



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
HAROKOPIO UNIVERSITY

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ: ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ: ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ
ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Αντιαιμοπεταλιακή δράση ελαιόλαδων και
εκχυλισμάτων τους πλούσια σε
ελαιοκανθάλη

Διπλωματική Εργασία

Μαγδαληνή Σαραντίδου

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ: ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ: ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ
ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ**

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Νομικός Τζώρτζης (Επιβλέπων)

**Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο
Πανεπιστήμιο**

Αντωνοπούλου Σμαραγδή

**Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο
Πανεπιστήμιο**

Ανδρέα Πάολα Ρόχας

Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Νοσηλευτικής, Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου

Η Μαγδαληνή Σαραντίδου

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.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Βιολογίας, Βιοχημείας και Φυσιολογίας του Ανθρώπου και των Μικροοργανισμών του τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου τη χρονική περίοδο από το Σεπτέμβριο του 2018 έως τον Φεβρουάριο του 2019.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον κ. Νομικό Τζώρτζη, επίκουρο καθηγητή και επιβλέποντα της πτυχιακής διατριβής, για την επιστημονική του καθοδήγηση και τις συμβουλές του, καθώς χωρίς τη βοήθειά του δε θα ήταν δυνατή η διεκπεραίωση της πτυχιακής μου διατριβής. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ τη Μέρφυ Κατσά για την αμέριστη βοήθειά της. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους και την οικογένειά μου για την στήριξη και την κατανόησή τους.

Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	8
ABSTRACT	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	10
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	11
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	12
Η φυσιολογία του αιμοπεταλίου	12
Έκκριση από τα κοκκία των αιμοπεταλίων	13
Σχηματισμός των εικοσανοειδών και των προσταγλανδινών στο αιμοπετάλιο	14
Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στο ανοσοποιητικό σύστημα.....	14
Εμπλοκή των αιμοπεταλίων σε χρόνιες παθήσεις.....	15
Οξύ στεφανιαίο σύνδρομο	15
Νευροεκφυλιστικές ασθένειες	16
Καρκίνος	17
Ηπατική νόσος	18
Αιμοπετάλια, Ινσουλινοαντίσταση & Σακχαρώδη Διαβήτης.....	18
Ινσουλινοαντίσταση & Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων.....	19
Υπεργλυκαιμία & Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων	19
Ενεργοποίηση πήξης στον Σακχαρώδη Διαβήτη	21
Μικροσωματίδια: Ένας πιθανός σύνδεσμος μεταξύ της ενεργοποίησης του ενδοθηλίου, της πήξης & των αιμοπεταλίων στο Σακχαρώδη Διαβήτη	23
Αντ αιμοπεταλιακή θεραπεία στο Σακχαρώδη Διαβήτη	23
Διατροφή & Αιμοπετάλια	25
Μακρο- και μικροθρεπτικά συστατικά των τροφίμων & Αιμοπετάλια.....	25
Τρόφιμα & Αιμοπετάλια	28
Διατροφικές παρεμβάσεις & Αιμοπετάλια	32
Ελαιόλαδο & Αιμοπετάλια.....	34
Ελαιοκανθάλη.....	35
Πηγές	35
Δομή	36
Βιολογικές δράσεις	37
ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	39

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	40
Φαινολικά συστατικά ελαιόλαδου που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη	40
Εθελοντές μελέτης	40
Απομόνωση πλάσματος πλούσιου σε αιμοπετάλια (PRP).....	40
Υλικά	41
Πορεία	41
Προσδιορισμός της αντιαιμοπεταλιακής δράσης των φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου	41
Υλικά	41
Αντιδραστήρια	42
Πορεία	42
Στατιστική ανάλυση	42
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	43
Χαρακτηριστικά εθελοντών της μελέτης	43
Σύγκριση της αντιαιμοπεταλιακής δράσης φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου	44
Σύγκριση της αντιαιμοπεταλιακής δράσης φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου στην επαγόμενη από ADP συσσώρευση των αιμοπεταλίων.....	44
Σύγκριση της αντιαιμοπεταλιακής δράσης φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου στην επαγόμενη από TRAP συσσώρευση των αιμοπεταλίων.	45
Σύγκριση της αντιαιμοπεταλιακής δράσης φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου στην επαγόμενη από PAF συσσώρευση των αιμοπεταλίων.	46
Σύγκριση της ανασταλτικής ικανότητας των φαινολικών ουσιών έναντι των διαφορετικών αγωνιστών των αιμοπεταλίων.	47
Επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στην ανασταλτική δράση των φαινολικών ενώσεων.	49
Επίδραση του φύλου	50
Επίδραση του καπνίσματος	52
Ηλικία.....	54
BMI	54
MPV	55
Συζήτηση.....	56
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	67

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή

Η αυξημένη δραστικότητα των αιμοπεταλίων συμβάλλει στην αθηροθρόμβωση. Οι ευεργετικές ιδιότητες του ελαιόλαδου, με πιθανή την αντιαιμοπεταλιακή του δράση, αποδίδονται σε μεγάλο βαθμό στις φαινόλες που περιέχει, ανάμεσά τους και η ελαιοκανθάλη. Σκοπός της μελέτης ήταν η εκτίμηση της αντιαιμοπεταλιακής δράσης εκχυλισμάτων ελαιόλαδου πλούσια σε ελαιοκανθάλη και άλλες φαινολικές ενώσεις.

Μεθοδολογία

Η εκτίμηση της αντιαιμοπεταλιακής δράσης έγινε σε πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια υγιών εθελοντών. Μετρήθηκε η ικανότητα των φαινολών να αναστέλλουν την επαγόμενη από ADP, TRAP και PAF συσσώρευση αιμοπεταλίων με την μέθοδο της συσσωρευομετρίας οπτικής διαπερατότητας. Υπολογίστηκε η συγκέντρωση που είναι ικανή να προκαλεί 50% αναστολή (IC₅₀) αιμοπεταλίων.

Αποτελέσματα

Όλες οι φαινολικές ενώσεις εμφάνισαν αντιαιμοπεταλιακή δράση και στους τρεις αγωνιστές των αιμοπεταλίων. Η ελαιοκανθάλη εμφάνισε χαμηλότερες τιμές IC₅₀, άρα ισχυρότερη αντιαιμοπεταλιακή δράση, κυρίως μετά από ενεργοποίηση με ADP [0,0564 (0,04-0,1592)]. Οι τιμές της διέφεραν στατιστικά σημαντικά από την ελαιασίνη. Για τις υπόλοιπες φαινόλες οι IC₅₀ ήταν παρόμοιες. Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στη δράση των φαινολών για κάθε συσσωρευτικό παράγοντα. Δεν υπήρξε σημαντική επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στη δράση των φαινολικών ενώσεων.

Συμπέρασμα

Φαινολικά συστατικά που προέρχονται από ελαιόλαδο εμφανίζουν αντιαιμοπεταλιακή δράση, με ισχυρότερη αυτή της ελαιοκανθάλης. Τα πρόδρομα αυτά αποτελέσματα υποδεικνύουν την ανάγκη διατροφικών παρεμβάσεων με ελαιόλαδο ώστε να αποδειχθεί η *in vivo* αντιαιμοπεταλιακή τους δράση.

Λέξεις κλειδιά: αιμοπετάλια, αντιαιμοπεταλιακή δράση, ελαιόλαδο, φαινόλες

ABSTRACT

Introduction

The increased activity of platelets contributes to atherothrombosis. There is evidence that olive oil might exhibit antiplatelet activity, apart from its other positive effects on human's health. Olive oil contains phenols, such as oleocanthal, which could be responsible for this antiplatelet activity. The aim of the study was to evaluate and compare the antiplatelet effect of 7 phenolic compounds of olive oil.

Methodology

The antiplatelet effect was assessed with the use of platelets rich plasma from healthy volunteers. The phenols' capacity to inhibit the induced by ADP, TRAP and PAF platelet aggregation was measured with the Light Transmittance Aggregometry methodology. Particularly, the concentration causing 50% platelet inhibition (IC50) was calculated.

Results

All the phenolic compounds showed antiplatelet activity against the three platelet agonists. The inhibitory effect on the ADP-induced platelet aggregation of oleocanthal was stronger compared to those of the other 6 phenols. More specifically, the IC50 was [0,0564 (0,04-0,1592)]. There was a statistically significant difference between the IC50s of oleocanthal and oleacein. The IC50s of the other 5 phenols were similar. There was no statistically significant difference of the antiplatelet activity of each phenol among the three platelet agonists. There was also no statistically significant effect of volunteers' characteristics.

Conclusion

Phenolic compounds derived from olive oil exhibit antiplatelet activity, with oleocanthal being the most active. The results suggest that further nutritional interventions with olive oil is needed to demonstrate the antiplatelet activity in vivo.

Keywords: platelet, antiplatelet activity, olive oil, phenols, phenolic compounds

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στο σχηματισμό θρόμβου στο οξύ στεφανιαίο σύνδρομο.....	14
Εικόνα 2. Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων λόγω υπεργλυκαιμίας & ινσουλινοαντίστασης στον ΣΔ.....	19
Εικόνα 3. Προθρομβωτικός μηχανισμός στον ΣΔ.....	20
Εικόνα 4. Η χημική δομή της ελαιοκανθάλης.....	34
Εικόνα 5. Οι χημικές δομές των φαινολικών ενώσεων.....	58
Εικόνα 6. Υποδοχείς ADP.....	61
Εικόνα 7. Υποδοχείς TRAP.....	62
Εικόνα 8. Υποδοχείς PAF.....	62
Εικόνα 9. Μονοπάτι μεταγωγής σήματος ADP.....	64

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Ποσοτικά χαρακτηριστικά των εθελοντών.....	42
Πίνακας 2. Φύλο.....	43
Πίνακας 3. Κάπνισμα.....	43
Πίνακας 4. IC50 με ενεργοποιητικό παράγοντα ADP.....	43
Πίνακας 5. IC50 με ενεργοποιητικό παράγοντα TRAP.....	44
Πίνακας 6. IC50 με ενεργοποιητικό παράγοντα PAF.....	45
Πίνακας 7. Σύγκριση της ανασταλτικής ικανότητας των φαινολικών ουσιών έναντι των διαφορετικών αγωνιστών των αιμοπεταλίων.....	47
Πίνακας 8. Επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στις IC50 (Φύλο).....	49
Πίνακας 9. Επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στις IC50 (Φύλο).....	49
Πίνακας 10. Επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στις IC50 (Φύλο).....	50
Πίνακας 11. Επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στις IC50 (Φύλο).....	50
Πίνακας 12. Επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στις IC50 (Κάπνισμα).....	51
Πίνακας 13. Επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στις IC50 (Κάπνισμα).....	51
Πίνακας 14. Επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στις IC50 (Κάπνισμα).....	52
Πίνακας 15. Επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στις IC50 (Κάπνισμα).....	52
Πίνακας 16. Επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στις IC50 (Ηλικία).....	53
Πίνακας 17. Επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στις IC50 (BMI).....	53
Πίνακας 18. Επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στις IC50 (MPV).....	54

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η φυσιολογία του αιμοπεταλίου

Το αιμοπετάλιο είναι ένα μικρό, απύρηνο κύτταρο το οποίο προέρχεται από τη διάσπαση του κυτταροπλάσματος των μεγακαρυοκυττάρων κατά τη διάρκεια της αιμοποίησης. Η αιμοποίηση πραγματοποιείται στο μυελό των οστών και, όπως αναφέρεται πλέον στη βιβλιογραφία, στους πνεύμονες. Η διαδικασία της διαφοροποίησης των μεγακαρυοκυττάρων ελέγχεται από διάφορες κυτοκίνες, κυρίως τη θρομβοποιητίνη, αλλά και τις ιντερλευκίνη-6 (IL-6), IL-3, IL-11 και τον παράγοντα βλαστοκυττάρων. Από κάθε μεγακαρυοκύτταρο σχηματίζονται 10-20 προ-αιμοπετάλια τα οποία ωριμάζουν στην κυκλοφορία και απελευθερώνουν 1000-3000 αιμοπετάλια. Κατά κύριο λόγο εξαιτίας μεγάλων διατμητικών δυνάμεων αλλά και λόγω της απουσίας πυρήνα, το αιμοπετάλιο είναι εκτεθειμένο στο αγγείο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η διάρκεια ζωής του να περιορίζεται στις 5 έως 7 μέρες μετά το σχηματισμό και το διαχωρισμό του από το μεγακαρυοκύτταρο. Κατά τη διάρκεια ενός φυσιολογικού κύκλου ζωής τα αιμοπετάλια μικραίνουν σε μέγεθος κι έτσι τα «νεαρά» αιμοπετάλια είναι αισθητά μεγαλύτερα από τα «γηραιότερα». Στο τελευταίο στάδιο της ζωής τους δημιουργούν ένα θρόμβο και απομακρύνονται από το αγγείο με τη βοήθεια των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων για να μεταφερθούν στο σπλήνα και να αποβληθούν από τον οργανισμό [1, 2]. Καθημερινά σχηματίζονται στο ανθρώπινο σώμα περίπου $1 \cdot 10^{11}$ αιμοπετάλια, τα οποία διαφέρουν σε μέγεθος, πυκνότητα και ενεργότητα. Το φυσιολογικό εύρος συγκέντρωσής τους στο αίμα είναι $150-400 \cdot 10^9/L$ [3-5].

Ο πρωταρχικός ρόλος των αιμοπεταλίων στην κυκλοφορία είναι η διατήρηση της πρωτοβάθμιας αιμόστασης και της ροής του αίματος στο αγγείο. Η πρωτοβάθμια αιμόσταση απαρτίζεται από την προσκόλληση και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων στο σημείο όπου έχει προκληθεί τραυματισμός. Για το λόγο αυτό τα αιμοπετάλια ρέουν στην κυκλοφορία κοντά στο τοίχωμα του αγγείου, ώστε να επιτευχθεί η γρήγορη ανταπόκρισή τους στην περίπτωση τραυματισμού. Η ανταπόκριση αυτή περιλαμβάνει διάφορα στάδια, ξεκινώντας από την προσκόλληση στο υπο-ενδοθηλιακό εξωκυττάριο υλικό μέσω αλληλεπίδρασης του υλικού με

συγκεκριμένους υποδοχείς του αιμοπεταλίου. Η αλληλεπίδραση αυτή περιλαμβάνει τη σύνδεση των GP1b/V/IX με τον παράγοντα Von Willerbrand καθώς και τη σύνδεση των υποδοχέων GPVI και αIIb1, που βρίσκονται στην επιφάνεια του αιμοπεταλίου, με το κολλαγόνο του εξωκυττάριου υλικού. Αποτέλεσμα αυτής της προσκόλλησης είναι ο σχηματισμός θρόμβου. Ο θρόμβος που προκύπτει αποτελείται από έναν πυρήνα από «σφιχτά» τοποθετημένα, θετικά στην Ρ-σελεκτίνη αιμοπετάλια ο οποίος περιβάλλεται από ένα «κέλυφος» από «χαλαρά» τοποθετημένα αιμοπετάλια που απαιτούν ανατροφοδότηση από διάφορους υποδοχείς. Περαιτέρω ενεργοποίηση επιτυγχάνεται μέσω αγωνιστών των αιμοπεταλίων όπως η θρομβίνη, το ADP ή θρομβοξάνη A₂ η οποία σχηματίζεται από το αραχιδονικό οξύ στα διεγερμένα αιμοπετάλια. Στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων εκφράζονται υποδοχείς οι οποίοι είτε εξυπηρετούν στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων μεταξύ τους, είτε συνδέονται σ' αυτούς αγωνιστές των αιμοπεταλίων με αποτέλεσμα τη μεταγωγή σήματος. Η μεταγωγή σήματος στο αιμοπετάλιο οδηγεί σε αλλαγή του σχήματός του, έκκριση ουσιών από το κύτταρο και ενεργοποίηση της ιντεγκρίνης αIIbβ3. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια «προσκαλούν» νέα αιμοπετάλια από την κυκλοφορία μέσω αλληλεπιδράσεων αιμοπεταλίου-αιμοπεταλίου που μεσολαβούνται από τον υποδοχέα ιντεγκρινών αIIbβ3. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων είναι μια δυναμική διαδικασία που περιλαμβάνει κυκλώματα ανατροφοδότησης και διάλογο μεταξύ διαφορετικών μονοπατιών μέσα στο κύτταρο [1, 3, 6].

Έκκριση από τα κοκκία των αιμοπεταλίων

Τα αιμοπετάλια έχουν τρεις διαφορετικούς τύπους κοκκίων. Ο πρώτος τύπος είναι γνωστός ως το πυκνό κοκκίο και υπάρχουν περίπου 4-6 κοκκία αυτού του τύπου στο αιμοπετάλιο. Περιέχουν περισσότερα από 200 μόρια συμπεριλαμβανομένων του ασβεστίου, ATP, ADP, 5-HT και επινεφρίνη. Μετά τα πρώτα στάδια της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, τα πυκνά κοκκία ενώνονται με τη μεμβράνη του πλάσματος του αιμοπεταλίου μέσω SNARE συμπλεγμάτων όπως το VAMP8 και εκκρίνουν το περιεχόμενό τους στον εξωκυττάριο αγγειακό χώρο. Πολλά από αυτά τα μικρά μόρια συμμετέχουν στη μεταγωγή σήματος στο αιμοπετάλιο μέσω υποδοχέων στην επιφάνεια του. Μία από τις περισσότερο μελετημένες τάξεις υποδοχέων στο αιμοπετάλιο που είναι γνωστό ότι ανταποκρίνεται στο περιεχόμενο των πυκνών κοκκίων είναι ο πουρινεργικός υποδοχέας (P2Y_x). Στο αιμοπετάλιο εκφράζονται δύο πουρινεργικοί υποδοχείς, ο P2Y₁ και ο P2Y₁₂, οι οποίοι φαίνεται να κατέχουν σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίησή του. Ο P2Y₁₂ μάλιστα είναι στόχος αντιαιμοπεταλιακής θεραπείας.

Ο δεύτερος τύπος κοκκίων είναι τα α-κοκκία. Κάθε αιμοπετάλιο περιέχει περίπου 60-80 α-κοκκία. Τα κοκκία αυτού του τύπου περιέχουν μεγαλύτερες πρωτεΐνες που απελευθερώνονται είτε στην επιφάνεια του αιμοπεταλίου είτε στην κυκλοφορία. Ένας από τους δείκτες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων που εκκρίνεται από τα α-κοκκία είναι η P-σελεκτίνη.

Ο τρίτος τύπος κοκκίων των αιμοπεταλίων είναι το λυσοσωμιακό κοκκίο και παίζει σημαντικό ρόλο στην καταστροφή πρωτεϊνών. Τα μόρια που εκκρίνονται από τα κοκκία είτε είναι σημαντικά για τη θετική ανατροφοδότηση της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και πιθανά για τη στρατολόγηση νέων αιμοπεταλίων στο σχηματιζόμενο θρόμβο, είτε για τη μετάδοση σήματος στα γειτονικά κύτταρα του αίματος και του ενδοθηλίου [1].

Σχηματισμός των εικοσανοειδών και των προσταγλανδινών στο αιμοπετάλιο

Τα βιοενεργά λιπίδια που σχηματίζονται μετά την αρχική ενεργοποίηση στα αιμοπετάλια παίζουν σημαντικό ρόλο στην ενίσχυση του αρχικού σήματος που δίνεται μέσω της θρομβίνης και του κολλαγόνου. Τα περισσότερα παράγωγα των λιπιδίων σχηματίζονται από την οξείδωση ελεύθερων λιπαρών οξέων. Το πιο κοινό λιπαρό οξύ στη φωσfolιπιδική μεμβράνη των αιμοπεταλίων είναι το αραχιδονικό οξύ. Η οξείδωση πραγματοποιείται κυρίως μέσω δύο ενζύμων της κυκλοξυγενάσης-1 (COX-1) και της 12-λιποξυγενάσης (12-LOX). Η κυκλοξυγενάση-1 παράγει προσταγλανδίνες, ανάμεσά τους την PGE2 και τη TxA2, που διαθέτουν υποδοχείς στην επιφάνεια του αιμοπεταλίου και συμμετέχουν στην περαιτέρω ενεργοποίησή του. Η 12-λιποξυγενάση οξειδώνει ελεύθερα λιπαρά οξέα σε εικοσανοειδή τα οποία εξυπηρετούν διάφορες λειτουργίες εντός του αιμοπεταλίου αλλά και σε άλλα κύτταρα της κυκλοφορίας [1].

Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στο ανοσοποιητικό σύστημα

Ο παραδοσιακός ρόλος των αιμοπεταλίων περιοριζόταν στη διατήρηση της αιμόστασης στο αγγείο κάτω από φυσιολογικές συνθήκες και στη δημιουργία θρόμβου σε παθολογικές συνθήκες. Ωστόσο, έχουν προταθεί ρόλοι των αιμοπεταλίων ανεξάρτητοι της αιμόστασης και της θρόμβωσης. Ένας από αυτούς είναι ο ρόλος τους στο ανοσοποιητικό σύστημα.

Οι βακτηριακές ενδοτοξίνες μπορούν να προκαλέσουν θρομβοκυτταροπενία, υπόταση και σήψη. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων κατέχει σημαντικό ρόλο στην θρομβοκυτταροπενία που προκαλείται από την LPS και στην καταστροφή των ιστών. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια παράγουν ελεύθερες ρίζες οξυγόνου οι οποίες καταστρέφουν το αγγειακό ενδοθήλιο και

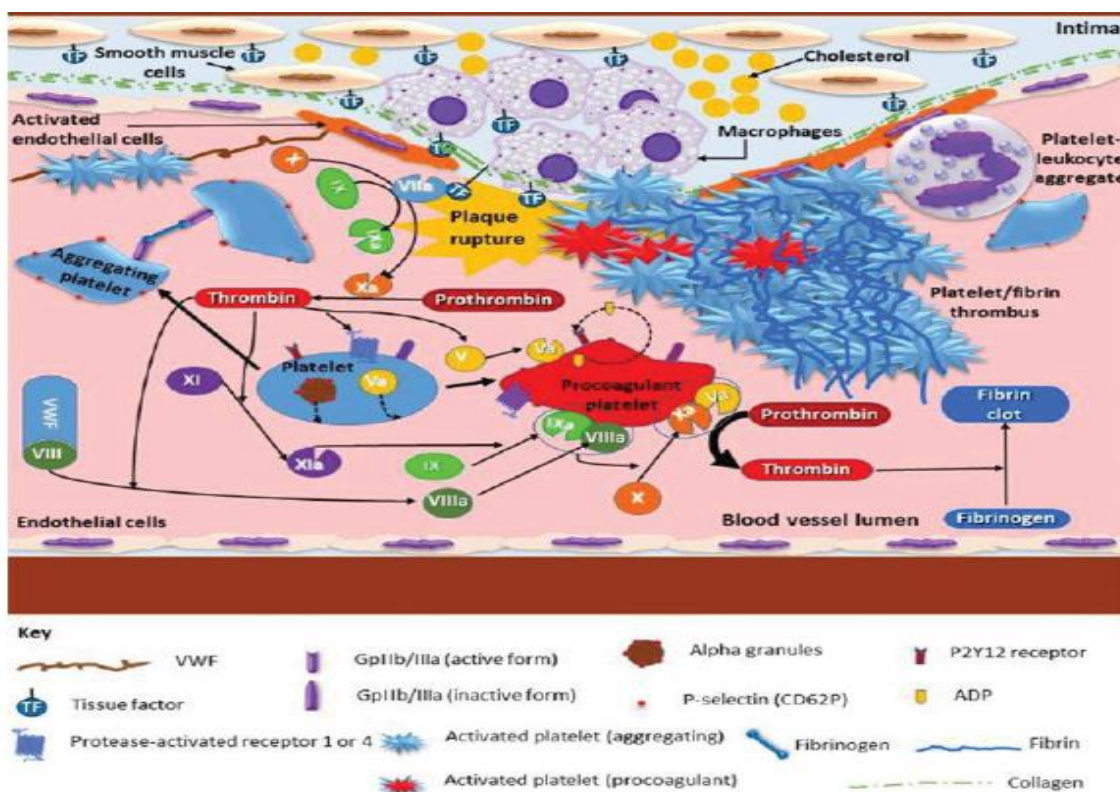
συμβάλλουν στη δυσλειτουργία πολλών οργάνων, με αποτέλεσμα τη σήψη. Από μελέτες προκύπτει ότι η LPS διεγείρει την έκκριση από τα πυκνά και α κοκκία των αιμοπεταλίων και κατά συνέπεια την έκκριση βιολογικά ενεργών μεσολαβητών του ανοσοποιητικού συστήματος. Η προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων συμμετέχει στην παθογένεση του σηπτικού σοκ μετά από καταστροφή των ενδοθηλιακών κυττάρων προκαλούμενη από την LPS ή από φλεγμονώδεις κυτοκίνες. Τα «συσσωματώματα» αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων στην κυκλοφορία είναι χαρακτηριστικά στη σήψη και αποδεικνύουν τη στενή αλληλεπίδραση μεταξύ των αιμοπεταλίων και του ανοσοποιητικού συστήματος [1, 3]. Επίσης, τα αιμοπετάλια θεωρείται ότι εκκρίνουν μικροσωματίδια που περιέχουν γενετικό υλικό (miRNA, mRNA κλπ), ένζυμα, πρωτεΐνες και μικρά μόρια που μπορούν να τροποποιήσουν τη λειτουργία άλλων κυττάρων στο αγγείο και υπάρχει ένα πεδίο ενδιαφέροντος σχετικά με την πιθανή αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων και καρκινικών όγκων μέσω αυτών των μικροσωματιδίων [1].

Εμπλοκή των αιμοπεταλίων σε χρόνιες παθήσεις

Οξύ στεφανιαίο σύνδρομο

Το οξύ στεφανιαίο σύνδρομο περιλαμβάνει καταστάσεις όπως το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ή ο ξαφνικός καρδιακός θάνατος. Χαρακτηρίζεται από την ξαφνική μείωση της ροής του αίματος στην περιοχή του μυοκαρδίου από τη στεφανιαία αρτηρία. Το οξύ στεφανιαίο σύνδρομο είναι συνήθως επιπλοκή προϋπάρχουσας αθηροσκλήρωσης, η οποία αποτελεί μια χαμηλού βαθμού φλεγμονή στο τοίχωμα της αρτηρίας και οδηγεί στο σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας. Η διάρρηξη της πλάκας έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό θρόμβου ο οποίος φράσσει το αγγείο και προκαλεί οξεία στεφανιαία θρόμβωση. Τα αιμοπετάλια συγκεκριμένα, φαίνεται να παίζουν διπλό ρόλο στην αθηροθρόμβωση: στη συσσώρευση και πρόδρομο ρόλο στην πήξη. Τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται μέσω ανταπόκρισης σε αγωνιστές, σχηματίζοντας ένα «χαλαρό» συσσωμάτωμα μετά την ενεργοποίηση της ιντεγκρίνης $\alpha\text{IIb}\beta_3$ η οποία επιτρέπει την αλληλεπίδραση μεταξύ των αιμοπεταλίων. Ένα υποσύνολο των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων εκθέτουν στην επιφάνειά τους φωσφατιδυλοσερίνη συγκεντρώνοντας έτσι παράγοντες της πήξης. Κάποιες από τις υπάρχουσες θεραπείες για το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου στοχεύουν ενάντια στην συσσώρευση των αιμοπεταλίων (ασπιρίνη, P2Y₁₂ ανταγωνιστές, γλυκοπρωτεΐνη, IIb/IIIa ανταγωνιστές). Εκτός του ρόλου τους στο σχηματισμό του θρόμβου, τα αιμοπετάλια αποτελούν ένα σύνδεσμο μεταξύ της φλεγμονής, της θρόμβωσης και της αθηρογένεσης. Συγκεκριμένα,

αλληλεπιδρούν με πολλούς μεσολαβητές και τελεστές της αθηροσκλήρωσης όπως το ενδοθήλιο και τα λευκοκύτταρα [7, 8].



Εικόνα 1. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στο σχηματισμό θρόμβου στο οξύ στεφανιαίο σύνδρομο [7]

Νευροεκφυλιστικές ασθένειες

Νόσος Alzheimer

Η νόσος Alzheimer χαρακτηρίζεται από απώλεια νευρώνων, εκφυλισμό των συνάψεων κ.α. με προοδευτική έκπτωση της νοητικής λειτουργίας και της μνήμης η οποία προκαλείται κατά κύριο λόγο από την εναπόθεση του β-αμυλοειδούς (δημιουργία πλακών) στην εγκεφαλο και τα μικρά αγγεία. Τα αιμοπετάλια αποτελούν μία σημαντική περιφερική πηγή APP (ενός σημαντικού περιφερικού δείκτη της ΝΑ). Από μελέτες προκύπτει μια μη-φυσιολογική έκφραση APP από τα αιμοπετάλια σε ασθενείς με ΝΑ. Ακόμα φαίνεται ότι η ετερογένεια των αιμοπεταλίων μπορεί να επηρεάσει την πρόοδο της νόσου. Στα αιμοπετάλια ασθενών με ΝΑ παρατηρούνται διαφοροποιήσεις στα επίπεδα και στη δραστηριότητα της φωσφολιπάσης-A2 και της COX-2, μείωση της πρόσληψης γλουταμινικού αλλά και μιτοχονδριακές ανωμαλίες. Επιπλέον, οι χρόνιες κακώσεις στα αγγεία του εγκεφάλου και οι πολλαπλές αιμορραγίες προκαλούν υπεραντίδραση

των αιμοπεταλίων με σκοπό την πήξη και την επιδιόρθωσή τους. Καθώς όμως οι αιμορραγίες εμφανίζονται όλο και πιο συχνά η λειτουργία των αιμοπεταλίων μειώνεται ή διαταράσσεται [9, 10].

Πολλαπλή σκλήρυνση

Η πολλαπλή σκλήρυνση είναι μία ετερογενής ασθένεια του κεντρικού νευρικού συστήματος με πολύπλοκη παθογένεια. Στη συγκεκριμένο νόσο τα ανοσοποιητικά κύτταρα του σώματος επιτίθενται στο στρώμα μυελίνης που προστατεύει τους νευρώνες στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Επιπλέον, το οξειδωτικό στρες στην πολλαπλή σκλήρυνση σχετίζεται με καταστροφή της μυελίνης και οδηγεί στην εμφάνιση κλινικών συμπτωμάτων. Γενικότερα σε ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση παρατηρούνται είτε διαταραχές στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, είτε αυξημένα επίπεδα ενεργοποίησης τους. Καθώς η πολλαπλή σκλήρυνση μεσολαβείται από τη μετανάστευση λευκοκυττάρων και μονοκυττάρων από την περιφερική κυκλοφορία στο κεντρικό νευρικό σύστημα, ένας από τους πιο σημαντικούς μηχανισμούς σχετικά με το πώς τα αιμοπετάλια ρυθμίζουν τη φλεγμονή είναι η αλληλεπίδρασή τους με τα λευκοκύτταρα και η έκκριση μεσολαβητών (κυρίως μεταλλοπρωτεϊνάσες και διάφορες χημοκίνες). Τα αιμοπετάλια μπορεί επίσης να αποτελούν μια σημαντική πηγή IL-1α, η οποία ενεργοποιεί το ενδοθήλιο του εγκεφάλου και επιτρέπει την είσοδο λευκοκυττάρων οδηγώντας σε αγγειακή-εγκεφαλική φλεγμονή. Όπως αναφέρθηκε, οι δείκτες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων σε ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση είναι σε υψηλά επίπεδα καταδεικνύοντας ότι τα αιμοπετάλια είναι χρονίως ενεργοποιημένα σε αυτούς τους ασθενείς. Συνεπώς η προσκόλληση και η συσσώρευση των αιμοπεταλίων βρίσκονται επίσης αυξημένες [3, 10].

Καρκίνος

Τα αιμοπετάλια παίζουν κεντρικό ρόλο στη φλεγμονή μέσω της αλληλεπίδρασής τους με άλλους τύπους κυττάρων, όπως τα λευκοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα αλλά μέσω της έκκρισης παραγόντων όπως λιπίδια, πρωτεΐνες και ADP. Αυτές οι δράσεις των αιμοπεταλίων πυροδοτούν αυτοκρινείς και παρακρινείς διαδικασίες ενεργοποίησης που οδηγούν στη στρατολόγηση λευκοκυττάρων σε διαφορετικούς ιστούς αλλά και σε φαινοτυπικές αλλαγές στα ιστικά κύτταρα που συμβάλλουν στην ανάπτυξη διάφορων ασθενειών όπως η αθηροσκλήρωση, η αθηροθρόμβωση, η εντερική φλεγμονή και ο καρκίνος. Τα αιμοπετάλια μπορούν να επηρεάσουν

την ανάπτυξη καρκινικών όγκων και μεταστάσεων μέσω διάφορων μηχανισμών: α) η δημιουργία συσσωμάτων αιμοπεταλίων γύρω από καρκινικά κύτταρα μπορεί να συμβάλει στην επιβίωση τους και στην προστασία τους από το ανοσοποιητικό σύστημα, β) μπορεί να ενισχύσουν την προσκόλληση των καρκινικών κυττάρων στο ενδοθήλιο, γ) η σύνθεση λιπιδίων και η απελευθέρωση πρωτεϊνών από τα α-κοκκία κατά τη διάρκεια της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων μπορεί να διευκολύνει τη διασπορά των καρκινικών κυττάρων στην κυκλοφορία του αίματος [11, 12].

Ηπατική νόσος

Τα αιμοπετάλια, όπως έχει προαναφερθεί, κατέχουν ένα ρόλο κλειδί στις διαδικασίες της θρόμβωσης και της αιμόστασης. Στην περίπτωση της ηπατικής νόσου παρατηρούνται αλλαγές στην αριθμό αλλά και στη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων με αποτέλεσμα αιμορραγικές και θρομβωτικές επιπλοκές. Εκτός της αιμοστατικής τους λειτουργίας φαίνεται ότι τα αιμοπετάλια μπορεί να εμπλέκονται με ρυθμιστικό ρόλο αλλά με μηχανισμούς που δεν είναι ακόμα ξεκάθαροι. Ένας μηχανισμός είναι η πιθανή δημιουργία μικροθρόμβων στα μικρά αγγεία του ήπατος. Ένας δεύτερος, πιθανός μηχανισμός με τον οποίο τα αιμοπετάλια θα μπορούσαν να ενισχύσουν τον τραυματισμό και την ίνωση του ήπατος είναι η επιδείνωση της τοπικής φλεγμονώδους απάντησης. Η έκκριση μεσολαβητών της φλεγμονής μπορεί να εντείνει τη φλεγμονή και κατά συνέπεια την καταστροφή του ιστού [13].

Αιμοπετάλια, Ινσουλινοαντίσταση & Σακχαρώδης Διαβήτης

Οι ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ) έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών επεισοδίων, ο οποίος εξηγείται εν μέρει από ένα σύνολο παραγόντων κινδύνου όπως η υπεργλυκαιμία, η δυσλιπιδαιμία, η νεφρική ανεπάρκεια και η υπέρταση. Συνδέεται όμως επίσης και με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, αλλαγές στην πήξη και στην ινωδόλυση αλλά και με υπερενεργοποιημένα αιμοπετάλια. Από πολλά δεδομένα ερευνών προκύπτει ότι τα αιμοπετάλια συνεισφέρουν στην έναρξη αλλά και την πρόοδο αγγειακών επιπλοκών σε διαβητικούς ασθενείς στους οποίους παρουσιάζεται υπερενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, μεγάλη επίπτωση καρδιαγγειακών επεισοδίων αλλά και χαμηλή αντιθρομβωτική δραστηριότητα της θεραπείας με ασπιρίνη [14, 15].

Ινσουλινοαντίσταση & Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων

Η ινσουλινοαντίσταση είναι σήμα κατατεθέν μεταβολικών διαταραχών όπως είναι ο ΣΔτ2 και η παχυσαρκία. Η είσοδος της γλυκόζης στα αιμοπετάλια δεν εξαρτάται από την ινσουλίνη, γι' αυτό και η συγκέντρωση της γλυκόζης εντός των αιμοπεταλίων αντανακλά τη συγκέντρωσή της στην κυκλοφορία. Παρόλα αυτά, έχει βρεθεί ότι τα ανθρώπινα αιμοπετάλια διαθέτουν υποδοχείς της ινσουλίνης οι οποίοι μάλιστα συμμετέχουν στη ρύθμιση της λειτουργίας του κυττάρου. Η ινσουλίνη φυσιολογικά εμποδίζει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, μειώνοντας την ανταπόκρισή τους σε διάφορους αγωνιστές. Συνδέεται στον υποδοχέα της, αυτοφωσφορυλιώνεται, εμποδίζει την μεταγωγή σήματος από τον P2Y₁₂ και επομένως μειώνει την ενεργοποίηση του αιμοπεταλίου. Επιπλέον, η ινσουλίνη αυξάνει την έκφραση των υποδοχέων PG₁₂ στην επιφάνεια του αιμοπεταλίου ενισχύοντας την αντιαιμοπεταλιακή της δράση. Κατά συνέπεια, σε περίπτωση προβληματικής έκκρισης ή δράσης της ινσουλίνης, τα αιμοπετάλια αποτελούν πιθανό σημείο ινσουλινοαντίστασης. [14-16].

Στα αιμοπετάλια εκφράζονται, εκτός από υποδοχείς για την ινσουλίνη, υποδοχείς για τον ινσουλινομιμητικό αυξητικό παράγοντα-1 (IGF-1) ο οποίος υπάρχει στα α-κοκκία των αιμοπεταλίων. Σε περίπτωση που η έκφραση των υποδοχέων της ινσουλίνης είναι χαμηλή, όπως μπορεί να συμβεί στην ινσουλινοαντίσταση, οι εναπομείναντες υποδοχείς ετεροδιμερίζονται με τους υποδοχείς του IGF-1 δημιουργώντας υβρίδια στα οποία μπορεί να συνδεθεί ο IGF-1 αλλά όχι η ινσουλίνη. Τα αιμοπετάλια γίνονται σημεία ινσουλινοαντίστασης, αυξάνεται η ενδοκυτταρική συγκέντρωση ασβεστίου η οποία οδηγεί σε αυξημένη απο-κοκκιοποίηση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων καθώς και σε μειωμένη ευαισθησία στο NO και στους PG₁₂ ενισχύοντας επιπλέον την ενεργοποίησή τους. Μάλιστα είναι αξιοσημείωτο πως εάν βελτιωθεί η ινσουλινοευαισθησία, αποκαθίσταται και η ευαισθησία των αιμοπεταλίων στο NO και στους PG₁₂, ενώ μειώνεται η αποβολή μέσω των ούρων μεταβολιτών της θρομβοξάνης [16].

Υπεργλυκαιμία & Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων

Τα αιμοπετάλια των ασθενών με ΣΔ χαρακτηρίζονται από δυσλειτουργία σε διάφορα μονοπάτια μεταγωγής σήματος, οδηγώντας σε υπερενεργοποίηση με ενισχυμένη την

προσκόλληση, τη συσσώρευση και την ενεργότητα των κυττάρων. Τα αιμοπετάλια φαίνεται ότι ανταποκρίνονται πιο συχνά σε ερεθίσματα χαμηλότερα από το κατώφλι ενεργοποίησης με αποτέλεσμα να «καταναλώνονται» γρηγορότερα και να επιταχύνεται η θρομβοποίηση προς αντικατάστασή τους. Η παρουσία υπεργλυκαιμίας παίζει σημαντικό ρόλο στην υπερενεργοποίηση των αιμοπεταλίων καθώς είναι υπεύθυνη για τη βλάβη στην ομοιόσταση του ασβεστίου στα αιμοπετάλια. Συγκεκριμένα, αυξάνει την κινητοποίηση του ασβεστίου από τις ενδοκυτταρικές αποθήκες, αυξάνει τη συγκέντρωση του ασβεστίου ενδοκυτταρικά και κατά συνέπεια αυξάνει την ευαισθησία στους παράγοντες που ενισχύουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Επιπλέον, η υπεργλυκαιμία έχει συνδεθεί από μελέτες με την αυξημένη παραγωγή θρομβοξάνης από τα αιμοπετάλια και φαίνεται ότι αυτή η μεταβολική διαταραχή, και όχι τόσο η υποκείμενη αγγειακή νόσος που υπάρχει σε ασθενείς με ΣΔ, ευθύνεται γι'αυτή την ενεργοποίηση.

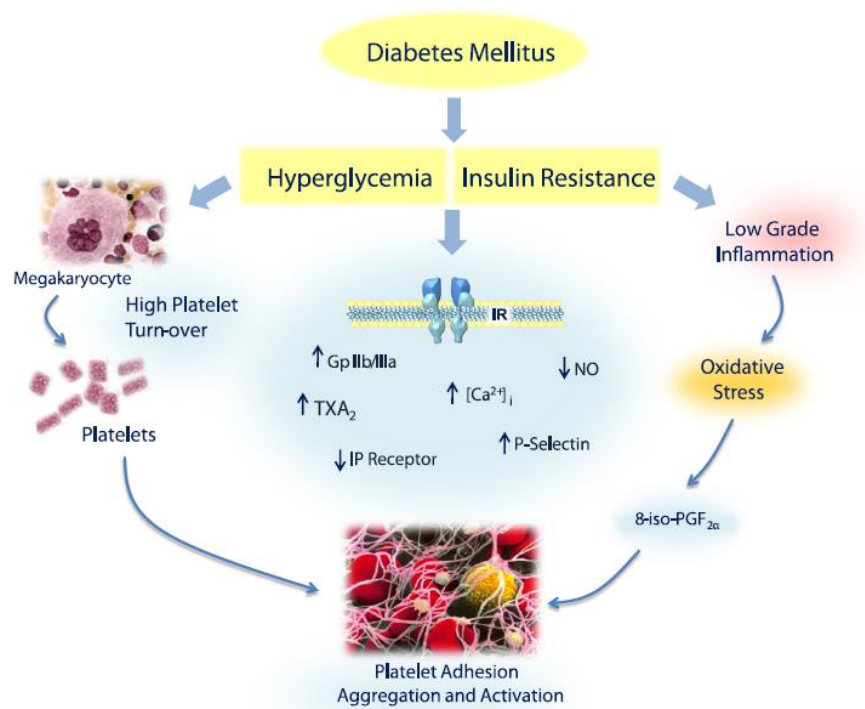
Η οξεία υπεργλυκαιμία μπορεί να συμβάλει στην επιταχυνόμενη αρτηριακή θρόμβωση ενισχύοντας την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, όπως φαίνεται από την αύξηση μορίων που σχετίζονται με την προσκόλληση των αιμοπεταλίων (π.χ. P-σελεκτίνη). Η υπεργλυκαιμία επίσης ενισχύει τη μη ενζυματική γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων, αλλάζοντας έτσι τη δομή αλλά το δυναμικό των λιπιδίων. Αυτή η διαδικασία έχει ως πιθανή συνέπεια την αύξηση της έκφρασης υποδοχέων όπως η P-σελεκτίνη και GpIIb/IIIa.

Στα αιμοπετάλια διαβητικών ασθενών παρατηρείται επίσης και μια αλλαγή στο σχήμα, το οποίο γίνεται δικτυοειδές, και τα κύτταρα είναι μεγαλύτερα. Το αυξημένο μέγεθος σχετίζεται με αυξημένη ενεργότητα των αιμοπεταλίων και συγκεκριμένα μεγαλύτερα ικανότητα συσσώρευσης και αυξημένο περιεχόμενο που απελευθερώνεται από τα κοκκία. Τα κοκκία είναι πιο πυκνά, εκκρίνουν περισσότερη σεροτονίνη και β-θρομβογλοβουλίνη ενώ παράγουν περισσότερη θρομβοξάνη A₂. Κατά συνέπεια αυξάνεται και ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων (MPV), κάτι που παρατηρείται ήδη από την αρχή της νόσου και παραμένει καθ' όλη τη διάρκεια. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ο MPV είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης αγγειακού επεισοδίου [16].

Ένας ακόμη τρόπος μέσω του οποίου ο ΣΔ σχετίζεται με την αυξημένη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων είναι η συστηματική φλεγμονή. Τα φλεγμονώδη μόρια που ανιχνεύονται στην κυκλοφορία των ασθενών με ΣΔ, όπως οι πρωτεΐνες οξείας φάσης, οι κυτοκίνες και οι χημοκίνες, ενισχύουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και την αλληλεπίδραση μεταξύ τους.

Τέλος, ο ΣΔ σχετίζεται με αυξημένο οξειδωτικό στρες λόγω της υπερπαραγωγής ελεύθερων ριζών οξυγόνου και της μειωμένης αντιοξειδωτικής ικανότητας των αιμοπεταλίων. Η αυξημένη

παραγωγή οξειδωτικών μορίων όπως τα ανιόντα υπεροξειδίου, συνεπάγεται και αυξημένη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Η υπεργλυκαιμία ευθύνεται για την ενισχυμένη παραγωγή ROS μέσω αυτό-οξείδωσης ή μέσω σχηματισμού τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs) [14, 16].



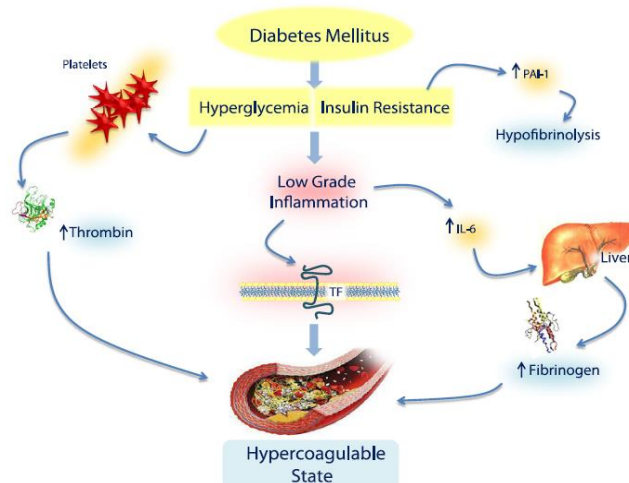
Εικόνα 2. Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων λόγω υπεργλυκαιμίας & ινσουλινοαντίστασης στον ΣΔ [16].

Ενεργοποίηση πήξης στον Σακχαρώδη Διαβήτη

Ο ΣΔτ2 σχετίζεται με μία προθρομβωτική κατάσταση η οποία χαρακτηρίζεται από ένα σύνολο αλλαγών στο επίπεδο και τη δραστικότητα παραγόντων που έχουν να κάνουν με τη θρόμβωση και την ινωδόλυση, το οποίο οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο σχηματισμού θρόμβου. Η γλυκόζη αλλά και η ινσουλίνη φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση αυτής της προθρομβωτικής κατάστασης. Σε *in vitro* μελέτες παρατηρείται αυξημένη παραγωγή θρομβίνης στο πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια διαβητικών ασθενών σε σύγκριση με αυτό των υγιών. Αυτή η διαφοροποίηση παρατηρείται επίσης και σε ασθενείς που δεν έχουν επιτύχει καλή γλυκαιμική ρύθμιση σε σύγκριση με τους καλά ρυθμισμένους ασθενείς. Ο καλός γλυκαιμικός έλεγχος αποτελεί μάλιστα το μοναδικό σημαντικό προγνωστικό δείκτη μειωμένης θρομβογένεσης στην κυκλοφορία, ανεξάρτητα από το στόχο της φαρμακευτικής αγωγής [16].

Ο παράγοντας ιστού, (Tissue Factor, TF) είναι μια προθρομβωτική, διαμεμβρανική πρωτεΐνη, η οποία εκφράζεται σε αγγειακά και μη αγγειακά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των μονοκυττάρων και των αιμοπεταλίων. Η έκφραση του στα ενδοθηλιακά κύτταρα αυξάνεται υπό την παρουσία χαμηλόβαθμης φλεγμονής, η οποία ανιχνεύεται συχνά στο ΣΔτ2. Σε ασθενείς με ΣΔτ2 έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα TF στην κυκλοφορία του αίματος, καθώς επίσης και αυξημένο mRNA του TF στα μονοκύτταρα, τα οποία ρυθμίζονται άμεσα από τα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης. Τα επίπεδά του μπορεί επίσης να επηρεαστούν μέσω του σχηματισμού των AGEs, τα οποία ενεργοποιούν το μεταγραφικό παράγοντα NF-κΒ οδηγώντας στην αύξηση της παραγωγής του. Η βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου μέσω της χρήσης φαρμακευτικής αγωγής μπορεί να μειώσει τα επίπεδα του TF, ενώ η επαγωγή υπεργλυκαιμίας ακόμα και σε υγιείς εθελοντές έχει φανεί ότι μπορεί να αυξήσει την προθρομβωτική δραστηριότητα του TF [16].

Στον ΣΔτ2 παρατηρείται επίσης μειωμένη ινωδόλυση, η οποία χαρακτηρίζεται από αυξημένα επίπεδα του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου -1 (PAI-1) αλλά αυξημένο χρόνο λύσης του θρόμβου. Τα αυξημένα επίπεδα του PAI-1 παρατηρούνται στους ασθενείς με ΣΔτ2 με χειρότερη γλυκαιμική ρύθμιση, ενώ η θεραπεία με φαρμακευτική αγωγή μπορεί να τα μειώσει. Εκτός από τη γλυκόζη, η ινσουλίνη μπορεί επίσης να αυξήσει τα επίπεδα του PAI-1, κάτι που αφορά τους ασθενείς με ινσουλινοαντίσταση. Από μελέτες ασθενών με ΣΔ προκύπτουν επίσης αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου, τα οποία πιθανότατα σχετίζονται με τη χαμηλόβαθμη φλεγμονή αλλά και την ινσουλινοαντίσταση η οποία προκαλεί αύξηση της παραγωγής του από το ήπαρ [16].



Εικόνα 3. Προθρομβωτικός μηχανισμός στον ΣΔ [16].

Μικροσωματίδια: Ένας πιθανός σύνδεσμος μεταξύ της ενεργοποίησης του ενδοθηλίου, της πήξης & των αιμοπεταλίων στο Σακχαρώδη Διαβήτη

Τα μικροσωματίδια (MPs) είναι κυστίδια που απελευθερώνονται στην κυκλοφορία από διάφορους τύπους κυττάρων μετά από ενεργοποίηση ή απόπτωση. Στον ΣΔτ2 έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα των MPs στην κυκλοφορία και με μεγαλύτερο μέγεθος σε σχέση με τους υγιείς εθελοντές, το οποίο σχετίζεται με αυξημένο αριθμό MPs προερχόμενα από αιμοπετάλια. Σε ασθενείς με σοβαρά έλκη ποδιών εντοπίζονται περισσότερα MPs που προέρχονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα αιμοπετάλια, ενώ είναι και αυτά με τη μεγαλύτερη προθρομβωτική ικανότητα. Στην κυκλοφορία υπάρχουν MPs μιμούμενα τη δράση του TF (TFMPs) τα οποία προωθούν το σχηματισμό θρόμβου σε σημεία που υπάρχει τραυματισμός. Η έκθεση των ενδοθηλιακών κυττάρων στα TFMPs αυξάνει την ενεργότητα του TF ενδοκυτταρικά, τα επίπεδα αντιγόνων του TF και την έκφραση TFmRNA λόγω της προσκόλλησής τους στη μεμβράνη των κυττάρων. Στους ασθενείς με ΣΔτ2 παρατηρείται αυξημένη παραγωγή TF από τα αιμοπετάλια σε σχέση με τους υγιείς. Ο TF φαίνεται να εμπλέκεται στη συνέχεια στη δημιουργία πιο σταθερού θρόμβου σε περίπτωση διάρρηξης μια αθηρωματικής πλάκας, με αποτέλεσμα της απόφραξη της αρτηρίας [16].

Αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία στο Σακχαρώδη Διαβήτη

Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω είναι ξεκάθαρο ότι τα αιμοπετάλια κατέχουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της αθηρογένεσης και των θρομβωτικών επιπλοκών γι' αυτό και ο αποκλεισμός ενός ή πολλών μονοπατιών ενεργοποίησής τους είναι καθοριστικός για τη μείωση του κινδύνου ισχαιμικού επεισοδίου σε διαβητικούς ασθενείς. Υπάρχουν τρεις κατηγορίες αντιαιμοπεταλιακής θεραπείας: 1) οι αναστολείς της κυκλοξυγενάσης -1 (COX-1) [ASA], 2) οι ADP ανταγωνιστές του υποδοχέα P2Y₁₂ [Θειενοπυριδίνες] και 3) οι αναστολείς της γλυκοπρωτεΐνης GPIIb/IIIa. Η τελευταία κατηγορία φαρμάκων χορηγείται ενδοφλέβια, ενώ οι δύο πρώτες από του στόματος [14].

Ασπιρίνη

Στην πρώτη κατηγορία αντιαιμοπεταλιακής θεραπείας ανήκει το ακετυλοσαλικυλικό οξύ, ή αλλιώς ασπιρίνη. Η ασπιρίνη ακετυλιώνει και αναστέλλει μη αντιστρεπτά το ένζυμο COX-1 και κατά συνέπεια τη μετατροπή του αραχιδονικού οξέος σε θρομβοξάνη A₂, η οποία ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια. Συνστήνεται η πρόσληψη χαμηλής δόσης ασπιρίνης (75-162 mg) σε διαβητικούς

ασθενείς με ιστορικό καρδιαγγειακού επεισοδίου για δευτερογενή πρόληψη αλλά και σε διαβητικούς ασθενείς χωρίς ιστορικό αλλά με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο (όπως άντρες άνω των 50 ετών ή γυναίκες άνω των 60 ετών με τουλάχιστον ένα παράγοντα κινδύνου) για πρωτογενή πρόληψη [15].

Ωστόσο η ασπιρίνη δεν είναι πάντα αποτελεσματική και, όπως προκύπτει από αποτελέσματα μεταanalύσεων τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών, συχνά εμφανίζεται το φαινόμενο της «αντίστασης στην ασπιρίνη». Το φαινόμενο αυτό περιγράφεται ως η αδυναμία της ασπιρίνης να προστατέψει κάποιους ασθενείς από την εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων (κλινική αντίσταση) και την αποτυχία της να αναστείλει σε ικανοποιητικό βαθμό την ανταπόκριση των αιμοπεταλίων στην σύνθεση της θρομβοξάνης A₂ (εργαστηριακή αντίσταση). Αυτό ίσως εξηγείται από το γεγονός ότι η ασπιρίνη έχει σχετικά μικρό χρόνο ημίσειας ζωής στο πλάσμα (περίπου 20 λεπτά) και έτσι μια ημερήσια, χαμηλόβαθμη δόση δεν αρκεί για να αναστείλει τη δράση της COX-1 στα αιμοπετάλια που απελευθερώθηκαν πιο πρόσφατα στην κυκλοφορία. Επιπλέον, η διάρκεια της δράσης της ασπιρίνης μπορεί να μειωθεί περαιτέρω εξαιτίας της ενισχυμένης ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων ιδιαίτερα σε διαβητικούς ασθενείς. Κατά συνέπεια θα πρέπει να ερευνηθεί μελλοντικά το ιδανικό σχήμα και δοσολογία χορήγησης της ασπιρίνης ώστε να επιτευχθεί το μέγιστο όφελος στην προστασία από καρδιαγγειακά επεισόδια. Μία δεύτερη αιτία για τη μειωμένη ανταπόκριση των αιμοπεταλίων στην ασπιρίνη είναι το γεγονός ότι τα νεοσχηματισμένα αιμοπετάλια εκφράζουν την COX-1 αλλά και την COX-2. Η δεύτερη απαιτεί μεγαλύτερες δόσεις αναλγητικών και αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, με αποτέλεσμα περισσότερα αιμοπετάλια να έχουν τη δυνατότητα σύνθεσης της θρομβοξάνης A₂ και τελικά να ενεργοποιούνται [8, 15, 16].

Αναστολείς των υποδοχέων P2Y₁₂

Οι αναστολείς των υποδοχέων P2Y₁₂ αποτελούν τη θεραπεία δεύτερης γραμμής για την προφύλαξη των ασθενών από την εμφάνιση καρδιαγγειακού επεισοδίου. Δεν υπάρχουν διαθέσιμα ξεκάθαρα δεδομένα σχετικά με τη δράση της συγκεκριμένης κατηγορίας φαρμάκων σε διαβητικούς ασθενείς καθώς έχουν σχεδιαστεί ελάχιστες κλινικές μελέτες στοχευμένες σε αυτή την ομάδα ασθενών. Γενικότερα, από αποτελέσματα διάφορων μελετών, προκύπτει μια εξατομικευμένη ανταπόκριση στη θεραπεία με τους αναστολείς των υποδοχέων P2Y₁₂, ενώ για την κλοπιδογρέλη η οποία ανήκει στη συγκεκριμένη κατηγορία φαρμάκων παρατηρείται διαφοροποίηση στη φαρμακοκινητική της από ασθενή σε ασθενή. Παρόλα αυτά ο συνδυασμός

της ασπιρίνης με κάποιον από τους αναστολείς των υποδοχέων P2Y₁₂ συστήνεται σε πολλές περιπτώσεις για την πρόληψη εμφάνισης καρδιαγγειακού επεισοδίου [8, 14, 15].

Διατροφή & Αιμοπετάλια

Μακρο- και μικροθρεπτικά συστατικά των τροφίμων & Αιμοπετάλια

Διαιτητικό λίπος

Οι έρευνες σχετικά με την επίδραση του διαιτητικού λίπους στη συμπεριφορά των αιμοπεταλίων δεν μπορούν να εξάγουν απόλυτα αξιόπιστα και συνεπή συμπεράσματα λόγω της ευαισθησίας στο χειρισμό των αιμοπεταλίων αλλά και των πολυάριθμων τεχνικών που υπάρχουν για την αξιολόγηση της λειτουργίας των αιμοπεταλίων *ex vivo*. Γενικότερα θεωρείται ότι ο τρόπος με τον οποίο επιδρά το λίπος σχετίζεται με το μήκος της αλυσίδας και τον κορεσμό των λιπαρών οξέων. Για παράδειγμα τα κορεσμένα λιπαρά οξέα μακράς αλυσού φαίνεται να ευνοούν τη δημιουργία συσσωματωμάτων αιμοπεταλίων, αλλά αυτό προκύπτει κυρίως από επιδημιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν *ex vivo*. Σε κλινικές δοκιμές σε ζώα και ανθρώπους τα αποτελέσματα δεν ήταν σταθερά. Επίσης για τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα δεν υπάρχουν σαφή συμπεράσματα. Πιθανά λόγω της διαφοροποίησης ανάμεσα στις διάφορες μελέτες σχετικά με τις αναλογίες των λιπαρών οξέων, τη δόση, τη διάρκεια της παρέμβασης, τα κριτήρια εισαγωγής των εθελοντών, της μεθοδολογίας κλπ., υπάρχει μεγάλη διακύμανση και στην επίδραση των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων στα αιμοπετάλια. Σε κάποιες φαίνεται θετική επίδραση, σε κάποιες καμία, ενώ σε μερικές ακόμα και αρνητική επίδραση. Ο τρόπος που επιδρούν τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα στη λειτουργία των αιμοπεταλίων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το αν είναι ω-3 ή ω-6. Τα μακράς αλυσού ω-3 και ω-6 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα ανταγωνίζονται για τα ένζυμα κυκλοοξυγενάση και λιποξυγενάση για την παραγωγή διαφορετικών εικοσανοειδών. Από το αραχιδονικό οξύ (ω-6 μακράς αλυσού πολυακόρεστο λιπαρό οξύ) για παράδειγμα παράγεται προσταγλανδίνη-2 (PGI₂) και θρομβοξάνη-A₂ (TXA₂). Η PGI₂ αναστέλλει τη συσσωρευση των αιμοπεταλίων ενώ η TXA₂ είναι παράγοντας που την ευνοεί ισχυρά. Η αναλογία τους μπορεί να τροποποιήσει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Από την άλλη από το εικοσαπεντανοϊκό οξύ (ω-3 μακρά αλυσού πολυακόρεστο λιπαρό οξύ) παράγεται η

λιγότερο ισχυρή TXA3, η οποία σε περίπτωση αυξημένης πρόσληψης ω-3 λ.ο. αντικαθιστά τη TXA2 [6, 17].

Σε επίπεδο μεμονωμένων λιπαρών οξέων, φαίνεται ότι δίαιτες πλούσιες σε στεαρικό οξύ δεν αυξάνουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, μέτρια επίδραση έχουν το ελαϊκό και το λαουρικό οξύ και καμία επίδραση το μυριστικό και το παλμιτικό οξύ. Παρομοίως, τα trans ισομερή των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων δεν επιδρούν στο σχηματισμό της θρομβοξάνης και στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων [6, 17].

Ιχθυέλαια/Συμπληρωμάτα

Τα οφέλη των ιχθυελαίων στην υγεία και ειδικότερα στην καρδιαγγειακή υγεία έχουν μελετηθεί ευρέως και η θετική τους επίδραση έχει φανεί σε πολλές και μεγάλες μελέτες. Παρόλο που η καταστολή της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων έχει θεωρηθεί ένας πιθανός μηχανισμός της δράσης τους, άλλα οφέλη τους όπως η μείωση των τριγλυκεριδίων ή η ρύθμιση της ενδοθηλιακής σύνθεσης μονοξειδίου του αζώτου έχουν εδραιωθεί πιο ισχυρά. Ενώ η ικανότητα των ιχθυελαίων να τροποποιούν την αιμοπεταλιακή λειτουργία μέσω της μείωσης της παραγωγής θρομβοξάνης-2 είναι αποδεδειγμένη, σε κάποιες κλινικές δοκιμές που χορηγήθηκαν συμπληρώματα ιχθυελαίων δεν φάνηκε να έχουν σταθερά ευεργετικά αποτελέσματα στην συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Επίσης, σε μια μετανάλυση τυχαιοποιημένων ελεγχόμενων κλινικών δοκιμών οι ερευνητές συμπέραναν ότι η συμπληρωματική χορήγηση ω-3 λιπαρών οξέων σχετιζόταν με θετική επίδραση στην αιμοπεταλιακή λειτουργία για τους εθελοντές με κακή υγεία αλλά όχι στους υγιείς. [6, 17]. Ωστόσο, σε μια πρόσφατη ανασκόπηση του 2018 οι ερευνήτριες καταλήγουν στο συμπέρασμα η κατανάλωση 0,03-5 g ιχθυελαίων ημερησίως μπορεί να οδηγήσει στη βελτίωση διάφορων βιοχημικών δεικτών αλλά και στην αναστολή της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων από κολλαγόνο, ADP, PAF αλλά και αραχιδονικό οξύ [18].

Από την πρόσφατη βιβλιογραφία αναδεικνύεται ένα ακόμα λιπαρό οξύ με καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες, το οποίο επιδρά και στα αιμοπετάλια. Το συζευγμένο λινολεϊκό οξύ (CLA), το οποίο προέρχεται από τα μηρυκαστικά ζώα, φαίνεται να επιδρά στο μεταβολισμό των εικοσανοειδών στα αιμοπετάλια. Συγκεκριμένα το ισομερές 9cis,11trans CLA φαίνεται να προλαμβάνει την ενεργοποίηση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων ex vivo και έχει πιθανά αντιπηκτικές ιδιότητες [17].

Αλκοόλ

Η επίδραση του αλκοόλ στη λειτουργία των αιμοπεταλίων είναι αρκετά πολύπλοκη και δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως. Το αλκοόλ θεωρείται ισχυρός αναστολέας της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, με παροδική όμως δράση. Η οξεία στέρηση του αλκοόλ φαίνεται να επαναφέρει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, αν και δεν ισχύει το ίδιο για το κόκκινο κρασί πιθανά λόγω των πολυφαινολών που περιέχει. Στην Caerphilly Heart Study η κατανάλωση αλκοόλ σχετίστηκε με αυξημένη ευαισθησία των αιμοπεταλίων στη θρομβίνη προς δημιουργία συσσωματωμάτων αλλά μειωμένη ανταπόκριση στο ADP και το κολλαγόνο. Υπάρχουν επίσης δεδομένα από τα οποία προκύπτει ότι το αλκοόλ ενισχύει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Οι ερευνητές υποθέτουν ότι μπορεί αρχικά (στα πρώτα λεπτά) το αλκοόλ να προκαλεί μερική ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και αποκοκκιοποίηση, με αποτέλεσμα να μην είναι πλήρως ικανά να συμμετέχουν στη δημιουργία θρόμβου στη συνέχεια [6].

Ινχוסτοιχεία

Τα μόνο στοιχεία από την βιβλιογραφία αφορούν το σελήνιο καθώς φαίνεται ότι η ανεπάρκεια σε αυτό το μικροθρεπτικό συστατικό οδηγεί σε αυξημένη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Η συμπληρωματική χορήγηση σεληνίου έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της θρομβοξάνης-2 και κατά συνέπεια μείωση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων [6].

Βιταμίνες

Από το σύνολο των βιταμινών επίδραση στα αιμοπετάλια φαίνεται να έχει η βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη), η οποία μειώνει την προσκόλληση και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Επίσης, η βιταμίνη C προτείνεται ως πιθανά ευεργετική μέσω έμμεσης σχέσης με τα αιμοπετάλια καθώς στην περίπτωση των καπνιστών υπάρχει άμεση ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μετά το κάπνισμα και ταυτόχρονα μείωση του ασκορβικού οξέος. Παρόλα αυτά, τα στοιχεία είναι ανίσχυρα για να στηρίξουν την συμπληρωματική χορήγηση αυτών και γενικότερα των βιταμινών για την τροποποίηση της λειτουργίας των αιμοπεταλίων [6, 19].

Πολυφαινόλες

Οι πολυφαινόλες αποτελούν δευτερογενείς φυτικούς μεταβολίτες, προστατεύουν τα φυτά από τα φυτοφάγα ζώα λόγω της πικρής τους γεύσης, έχουν έντονα χρώματα για να προσελκύουν έντομα για τη διαδικασία της επικονίασης, ενώ δρουν επίσης σαν αντιμικροβιακές ουσίες για την προστασία των φυτών από βακτήρια και μύκητες. Στο παρελθόν έχουν προκύψει δεδομένα πως η κατανάλωση πολυφαινολών, όπως τα φλαβονοειδή που περιέχονται στο κακάο, μπορεί να μειώσει

τον καρδιαγγειακό κίνδυνο πιθανά εν μέρει και μέσω τροποποίησης της αιμοπεταλιακής λειτουργίας. Τα ευεργετικά αποτελέσματα στη λειτουργία των ανθρώπινων αιμοπεταλίων έχουν παρατηρηθεί *in vitro* και *ex vivo* μετά την κατανάλωση τροφίμων και ποτών πλούσιων σε πολυφαινόλες. Στην προσπάθεια να προσδιοριστεί ο μηχανισμός με τον οποίο επιδρούν έχει φανεί ότι η δομή της ουσίας μπορεί να επηρεάσει τη δραστηριότητά της με τις φλαβονόλες, τις φλαβόνες και τις ισοφλαβόνες να είναι οι περισσότερο ενεργές στην επίδραση της αιμοπεταλιακής λειτουργίας. Αυτό το συμπέρασμα δεν επιβεβαιώθηκε όμως από μελέτες παρέμβασης σε ανθρώπους. Ωστόσο, όπως και σε άλλες περιπτώσεις, οι μελέτες παρέμβασης σε ανθρώπους είναι λίγες σε αριθμό και διαφέρουν σε διάφορα μεθοδολογικά σημεία, με αποτέλεσμα να μην είναι εύκολο να προκύψει ένα αξιόπιστο συμπέρασμα από την ανασκόπησή τους. Σε γενικές γραμμές, η δράση τους φαίνεται να οξεία λόγω του πολύ γρήγορου μεταβολισμού τους. Καθώς πολύ λίγες μελέτες έλαβαν υπόψη όλα τα στάδια του μεταβολισμού και απορρόφησης των πολυφαινολών ώστε να μελετήσουν τα συστατικά εκείνα που έρχονται στην πραγματικότητα σε επαφή με τα αιμοπετάλια στην κυκλοφορία του αίματος, ο μηχανισμός με τον οποίο δρουν δεν είναι ξεκάθαρος [17, 19, 20]. Όσο αφορά συγκεκριμένα τα φλαβονοειδή, για τα οποία υπάρχουν περισσότερα και πιο σταθερά δεδομένα, έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί σχετικά με τη δράση τους στα αιμοπετάλια. Οι βασικές υποθέσεις είναι η αναστολή του μονοπατιού του αραχιδονικού οξέος, η καταστολή της αύξησης του ασβεστίου ενδοκυτταρικά, ο αποκλεισμός της αποκοκκιοποίησης και της έκκρισης μεσολαβητών από τα κοκκία των αιμοπεταλίων και η αναστολή του σχηματισμού της θρομβοξάνης. Ωστόσο και στην περίπτωση των φλαβονοειδών πιο ειδικά, απαιτούνται περισσότερες, καλά σχεδιασμένες παρεμβάσεις σε ανθρώπους ώστε να εδραιωθούν αυτά τα συμπεράσματα και να γίνουν μέρος της στρατηγικής πρόληψης καρδιαγγειακών επεισοδίων [21].

Τρόφιμα & Αιμοπετάλια

Μούρα

Τα τελευταία χρόνια αρκετές πειραματικές μελέτες έχουν εστιάσει στις ευεργετικές επιδράσεις των μούρων για την προφύλαξη αλλά και τη θεραπεία διάφορων ασθενειών, ανάμεσά τους και των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Ένας τρόπος με τον οποίο μπορεί η κατανάλωση μούρων να επηρεάσει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο είναι και η επίδρασή τους στη λειτουργία των

αιμοπεταλίων. Η δράση τους όμως εξαρτάται από τον τύπο του μούρου, τη σύστασή του και τη συγκέντρωσή του σε φαινολικά συστατικά. Τα κύρια φαινολικά συστατικά τους που φαίνεται να έχουν αντιαιμοπεταλιακή δράση είναι οι ανθοκυανιδίνες, τα φαινολικά οξέα, οι φλαβονόλες και οι προκυανιδίνες. Ωστόσο απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να προσδιοριστεί ο μηχανισμός με τον οποίο τα μούρα μέσω των φαινολικών συστατικών τους επιδρούν στα αιμοπετάλια όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Οι αλλαγές στα επίπεδα ελευθέρων ριζών, στη δραστικότητα σηματοδοτικών ενζύμων και γενικά στα μονοπάτια μεταγωγής σήματος είναι μερικές υποθέσεις σχετικά με το μηχανισμό δράσης τους [22, 23].

Κακάο και σοκολάτα

Ένα ακόμη τρόφιμο που έχει μελετηθεί αρκετά σχετικά με την αντιαιμοπεταλιακή του δράση λόγω των φλαβονολών που περιέχει είναι το κακάο. Τα αποτελέσματα από τις μελέτες παρέμβασης που έχουν πραγματοποιηθεί είναι ενθαρρυντικά, καθώς η κατανάλωσή του φαίνεται να μειώνει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μετά από διέγερση με διάφορους ενεργοποιητές όπως η επινεφρίνη και το ADP. Η δράση του έχει συγκριθεί και με αυτή της ασπιρίνης, όπου φάνηκε να έχουν παρόμοιο εύρος επίδρασης στη λειτουργία των αιμοπεταλίων ενώ η συνδυαστική χορήγηση είχε αθροιστικό αποτέλεσμα. Βέβαια και σ' αυτή την περίπτωση οι μελέτες παρέμβασης είχαν διαφορετική μεθοδολογία (δόση, διάρκεια παρέμβασης κ.α.), όμως η bolus χορήγηση κακάο φαίνεται να επιδρά ανασταλτικά στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων σε ασθενείς αλλά και σε υγιείς εθελοντές [23, 24].

Καφές, Καφεΐνη και Ενεργειακά ποτά

Η επίδραση του καφέ στον καρδιαγγειακό κίνδυνο έχει αποδειχθεί από επιδημιολογικές μελέτες ότι χαρακτηρίζεται από μία σχέση τύπου U. Η μέτρια κατανάλωση καφέ είναι και η περισσότερο ωφέλιμη. Η επίδρασή του όμως πιο συγκεκριμένα, όσο αφορά την λειτουργία των αιμοπεταλίων δεν είναι ακόμα ξεκάθαρη. Σε μία διασταυρούμενη κλινική δοκιμή στην οποία συμμετείχαν 10 υγιείς εθελοντές η κατανάλωση καφέ φαίνεται να ανέστειλε την συσσώρευση των αιμοπεταλίων μετά από διέγερση με κολλαγόνο και αραχιδονικό οξύ. Δεν φάνηκε όμως το ίδιο μετά από διέγερση των αιμοπεταλίων με ADP. Στην περίπτωση των εθελοντών που κατανάλωσαν κάψουλα καφεΐνης ως control δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη συμπεριφορά των αιμοπεταλίων με κανέναν από τους τρεις διαφορετικούς αγωνιστές. Πιθανά λοιπόν η ευεργετική δράση του καφέ να οφείλεται στα φαινολικά συστατικά που περιέχει [23].

Σκόρδο

Τα συμπεράσματα από το σύνολο των μελετών σχετικά με την αναστολή της αιμοπεταλιακής λειτουργίας από το σκόρδο δεν είναι ξεκάθαρα. Κάποιες *in vitro* μελέτες έχουν θετικά αποτελέσματα και δείχνουν σημαντική μείωση στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων ενώ κάποιες μελέτες δεν δείχνουν καμία επίδραση, ιδιαίτερα σε δόσεις ίσες με τη συνήθη πρόσληψη από τη διαίτα. Για το λόγο αυτό απαιτείται περαιτέρω έρευνα [23].

Τζίντζερ

Το τζίντζερ έχει μελετηθεί και για την πιθανή δράση του στη λειτουργία των αιμοπεταλίων. Ωστόσο, μέχρι στιγμής, δεν φαίνεται να έχει κάποια επίδραση στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων [23].

Κρεμμύδι

Το κρεμμύδι περιέχει επίσης μια δραστική ουσία που ανήκει στην κατηγορία των φλαβονοειδών, την κερκετίνη. Γι' αυτό το λόγο έχει μελετηθεί σχετικά με τη δράση του στα αιμοπετάλια. Στα αποτελέσματα των μελετών αυτών εμφανίζεται αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων μετά από ενεργοποίηση με διάφορους αγωνιστές, η δράση του όμως δεν είναι προς το παρόν καλά εδραιωμένη [23].

Κρασί

Γενικότερα στη βιβλιογραφία το κρασί θεωρείται ότι έχει βραχυχρόνια αλλά και μακροχρόνια ανασταλτική δράση στα ανθρώπινα αιμοπετάλια. Αυτή η δράση μάλιστα παραμένει και στις περιπτώσεις που οι εθελοντές κατανάλωσαν κρασί χωρίς αλκοόλ. Φαίνεται λοιπόν ότι το κρασί δρα ανεξάρτητα από το περιεχόμενό του σε αλκοόλ στην αναστολή της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων πιθανά λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς του σε πολυφαινόλες [19, 23].

Κουρκουμάς

Το ενεργό συστατικό που περιέχεται στον κουρκουμά, η κουρκουμίνη, εμφανίζει ένα μεγάλο εύρος ευεργετικών δράσεων όπως αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Τα δεδομένα σχετικά με την επίδρασή της στη λειτουργία των αιμοπεταλίων είναι περιορισμένα. Παρόλα αυτά, σε *in vitro* μελέτες έχει φανεί ανασταλτική δράση στην ενεργοποίηση των

αιμοπεταλίων προκαλούμενη από το ADP, την επινεφρίνη, το αραχιδονικό οξύ, το κολλαγόνο και τον PAF. Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω έρευνα με ανθρώπινες μελέτες παρέμβασης [23].

Φρούτα

Το πιο συχνά μελετημένο φρούτο, και αυτό με τα καλύτερα αποτελέσματα όσο αφορά τη δράση του στα αιμοπετάλια, είναι το σταφύλι. Φαίνεται ότι μειώνει το οξυγόνο εντός των αιμοπεταλίων, μειώνει την προσκόλλησή τους στο κολλαγόνο και στο ινωδογόνο αλλά και τη συσσωμάτωσή τους. Επιπλέον φαίνεται ότι ο χυμός από μωβ και όχι κόκκινο σταφύλι είναι πιο αποτελεσματικός στην αναστολή των αιμοπεταλίων. Άλλα φρούτα που φαίνεται να έχουν ανασταλτική δράση στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων είναι το ρόδι, και συγκεκριμένα ο χυμός του, καθώς και το εκχύλισμα από σπόρο σταφυλιού. Ωστόσο, τα φρούτα περιέχουν διάφορα είδη πολυφαινολών με τα οποία συμβαίνει το εξής παράδοξο. Ενώ ένα είδος πολυφαινολών απομονωμένο μπορεί να έχει καλά αποτελέσματα σχετικά με τη δράση του στα αιμοπετάλια, όταν μελετάται ένα φρούτο που το περιέχει σε μεγάλη συγκέντρωση η δράση του δεν είναι σημαντική. Το αντίστροφο μπορεί να συμβαίνει με ένα είδος πολυφαινολών που απομονωμένο δεν έχει καμία δράση στα αιμοπετάλια. Φαίνεται ότι τα φαινολικά συστατικά δρουν πιο αποτελεσματικά συνεργιστικά, γι' αυτό και φρούτα που περιέχουν μεγαλύτερη ποικιλία πολυφαινολών είναι τελικά πιο αποτελεσματικά στην αναστολή των αιμοπεταλίων [25, 26].

Ντομάτα

Μελέτες in vitro αναδεικνύουν το ρόλο της ντομάτας στην αναστολή της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων από διάφορους αγωνιστές. Σημαντική μείωση στη συσώρευση των αιμοπεταλίων μετά την κατανάλωση εκχυλίσματος ντομάτας παρατηρήθηκε σε υγιείς αλλά και σε διαβητικούς εθελοντές σε σχέση με το placebo [23].

Βασισμένοι στα ενθαρρυντικά δεδομένα της βιβλιογραφίας ο O'Kennedy και η ομάδα του δημιούργησαν ένα συμπλήρωμα διατροφής το οποίο έχει ως βάση ένα υδατοδιαλυτό εκχύλισμα ντομάτας, ως εναλλακτικό της φαρμακευτικής αντιαιμοπεταλιακής θεραπείας. Το συμπλήρωμα ονομάζεται Fruitflow, έχει λάβει τις απαραίτητες εγκρίσεις και είναι διαθέσιμο για αγορά και κατανάλωση σε διάφορες χώρες παγκοσμίως. Σύμφωνα με τους ερευνητές που το παρασκεύασαν είναι ικανό να αναστείλει σημαντικά τη συσώρευση των αιμοπεταλίων ενώ περιέχει επίσης αντιφλεγμονώδεις παράγοντες [27].

Διατροφικές παρεμβάσεις & Αιμοπετάλια

Οι διατροφικές παρεμβάσεις που έχουν πραγματοποιηθεί με τη μορφή τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών με σκοπό την τροποποίηση της λειτουργικότητας/ενεργότητας των αιμοπεταλίων μπορούν να συνοψιστούν κατά κύριο λόγο σε τρεις κατηγορίες: α) παρέμβαση με φυσικό τρόφιμο, β) παρέμβαση με εμπλουτισμένο τρόφιμο και γ) παρέμβαση με τη μορφή συμπληρώματος πλούσιο σε πιθανή αντιαιμοπεταλιακή ουσία. Ακολουθούν μερικά παραδείγματα ανάλογων μελετών.

Στην πρώτη κατηγορία, της παρέμβασης με φυσικό τρόφιμο, ανήκει η τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη, κλινική δοκιμή των Gasper et al. [28] που δημοσιεύτηκε το 2014 και στην οποία χρησιμοποιήθηκαν δύο πολτοί μήλου με διαφορετική περιεκτικότητα σε φλαβονόλες (25 mg ή 100 mg). Οι πολτοί προέρχονταν από δύο διαφορετικές ποικιλίες μήλου με αυτή την διαφοροποίηση στην περιεκτικότητα των φλαβονολών. Συνολικά συμμετείχαν 25 υγιείς εθελοντές στους οποίους δόθηκε σε τρεις φάσεις, με τυχαία σειρά, ο πολτός με τη χαμηλή περιεκτικότητα, την υψηλή περιεκτικότητα σε φλαβονόλες και 75 mg ασπιρίνης. Ο λόγος που αποφάσισαν οι ερευνητές να μελετήσουν τη συγκεκριμένη ουσία είναι τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα στη βιβλιογραφία σχετικά με την αντιαιμοπεταλιακή δράση τροφίμων πλούσια σε φλαβονοειδή, όπως π.χ. το κακάο. Συμπερασματικά, από τα αποτελέσματα της κλινικής δοκιμής προέκυψε ότι ο πουρές μήλου μπορεί να μειώσει την έκφραση της P-σελεκτίνης και της ιντεγκρίνης β₃ και να αυξήσει τη συγκέντρωση μεταβολιτών του μονοξειδίου του αζώτου, ανεξάρτητα από την ποσότητα των φλαβονολών [28].

Στην ίδια κατηγορία παρέμβασης ανήκει η τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη κλινική δοκιμή των Raubenheimer et al. [29] στην οποία συμμετείχαν 12 υγιείς, ηλικιωμένοι εθελοντές (μέσος όρος ηλικίας τα 64 έτη) ώστε να ελεγχθεί η επίδραση χυμού από παντζάρι πλούσιου σε νιτρώδη σε διάφορες παραμέτρους, ανάμεσά τους και η πήξη του αίματος. Ως δείγμα ελέγχου χρησιμοποιήθηκε ο ίδιος χυμός έπειτα από επεξεργασία ώστε να έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε νιτρώδη. Τα νιτρώδη έχουν δείξει θετικά αντιπηκτικά και αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα σε νεότερους εθελοντές, γι' αυτό το λόγο μελετήθηκαν σε ηλικιωμένους. Ο χυμός με την υψηλή περιεκτικότητα σε νιτρώδη φάνηκε να έχει καλά αποτελέσματα όσο αφορά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, καθώς ο αριθμός των συσσωμάτων μονοκυττάρων-αιμοπεταλίων ήταν μειωμένος 3 ώρες μετά την κατανάλωσή του [29].

Τέλος, στην κλινική δοκιμή των Xanthopoulos et al. [30] ελέγχθηκε η πιθανή επίδραση την κατανάλωσης κρασιού στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων υπό την επίδραση του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF). Στη μελέτη συμμετείχαν 10 υγιείς άντρες οι οποίοι κατανάλωσαν σε 4 διαφορετικές δοκιμασίες σε ξεχωριστές ημέρες ένα τυποποιημένο γεύμα το οποίο συνόδεψαν με λευκό κρασί, κόκκινο κρασί, διάλυμα αιθανόλης και νερό. Στα αποτελέσματα της μελέτης φάνηκε ότι η κατανάλωση κρασιού μείωσε την ευαισθησία των αιμοπεταλίων ανεξάρτητα από το αλκοόλ και δεν επηρέασε δυσμενώς τα επίπεδα του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου -1 περισσότερο από ότι η αιθανόλη καθαυτή [30].

Στην επόμενη τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη κλινική δοκιμή των Vignini et al. [31] πραγματοποιήθηκε διατροφική παρέμβαση με τη χορήγηση ελαιόλαδου εμπλουτισμένου με τις βιταμίνες D₃, K₁ και B₆ σε 60 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες για ένα χρόνο, με σκοπό να ελεγχθεί κατά πόσο το εμπλουτισμένο ελαιόλαδο μπορεί να τροποποιήσει φυσιολογικές και λειτουργικές ιδιότητες της μεμβράνης των αιμοπεταλίων καθώς και δείκτες οξειδωτικού στρες. Πράγματι μετά την κατανάλωση για ένα χρόνο του εμπλουτισμένου ελαιόλαδου φάνηκαν θετικές επιδράσεις στην μεμβράνη των αιμοπεταλίων, συνεπώς καλύτερη λειτουργικότητα αλλά και αντιοξειδωτικές ιδιότητες [31].

Στην τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη κλινική δοκιμή των Cottin et al. [32] ελέγχθηκε η επίδραση της συμπληρωματικής χορήγησης εικοσαπεντανοϊκού οξέος (EPA) και δοκοσαεξανοϊκού οξέος (DHA) από ιχθυέλαια στη λειτουργία των αιμοπεταλίων, του ενδοθηλίου και των αγγείων. Στη μελέτη συμμετείχαν 48 υγιείς άντρες οι οποίοι έλαβαν σε μορφή κάψουλας EPA ή DHA ή ραφινάρισμένο ελαιόλαδο για 6 εβδομάδες. Καμία από τις δύο κατηγορίες συμπληρώματος όμως δεν είχε κάποια επίδραση στα συσσωματώματα μονοκυττάρων-αιμοπεταλίων ή σε διάφορους δείκτες αγγειακής λειτουργίας [32].

Σ' αυτή την τελευταία κατηγορία, της χορήγησης συμπληρώματος, ανήκει και η διπλά τυφλή, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη κλινική δοκιμή των O'Kennedy et al. [33] στην οποία έγινε σύγκριση μεταξύ 75 mg ασπιρίνης και ενός διατροφικού αντιαιμοπεταλιακού σκευάσματος. Το σκεύασμα προέρχεται από ένα υδατοδιαλυτό εκχύλισμα ντομάτας, με την εμπορική ονομασία Fruitflow (FF). Η μελέτη ήταν διασταυρούμενη και συμμετείχαν 47 υγιείς εθελοντές στους οποίους η ασπιρίνη και το FF δόθηκαν σε μορφή κάψουλας. Η καταστολή της ενεργοποίησης των

αιμοπεταλίων, όπως μετρήθηκε μέσω διάφορων αγωνιστών τους, που προκλήθηκε μετά την κατανάλωση του FF ήταν περίπου το 1/3 αυτής που προκλήθηκε από την χορήγηση της ασπιρίνης. Παρόλα αυτά, οι ερευνητές επισημαίνουν πως το FF θα μπορούσε να φανεί χρήσιμο στις περιπτώσεις πρωτογενούς πρόληψης καθώς η δράση του είναι αναστρέψιμη και έτσι καθιστά λιγότερο πιθανή την εμφάνιση των παρενεργειών της ασπιρίνης [33].

Ελαιόλαδο & Αιμοπετάλια

Ο ρόλος της Μεσογειακής Δίαιτας στην πρόληψη και αντιμετώπιση της καρδιαγγειακής νόσου είναι πλέον ξεκάθαρος και καλά τεκμηριωμένος από την βιβλιογραφία. Το κυρίαρχο τρόφιμο-συστατικό της Μεσογειακής Δίαιτας είναι το ελαιόλαδο καθώς είναι η βασικότερη πηγή ενέργειας και του αποδίδονται πολλαπλά οφέλη για την υγεία. Όσο αφορά την προστασία ενάντια στην καρδιαγγειακή νόσο, το ελαιόλαδο μπορεί να βελτιώσει το μεταβολισμό της γλυκόζης, το λιπιδαιμικό προφίλ, την αρτηριακή πίεση, την ενδοθηλιακή λειτουργία και τη φλεγμονή. Επιπλέον, φαίνεται να επιδρά θετικά και στη λειτουργία των αιμοπεταλίων αναστέλλοντας μερικώς την ενεργοποίησή τους από το ADP, το κολλαγόνο και το αραχιδονικό οξύ με αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής θρομβοξανθίνης-A₂. Οι θετικές επιδράσεις του ελαιόλαδου στη λειτουργία των αιμοπεταλίων αποδίδονται σε δύο συστατικά του: στα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (κυρίως ελαϊκό οξύ) και στα φαινολικά συστατικά του [34].

Τα πρώτα δεδομένα σχετικά με τη συσχέτιση των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων προέρχονται από μία μελέτη που δημοσιεύτηκε το 1986 στην οποία συμμετείχαν Έλληνες εθελοντές. Οι εθελοντές ακολούθησαν για τέσσερις εβδομάδες μία δίαιτα βασισμένη σε σάντουιτς και σαλάτες με έξτρα παρθένο ελαιόλαδο τα οποία κατανάλωναν σε εστιατόριο γρήγορου φαγητού. Στο τέλος της μελέτης φάνηκε μειωμένη συσσώρευση των αιμοπεταλίων προκαλούμενη από ADP και αραχιδονικό οξύ στους εθελοντές που κατανάλωναν τη δίαιτα με το έξτρα παρθένο ελαιόλαδο σε σχέση με την παραδοσιακή δίαιτα. Ωστόσο, η υπόθεση ότι τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, και πιο συγκεκριμένα το ελαϊκό οξύ, είναι αυτά που ευθύνονται για τη αντιαιμοπεταλιακή δράση του ελαιόλαδου δεν φαίνεται να επιβεβαιώνεται πειραματικά. Ο Vicario και οι συνεργάτες του δεν βρήκαν καμία διαφορά στην αιμοπεταλιακή δράση μετά από χορήγηση συμπληρώματος ελαϊκού οξέος. Επίσης ο Karantonis και η ομάδα του όταν συνέκριναν διαφορετικά έλαια που περιείχαν ελαϊκό οξύ (ελαιόλαδο, έλαιο σόγιας,

καλαμποκέλαιο, ηλιέλαιο και σησαμέλαιο), παρατήρησαν ότι το ελαιόλαδο παρέμενε το έλαιο με την ισχυρότερη αντιαιμοπεταλιακή δράση [35, 36].

Η υπόθεση που φαίνεται να υποστηρίζεται περισσότερο βιβλιογραφικά είναι ότι τα φαινολικά συστατικά, όπως η υδροξυτυροσόλη και ελαιοευρωπαϊνή, που περιέχονται στο ελαιόλαδο και έχουν δείξει πληθώρα βιολογικών δράσεων, είναι υπεύθυνα για τη μείωση της θρομβοξάνης- A2 [34, 37]. In vitro, μία ποσότητα υδροξυτυροσόλης 100-400 μM κατάφερε να αναστείλει πλήρως τη συσσώρευση ανθρώπινων αιμοπεταλίων. Ο Leger et al. παρατήρησε μείωση έως και 46% στην παραγωγή της θρομβοξάνης B2 μετά τη χορήγηση 25 mg υδροξυτυροσόλης από ελαιόλαδο σε υγιείς εθελοντές για τρεις ημέρες ενώ ο Visioli και οι συνεργάτες του βρήκαν μείωση της τάξης του 20% αυτή τη φορά σε εθελοντές με υπερλιπιδαιμία, μετά τη χρόνια κατανάλωση ελαιόλαδου πλούσιου σε φαινόλες. Εκτός από τη δράση τους σε κατάσταση νηστείας, η τυροσόλη και η υδροξυτυροσόλη φαίνεται να μειώνουν την παραγωγή της θρομβοξάνης B2 και μεταγευματικά. Η κερκετίνη, ένα φλαβονοειδές που επίσης περιέχεται στο παρθένο ελαιόλαδο, φαίνεται να αναστέλλει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων τόσο in vitro αλλά και ex vivo, χωρίς όμως να έχει επιβεβαιωθεί η δράση της in vivo. Επιπλέον, παράγωγα της υδροξυτυροσόλης έχουν φανεί ακόμα πιο αποτελεσματικά από την αρχική ουσία στην αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων προκαλούμενη από κολλαγόνο και αραχιδονικό οξύ, όχι όμως από ADP [36, 38, 39].

Ελαιοκανθάλη

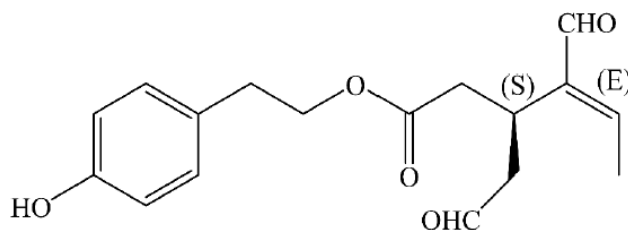
Πηγές

Το ελαιόλαδο περιέχει πάνω από 200 διαφορετικές χημικές ουσίες, συμπεριλαμβανομένων των λιπαρών οξέων, στερολών, καροτενοειδών, τερπενοειδών, φλαβονοειδών, τοκοφερολών και πολυφαινόλων. Στην τελευταία κατηγορία, αυτή των πολυφαινόλων, ανήκει η ελαιοκανθάλη μαζί με την τυροσόλη, την υδροξυτυροσόλη, την ελαιασίνη κ.α. Η ελαιοκανθάλη αποτελεί συνήθως το 0,02% του βάρους του ελαιόλαδου και περίπου το 10% του συνόλου των φαινολικών συστατικών. Ωστόσο η συγκέντρωση αυτή μπορεί να διαφέρει ανάλογα με την ποικιλία του ελαιόλαδου ή/και τις κλιματικές συνθήκες. Παρόλα αυτά, λαμβάνει όλο και περισσότερη προσοχή από την επιστημονική κοινότητα λόγω των βιολογικών της δράσεων, οι οποίες θα αναλυθούν παρακάτω. Η μέση ημερήσια διαιτητική πρόσληψη ελαιόλαδου είναι περίπου 25-50 mL και η αντίστοιχη

πρόσληψη πολυφαινολών υπολογίζεται περίπου στα 9 mg, με τα 8 mg να σχετίζονται με παράγωγα σεκοϊριδοειδών, ανάμεσά τους και η ελαιοκανθάλη [40, 41].

Δομή

Η πρώτη αναφορά της ελαιοκανθάλης στη βιβλιογραφία ως φαινολικό συστατικό που περιέχεται στο ελαιόλαδο έγινε στις αρχές της δεκαετίας του 1990. Συγκεκριμένα ο Montedoro και οι συνεργάτες του περιέγραψαν την πρώτη απομόνωση σεκοϊριδοειδών από εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο το 1993. Η επίσημη χημική της ονομασία είναι decarboxy methyl ligstroside aglycone και η εμπειρική της ονομασία προέρχεται από τα εξής συνθετικά: oleocanthal (oleo από το έλαιο, canth από το χαρακτηριστικό «τσίμπημα», κάψιμο στη γεύση, al από την αλδεΐδη) [41, 42].



Εικόνα 4. Η χημική δομή της ελαιοκανθάλης [40].

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η ελαιοκανθάλη θεωρείται η κύρια ουσία που είναι υπεύθυνη για τη χαρακτηριστική πικάντικη γεύση και την αίσθηση καψίματος που προκαλούν στο φάρυγγα κάποιες ποικιλίες ελαιόλαδου. Πραγματοποιήθηκε μια σειρά μελετών για να επιβεβαιωθεί το ότι η ελαιοκανθάλη είναι η μοναδική ουσία που προκαλεί αυτή την αίσθηση και πράγματι επετεύχθη όταν ποσοτικοποίησαν την ελαιοκανθάλη από διάφορες ποικιλίες ελαιόλαδου και μέτρησαν τον ερεθισμό του λαιμού που συνόδευε την κατανάλωσή τους. Αυτό που είναι ιδιαίτερο σχετικά με την αίσθηση καψίματος που προκαλεί η ελαιοκανθάλη είναι ότι εντοπίζεται σε συγκεκριμένη στοματοφαρυγγική περιοχή ενώ γενικότερα ουσίες που προκαλούν την ανάλογη αίσθηση γίνονται αντιληπτές από όλα τα μέρη της στοματικής κοιλότητας. Η παρατήρηση αυτή οδήγησε στην ανακάλυψη ενός υποδοχέα ειδικού για την ελαιοκανθάλη στην στοματοφαρυγγική περιοχή, του TRPA1 [41, 42].

Βιολογικές δράσεις

Αντιφλεγμονώδης δράση

Η πρώτη βιολογική δράση της ελαιοκανθάλης που περιεγράφηκε ήταν οι αντιφλεγμονώδεις της ιδιότητες, το 2005 από τον Beauchamp και τους συνεργάτες του. Το έναυσμα για να μελετηθεί η αντιφλεγμονώδης δράση της ήταν η ομοιότητά της με την ιβουπροφαίνη, μια μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φαρμακευτική ουσία, στην πρόκληση της αίσθηση καψίματος στο φάρυγγα. Πράγματι παρατήρησαν ότι η ελαιοκανθάλη ανέστειλε δόσοεξαρτώμενα τις κυκλοοξυγενάσες COX-1 και COX-2, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη σύνθεση των προσταγλανδινών, *in vitro* και μάλιστα πιο αποτελεσματικά στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις δραστικής ουσίας από την ιβουπροφαίνη. Εκτός από τις κυκλοοξυγενάσες, η ελαιοκανθάλη έχει επίσης την ικανότητα να αναστέλλει τη δράση της 5-λιποξυγενάσης η οποία είναι υπεύθυνη για τη σύνθεση των λευκοτριενίων, προφλεγμονωδών δηλαδή μορίων. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι κάποιες παρενέργειες της χρήσης των ΜΣΑΦ προκαλούνται εν μέρει από το γεγονός ότι δεν αναστέλλουν τη δράση της 5-λιποξυγενάσης. Επίσης, από άλλες μελέτες φαίνεται ότι η ελαιοκανθάλη μπορεί να αναστείλει τη σηματοδότηση προφλεγμονωδών μορίων που προκαλείται από την LPS. Παρόλο που όπως αναφέρθηκε η ελαιοκανθάλη αποτελεί περίπου το 10% των συνολικών φαινολικών στοιχείων του ελαιόλαδου, φαίνεται πως αυτή η ποσότητα είναι αρκετή για να συνεισφέρει στη ρύθμιση φυσιολογικών μηχανισμών και πιθανά να μειώσει τον κίνδυνο φλεγμονωδών νοσημάτων [40, 41].

Αρθροπάθειες

Η οστεοαρθρίτιδα είναι η πιο συχνή ρευματική νόσος και χαρακτηρίζεται από προοδευτικό εκφυλισμό των χονδροκυττάρων, των χόνδρων γενικά και άλλων ιστών των αρθρώσεων. Η αιτιολογία της οστεοαρθρίτιδας δεν έχει κατανοηθεί πλήρως, ωστόσο η πάροδος της ηλικίας, το γυναικείο φύλο, η παχυσαρκία και το μηχανικό στρες έχουν αναγνωριστεί ως παράγοντες κινδύνου. Στην οστεοαρθρίτιδα φαίνεται να εμπλέκονται οι υποδοχείς toll (TLRs), το ανοσοποιητικό σύστημα, έντονη φλεγμονώδης απάντηση και καταστροφή των αρθρώσεων. Με την πρόοδο της νόσου παρατηρείται αύξηση της έκφρασης των TLR4 στους χόνδρους και καθώς οι υποδοχείς αναγνωρίζουν διάφορα μόρια προσδέτες τους, όπως η LPS ή άλλα προϊόντα μη βακτηριακής προέλευσης, ενεργοποιούν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου και μόρια που πυροδοτούν τη φλεγμονή. Η μη ειδική φαρμακευτική θεραπεία που

χορηγείται στην οστεοαρθρίτιδα, όπως τα ΜΣΑΦ και τα κορτικοστεροειδή, δεν μπορούν να τροποποιήσουν την πορεία της νόσου ενώ πολλές φορές συνδέονται με παρενέργειες.

Η ελαιοκανθάλη έχει φανεί ότι αναστέλλει τη συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου που εξαρτάται από τους TLR4 και τη μεταγωγή σήματος από τους TLR4 στα ποντίκια. Επίσης μπορεί να καταστείλει την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου που προκαλείται από την LPS, το οποίο υπερπαράγεται σε ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα. Τέλος αναστέλλει την έκφραση κυτοκινών όπως η ιντερλευκίνη-6. Έτσι αναδεικνύεται ως πιθανή μελλοντική θεραπεία για την αντιμετώπιση των αρθροπαθειών [41, 42].

Νευροεκφυλιστικές ασθένειες

Οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες, στις οποίες συμπεριλαμβάνεται η νόσος Alzheimer, χαρακτηρίζονται από αύξηση στον ολιγομερισμό πεπτιδίων του αμυλοειδούς, γνωστά ως ADDLs. Είναι τοξικά μόρια και ευθύνονται για την καταστροφή των νευρικών κυττάρων. Σε πολλές κλινικές μελέτες τα ΜΣΑΦ χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της νόσου Alzheimer καθώς έχει φανεί ότι η ιβουπροφαίνη αλλά και τρόφιμα πλούσια σε πολυφαινόλες μειώνουν την παραγωγή των ADDLs και την υπερφωσφορυλίωση των τ-πρωτεϊνών σε ζωικά μοντέλα. Λόγω των παρόμοιων αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων της με την ιβουπροφαίνη, η ελαιοκανθάλη μελετήθηκε επίσης ως πιθανός παράγοντας έναντι της νόσου Alzheimer. Πράγματι τα αποτελέσματα αυτών των μελετών είναι ενθαρρυντικά, καθώς η ελαιοκανθάλη φάνηκε να παρεμβαίνει στη δημιουργία των ADDLs ενώ επέτρεπε στις συνάψεις που ήταν συνδεδεμένες με ADDLs να είναι πιο εύκολα προσβάσιμες σε αντισώματα. Από άλλους ερευνητές φάνηκε επίσης να αναστέλλει την υπερφωσφορυλίωση των τ-πρωτεϊνών, που εμπλέκεται στην καταστροφή των νευρικών κυττάρων [41, 42].

Καρκίνος

Υπάρχει πλούσια βιβλιογραφία σχετικά με τη δράση της ελαιοκανθάλης σε διάφορες μορφές καρκίνου. Φαίνεται να εμπλέκεται στην επαγωγή της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων, την αναστολή της μετανάστευσης, της αγγειογένεσης και της μετάστασης σειρών καρκινικών κυττάρων που προέρχονται από ηπατοκυτταρικό καρκίνο, καρκίνο του προστάτη, ανθρώπινο μελάνωμα, καρκίνο του δέρματος, καρκίνο του παχέος εντέρου και καρκίνο του μαστού. Αν και μέχρι στιγμής έχουν πραγματοποιηθεί λίγες σχετικές in vivo μελέτες, περιγράφονται διάφοροι καρκινικοί στόχοι για την ελαιοκανθάλη με τους κύριους να είναι ο c-MET και ο παράγοντας

ανάπτυξης ηπατοκυττάρων (HGF). Το ογκογονίδιο MET κωδικοποιεί τον υποδοχέα με δράση τυροσινικής κινάσης, c-MET. Ο HGF είναι ο μοναδικός γνωστός προσδέτης του υποδοχέα c-MET και η δράση τους είναι απαραίτητη για την επιδιόρθωση του ιστού. Ωστόσο η απορρύθμιση του μονοπατιού μεταγωγής σήματός τους μπορεί να προωθήσει σε κυτταροσκελετικές αλλαγές οδηγώντας σε επιτάχυνση της διαφοροποίησης, αγγειογένεση, κινητικότητα, επιβίωση και παρεμβατικές/μεταστατικές ικανότητες πολλών καρκινικών κυττάρων [40, 41].

Καρδιαγγειακή νόσος

Μέχρι στιγμής υπάρχει στη βιβλιογραφία μια μόνο μελέτη σχετικά με τον προστατευτικό ρόλο της ελαιοκανθάλης στην αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσο. Στην κλινική δοκιμή του Agrawal και των συνεργατών του, δόθηκαν 40 ml εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου πλούσιου σε ελαιοκανθάλη (310 mg OC/kg ελαιόλαδου) για μία εβδομάδα σε υγιείς άντρες, ηλικίας 20-50 ετών. Η κατανάλωση του ελαιόλαδου μείωσε την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων προκαλούμενη από κολλαγόνο [41, 43].

ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Συνοψίζοντας όλα τα παραπάνω, το ελαιόλαδο, ως βάση της μεσογειακής διατροφής, έχει απασχολήσει κατά κόρον τη βιβλιογραφία λόγω των ευεργετικών του δράσεων. Το ενδιαφέρον πλέον εστιάζεται στα φαινολικά συστατικά του, και όχι στα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, στα οποία αποδίδονται η αντιφλεγμονώδης και η αντιαιμοπεταλιακή δράση του. Φαινολικές ουσίες που προέρχονται από το ελαιόλαδο, όπως η τυροσόλη, η υδροξυτυροσόλη η ελαιασίνη κ.α., εμφανίζουν ανασταλτική δράση στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Πιο συγκεκριμένα, η ελαιοκανθάλη, η οποία επίσης ανήκει στις φαινολικές ενώσεις του ελαιόλαδου, εμφανίζει θετικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση πολλών κλινικών παθήσεων όπως ο καρκίνος, οι φλεγμονώδεις νόσοι αλλά και νευροεκφυλιστικές παθήσεις. Μια πολύ πρόσφατη κλινική δοκιμή παρουσίασε δεδομένα σχετικά με τη θετική δράση της ελαιοκανθάλης στην αθηρωτική καρδιαγγειακή νόσο μέσω αναστολής της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων.

Λαμβάνοντας επίσης υπόψη την ανάγκη εύρεσης αντιαιμοπεταλιακών θεραπειών εναλλακτικών της κλασικής φαρμακευτικής θεραπείας, στην οποία ένα μεγάλο μέρος των ασθενών εμφανίζει ανοχή, σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η εκτίμηση και η σύγκριση της ex vivo αντιαιμοπεταλιακής δράσης φαινολικών συστατικών που προέρχονται από ελαιόλαδο και ειδικότερα της δράσης της ελαιοκανθάλης.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Φαινολικά συστατικά ελαιολάδου που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη

Τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου απομονώθηκαν από έξτρα παρθένο ελαιόλαδο με μίγματα διαλυτών ακετονιτριλίου και κυκλοεξανίου. Τα εκχυλίσματα εξατμίστηκαν μέχρι ξηρού, αναδιαλύθηκαν σε μικρό όγκο και υπεβλήθησαν σε χρωματογραφία (HPLC) ανάστροφης φάσης με μίγματα διαλυτών ακετονιτριλίου, μεθανόλης και νερού. Η πιστοποίηση της καθαρότητας και της συγκέντρωσης των εκχυλισμάτων έγινε με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR). Οι φαινολικές ενώσεις που απομονώθηκαν ήταν οι: ελαιοκανθάλη, ελαιασίνη, ελαιοκανθαλικό οξύ, oleomissional, τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη και κυκλικό κυκλικό άγλυκο ελαιοευρωπαϊνης (KAP).

Εθελοντές μελέτης

Στο πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν υγιείς καπνιστές και μη εθελοντές. Οι εθελοντές δεν έπρεπε να έχουν καταναλώσει αλκοόλ την προηγούμενη μέρα και να έχουν λάβει φαρμακευτική αγωγή τουλάχιστον δυο εβδομάδες πριν την αιμοληψία. Την ημέρα της αιμοληψίας οι εθελοντές ήταν σε κατάσταση 12ωρης νηστείας και χωρίς να έχει προηγηθεί κάπνισμα.

Απομόνωση πλάσματος πλούσιου σε αιμοπετάλια (PRP)

Σε τέσσερα falcon τον 15ml τοποθετήθηκαν από 1,4ml (700 και 700μl με πιπέτα των 100 με 1000μl) ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού συγκέντρωσης 0,105M και pH 7,4. Η χρήση αυτού του ρυθμιστικού έγινε λόγω της αντιπηκτικής του δράσης.

Υλικά

1. Πεταλούδα των 21g
2. Σύριγγες των 5, 10, 20ml
3. Πλαστικοί σωλήνες των 15ml, 50 ml
4. Διάλυμα κιτρικών 0,105 M
5. Φυγόκεντρος με αιωρούμενη κεφαλή μοντέλου 5810 R της εταιρείας Ependorf
6. Αιματολογικός αναλυτής μοντέλου BC300 plus της εταιρείας Mindray

Πορεία

Την ημέρα της αιμοληψίας, τοποθετούνταν σε τέσσερα falcon τον 15ml από 1,4ml διαλύματος κιτρικού οξέος συγκέντρωσης 0,105M και pH 7,4. Για την παραλαβή του αίματος χρησιμοποιήθηκε μία πεταλούδα των 21g. Κατά την αιμοληψία γινόταν απόχυση των αρχικών 5ml αίματος. Το υπόλοιπο δείγμα αίματος μεταφερόταν σε σωλήνες falcon των 15ml που εμπεριείχαν 1,4ml κιτρικού (μέχρι την χαραγή) και αναδεύονταν με ήπιες κινήσεις. Για τη λήψη του PRP πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρωση στις 1300 rpm για 10 min χωρίς επιτάχυνση ή επιβράδυνση σε θερμοκρασία δωματίου. Από τα φυγοκεντρούμενα δείγματα παραλήφθηκε τα $\frac{2}{3}$ του υπερκείμενου σε σωλήνα falcon των 50ml και έγινε μέτρηση της συγκέντρωσης των αιμοπεταλίων σε αιματολογικό αναλυτή. Για την διεκπεραίωση του πειράματος η συγκέντρωση των αιμοπεταλίων στο PRP θα έπρεπε να είναι 300.000 κύτταρα/ml. Το ίζημα της φυγοκέντρωσης φυγοκεντρείται στη συνέχεια στα 3000 rpm για 20min χωρίς επιτάχυνση ή επιβράδυνση και γίνεται παραλαβή του υπερκείμενου πλάσματος φτωχού σε αιμοπετάλια (PPP). Το PPP που παραλαμβάνονταν από κάθε αιμοληψία χρησιμοποιούνταν ως τυφλό κατά τη μέτρηση των δειγμάτων για το ύψος συσσωρευσης των αιμοπεταλίων στο συσσωρευματομέτρο.

Προσδιορισμός της αντιαιμοπεταλιακής δράσης των φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου

Υλικά

1. Συσσωρευματομέτρο μοντέλου Aggregometer της εταιρείας Chrono Log
2. Κυψελίδες συσσωρευματομέτρου
3. Μαγνητικοί αναδευτήρες για κυψελίδες

4. Αυτόματες πιπέτες των 0 με 20μl, 10 με 100μl και 10 με 1000μl
5. Σωλήνες Eppendorfs

Αντιδραστήρια

1. ADP
2. TRAP
3. PAF
4. DMSO
5. Φυσιολογικός ορός

Πορεία

Σε σιλικοναρισμένες γυάλινες κυψελίδες προστίθενται 250 μ L PRP και κατάλληλος μαγνητικός αναδευτήρας. Τα αιμοπετάλια προεπωάζονται σε κατάλληλες υποδοχές του συσσωρευματομέτρου στους 37 °C για 15 min. Αρχικά, προσθέτονταν κατάλληλες ποσότητες ενεργοποιητικών παραγόντων (PAF, ADP, TRAP) έτσι ώστε να βρεθεί η συγκέντρωση εκείνη ενεργοποιητικού παράγοντα, η οποία θα προκαλούσε 70-80 % συσσώρευση αιμοπεταλίων. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων γινόταν στους 37 °C, με ταχύτητας περιστροφής μαγνητικού αναδευτήρα 1200 rpm/min και διαρκούσε τουλάχιστον 6 λεπτά. Στη συνέχεια, το PRP προεπωαζόταν για 1 min με διαφορετικές ποσότητες εκχυλισμάτων και εφόσον το εκχύλισμα δεν προκαλούσε συσσώρευση προσθέτονταν στη συνέχεια ο ενεργοποιητικός παράγοντας. Για κάθε δοκιμασία συσσώρευσης καταγράφοταν το μέγιστο ύψος συσσώρευσης (A), η κλίση συσσώρευσης (S) και το AUC της καμπύλης συσσώρευσης. Από τη σύγκριση των A, S, AUC που επάγονταν από τον συσσωρευτικό παράγοντα παρουσία και απουσία εκχυλίσματος υπολογιζόταν το % αναστολή για κάθε ποσότητα εκχυλίσματος. Τελικά, από την καμπύλη Cεκχυλίσματος = f (% αναστολή) υπολογιζόταν η συγκέντρωση του εκχυλίσματος που προκαλούσε 50% αναστολή συσσώρευση (IC₅₀).

Στατιστική ανάλυση

Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 23.0 for Windows. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται στους πίνακες αποτελεσμάτων ως μέσες τιμές $\pm$ μία τυπική απόκλιση, ενώ οι κατηγορικές παρουσιάζονται σαν απόλυτες

συχνότητες. Οι στατιστικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν είναι: Περιγραφική στατιστική: Για την περιγραφή των χαρακτηριστικών του δείγματος (φύλο, ηλικία, ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά κλπ) αλλά και για τις τιμές IC50 για κάθε φαινολική ουσία, όπως προέκυψε από το μέγιστο ύψος συσσώρευσης (A), την κλίση (S) και τον εμβαδόν κάτω από την καμπύλη συσσώρευσης και για κάθε αγωνιστή των αιμοπεταλίων. Mann–Whitney U test και Kruskal–Wallis test: Για τη σύγκριση των συγκεντρώσεων της ελαιοκανθάλης και της ελαισίνης που απαιτούνται για την αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων κατά 50% μεταξύ τους, για την ίδια ουσία συγκρίνοντας τους τρεις αγωνιστές των αιμοπεταλίων και για την ίδια ουσία συγκρίνοντας τις τιμές που προέκυψαν από το A, S και AUC. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman ώστε να ελεγχθεί αν υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των τιμών IC50 και χαρακτηριστικών του δείγματος, όπως η ηλικία, το BMI και ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων (MPV). Σε όλες τις μεθόδους επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το 5%.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Χαρακτηριστικά εθελοντών της μελέτης

Στους Πίνακες 1,2 και 3 παρουσιάζονται τα βασικά ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά των εθελοντών της μελέτης.

Πίνακας 1. Ποσοτικά χαρακτηριστικά.

	N	Ελάχιστο	Μέγιστο	Μ.Ο.	Τυπική απόκλιση
Ηλικία	12	22	38	26,58	5,468
Βάρος	12	51,0	88,0	68,06	13,18
Ύψος	12	1,60	1,77	1,67	0,058
BMI	12	17,64	30,11	24,08	3,84
MPV (Μέσος όγκος αιμοπεταλίων)	12	6,30	8,80	7,30	0,79
Ημέρα κύκλου εμμήνου ρύσεως	6	6	20	12	5,05

Πίνακας 2. Φύλο.

Φύλο	Συχνότητα	Ποσοστό (%)
Γυναίκες	8	66,7
Άντρες	4	33,3
Σύνολο	12	100,0

Πίνακας 3. Κάπνισμα.

Κάπνισμα	Συχνότητα	Ποσοστό (%)
Μη καπνιστές	9	75,0
Καπνιστές	3	25,0
Σύνολο	12	100,0

Σύγκριση της αντιαιμοπεταλιακής δράσης φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου

Σύγκριση της αντιαιμοπεταλιακής δράσης φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου στην επαγόμενη από ADP συσσώρευση των αιμοπεταλίων.

Στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των φαινολικών συστατικών ελαιόλαδου οι οποίες προκαλούν 50% αναστολή στη συσσώρευση αιμοπεταλίων, όπως προέκυψε από το ύψος της καμπύλης, την κλίση και το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη συσσώρευσης.

Πίνακας 4.

Phenols (mg/ml)	Oleocanthal	Oleacein	Oleomissional	Oleoc. acid	KAP	Tyrosol	OH-tyrosol
IC50 (A)	0,056 [0,04-0,1592]	0,2 [0,2, 0,2, 0,2]	1,357	0,351	0,153	0,345 [0,31-0,38]	0,333
	N= 4	N=3	N=1	N=1	N=1	N=2	N=1
IC50 (S)	0,115 [0,0824-0,1784]	0,360 [0,28-0,38]	0,553	0,438	0,250	0,98 [0,66-1,30]	34,56
	N=4	N=3	N=1	N=1	N=1	N=2	N=1

IC50 (AUC)	0,12 [0,0216-0,264]	0,183 [0,175-0,26]	2,78	0,3	0,1	0,332 [0,30-0,36]	48,92
	N=4	N=3	N=1	N=1	N=1	N=2	N=1

*Όπου N= ο αριθμός επαναλήψεων των πειραμάτων

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση με σκοπό τη σύγκριση των IC50 των φαινολικών ενώσεων για κάθε παράμετρο (A, S ή AUC). Η σύγκριση πραγματοποιήθηκε με το μη-παραμετρικό Mann-Whitney test ανάμεσα στην ελαιοκανθάλη (oleocanthal) και την ελαιασίνη (oleacein), καθώς ο αριθμός επαναλήψεων των πειραμάτων για τις υπόλοιπες ενώσεις ήταν <3 με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατή η στατιστική ανάλυση. Όσο αφορά τις IC50 (A) και IC50 (S), υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στην ελαιοκανθάλη και την ελαιασίνη με $p=0,057$ και στις δύο περιπτώσεις. Στην περίπτωση των IC50 (AUC) δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,4$).

Σύγκριση της αντιαιμοπεταλιακής δράσης φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου στην επαγόμενη από TRAP συσσώρευση των αιμοπεταλίων.

Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των φαινολικών συστατικών ελαιόλαδου οι οποίες προκαλούν 50% αναστολή στη συσσώρευση αιμοπεταλίων, όπως προέκυψε από το ύψος της καμπύλης, την κλίση και το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη συσσώρευσης.

Πίνακας 5.

Phenols (mg/ml)	Oleocanthal	Oleacein	Oleomissional	Oleoc. acid	KAP	Tyrosol	OH-tyrosol
IC50 (A)	0,141 [0,0216-0,328]	0,206 [0,186-0,33]	0,236 [0,177, 0,296]	ND	1,2	ND	ND
	N= 3	N=4	N=2	N=0	N=1	N=0	N=0
IC50 (S)	0,064 [0,0528-0,12]	0,34 [0,201-1,70]	0,233 [0,047, 0,42]	ND	ND	ND	ND
	N=3	N=4	N=2	N=0	N=0	N=0	N=0
IC50 (AUC)	0,145 [0,1157, 0,176]	0,203 [0,183-0,25]	0,211 [0,173, 0,25]	ND	0,3700	ND	ND

	N=2	N=4	N=2	N=0	N=1	N=0	N=0
--	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

*Όπου N= ο αριθμός επαναλήψεων των πειραμάτων

*ND= not determined

Ακολούθησε στατιστική ανάλυση με σκοπό τη σύγκριση των IC50 των φαινολικών ενώσεων για κάθε παράμετρο (A, S ή AUC). Η σύγκριση πραγματοποιήθηκε με το μη-παραμετρικό Mann-Whitney test ανάμεσα στην ελαιοκανθάλη (oleocanthal) και την ελαιασίνη (oleacein), καθώς ο αριθμός επαναλήψεων των πειραμάτων για τις υπόλοιπες ενώσεις ήταν <3 με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατή η στατιστική ανάλυση. Όσο αφορά τις IC50 (A) δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά (p=0,4), ενώ για οι IC50 (S) διέφεραν στατιστικά σημαντικά (p=0,057). Στην περίπτωση των IC50 (AUC) δεν μπορούσε να πραγματοποιηθεί σύγκριση καθώς ο αριθμός επαναλήψεων για την ελαιοκανθάλη ήταν <3.

Σύγκριση της αντιαιμοπεταλιακής δράσης φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου στην επαγόμενη από PAF συσσώρευση των αιμοπεταλίων.

Στον Πίνακα 6 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των φαινολικών συστατικών ελαιόλαδου οι οποίες προκαλούν 50% αναστολή στη συσσώρευση αιμοπεταλίων, όπως προέκυψε από το ύψος της καμπύλης, την κλίση και το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη συσσώρευσης.

Πίνακας 6.

Phenols (mg/ml)	Oleocanthal	Oleacein	Oleomissional	Oleoc. acid	KAP	Tyrosol	OH-tyrosol
IC50 (A)	0,169 [0,136-0,184]	0,272 [0,22, 0,324]	0,863 [0,177, 1,55]	0,249	0,77	0,324	0,298
	N= 3	N=2	N=2	N=1	N=1	N=1	N=1
IC50 (S)	0,186 [0,152-0,2128]	0,337 [0,275, 0,40]	0,142 [0,047, 0,238]	0,3	0,33	0,538	1,589
	N=3	N=2	N=2	N=1	N=1	N=1	N=1
	0,176 [0,128-1,36]	0,256 [0,21, 0,302]	0,261 [0,173, 0,349]	0,219	0,57	0,211	ND

IC50 (AUC)	N=3	N=2	N=2	N=1	N=1	N=1	N=0
-----------------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

**Όπου N= ο αριθμός επαναλήψεων των πειραμάτων*

**ND= not determined*

Στην περίπτωση της συσσώρευσης επαγόμενης από PAF δεν ήταν εφικτή η στατιστική ανάλυση για τη σύγκριση των συγκεντρώσεων IC50 των φαινολικών ενώσεων καθώς για καμία ουσία δεν πραγματοποιήθηκαν τουλάχιστον 3 επαναλήψεις των πειραμάτων, εκτός από την περίπτωση της ελαιοκανθάλης.

Στην συνέχεια, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση για την σύγκριση των συγκεντρώσεων της ελαιοκανθάλης που προκαλούν 50% αναστολή στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων ανάμεσα στις IC50 (A), IC50 (S), IC50 (AUC) για κάθε αγωνιστή των αιμοπεταλίων (ADP, TRAP, PAF) ξεχωριστά. Σε καμία από τις παραπάνω περιπτώσεις οι συγκεντρώσεις δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά.

Σύγκριση της ανασταλτικής ικανότητας των φαινολικών ουσιών έναντι των διαφορετικών αγωνιστών των αιμοπεταλίων.

Στον Πίνακα 7 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των φαινολικών συστατικών ελαιόλαδου οι οποίες προκαλούν 50% αναστολή στη συσσώρευση αιμοπεταλίων, όπως προέκυψε από το ύψος της καμπύλης, την κλίση και το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη συσσώρευσης για κάθε φαινολική ουσία και για τους τρεις αγωνιστές των αιμοπεταλίων.

Πίνακας 7.

Phenol (mg/ml)	IC50_ADP_A	IC50_TRAP_A	IC50_PAF_A
	IC50_ADP_S	IC50_TRAP_S	IC50_PAF_S
	IC50_ADP_AUC	IC50_TRAP_AUC	IC50_PAF_AUC
Oleocanthal	0,056 [0,04-0,1592]	0,141 [0,0216-0,328]	0,169 [0,136-0,184]
	0,115 [0,0824-0,1784]	0,064 [0,0528-0,12]	0,186 [0,152-0,2128]
	0,12 [0,0216-0,264]	0,145 [0,1157, 0,176]	0,176 [0,128-1,36]
Oleacein	0,2 [0,2, 0,2, 0,2]	0,206 [0,186-0,33]	0,272 [0,22, 0,324]
	0,36 [0,28-0,38]	0,34 [0,201-1,70]	0,337 [0,275, 0,40]
	0,183 [0,175-0,26]	0,203 [0,183-0,25]	0,256 [0,21, 0,302]
Oleomissional	1,357	0,236 [0,177, 0,296]	0,863 [0,177, 1,55]
	0,553	0,233 [0,047, 0,42]	0,142 [0,047, 0,238]
	2,78	0,211 [0,173, 0,25]	0,261 [0,173, 0,349]
Oleoc. acid	0,351	ND	0,249
	0,438	ND	0,3
	0,3	ND	0,219
KAP	0,153	1,2	0,77
	0,25	ND	0,33
	0,15	0,37	0,57
Tyrosol	0,345 [0,31-0,38]	ND	0,324
	0,98 [0,66-1,30]	ND	0,538
	0,332 [0,30-0,36]	ND	0,211
OH-tyrosol	0,333	ND	0,298
	34,56	ND	1,589
	48,92	ND	ND

*ND= not determined

Στην συνέχεια, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση για την σύγκριση των συγκεντρώσεων της ελαιοκανθάλης που προκαλούν 50% αναστολή στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (IC50) όπως προκύπτουν από το ύψος της καμπύλης συσσώρευσης (A) ανάμεσα στους τρεις αγωνιστές των αιμοπεταλίων (ADP, TRAP, PAF), οι οποίες δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά ($p=0,457$). Η ίδια στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε για τις IC50 (S) και IC50 (AUC), οι οποίες επίσης δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά ($p=0,115$ και $p=0,539$ αντίστοιχα). Οι IC50 (A) ελέγχθηκαν επίσης ανά ζεύγη των αγωνιστών (ADP-TRAP, ADP-PAF, TRAP-PAF). Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά. Το ίδιο βρέθηκε για τις IC50 (S) και IC50 (AUC) όταν ελέγχθηκαν ανά ζεύγη.

Η παραπάνω σύγκριση πραγματοποιήθηκε μόνο για την ελαιοκανθάλη καθώς ο αριθμός επαναλήψεων των πειραμάτων για τις υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις δεν επαρκεί για την εφαρμογή στατιστικού ελέγχου.

Επίδραση των χαρακτηριστικών των εθελοντών στην ανασταλτική δράση των φαινολικών ενώσεων.

Γνωρίζοντας ότι τα δεδομένα δεν επαρκούν για το στατιστικό έλεγχο της επίδρασης των ποιοτικών χαρακτηριστικών του φύλου και του καπνίσματος, παρουσιάζονται οι πίνακες με τις αντίστοιχες τιμές για την ελαιοκανθάλη και την ελαιασίνη (για τις οποίες υπήρχαν τα περισσότερα δεδομένα) ανάμεσα στα δύο φύλα και τους καπνιστές και μη-καπνιστές, ώστε να συγκριθούν ποιοτικά.

Επίδραση του φύλου

Άντρες

Πίνακας 8.

(mg/ml)	Oleocanthal _IC50_A_A DP	Oleocantha I_IC50_S_A DP	Oleocanthal_IC 50_AUC_ADP	Oleocanthal_IC 50_A_TRAP	Oleocanthal_IC 50_S_TRAP	Oleocanthal_IC5 0_AUC_TRAP	Oleocanthal_I C50_A_PAF	Oleocanthal _IC50_S_PA F	Oleocantha I_IC50_AU C_PAF
N	1	1	1	1	1	1	0	0	0
Διάμεσος	0,04	0,082	0,021	0,141	0,064	0,115	ND	ND	ND
Ελάχιστο	0,04	0,08	0,02	0,14	0,06	0,12	ND	ND	ND
Μέγιστο	0,04	0,08	0,02	0,14	0,06	0,12	ND	ND	ND

Γυναίκες

Πίνακας 9.

(mg/ml)	Oleocanthal _IC50_A_A DP	Oleocantha I_IC50_S_A DP	Oleocanthal_IC 50_AUC_ADP	Oleocanthal_IC 50_A_TRAP	Oleocanthal_IC 50_S_TRAP	Oleocanthal_IC5 0_AUC_TRAP	Oleocanthal_I C50_A_PAF	Oleocanthal _IC50_S_PA F	Oleocantha I_IC50_AU C_PAF
N	3	3	3	2	2	1	3	3	3
Διάμεσος	0,066	0,119	0,149	0,174	0,086	0,176	0,169	0,186	0,176
Ελάχιστο	0,05	0,11	0,09	0,02	0,05	0,18	0,14	0,16	0,16
Μέγιστο	0,16	0,18	0,26	0,33	0,12	0,18	0,18	0,21	1,36

*Όπου N= ο αριθμός επαναλήψεων των πειραμάτων

*ND= not determined

Αντρες

Πίνακας 10.

(mg/ml)	Oleacein_IC 50_A_ADP	Oleacein_I C50_S_AD P	Oleacein_IC50_ AUC_ADP	Oleacein_IC50_ A_TRAP	Oleacein_IC50_ S_TRAP	Oleacein_IC50_A UC_TRAP	Oleacein_IC50_ A_PAF	Oleacein_IC 50_S_PAF	Oleacein_I C50_AUC_ PAF
N	1	1	1	1	1	1	0	0	0
Διάμεσος	0,196	0,48	0,26	0,204	0,201	0,183	ND	ND	ND
Ελάχιστο	0,196	0,48	0,26	0,20	0,20	0,18	ND	ND	ND
Μέγιστο	0,196	0,48	0,26	0,20	0,20	0,18	ND	ND	ND

Γυναίκες

Πίνακας 11.

(mg/ml)	Oleacein_IC 50_A_ADP	Oleacein_I C50_S_AD P	Oleacein_IC50_ AUC_ADP	Oleacein_IC50_ A_TRAP	Oleacein_IC50_ S_TRAP	Oleacein_IC50_A UC_TRAP	Oleacein_IC50_ A_PAF	Oleacein_IC 50_S_PAF	Oleacein_I C50_AUC_ PAF
N	2	2	2	3	3	3	2	2	2
Διάμεσος	0,2	0,32	0,179	0,209	0,41	0,21	0,272	0,337	0,256
Ελάχιστο	0,2	0,28	0,18	0,19	0,27	0,20	0,22	0,28	0,21
Μέγιστο	0,2	0,36	0,18	0,33	1,70	0,25	0,32	0,40	0,30

*Όπου N= ο αριθμός επαναλήψεων των πειραμάτων

*ND= not determined

Επίδραση του καπνίσματος

Μη καπνιστές

Πίνακας 12.

(mg/ml)	Oleocanthal _IC50_A_A DP	Oleocantha I_IC50_S_A DP	Oleocanthal_IC 50_AUC_ADP	Oleocanthal_IC 50_A_TRAP	Oleocanthal_IC 50_S_TRAP	Oleocanthal_IC5 0_AUC_TRAP	Oleocanthal_I C50_A_PAF	Oleocanthal _IC50_S_PA F	Oleocantha I_IC50_AU C_PAF
N	3	3	3	3	3	2	1	1	1
Διάμεσος	0,066	0,119	0,149	0,141	0,064	0,145	0,184	0,186	0,176
Ελάχιστο	0,05	0,11	0,09	0,02	0,05	0,12	0,18	0,19	0,18
Μέγιστο	0,16	0,18	0,26	0,33	0,12	0,18	0,18	0,19	0,18

Καπνιστές

Πίνακας 13.

(mg/ml)	Oleocanthal _IC50_A_A DP	Oleocantha I_IC50_S_A DP	Oleocanthal_IC 50_AUC_ADP	Oleocanthal_IC 50_A_TRAP	Oleocanthal_IC 50_S_TRAP	Oleocanthal_IC5 0_AUC_TRAP	Oleocanthal_I C50_A_PAF	Oleocanthal _IC50_S_PA F	Oleocantha I_IC50_AU C_PAF
N	1	1	1	0	0	0	2	2	2
Διάμεσος	0,04	0,082	0,021	ND	ND	ND	0,152	0,186	0,757
Ελάχιστο	0,04	0,08	0,02	ND	ND	ND	0,14	0,16	0,16
Μέγιστο	0,04	0,08	0,02	ND	ND	ND	0,17	0,21	1,36

*Όπου N= ο αριθμός επαναλήψεων των πειραμάτων

*ND= not determined

Μη καπνιστές

Πίνακας 14.

(mg/ml)	Oleacein_IC 50_A_ADP	Oleacein_I C50_S_AD P	Oleacein_IC50_ AUC_ADP	Oleacein_IC50_ A_TRAP	Oleacein_IC50_ S_TRAP	Oleacein_IC50_A UC_TRAP	Oleacein_IC50 _A_PAF	Oleacein_IC 50_S_PAF	Oleacein_I C50_AUC_ PAF
N	2	2	2	4	4	4	0	0	0
Διάμεσος	0,2	0,3200	0,1790	0,2065	0,3400	0,2035	ND	ND	ND
Ελάχιστο	0,2	0,28	0,18	0,19	0,20	0,18	ND	ND	ND
Μέγιστο	0,2	0,36	0,18	0,33	1,70	0,25	ND	ND	ND

Καπνιστές

Πίνακας 15.

(mg/ml)	Oleacein_IC 50_A_ADP	Oleacein_I C50_S_AD P	Oleacein_IC50_ AUC_ADP	Oleacein_IC50_ A_TRAP	Oleacein_IC50_ S_TRAP	Oleacein_IC50_A UC_TRAP	Oleacein_IC50 _A_PAF	Oleacein_IC 50_S_PAF	Oleacein_I C50_AUC_ PAF
N	1	1	1	0	0	0	2	2	2
Διάμεσος	0,196	0,48	0,26	ND	ND	ND	0,272	0,337	0,256
Ελάχιστο	0,196	0,48	0,26	ND	ND	ND	0,22	0,28	0,21
Μέγιστο	0,196	0,48	0,26	ND	ND	ND	0,32	0,40	0,30

*Όπου N= ο αριθμός επαναλήψεων των πειραμάτων

*ND= not determined

Ηλικία

Πίνακας 16.

(mg/ml)	Oleocanthal_IC50_A_A DP	Oleocanthal_IC50_S_A DP	Oleocanthal_IC50_AUC_ADP	Oleocanthal_IC50_A_TRAP	Oleocanthal_IC50_S_TRAP	Oleocanthal_IC50_AUC_TRAP	Oleocanthal_IC50_A_PAF	Oleocanthal_IC50_S_PAF	Oleocanthal_IC50_AUC_PAF
r	-0,775	-0,775	-0,775	-0,5	-0,5	ND	-0,5	ND	ND
p	0,225	0,225	0,225	0,667	0,667	ND	0,667	ND	ND
(mg/ml)	Oleacein_IC50_A_ADP	Oleacein_IC50_S_AD P	Oleacein_IC50_AUC_ADP	Oleacein_IC50_A_TRAP	Oleacein_IC50_S_TRAP	Oleacein_IC50_AUC_TRAP	Oleacein_IC50_A_PAF	Oleacein_IC50_S_PAF	Oleacein_IC50_AUC_PAF
r	ND	-0,866	-0,866	-0,105	-0,316	-0,949	ND	ND	ND
p	ND	0,333	0,333	0,895	0,684	0,51	ND	ND	ND

BMI

Πίνακας 17.

(mg/ml)	Oleocanthal_IC50_A_A DP	Oleocanthal_IC50_S_A DP	Oleocanthal_IC50_AUC_ADP	Oleocanthal_IC50_A_TRAP	Oleocanthal_IC50_S_TRAP	Oleocanthal_IC50_AUC_TRAP	Oleocanthal_IC50_A_PAF	Oleocanthal_IC50_S_PAF	Oleocanthal_IC50_AUC_PAF
r	-0,316	-0,316	-0,949	ND	ND	ND	-0,5	0,5	-0,5
p	0,684	0,684	0,051*	ND	ND	ND	0,667	0,667	0,667
(mg/ml)	Oleacein_IC50_A_AD P	Oleacein_IC50_S_AD P	Oleacein_IC50_AUC_ADP	Oleacein_IC50_A_TRAP	Oleacein_IC50_S_TRAP	Oleacein_IC50_AUC_TRAP	Oleacein_IC50_A_PAF	Oleacein_IC50_S_PAF	Oleacein_IC50_AUC_PAF
r	-0,866	0,5	0,5	ND	0,6	0,4	ND	ND	ND
p	0,333	0,667	0,667	ND	0,400	0,600	ND	ND	ND

MPV

Πίνακας 18.

(mg/ml)	Oleocanthal_IC50_A_A DP	Oleocanthal_IC50_S_A DP	Oleocanthal_I C50_AUC_AD P	Oleocanthal_I C50_A_TRAP	Oleocanthal_I C50_S_TRAP	Oleocanthal_IC50_AUC_TRAP	Oleocanthal_IC50_A_PAF	Oleocanthal_IC50_S_PAF	Oleocanthal_IC50_AUC_PAF
r	0,316	0,316	0,949	0,866	0,866	ND	-0,5	ND	ND
p	0,684	0,684	0,051*	0,333	0,333	ND	0,667	ND	ND
(mg/ml)	Oleacein_I C50_A_AD P	Oleacein_I C50_S_AD P	Oleacein_IC50_AUC_AD P	Oleacein_IC50_A_TRAP	Oleacein_IC50_S_TRAP	Oleacein_IC50_AUC_TRAP	Oleacein_IC50_A_PAF	Oleacein_I C50_S_PAF	Oleacein_I C50_AUC_PAF
r	0,866	-0,5	-0,5	0,211	-0,632	0,105	ND	ND	ND
p	0,333	0,667	0,667	0,789	0,368	0,895	ND	ND	ND

Γνωρίζοντας ότι τα δεδομένα δεν επαρκούν για το στατιστικό όλων των φαινολικών ενώσεων, καθώς ο αριθμός των επαναλήψεων των πειραμάτων ήταν <3, πραγματοποιήθηκε ανάλυση συσχέτισης των χαρακτηριστικών των εθελοντών (ηλικία, BMI και MPV) με τις IC50 μόνο για την ελαιοκανθάλη και της ελαιασίνη. Δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση για κανένα από τα 3 χαρακτηριστικά.

Συζήτηση

Οι ωφέλιμες επιδράσεις της Μεσογειακής Διατροφής έχουν αναγνωριστεί εδώ και δεκαετίες, με το έναυσμα να έχει δοθεί από τη Μελέτη των Επτά Χωρών που πρώτη ανέδειξε το ρόλο της Μεσογειακής Διατροφής στην υγεία. Στην περίπτωση της Μεσογειακής διατροφής, η κύρια πηγή πρόσληψη λίπους είναι το ελαιόλαδο, στο οποίο αποδίδονται σε μεγάλο βαθμό οι θετικές επιδράσεις της Μεσογειακής Δίαιτας. Ιστορικά, το ελαιόλαδο αναγνωρίζεται ως πολύτιμο φάρμακο ήδη από την Αρχαία Ελλάδα. Ο Ιπποκράτης αναφέρει περίπου 60 περιπτώσεις ασθενειών που το παρθένο ελαιόλαδο μπορεί να είναι ωφέλιμο. Για παράδειγμα σε δερματικές παθήσεις, εγκαύματα και πληγές. Μια τυπική ημερήσια κατανάλωση ελαιόλαδου για τους μεσογειακούς λαούς φτάνει περίπου τα 25-30 mL, είτε ωμό σε σαλάτες είτε κατά το μαγείρεμα του φαγητού. Έχουν ανιχνευτεί περίπου 36 φαινολικά συστατικά στο ελαιόλαδο και από μεγάλο αριθμό μελετών σε ανθρώπους *in vivo* και *in vitro* αναφέρονται αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες του ελαιόλαδου [42]. Στα φαινολικά συστατικά του αποδίδονται επιπλέον αντιαιμοπεταλιακές ιδιότητες. Πιο συγκεκριμένα, ενώσεις όπως η ελαιοευρωπαΐνη, η τυροσόλη και η υδροξυτυροσόλη, αναστέλλουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων μετά από ενεργοποίηση με αγωνιστές όπως το ADP, το κολλαγόνο ή το αραχιδονικό οξύ με κύριο τελικό αποτέλεσμα τη μείωση παραγωγής θρομβοξάνης A₂ [34, 36, 38, 39]. Το συγκεκριμένο εύρημα ανοίγει το δρόμο για περαιτέρω έρευνα σχετικά με την αντιαιμοπεταλιακή ικανότητα της διατροφής και πιο συγκεκριμένα του ελαιόλαδου. Για κάποιους ασθενείς, όπως για αυτούς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2, η αντιαιμοπεταλιακή αγωγή είναι απαραίτητη καθώς η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων λόγω της νόσου είναι αυξημένη. Όπως αναφέρθηκε στο εισαγωγικό μέρος, ο Σακχαρώδης Διαβήτης επιδρά στα αιμοπετάλια μέσω της υπεργλυκαιμίας αλλά και της ινσουλινοαντίστασης. Η υπεργλυκαιμία οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης ασβεστίου ενδοκυτταρικά με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του αιμοπεταλίου καθώς και την παραγωγή θρομβοξάνης A₂. Επίσης αλλάζει το σχήμα του αιμοπεταλίου ευνοώντας και με αυτό τον τρόπο την ενεργοποίησή του. Επιπλέον, τα αιμοπετάλια μπορεί να αποτελούν σημείο ινσουλινοαντίστασης. Η ινσουλίνη φυσιολογικά αναστέλλει τη μεταγωγή σήματος μέσω των υποδοχέων P2Y₁₂, μειώνοντας έτσι την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Σε περίπτωση μειωμένης έκκρισης ή προβληματικής δράσης της ινσουλίνης η δράση αυτή αναστέλλεται [14-16]. Οι ασθενείς με ΣΔ2 ακολουθούν αντιαιμοπεταλιακή φαρμακευτική αγωγή, με συνηθέστερη

τη χρήση ασπιρίνης. Όμως σε πολλές περιπτώσεις, οι ασθενείς δεν ανταποκρίνονται στη φαρμακευτική αγωγή, εμφανίζοντας το φαινόμενο της «αντίστασης στην ασπιρίνη» παρουσιάζοντας έτσι αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακού επεισοδίου [14-16]. Έτσι η διατροφική θεραπεία για την αναστολή της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, πιθανά μέσω της κατανάλωσης επαρκούς ποσότητας ελαιόλαδου, θα μπορούσε να αποτελέσει μία πιο αποτελεσματική αλλά και μόνιμη θεραπεία στην περίπτωση του ΣΔ2.

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η αντιαιμοπεταλιακή δράση φαινολικών ενώσεων που προέρχονται από ελαιόλαδο *ex vivo*, σε πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια. Για το σκοπό αυτό οι φαινολικές ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η ελαιοκανθάλη, η ελαιασίνη, η τυροσόλη, η υδροξυτυροσόλη, κυκλικό άγλυκο ελαιοευρωπαϊνης (KAP), ελαιοκανθαλικό οξύ και oleomissional. Για τις περισσότερες από αυτές τις ενώσεις υπάρχουν αναφορές στη βιβλιογραφία σχετικά με την αντιαιμοπεταλιακή τους δράση.

Η ελαιοκανθάλη, η οποία είναι η κύρια υπό μελέτη ουσία, έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας κυρίως για την αντιφλεγμονώδη δράση της η οποία προσομοιάζει εκείνη της ιβουπροφαίνης. Ο μηχανισμός δράσης της περιλαμβάνει την αναστολή των ενζύμων COX-1 και COX-2 και κατά συνέπεια την αναστολή παραγωγής προσταγλανδινών αλλά και θρομβοξανής A₂, η οποία προκαλεί ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων [39, 40]. Οι βιολογικές ιδιότητες της ελαιοκανθάλης, εκτός από την αντιφλεγμονώδη δράση της, περιλαμβάνουν την προστατευτική δράση ενάντια στη νόσο Alzheimer αλλά και αντικαρκινικές ιδιότητες [44]. Μέχρι σήμερα υπάρχει μόνο μία βιβλιογραφική αναφορά στην αντιαιμοπεταλιακή δράση της ελαιοκανθάλης, όπου φάνηκε ότι 40 ml εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου πλούσιο σε ελαιοκανθάλη (310 mg OC/kg ελαιόλαδου) μπορούν να μειώσουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων προκαλούμενη από κολλαγόνο [41, 43]. Η ποσότητα της ελαιοκανθάλης που περιέχεται στο ελαιόλαδο διαφέρει ανάλογα με την ποικιλία του. Για τις ελληνικές ποικιλίες ελαιόλαδου η ποσότητα της ελαιοκανθάλης κυμαίνεται από 284-711 mg/kg. Η ποσότητα της ελαιοκανθάλης που απορροφάται επίσης κυμαίνεται σε ένα εύρος 60-90%. Εάν η μέση ημερήσια κατανάλωση ελαιόλαδου είναι τα 50 g, η πρόσληψη ελαιοκανθάλης μπορεί να φτάσει τα 9 mg [42, 45].

Η υδροξυτυροσόλη ανήκει επίσης στις φαινολικές ενώσεις του ελαιόλαδου που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Με μία καθημερινή κατανάλωση ελαιόλαδου προσλαμβάνονται από τη διατροφή περίπου 5 mg υδροξυτυροσόλης ανά 20 g ελαιόλαδου [46].

Μελέτες *in vitro* σε ανθρώπινο αίμα έδειξαν αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων σε ένα εύρος συγκεντρώσεων 100-400 μM [39]. Η υδροξυτυροσώλη μπορεί να συντεθεί τεχνητά από τη βιομηχανία και χρησιμοποιείται σε φαρμακευτικά και καλλυντικά προϊόντα αλλά και στη βιομηχανία τροφίμων. Η πρώτη αναφορά στις αντιοξειδωτικές ιδιότητές της έγινε το 1995, ένα χρόνο μετά την πρώτη αναφορά στην αντιοξειδωτική ικανότητα της ελαιοευρωπαϊνης που αποτελεί μία από τις περισσότερο μελετημένες φαινολικές ουσίες του ελαιόλαδου. Η υδροξυτυροσώλη, εκτός τις από αντιοξειδωτικές ιδιότητες, εμπλέκεται στην καρδιαγγειακή νόσο μέσω αναστολής της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και αναστολής του ενζύμου 5-λιποξυγενάση *in vitro* [37].

Όσο αφορά τις υπόλοιπες φαινολικές ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν δεν υπάρχουν πολλά και συστηματικά δεδομένα από τη βιβλιογραφία. Η τυροσώλη φαίνεται να αναστέλλει την παραγωγή του λευκοτριενίου B₄ σε πειραματόζωα και την παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου από τα μακροφάγα, την απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος και τη σύνθεση προσταγλανδίνης E₂. Η αντιαιμοπεταλιακή της ικανότητα αναφέρεται, υπό την παρουσία και άλλων φαινολικών ενώσεων όπως η υδροξυτυροσώλη και η ελαιοευρωπαϊνή στη μελέτη των Petroni et al. Σε πιο πρόσφατες μελέτες, η τυροσώλη φαίνεται να αναστέλλει τη δράση του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) [47-50]. Τα δεδομένα σχετικά με τις βιολογικές ιδιότητες της ελαιασίνης είναι λίγα, παρόλο που υπάρχει σε μεγάλη ποσότητα στο ελαιόλαδο και διαφέρει ελάχιστα δομικά από την ελαιοκανθάλη. Μέχρι σήμερα υπάρχουν δεδομένα μόνο σχετικά με τις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες και πιο πρόσφατα για τις αντικαρκινικές της ιδιότητες (συγκεκριμένα για τον καρκίνο του δέρματος) ενώ θεωρείται επίσης αναστολέας του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης [44, 51]. Υπάρχει πληθώρα βιβλιογραφικών αναφορών για την προστατευτική δράση του άγλυκου της ελαιοευρωπαϊνης στη νόσο του Alzheimer, καμία όμως που να σχετίζεται με την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Το ελαιοκανθαλικό οξύ αποτελεί προϊόν οξείδωσης της ελαιοκανθάλης και ανιχνεύεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο ελαιόλαδο. Λαμβάνοντας υπόψη τον πιθανό προστατευτικό ρόλο της ελαιοκανθάλης στη νόσο Alzheimer, έχει προταθεί ότι το ελαιοκανθαλικό οξύ μπορεί επίσης να επιδρά θετικά στη συγκεκριμένη νόσο [52]. Τέλος, το oleomissional συμπεριλαμβάνεται στις ισομορφές άγλυκου ελαιοευρωπαϊνης, χωρίς να υπάρχει κάποια αναφορά μέχρι στιγμής στις βιολογικές του δράσεις [53].

Όπως φαίνεται στην εικόνα 4, οι χημικές δομές ανά ζεύγη ελαιοκανθάλης-ελαιασίνης και τυροσόλης-υδροξυτυροσόλης διαφέρουν ελάχιστα. Στο πρώτο ζεύγος η μόνη διαφοροποίηση είναι στην ομάδα R όπου υπάρχει ένα υδρογόνο ή ένα υδροξύλιο αντίστοιχα, ενώ το δεύτερο ζεύγος, όπως παραπέμπουν και τα ονόματα των ενώσεων, διαφέρει μόνο κατά ένα υδροξύλιο. Ανάμεσα στα δύο ζεύγη η διαφοροποίηση έγκειται στην παρουσία μιας διαλδεΐδης στις χημικές δομές ελαιοκανθάλης και ελαιασίνης.

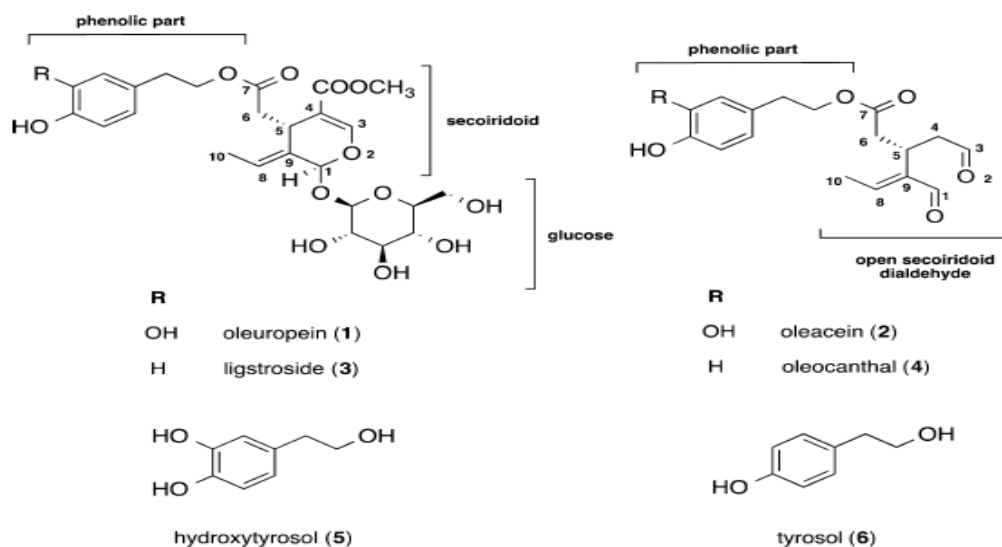
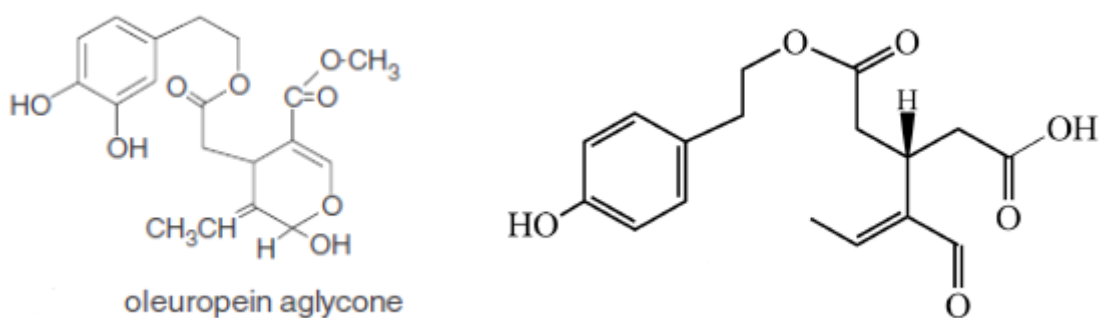
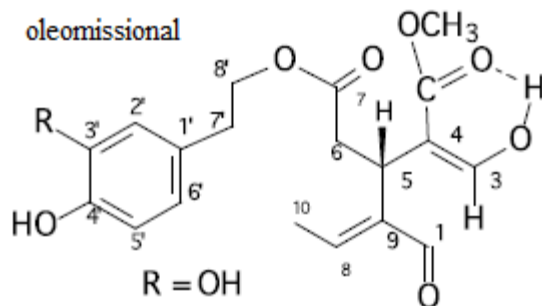


Figure 1. (A) Structures of oleuropein (1), oleacein (2), ligstroside (3), oleocanthal (4), hydroxytyrosol (5), and tyrosol (6) found in the leaves of *Olea europaea* and extra virgin olive oil (EVOO).

Ελαιοκανθαλικό οξύ





Εικόνα 5. Οι χημικές δομές των φαινολικών ενώσεων [44],[52, 53].

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν ελάχιστες αντίστοιχες μελέτες με τις οποίες μπορούν να συγκριθούν οι IC₅₀ των φαινολικών ενώσεων που μετρήθηκαν. Η πρώτη προσπάθεια προσδιορισμού της αντιαιμοπεταλιακής δράσης φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου έγινε το 1995 από τον Petroni και τους συνεργάτες του. Οι μόνες κοινές φαινολικές ενώσεις που χρησιμοποίησαν σε σχέση με την παρούσα μελέτη ήταν η τυροσόλη και η υδροξυτυροσόλη, αναμεμειγμένες με άλλα φαινολικά συστατικά και απομονώθηκαν ως παραπροϊόντα της εκχύλισης του ελαιόλαδου από τις ελιές. Το μείγμα αυτό προκάλεσε 80,0±0,7% αναστολή στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (PRP) προκαλούμενη από κολλαγόνο σε συγκέντρωση 20 ppm ισοδύναμα γαλλικού οξέος [48]. Το 2006 η Natella και οι συνεργάτες της έκαναν μια ανασκόπηση της μέχρι τότε βιβλιογραφίας σχετικά με την επίδραση των πολυφαινολών προερχόμενων από τη διατροφή στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων όπως είχαν προκύψει από *in vitro* μελέτες. Η μόνη φαινολική ουσία που αναφέρεται και έχει χρησιμοποιηθεί στην παρούσα μελέτη είναι η υδροξυτυροσόλη. Η συγκέντρωση στην οποία προκλήθηκε 50% αναστολή στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (PRP) επαγόμενη από ADP ήταν τα 23 μM [54]. Ωστόσο σε μία μεταγενέστερη μελέτη η IC₅₀ της υδροξυτυροσόλης σε PRP, με ενεργοποιητικό παράγοντα το ADP υπολογίστηκε στα 100 μM [55]. Τέλος οι Dell’Agli et al μελέτησαν την αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων (σ’ αυτή την περίπτωση χρησιμοποιήθηκαν «πλυμένα» αιμοπετάλια) από φαινόλες του ελαιόλαδου συμπεριλαμβανομένης της τυροσόλης, υδροξυτυροσόλης και του άγλυκου της ελαιοευρωπαϊνης. Δεν έχουν υπολογιστεί οι IC₅₀ για κάθε ουσία σε ξεχωριστά αλλά για τα μείγματα των φαινολικών ενώσεων ανάλογα με το αν ήταν πλούσια σε φαινόλες ή χαμηλής περιεκτικότητας. Ωστόσο, αναφέρεται ότι η τυροσόλη ανέστειλε την συσσώρευση των αιμοπεταλίων κατά 10,2±2,5%, η υδροξυτυροσόλη κατά 11,4±3,4% και το

κυκλικό άγλυκο ελαιοευρωπαϊνης κατά $75,4 \pm 4,5\%$, όλες σε συγκέντρωση $10 \mu\text{M}$ [56]. Συνεπώς δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί αντικειμενική σύγκριση των IC_{50} που μετρήθηκαν στην παρούσα μελέτη με αντίστοιχες της βιβλιογραφίας.

Παρόλο που η σύγκριση των IC_{50} που προέκυψαν στην παρούσα μελέτη δεν είναι εφικτή, είναι σημαντικό να γίνει μία σύγκριση της δράσης της ελαιοκανθάλης όπως προσδιορίστηκε στη μελέτη αυτή με τη δράση συνθετικών αναστολέων (φάρμακα) ή φαινολικών ενώσεων γνωστών για την αντιαιμοπεταλιακή τους δράση. Για να διευκολυνθεί η σύγκριση με τις τιμές της βιβλιογραφίας έγινε μετατροπή της IC_{50} της ελαιοκανθάλης (για την περίπτωση του ADP), από $0,05 \text{ mg/ml}$ σε $160 \mu\text{M}$. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το πιο σύνηθες αντιαιμοπεταλιακό φάρμακο είναι η ασπιρίνη (ακετυλοσαλικυλικό οξύ). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η αντίστοιχη συγκέντρωση (IC_{50}) του ακετυλοσαλικυλικού οξέος που προκαλεί 50% αναστολή στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (human, PRP) προκαλούμενη από ADP υπολογίζεται περίπου στα $1000 \mu\text{M}$. Η τιμή αυτή επιβεβαιώνεται μάλιστα από δύο πειραματικές μελέτες, καθιστώντας έτσι την ελαιοκανθάλη περισσότερο δραστική σε σχέση με την ασπιρίνη στην αναστολή συσσώρευσης των αιμοπεταλίων [55, 57]. Για την τικαγρελόρη (ticagrelor), ένα επίσης αντιαιμοπεταλιακό φάρμακο που εμποδίζει την προσκόλληση του ADP στα αιμοπετάλια και την ενεργοποίησή τους, η IC_{50} σε PRP με ενεργοποιητικό παράγοντα το ADP υπολογίζεται περίπου στα $50 \mu\text{M}$ αλλά στα $0,40 \mu\text{M}$ από μία δεύτερη, αντίστοιχη μελέτη [58, 59]. Τέλος, έχουν πραγματοποιηθεί αντίστοιχες πειραματικές μελέτες που εστιάζουν στα ενεργά συστατικά κάποιου άλλου φυσικού προϊόντος, όπως παραδείγματος χάρι η ρεσβερατρόλη που βρίσκεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο κρασί. Σε αιμοπετάλια (PRP) ενεργοποιημένα με ADP η IC_{50} ήταν περίπου τα $10 \mu\text{M}$ [60]. Φαίνεται, λοιπόν, πως αντιαιμοπεταλιακή δράση της ελαιοκανθάλης σύμφωνα με τα δεδομένα της παρούσας μελέτης μπορεί να έχει φυσιολογική σημασία και είναι συγκρίσιμη ακόμα και με εκείνη αντιαιμοπεταλιακών φαρμακευτικών παραγόντων.

Όλες οι φαινολικές ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη εμφάνισαν αντιαιμοπεταλιακή δράση σε ενεργοποιημένα αιμοπετάλια από τους τρεις αγωνιστές (ADP, TRAP και PAF). Εξαιρέση αποτελούν οι περιπτώσεις που δεν υπήρξαν δεδομένα για την IC_{50} φαινολικών ενώσεων μετά από τη χρήση TRAP. Οι IC_{50} των φαινολών διέφεραν μεταξύ τους, με την ελαιοκανθάλη να εμφανίζει τις χαμηλότερες τιμές σε όλες τις περιπτώσεις. Συνεπώς απαιτείται μικρότερη συγκέντρωση της ουσίας για να προκληθεί 50% αναστολή της ενεργοποίησης των

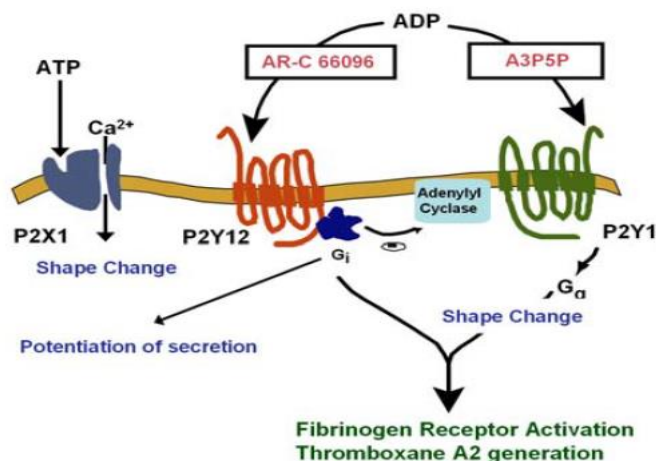
αιμοπεταλίων εμφανίζοντας έτσι καλύτερη αντιαιμοπεταλιακή δράση. Η σύγκριση όμως μεταξύ όλων των φαινολών μπορεί να είναι μόνο ποιοτική καθώς τα δεδομένα δεν επαρκούν για την εφαρμογή στατιστικού ελέγχου. Η μοναδική περίπτωση για την οποία αυτό ήταν εφικτό, ήταν για τη σύγκριση ελαιοκανθάλης και ελαιασίνης μετά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων με ADP και TRAP. Στην περίπτωση του ADP παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις IC50 (A) και IC50 (S) και στην περίπτωση του TRAP στις IC50 (S) της ελαιοκανθάλης και της ελαιασίνης. Ωστόσο οι χημικές δομές τους διαφέρουν ελάχιστα μεταξύ τους και δεν επαρκούν για να εξηγήσουν τη στατιστικά σημαντική διαφορά τους. Συγκρίνοντας ποιοτικά τις IC50, η ελαιοκανθάλη διαφέρει αισθητά μετά από ενεργοποίηση με ADP στην αναστολή της ποσότητας συσσώρευσης [IC50 (A)], με τις υπόλοιπες ουσίες να εμφανίζουν παραπλήσιες τιμές και μετά από ενεργοποίηση με TRAP στην ταχύτητα συσσώρευσης [IC50 (S)].

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε σύγκριση σε επίπεδο ενεργοποιητικών παραγόντων. Συγκρίθηκαν δηλαδή οι IC50 της κάθε φαινόλης για τους τρεις αγωνιστές. Στατιστικός έλεγχος εφαρμόστηκε μόνο στην περίπτωση της ελαιοκανθάλης, όπου δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά. Συγκρίνοντας ποιοτικά όμως τις τιμές των IC50 παρατηρείται καλύτερη δράση της ελαιοκανθάλης μετά από ενεργοποίηση με ADP, καλύτερη δράση του oleomissional μετά από ενεργοποίηση με TRAP, καλύτερη δράση του άγλυκου ελαιοευρωπαϊνης (KAP) μετά από ενεργοποίηση με ADP και καλύτερη δράση της υδροξυτυροσόλης μετά από ενεργοποίηση με PAF. Επομένως είναι πιθανό η ανασταλτική δράση να εξαρτάται από το είδος του ενεργοποιητικού παράγοντα. Ωστόσο τα δεδομένα δεν επαρκούν για να προκύψει ασφαλές συμπέρασμα καθώς οι επαναληπτικές μετρήσεις δεν ήταν αρκετές.

Πρέπει να ληφθεί υπόψιν ότι η προεπώση των φαινολικών ενώσεων με τους παραπάνω συσσωρευτικούς παράγοντες ήταν 1 min και δεν μπορεί να δικαιολογήσει μεγάλες αλλαγές στους μηχανισμούς μεταγωγής στα αιμοπετάλια. Συνεπώς, η αντιαιμοπεταλιακή δράση τους μπορεί να οφείλεται σε ανταγωνισμό για τον υποδοχέα του ενεργοποιητικού παράγοντα.

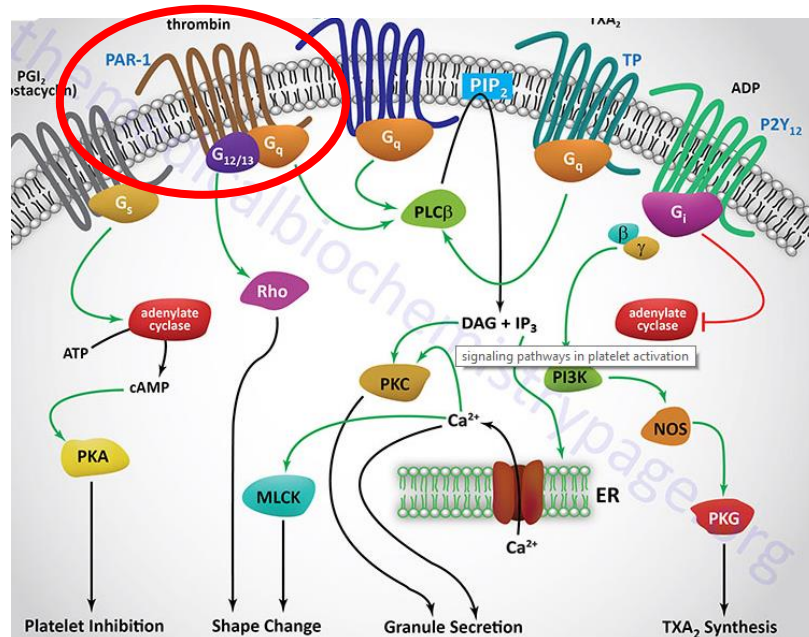
Η επαγόμενη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από το ADP πραγματοποιείται από δύο G πρωτεΐνες, υποδοχείς της αιμοπεταλιακής μεμβράνης, P2Y1 και P2Y12. Ο P2Y1 ξεκινά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, ενώ ο P2Y12 εμπλέκεται στην ενίσχυση της διαδικασίας ενεργοποίησης και τη σταθεροποίηση των συσσωμάτων [61]. Η GPIIb/IIIa (ιντεγκρίνη αIIbβ3) είναι ο υποδοχέας υπεύθυνος για την πρόσδεση του ινωδογόνου στα αιμοπετάλια, που έχει σαν

αποτέλεσμα τη συσσώρευση τους. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα GPIIb/IIIa είναι αποτέλεσμα της διέγερσης μίας ποικιλίας επιφανειακών υποδοχέων που αντιδρούν με την θρομβίνη, το κολλαγόνο, τις κατεχολαμίνες και το ADP. Η παραγωγή του GPIIb-IIIa στα συγκολλημένα αιμοπετάλια ενισχύεται από το ADP που απελευθερώνουν τα αιμοπετάλια. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από την ADP γίνεται με την σύνδεση του με έναν υποδοχέα που βρίσκεται πάνω στο γλυκοπρωτεϊνικό σύμπλεγμα GPIIb-IIIa που βρίσκεται πάνω στην αιμοπεταλιακή μεμβράνη [61].



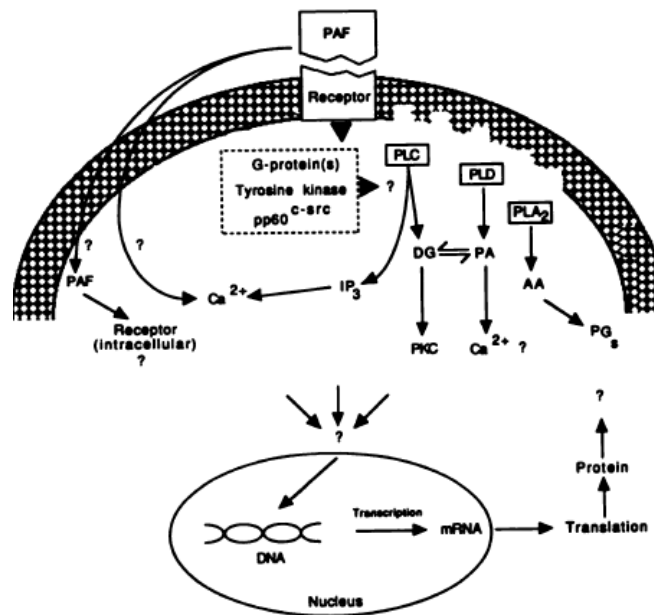
Εικόνα 6. Υποδοχείς ADP [62].

Το TRAP (thrombin receptor activating peptide) είναι ένα εξαπεπτίδιο που αντιστοιχεί στα αμινοξέα 42 έως 47 της θρομβίνης και μιμείται τις επιδράσεις της θρομβίνης όπως την συσσώρευση των αιμοπεταλίων, την αύξηση της φωσφορυλίωσης της τυροσίνης, την αναστολή της cAMP, και την αύξηση του κυτοσολικού ασβεστίου [63]. Ο υποδοχέας της θρομβίνης (PAR-1) αποτελεί μια διαμεμβρανική G-πρωτεΐνη. Η ενεργοποίηση του γίνεται με τη διάσπαση, από την πρωτεύση της σερίνης, του αμινοτελικού άκρου του, που βρίσκεται εξωτερικά του κυττάρου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την έκθεση ενός προσδέτη αγωνιστή, που είναι συνδεδεμένος με το ίδιο τον υποδοχέα. Πεπτίδια που έχουν ίδια σειρά αμινοξέων με τον αγωνιστή (Ser-Phe-Leu-Leu-Arg-Asn) είναι ικανά να προκαλέσουν την ενεργοποίηση αυτού του υποδοχέα [64].



Εικόνα 7. Υποδοχείς TRAP [65].

Ο Παράγοντας Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF) 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφο-χολίνη, είναι ένας σημαντικός φλεγμονώδης παράγοντας, φωσφολιπιδικής φύσης, που δρα μέσω ενός διαμεμβρανικού υποδοχέα G-πρωτεΐνης. Ο PAF απελευθερώνεται από διάφορα κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των αιμοπεταλίων και είναι ένας σημαντικός παράγοντας της φλεγμονής και της αναφυλαξίας [66].

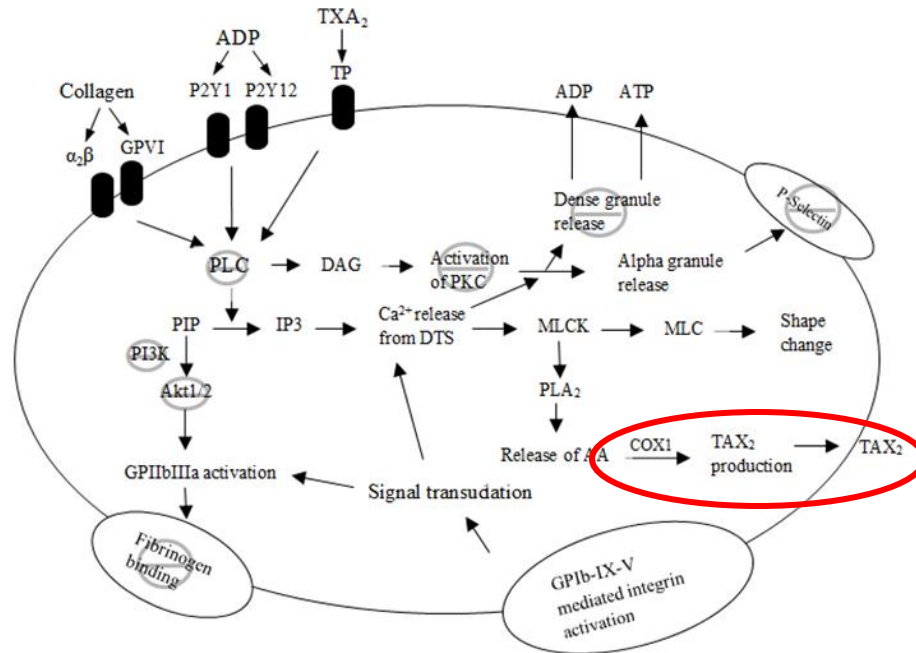


Εικόνα 8. Υποδοχείς PAF [67].

Οι πιθανές διαφοροποιήσεις μεταξύ των παραγόντων μπορεί να οφείλονται σε μικρές διαφοροποιήσεις της δομής των υποδοχέων τους ή στον τρόπο με τον οποίο συνδέεται η ελαιοκανθάλη στον υποδοχέα των αγωνιστών. Ωστόσο δεν έχουν πραγματοποιηθεί αντίστοιχα πειράματα μέχρι στιγμής ώστε να συγκριθούν τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης.

Παρόλα αυτά, ενώ οι υποδοχείς των τριών συσσωρευτικών παραγόντων έχουν διαφορετική δομή, η δράση της ελαιοκανθάλης δεν διαφέρει δραματικά ανάμεσα στους τρεις παράγοντες. Ίσως λοιπόν να μεσολαβεί κάποιος άλλος μηχανισμός, ο οποίος εμπλέκεται στο μονοπάτι μεταγωγής σήματος του κάθε παράγοντα. Ιδιαίτερα στην περίπτωση της ελαιοκανθάλης, όπου υπάρχουν περισσότερες επαναληπτικές μετρήσεις, είναι χαρακτηριστικό ότι η IC₅₀ (A) (η οποία σχετίζεται με την ποσότητα της συσσώρευσης) είναι 0,0564 [0,04-0,1592] μετά από ενεργοποίηση με ADP, πολύ μικρότερη δηλαδή από τις αντίστοιχες μετά από ενεργοποίηση με TRAP και PAF (0,1416 [0,0216-0,328] και 0,1696 [0,136-0,184]). Αυτό ίσως οφείλεται στο γεγονός ότι το ADP εμπλέκεται στο μονοπάτι ενεργοποίησης του ενζύμου COX και γνωρίζουμε ότι η ίδια ελαιοκανθάλη είναι αναστολέας του συγκεκριμένου ενζύμου.

Ωστόσο, τα δεδομένα της παρούσας μελέτης δεν επαρκούν για να εξαχθούν σαφή συμπεράσματα σχετικά με τις συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων που απαιτούνται για να επιτευχθεί 50% αναστολή στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων όπως επίσης σχετικά με το μηχανισμό δράσης τους και το πώς μπορεί αυτός να σχετίζεται από τον εκάστοτε ενεργοποιητικό παράγοντα. Γι'αυτό το σκοπό απαιτείται περαιτέρω έρευνα καθώς και διεξαγωγή κλινικών δοκιμών.



Εικόνα 9. Μονοπάτι μεταγωγής σήματος ADP [68].

Συμπερασματικά, όλα τα φαινολικά συστατικά του ελαιόλαδου που μελετήθηκαν ασκούν ex vivo αντιαιμοπεταλιακή δράση. Αυτό υποδεικνύει ότι η καθημερινή κατανάλωση έξτρα παρθένου ελαιόλαδου πιθανόν να ασκεί μία ήπια αντιαιμοπεταλιακή δράση. Ωστόσο υπάρχει ανάγκη διεξαγωγής κλινικών μελετών ώστε να επιβεβαιωθεί. Η ελαιοκανθάλη εμφανίζει την καλύτερη δράση και άρα ελαιόλαδα πολύ πλούσια σε ελαιοκανθάλη ή εκχυλίσματα ελαιοκανθάλης θα μπορούσαν να δράσουν φαρμακολογικά ως αντιαιμοπεταλιακοί παράγοντες. Αυτό που είναι σημαντικό να επισημανθεί είναι το γεγονός ότι το σύνολο των φαινολικών συστατικών του ελαιόλαδου εμφανίζει αντιαιμοπεταλιακή δράση, επιβεβαιώνοντας για μια ακόμα φορά τη μεγάλη διατροφική του αξία.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Holinstat, M., *Normal platelet function*. Cancer Metastasis Rev, 2017. **36**(2): p. 195-198.
2. Arthur Vander, J.S., Dorothy Luciano, *Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*. 8th ed 2013, New York: MC Graw-Hill.
3. Wachowicz, B., et al., *The physiology of blood platelets and changes of their biological activities in multiple sclerosis*. Acta Neurobiol Exp (Wars), 2016. **76**(4): p. 269-281.
4. Kaushansky, K., *Hematopoietic growth factors, signaling and the chronic myeloproliferative disorders*. Cytokine Growth Factor Rev, 2006. **17**(6): p. 423-30.
5. Lefrancais, E., et al., *The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors*. Nature, 2017. **544**(7648): p. 105-109.
6. Pieters, M. and M.P. de Maat, *Diet and haemostasis - a comprehensive overview*. Blood Rev, 2015. **29**(4): p. 231-41.
7. Pasalic, L., S.S. Wang, and V.M. Chen, *Platelets as Biomarkers of Coronary Artery Disease*. Semin Thromb Hemost, 2016. **42**(3): p. 223-33.
8. Russo, I., et al., *Platelets, diabetes and myocardial ischemia/reperfusion injury*. Cardiovasc Diabetol, 2017. **16**(1): p. 71.
9. Humpel, C., *Platelets: Their Potential Contribution to the Generation of Beta-amyloid Plaques in Alzheimer's Disease*. Curr Neurovasc Res, 2017. **14**(3): p. 290-298.
10. Behari, M. and M. Shrivastava, *Role of platelets in neurodegenerative diseases: a universal pathophysiology*. Int J Neurosci, 2013. **123**(5): p. 287-99.
11. Dovizio, M., et al., *Role of platelets in inflammation and cancer: novel therapeutic strategies*. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2014. **114**(1): p. 118-27.
12. Franco, A.T., A. Corken, and J. Ware, *Platelets at the interface of thrombosis, inflammation, and cancer*. Blood, 2015. **126**(5): p. 582-8.
13. Lisman, T. and J.P. Luyendyk, *Platelets as Modulators of Liver Diseases*. Semin Thromb Hemost, 2018. **44**(2): p. 114-125.
14. Santilli, F., et al., *Platelets and diabetes mellitus*. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2015. **120**: p. 28-39.
15. Neergaard-Petersen, S., et al., *Platelets and Antiplatelet Therapy in Patients with Coronary Artery Disease and Diabetes*. Semin Thromb Hemost, 2016. **42**(3): p. 234-41.
16. Vazzana, N., et al., *Diabetes mellitus and thrombosis*. Thromb Res, 2012. **129**(3): p. 371-7.
17. Bachmair, E.M., et al., *Dietary manipulation of platelet function*. Pharmacol Ther, 2014. **144**(2): p. 97-113.
18. Petsini, F., E. Fragopoulou, and S. Antonopoulou, *Fish consumption and cardiovascular disease related biomarkers: A review of clinical trials*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2018: p. 1-11.
19. Violi, F., P. Pignatelli, and S. Basili, *Nutrition, supplements, and vitamins in platelet function and bleeding*. Circulation, 2010. **121**(8): p. 1033-44.
20. Ostertag, L.M., et al., *Impact of dietary polyphenols on human platelet function--a critical review of controlled dietary intervention studies*. Mol Nutr Food Res, 2010. **54**(1): p. 60-81.
21. Faggio, C., et al., *Flavonoids and platelet aggregation: A brief review*. Eur J Pharmacol, 2017. **807**: p. 91-101.
22. Olas, B., *The multifunctionality of berries toward blood platelets and the role of berry phenolics in cardiovascular disorders*. Platelets, 2017. **28**(6): p. 540-549.
23. McEwen, B.J., *The influence of diet and nutrients on platelet function*. Semin Thromb Hemost, 2014. **40**(2): p. 214-26.

24. Peluso, I., M. Palmery, and M. Serafini, *Effect of cocoa products and flavanols on platelet aggregation in humans: a systematic review*. Food Funct, 2015. **6**(7): p. 2128-34.
25. Chong, M.F., R. Macdonald, and J.A. Lovegrove, *Fruit polyphenols and CVD risk: a review of human intervention studies*. Br J Nutr, 2010. **104 Suppl 3**: p. S28-39.
26. Zhao, C.N., et al., *Fruits for Prevention and Treatment of Cardiovascular Diseases*. Nutrients, 2017. **9**(6).
27. O'Kennedy, N., D. Raederstorff, and A.K. Duttaroy, *Fruitflow((R)): the first European Food Safety Authority-approved natural cardio-protective functional ingredient*. Eur J Nutr, 2017. **56**(2): p. 461-482.
28. Gasper, A., et al., *Consumption of both low and high (-)-epicatechin apple puree attenuates platelet reactivity and increases plasma concentrations of nitric oxide metabolites: a randomized controlled trial*. Arch Biochem Biophys, 2014. **559**: p. 29-37.
29. Raubenheimer, K., et al., *Acute Effects of Nitrate-Rich Beetroot Juice on Blood Pressure, Hemostasis and Vascular Inflammation Markers in Healthy Older Adults: A Randomized, Placebo-Controlled Crossover Study*. Nutrients, 2017. **9**(11).
30. Xanthopoulou, M.N., et al., *Wine consumption reduced postprandial platelet sensitivity against platelet activating factor in healthy men*. Eur J Nutr, 2017. **56**(4): p. 1485-1492.
31. Vignini, A., et al., *Effect of 1-y oral supplementation with vitaminized olive oil on platelets from healthy postmenopausal women*. Nutrition, 2017. **42**: p. 92-98.
32. Cottin, S.C., et al., *Lack of effect of supplementation with EPA or DHA on platelet-monocyte aggregates and vascular function in healthy men*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2016. **26**(8): p. 743-51.
33. O'Kennedy, N., et al., *A randomised controlled trial comparing a dietary antiplatelet, the water-soluble tomato extract Fruitflow, with 75 mg aspirin in healthy subjects*. Eur J Clin Nutr, 2017. **71**(6): p. 723-730.
34. Vilahur, G. and L. Badimon, *Antiplatelet properties of natural products*. Vascul Pharmacol, 2013. **59**(3-4): p. 67-75.
35. Karantonis, H.C., S. Antonopoulou, and C.A. Demopoulos, *Antithrombotic lipid minor constituents from vegetable oils. Comparison between olive oils and others*. J Agric Food Chem, 2002. **50**(5): p. 1150-60.
36. Lopez-Miranda, J., et al., *Olive oil and the haemostatic system*. Mol Nutr Food Res, 2007. **51**(10): p. 1249-59.
37. Visioli, F. and E. Bernardini, *Extra virgin olive oil's polyphenols: biological activities*. Curr Pharm Des, 2011. **17**(8): p. 786-804.
38. Perez-Jimenez, F., et al., *Olive oil and haemostasis: a review on its healthy effects*. Public Health Nutr, 2006. **9**(8A): p. 1083-8.
39. Cicerale, S., L. Lucas, and R. Keast, *Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil*. Int J Mol Sci, 2010. **11**(2): p. 458-79.
40. Pang, K.L. and K.Y. Chin, *The Biological Activities of Oleocanthal from a Molecular Perspective*. Nutrients, 2018. **10**(5).
41. Segura-Carretero, A. and J.A. Curiel, *Current Disease-Targets for Oleocanthal as Promising Natural Therapeutic Agent*. Int J Mol Sci, 2018. **19**(10).
42. Parkinson, L. and R. Keast, *Oleocanthal, a phenolic derived from virgin olive oil: a review of the beneficial effects on inflammatory disease*. Int J Mol Sci, 2014. **15**(7): p. 12323-34.
43. Agrawal, K., et al., *Oleocanthal-rich extra virgin olive oil demonstrates acute anti-platelet effects in healthy men in a randomized trial*. J Funct Foods, 2017. **36**: p. 84-93.
44. Vougiotiannopoulou, K., et al., *One-step semisynthesis of oleacein and the determination as a 5-lipoxygenase inhibitor*. J Nat Prod, 2014. **77**(3): p. 441-5.

45. Beauchamp, G.K., et al., *Phytochemistry: ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil*. Nature, 2005. **437**(7055): p. 45-6.
46. Nikou, T., et al., *Comparison survey of EVOO polyphenols and exploration of healthy aging-promoting properties of oleocanthal and oleacein*. Food Chem Toxicol, 2019. **125**: p. 403-412.
47. Rafehi, H., K. Ververis, and T.C. Karagiannis, *Mechanisms of action of phenolic compounds in olive*. J Diet Suppl, 2012. **9**(2): p. 96-109.
48. Petroni, A., et al., *Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil*. Thromb Res, 1995. **78**(2): p. 151-60.
49. Fragopoulou, E., et al., *Biological activity of acetylated phenolic compounds*. J Agric Food Chem, 2007. **55**(1): p. 80-9.
50. Vlachogianni, I.C., et al., *Platelet Activating Factor (PAF) biosynthesis is inhibited by phenolic compounds in U-937 cells under inflammatory conditions*. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2015. **121**(Pt B): p. 176-83.
51. Polini, B., et al., *Oleocanthal and oleacein contribute to the in vitro therapeutic potential of extra virgin oil-derived extracts in non-melanoma skin cancer*. Toxicol In Vitro, 2018. **52**: p. 243-250.
52. Tsolakou, A., et al., *Oleocanthalic Acid, a Chemical Marker of Olive Oil Aging and Exposure to a High Storage Temperature with Potential Neuroprotective Activity*. J Agric Food Chem, 2018. **66**(28): p. 7337-7346.
53. Panagiotis Diamantakos, A.V., K. Brian Killday, Thanasis Gimisis, Eleni Melliou, Prokopios Magiatis *Oleokoronal and oleomissional: new major phenolic ingredients of extra virgin olive oil*. Olivae, 2015(122): p. 22-33.
54. Nardini, M., F. Natella, and C. Scaccini, *Role of dietary polyphenols in platelet aggregation. A review of the supplementation studies*. Platelets, 2007. **18**(3): p. 224-43.
55. Correa, J.A., et al., *Virgin olive oil polyphenol hydroxytyrosol acetate inhibits in vitro platelet aggregation in human whole blood: comparison with hydroxytyrosol and acetylsalicylic acid*. Br J Nutr, 2009. **101**(8): p. 1157-64.
56. Dell'Agli, M., et al., *Inhibition of platelet aggregation by olive oil phenols via cAMP-phosphodiesterase*. Br J Nutr, 2008. **99**(5): p. 945-51.
57. de la Cruz, J.P., et al., *Effects of acetylsalicylic acid on platelet aggregation in male and female whole blood: an in vitro study*. Scand J Haematol, 1986. **36**(4): p. 394-7.
58. Li, M.P., et al., *Influence of P2Y12 polymorphisms on platelet activity but not ex-vivo antiplatelet effect of ticagrelor in healthy Chinese male subjects*. Blood Coagul Fibrinolysis, 2015. **26**(8): p. 874-81.
59. Nylander, S. and R. Schulz, *Effects of P2Y12 receptor antagonists beyond platelet inhibition--comparison of ticagrelor with thienopyridines*. Br J Pharmacol, 2016. **173**(7): p. 1163-78.
60. Wang, Z., et al., *Effects of red wine and wine polyphenol resveratrol on platelet aggregation in vivo and in vitro*. Int J Mol Med, 2002. **9**(1): p. 77-9.
61. Καλλιακμάνης, Α., *Η Δράση του ADP στη Μορφολογία του Αιμοπεταλίου και ο Ρόλος των Θεienoπυριδινών*. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής ed2000.
62. Murugappa, S. and S.P. Kunapuli, *The role of ADP receptors in platelet function*. Front Biosci, 2006. **11**: p. 1977-86.
63. Landesberg, R., et al., *Activation of platelet-rich plasma using thrombin receptor agonist peptide*. J Oral Maxillofac Surg, 2005. **63**(4): p. 529-35.
64. Ceruso, M.A., et al., *Thrombin receptor-activating peptides (TRAPs): investigation of bioactive conformations via structure-activity, spectroscopic, and computational studies*. Bioorg Med Chem, 1999. **7**(11): p. 2353-71.
65. King, M.W. *Hemostasis: Biochemistry of Blood Coagulation*. 2019 21/02/2019].

66. Fragopoulou, E., et al., *Structure elucidation of phenolic compounds from red/white wine with antiatherogenic properties*. Biochim Biophys Acta, 2003. **1632**(1-3): p. 90-9.
67. Shukla, S.D., *Platelet-activating factor receptor and signal transduction mechanisms*. FASEB J, 1992. **6**(6): p. 2296-301.
68. Mosawy, S., *Effect of the Flavonol Quercetin on Human Platelet Function: A Review*. Food and Public Health, 2015. **5**(1): p. 1-9.