp-PLA₂, στα δείγματα διαιρούμε με τον όγκο του ορού που προσθέσαμε σε κάθε πηγαδάκι (10 μL).

6. Ως μονάδα ενζυμικής δραστηριότητας (1U: International Unit) ορίζεται το ποσό του ενζύμου που «αλλοιώνει» 1μmol υποστρώματος ανά λεπτό (U=μmol/min). Στη συγκεκριμένη περίπτωση, ως υπόστρωμα θεωρείται το DTNB το οποίο «αλλοιώνεται» από το ένζυμο λιποφωσφορική φωσφορυλάση A2 (Lp-PLA₂), που υπάρχει στο μίγμα της αντίδρασης. Σημειώνεται ότι αν οι τιμές βγαίνουν εκτός καμπύλης, χρειάζεται να πραγματοποιηθεί αραιώση και ο συντελεστής αραιώσης να σημειωθεί στον τύπο (sample dilution).
7. Για τον υπολογισμό της δραστηριότητας της Lp-PLA₂, χρησιμοποιούμε τον παρακάτω τύπο. Προσδιορίζουμε την ταχύτητα της αντίδρασης χρησιμοποιώντας το συντελεστή ϵ του DTNB. Μια μονάδα ενζύμου υδρολύει 1μmol 2-thio PAF ανά λεπτό στους 25 °C.

$$\text{Activity} = \frac{\Delta A_{405} / \min}{\epsilon_{405} \times l} \times \frac{V_{\text{assay}}}{V_{\text{enzyme}}} \times (\text{sample dilution})$$

Όπου:

- $\epsilon_{412}=13.6\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$,
- $\epsilon_{405}=12.8\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$,
- $l=0.784\text{ cm}$ (η οπτική διαδρομή),
- $V_{\text{assay}}=0.225\text{mL}$,
- $V_{\text{enzyme}}=0.01\text{mL}$.

Η δραστηριότητα εκφράζεται σε $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$.

3.4 Εκτίμηση νεφρικής λειτουργίας και ινσουλινο-αντίστασης

Η νεφρική λειτουργία αξιολογήθηκε εμμέσως με τη βοήθεια εξισώσεων υπολογισμού του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (estimated glomerular filtration rate, eGFR). Οι εξισώσεις που χρησιμοποιήθηκαν αφορούν στην εκτίμηση της νεφρικής λειτουργίας σε γενικό πληθυσμό (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration, CKD-EPI) βάσει της συγκέντρωσης

κρεατινίνης στο ορό, την ηλικία, το φύλο και τη φυλή (Levey et al., 2009). Ο ρυθμός σπειραματικής διήθησης εκφράζεται σε mL/min/1.73m². Οι εξισώσεις δίδονται στον πίνακα 12.

Η ινσουλινο-αντίσταση αξιολογήθηκε με τη βοήθεια της εξίσωσης HOMA-IR= Fasting glucose (mmol/L) x Fasting insulin (mU/L)/22.5 (Matthews et al., 1985), όπου HOMA-IR είναι δείκτης ινσουλινο-αντίστασης (homeostatic model assessment of insulin resistance, HOMA-IR).

Πίνακας 12. Εξισώσεις υπολογισμού του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (eGFR), CKD-EPI

Φυλή (λευκή)	Συγκέντρωση κρεατινίνης ή ορού (μmol/L mg/dL)	Εξίσωση
Άνδρες	≤80 ή ≤0.9	$GFR = 141 \times (Scr/0.9)^{-0.411} \times (0.993)^{Age}$
	>80 ή >0.9	$GFR = 141 \times (Scr/0.9)^{-1.209} \times (0.993)^{Age}$
Γυναίκες	≤62 ή ≤0.7	$GFR = 144 \times (Scr/0.7)^{-0.329} \times (0.993)^{Age}$
	>62 ή >0.7	$GFR = 144 \times (Scr/0.7)^{-1.209} \times (0.993)^{Age}$

CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration, eGFR: estimated glomerular filtration rate, Scr: Serum creatinine

Πηγή: Levey et al., 2009

3.5 Ορισμός μεταβολικού συνδρόμου (ΜΣ) κατά AHA/NHLBI

Για το σκοπό της μελέτης, το ΜΣ ορίστηκε βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI (Grundey et al., 2005). Σύμφωνα με τον ορισμό του AHA/NHLBI, η παρουσία ΜΣ ορίζεται από την παρουσία τουλάχιστον 3 εκ των ακόλουθων 5 παραγόντων: 1) κεντρική ή κοιλιακή παχυσαρκία, 2) αυξημένη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων, 3) μειωμένη συγκέντρωση HDL χοληστερόλης, 4) αυξημένη συγκέντρωση γλυκόζης νηστείας ή παρουσία σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, 5) αυξημένη πίεση αίματος.

Τα κριτήρια ορισμού της παρουσίας καθενός από τους παραπάνω παράγοντες είναι:

1. Περιφέρεια μέσης ≥102 cm για τους άνδρες και ≥88 cm για τις γυναίκες.
2. Συγκέντρωση τριγλυκεριδίων νηστείας ≥1.7 mmol/L ή φαρμακευτική αγωγή για αυξημένα τριγλυκερίδια.
3. Συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης <1.03 mmol/L για τους άνδρες και <1.3 mmol/L για τις γυναίκες ή φαρμακευτική αγωγή για χαμηλή HDL-χοληστερόλη.
4. Συγκέντρωση γλυκόζης νηστείας ≥5.6 mmol/L ή φαρμακευτική αγωγή για υπεργλυκαιμία.

5. Συστολική πίεση αίματος (ΣΑΠ) ≥ 130 mmHg ή διαστολική πίεση αίματος (ΔΑΠ) ≥ 85 mmHg ή φαρμακευτική αγωγή για υπέρταση.

3.6 Στατιστική Ανάλυση

3.6.1 Περιγραφικά και διατροφικά χαρακτηριστικά στο σύνολο και βάσει παρουσίας ΜΣ

Τα περιγραφικά και διατροφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων του δεκαετούς επανελέγχου της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, στο σύνολο και βάσει παρουσίας ΜΣ, παρουσιάζονται ως διάμεσος ($25^{\circ} - 75^{\circ}$ εκατοστημόριο) για τις συνεχείς μεταβλητές και ως απόλυτη συχνότητα (σχετική συχνότητα) ή n (%) για τις κατηγορικές μεταβλητές. Η σύγκριση μεταξύ των συμμετεχόντων χωρίς ΜΣ και των συμμετεχόντων με ΜΣ πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο U κατά Mann-Whitney για τις συνεχείς μεταβλητές, καθώς και τον έλεγχο χ^2 κατά Pearson για τις κατηγορικές μεταβλητές. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους πίνακες 13 και 14.

3.6.2 Έλεγχος κανονικής κατανομής

Πραγματοποιήθηκε έλεγχος της κατανομής των τιμών της δραστικότητας της Lp-PLA₂, με τη βοήθεια του διαγράμματος Q-Q, καθώς και ο έλεγχος Shapiro-Wilk για την εξέταση της απόκλισης από την κανονική κατανομή των τιμών της μεταβλητής. Τόσο το διάγραμμα όσο και ο στατιστικός έλεγχος έδειξαν ότι οι τιμές της δραστικότητας της Lp-PLA₂ δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή. Στη συνέχεια, υπολογίστηκαν οι συντελεστές συσχέτισης (ρ) κατά Spearman για τη δραστικότητα της Lp-PLA₂ σε σχέση με ανθρωπομετρικούς (περιφέρεια μέσης), βιοχημικούς (ολική, LDL- και HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, κρεατινίνη, ουρικό οξύ, SGOT, SGPT, αντιπονεκτίνη), κλινικούς (διαστολική αρτηριακή πίεση) και διατροφικούς δείκτες (κατανάλωση των ομάδων τροφίμων, πρόσληψη ενέργειας, μακροθρεπτικών συστατικών, χοληστερόλης, διαιτητικών ινών και τον λόγο μονοακόρεστου/κορεσμένου λίπους). Επίσης, πραγματοποιήθηκαν συγκρίσεις μεταξύ ανδρών και γυναικών, καθώς και μεταξύ καπνιστών και μη καπνιστών, με τον μη παραμετρικό έλεγχο U κατά Mann-Whitney. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 15.

Οι τιμές της δραστικότητας της Lp-PLA₂ κατηγοριοποιήθηκαν σε τεταρτημόρια (Q1: ≤ 15 nmol/min/mL, Q2: >15 & ≤ 22 nmol/min/mL, Q3: >22 & ≤ 27 nmol/min/mL, Q4: >27

nmol/min/mL), με συνέπεια τη μετατροπή της μεταβλητής από συνεχή σε κατηγορική. Η μετατροπή κρίθηκε απαραίτητη δεδομένου ότι οι προσπάθειες μετασχηματισμού (δηλ. κανονικοποίηση με υπολογισμό των z-score ή λογαριθμοποίηση) των τιμών της μεταβλητής δεν είχαν ως αποτέλεσμα την προσέγγιση της κανονικής κατανομής.

3.6.3 Περιγραφικά κι διατροφικά χαρακτηριστικά βάσει των τεταρτημορίων της δραστηριότητας της Lp-PLA₂

Τα περιγραφικά και διατροφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων του δεκαετούς επανελέγχου της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, βάσει των τεταρτημορίων της δραστηριότητας της Lp-PLA₂, παρουσιάζονται ως διάμεσος (25^ο – 75^ο εκατοστημόριο) για τις συνεχείς μεταβλητές και ως απόλυτη συχνότητα (σχετική συχνότητα) ή ν (%) για τις κατηγορικές μεταβλητές. Οι συγκρίσεις μεταξύ των τεταρτημορίων πραγματοποιήθηκαν με τον έλεγχο *H* κατά Kruskal – Wallis για τις συνεχείς μεταβλητές, καθώς και τον έλεγχο χ^2 κατά Pearson για τις κατηγορικές μεταβλητές. Οι ανά δύο συγκρίσεις μεταξύ των τεταρτημορίων πραγματοποιήθηκαν με τον έλεγχο *U* κατά Mann-Whitney για συνεχείς μεταβλητές και τον έλεγχο χ^2 κατά Pearson για κατηγορικές μεταβλητές. Το επίπεδο σημαντικότητας για τις ανα δύο συγκρίσεις ορίστηκε ως $p < 0,008$ ($p = 0,05/6$) μετά από διόρθωση κατά Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις (6 συγκρίσεις ανά μεταβλητή). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους πίνακες 16 και 17.

3.6.4 Διωνυμική λογαριθμική παλινδρόμηση με εξαρτημένη μεταβλητή το ΜΣ

Ακολούθως αξιολογήσαμε την επίδραση διατροφικών παραγόντων (δημητριακά πρωινού, αναψυκτικά χωρίς ζάχαρη, πρωτεΐνη), της αντιπυονεκτίνης και της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ στο ΜΣ (AHA/NHLBI), με συγχυτικές μεταβλητές την ηλικία και το φύλο. Η μεθοδολογία που ακολουθήσαμε είναι η εξής:

Από τους πίνακες 13 και 14 προκύπτει ότι οι μεταβλητές που διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των συμμετεχόντων με ΜΣ και των συμμετεχόντων χωρίς ΜΣ είναι: ηλικία, φύλο, επίπεδο σωματικής δραστηριότητας υψηλής εντάσεως, ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, γλυκόζη, ινσουλίνη, ουρικό οξύ, SGPT, γ-GT, IL-6, αντιπυονεκτίνη, HOMA-IR, ΣΑΠ, ΔΑΠ, ιατρικό ιστορικό υπέρτασης, δυσλιπιδαιμίας, σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, εμμηνόπαυση (πίνακας 13), καθώς και δημητριακά πρωινού, ψάρια, αναψυκτικά

χωρίς ζάχαρη, και πρωτεΐνη (πίνακας 14). Από τον πίνακα 13 δεν θα χρησιμοποιηθούν μεταβλητές που αποτελούν παράγοντες ορισμού του ΜΣ, δηλαδή περιφέρεια μέσης, τριγλυκερίδια, HDL-χοληστερόλη, γλυκόζη, ΣΑΠ, ΔΑΠ και ιατρικό ιστορικό υπέρτασης, δυσλιπιδαιμίας και σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2. Σχετικά με την εμμηνόπαυση, θα συμπεριληφθούν η ηλικία και το φύλο, οπότε δεν θα προστεθεί ως συγχυτική μεταβλητή.

Για τις υπόλοιπες μεταβλητές, υπολογίζονται οι συντελεστές συσχέτισης (ρ) κατά Spearman και λαμβάνονται εκείνες οι μεταβλητές που δεν συσχετίζονται μεταξύ τους. Συνεπώς, από τους βιοχημικούς δείκτες, η αντιγονεκτίνη θα προστεθεί ως ανεξάρτητη μεταβλητή στο μοντέλο διωνυμικής λογαριθμικής παλινδρόμησης με εξαρτημένη μεταβλητή το ΜΣ για τους εξής λόγους: 1) συσχετίζεται σημαντικά με όλους τους υπόλοιπους ανθρωπομετρικούς, βιοχημικούς και κλινικούς δείκτες (ΔΜΣ, ινσουλίνη, HOMA-IR, ουρικό οξύ, SGPT, γ -GT), καθώς και το επίπεδο σωματικής δραστηριότητας υψηλής εντάσεως, 2) δεν συσχετίζεται με κανένα διατροφικό παράγοντα (δεν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα). Τέλος, η IL-6 αν και δεν συσχετίζεται με την αντιγονεκτίνη, βρέθηκε προσφάτως (Ntzounani et al., 2016) ότι δεν συσχετίζεται σημαντικά με το ΜΣ και συνεπώς δεν θα επιλεγεί ως ανεξάρτητη μεταβλητή. Από τους διατροφικούς παράγοντες, η κατανάλωση ψαριών συσχετίζεται σημαντικά με την πρόσληψη πρωτεΐνης ($\rho=0,411$, $p<0,001$), ενώ οι υπόλοιποι παράγοντες δεν συσχετίζονται μεταξύ τους. Συνεπώς από τους διατροφικούς δείκτες επιλέγουμε την κατανάλωση δημητριακών πρωινού, αναψυκτικών χωρίς ζάχαρη και την πρόσληψη συνολικής πρωτεΐνης.

Αρχικά, κατασκευάζουμε το μοντέλο 1 με ανεξάρτητες μεταβλητές κατανάλωση δημητριακών πρωινού, αναψυκτικών χωρίς ζάχαρη και πρόσληψη συνολικής πρωτεΐνης. Στη συνέχεια, κατασκευάζουμε το μοντέλο 2 με ανεξάρτητες μεταβλητές κατανάλωση δημητριακών πρωινού, πρόσληψη συνολικής πρωτεΐνης και αντιγονεκτίνη. Τέλος, κατασκευάζουμε τα μοντέλα 3 και 4, όπως το μοντέλο 2 συν τη δραστικότητα της Lp-PLA₂, ως συνεχή μεταβλητή (μοντέλο 3) ή ως τεταρτημόρια δραστικότητας της Lp-PLA₂, κατηγορική μεταβλητή, (μοντέλο 4). Ως συγχυτικές μεταβλητές και στα 4 μοντέλα εισάγονται η ηλικία και το φύλο. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 18, ως μη κανονικοποιημένος συντελεστής B και τυπικό σφάλμα (S.E.), λόγος πιθανοτήτων (OR) και 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% C.I.) και ακριβές επίπεδο σημαντικότητας (p) για κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή.

3.6.5 Πολυωνυμική λογαριθμική παλινδρόμηση με εξαρτημένη μεταβλητή τα τεταρτημόρια της δραστικότητας της Lp-PLA₂

Τέλος, αξιολογήσαμε την επίδραση της ενεργειακής πρόσληψης και της αντιπονεκτίνης στη δραστικότητα της Lp-PLA₂ (ως κατηγορική μεταβλητή), με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο, το κάπνισμα και την LDL-χοληστερόλη. Ως προς τη μεθοδολογία, ακολουθήσαμε την ίδια λογική όπως και στην περίπτωση της διωνυμικής λογαριθμικής παλινδρόμησης με εξαρτημένη μεταβλητή το ΜΣ.

Συγκεκριμένα, από τον πίνακα 16 οι μεταβλητές που διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των τεταρτημορίων της δραστικότητας της Lp-PLA₂ είναι το φύλο, το κάπνισμα, η περιφέρεια μέσης, η ολική, LDL- και HDL-χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, η γλυκόζη, το ουρικό οξύ, η SGOT, SGPT, η αντιπονεκτίνη και η ΔΑΠ. Επίσης, από τον πίνακα 17, οι μεταβλητές που διαφέρουν σημαντικά είναι οι ομάδες τροφίμων γάλα/γιαούρτι πλήρες σε λιπαρά, πατάτες, κρέας, το MedDietScore, η πρόσληψη ενέργειας, πρωτεΐνης, λίπους, κορεσμένου λίπους, χοληστερόλης και διαιτητικών ινών. Υπολογίζονται οι συντελεστές συσχέτισης (ρ) κατά Spearman και λαμβάνονται εκείνες οι μεταβλητές που δεν συσχετίζονται μεταξύ τους.

Τα τεταρτημόρια της δραστικότητας της Lp-PLA₂ συσχετίζονται σημαντικά με όλους τους παραπάνω παράγοντες με εξαίρεση την περιφέρεια μέσης, τη γλυκόζη, την SGPT, την κατανάλωση κρέατος και το MedDietScore. Συνεπώς αυτά αποκλείονται από ανεξάρτητες μεταβλητές. Από τους βιοχημικούς παράγοντες που συσχετίζονται σημαντικά με τα τεταρτημόρια της δραστικότητας της Lp-PLA₂, η αντιπονεκτίνη 1) συσχετίζεται σημαντικά με όλους τους υπόλοιπους ανθρωπομετρικούς, βιοχημικούς και κλινικούς δείκτες (HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, ουρικό οξύ, SGOT, ΔΑΠ), και 2) δεν συσχετίζεται με κανένα διατροφικό παράγοντα. Αναφορικά με τους διατροφικούς παράγοντες, επιλέγουμε την ενεργειακή πρόσληψη επειδή 1) συσχετίζεται σημαντικά με όλους τους υπόλοιπους διατροφικούς παράγοντες (γάλα/γιαούρτι πλήρες σε λιπαρά, πατάτες, η πρόσληψη ενέργειας, πρωτεΐνης, λίπους, κορεσμένου λίπους, χοληστερόλης και διαιτητικών ινών) και 2) δεν συσχετίζεται με κανένα βιοχημικό ή κλινικό δείκτη (HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, ουρικό οξύ, SGOT, ΔΑΠ) (δεν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα).

Συνεπώς, πραγματοποιούμε την πολυωνυμική λογαριθμική παλινδρόμηση με εξαρτημένη μεταβλητή τα τεταρτημόρια της δραστικότητας της Lp-PLA₂ και ανεξάρτητες μεταβλητές την αντιπονεκτίνη και την ενεργειακή πρόσληψη. Ως συγχυτικές μεταβλητές εισάγονται το φύλο, το κάπνισμα και η LDL-χοληστερόλη. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται

στον πίνακα 19, ως μη κανονικοποιημένος συντελεστής B και τυπικό σφάλμα (S.E.), λόγος πιθανοτήτων (OR) και 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% C.I.) και ακριβές επίπεδο σημαντικότητας (p) για κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή.

Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA, έκδοση 21). Η στατιστική ανάλυση για την πολυωνυμική λογαριθμική παλινδρόμηση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα R (έκδοση 3.4.0 για Windows) [R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. (accessed January 25, 2018)], πακέτο «nnet» [Venables, W. N. & Ripley, B. D. (2002) Modern Applied Statistics with S. Fourth Edition. Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0]. Το ονομαστικό επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε μικρότερο του 5% ($p < 0,05$) για στατιστικούς ελέγχους με δύο εναλλακτικές υποθέσεις (two-sided tests).

3.7 Βιοηθική

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στηριζόμενη στις αρχές της ηθικής και δεοντολογίας, όπως ορίζονται από την ελληνική νομοθεσία και τις Αρχές της Διακήρυξης του Ελσίνκι (Declaration of Helsinki, 1989). Τα πρωτόκολλα των ερευνών έχουν εγκριθεί από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου Αθηνών. Πριν από τη συμμετοχή στη μελέτη, όλοι οι εθελοντές ενημερώθηκαν για τους στόχους, τη διαδικασία και τον τρόπο λήψης των απαραίτητων πληροφοριών και έδωσαν ενυπόγραφη συγκατάθεση της συμμετοχής τους.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Διερεύνηση δραστηριότητας της Lp-PLA₂ σε σχέση με δείκτες φλεγμονής, διατροφικούς δείκτες και μεταβολικό σύνδρομο

4.1 Μεταβολικό Σύνδρομο: Περιγραφικά και διατροφικά χαρακτηριστικά

Στον πίνακα 13 παρουσιάζονται τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων του δεκαετούς επανελέγχου της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, στο σύνολο και βάσει παρουσίας ΜΣ, σύμφωνα με τα κριτήρια AHA/NHLBI. Οι συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη ηλικία, μεγαλύτερο δείκτη μάζας σώματος και περιφέρεια μέσης, υψηλότερη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων, γλυκόζης, ινσουλίνης, ουρικού οξέος, SGPT, γ-GT και IL-6, υψηλότερο βαθμό ινσουλινοαντίστασης (HOMA-IR) και αυξημένη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες χωρίς ΜΣ. Αντίθετα, χαρακτηρίζονται από χαμηλότερο επίπεδο σωματικής δραστηριότητας υψηλής εντάσεως, καθώς και χαμηλότερη συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης και αντιπονεκτίνης, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες χωρίς ΜΣ. Επίσης, οι περισσότεροι συμμετέχοντες με ΜΣ είναι άνδρες και έχουν διαγνωστεί με υπέρταση, δυσλιπιδαιμία ή σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Αναφορικά με τον πληθυσμό των γυναικών, οι περισσότερες συμμετέχουσες με ΜΣ είναι στο στάδιο της εμμηνόπαυσης.

Στον Πίνακα 14 παρουσιάζονται τα διατροφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων του δεκαετούς επανελέγχου της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, στο σύνολο και βάσει παρουσίας ΜΣ. Οι συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από χαμηλότερη κατανάλωση δημητριακών πρωινού, αλλά υψηλότερη κατανάλωση ψαριών, αναψυκτικών χωρίς ζάχαρη και συνολικής πρωτεΐνης.

Πίνακας 13. Περιγραφικά χαρακτηριστικά συμμετεχόντων 10-ετούς επανελέγχου μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, στο σύνολο και βάσει παρουσίας ΜΣ.

	Σύνολο (n=284)	απουσία ΜΣ (n=189)	ΜΣ (AHA/NHLBI) (n=95)	p ^β
Ηλικία (έτη)	52 (46 - 60)	51,0 (45,0 – 56,5)	56,0 (49,0 – 62,0)	<0,001
Φύλο (άνδρες) ^α	159 (56)	93 (49,2)	66 (69,5)	0,001
Επίπεδο σωματικής δραστηριότητας (MET.min.εβδομάδα ⁻¹):				
Υψηλής εντάσεως	0,0 (0,0 - 140,0)	0,0 (0,0 – 480,0)	0 (0- 0)	0,016
Μέτριας εντάσεως	80,0 (0,0 - 600,0)	80,0 (0,0 – 492,0)	80,0 (0,0- 644,0)	0,890
Περπάτημα	346,5 (132,0 - 693,0)	330,0 (107,3 – 693,0)	396,0 (148,5 – 693,0)	0,747
Σύνολο	715,5 (241,9 - 1699,9)	730,0 (255,8 – 1880,5)	693,0 (231,0 – 1386,0)	0,562
Καθιστικές δραστηριότητες (ώρες/ημέρα)	6,0 (4,0 - 8,6)	6,0 (3,6 – 8,6)	6,0 (4,0 – 8,0)	0,456
Κάπνισμα (ναι) ^α	95 (33,8)	62 (33)	33 (35,5)	0,676
Παθητικό κάπνισμα (ναι) ^α	52 (21,1)	34 (20,6)	18 (22)	0,807
Ανθρωπομετρικοί δείκτες:				
ΔΜΣ (kg/m ²)	27,3 (24,7 - 31,0)	25,7 (24,0 – 28,9)	30,0 (28,0 – 32,7)	<0,001
Κατηγορία σωματικού βάρους ^α :				
Φυσιολογικό: 18,5 – 24,9 (kg/m ²)	76 (26,8)	73 (38,6)	3 (3,2)	<0,001
Υπέρβαρο: 25,0 – 29,9 (kg/m ²)	123 (43,3)	80 (42,3)	43 (45,3)	
Παχυσαρκία: ≥ 30,0 (kg/m ²)	85 (29,9)	36 (19)	49 (51,6)	
Περιφέρεια μέσης (cm)	96,0 (86,0 - 106,0)	90,0 (82,0 – 99,0)	105,0 (98,0 – 112,0)	<0,001
Βιοχημικοί δείκτες:				
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	205,50 (184,35 - 232,43)	206,78 (185,79 – 232,43)	198,77 (181,63 – 236,72)	0,686
LDL-χοληστερόλη (mg/dL)	132,45 (112,50 - 156,06)	133,46 (113,60 – 152,70)	130,87 (112,01 – 158,48)	0,678
HDL-χοληστερόλη (mg/dL)	50,06 (41,69 - 58,33)	53,19 (46,39 – 61,09)	40,88 (36,28 – 48,32)	<0,001
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	102,14 (75,97 - 143,38)	93,32 (68,04 – 115,43)	150,22 (100,28 – 206,34)	<0,001
Γλυκόζη (mg/dL)	89,94 (85,06 - 96,44)	88,32 (84,27 – 93,19)	94,42 (88,25 – 104,78)	<0,001
Ινσουλίνη (mU/L)	8,20 (5,80 - 11,85)	6,80 (5,00 – 9,05)	11,80 (9,10 – 14,88)	<0,001
Κρεατινίνη (mg/dL)	0,88 (0,77 - 0,98)	0,88 (0,75 – 0,96)	0,89 (0,78 – 1,03)	0,107
Ουρικό οξύ (mg/dL)	5,07 (4,31 - 6,00)	4,78 (4,05 – 5,49)	5,55 (4,93 – 6,57)	<0,001
SGOT (U/L)	18,67 (15,32 - 21,30)	18,11 (15,17 – 21,26)	18,67 (15,84 – 22,02)	0,368
SGPT (U/L)	16,31 (8,85 - 23,58)	15,40 (7,94 – 20,46)	19,0 (11,39 – 27,0)	0,005
γ-GT (U/L)	20,60 (16,02 - 31,06)	18,87 (15,60 – 27,41)	26,50 (19,56 – 37,64)	<0,001
IL-6 (pg/mL)	1,621 (0,983 - 2,696)	1,394 (0,897 – 2,329)	2,099 (1,391 – 3,036)	<0,001
Αντιπονεκτίνη (μg/mL)	7,419 (4,763 - 10,516)	8,473 (5,680 – 12,579)	5,476 (4,072 – 8,454)	<0,001

(συνέχεια Πίνακα 13)

Lp-PLA ₂ (nmol/min/mL)	22,0 (15,0 - 27,0)	21,0 (15,0 – 26,8)	24,0 (16,0 – 29,0)	0,096
Κλινικοί δείκτες:				
HOMA-IR	1,83 (1,23 - 2,79)	1,49 (1,06 – 2,01)	2,79 (2,18 – 3,47)	<0,001
eGFR (mL/min/1,73 m ²)	90,65 (74,02 - 101,46)	91,15 (74,66 – 103,41)	89,06 (72,69 -98,68)	0,137
ΣΑΠ (mmHg)	123,0 (114,0 - 133,5)	118,5 (110,0 – 128,0)	133,0 (125,3 – 138,0)	<0,001
ΔΑΠ (mmHg)	79,0 (70,0 - 86,0)	76,0 (69,0 – 83,0)	85,0 (77,0- 90,0)	<0,001
Ιατρικό ιστορικό:				
Υπέρταση ^α	49 (18,7)	20 (11,4)	29 (33,3)	<0,001
Δυσλιπιδαιμία ^α	109 (40,4)	57 (31,8)	52 (57,1)	<0,001
ΣΔΤ2 ^α	14 (5,3)	2 (1,1)	12 (13,8)	<0,001
Οικογενειακό ιστορικό:				
ΚΝ ^α	102 (40)	70 (40,2)	32 (39,5)	0,855
Υπέρταση ^α	130 (49,6)	83 (46,9)	47 (55,3)	0,270
Δυσλιπιδαιμία ^α	92 (36,1)	62 (35,6)	30 (37)	0,448
ΣΔΤ2 ^α	82 (31,5)	60 (34,1)	22 (26,2)	0,395
Εμμηνόπαυση (ναι) ^α	61 (49,2)	40 (42,1)	21 (72,4)	0,004

Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως διάμεσος (25^ο – 75^ο εκατοστημόριο)

^αΟι κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτη συχνότητα (σχετική συχνότητα) ή ν (%).

^βΗ σύγκριση μεταξύ συμμετεχόντων χωρίς και με ΜΣ πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο *U* κατά Mann-Whitney για τις συνεχείς μεταβλητές, καθώς και τον έλεγχο χ^2 κατά Pearson για τις κατηγορικές μεταβλητές.

Συντομογραφίες: ΔΑΠ, διαστολική αρτηριακή πίεση; ΔΜΣ, δείκτης μάζας σώματος; ΚΝ, καρδιαγγειακό νόσημα; ΜΣ, μεταβολικό σύνδρομο; ΣΑΠ, συστολική αρτηριακή πίεση; ΣΔΤ2, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2; eGFR, estimated Glomerular Filtration Rate; γ-GT, γ-glutamyltransferase; HOMA-IR, Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance index; IL-6, Interleukin 6; Lp-PLA2, lipoprotein phospholipase A2; SGOT, serum glutamic oxaloacetic transaminase; SGPT, serum glutamic pyruvic transaminase

Πίνακας 14. Διατροφικά χαρακτηριστικά συμμετεχόντων 10-ετούς επανελέγχου μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, στο σύνολο και βάσει παρουσίας ΜΣ.

	Σύνολο (n=284)	απουσία ΜΣ (n=189)	ΜΣ (AHA/NHLBI) (n=95)	p ^a
Ομάδες τροφίμων (μερίδες/εβδομάδα):				
Τυριά υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος	1,5 (0,5 - 7,0)	1,5 (0,5 - 4,5)	1,5 (0,5 - 7,0)	0,801
Τυριά μέτριας περιεκτικότητας σε λίπος	4,5 (1,5 - 7,0)	4,5 (1,5 - 7,0)	4,5 (1,5 - 7,0)	0,727
Τυριά χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,8)	0,540
Γάλα, γιαούρτι πλήρη σε λιπαρά	0 (0 - 1,5)	0 (0 - 1,5)	0 (0 - 1,5)	0,262
Γάλα, γιαούρτι μειωμένα σε λιπαρά	1,5 (0 - 7,0)	1,5 (0 - 7,0)	1,5 (0 - 7,0)	0,737
Αυγά	0,5 (0,5 - 1,5)	0,5 (0,5 - 1,5)	0,5 (0,5 - 1,5)	0,821
Λευκό ψωμί και αρτοσκευάσματα	9,0 (4,5 - 15,0)	9,0 (4,9 - 15,0)	8,8 (3,8 - 15,5)	0,717
Ολικής αλέσεως ψωμί και αρτοσκευάσματα	4,5 (0 - 7,0)	1,5 (0 - 7,0)	4,5 (0 - 7,0)	0,566
Δημητριακά πρωινού	0 (0 - 1,5)	0 (0 - 2,3)	0 (0 - 0,5)	0,002
Ρύζι και ζυμαρικά	3,0 (2,0 - 5,0)	3,0 (2,0 - 5,0)	3,0 (2,0 - 6,0)	0,694
Πατάτες	2,0 (1,0 - 3,0)	2,0 (1,0 - 3,0)	2,0 (1,0 - 4,5)	0,642
Κρέας	4,5 (3,5 - 6,0)	4,5 (3,5 - 6,0)	5,0 (3,5 - 6,8)	0,226
Κρεατοσκευάσματα υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος	1,0 (0 - 3,0)	1,0 (0 - 3,0)	1,0 (0 - 3,0)	0,878
Κρεατοσκευάσματα χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0,1)	0,967
Ψάρια	1,5 (1,0 - 3,0)	1,5 (1,0 - 2,0)	2,0 (1,0 - 3,0)	0,015
Θαλασσινά	0 (0-0,5)	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,5)	0,556
Όσπρια	1,5 (1,5 - 1,5)	1,5 (1,5 - 1,5)	1,5 (1,0 - 1,5)	0,857
Λαχανικά	11,5 (7,5 - 16,5)	11,0 (7,0 - 16,5)	12,5 (8,4 - 17,0)	0,253
Φρούτα	11,5 (5,5 - 19,3)	11,5 (5,5 - 20,3)	11,5 (5,3 - 18,5)	0,688
Χυμοί φρούτων	0,5 (0 - 4,5)	0,5 (0 - 4,5)	0,5 (0 - 4,5)	0,590
Αποξηραμένα φρούτα	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,5)	0,828
Ξηροί καρποί και σπόροι	0,5 (0 - 1,5)	0,5 (0 - 1,5)	0,5 (0 - 2,3)	0,497
Γλυκά, επιδόρπια και αλμυρά σνακ	6,0 (2,5 - 10,0)	6,3 (3,0 - 9,5)	6,0 (2,0 - 10,5)	0,872
Προστιθέμενα σάκχαρα	7,0 (1,5 - 14,0)	7,0 (1,5 - 14,0)	5,8 (1,5 - 14,0)	0,251
Αλκοολούχα ποτά	2,5 (0,5 - 7,5)	2,8 (0,5 - 7,0)	2,0 (0,5 - 8,0)	0,816
Αναψυκτικά	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,1)	0,755
Αναψυκτικά χωρίς ζάχαρη	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0,5)	0,039
Καφές	14,0 (7,0 - 14,0)	14,0 (7,0 - 14,0)	14,0 (7,0 - 14,0)	0,224
Σοκολάτα ρόφημα	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0,227
Τσάι και άλλα αφεψήματα	0,5 (0 - 4,5)	0,5 (0 - 4,5)	0,5 (0 - 2,3)	0,637

(συνέχεια Πίνακα 14)

Προστιθέμενα λίπη και έλαια	14,5 (12,0 - 18,5)	14,5 (12,0 - 18,5)	14,5 (12,5 - 17,0)	0,942
MedDietScore (0-55)	33,0 (30,0 - 37,0)	33,0 (30,0 - 36,0)	33,0 (30,0 - 37,0)	0,451
Ενεργειακή πρόσληψη (kcal/ημέρα)	2557,3 (2216,6 - 3106,6)	2509,7 (2188,6 - 3025,0)	2592,1 (2261,8 - 3160,8)	0,201
Πρωτεΐνη (γρ./ημέρα)	77,9 (63,5 - 96,6)	75,1 (62,3 - 92,8)	83,0 (67,1 - 103,5)	0,037
Πρωτεΐνη (% ενεργειακής πρόσληψης)	12,2 (10,7 - 13,6)	12,0 (10,8 - 13,3)	12,4 (10,6 - 14,5)	0,214
Λίπος (γρ./ημέρα)	177,0 (147,9 - 207,3)	175,5 (142,3 - 204,0)	180,6 (158,9 - 211,1)	0,159
Λίπος (% ενεργειακής πρόσληψης)	61,4 (56,4 - 65,1)	60,9 (56,2 - 64,5)	62,0 (56,6 - 66,1)	0,357
Κορεσμένο λίπος (γρ./ημέρα)	38,5 (31,4 - 45,3)	38,1 (31,3 - 44,1)	39,9 (32,4 - 48,5)	0,204
Κορεσμένο λίπος (% ενεργειακής πρόσληψης)	13,5 (12,2 - 14,5)	13,4 (12,2 - 14,6)	13,5 (12,4 - 14,5)	0,814
Μονοακόρεστο λίπος (γρ./ημέρα)	104,7 (78,9 - 118,6)	104,3 (76,3 - 118,1)	104,8 (87,2 - 121,1)	0,365
Μονοακόρεστο λίπος (% ενεργειακής πρόσληψης)	35,0 (30,3 - 38,7)	35,0 (30,8 - 38,8)	35,5 (29,2 - 38,6)	0,954
Πολυακόρεστο λίπος (γρ./ημέρα)	21,7 (17,6 - 27,7)	21,4 (16,7 - 27,3)	22,2 (18,6 - 30,1)	0,077
Πολυακόρεστο λίπος (% ενεργειακής πρόσληψης)	7,6 (6,7 - 8,7)	7,5 (6,5 - 8,6)	7,7 (7,0 - 9,1)	0,072
Λόγος μονοακόρεστου-προς-κορεσμένου λίπους	2,6 (2,2 - 3,0)	2,6 (2,2 - 3,0)	2,6 (2,1 - 3,1)	0,949
Υδατάνθρακες (γρ./ημέρα)	170,1 (133,1 - 210,0)	172,6 (133,3 - 210,0)	167,2 (129,9 - 212,3)	0,673
Υδατάνθρακες (% ενεργειακής πρόσληψης)	26,4 (22,6 - 30,4)	26,7 (23,4 - 30,6)	25,7 (21,5 - 29,9)	0,059
Χοληστερόλη (χιλ.γρ./ημέρα)	215,8 (162,8 - 295,2)	213,0 (157,3 - 295,0)	221,7 (176,7 - 301,8)	0,099
Διαιτητικές ίνες (γρ./ημέρα)	23,2 (17,1 - 30,9)	22,5 (16,9 - 30,0)	23,4 (17,7 - 32,3)	0,341
Αιθανόλη (γρ./ημέρα)	3,4 (0,9 - 12,9)	3,4 (0,9 - 11,0)	3,4 (0,9 - 13,6)	0,704

Οι μεταβλητές παρουσιάζονται ως διάμεσος (25° – 75° εκατοστημόριο)

^aΗ σύγκριση μεταξύ συμμετεχόντων χωρίς και με ΜΣ πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο *U* κατά Mann-Whitney.

Συντομογραφίες: ΜΣ, μεταβολικό σύνδρομο; MedDietScore, Mediterranean Diet Score

4.2 Δραστικότητα Lp-PLA₂, συνεχής μεταβλητή: Συσχετίσεις με ανθρωπομετρικούς, βιοχημικούς, κλινικούς και διατροφικούς δείκτες

Στον Πίνακα 15 παρουσιάζονται οι σημαντικές συσχετίσεις της δραστικότητας της Lp-PLA₂, ως συνεχούς μεταβλητής, με ανθρωπομετρικούς, βιοχημικούς και διατροφικούς δείκτες. Συγκεκριμένα, η δραστικότητα της Lp-PLA₂ συσχετίζεται θετικά με: 1) την περιφέρεια μέσης (ανθρωπομετρικός δείκτης), 2) την ολική και LDL-χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, την κρεατινίνη, το ουρικό οξύ (βιοχημικοί δείκτες), 3) τη διαστολική αρτηριακή πίεση (κλινικός δείκτης) και 4) την κατανάλωση των ομάδων τροφίμων γάλα/ γιαούρτι πλήρη σε λιπαρά, πατάτες, προστιθέμενα σάκχαρα, την ενεργειακή πρόσληψη, την πρόσληψη μακροθρεπτικών συστατικών (συνολική πρωτεΐνη, συνολικό, κορεσμένο, μονοακόρεστο και πολυακόρεστο λίπος, συνολικοί υδατάνθρακες), χοληστερόλης και διαιτητικών ινών (διατροφικοί δείκτες). Αντίθετα, η δραστικότητα της Lp-PLA₂ συσχετίζεται αρνητικά με: 1) την HDL-χοληστερόλη, την SGOT, την SGPT, την αντιπονεκτίνη (βιοχημικοί δείκτες) και 2) το λόγο μονοακόρεστου/κορεσμένου λίπους (διατροφικός δείκτης). Η δραστικότητα της Lp-PLA₂ διαφέρει μεταξύ ανδρών και γυναικών [24,0 (16,0 – 30,0) έναντι 20,0 (14,0 – 24,0) nmol/min/mL, $p < 0,001$], καθώς και μεταξύ καπνιστών και μη καπνιστών [24,0 (18,0 – 28,0) έναντι 21,0 (14,5 – 26,5) nmol/min/mL, $p = 0,005$].

Πίνακας 15. Σημαντικές συσχετίσεις δραστηριότητας Lp-PLA₂ με ανθρωπομετρικούς, βιοχημικούς και διατροφικούς δείκτες.

	rho	p
Περιφέρεια μέσης	0,123	0,039
Ολική χοληστερόλη	0,230	<0,001
LDL-χοληστερόλη	0,300	<0,001
HDL-χοληστερόλη	-0,251	<0,001
Τριγλυκερίδια	0,160	0,007
Κρεατινίνη	0,135	0,024
Ουρικό οξύ	0,143	0,017
SGOT	-0,225	<0,001
SGPT	-0,121	0,045
Αντιπυρεκτίνη	-0,221	<0,001
ΔΑΠ	0,148	0,013
Γάλα, γιαούρτι πλήρη σε λιπαρά	0,201	0,001
Πατάτες	0,257	<0,001
Προστιθέμενα σάκχαρα	0,133	0,027
Ενεργειακή πρόσληψη	0,212	<0,001
Πρωτεΐνη*	0,180	0,002
Λίπος*	0,186	0,002
Κορεσμένο λίπος*	0,220	<0,001
Κορεσμένο λίπος**	0,136	0,023
Μονοακόρεστο λίπος*	0,132	0,026
Πολυακόρεστο λίπος*	0,157	0,008
Λόγος μονοακόρεστου-προς-κορεσμένου λίπους	-0,126	0,035
Υδατάνθρακες*	0,168	0,005
Χοληστερόλη***	0,179	0,002
Διαιτητικές ίνες*	0,152	0,010

*Οι μεταβλητές είναι συνεχείς και εκφράζονται σε γρ./ημέρα.

**Η μεταβλητή είναι συνεχής και εκφράζεται σε % ενεργειακής πρόσληψης.

***Η μεταβλητή είναι συνεχής και εκφράζεται σε χιλιοστόγραμμα/ημέρα.

Ο βαθμός και η κατεύθυνση της συσχέτισης εκφράζονται με τον συντελεστή συσχέτισης (rho) κατά Spearman.

Συντομογραφίες: ΔΑΠ, διαστολική αρτηριακή πίεση; SGOT, Serum glutamic oxaloacetic transaminase; SGPT, Serum glutamic pyruvic transaminase.

4.3 Δραστικότητα Lp-PLA₂, κατηγορική μεταβλητή: Περιγραφικά και διατροφικά χαρακτηριστικά

Στον πίνακα 16 παρουσιάζονται τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων του δεκαετούς επανελέγχου της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, βάσει των τεταρτημορίων της δραστικότητας της Lp-PLA₂. Από τις ανά δύο συγκρίσεις, βρέθηκε ότι:

- 1) Οι συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >27 nmol/min/mL, χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση ολικής και LDL-χοληστερόλης και SGOT, αλλά χαμηλότερη συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης και αντιπονεκτίνης, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ ≤15 nmol/min/mL.
- 2) Οι συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >22 και ≤27 nmol/min/mL, χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση LDL-χοληστερόλης, αλλά χαμηλότερη συγκέντρωση SGOT και SGPT, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ ≤15 nmol/min/mL.
- 3) Οι συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >15 και ≤22 nmol/min/mL, χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση LDL-χοληστερόλης, αλλά χαμηλότερη συγκέντρωση SGPT, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ ≤15 nmol/min/mL.

Οι υπόλοιπες διαφορές παρουσιάζονται στον πίνακα 16.

Πίνακας 16. Περιγραφικά χαρακτηριστικά συμμετεχόντων 10-ετούς επανελέγχου μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, βάσει των τεταρτημορίων της δραστηριότητας της Lp-PLA₂.

	Q1 (n= 72)	Q2 (n= 80)	Q3 (n= 62)	Q4 (n= 69)	p ⁶
Ηλικία (έτη)	52,5 (46,3 – 59,8)	52,0 (46,0 – 60,0)	54,0 (47,8 – 59,3)	52,0 (45,0 – 58,5)	0,590
Φύλο (άνδρες) ^α	37 (51,4)	33 (41,3)	34 (54,8)	55 (79,7) ^{*,§, #}	<0,001
Επίπεδο σωματικής δραστηριότητας (MET.min.εβδομάδα ⁻¹):					
Υψηλής εντάσεως	0 (0 – 72,0)	0 (0 – 240,0)	0 (0 – 160,0)	0 (0 – 480,0)	0,813
Μέτριας εντάσεως	0 (0 – 480,0)	240,0 (0 -800,0)	50,0 (0- 480,0)	200,0 (0 – 840,0)	0,311
Περπάτημα	330,0 (132,0 – 693,0)	330,0 (99,0 -693,0)	396,0 (165,0 – 717,8)	297,0 (132,0 – 693,0)	0,727
Σύνολο	693,0 (297,5 – 1607,0)	693,0 (227,3 – 2292,8)	803,8 (259,9 – 1614,0)	693,0 (264,0 – 1652,3)	0,992
Καθιστικές δραστηριότητες (ώρες/ημέρα)	7,0 (4,5 – 9,2)	5,7 (4,0 – 8,0)	5,0 (3,2 – 8,0)	7,0 (4,0 – 8,9)	0,147
Κάπνισμα (ναι) ^α	16 (22,9)	24 (30)	28 (45,2) [*]	27 (39,7)	0,031
Παθητικό κάπνισμα (ναι) ^α	12 (18,5)	11 (16,2)	16 (32)	13 (20,3)	0,182
Ανθρωπομετρικοί δείκτες:					
ΔΜΣ (kg/m ²)	27,4 (25,0 – 31,6)	26,9 (24,2 – 31,1)	27,1 (24,2 – 30,6)	28,7 (25,6 – 31,5)	0,383
Περιφέρεια μέσης (cm)	96,0 (86,0 – 106,5)	92,5 (82,0 – 102,3)	95,0 (84,3 – 106,0)	100,0 (92,0 – 109,3) [§]	0,011
Βιοχημικοί δείκτες:					
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	193,0 (179,25 – 217,04)	207,11 (184,25 – 231,04)	205,10 (184,11 – 231,70)	217,04 (191,80 – 254,65) [*]	0,001
LDL-χοληστερόλη (mg/dL)	116,69 (100,42 – 136,33)	133,80 (114,22 – 155,41) [*]	135,26 (113,57 – 150,75) [*]	139,61 (122,66 – 176,40) [*]	<0,001
HDL-χοληστερόλη (mg/dL)	53,74 (46,85 – 62,77)	49,93 (41,80 – 58,33)	48,32 (41,57 – 58,52)	46,30 (37,43 – 54,57) [*]	0,001
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	98,52 (73,91 – 131,98)	96,49 (72,0 – 134,22)	103,23 (76,84 – 145,81)	121,43 (86,38 – 165,32)	0,041
Γλυκόζη (mg/dL)	89,13 (85,06 – 94,21)	90,02 (85,88 – 95,63)	88,32 (82,96 – 95,88)	91,57 (87,50 – 101,04)	0,047
Ινσουλίνη (mU/L)	8,70 (5,7 – 12,2)	7,80 (5,70 – 11,50)	7,90 (5,60 – 11,75)	8,75 (5,93 – 12,45)	0,672
Κρεατινίνη (mg/dL)	0,86 (0,73 – 0,97)	0,89 (0,79 – 0,96)	0,86 (0,76 – 1,03)	0,92 (0,81 – 1,02)	0,096
Ουρικό οξύ (mg/dL)	5,07 (4,40 – 6,02)	4,78 (4,03 – 5,40)	5,05 (4,31 – 5,79)	5,48 (4,69 – 6,54) [§]	0,002
SGOT (U/L)	19,78 (17,21 – 22,02)	18,09 (12,73 – 22,02)	17,03 (12,17 – 19,78) [*]	18,08 (15,05 – 20,09) [*]	0,001
SGPT (U/L)	19,95 (14,49 – 24,49)	14,49 (5,37 – 21,08) [*]	14,49 (6,48 – 19,04) [*]	15,40 (8,21 – 26,31)	0,001
γ-GT (U/L)	19,66 (16,0 – 31,45)	19,56 (15,80 – 28,48)	19,91 (15,67 – 29,35)	23,53 (18,27 – 35,42)	0,221
IL-6 (pg/mL)	1,551 (0,924 – 2,696)	1,541 (0,908 – 2,455)	1,773 (1,056 – 2,859)	1,860 (0,983 – 2,912)	0,577
Αντιγονεκτίνη (μg/mL)	8,249 (6,069 – 11,282)	8,382 (5,207 – 10,887)	7,675 (4,763 – 12,947)	5,546 (3,810 – 9,699) ^{*,§}	0,001
Lp-PLA ₂ (nmol/min/mL)	13,0 (11,3 – 14,0)	18,0 (17,0- 21,0) [*]	25,0 (23,0 – 26,0) ^{*,§}	31,0 (29,0 – 33,5) ^{*,§, #}	<0,001
Κλινικοί δείκτες:					
HOMA-IR	1,97 (1,20 – 2,80)	1,79 (1,22 – 2,74)	1,71 (1,19 – 2,66)	1,93 (1,27 – 3,07)	0,491

(συνέχεια Πίνακα 16)

eGFR (mL/min/1,73 m ²)	92,51 (78,41 – 103,75)	86,30 (73,84 – 98,49)	86,85 (72,52 – 102,28)	93,94 (73,41 – 103,24)	0,258
ΣΑΠ (mmHg)	120,0 (115,0 – 133,0)	123,0 (110,0 – 132,0)	126,3 (108,8 – 135,3)	123,5 (116,0 – 133,5)	0,553
ΔΑΠ (mmHg)	78,0 (69,0 – 85,5)	75,0 (70,0 – 84,0)	80,0 (70,0 – 87,0)	81,5 (76,3 – 87,8) [§]	0,049
Ιατρικό ιστορικό:					
Υπέρταση ^α	16 (23,5)	9 (12,3)	14 (24,1)	10 (16,1)	0,224
Δυσλιπιδαιμία ^α	34 (48,6)	25 (33,8)	25 (41)	24 (37,5)	0,318
ΣΔΤ2 ^α	4 (5,8)	5 (6,9)	4 (6,9)	1 (1,6)	0,478
ΜΣ (ΑΗΑ/ΝΗΛΒΙ) ^α	22 (30,6)	21 (26,3)	24 (38,7)	28 (40,6)	0,215
Οικογενειακό ιστορικό:					
ΚΝ ^α	29 (42,6)	29 (40,3)	22 (39,3)	22 (37,9)	0,320
Υπέρταση ^α	43 (62,3)	34 (46,6)	28 (49,1)	25 (40,3)	0,283
Δυσλιπιδαιμία ^α	24 (35,3)	35 (49,3)	14 (25,5)	19 (31,7)	0,121
ΣΔΤ2 ^α	21 (30)	27 (37,5)	15 (26,8)	19 (31,1)	0,271
Εμμηνόπαυση (ναι) ^α	16 (47,1)	19 (40,4)	15 (53,6)	10 (71,4)	0,214

Q: quartile (τεταρτημόριο)

Q1: ≤ 15 nmol/min/mL, Q2: >15 & ≤ 22 nmol/min/mL, Q3: >22 & ≤ 27 nmol/min/mL, Q4: >27 nmol/min/mL

Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως διάμεσος (25° – 75° εκατοστημόριο)

^αΟι κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτη συχνότητα (σχετική συχνότητα) ή ν (%).^βΟι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με τον έλεγχο *H* κατά Kruskal – Wallis για τις συνεχείς μεταβλητές, καθώς και τον έλεγχο χ^2 κατά Pearson για τις κατηγορικές μεταβλητές.^{*}Οι ανά δύο συγκρίσεις με το Q1 πραγματοποιήθηκαν με τον έλεγχο *U* κατά Mann-Whitney για συνεχείς μεταβλητές και τον έλεγχο χ^2 κατά Pearson για κατηγορικές μεταβλητές; $p < 0,008$ ($p = 0,05/6$, μετά από διόρθωση κατά Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις).[§]Οι ανά δύο συγκρίσεις με το Q2 πραγματοποιήθηκαν με τον έλεγχο *U* κατά Mann-Whitney για συνεχείς μεταβλητές και τον έλεγχο χ^2 κατά Pearson για κατηγορικές μεταβλητές; $p < 0,008$ ($p = 0,05/6$, μετά από διόρθωση κατά Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις).[#]Οι ανά δύο συγκρίσεις με το Q3 πραγματοποιήθηκαν με τον έλεγχο *U* κατά Mann-Whitney για συνεχείς μεταβλητές και τον έλεγχο χ^2 κατά Pearson για κατηγορικές μεταβλητές; $p < 0,008$ ($p = 0,05/6$, μετά από διόρθωση κατά Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις).

Συντομογραφίες: ΔΑΠ, διαστολική αρτηριακή πίεση; ΔΜΣ, δείκτης μάζας σώματος; ΚΝ, καρδιαγγειακό νόσημα; ΣΑΠ, συστολική αρτηριακή πίεση; ΣΔΤ2, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2; eGFR, estimated Glomerular Filtration Rate; γ-GT, γ-glutamyltransferase; HOMA-IR, Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance index; IL-6, Interleukin 6; Lp-PLA2, lipoprotein phospholipase A2; SGOT, serum glutamic oxaloacetic transaminase; SGPT, serum glutamic pyruvic transaminase

Στον πίνακα 17 παρουσιάζονται τα διατροφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων του δεκαετούς επανελέγχου της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, βάσει των τεταρτημορίων της δραστικότητας της Lp-PLA₂. Από τις ανά δύο συγκρίσεις, βρέθηκε ότι:

- 1) Οι συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >27 nmol/min/mL χαρακτηρίζονται από υψηλότερη κατανάλωση των ομάδων τροφίμων γάλα/γιαούρτι πλήρη σε λιπαρά και πατάτες, υψηλότερη ενεργειακή πρόσληψη και υψηλότερη πρόσληψη συνολικού και κορεσμένου λίπους, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ ≤15 nmol/min/mL.
- 2) Οι συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >27 nmol/min/mL χαρακτηρίζονται από υψηλότερη προσκόλληση στη Μεσογειακή Διατροφή (υψηλότερο MedDietScore) συγκριτικά με την ομάδα με δραστικότητα Lp-PLA₂ >15 και ≤22 nmol/min/mL.
- 3) Οι συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >22 και ≤27 nmol/min/mL, χαρακτηρίζονται από υψηλότερη κατανάλωση των ομάδων τροφίμων πατάτες και κρέας, υψηλότερη πρόσληψη συνολικής πρωτεΐνης, κορεσμένου λίπους και χοληστερόλης, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ ≤15 nmol/min/mL.

Πίνακας 17. Διατροφικά χαρακτηριστικά συμμετεχόντων 10-ετούς επανελέγχου μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, βάσει των τεταρτημορίων της δραστηριότητας της Lp-PLA₂.

	Q1 (v= 72)	Q2 (v= 80)	Q3 (v= 62)	Q4 (v= 69)	p ^a
Ομάδες τροφίμων (μερίδες/εβδομάδα):					
Τυριά υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος	1,5 (0,5 - 5,8)	1,5 (0,5 - 4,5)	1,5 (0 - 7,0)	1,5 (0,5 - 7,0)	0,952
Τυριά μέτριας περιεκτικότητας σε λίπος	4,5 (0,5 - 4,5)	4,5 (1,5 - 7,0)	4,5 (0,5 - 10,5)	4,5 (1,5 - 7,0)	0,317
Τυριά χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος	0 (0 - 1,5)	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0)	0,209
Γάλα, γιαούρτι πλήρη σε λιπαρά	0 (0 - 0)	0 (0 - 1,5)	0 (0 - 4,5)	0 (0 - 4,5)*	0,040
Γάλα, γιαούρτι μειωμένα σε λιπαρά	1,5 (0 - 7,0)	1,5 (0 - 7,0)	0,5 (0 - 7,0)	1,5 (0 - 7,0)	0,590
Αυγά	0,5 (0,5 - 1,5)	0,5 (0 - 1,5)	1,5 (0,5 - 1,5)	0,5 (0,5 - 1,5)	0,070
Λευκό ψωμί και αρτοσκευάσματα	8,5 (3,0- 15,0)	9,0 (6,0 - 15,0)	9,0 (4,0 - 15,5)	9,0 (4,5 - 15,4)	0,595
Ολικής αλέσεως ψωμί και αρτοσκευάσματα	4,5 (0,5 - 7,0)	1,5 (0 - 7,0)	5,8 (0- 14,0)	1,5 (0 - 7,0)	0,110
Δημητριακά πρωινού	0 (0 - 1,5)	0 (0 - 1,5)	0 (0 - 1,5)	0 (0 - 4,5)	0,573
Ρύζι και ζυμαρικά	3,0 (2,0 - 3,8)	3,0 (2,0 - 4,5)	3,0 (2,0 - 6,0)	3,0 (2,0 - 6,0)	0,348
Πατάτες	1,5 (1,0 - 2,0)	2,0 (1,1 - 3,0)	2,0 (1,5 - 4,6)*	2,0 (1,5 - 5,0)*	0,001
Κρέας	4,5 (3,0 - 5,5)	4,5 (3,5 - 6,0)	6,0 (4,0 - 7,5)*	4,0 (3,0 - 6,5)	0,024
Κρεατοσκευάσματα υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος	0,8 (0 - 2,0)	0,8 (0 - 3,0)	1,0 (0 - 5,0)	1,0 (0 - 3,0)	0,553
Κρεατοσκευάσματα χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος	0 (0 - 0)	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0,162
Ψάρια	1,5 (1,0 - 2,8)	1,5 (1,0 - 3,0)	1,5 (1,0 - 3,0)	2,0 (1,0 - 3,0)	0,682
Θαλασσινά	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,5)	0,283
Όσπρια	1,5 (1,5 - 1,5)	1,5 (0,5 - 1,5)	1,5 (1,5 - 1,5)	1,5 (1,5 - 1,5)	0,303
Λαχανικά	10,5 (7,5 - 15,8)	11,5 (7,5 - 16,0)	12,5 (7,1 - 17,4)	11,8 (7,1 - 16,9)	0,580
Φρούτα	13,0 (5,3 - 17,5)	10,3 (6,0 - 21,5)	10,3 (4,5 - 18,0)	12,5 (7,1 - 20,1)	0,695
Χυμοί φρούτων	0,5 (0 - 4,5)	0,5 (0 - 1,5)	0,5 (0 - 4,5)	1,5 (0 - 4,5)	0,301
Αποξηραμένα φρούτα	0 (0 - 0)	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,5)	0,830
Ξηροί καρποί και σπόροι	0,5 (0 - 4,5)	0,5 (0 - 1,5)	0,5 (0 - 1,5)	0,5 (0,5 - 1,5)	0,261
Γλυκά, επιδόρπια και αλμυρά σνακ	6,0 (3,0 - 9,5)	6,0 (2,0 - 9,8)	6,5 (3,5 - 12,0)	7,0 (3,0 - 10,5)	0,666
Προστιθέμενα σάκχαρα	7,0 (1,5 - 7,0)	7,0 (1,5 - 14,0)	7,0 (1,5 - 14,0)	7,0 (1,5 - 14,0)	0,240
Αλκοολούχα ποτά	2,5 (0,5 - 6,0)	2,0 (0,5 - 7,0)	2,0 (0,5 - 8,5)	4,5 (1,0 - 8,5)	0,445
Αναψυκτικά	0 (0 - 0)	0 (0 - 0,5)	0 (0 - 0,3)	0 (0 - 0,4)	0,811
Αναψυκτικά χωρίς ζάχαρη	0 (0 - 0)	0 (0-0)	0 (0 - 0,3)	0 (0 - 0)	0,928
Καφές	14,0 (7,0 - 14,0)	8,5 (7,0 - 14,0)	14,0 (7,0 - 14,1)	14,0 (7,0 - 14,5)	0,230
Σοκολάτα ρόφημα	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0,3)	0,335
Τσάι και άλλα αφεψήματα	0,5 (0 - 4,5)	0 (0 - 1,5)	0,5 (0 - 4,5)	0,5 (0 - 1,5)	0,684

(συνέχεια Πίνακα 17)

Προστιθέμενα λίπη και έλαια	14,5 (11,1 – 17,0)	14,5 (11,5 - 17,0)	14,5 (11,6 - 18,5)	15,5 (14,0 - 19,0)	0,305
MedDietScore (0-55)	33,5 (30,0 – 36,0)	32,0 (29,0 - 35,0)	33,0 (30,0 - 38,0)	35,0 (30,0 - 37,3) [§]	0,045
Ενεργειακή πρόσληψη (kcal/ημέρα)	2370,6 (2087,4 – 2811,8)	2509,5 (2201,7- 2925,6)	2629,5 (2295,5 - 3350,0)	2746,8 (2299,8 - 3311,5)*	0,007
Πρωτεΐνη (γρ./ημέρα)	73,3 (59,4 – 88,1)	77,3 (63,3 - 88,4)	86,3 (70,6 - 107,1)*	79,5 (65,0 - 98,5)	0,006
Πρωτεΐνη (% ενεργειακής πρόσληψης)	12,0 (10,7 – 13,4)	12,2 (10,9 - 13,4)	12,7 (11,0 - 14,6)	11,9 (10,1 - 13,5)	0,173
Λίπος (γρ./ημέρα)	171,2 (135,5 – 197,4)	175,8 (144,1 - 198,4)	186,3 (157,1 - 220,8)	187,0 (162,3 - 222,3)*	0,018
Λίπος (% ενεργειακής πρόσληψης)	60,9 (55,5 – 65,5)	61,5 (57,3 - 65,0)	61,7 (55,6 - 64,5)	61,0 (56,6 - 65,8)	0,957
Κορεσμένο λίπος (γρ./ημέρα)	35,7 (28,7 – 41,2)	38,2 (32,5 - 44,1)	41,2 (34,0 - 50,9)*	40,7 (31,1 - 51,8)*	0,003
Κορεσμένο λίπος (% ενεργειακής πρόσληψης)	13,0 (11,9 – 13,9)	13,7 (12,5 - 14,7)	14,1 (12,5 - 15,1)*	13,5 (12,1 - 14,4)	0,010
Μονοακόρεστο λίπος (γρ./ημέρα)	103,3 (72,9 – 116,1)	104,5 (74,5 - 117,6)	106,0 (91,8 - 121,8)	107,8 (94,3 - 121,8)	0,122
Μονοακόρεστο λίπος (% ενεργειακής πρόσληψης)	35,7 (30,1 – 39,5)	35,1 (30,9 - 38,4)	34,6 (28,9 - 38,9)	34,5 (30,3 - 38,4)	0,802
Πολυακόρεστο λίπος (γρ./ημέρα)	21,0 (16,3 – 26,1)	21,5 (16,4 - 26,3)	22,0 (18,1 – 28,0)	23,5 (18,5 – 32,0)	0,097
Πολυακόρεστο λίπος (% ενεργειακής πρόσληψης)	7,6 (6,7 – 9,1)	7,4 (6,6 - 8,6)	7,2 (6,7 - 8,3)	8,0 (6,9 - 9,0)	0,222
Λόγος μονοακόρεστου-προς-κορεσμένου λίπους	2,8 (2,3 – 3,1)	2,6 (2,2 - 3,1)	2,5 (2,0 - 2,9)	2,6 (2,2 - 2,9)	0,143
Υδατάνθρακες (γρ./ημέρα)	159,7 (126,7 – 189,3)	164,1 (126,4 - 202,9)	176,6 (133,8 - 239,8)	183,1 (139,4 - 236,5)	0,062
Υδατάνθρακες (% ενεργειακής πρόσληψης)	26,4 (22,4 – 31,7)	26,3 (22,3 - 29,8)	26,4 (22,5 - 30,4)	26,7 (22,9 - 30,6)	0,822
Χοληστερόλη (χιλ.γρ./ημέρα)	189,6 (147,6 – 266,3)	219,1 (164,3 – 280,0)	244,7 (194,4 - 334,3)*	213,0 (166,1 - 323,0)	0,002
Διαιτητικές ίνες (γρ./ημέρα)	22,3 (17,2 – 25,9)	21,1 (16,0 - 27,2)	25,0 (17,9 - 33,9)	25,1 (17,9 -33,2)	0,015
Αιθανόλη (γρ./ημέρα)	3,4 (0,8 – 9,0)	3,4 (0,9 – 12,0)	3,0 (0,9 - 12,9)	4,8 (0,9 - 14,0)	0,569

Q: quartile (τεταρτημόριο)

Q1: ≤ 15 nmol/min/mL, Q2: >15 & ≤ 22 nmol/min/mL, Q3: >22 & ≤ 27 nmol/min/mL, Q4: >27 nmol/min/mL

Οι μεταβλητές παρουσιάζονται ως διάμεσος (25° – 75° εκατοστημόριο)

°Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με τον έλεγχο *H* κατά Kruskal – Wallis.*Οι ανά δύο συγκρίσεις με το Q1 πραγματοποιήθηκαν με τον έλεγχο U κατά Mann-Whitney; $p < 0,008$ ($p = 0,05/6$, μετά από διόρθωση κατά Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις).§Οι ανά δύο συγκρίσεις με το Q2 πραγματοποιήθηκαν με τον έλεγχο U κατά Mann-Whitney; $p < 0,008$ ($p = 0,05/6$, μετά από διόρθωση κατά Bonferroni για πολλαπλές συγκρίσεις).

Συντομογραφίες: MedDietScore, Mediterranean Diet Score

4.4 Επίδραση διατροφικών παραγόντων, αντιπονεκτίνης και δραστικότητας Lp-PLA₂ στο ΜΣ

Στον Πίνακα 18 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της διωνυμικής λογαριθμικής παλινδρόμησης η οποία εξετάζει την επίδραση διατροφικών παραγόντων (δημητριακά πρωινού, αναψυκτικά χωρίς ζάχαρη, πρωτεΐνη), της αντιπονεκτίνης και της δραστικότητας της Lp-PLA₂ στο ΜΣ (ΑΗΑ/ΝΗΛΒΙ), με συγχυτικές μεταβλητές την ηλικία και το φύλο. Οι εξισώσεις – μοντέλα που αξιολογήθηκαν έχουν την ακόλουθη μορφή:

Μοντέλο 1:

$$\log\left(\frac{p(M\Sigma = 1)}{p(M\Sigma = 0)}\right) = (0,063) * (\text{ηλικία}) + (0,765) * (\text{φύλο} = \text{άνδρες}) + (-0,153) * (\text{δημητριακά πρωινού}) + (0,033) * (\text{αναψυκτικά χωρίς ζάχαρη}) + (0,012) * (\text{πρωτεΐνη})$$

Μοντέλο 2:

$$\log\left(\frac{p(M\Sigma = 1)}{p(M\Sigma = 0)}\right) = (0,087) * (\text{ηλικία}) + (0,051) * (\text{φύλο} = \text{άνδρες}) + (-0,175) * (\text{δημητριακά πρωινού}) + (0,013) * (\text{πρωτεΐνη}) + (-0,189) * (\text{αντιπονεκτίνη})$$

Μοντέλο 3:

$$\log\left(\frac{p(M\Sigma = 1)}{p(M\Sigma = 0)}\right) = (0,087) * (\text{ηλικία}) + (0,050) * (\text{φύλο} = \text{άνδρες}) + (-0,175) * (\text{δημητριακά πρωινού}) + (0,013) * (\text{πρωτεΐνη}) + (-0,189) * (\text{αντιπονεκτίνη}) + (0,0002) * (Lp - PLA_2)$$

Μοντέλο 4:

$$\log\left(\frac{p(M\Sigma = 1)}{p(M\Sigma = 0)}\right) = (0,088) * (\text{ηλικία}) + (-0,032) * (\text{φύλο} = \text{άνδρες}) + (-0,180) * (\text{δημητριακά πρωινού}) + (0,012) * (\text{πρωτεΐνη}) + (-0,192) * (\text{αντιπονεκτίνη}) + (-0,530) * (Lp - PLA_2 = Q_2) + (-0,024) * (Lp - PLA_2 = Q_3) + (-0,001) * (Lp - PLA_2 = Q_4)$$

Για παράδειγμα, για αύξηση της ηλικίας κατά 1 μονάδα (δηλ. κατά 1 έτος) αναμένεται αύξηση κατά 0,063 (Μοντέλο 1), 0,087 (Μοντέλο 2 και 3) ή 0,088 (Μοντέλο 4) του λογάριθμου της πιθανότητας παρουσίας ΜΣ, όταν όλες οι άλλες ανεξάρτητες μεταβλητές παραμένουν σταθερές. Για την καλύτερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων, αξιολογούμε τον λόγο πιθανοτήτων (OR) για κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή. Ο λόγος πιθανοτήτων (OR) της παρουσίας ΜΣ, προκύπτει όταν η εξίσωση – μοντέλο λάβει την ακόλουθη μορφή:

$$\frac{p(M\Sigma = 1)}{p(M\Sigma = 0)} = e^{\beta_0 + \beta_1 \chi_1 + \beta_2 \chi_2 + \beta_3 \chi_3 + \dots + \beta_i \chi_i}$$

όπου $\frac{p(M\Sigma=1)}{p(M\Sigma=0)}$ είναι ο λόγος πιθανοτήτων (OR) για την παρουσία ΜΣ.

Οι ανεξάρτητες μεταβλητές, οι οποίες είναι στατιστικά σημαντικές ($p < 0,05$), είναι η κατανάλωση δημητριακών πρωινού, η πρόσληψη πρωτεΐνης και η συγκέντρωση αντιγονεκτίνης πλάσματος, στις εξισώσεις πολλαπλής διωνυμικής παλινδρόμησης με εξαρτημένη μεταβλητή το ΜΣ και συγχυτικές μεταβλητές την ηλικία και το φύλο. Παρατηρούμε ότι η κατανάλωση δημητριακών πρωινού και πρωτεΐνης αποτελούν σημαντικούς διατροφικούς παράγοντες που συνδέονται με την παρουσία ΜΣ. Η πιθανότητα παρουσίας ΜΣ κυμαίνεται από 0,835 έως 0,858 φορές της πιθανότητας απουσίας ΜΣ, για αύξηση της κατανάλωσης δημητριακών πρωινού κατά 1 μερίδα/εβδομάδα, όταν οι άλλες μεταβλητές παραμένουν σταθερές. Επίσης, η πιθανότητα παρουσίας ΜΣ είναι 1,013 (Μοντέλα 1, 2 και 3) ή 1,012 (Μοντέλο 4) φορές της πιθανότητας απουσίας ΜΣ, για αύξηση της πρόσληψης πρωτεΐνης κατά 1 γραμ./ημέρα. Διαφορετικά, η αύξηση της πρόσληψης πρωτεΐνης κατά 10 γραμ./ημέρα αυξάνει την πιθανότητα παρουσίας ΜΣ κατά $1,012^{10} = 1,127$ ή $1,013^{10} = 1,138$ φορές, όταν οι άλλες μεταβλητές παραμένουν σταθερές. Η αντιγονεκτίνη αποτελεί σημαντικό βιοχημικό παράγοντα που συνδέεται με την παρουσία ΜΣ. Η πιθανότητα παρουσίας ΜΣ είναι 0,828 (Μοντέλο 2 και 3) ή 0,826 (Μοντέλο 4) φορές της πιθανότητας απουσίας ΜΣ, για αύξηση της συγκέντρωσης αντιγονεκτίνης στο πλάσμα κατά 1 $\mu\text{g/mL}$, όταν οι άλλες μεταβλητές παραμένουν σταθερές. Τέλος, η δραστηριότητα της Lp-PLA₂, είτε ως συνεχής είτε ως κατηγορική μεταβλητή, δεν επιδρά σημαντικά στην παρουσία ΜΣ (AHA/NHLBI).

Πίνακας 18. Επίδραση διατροφικών παραγόντων, αντιπονεκτικής και δραστικότητας της Lp-PLA₂ στο ΜΣ (AHA/NHLBI) με συγχυτικές μεταβλητές την ηλικία και το φύλο.

Μοντέλο 1					
	<i>B</i>	<i>S.E.</i>	<i>p</i>	<i>OR</i>	<i>95% C.I.</i>
Ηλικία (έτη)	0,063	0,016	<0,001	1,065	1,033-1,098
Φύλο (άνδρες)	0,765	0,289	0,008	2,150	1,221-3,785
Δημητριακά πρωινού (μερίδες/ εβδομάδα)	-0,153	0,063	0,015	0,858	0,758-0,971
Αναψυκτικά χωρίς ζάχαρη (μερίδες/εβδομάδα)	0,033	0,059	0,568	1,034	0,922-1,160
Πρωτεΐνη (γρ./ημέρα)	0,012	0,005	0,013	1,013	1,003-1,022
Μοντέλο 2					
	<i>B</i>	<i>S.E.</i>	<i>p</i>	<i>OR</i>	<i>95% C.I.</i>
Ηλικία (έτη)	0,087	0,018	<0,001	1,091	1,054-1,129
Φύλο (άνδρες)	0,051	0,347	0,884	1,052	0,533-2,075
Δημητριακά πρωινού (μερίδες/ εβδομάδα)	-0,175	0,068	0,010	0,839	0,735-0,958
Πρωτεΐνη (γρ./ημέρα)	0,013	0,005	0,016	1,013	1,002-1,023
Αντιπονεκτίνη (μg/mL)	-0,189	0,045	<0,001	0,828	0,757-0,905
Μοντέλο 3					
	<i>B</i>	<i>S.E.</i>	<i>p</i>	<i>OR</i>	<i>95% C.I.</i>
Ηλικία (έτη)	0,087	0,018	<0,001	1,091	1,054-1,129
Φύλο (άνδρες)	0,050	0,350	0,887	1,051	0,529-2,089
Δημητριακά πρωινού (μερίδες/ εβδομάδα)	-0,175	0,068	0,010	0,839	0,735-0,959
Πρωτεΐνη (γρ./ημέρα)	0,013	0,005	0,019	1,013	1,002-1,023
Αντιπονεκτίνη (μg/mL)	-0,189	0,046	<0,001	0,828	0,757-0,905
Lp-PLA ₂ (nmol/min/mL)	0,0002	0,020	0,990	1,000	0,962-1,040
Μοντέλο 4					
	<i>B</i>	<i>S.E.</i>	<i>p</i>	<i>OR</i>	<i>95% C.I.</i>
Ηλικία (έτη)	0,088	0,018	<0,001	1,092	1,055-1,131
Φύλο (άνδρες)	-0,032	0,356	0,929	0,969	0,483-1,946
Δημητριακά πρωινού (μερίδες/ εβδομάδα)	-0,180	0,068	0,008	0,835	0,731-0,954
Πρωτεΐνη (γρ./ημέρα)	0,012	0,005	0,027	1,012	1,001-1,023
Αντιπονεκτίνη (μg/mL)	-0,192	0,046	<0,001	0,826	0,754-0,904
Τεταρτημόριο δραστικότητας Lp-PLA ₂					
Τεταρτημόριο αναφοράς: Q1	-	-	-	-	-
Q2	-0,530	0,422	0,209	0,588	0,257-1,345
Q3	-0,024	0,438	0,957	0,977	0,414-2,306
Q4	-0,001	0,424	0,998	0,999	0,435-2,294

Q: quartile (τεταρτημόριο)

Q1: ≤ 15 nmol/min/mL, Q2: >15 & ≤ 22 nmol/min/mL, Q3: >22 & ≤ 27 nmol/min/mL, Q4: >27 nmol/min/mL.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μη κανονικοποιημένος συντελεστής B και τυπικό σφάλμα (S.E.), λόγος πιθανοτήτων (OR) και 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% C.I.) και ακριβές επίπεδο σημαντικότητας (*p*) για κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή.

4.5 Επίδραση ενεργειακής πρόσληψης και αντιπονεκτίνης στη δραστικότητα της Lp-PLA₂

Στον Πίνακα 19 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της πολυωνυμικής λογαριθμικής παλινδρόμησης, η οποία εξετάζει την επίδραση της ενεργειακής πρόσληψης και της αντιπονεκτίνης στη δραστικότητα της Lp-PLA₂, με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο, το κάπνισμα και την LDL-χοληστερόλη. Η εξαρτημένη μεταβλητή, δραστικότητα της Lp-PLA₂, είναι κατηγορική. Συγκεκριμένα, οι τιμές της δραστικότητας της Lp-PLA₂ έχουν κατηγοριοποιηθεί σε 4 ομάδες – κατηγορίες, που συνιστούν τα τεταρτημόρια της δραστικότητας της Lp-PLA₂. Ως κατηγορίας αναφοράς έχει επιλεγεί το 1^ο τεταρτημόριο (δραστικότητα Lp-PLA₂: ≤ 15 nmol/min/mL) και οι εξισώσεις – μοντέλα που αξιολογήθηκαν έχουν την ακόλουθη μορφή:

Μοντέλο 1:

$$\begin{aligned} \log \left(\frac{p(Lp - PLA2 = Q2)}{p(Lp - PLA2 = Q1)} \right) \\ = (-0,363) * (\text{φύλο} = \text{άνδρες}) + (0,406) * (\text{κάπνισμα} = \text{ναι}) + (0,020) \\ * (LDL - \text{χοληστερόλη}) + (-0,017) * (\text{αντιπονεκτίνη}) + (0,040) * (\text{ενεργειακή πρόσληψη}) \end{aligned}$$

Μοντέλο 2:

$$\begin{aligned} \log \left(\frac{p(Lp - PLA2 = Q3)}{p(Lp - PLA2 = Q1)} \right) \\ = (0,206) * (\text{φύλο} = \text{άνδρες}) + (1,020) * (\text{κάπνισμα} = \text{ναι}) + (0,018) * (LDL - \text{χοληστερόλη}) \\ + (0,001) * (\text{αντιπονεκτίνη}) + (0,090) * (\text{ενεργειακή πρόσληψη}) \end{aligned}$$

Μοντέλο 3:

$$\begin{aligned} \log \left(\frac{p(Lp - PLA2 = Q4)}{p(Lp - PLA2 = Q1)} \right) \\ = (1,237) * (\text{φύλο} = \text{άνδρες}) + (0,586) * (\text{κάπνισμα} = \text{ναι}) + (0,038) * (LDL - \text{χοληστερόλη}) \\ + (-0,101) * (\text{αντιπονεκτίνη}) + (0,080) * (\text{ενεργειακή πρόσληψη}) \end{aligned}$$

Όπως και με το ΜΣ, για την καλύτερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων, αξιολογούμε τον λόγο πιθανοτήτων (OR) για κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή. Ο λόγος πιθανοτήτων (OR) υπολογίζεται χωριστά για το 2^ο, 3^ο και 4^ο τεταρτημόριο, συγκρινόμενα με το 1^ο τεταρτημόριο της δραστικότητας της Lp-PLA₂, βάσει εξισώσεων της μορφής:

$$\frac{p(Lp - PLA2 = Q2 \text{ ή } Q3 \text{ ή } Q4)}{p(Lp - PLA2 = Q1)} = e^{\beta_0 + \beta_1 * \chi_1 + \beta_2 * \chi_2 + \beta_3 * \chi_3 + \dots + \beta_i * \chi_i}$$

Παρατηρούμε ότι η LDL-χοληστερόλη επιδρά σημαντικά στη δραστικότητα της Lp-PLA₂, καθώς αποτελεί την μοναδική ανεξάρτητη μεταβλητή η οποία συνδέεται με αυξημένη δραστικότητα Lp-PLA₂. Συγκεκριμένα, η πιθανότητα αυξημένης δραστικότητας Lp-PLA₂ (2^ο, 3^ο και 4^ο τεταρτημόριο) είναι 1,021 (για Q2: >15 & ≤ 22 nmol/min/mL), 1,018 (για Q3: >22 & ≤ 27 nmol/min/mL) και 1,038 (για Q4: >27 nmol/min/mL) φορές μεγαλύτερη της πιθανότητας μειωμένης δραστικότητας Lp-PLA₂ (για Q1: ≤ 15 nmol/min/mL).

Επίσης, παρατηρούμε ότι το κάπνισμα και η αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη συνδέονται με αυξημένη δραστικότητα Lp-PLA₂, για τιμές που εμπίπτουν στο 3^ο και 4^ο τεταρτημόριο (>22 & ≤ 27 nmol/min/mL και >27 nmol/min/mL, αντιστοίχως. Συγκεκριμένα, το κάπνισμα αυξάνει την πιθανότητα αυξημένης δραστικότητας Lp-PLA₂, μόνο για τιμές >22 nmol/min/mL, κατά 2,773 ή 1,797 έναντι της πιθανότητας μειωμένης δραστικότητας Lp-PLA₂ (≤ 15 nmol/min/mL). Αντίστοιχα, η αύξηση της ενεργειακής πρόσληψης κατά 100 kcal/ημέρα αυξάνει την πιθανότητα αυξημένης δραστικότητας Lp-PLA₂, πάλι μόνο για τιμές >22 nmol/min/mL, κατά 1,094 και 1,083 έναντι της πιθανότητας μειωμένης δραστικότητας Lp-PLA₂ (≤ 15 nmol/min/mL).

Τέλος, η συγκέντρωση αντιπονεκτίνης πλάσματος καθίσταται σημαντική ανεξάρτητη μεταβλητή, μόνο κατά την σύγκριση του 4^{ου} (>27 nmol/min/mL) με το 1^ο τεταρτημόριο (≤ 15 nmol/min/mL) της δραστικότητας της Lp-PLA₂. Επιπλέον, η αντιπονεκτίνη είναι η μοναδική μεταβλητή, από αυτές που εισήχθησαν στις εξισώσεις της πολλαπλής πολυωνυμικής παλινδρόμησης, η οποία παρουσιάζει μία αντίστροφη σχέση με την δραστικότητα της Lp-PLA₂. Συγκεκριμένα, η πιθανότητα αυξημένης δραστικότητας της Lp-PLA₂ (>27 nmol/min/mL) είναι 0,904 φορές της πιθανότητας μειωμένης δραστικότητας της Lp-PLA₂ (≤ 15 nmol/min/mL), για αύξηση της συγκέντρωσης αντιπονεκτίνης πλάσματος κατά 1 μg/mL.

Θα πρέπει να τονίσουμε ότι κάθε μία από τις περιγραφόμενες επιδράσεις επί της δραστικότητας της Lp-PLA₂ παρατηρούνται όταν οι άλλες ανεξάρτητες μεταβλητές κάθε εξίσωσης παραμένουν σταθερές.

Πίνακας 19. Επίδραση αντιγονεκτικής και ενεργειακής πρόσληψης στη δραστικότητα της Lp-PLA₂ με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο, το κάπνισμα και την LDL-χοληστερόλη.

Q2 έναντι Q1*					
	<i>B</i>	<i>S.E.</i>	<i>p</i>	<i>OR</i>	<i>95% C.I.</i>
Φύλο (άνδρες)	-0,363	0,230	0,114	0,695	0,476 - 1,015
Κάπνισμα (ναι)	0,406	0,222	0,068	1,500	1,041 - 2,161
LDL-χοληστερόλη (mg/dL)	0,020	0,004	<0,001	1,021	1,013 - 1,028
Αντιγονεκτική (μg/mL)	-0,017	0,034	0,608	0,983	0,930 - 1,039
Ενεργειακή πρόσληψη (100 kcal/ημέρα)	0,040	0,020	0,077	1,041	1,000 - 1,072
Q3 έναντι Q1*					
	<i>B</i>	<i>S.E.</i>	<i>p</i>	<i>OR</i>	<i>95% C.I.</i>
Φύλο (άνδρες)	0,206	0,238	0,387	1,228	0,831 - 1,816
Κάπνισμα (ναι)	1,020	0,219	<0,001	2,773	1,934 - 3,976
LDL-χοληστερόλη (mg/dL)	0,018	0,005	<0,001	1,018	1,011 - 1,026
Αντιγονεκτική (μg/mL)	0,001	0,036	0,977	1,001	0,943 - 1,063
Ενεργειακή πρόσληψη (100 kcal/ημέρα)	0,090	0,020	<0,001	1,094	1,051 - 1,127
Q4 έναντι Q1*					
	<i>B</i>	<i>S.E.</i>	<i>p</i>	<i>OR</i>	<i>95% C.I.</i>
Φύλο (άνδρες)	1,237	0,228	<0,001	3,445	2,368 - 5,012
Κάπνισμα (ναι)	0,586	0,218	0,007	1,797	1,255 - 2,574
LDL-χοληστερόλη (mg/dL)	0,038	0,005	<0,001	1,038	1,030 - 1,046
Αντιγονεκτική (μg/mL)	-0,101	0,049	0,042	0,904	0,834 - 0,981
Ενεργειακή πρόσληψη (100 kcal/ημέρα)	0,080	0,020	<0,001	1,083	1,041 - 1,116

Q: quartile (τεταρτημόριο)

Q1: ≤ 15 nmol/min/mL, Q2: >15 & ≤ 22 nmol/min/mL, Q3: >22 & ≤ 27 nmol/min/mL, Q4: >27 nmol/min/mL.

*Q1: Τεταρτημόριο αναφοράς

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μη κανονικοποιημένος συντελεστής B και τυπικό σφάλμα (S.E.), λόγος πιθανοτήτων (OR) και 95% διάστημα εμπιστοσύνης (95% C.I.) και ακριβές επίπεδο σημαντικότητας (*p*) για κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Σχολιασμός – Περιορισμοί - Συμπεράσματα

5.1 Δραστικότητα της Lp-PLA₂ και Μεταβολικό Σύνδρομο

Αρχικά παρουσιάσαμε τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων του δεκαετούς επανελέγχου της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, στο σύνολο και βάσει παρουσίας ΜΣ, σύμφωνα με τα κριτήρια AHA/NHLBI. Ο επιπολασμός του ΜΣ μεταξύ των 284 συμμετεχόντων στη μελέτη είναι 33% βάσει των κριτηρίων του AHA/NHLBI. Ο συγκεκριμένος ορισμός επιλέχθηκε για την αξιολόγηση του ΜΣ, επειδή καθίσταται δυνατός ο έλεγχος του ρόλου της κοιλιακής παχυσαρκίας στο ΜΣ. Επιπλέον, η Lp-PLA₂ που μετρήθηκε επιλέχθηκε διότι έχει φανεί η εμπλοκή της με την αθηροσκλήρωση και τα καρδιαγγειακά, πρόδρομος των οποίων αποτελεί το ΜΣ. Από τους δείκτες φλεγμονής και οξειδωτικού στρες, επιλέχθηκαν η αντιπονεκτίνη και η IL-6 εξαιτίας των αντίθετων λειτουργιών και επιδράσεων τους στο μεταβολισμό και τη φλεγμονή. Η IL-6 αυξάνεται σε περιπτώσεις μεταβολικών διαταραχών και συσχετίζεται θετικά με τους παράγοντες ΜΣ (Grundey et al., 2005, Hung et al., 2005). Αντίθετα, η συγκέντρωση της αντιπονεκτίνης μειώνεται τόσο σε περιπτώσεις παχυσαρκίας, ιδιαίτερα κοιλιακής παχυσαρκίας, όσο και στο ίδιο το ΜΣ (You et al., 2008, Hung et al., 2008).

Στην παρούσα μελέτη, οι συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη ηλικία, μεγαλύτερο δείκτη μάζας σώματος και περιφέρεια μέσης, υψηλότερη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων, γλυκόζης, ινσουλίνης, ουρικού οξέος, SGPT, γ-GT και IL-6, υψηλότερο βαθμό ινσουλινοαντίστασης (HOMA-IR) και αυξημένη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες χωρίς ΜΣ. Από τους παράγοντες αυτούς, ορισμένοι αποτελούν παράγοντες ορισμού του ΜΣ (παχυσαρκία, δυσλιπιδαιμία, υπεργλυκαιμία, ινσουλινο-αντίσταση, υψηλή αρτηριακή πίεση). Η εμπλοκή τους στην αιτιολογική σχέση του ΜΣ είναι συνάρτηση της αύξησης του λιπώδους ιστού, και της υπερινσουλιναϊμίας, η οποία είναι επίσης παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη καρδιαγγειακών νοσημάτων, ΣΔΤ2 και νεοπλασιών (Hsueh et al., 1998, Strickler et al., 2001).

Οι συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση ουρικού οξέος, SGPT και γ-GT στον ορό, που αποτελούν δείκτες ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας. Η

αυξημένη συγκέντρωση ουρικού οξέος στο πλάσμα και η μειωμένη νεφρική απέκκριση, συνιστούν διαταραχή του μεταβολισμού του ουρικού οξέος που συσχετίζεται με το ΜΣ. Η θετική σχέση μεταξύ των επιπέδων της γ -GT και του ΜΣ, έχει φανεί από τα αποτελέσματα πρόσφατης μετα-ανάλυσης (Kunutsor et al., 2015).

Αντίθετα, οι συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από χαμηλότερο επίπεδο σωματικής δραστηριότητας υψηλής εντάσεως ($p=0,016$), καθώς και χαμηλότερη συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης και αντιπονεκτίνης, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες χωρίς ΜΣ. Επίσης, οι περισσότεροι συμμετέχοντες με ΜΣ είναι άνδρες και έχουν διαγνωστεί με υπέρταση, δυσλιπιδαιμία ή σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Αναφορικά με τον πληθυσμό των γυναικών, οι περισσότερες συμμετέχουσες με ΜΣ είναι στο στάδιο της εμμηνόπαυσης και υπέρβαρες ($\Delta\text{ΜΣ}>25 \text{ kg/m}^2$). Η λήψη ορμονών στο στάδιο της εμμηνόπαυσης αποτελεί ευνοϊκό παράγοντα για τη μείωση της Lp-PLA₂ (Hatoum et al., 2010).

Σχετικά με την Lp-PLA₂, παρατηρήθηκε ότι οι συμμετέχοντες με ΜΣ παρουσίασαν υψηλότερες τιμές της δραστικότητας του ενζύμου [$24 (16,0 - 29,0) \text{ nmol/min/mL}$ έναντι $21 (15,0 - 26,8) \text{ nmol/min/mL}$, $p=0,096$], αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Από τα χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων που αποτελούν κριτήρια του ΜΣ (AHA/NHLBI), παρατηρούμε ότι οι συμμετέχοντες με τιμές Lp-PLA₂ $>27 \text{ nmol/min/mL}$ (4^ο τεταρτημόριο) χαρακτηρίζονται από τα ακόλουθα:

1. Περιφέρεια μέσης $100 (92,0 - 109,3) \text{ cm}$ (κριτήριο ΜΣ $\geq 102 \text{ cm}$)
2. Συγκέντρωση τριγλυκεριδίων $121,43 (86,38 - 165,32) \text{ mg/dL}$ (κριτήριο ΜΣ $\geq 150 \text{ mg/dL}$)
3. Συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης $46,30 (37,43 - 54,57) \text{ mg/dL}$ (κριτήριο ΜΣ $< 40 \text{ mg/dL}$)
4. Συγκέντρωση γλυκόζης νηστείας $91,57 (87,50 - 101,04) \text{ mg/dL}$ (κριτήριο ΜΣ $\geq 100 \text{ mg/dL}$)
5. Διαστολική πίεση αίματος $81,5 (76,3 - 87,8) \text{ mmHg}$ (κριτήριο ΜΣ $> 85 \text{ mmHg}$)

Θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι μεγαλύτερες τιμές των κριτηρίων του ΜΣ, θα μπορούσαν να συσχετιστούν με υψηλότερα επίπεδα της Lp-PLA₂. Οι συμμετέχοντες με ΜΣ παρουσίασαν, αντίθετα, χαμηλότερα επίπεδα ολικής, LDL- και HDL-χοληστερόλης, αλλά μόνο για την HDL-χοληστερόλη, με τιμές $40,88 (36,28 - 48,32) \text{ mg/dL}$ φάνηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p<0,001$). Αν και εμείς δεν μετρήσαμε την έκφραση ή τη μάζα του ενζύμου, θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι η υψηλότερη δραστικότητα της Lp-PLA₂ στους συμμετέχοντες με ΜΣ οφείλεται σε υψηλότερα επίπεδα του ενζύμου. Χαρακτηριστικά, σε μια σχετικά πρόσφατη

μελέτη, σε μικρό δείγμα, η έκφραση mRNA της Lp-PLA₂ ήταν υψηλότερη σε ασθενείς με ΜΣ (Garg et al., 2016). Αναφορικά με τους μηχανισμούς, έχει αναφερθεί ότι διάφοροι φλεγμονώδεις μεσολαβητές μπορεί να επιδράσουν στον μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών και να οδηγήσουν σε αύξηση της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ (WÅLLBERG-JONSSON, SOLVEIG, et al., 1996, Hardardottir, Grünfeld & Feingold, 1994). Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί ότι ορισμένοι προ-φλεγμονώδεις μεσολαβητές (LPS, TNP-α, IL-1, IL-8 και IFN-g) μπορούν είτε να αναστέλλουν είτε να διεγείρουν την έκφραση του ενζύμου, in vitro (Tselepis & Chapman, 2002). Συνεπώς, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες σχετικά με την πιθανή επίδραση των προ-φλεγμονωδών μεσολαβητών και τη ρύθμιση των επιπέδων της Lp-PLA₂, μέσω της γονιδιακής της έκφρασης.

Από τα διατροφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, παρατηρήθηκε ότι οι συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από χαμηλότερη κατανάλωση δημητριακών πρωινού, αλλά υψηλότερη κατανάλωση ψαριών, αναψυκτικών χωρίς ζάχαρη και συνολικής πρωτεΐνης. Στη διωνυμική λογαριθμική παλινδρόμηση, εξετάσαμε την επίδραση διατροφικών παραγόντων (δημητριακά πρωινού, αναψυκτικά χωρίς ζάχαρη, πρωτεΐνη), της αντιπονεκτίνης και της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ στο ΜΣ (AHA/NHLBI), με συγχυτικές μεταβλητές την ηλικία και το φύλο. Για την καλύτερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων, αξιολογήσαμε τον λόγο πιθανοτήτων (OR) της παρουσίας ΜΣ για κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή.

Οι ανεξάρτητες μεταβλητές, που επιδρούν σημαντικά στο ΜΣ ($p < 0,05$), είναι η κατανάλωση δημητριακών πρωινού, η πρόσληψη πρωτεΐνης και η συγκέντρωση αντιπονεκτίνης πλάσματος, στις εξισώσεις πολλαπλής διωνυμικής παλινδρόμησης με εξαρτημένη μεταβλητή το ΜΣ και συγχυτικές μεταβλητές την ηλικία και το φύλο. Παρατηρήσαμε ότι η κατανάλωση δημητριακών πρωινού και πρωτεΐνης αποτελούν σημαντικούς διατροφικούς παράγοντες που συνδέονται με την παρουσία ΜΣ, για αύξηση της κατανάλωσης δημητριακών πρωινού κατά 1 μερίδα/εβδομάδα. Επίσης, η πιθανότητα παρουσίας ΜΣ είναι 1,013 (Μοντέλα 1, 2 και 3) ή 1,012 (Μοντέλο 4) φορές της πιθανότητας απουσίας ΜΣ, για αύξηση της πρόσληψης πρωτεΐνης κατά 1 γρ./ημέρα, ενώ για αύξηση κατά 10 γρ./ημέρα αυξάνεται η πιθανότητα παρουσίας ΜΣ κατά $1,012^{10} = 1,127$ ή $1,013^{10} = 1,138$ φορές, όταν οι άλλες μεταβλητές παραμένουν σταθερές.

Κύρια πηγή πρωτεΐνης αποτελούν οι ομάδες των γαλακτοκομικών, κυρίως εξαιτίας του ορού γάλακτος, ψαριών και κρέατος. Έχει παρατηρηθεί ότι η κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων κόκκινου κρέατος έχει συσχετιστεί θετικά με την πιθανότητα εμφάνισης ΜΣ (Panagiotakos et al., 2007). Οι συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από υψηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων. Η υψηλότερη κατανάλωση ψαριών, που παρατηρήθηκε, αποτελεί ενδεχομένως μια διαιτητική παρέμβαση στα πλαίσια προσπάθειας υποτριγλυκεριδαιμικών αποτελεσμάτων, μείωσης της αρτηριακής πίεσης, λόγω υπέρτασης, και αύξησης της HDL-χοληστερόλης, όπως έχει φανεί από μελέτες παρέμβασης (Morris et al., 1993, Harris et al., 1997), λόγω των γνωστών επιδράσεων των ω-3 λ.ο. σε βιοχημικές και κλινικές παραμέτρους που αποφάνθηκε πολύ πρόσφατη ανασκόπηση (Petsini, Fragoroulou, Antonopoulou, 2018).

Στο μοντέλο 3, εισάγοντας τη δραστικότητα της Lp-PLA₂, είτε ως συνεχή είτε ως κατηγορική μεταβλητή, δεν παρατηρούμε καμία επίδραση επί του ΜΣ ($p=0,990$). Αντιθέτως, η αντιπονεκτίνη αποτελεί σημαντικό βιοχημικό παράγοντα που συνδέεται με την παρουσία ΜΣ. Η πιθανότητα παρουσίας ΜΣ είναι 0,828 (Μοντέλο 2 και 3) ή 0,826 (Μοντέλο 4) φορές της πιθανότητας απουσίας ΜΣ, για αύξηση της συγκέντρωσης αντιπονεκτίνης στο πλάσμα κατά 1 $\mu\text{g/mL}$, όταν οι άλλες μεταβλητές παραμένουν σταθερές.

Η Lp-PLA₂ δεν φάνηκε να συσχετίζεται άμεσα με την παρουσία ΜΣ. Όμως φαίνεται ότι σχετίζεται στατιστικά σημαντικά με τις συνιστώσες του ΜΣ. Από προοπτική μελέτη έχει φανεί ότι τα υψηλότερα επίπεδα πλάσματος της Lp-PLA₂ αύξησαν τον κίνδυνο εμφάνισης περιστατικών ΚΝ ανεξάρτητα από το ΜΣ. Η ταυτόχρονη παρουσία αυξημένης δραστικότητας Lp-PLA₂ και ΜΣ μπορεί να εντοπίσει ένα ιδιαίτερα υψηλού κινδύνου άτομο (Persson et al., 2007).

5.2 Δραστικότητα της Lp-PLA₂ και ανθρωπομετρικοί, βιοχημικοί, κλινικοί δείκτες

Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, η Lp-PLA₂ φαίνεται να έχει διπλό ρόλο, εμφανίζοντας φλεγμονώδη, αλλά και αντιφλεγμονώδη δράση. Συγκρίνοντας τη δραστικότητα της Lp-PLA₂, ως συνεχή μεταβλητή, με ανθρωπομετρικούς, βιοχημικούς και κλινικούς δείκτες, προέκυψε ότι η δραστικότητα της Lp-PLA₂ συσχετίζεται θετικά με 1) την περιφέρεια μέσης, 2)

την ολική και LDL-χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, την κρεατινίνη, το ουρικό οξύ και 3) τη ΔΑΠ και αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη, την SGOT, την SGPT και την αντιπυονεκτίνη.

Ακολούθως, από την εξέταση της δραστικότητας της Lp-PLA₂, ως κατηγορική μεταβλητή, από τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, βάσει των τεταρτημορίων της δραστικότητας της Lp-PL₂, από τις ανά δύο συγκρίσεις, βρέθηκε ότι:

1) Οι συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >27 nmol/min/mL (4^ο τεταρτημόριο), χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση ολικής και LDL-χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων, γλυκόζης, ουρικού οξέος, περιφέρεια μέσης και ΔΑΠ, αλλά χαμηλότερη συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης, SGOT, SGPT και αντιπυονεκτίνης, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες του τεταρτημορίου με δραστικότητα Lp-PLA₂ ≤15 nmol/min/mL (1^ο τεταρτημόριο).

2) Οι συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >22 και ≤27 nmol/min/mL (3^ο τεταρτημόριο), χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση ολικής, LDL-χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων και ΔΑΠ, αλλά χαμηλότερη συγκέντρωση SGOT, SGPT και αντιπυονεκτίνης, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ ≤15 nmol/min/mL (1^ο τεταρτημόριο).

3) Οι συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >15 και ≤22 nmol/min/mL (2^ο τεταρτημόριο), χαρακτηρίζονται από υψηλότερη συγκέντρωση ολικής, LDL-χοληστερόλης, αλλά χαμηλότερη συγκέντρωση SGOT και SGPT, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ ≤15 nmol/min/mL (1^ο τεταρτημόριο).

Παρατηρήθηκαν δηλαδή παρόμοιες συσχετίσεις για την Lp-PLA₂, ως συνεχή μεταβλητή και για τις συσχετίσεις του 4^{ου} τεταρτημορίου. Από τους παράγοντες που συνιστούν κριτήρια του ΜΣ κατά AHA/NHLBI, φαίνεται ότι η Lp-PLA₂ παρουσιάζει μια τάση θετικής συσχέτισης με την περιφέρεια μέσης ($r=0,123$, $p=0,039$), τη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων ($r=0,160$, $p=0,007$), τη ΔΑΠ ($r=0,148$, $p=0,013$) και την HDL-χοληστερόλη ($r=-0,251$, $p<0,001$). Ως κατηγορική μεταβλητή φάνηκε να συσχετίζεται σημαντικά με τους παραπάνω παράγοντες, πλέον της γλυκόζης ($p=0,047$), για τους συμμετέχοντες με τιμές Lp-PLA₂>27nmol/min/mL.

Σε δυο προοπτικές μελέτες (*NPHS-II* και *EPIC-Norfolk*), παρατηρήθηκε αύξηση των τιμών ΔΜΣ, αρτηριακής πίεσης, ολικής χοληστερόλης, LDL-χοληστερόλης, απολιποπρωτεΐνης Β και τριγλυκεριδίων, με την αύξηση των τεταρτημορίων της δραστικότητας της Lp-PLA₂.

Αντίθετα, η δραστηριότητα της Lp-PLA₂ ήταν αντιστρόφως ανάλογη με την HDL-χοληστερόλη και την απολιποπρωτεΐνη A₁. Η Lp-PLA₂ συνδέεται στην LDL-λιποπρωτεΐνη κατά το μεγαλύτερο ποσοστό της. Οι παράγοντες αυτοί συνιστούν κριτήρια του ΜΣ, ωστόσο η Lp-PLA₂, παρουσίασε μη στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το ΜΣ. Παρά ταύτα, η θετική συσχέτιση της Lp-PLA₂ με τα τριγλυκερίδια, υποδηλώνει τη σχέση της Lp-PLA₂ με τις πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες, καθώς είναι γνωστό ότι μικρή ποσότητα του ενζύμου συνδέεται με τις VLDL-λιποπρωτεΐνες. Το άθροισμα των LDL- και VLDL-λιποπρωτεϊνών αποτελούν τη non-HDL χοληστερόλη, που σχετίζεται με την αθηρογόνο δράση του ενζύμου. Σε άτομα με ΣΔΤ2, έχουν βρεθεί αυξημένες συγκεντρώσεις Lp-PLA₂ ($p < 0,05$) (Basu et al., 2007), προφανώς ως αποτέλεσμα αύξησης των επιπέδων των τριγλυκεριδίων στο αίμα. Στους συμμετέχοντες του 4^{ου} τεταρτημορίου με τιμές Lp-PLA₂ > 27 nmol/min/mL, φάνηκε μια τάση θετικής συσχέτισης του ενζύμου με τη γλυκόζη ($p = 0,047$). Η συσχέτιση αυτή πιθανά υποδεικνύει έναν μηχανισμό δράσης του ενζύμου που μπορεί να συνδέεται με τη διαταραχή στη γλυκόζη. Αναφορικά με το μηχανισμούς δράσης, η αρνητική σχέση της Lp-PLA₂ με την HDL-χοληστερόλη, θα μπορούσε να εξηγήσει την αντιφλεγμονώδη δράση του ενζύμου, μέσω της αναστολής της οξείδωσης της LDL από την HDL-χοληστερόλη. Από τα αποτελέσματα μελέτης σχετικής με φλεγμονώδη νόσο (περιοδοντίτιδα) έχει φανεί ότι τα υψηλότερα επίπεδα apoA1 και Lp-PLA₂ σε σωματίδια HDL έχουν αντιφλεγμονώδη δράση και μπορούν να περιορίσουν το μέγεθος της βλάβης της νόσου (CAP, chronic apical periodontitis) (Kima et al., 2015).

Δεν έχει φανεί έως σήμερα κάποια συσχέτιση της Lp-PLA₂ με την κάθαρση της κρεατινίνης, αλλά ούτε και με τα επίπεδα κρεατινίνης και ουρικού οξέος. Είναι γνωστό ότι τα επίπεδα κρεατινίνης σχετίζονται με το ρυθμό σπειραματικής διήθησης, καθώς και τον προληπτικό έλεγχο χρόνιων νοσημάτων όπως ο ΣΔΤ2. Τα αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος σχετίζονται με φλεγμονώδεις καταστάσεις, όπως οι νεφρικές νόσοι, η ουρική αρθρίτιδα και η λευχαιμία, συνεπώς σε περιβάλλον φλεγμονής ίσως είναι αναμενόμενη μια ενδεχόμενη αύξηση των επιπέδων του ενζύμου. Ωστόσο, είναι άγνωστο ποιος είναι ο ρόλος της Lp-PLA₂, στα αίτια της υπερουριχαιμίας, η ενδεχόμενη εμπλοκή της στην αυξημένη παραγωγή ουρικού οξέος ή την μειωμένη απέκκριση και αν υφίσταται μια πιθανή σχέση με τη νεφρική δυσλειτουργία που προσβάλλει ένα σημαντικό ποσοστό ανθρώπων (Bang et al., 2016). Από παλαιότερες μελέτες τόσο σε πειραματικά μοντέλα πρόκλησης νεφρικής βλάβης όσο και σε ασθενείς με νεφρικές δυσλειτουργίες έχει αποδειχθεί η εμπλοκή του PAF και επιπλέον σε

ασθενείς με πρωτογενή σπειραματονεφρίτιδα έχει καταγραφεί αύξηση της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ (Iatrou, Moustakas, Antonopoulou et al., 1996).

Από όσο γνωρίζουμε, δεν υπάρχουν αντίστοιχες μελέτες στη βιβλιογραφία που να έχουν εξετάσει τη σχέση μεταξύ της Lp-PLA₂ και των ηπατικών δεικτών (SGOT, SGPT) τα οποία αυξάνουν στις περιπτώσεις ορισμένων καρδιαγγειακών νοσημάτων, όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Επίσης δεν φαίνεται να έχει εξετασθεί η σχέση του ενζύμου με την ορμόνη του λιπώδους ιστού, αντιπυνεκτίνη, η οποία συσχετίζεται αφενός με το σωματικό βάρος, αλλά διαδραματίζει επίσης ένα σημαντικό ρόλο στα καρδιαγγειακά νοσήματα, στο σακχαρώδη διαβήτη και στο μεταβολικό σύνδρομο (Takahashi et al., 2000, Ntzounani et al., 2016).

5.3 Δραστηριότητα Lp-PLA₂ και διατροφικοί δείκτες

Συγκρίνοντας τη δραστηριότητα της Lp-PLA₂, ως συνεχή μεταβλητή, με διατροφικούς δείκτες, η δραστηριότητα της Lp-PLA₂ φάνηκε να συσχετίζεται θετικά με την κατανάλωση των ομάδων τροφίμων γάλα/ γιαούρτι πλήρη σε λιπαρά, πατάτες, προστιθέμενα σάκχαρα, την ενεργειακή πρόσληψη, την πρόσληψη μακροθρεπτικών συστατικών (συνολική πρωτεΐνη, συνολικό, κορεσμένο, μονοακόρεστο και πολυακόρεστο λίπος, συνολικοί υδατάνθρακες), χοληστερόλης και διαιτητικών ινών και αρνητικά με το λόγο μονοακόρεστου/κορεσμένου λίπους.

Ακολούθως, κατά την εξέταση της δραστηριότητας της Lp-PLA₂, ως κατηγορική μεταβλητή, από τα διατροφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, βάσει των τεταρτημορίων της δραστηριότητας της Lp-PL₂, από τις ανά δύο συγκρίσεις, βρέθηκε ότι:

1) Οι συμμετέχοντες με δραστηριότητα Lp-PLA₂ >27 nmol/min/mL (4^ο τεταρτημόριο) χαρακτηρίζονται από υψηλότερη κατανάλωση των ομάδων τροφίμων γάλα/γιαούρτι πλήρη σε λιπαρά και πατάτες, υψηλότερη ενεργειακή πρόσληψη και υψηλότερη πρόσληψη συνολικού και κορεσμένου λίπους, χοληστερόλης και διαιτητικών ινών, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες με δραστηριότητα Lp-PLA₂ ≤15 nmol/min/mL (1^ο τεταρτημόριο).

2) Οι συμμετέχοντες με δραστηριότητα Lp-PLA₂ >27 nmol/min/mL (4^ο τεταρτημόριο) χαρακτηρίζονται από υψηλότερη προσκόλληση στη Μεσογειακή Διατροφή (υψηλότερο

MedDietScore) συγκριτικά με την ομάδα με δραστικότητα Lp-PLA₂ >15 και ≤22 nmol/min/mL (2^ο τεταρτημόριο).

3) Οι συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >22 και ≤27 nmol/min/mL (3^ο τεταρτημόριο), χαρακτηρίζονται από υψηλότερη κατανάλωση των ομάδων τροφίμων γάλα/γιαούρτι πλήρη σε λιπαρά, πατάτες και κρέας, υψηλότερη πρόσληψη συνολικής πρωτεΐνης, κορεσμένου λίπους, χοληστερόλης και διαιτητικών ινών, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ ≤15 nmol/min/mL (1^ο τεταρτημόριο).

Αν και δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική σύνδεση με το ποσοστό υδατανθράκων, ωστόσο η Lp-PLA₂ φάνηκε να παρουσιάζει μια τάση θετικής συσχέτισης με την αύξηση των συνολικών υδατανθράκων, για τα τεταρτημόρια της Lp-PLA₂ ($p=0,062$).

Η ομάδα γάλα/γιαούρτι πλήρη σε λιπαρά που φάνηκε να έχει θετική σχέση με την Lp-PLA₂ αποτελεί πηγή πρωτεϊνών και βιταμινών Α και D, λακτόζης, ασβεστίου και λίπους, ιδιαίτερα στη συγκεκριμένη περίπτωση, καθώς πρόκειται για γαλακτοκομικά πλήρη σε λίπος. Οι πατάτες και τα προστιθέμενα σάκχαρα αποτελούν βασικές πηγές υδατανθράκων, αλλά και χοληστερόλης. Η χοληστερόλη, εκτός από την παραγωγή της στο ήπαρ, προσλαμβάνεται και από ζωικές τροφές και τα επίπεδα χοληστερόλης σχετίζονται με την κατανάλωση κορεσμένων λιπών. Οι διαιτητικές ίνες, αντίθετα, προσλαμβάνονται κυρίως από φυτικές τροφές. Σε συμμετέχοντες με προ-διαβήτη ($100 \leq$ γλυκόζη νηστείας <126 mg/dl) ή πρόσφατα διαγνωσμένο ΣΔΤ2 (γλυκόζη νηστείας ≥ 126 mg/dl), παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση στον μεταβολισμό της γλυκόζης και της ινσουλίνης καθώς και στη μείωση της δραστικότητας της Lp-PLA₂, μετά από παρέμβαση 12 εβδομάδων με την υποκατάσταση επεξεργασμένου ρυζιού με όσπρια (μαύρη σόγια), κριθάρι και καστανό ρύζι (Kim et al., 2014). Το βασικό χαρακτηριστικό γνώρισμα που αναγνωρίζεται από την Lp-PLA₂ στα φωσφολιπίδια είναι το μήκος και το είδος της ακυλομάδας, καθώς υδρολύει ακυλομάδες μικρής αλύσου στη sn-2 θέση του σκελετού της γλυκερίνης, προς σχηματισμό λυσο-PAF και οξικού (Stremmler et al., 1989, Kriska et al., 2007). Αντίθετα, τα φωσφολιπίδια μακράς αλύσου, φαίνεται ότι μεταβολίζονται αργά (Stafforini et al., 2006, Kriska et al., 2007). Η εξήγηση που θα μπορούσαμε να δώσουμε είναι ότι η υποκατάσταση των επεξεργασμένων υδατανθράκων με ανθεκτικό άμυλο (RS, Resistance Starch) που αποτελεί την κύρια πηγή υδατανθράκων των οσπρίων, σπόρων και ολικής άλεσης τροφών, διεγείρει την παραγωγή λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (SCFA). Έτσι, το κύτταρο

«ωθείται» να οξειδώσει περισσότερα λίπη, αντί υδατάνθρακες, προωθώντας τη μείωση του σωματικού λίπους. Επιπλέον, υπάρχουν αναφορές ότι το ένζυμο αυτό μπορεί να απομακρύνει ακετυλομάδες και από ομάδες σακχάρων (Anagnostopoulou & Antonopoulou, 1997). Ωστόσο, δεν μπορούμε να κάνουμε σύγκριση μεταξύ των αποτελεσμάτων αυτής της μελέτης διατροφικής παρέμβασης και των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης, καθώς είναι συγχρονική.

Στην παρούσα μελέτη, η σχέση της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ φάνηκε στατιστικά σημαντική για το ολικό, κορεσμένο, μονοακόρεστο και πολυακόρεστο λίπος, ωστόσο μεγαλύτερη ήταν η συσχέτιση με το κορεσμένο λίπος ($r=0,220$, $p<0,001$) και ακολουθούσαν οι συσχετίσεις με το ολικό ($r=0,186$, $p=0,002$), πολυακόρεστο ($r=0,157$, $p=0,008$) και τέλος μονοακόρεστο λίπος ($r=0,132$, $p=0,026$), ενώ στατιστικά σημαντική φάνηκε και η σχέση της Lp-PLA₂ με την ενεργειακή πρόσληψη ($r=0,212$, $p<0,001$), η οποία δικαιολογείται και ως συνέπεια της συσχέτισης με τους υδατάνθρακες, την πρωτεΐνη και το ολικό λίπος. Στη μελέτη Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (Steffen et al., 2013), σε 2.246 συμμετέχοντες, η μάζα και η δραστηριότητα της Lp-PLA₂ ήταν σημαντικά χαμηλότερες στους συμμετέχοντες με υψηλότερα επίπεδα ω-3 λιπαρών οξέων, εικοσοπεντανοϊκού οξέος (EPA) και δοκοσαεξανοϊκού οξέος (DHA), υψηλότερα επίπεδα ω-6 αραχιδονικού οξέος (AA) και γ-λινολενικού οξέος (GLA), ενώ συσχετίστηκε αντίστροφα με τα επίπεδα ω-6 λινελαϊκού οξέος και διχομο-γ-λινολεϊκού οξέος (DGLA) (Steffen et al., 2013). Σε μελέτη παρέμβασης, έχει φανεί μείωση της μάζας της Lp-PLA₂ ($p<0,001$) και αύξηση του δείκτη ω-3 λ.ο. (περιεκτικότητα μεμβράνης ερυθροκυττάρων σε EPA+DHA) με χορήγηση ω3 PUFA με τη μορφή αιθυλεστέρων (EE-PUFA), ενώ με τη μορφή μορίων ακυλογλυκερόλης (AG-PUFA) φάνηκε μείωση της γλυκόζης πλάσματος μη νηστείας, και αύξηση της HDL-χοληστερόλης (Hedengran, et al., 2015). Σε προοπτική μελέτη, μετά από διόρθωση για την αρχική ηλικία, την συστολική αρτηριακή πίεση και την αντιπυονεκτίνη ορού, έχει παρατηρηθεί μια μικρή, μη στατιστικά σημαντική επίδραση της χορήγησης 3,36 γρ. ω-3 λιπαρών οξέων (DHA+EPA) στην μάζα της Lp-PLA₂. Ωστόσο, δεν έχουν ελεγχθεί τυχόν αλληλεπιδράσεις των ω-3 λιπαρών οξέων με τη δραστηριότητα του ενζύμου στο πλάσμα (Krantz et al., 2015). Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές αλλαγές στη μάζα ή τη δραστηριότητα της Lp-PLA₂, ούτε μετά από παρέμβαση με ω-3 λιπαρά, για 8 εβδομάδες, που πραγματοποιήθηκε σε πληθυσμό >50ετών. Ωστόσο η παρέμβαση οδήγησε σε αλλαγή της οξειδωμένης LDL που συσχετίστηκε με τα επίπεδα της μάζας της Lp-PLA₂. Συνεπώς, τα επίπεδα της Lp-PLA₂ μπορεί να σχετίζονται με τη μεταβολή της οξειδωμένης LDL-χοληστερόλης (Nelson et al., 2011). Ο

μηχανισμός που ρυθμίζει τη μείωση της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ έχει προταθεί ότι σχετίζεται με την αύξηση του μεγέθους σωματιδίων LDL επειδή η κατανομή της Lp-PLA₂ σε μικρά πυκνά σωματίδια LDL είναι 5-10 φορές μεγαλύτερη από ό,τι σε σωματίδια LDL κανονικού μεγέθους (Gazi et al., 2005).

Η δραστηριότητα της Lp-PLA₂, ως συνεχής μεταβλητή, φάνηκε να συσχετίζεται θετικά με την κατανάλωση πατατών, προστιθέμενων σακχάρων και συνολικών υδατανθράκων. Συνδυαστικά θα μπορούσαμε να αναφέρουμε ότι η κατανάλωση αναψυκτικών χωρίς ζάχαρη παρατηρήθηκε μόνο στους συμμετέχοντες με ΜΣ. Οι κατηγορίες πατάτες και αναψυκτικά χωρίς ζάχαρη συνιστούν κατηγορίες με μέσο ή υψηλό γλυκαιμικό δείκτη. Έχει παρατηρηθεί βελτίωση της δραστηριότητας της Lp-PLA₂, με τη μείωση του γλυκαιμικού δείκτη (Sanchez-Quesada et al., 2012). Στην παρούσα μελέτη δεν μπορούμε να εξάγουμε συμπεράσματα για τη σχέση αιτίου-αιτιατού μεταξύ γλυκαιμικού δείκτη και δραστηριότητας Lp-PLA₂, επειδή η μελέτη είναι συγχρονική και επιπλέον δεν είναι γνωστός ο τρόπος επεξεργασίας τους, ο ακριβής τύπος των διαιτητικών ινών και ο τρόπος μαγειρέματος που αποτελούν καθοριστικές πληροφορίες για την αντίληψη του γλυκαιμικού φορτίου.

Η επίδραση της διατροφής, ως ένα συνολικό διαιτητικό πρότυπο, στη δραστηριότητα της Lp-PLA₂, δεν έχει μελετηθεί εκτενώς. Οι μελέτες που εστιάζουν στους διατροφικούς παράγοντες και τις επιδράσεις τους στη δραστηριότητα της Lp-PLA₂ είναι περιορισμένες. Από μελέτη παρατήρησης που πραγματοποιήθηκε στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, σε 106 υγιείς εθελοντές, έχει φανεί ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα της δίαιτας επιδρά θετικά στα επίπεδα του PAF, χωρίς όμως να βρεθεί κάποια συσχέτισή της με τη δραστηριότητα της Lp-PLA₂ (Detoroulou et al., 2012). Σε μεταγενέστερη μελέτη στον ίδιο πληθυσμό, ο PAF συσχετίστηκε αντιστρόφως με τροφές πλούσιες σε αντιοξειδωτικά (ροφήματα βοτάνων και καφέ), την αντιοξειδωτική ικανότητα της δίαιτας (DAC, Diet antioxidant capacity) καθώς και με ένα διαιτητικό πρότυπο που χαρακτηρίζεται από όσπρια, λαχανικά, πουλερικά και ψάρια ($p < 0,05$) και θετικά με την πρόσληψη λίπους. Η Lp-PLA₂ και η PAF-AH δεν έχουν συσχετιστεί με την περιεκτικότητα σε μακροθρεπτικά συστατικά της δίαιτας, με εξαίρεση την Lp-PLA₂, η οποία έχει δείξει μια τάση αρνητικής συσχέτισης ($r = -0,20$, $p = 0,06$) με την πρόσληψη πρωτεϊνών (Detoroulou et al., 2015). Επίσης, δεν έχει παρατηρηθεί επίδραση στα επίπεδα της Lp-PLA₂ από την κατανάλωση οίνου (Argyrou, et al., 2017).

Το διαιτητικό πρότυπο που σχετίζεται από τον ορισμό του με το λόγο μονοακόρεστων-προς-κορεσμένα λιπαρά οξέα είναι το πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής. Από τα διατροφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, φάνηκε ότι οι συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >27 nmol/min/mL χαρακτηρίζονται από υψηλότερη προσκόλληση στη Μεσογειακή Διατροφή (υψηλότερο MedDietScore) συγκριτικά με την ομάδα με δραστικότητα Lp-PLA₂ >15 και ≤22 nmol/min/mL. Η προσκόλληση, ωστόσο, συνολικά των συμμετεχόντων ήταν μετρίου βαθμού (29-38). Η μερική διαφορά που παρατηρήθηκε οφείλεται πιθανόν σε κάποια διαιτητική παρέμβαση σχετικά με τη μείωση του σωματικού βάρους, των επιπέδων γλυκόζης, τριγλυκεριδίων και ΔΑΠ που χαρακτηρίζει τους συμμετέχοντες με ΜΣ, λόγω των γνωστών επιδράσεων της Μεσογειακής Διατροφής (Esposito et al., 2004).

5.4 Δραστικότητα Lp-PLA₂ και φύλο, ηλικία, κάπνισμα

Από τις συγκρίσεις της δραστικότητας της Lp-PLA₂, ως συνεχή μεταβλητή, με ανθρωπομετρικούς, βιοχημικούς και κλινικούς δείκτες, προέκυψε ότι η δραστικότητα της Lp-PLA₂ διαφέρει μεταξύ ανδρών και γυναικών [24,0 (16,0 – 30,0) έναντι 20,0 (14,0 – 24,0) nmol/min/mL, $p<0,001$], καθώς και μεταξύ καπνιστών και μη καπνιστών [24,0 (18,0 – 28,0) έναντι 21,0 (14,5 – 26,5) nmol/min/mL, $p=0,005$].

Ως προς τον παράγοντα του φύλου, η δραστικότητα της Lp-PLA₂ φαίνεται ότι είναι σχεδόν 4% υψηλότερη στους άνδρες από τις γυναίκες, για τον ελληνικό πληθυσμό της μελέτης. Σε παλαιότερη συστηματική ανασκόπηση 77 μελετών, με 102.499 συμμετέχοντες, είχε αξιολογηθεί η μάζα και η δραστικότητα της Lp-PLA₂ σε σχέση με το φύλο, την εθνικότητα, το διαβήτη, τη νεφρική νόσο και το μεταβολικό σύνδρομο και είχε φανεί μια παρόμοια διαφορά. Τόσο η μάζα όσο και η δραστικότητα Lp-PLA₂ ήταν σχεδόν 10% υψηλότερη στους άνδρες από τις γυναίκες και κατά 15% υψηλότερα στους Καυκάσιους από τους Αφροαμερικανούς ή τους Ισπανούς (Gregson et al., 2012). Οι διαφορές στη δραστικότητα της Lp-PLA₂ που παρατηρούνται ανάμεσα στα δυο φύλα, πιθανόν να εκφράζουν ορισμένες διαφορές στην παραγωγή της Lp-PLA₂ ή στην κατανομή της στις LDL- και HDL-λιποπρωτεΐνες, όπως έχει παρατηρηθεί σε άνδρες με ΣΔΤ1 (Jarvie et al., 2016). Ωστόσο, η παθοφυσιολογική ερμηνεία δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως.

Αντίστοιχα, η δραστηριότητα της Lp-PLA₂ ως συνεχής μεταβλητή φάνηκε αυξημένη κατά 3% στους καπνιστές από τους μη καπνιστές, για τους συμμετέχοντες της μελέτης.

Στην πολυωνυμική λογαριθμική παλινδρόμηση, με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο, το κάπνισμα και την LDL-χοληστερόλη, αξιολογήθηκε ο λόγος πιθανοτήτων (OR) για κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή και υπολογίστηκε χωριστά για το 2^ο, 3^ο και 4^ο τεταρτημόριο, συγκρινόμενα με το 1^ο τεταρτημόριο της δραστηριότητας της Lp-PLA₂. Βρέθηκε ότι το κάπνισμα συνδέεται με αυξημένη δραστηριότητα Lp-PLA₂, για τιμές που εμπίπτουν στο 3^ο και 4^ο τεταρτημόριο (>22 & ≤ 27 nmol/min/mL και >27 nmol/min/mL, αντιστοίχως. Συγκεκριμένα, το κάπνισμα αυξάνει την πιθανότητα αυξημένης δραστηριότητας Lp-PLA₂, μόνο για τιμές >22 nmol/min/mL, κατά 2,773 ή 1,797 έναντι της πιθανότητας μειωμένης δραστηριότητας Lp-PLA₂ (≤ 15 nmol/min/mL).

Το αποτέλεσμα συμφωνεί με προηγούμενη μελέτη, όπου είχε επισημανθεί ο ρόλος του καπνίσματος, συμπεριλαμβανομένου του παθητικού καπνίσματος, στην αύξηση των επιπέδων της προ-αθηρογόνου ολικής Lp-PLA₂ στο πλάσμα και στα δυο φύλα και στην εξασθένηση της αντι-αθηρογόνου HDL-Lp-PLA₂ (Panagiotakos et al., 2009). Στις περισσότερες μελέτες το κάπνισμα αντιμετωπίζεται ως παράγοντας κινδύνου και πραγματοποιείται προσαρμογή του, ως συγχυτική μεταβλητή, μαζί με το φύλο, την ηλικία και τη σωματική δραστηριότητα. Στη μελέτη NHS (Nurses' Health Study), βρέθηκε ότι το κάπνισμα συσχετίζεται με αύξηση της δραστηριότητας της Lp-PLA₂, σε γυναίκες κατά την εμμηνόπαυση, μαζί με το σωματικό βάρος, τη λήψη ασπιρίνης, την ηλικία και την υπερχοληστερολαιμία (Hatoum et al., 2010). Στη μελέτη ARIC, έχει φανεί ότι πολλαπλασιάζεται ο κίνδυνος καρδιαγγειακών (CHD), όταν τα επίπεδα της Lp-PLA₂ και της CRP, είναι αυξημένα, συγκριτικά με χαμηλά ή μέτρια επίπεδα Lp-PLA₂ (Ballantyne et al., 2004). Έχει προταθεί η hs-CRP μαζί με την Lp-PLA₂ να προσδιορίζονται σε ασθενείς υψηλού κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις, εξαιτίας της στατιστικά σημαντικής συσχέτισης των δυο βιοδεικτών με το κάπνισμα, καθώς και οι τιμές και των δυο μεταβλητών ήταν σημαντικά υψηλότερες στους καπνιστές από τους μη καπνιστές. Παράλληλα, αναφέρθηκε ότι σε μικρό αριθμό ασθενών, παρατηρήθηκε αύξηση μόνο μιας από τις δυο παραμέτρους (Kleber et al., 2014).

5.5 Επίδραση της ενεργειακής πρόσληψης στη δραστικότητα της Lp-PLA₂

Συγκρίνοντας τη δραστικότητα της Lp-PLA₂, ως συνεχή μεταβλητή, με διατροφικούς δείκτες, η δραστικότητα της Lp-PLA₂ φάνηκε να συνδέεται θετικά με την ενεργειακή πρόσληψη ($r=0,212$, $p<0,001$), το οποίο θεωρήθηκε συνέπεια της σύνδεσής της με τους υδατάνθρακες, την πρωτεΐνη και το ολικό λίπος.

Από τα διατροφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, βάσει των τεταρτημορίων της δραστικότητας της Lp-PLA₂, από τις ανά δύο συγκρίσεις, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της ενεργειακής πρόσληψης με την αύξηση των τεταρτημορίων της δραστικότητας της Lp-PLA₂ ($p=0,007$). Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι οι συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >27 nmol/min/mL (4^ο τεταρτημόριο) χαρακτηρίζονται από υψηλότερη ενεργειακή πρόσληψη και υψηλότερη πρόσληψη συνολικού και κορεσμένου λίπους, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ ≤ 15 nmol/min/mL (1^ο τεταρτημόριο).

Στην πολυωνυμική λογαριθμική παλινδρόμηση, με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο, το κάπνισμα και την LDL-χοληστερόλη, αξιολογήθηκε ο λόγος πιθανοτήτων (OR) για κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή και υπολογίστηκε χωριστά για το 2^ο, 3^ο και 4^ο τεταρτημόριο, συγκρινόμενα με το 1^ο τεταρτημόριο της δραστικότητας της Lp-PLA₂. Βρέθηκε ότι η αυξημένη ενεργειακή πρόσληψη συνδέεται με αυξημένη δραστικότητα Lp-PLA₂, για τιμές >22 & ≤ 27 nmol/min/mL και >27 nmol/min/mL (3^ο και 4^ο τεταρτημόριο, αντιστοίχως). Συγκεκριμένα, η αύξηση της ενεργειακής πρόσληψης κατά 100 kcal/ημέρα αυξάνει την πιθανότητα αυξημένης δραστικότητας Lp-PLA₂, πάλι μόνο για τιμές >22 nmol/min/mL, κατά 1,094 και 1,083 έναντι της πιθανότητας μειωμένης δραστικότητας Lp-PLA₂ (≤ 15 nmol/min/mL).

Σε μελέτη εγκάρσιας διατομής (cross-sectional) που βασίστηκε στις μελέτες NHS (Nurse's Health Study) και HPFS (Health Professionals Follow-up Study), διαπιστώθηκε ότι χαμηλότερη δραστικότητα της Lp-PLA₂, σχετίζεται με υψηλότερο ποσοστό ενέργειας από πρωτεΐνη, αντί για υδατάνθρακες ήπια ως μέτρια πρόσληψη αλκοόλ, υψηλότερη πρόσληψη μονοακόρεστων λιπαρών οξέων αντί υδατανθράκων και έλλειψη υπέρβαρου (Wong et al., 2011). Στη μελέτη NHS (Nurses' Health Study), τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση της δραστικότητας της Lp-PLA₂ με την αντικατάσταση του 5% της ενέργειας των υδατανθράκων από πρωτεΐνες και με την αύξηση της κατανάλωσης αλκοόλ κατά 15 γρ./ημέρα (Hatoum et al., 2010). Ωστόσο, η μέτρια κατανάλωση αιθανόλης (40γρ./ημέρα), για διάστημα 3 εβδομάδων,

δεν φάνηκε να επηρεάζει τη δραστικότητα της Lp-PLA₂, παρά την αύξηση της συγκέντρωσης της HDL-χοληστερόλης και τη μείωση της LDL-χοληστερόλης κατά 18,2% και 7,8% αντίστοιχα, σε νεαρούς άνδρες (18-25 ετών) (Beulens, Joline, et al., 2008).

5.6 Επίδραση της αντιπονεκτίνης στη δραστικότητα της Lp-PLA₂

Στην παρούσα μελέτη, οι συμμετέχοντες με ΜΣ χαρακτηρίζονται από χαμηλότερο επίπεδο σωματικής δραστηριότητας υψηλής εντάσεως και χαμηλότερη συγκέντρωση HDL-χοληστερόλης και παρουσίασαν σημαντικά μειωμένα επίπεδα αντιπονεκτίνης ($p<0,01$), συγκριτικά με τους συμμετέχοντες χωρίς ΜΣ.

Από την εξέταση διατροφικών παραγόντων, στη διωνυμική λογαριθμική παλινδρόμηση, προέκυψε ότι οι ανεξάρτητες μεταβλητές, που επιδρούν σημαντικά στο ΜΣ (AHA/NHLBI) οι οποίες είναι στατιστικά σημαντικές ($p<0,05$), είναι η κατανάλωση δημητριακών πρωινού, η πρόσληψη πρωτεΐνης και η συγκέντρωση αντιπονεκτίνης πλάσματος. Από την αξιολόγηση του λόγου πιθανοτήτων (OR) παρουσίας του ΜΣ, με συγχυτικές μεταβλητές την ηλικία και το φύλο, παρατηρήσαμε ότι σε αντίθεση με την Lp-PLA₂, για την οποία δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση επί του ΜΣ, η αντιπονεκτίνη αποτελεί σημαντικό βιοχημικό παράγοντα που συνδέεται με την παρουσία ΜΣ. Η μειωμένη αντιπονεκτίνη στην κυκλοφορία έχει συσχετιστεί με το ΜΣ, ανεξάρτητα από παχυσαρκία, δείκτες λιπιδίων και επιπέδων ινσουλίνης στον ορό, από πρόσφατη μελέτη εγκάρσιας διατομής (Ntzounani et al., 2016). Ωστόσο, δεν φαίνεται να έχει εξετασθεί η σχέση της Lp-PLA₂ με την ορμόνη του λιπώδους ιστού, αντιπονεκτίνη, η οποία φαίνεται να συνδέεται αφενός με το σωματικό βάρος, αλλά διαδραματίζει επίσης ένα σημαντικό ρόλο στα καρδιαγγειακά νοσήματα, στο σακχαρώδη διαβήτη και στο μεταβολικό σύνδρομο (Takahashi et al., 2000, Ntzounani et al., 2016).

Από τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, βάσει των τεταρτημορίων της δραστικότητας της Lp-PL₂, από τις ανά δύο συγκρίσεις, παρατηρήθηκε μείωση των τιμών της αντιπονεκτίνης για το 3^ο και 4^ο τεταρτημόριο της δραστικότητας της Lp-PLA₂ ($p=0,01$). Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι οι συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >27 nmol/min/mL (4^ο τεταρτημόριο), χαρακτηρίζονται από χαμηλότερη συγκέντρωση αντιπονεκτίνης, συγκριτικά με τους συμμετέχοντες του με δραστικότητα Lp-PLA₂ ≤15 nmol/min/mL (1^ο τεταρτημόριο).

Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν για τους συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ >22 και ≤27 nmol/min/mL (3^ο τεταρτημόριο), συγκριτικά με τους συμμετέχοντες με δραστικότητα Lp-PLA₂ ≤15 nmol/min/mL (1^ο τεταρτημόριο).

Στην πολυωνυμική λογαριθμική παλινδρόμηση, με συγχυτικές μεταβλητές το φύλο, το κάπνισμα και την LDL-χοληστερόλη, αξιολογήθηκε ο λόγος πιθανοτήτων (OR) για κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή και υπολογίστηκε χωριστά για το 2^ο, 3^ο και 4^ο τεταρτημόριο, συγκρινόμενα με το 1^ο τεταρτημόριο της δραστικότητας της Lp-PLA₂, ως κατηγορική μεταβλητή. Η συγκέντρωση αντιπονεκτίνης πλάσματος καθίσταται σημαντική ανεξάρτητη μεταβλητή, μόνο κατά την σύγκριση του 4^{ου} (>27 nmol/min/mL) με το 1^ο τεταρτημόριο (≤ 15 nmol/min/mL) της δραστικότητας της Lp-PLA₂. Επιπλέον, η αντιπονεκτίνη είναι η μοναδική μεταβλητή, από αυτές που εισήχθησαν στις εξισώσεις της πολλαπλής πολυωνυμικής παλινδρόμησης, η οποία παρουσιάζει μία αντίστροφη σχέση με την δραστικότητα της Lp-PLA₂. Συγκεκριμένα, η πιθανότητα αυξημένης δραστικότητας της Lp-PLA₂ (>27 nmol/min/mL) είναι 0,904 φορές της πιθανότητας μειωμένης δραστικότητας της Lp-PLA₂ (≤ 15 nmol/min/mL), για αύξηση της συγκέντρωσης αντιπονεκτίνης πλάσματος κατά 1 μg/mL. Θα πρέπει να τονίσουμε ότι κάθε μία από τις περιγραφόμενες επιδράσεις επί της δραστικότητας της Lp-PLA₂ παρατηρούνται όταν οι άλλες ανεξάρτητες μεταβλητές κάθε εξίσωσης παραμένουν σταθερές.

5.7 Περιορισμοί

Αρχικά, στην παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε έλεγχος της επίδρασης πιθανών συγχυτικών μεταβλητών. Συνεπώς υπάρχουν πιθανόν μεταβλητές που δεν λάβαμε υπόψιν. Δεύτερον, πιθανόν, υπήρξαν παραλείψεις στην αξιολόγηση εγγενών χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων. Τρίτον, ενδεχομένως υπάρχουν διακυμάνσεις στην κατανάλωση τροφής των συμμετεχόντων, καθώς η συνήθης διατροφική πρόσληψη αξιολογήθηκε μια φορά με τη χρήση ημι-ποσοτικού ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων.

Τα ισχυρά σημεία της μελέτης αφορούν την εγκυρότητα του ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων, το οποίο έχει ελεγχθεί και τις στατιστικές τεχνικές που έχουν χρησιμοποιηθεί σε προηγούμενες μελέτες, ώστε να θεωρούνται έγκυρες.

5.8 Συμπεράσματα

Από την παρούσα μελέτη, προέκυψαν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

- 1) Από τις συγκρίσεις της δραστικότητας της Lp-PLA₂, ως συνεχή μεταβλητή, με ανθρωπομετρικούς, βιοχημικούς και κλινικούς δείκτες, προέκυψε ότι, η δραστικότητα της Lp-PLA₂ συσχετίζεται σημαντικά θετικά με τις λιποπρωτεΐνες (ολική και LDL χοληστερόλη) και σημαντικά αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη, την αντιπονεκτίνη και την SGOT ($p<0,001$). Παρατηρήθηκε μια τάση ισχυρής συσχέτισης της δραστικότητας της Lp-PLA₂ με τα τριγλυκερίδια ($p=0,007$), τη ΔΑΠ ($p=0,013$), το ουρικό οξύ ($p=0,017$), την κρεατινίνη ($p=0,024$) και την περιφέρεια μέσης ($p=0,039$), ενώ φαίνεται μια τάση αρνητικής συσχέτισης με την SGPT ($p=0,045$).
- 2) Από τις συγκρίσεις της δραστικότητας της Lp-PLA₂, ως συνεχή μεταβλητή, με τους διατροφικούς δείκτες, προέκυψε ότι η δραστικότητα της Lp-PLA₂ συσχετίζεται θετικά με την ομάδα γάλα/γιαούρτι πλήρη σε λιπαρά ($p=0,001$), πατάτες ($p<0,001$), κορεσμένο λίπος ($p<0,001$). Παρατηρήθηκε μια τάση θετικής συσχέτισης της δραστικότητας της Lp-PLA₂ με την πρωτεΐνη ($p=0,002$), το ολικό λίπος ($p=0,002$), τη χοληστερόλη ($p=0,002$), τους υδατάνθρακες ($p=0,005$), το πολυακόρεστο λίπος ($p=0,008$), τις διαιτητικές ίνες ($p=0,010$), το μονοακόρεστο λίπος και τα προστιθέμενα σάκχαρα ($p=0,027$). Παρατηρήθηκε επίσης μια τάση αρνητικής συσχέτισης της Lp-PLA₂ με το λόγο μονοακόρεστου-προς-κορεσμένου λίπους.
- 3) Από τις ανά δυο συγκρίσεις της δραστικότητας της Lp-PLA₂, ως κατηγορική μεταβλητή, βάσει τεταρτημορίων, με τα περιγραφικά και διατροφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, προέκυψε ότι η δραστικότητα της Lp-PLA₂ συσχετίζεται θετικά με το φύλο ($p<0,001$), τις λιποπρωτεΐνες, την ολική και LDL-χοληστερόλη ($p<0,001$) και το ουρικό οξύ ($p=0,002$). Παρατηρήθηκε επίσης θετική συσχέτιση με την περιφέρεια μέσης ($p=0,011$), το κάπνισμα ($p=0,031$), τα τριγλυκερίδια ($p=0,041$) και τη γλυκόζη ($p=0,047$). Αρνητική συσχέτιση προέκυψε για τη δραστικότητα της Lp-PLA₂ με την HDL-χοληστερόλη, την SGPT, την SGOT και την αντιπονεκτίνη ($p=0,001$).
- 4) Από τις ανά δυο συγκρίσεις της δραστικότητας της Lp-PLA₂, με τα διατροφικά χαρακτηριστικά, προέκυψε ότι η δραστικότητα της Lp-PLA₂ συσχετίζεται θετικά με τις ομάδες τροφίμων πατάτες ($p=0,001$), κρέας ($p=0,024$) και γάλα/γιαούρτι πλήρη σε λιπαρά ($p=0,040$). Από τα μακροθρεπτικά και μικροθρεπτικά συστατικά συσχετίστηκε θετικά με τη

χοληστερόλη ($p=0,002$), το κορεσμένο λίπος ($p=0,003$), την πρωτεΐνη ($p=0,006$), τις διαιτητικές ίνες ($p=0,015$), το ολικό λίπος ($p=0,018$). Επίσης, συσχετίστηκε θετικά με το κορεσμένο λίπος ως ποσοστό% της ενεργειακής πρόσληψης ($p=0,010$), την ενεργειακή πρόσληψη ($p=0,007$). Μια οριακή συσχέτιση της δραστηριότητας με το MedDietScore (0-55), που παρατηρήθηκε δεν θα μπορούσε να αποδοθεί σε θετική συσχέτιση καθώς ο συνολικός βαθμός προσκόλλησης των συμμετεχόντων στο πρότυπο ήταν χαμηλός.

- 5) Από τη διερεύνηση της επίδρασης των βιοχημικών και διατροφικών παραγόντων στο ΜΣ, συμπεραίνουμε ότι η αντιγονεκτίνη, η κατανάλωση δημητριακών πρωινού και η πρωτεΐνη αποτελούν σημαντικούς παράγοντες που συνδέονται με την παρουσία ΜΣ. Η Lp-PLA₂ δεν φάνηκε να συσχετίζεται σημαντικά με το ΜΣ. Συσχετίστηκε όμως με τα κριτήρια ορισμού του ΜΣ. Πιθανά, για μεγαλύτερες τιμές του ενζύμου να επιδρούσε σε ένα μεγαλύτερο βαθμό στην εμφάνιση του ΜΣ.

Συνοψίζοντας, θα μπορούσαμε να επισημάνουμε ότι η διατήρηση ενός χαμηλού σωματικού βάρους (αντιγονεκτίνη και περιφέρεια μέσης), η μείωση της ενεργειακής πρόσληψης κατά 100 Kcal/ημέρα, η αύξηση του λόγου μονοακόρεστου/ κορεσμένου λίπους και τέλος το κάπνισμα αποτελούν τροποποιήσιμους παράγοντες που θα μπορούσαν να έχουν μια θετική επίδραση στη μείωση της δραστηριότητας της Lp-PLA₂. Περαιτέρω διαιτητικές παρεμβάσεις για τον έλεγχο και των βιοχημικών παραμέτρων, όπως ο έλεγχος των επιπέδων γλυκόζης και τριγλυκεριδίων θα μπορούσαν να έχουν θετικές επιδράσεις στη μείωση των τιμών της δραστηριότητας της Lp-PLA₂.

Η παρούσα μελέτη είναι συγχρονική, συνεπώς δεν μπορούμε να εξάγουμε συμπεράσματα για τη σχέση αιτίας-αιτιατού. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες με σκοπό τη διερεύνηση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών που σχετίζονται με την ερμηνεία των συσχετίσεων που παρατηρήθηκαν. Απαιτούνται μελέτες παρέμβασης για να εκτιμηθεί εάν τα μακροθρεπτικά ή μικροθρεπτικά συστατικά καθώς και ένα συνολικό διαιτητικό πρότυπο μπορούν να επηρεάσουν άμεσα την έκφραση ή τη δραστηριότητα της Lp-PLA₂.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ABBOTT, Robert D., et al. High density lipoprotein cholesterol, total cholesterol screening, and myocardial infarction. The Framingham Study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 1988, 8.3: 207-211.
- AMBROSIO, Giuseppe, et al. Oxygen radicals inhibit human plasma acetylhydrolase, the enzyme that catabolizes platelet-activating factor. *Journal of Clinical Investigation*, 1994, 93.6: 2408.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, et al. 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care*, 2016, 39.Supplement 1: S13-S22.
- ANGELL, Peter, et al. Anabolic steroids and cardiovascular risk. *Sports medicine*, 2012, 42.2: 119-134.
- ANN, C.; ALAUPOVIC, Petar; KRIS-ETHERTON, Penny M. Dose-response effects of marine omega-3 fatty acids on apolipoproteins, apolipoprotein-defined lipoprotein subclasses, and Lp-PLA2 in individuals with moderate hypertriglyceridemia. 2015.
- ARGYROU, Chrysa, et al. Postprandial effects of wine consumption on Platelet Activating Factor metabolic enzymes. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 2017, 130: 23-29.
- AVRAMOPOULOU, Vassiliki, ANTONOPOULOU, S., et al. Synthesis of a new phosphoglycolipid with biological activity towards platelets. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 1997, 29.5: 767-774.
- BALLANTYNE, Christie M., et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation*, 2.
- BANCELLS, Cristina, et al. Novel phospholipolytic activities associated with electronegative low-density lipoprotein are involved in increased self-aggregation. *Biochemistry*, 2008, 47.31: 8186-8194.
- BANG, Oh Young, et al. Brain microangiopathy and macroangiopathy share common risk factors and biomarkers. *Atherosclerosis*, 2016, 246: 71-77.
- BASU, Ananda, et al. Lack of an effect of pioglitazone or glipizide on lipoprotein-associated phospholipase A2 in type 2 diabetes. *Endocrine Practice*, 2007, 13.2: 147-152.
- BENÍTEZ, Sonia, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase is mainly associated with electronegative low-density lipoprotein subfraction. *Circulation*, 2003, 108.1: 92-96.
- BEULENS, Joline WJ, et al. Moderate alcohol consumption and lipoprotein-associated phospholipase A2 activity. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2008, 18.8: 539-544.
- BLAKE, Gavin J., et al. A prospective evaluation of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels and the risk of future cardiovascular events in women. *Journal of the American College of Cardiology*, 2001, 38.5: 1302-1306.

- BLANK, Merle L., et al. A specific acetylhydrolase for 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine (a hypotensive and platelet-activating lipid). *Journal of Biological Chemistry*, 1981, 256.1: 175-178.
- BLANKENBERG, Stefan, et al. Plasma PAF-acetylhydrolase in patients with coronary artery disease results of a cross-sectional analysis. *Journal of lipid research*, 2003, 44.7: 1381-1386.
- BOCHKOV, Valery N.; LEITINGER, Norbert. Anti-inflammatory properties of lipid oxidation products. *Journal of molecular medicine*, 2003, 81.10: 613-626.
- BOCHKOV, Valery, et al. Pleiotropic effects of oxidized phospholipids. *Free Radical Biology and Medicine*, 2016.
- BRILAKIS, Emmanouil S., et al. Association of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels with coronary artery disease risk factors, angiographic coronary artery disease, and major adverse events at follow-up. *European heart journal*, 2004, 26.2: 137-14.
- BRILAKIS, Emmanouil S., et al. Influence of race and sex on lipoprotein-associated phospholipase A2 levels: observations from the Dallas Heart Study. *Atherosclerosis*, 2008, 199.1: 110-115.
- BULLO, Monica; LAMUELA-RAVENTOS, Rosa; SALAS-SALVADO, Jordi. Mediterranean diet and oxidation: nuts and olive oil as important sources of fat and antioxidants. *Current topics in medicinal chemistry*, 2011, 11.14: 1797-1810.
- C TELLIS, Constantinos; D TSELEPIS, Alexandros. Pathophysiological role and clinical significance of lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) bound to LDL and HDL. *Current pharmaceutical design*, 2014, 20.40: 6256-6269.
- CAI, Anping, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2): a novel and promising biomarker for cardiovascular risks assessment. *Disease markers*, 2013, 34.5: 323-331.
- CAO, Yang, et al. Expression of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is transcriptionally regulated by mediators of inflammation. *Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273.7: 4012-4020.
- CASAS, Juan P., et al. PLA2G7 Genotype, Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Activity, and Coronary Heart Disease Risk in 10 494 Cases and 15 624 Controls of European Ancestry (vol 121, pg 2284, 2010). *Circulation*, 2010, 122.3: E400-E400.
- CASAS-AGUSTENCH, P., et al. Effects of one serving of mixed nuts on serum lipids, insulin resistance and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases*, 2011, 21.2: 126-135.
- CHEN, Chih-Wei, et al. Taiwanese female vegetarians have lower lipoprotein-associated phospholipase A2 compared with omnivores. *Yonsei medical journal*, 2011, 52.1: 13-19.
- CHEN, Jiawei, et al. Intracellular PAF catabolism by PAF acetylhydrolase counteracts continual PAF synthesis. *Journal of lipid research*, 2007, 48.11: 2365-2376.

- CHRYSOHOOU, Christina, PANAGIOTAKOS, D., et al. Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA Study. *Journal of the American College of Cardiology*, 2004, 44.1: 152-158.
- COHEN, M. P.; LAUTENSLAGER, G.; SHEA, Elizabeth. Glycated LDL concentrations in non-diabetic and diabetic subjects measured with monoclonal antibodies reactive with glycated apolipoprotein B epitopes. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 1993, 31.1.
- COLLEY, Kenneth J.; WOLFERT, Robert L.; COBBLE, Michael E. Lipoprotein associated phospholipase A 2: role in atherosclerosis and utility as a biomarker for cardiovascular risk. *The EPMA journal*, 2011, 2.1: 27-38.
- COOK, Nancy R., et al. Clinical utility of lipoprotein-associated phospholipase A2 for cardiovascular disease prediction in a multiethnic cohort of women. *Clinical chemistry*, 2012, 58.9: 1352-1363.
- DANIELS, Lori B., et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 is an independent predictor of incident coronary heart disease in an apparently healthy older population: the Rancho Bernardo Study. *Journal of the American College of Cardiology*, 2008, 51.9.
- DEMOPOULOS, C. A.; PINCKARD, R. N.; HANAHAN, Do J. Platelet-activating factor. Evidence for 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine as the active component (a new class of lipid chemical mediators). *Journal of Biological Chemistry*, 1979, 254.19.
- DEMOPOULOS, Constantinos A.; KARANTONIS, Haralabos C.; ANTONOPOULOU, Smaragdi. Platelet activating factor—a molecular link between atherosclerosis theories. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2003, 105.11: 705-716.
- DETOPOULOU, P., et al. Mediterranean diet and its protective mechanisms against cardiovascular disease: An insight into Platelet Activating Factor (PAF) and diet interplay. *Annals of Nutritional Disorders and Therapy*, 2015, 2: 1-10.
- DETOPOULOU, P., et al. The relation of diet with PAF and its metabolic enzymes in healthy volunteers. *European journal of nutrition*, 2015, 54.1: 25-34.
- DETOPOULOU, Paraskevi, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A 2 (Lp-PLA 2) activity, platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) in leukocytes and body composition in healthy adults. *Lipids in health and disease*, 2009, 8.1: 19.
- DETOPOULOU, Paraskevi, et al. PAF and its metabolic enzymes in healthy volunteers: interrelations and correlations with basic characteristics. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 2012, 97.1-2: 43-49.
- ELSTAD, M. R., et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase increases during macrophage differentiation. A novel mechanism that regulates accumulation of platelet-activating factor. *Journal of Biological Chemistry*, 1989, 264.15: 8467-8470.

- EPPS, K. C.; WILENSKY, R. L. Lp-PLA2—a novel risk factor for high-risk coronary and carotid artery disease. *Journal of internal medicine*, 2011, 269.1: 94-106.
- ESPOSITO, Katherine, et al. Effect of a Mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *Jama*, 2004, 292.12: 1440-1446.
- FILIPPATOS, T. D., et al. The effect of orlistat and fenofibrate, alone or in combination, on small dense LDL and lipoprotein-associated phospholipase A 2 in obese patients with metabolic syndrome. *Atherosclerosis*, 2007, 193.2: 428-437.
- FILIPPATOS, T. D., et al. We-P14: 382 The effects of weight loss on LP-PLA2 activity and low density lipoprotein (LDL) phenotype in obese women. *Atherosclerosis Supplements*, 2006, 7.3: 431.
- FRAGOPOULOU, Elizabeth, et al. Mediterranean wild plants reduce postprandial platelet aggregation in patients with metabolic syndrome. *Metabolism*, 2012, 61.3: 325-334.
- GARDNER, Alison A., et al. Identification of a domain that mediates association of platelet-activating factor acetylhydrolase with high density lipoprotein. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283.25: 17099-17106.
- GARG, Seema, et al. Expression of Lipoprotein associated phospholipase A2 enzyme in medical undergraduate students with metabolic syndrome. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 2016, 10.1: S21-S24.
- GAZI, Irene, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is a marker of small, dense LDL particles in human plasma. *Clinical chemistry*, 2005, 51.12: 2264-2273.
- GOFMAN, John W., et al. The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. *Science*, 1950, 111.2877: 166-171.
- GOLDENBERG, Ronald; PUNTHAKEE, Zubin. Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome. *Canadian journal of diabetes*, 2013, 37: S8-S11.
- GONÇALVES, Isabel, et al. Evidence supporting a key role of Lp-PLA2-generated lysophosphatidylcholine in human atherosclerotic plaque inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2012, 32.6: 1505-1512.
- GREGSON, John, et al. Variation of lipoprotein associated phospholipase A2 across demographic characteristics and cardiovascular risk factors: a systematic review of the literature. *Atherosclerosis*, 2012, 225.1: 11-21.
- GRUNDY, Scott M., et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Circulation*, 2005, 112.17: 2735-2752.
- HANLEY, Anthony JG, et al. Prediction of type 2 diabetes mellitus with alternative definitions of the metabolic syndrome. *Circulation*, 2005, 112.24: 3713-3721.

- HARDARDOTTIR, Ingibjorg; GRÜNFELD, Carl; FEINGOLD, Kenneth R. Effects of endotoxin and cytokines on lipid metabolism. *Current opinion in lipidology*, 1994, 5.3: 207-215.
- HARRIS, William S. n-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *The American journal of clinical nutrition*, 1997, 65.5: 1645S-1654S.
- HARTGENS, Fred; KUIPERS, Harm. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports medicine*, 2004, 34.8: 513-554.
- HATOUM, Ida J., et al. Dietary, lifestyle, and clinical predictors of lipoprotein-associated phospholipase A2 activity in individuals without coronary artery disease. *The American journal of clinical nutrition*, 2010, 91.3: 786-793.
- HEDENGRAN, Anne, et al. n-3 PUFA esterified to glycerol or as ethyl esters reduce non-fasting plasma triacylglycerol in subjects with hypertriglyceridemia: a randomized trial. *Lipids*, 2015, 50.2: 165-175.
- HERRMANN, Joerg, et al. Expression of lipoprotein-associated phospholipase A2 in carotid artery plaques predicts long-term cardiac outcome. *European heart journal*, 2009, 30.23: 2930-2938.
- HOLZER, Michael, et al. Uremia alters HDL composition and function. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2011, 22.9: 1631-1641.
- HOOGEVEEN, R. C., et al. Circulating oxidised low-density lipoprotein and intercellular adhesion molecule-1 and risk of type 2 diabetes mellitus: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Diabetologia*, 2007, 50.1: 36-42.
- HOWARD, Katherine M. Differential expression of platelet-activating factor acetylhydrolase in lung macrophages. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2009, 297.6: L1141-L1150.
- HOWARD, Katherine M., et al. Lipopolysaccharide and platelet-activating factor stimulate expression of platelet-activating factor acetylhydrolase via distinct signaling pathways. *Inflammation Research*, 2011, 60.8: 735-744.
- HOWARD, Katherine M.; OLSON, Merle S. The expression and localization of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase in endotoxemic rats. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275.26: 19891-19896.
- HSUEH, Willa A.; LAW, Ronald E. Cardiovascular risk continuum: implications of insulin resistance and diabetes. *The American journal of medicine*, 1998, 105.1: 4S-14S.
- HUNG, J., et al. Circulating adiponectin levels associate with inflammatory markers, insulin resistance and metabolic syndrome independent of obesity. *International journal of obesity*, 2008, 32.5: 772.

- HUNG, Joseph, et al. Elevated interleukin-18 levels are associated with the metabolic syndrome independent of obesity and insulin resistance. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2005, 25.6: 1268-1273.
- IATROU, C., MOUSTAKAS, G., ANTONOPOULOU, S. et al. Platelet-activating factor levels and PAF acetylhydrolase activities in patients with primary glomerulonephritis. *Nephron*, 1996, 72.4: 611-616.
- ISOMAA, Bo. A major health hazard: the metabolic syndrome. *Life sciences*, 2003, 73.19: 2395-2411.
- JARVIE, Jennifer L., et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 distribution among lipoproteins differs in type 1 diabetes. *Journal of clinical lipidology*, 2016, 10.3: 577-586.
- JENNY, Nancy Swords, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) and risk of cardiovascular disease in older adults: results from the Cardiovascular Health Study. *Atherosclerosis*, 2010, 209.2: 528-532.
- KHUSEYINOVA, Natalie, et al. Association between Lp-PLA2 and coronary artery disease: focus on its relationship with lipoproteins and markers of inflammation and hemostasis. *Atherosclerosis*, 2005, 182.1: 181-188.
- KIECHL, S., et al. Lipoprotein-associated Phospholipase A2 Activity, Ferritin Levels, Metabolic Syndrome And 10-year Cardiovascular Disease. *Cerebrovascular Diseases*, 2009, 27: 188.
- KIM, Dong-Hyun, et al. Ergosterol peroxide from flowers of *Erigeron annuus* L. as an anti-atherosclerosis agent. *Archives of pharmacal research*, 2005, 28.5: 541-545.
- KIM, Minjoo, et al. Replacing with whole grains and legumes reduces Lp-PLA2 activities in plasma and PBMCs in patients with prediabetes or T2D. *Journal of lipid research*, 2014, 55.8: 1762-1771.
- KIMAK, Aleksandra, et al. Lipids and lipoproteins and inflammatory markers in patients with chronic apical periodontitis. *Lipids in health and disease*, 2015, 14.1: 162.
- KLEBER, M. E., et al. C-reactive protein and lipoprotein-associated phospholipase A2 in smokers and nonsmokers of the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study. In: *Oxidative Stress and Cardiorespiratory Function*. Springer International Publishing.
- KLEBER, Marcus E., et al. Lipoprotein associated phospholipase A2 concentration predicts total and cardiovascular mortality independently of established risk factors (The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study). *Clinical laboratory*, 2010, 57.9-.
- KOENIG, Wolfgang, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A 2 adds to risk prediction of incident coronary events by C-reactive protein in apparently healthy middle-aged men from the general population. *Circulation*, 2004, 110.14: 1903-1908.
- KOENIG, Wolfgang, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts future cardiovascular events in patients with coronary heart disease independently of traditional risk factors, markers of inflammation, renal function, and hemodynamic stress. *Arte*.

- KOKOTOU, Maroula G., et al. Inhibitors of phospholipase A2 and their therapeutic potential: an update on patents (2012-2016). *Expert opinion on therapeutic patents*, 2017, 27.2: 217-225.
- KOLOVEROU, Efi, PANAGIOTAKOS, D., et al. The effect of Mediterranean diet on the development of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of 10 prospective studies and 136,846 participants. *Metabolism*, 2014, 63.7: 903-911.
- KRANTZ, Mori J., et al. Effects of omega-3 fatty acids on arterial stiffness in patients with hypertension: a randomized pilot study. *Journal of negative results in biomedicine*, 2015, 14.1: 21.
- KRISKA, Tamas, et al. Phospholipase action of platelet-activating factor acetylhydrolase, but not paraoxonase-1, on long fatty acyl chain phospholipid hydroperoxides. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282.1: 100-108.
- KUNUTSOR, S. K.; APEKEY, T. A.; SEDDOH, D. Gamma glutamyltransferase and metabolic syndrome risk: a systematic review and dose–response meta-analysis. *International journal of clinical practice*, 2015, 69.1: 136-144.
- LEE, Eunkyung, et al. cDNA cloning and expression of biologically active platelet activating factor-acetylhydrolase (PAF-AH) from bovine mammary gland. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2005, 28.4: 580-583.
- LI, Dongze, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 in coronary heart disease: Review and meta-analysis. *Clinica Chimica Acta*, 2016.
- LINTON, MacRae F., et al. The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. 2015.
- LIU, Qiufeng, et al. Structural and Thermodynamic Characterization of Protein–Ligand Interactions Formed between Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 and Inhibitors. *Journal of medicinal chemistry*, 2016, 59.10: 5115-5120.
- LP-PLA2 STUDIES COLLABORATION, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A 2 and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies. *The Lancet*, 2010, 375.9725: 1536-1544.
- MACRITCHIE, Amy N., et al. Molecular basis for susceptibility of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase to oxidative inactivation. *The FASEB Journal*, 2007, 21.4: 1164-1176.
- MASSONER, Petra, et al. Characterization of transcriptional changes in ERG rearrangement-positive prostate cancer identifies the regulation of metabolic sensors such as neuropeptide Y. *PloS one*, 2013, 8.2: e55207.
- MCCALL, Mark R., et al. Dissociable and nondissociable forms of platelet-activating factor acetylhydrolase in human plasma LDL: implications for LDL oxidative susceptibility. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1999.

- MCCULLOUGH, Peter A. Darapladib and atherosclerotic plaque: should lipoprotein-associated phospholipase A2 be a therapeutic target?. *Current atherosclerosis reports*, 2009, 11.5: 334-337.
- MOHLER, Emile R., et al. The effect of darapladib on plasma lipoprotein-associated phospholipase A 2 activity and cardiovascular biomarkers in patients with stable coronary heart disease or coronary heart disease risk equivalent: the results of a multicenter. *Physiol Rev*, 2000. 80(4): p. 1669-99.
- MONTRUCCHIO Giuseppe, et al. Role of platelet-activating factor in cardiovascular pathophysiology. *Physiol Rev*, 2000. 80(4): p. 1669-99.
- MORRIS, Martha Clare; SACKS, Frank; ROSNER, Bernard. Does fish oil lower blood pressure? A meta-analysis of controlled trials. *Circulation*, 1993, 88.2: 523-533.
- MOTIWALA S, O'DONOGHUE ML. Emergence of phospholipase A2 enzymes as a therapeutic target. In: Bonow RO, et al. *Braunwald's heart disease* (2011, online edition).
- NARAHARA, Hisashi; FRENKEL, Rene A.; JOHNSTON, John M. Secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase following phorbol ester-stimulated differentiation of HL-60 cells. *Archives of biochemistry and biophysics*, 1993, 301.2: 275-281.
- NELSON, T. L.; HOKANSON, J. E.; HICKEY, M. S. Omega-3 fatty acids and lipoprotein associated phospholipase A 2 in healthy older adult males and females. *European journal of nutrition*, 2011, 50.3: 185-193.
- NICHOLLS, Stephen J., et al. Varespladib and cardiovascular events in patients with an acute coronary syndrome: the VISTA-16 randomized clinical trial. *Jama*, 2014, 311.3: 252-262.
- NOMIKOS, Tzortzis; FRAGOPOULOU, Elizabeth; ANTONOPOULOU, Smaragdi. Food ingredients and lipid mediators. *Current Nutrition & Food Science*, 2007, 3.4: 255-276.
- NORDING, Henry M.; SEIZER, Peter; LANGER, Harald F. Platelets in inflammation and atherogenesis. *Frontiers in immunology*, 2015, 6.
- NOTO, Hiroshi; CHITKARA, Pranav; RASKIN, Philip. The role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in the metabolic syndrome and diabetes. *Journal of diabetes and its complications*, 2006, 20.6: 343-348.
- NTZOUVANI, Agathi, et al. Reduced circulating adiponectin levels are associated with the metabolic syndrome independently of obesity, lipid indices and serum insulin levels: a cross-sectional study. *Lipids in health and disease*, 2016, 15.1: 140.
- O'DONOGHUE, Michelle, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A 2 and its association with cardiovascular outcomes in patients with acute coronary syndromes in the PROVE IT-TIMI 22 (Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy–Thrombol.

- OEI, Hok-Hay S., et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study. *Circulation*, 2005, 111.5: 570-575.
- PACKARD, Chris J., et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. *New England Journal of Medicine*, 2000, 343.16: 1148-1155.
- PANAGIOTAKOS, Demosthenes B.; PITSAVOS, Christos; STEFANADIS, Christodoulos. Chronic exposure to second hand smoke and 30-day prognosis of patients hospitalised with acute coronary syndromes: the Greek study of acute coronary syndromes. *Heart*, 2007, 93.3:
- PANAGIOTAKOS, Demosthenes B.; PITSAVOS, Christos; STEFANADIS, Christodoulos. Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*.
- PARK, Sun-Hee; LINDHOLM, Bengt. Definition of metabolic syndrome in peritoneal dialysis. *Peritoneal Dialysis International*, 2009, 29. Supplement 2: S137-S144.
- PEDERSEN, Maria Weinkouff, et al. The effect of marine n-3 fatty acids in different doses on plasma concentrations of Lp-PLA2 in healthy adults. *European journal of nutrition*, 2009, 48.1:1.
- PERSSON, Margaretha, et al. Elevated Lp-PLA2 levels add prognostic information to the metabolic syndrome on incidence of cardiovascular events among middle-aged nondiabetic subjects. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2007, 27.6: 1411-141.
- PETSINI F., FRAGOPOULOU E., ANTONOPOULOU S. Fish consumption and cardiovascular disease related biomarkers: A review of clinical trials. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2018, doi: 10.1080/10408398.2018.1437388.
- PIGNITTER, Marc, et al. Concentration-dependent effects of resveratrol and metabolites on the redox status of human erythrocytes in single-dose studies. *The Journal of nutritional biochemistry*, 2016, 27: 164-170.
- POKHAREL, Yashashwi, et al. Association between lipoprotein associated phospholipase A2 mass and subclinical coronary and carotid atherosclerosis in Retired National Football League players. *Atherosclerosis*, 2014, 236.2: 251-256.
- R CORE TEAM (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>, (accessed January 25, 2018).
- REDDY, Kota J., et al. Effects of lifestyle counseling and combination lipid-modifying therapy on lipoprotein-associated phospholipase A2 mass concentration. *Journal of clinical lipidology*, 2009, 3.4: 275-280.
- RIEHL, Terrence E.; STENSON, William F. Platelet-activating factor acetylhydrolases in Caco-2 cells and epithelium of normal and ulcerative colitis patients. *Gastroenterology*, 1995, 109.6: 1826-1834.

- RITCHIE, Julie D.; MILLER, Carla K.; SMICKLAS-WRIGHT, Helen. Tanita foot-to-foot bioelectrical impedance analysis system validated in older adults. *Journal of the American Dietetic Association*, 2005, 105.10: 1617-1619.
- ROBINS, Sander J., et al. Cardiovascular events with increased lipoprotein-associated phospholipase A2 and low high-density lipoprotein-cholesterol: the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2008, 28.
- RUMAWAS, Marcella E., et al. Mediterranean-style dietary pattern, reduced risk of metabolic syndrome traits, and incidence in the Framingham Offspring Cohort. *The American journal of clinical nutrition*, 2009, 90.6: 1608-1614.
- RUSSO, Angelo, et al. An intensive lifestyle intervention reduces circulating oxidised low-density lipoprotein and increases human paraoxonase activity in obese subjects. *Obesity Research & Clinical Practice*, 2016.
- SABATINE, Marc S., et al. Prognostic utility of lipoprotein-associated phospholipase A 2 for cardiovascular outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2007, 27.11: 2463-2469.
- SANCHEZ-QUESADA, J. L., et al. The inflammatory properties of electronegative low-density lipoprotein from type 1 diabetic patients are related to increased platelet-activating factor acetylhydrolase activity. *Diabetologia*, 2005, 48.10: 2162-2169.
- SÁNCHEZ-QUESADA, José L., et al. Effect of improving glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus on low-density lipoprotein size, electronegative low-density lipoprotein and lipoprotein-associated phospholipase A2 distribution.
- SÁNCHEZ-QUESADA, Jose Luis, et al. Impact of the LDL subfraction phenotype on Lp-PLA2 distribution, LDL modification and HDL composition in type 2 diabetes. *Cardiovascular diabetology*, 2013, 12.1: 112.
- SATOH, Kei, et al. High-density lipoprotein inhibits the production of platelet activating factor acetylhydrolase by HepG2 cells. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 1994, 123.2: 225-231.
- SATTAR, Naveed, et al. Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation*, 2003, 108.4: 414-419.
- SCHUELLER, Katharina; PIGNITTER, Marc; SOMOZA, Veronika. Sulfated and glucuronated trans-resveratrol metabolites regulate chemokines and sirtuin-1 expression in U-937 macrophages. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2015, 63.29: 6535-6545.
- SCHULZE, Matthias B., et al. Relationship between adiponectin and glycemic control, blood lipids, and inflammatory markers in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2004, 27.7: 1680-1687.

- SCOTT, Cranford L. Diagnosis, prevention, and intervention for the metabolic syndrome. *The American journal of cardiology*, 2003, 92.1: 35-42.
- SHARMA, Janhavi, et al. Lung endothelial cell platelet-activating factor production and inflammatory cell adherence are increased in response to cigarette smoke component exposure. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 201.
- SHI, Yi, et al. Role of lipoprotein-associated phospholipase A 2 in leukocyte activation and inflammatory responses. *Atherosclerosis*, 2007, 191.1: 54-62.
- SIX, David A.; DENNIS, Edward A. The expanding superfamily of phospholipase A 2 enzymes: classification and characterization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2000, 1488.1: 1-19.
- STABILITY INVESTIGATORS, et al. Darapladib for preventing ischemic events in stable coronary heart disease. *N. England J Med*, 2014, 2014.370: 1702-1711.
- STAFFORINI, Diana M. Chapter Six-Plasma PAF-AH (PLA2G7): Biochemical Properties, Association with LDLs and HDLs, and Regulation of Expression. *The Enzymes*, 2015, 38: 71-93.
- STAFFORINI, Diana M., et al. Human macrophages secrete platelet-activating factor acetylhydrolase. *Journal of Biological Chemistry*, 1990, 265.17: 9682-9687.
- STAFFORINI, Diana M., et al. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Association with lipoprotein particles and role in the degradation of platelet-activating factor. *Journal of Biological Chemistry*, 1987, 262.9: 4215-4222.
- STAFFORINI, Diana M., et al. Lipoproteins alter the catalytic behavior of the platelet-activating factor acetylhydrolase in human plasma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1989, 86.7: 2393-2397.
- STAFFORINI, Diana M., et al. Platelet-activating factor acetylhydrolases. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272.29: 17895-17898.
- STAFFORINI, Diana M., et al. Release of free F2-isoprostanes from esterified phospholipids is catalyzed by intracellular and plasma platelet-activating factor acetylhydrolases. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281.8: 4616-4623.
- STAFFORINI, Diana M., et al. The platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma prevents oxidative modification of low-density lipoprotein. *Transactions of the Association of American Physicians*, 1992, 105: 44-63.
- STEFFEN, Brian T., et al. n-3 and n-6 fatty acids are independently associated with lipoprotein-associated phospholipase A 2 in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *British Journal of Nutrition*, 2013, 110.9: 1664-1671.

- STREMLER, K. E., et al. An oxidized derivative of phosphatidylcholine is a substrate for the platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma. *Journal of Biological Chemistry*, 1989, 264.10: 5331-5334.
- STREMLER, Kay E., et al. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Oxidatively fragmented phospholipids as substrates. *Journal of Biological Chemistry*, 1991, 266.17: 11095-11103.
- STRICKLER, Howard D., et al. The relation of type 2 diabetes and cancer. *Diabetes technology & therapeutics*, 2001, 3.2: 263-274.
- TAKAHASHI, M., et al. Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. *International journal of obesity*, 2000, 24.7: 861.
- TARBET, E. Bart, et al. Liver cells secrete the plasma form of platelet-activating factor acetylhydrolase. *Journal of Biological Chemistry*, 1991, 266.25: 16667-16673.
- TELLIS, Constantinos C., et al. The elevation of apoB in hypercholesterolemic patients is primarily attributed to the relative increase of apoB/Lp-PLA2. *Journal of lipid research*, 2013, 54.12: 3394-3402.
- TELLIS, Constantinos C.; TSELEPIS, Alexandros D. The role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis may depend on its lipoprotein carrier in plasma. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2009, 1791.5.
- THOMPSON, Alexander, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A (2) and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies. *Lancet* 2010, 375:1536–1544.
- TJOELKER, Larry W., et al. Anti-inflammatory properties of a platelet-activating factor acetylhydrolase. *Nature*, 1995, 374.6522: 549.
- TRICHOPOULOU, Antonia, et al. Modified Mediterranean diet and survival: EPIC-elderly prospective cohort study. *Bmj*, 2005, 330.7498: 991.
- TRICHOPOULOU, Antonia; LAGIOU, Pagona. The Mediterranean diet: Definition, epidemiological aspects and current patterns. *The Mediterranean diet: constituents and health promotion*, 2001, 53-73.
- TSELEPIS, Alexandros D., et al. PAF-degrading acetylhydrolase is preferentially associated with dense LDL and VHDL-1 in human plasma. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 1995, 15.10: 1764-1773.
- TSELEPIS, Alexandros D., PANAGIOTAKOS, D. B. et al. Smoking induces lipoprotein-associated phospholipase A2 in cardiovascular disease free adults: the ATTICA Study. *Atherosclerosis*, 2009, 206.1: 303-308.

- TSELEPIS, Alexandros D.; CHAPMAN, M. John. Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor-acetylhydrolase. *Atherosclerosis Supplements*, 2002, 3.4: 57-68.
- TSOUKATOS, Demokritos C., et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase and transacetylase activities in human aorta and mammary artery. *Journal of lipid research*, 2008, 49.10: 2240-2249.
- TZOTZAS, T., et al. Effects of a low-calorie diet associated with weight loss on lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) activity in healthy obese women. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2008, 18.7: 477-482.
- US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory. (September 2015, slightly revised May 2016). USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 28. URL <http://ndb.nal.usda.gov/>, (accessed January 11, 201).
- VENABLES, W. N. & Ripley, B. D. (2002). *Modern Applied Statistics with S* (4th edition). Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0.
- WÅLLBERG-JONSSON, SOLVEIG, et al. Lipoprotein lipase in relation to inflammatory activity in rheumatoid arthritis. *Journal of internal medicine*, 1996, 240.6: 373-380.
- WALLENTIN, Lars, et al. Lipoprotein-Associated Phospholipase A 2 Activity Is a Marker of Risk But Not a Useful Target for Treatment in Patients With Stable Coronary Heart Disease. *Journal of the American Heart Association*, 2016, 5.6: e003407.
- WANG, Wen-yi, et al. Inhibition of lipoprotein-associated phospholipase A2 ameliorates inflammation and decreases atherosclerotic plaque formation in ApoE-deficient mice. *PloS one*, 2011, 6.8: e23425.
- WILENSKY, Robert L.; HAMAMDZIC, Damir. The molecular basis of vulnerable plaque: potential therapeutic role for immunomodulation. *Current opinion in cardiology*, 2007, 22.6: 545-551.
- WONG, Cheuk-Kit; WHITE, Harvey D. Effects of Dietary Factors on Lipoprotein-Associated Phospholipase A 2 (Lp-PLA 2). *Current atherosclerosis reports*, 2011, 13.6: 461-466.
- WOOLFORD, Alison J.-A., et al. Exploitation of a novel binding pocket in human lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) discovered through X-ray fragment screening. *Journal of medicinal chemistry*, 2016, 59.11: 5356-5367.
- WU, Xiaoqing, et al. The p38 MAPK pathway mediates transcriptional activation of the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene in macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279.34: 36158-36165.
- YOU, Tongjian, et al. The metabolic syndrome is associated with circulating adipokines in older adults across a wide range of adiposity. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 2008, 63.4: 414-419.

- ZALEWSKI, Andrew; MACPHEE, Colin. Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2005, 25.5: 923-931.
- ZHANG, Bo, et al. Modulating effects of cholesterol feeding and simvastatin treatment on platelet-activating factor acetylhydrolase activity and lysophosphatidylcholine concentration. *Atherosclerosis*, 2006, 186.2: 291-301.
- ZHUO, Shaoqiu; WOLFERT, Robert L.; YUAN, Chong. Biochemical differences in the mass and activity tests of lipoprotein-associated phospholipase A2 explain the discordance in results between the two assay methods. *Clinical biochemistry*, 2017.
- ΤΡΙΧΟΠΟΥΛΟΥ, Α. Πίνακες σύνθεσης τροφίμων και ελληνικών φαγητών. Εκδόσεις Παρισιάνου ΑΕ, Αθήνα, 2004.