



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΕΚΔΗΛΩΣΕΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟΥ
ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ, ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΤΗ
ΔΕΚΑΕΤΗ ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΤΗΣ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΝΟΣΟΥ. ΔΕΚΑΕΤΗΣ
ΕΠΑΝΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΑΤΤΙΚΗ (2002 - 2012)**

ΓΕΩΡΓΙΑ-ΜΑΡΙΑ ΚΟΥΛΗ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ, 2019

Η έγκριση της παρούσας διδακτορικής διατριβής από το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο
δε δηλώνει αποδοχή των απόψεων της συγγραφέως.

(Ν. 5343/1932, άρθρο 202)

ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Παναγιωτάκος Δημοσθένης, Καθηγητής Βιοστατιστικής-Επιδημιολογίας της Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας- Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών (Επιβλέπον μέλος)

Τσίγκος Κωνσταντίνος, Καθηγητής Διατροφής και Μεταβολισμού Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας- Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών

Κύρου Ιωάννης, Assistant Professor: Clinical Lecturer in Metabolic Medicine and Nutrition Aston Medical School, Aston University, UK

ΜΕΛΗ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Παναγιωτάκος Δημοσθένης, Καθηγητής Βιοστατιστικής-Επιδημιολογίας της Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας- Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο (Επιβλέπον μέλος)

Τσίγκος Κωνσταντίνος, Καθηγητής Διατροφής και Μεταβολισμού Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας- Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών

Κύρου Ιωάννης, Assistant Professor: Clinical Lecturer in Metabolic Medicine and Nutrition Aston Medical School, Aston University, UK

Κωνσταντίνος Τσιούφης, Καθηγητής Καρδιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Μαρία Γιαννακούλια, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Διατροφής και Διαιτητικής Συμπεριφοράς, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας- Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Αδριάννα Καλιώρα, Επίκουρη Καθηγήτρια Διατροφή του Ανθρώπου και Τρόφιμα, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας- Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Βασιλική Κωσταρέλη, Επίκουρη Καθηγήτρια Διατροφική Συμπεριφορά και Υγεία, Τμήμα Οικιακής Οικονομίας και Οικολογίας, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Η Γεωργία-Μαρία Κούλη 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 087 αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Σύντομο Βιογραφικό Σημείωμα

Η **Γεωργία-Μαρία Κούλη** είναι απόφοιτος του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου (2013, Βαθμός Πτυχίου 7.9/10, και κάτοχος του μεταπτυχιακού τίτλου (MSc) στην «Κλινική Διατροφή» από το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών με βαθμό πτυχίου «Λίαν Καλώς» Οκτώ και Ένα Δέκατο (8,1) με θέμα «Διατροφικές συνήθειες, σακχαρώδης διαβήτης και 10ετής καρδιαγγειακός κίνδυνος, σε ασθενείς με Οξύ Στεφανιαίο Επεισόδιο: επιδημιολογική μελέτη GREECS». Η διδακτορική της διατριβή με θέμα «Διερεύνηση της σχέσης μεταξύ εκδηλώσεων μεταβολικού συνδρόμου, κλινικών και διατροφικών παραμέτρων στη 10ετή επίπτωση της καρδιαγγειακής νόσου. Μελέτη ΑΤΤΙΚΗ (2002-2012)» εκπονήθηκε στο τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, σε συνεργασία με την Α' Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Η κα. Κούλη εργάζεται 5 έτη και ως κλινική διαιτολόγος με έμφαση σε ασθενείς με καρδιαγγειακά νοσήματα. Έχει συγγράψει ένα Κεφάλαιο σε βιβλίο, 27 δημοσιεύσεις σε έγκριτα διεθνή επιστημονικά περιοδικά, καθώς και περισσότερες από 30 ανακοινώσεις σε Διεθνή και Ελληνικά συνέδρια.

Δημοσιεύσεις που προέκυψαν από τη Διδακτορική Διατριβή

Κεφάλαια σε βιβλία

1. «Ελαιόλαδο και πρόληψη καρδιαγγειακών νοσημάτων, καρκίνου και άλλων χρόνιων παθήσεων». Εγκυκλοπαίδεια Ελαιοκομία: Το ελαιόλαδο, Άξιον Εκδοτική, 2017

Άρθρα σε Διεθνή περιοδικά

1. Kyrou I, Panagiotakos DB, **Kouli GM**, Georgousopoulou E, Chrysohoou C, Tsigos C, Tousoulis D, Pitsavos C. Lipid accumulation product in relation to 10-year cardiovascular disease incidence in Caucasian adults: The ATTICA study. *Atherosclerosis*. 2018;279:10-16.
2. Panagiotakos DB, **Kouli GM**, Magriplis E, Kyrou I, Georgousopoulou EN, Chrysohoou C, Tsigos C, Tousoulis D, Pitsavos C. Beer, wine consumption, and 10-year CVD incidence: the ATTICA study. *Eur J Clin Nutr*. 2018 Aug 30.
3. **Kouli GM**, Panagiotakos DB, Kyrou I, Magriplis E, Georgousopoulou EN, Chrysohoou C, Tsigos C, Tousoulis D, Pitsavos C. Olive oil consumption and 10-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence: the ATTICA study. *Eur J Nutr*. 2017 Nov 9.
4. **Kouli GM**, Panagiotakos DB, Kyrou I, Georgousopoulou EN, Chrysohoou C, Tsigos C, Tousoulis D, Pitsavos C. Visceral adiposity index and 10-year Cardiovascular Disease incidence: the ATTICA Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2017 July 8.
5. **Kouli GM**, Panagiotakos DB, Georgousopoulou EN, Mellor DD, Chrysohoou C, Zana A, Tsigos C, Tousoulis D, Stefanadis C, Pitsavos C. J-shaped relationship between habitual coffee consumption and 10-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence: the ATTICA study. *Eur J Nutr*. 2017 Apr 19.
6. Georgousopoulou EN, **Kouli GM**, Panagiotakos DB, Kalogeropoulou A, Zana A, Chrysohoou C, Tsigos C, Tousoulis D, Stefanadis C, Pitsavos C. Anti-inflammatory diet and 10-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence: The ATTICA study. *Int J Cardiol*. 2016;222:473-8.

Ανακοινώσεις σε συνέδρια

1. **Γ.Μ. Κούλη**, Δ. Παναγιωτάκος, Χ. Χρυσόχου, Κ. Τσίγκος, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος «Παραβολική σχέση ανάμεσα στη συνήθη κατανάλωση καφέ και τη 10ετή επίπτωση καρδιαγγειακής νόσου (2002-2012): “Μελέτη ΑΤΤΙΚΗ” στο 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Διατροφής & Διαιτολογίας, (Αθήνα, 24-26 Νοεμβρίου 2017).
2. **Γ.Μ. Κούλη**, Δ. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Κ. Τσίγκος, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος «Παραβολική σχέση ανάμεσα στη συνήθη κατανάλωση καφέ και τη 10ετή επίπτωση καρδιαγγειακής νόσου (2002-2012): “Μελέτη ΑΤΤΙΚΗ” παρουσίαση ως Προφορική Ελεύθερη Ανακοίνωση στο 38^ο Πανελλήνιο Επετειακό Καρδιολογικό Συνέδριο (Αθήνα, 19-21 Οκτωβρίου 2017).
3. **Γ.Μ. Κούλη**, Δ. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Κ. Τσίγκος, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος «Παραβολική σχέση ανάμεσα στη συνήθη κατανάλωση καφέ και τη 10ετή επίπτωση καρδιαγγειακής νόσου (2002-2012): “Μελέτη ΑΤΤΙΚΗ” παρουσίαση ως Προφορική Ελεύθερη Ανακοίνωση στο 38^ο Πανελλήνιο Επετειακό Καρδιολογικό Συνέδριο (Αθήνα, 19-21 Οκτωβρίου 2017).
4. **Γ.Μ. Κούλη**, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Ν. Σκουρλής, Β. Μεταξά, Χ. Χατζηνικολάου, Ι. Σκούμας, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος, και η ομάδα ΑΤΤΙΚΗ «Μεσογειακή δίαιτα, φλεγμονή και δεκαετής επίπτωση μη-θανατηφόρου καρδιαγγειακού επεισοδίου σε υπέρβαρους άνδρες και γυναίκες: δεκαετής επανέλεγχος (2002-2012) της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ» παρουσίαση ως Προφορική Ελεύθερη Ανακοίνωση στο 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Αθηροσκλήρωσης (Αθήνα, 1-3 Δεκεμβρίου 2016).
5. **Γ.Μ.Κούλη**, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε.Ν. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Α. Γκρέκας, Χ. Σταμούλη, Μ. Χατζηγεωργίου, Ι. Σκούμας, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος, και η ομάδα ΑΤΤΙΚΗ «Ο διαμεσολαβητικός ρόλος της φλεγμονής στην προστατευτική δράση της Μεσογειακής διαίτας στη 10ετή επίπτωση μη-θανατηφόρου καρδιαγγειακού επεισοδίου: 10ετής επανέλεγχος (2002-2012) της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ» παρουσίαση ως Προφορική Ελεύθερη Ανακοίνωση στο 37^ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο (Αθήνα, 20-22 Οκτωβρίου 2016). **Β' ΒΡΑΒΕΙΟ ΚΑΛΥΤΕΡΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.**
6. **Γ. Μ. Κούλη**, Δ. Β. Παναγιωτάκος, Ε. Μαгриπλή, Ι. Κύρου, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Κ. Τσίγκος, Δ. Τουσούλης, Χ. Πίτσαβος. Κατανάλωση μύρας, κρασιού και 10ετής επίπτωση καρδιαγγειακής νόσου (2002-2012): Μελέτη «ΑΤΤΙΚΗ» παρουσίαση ως Επιτοίχια Παρουσίαση εργασίας στο 8^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης (Αθήνα, 29/11-01/12 2018).
7. **Georgia-Maria Kouli**, Demosthenes B. Panagiotakos, Ekavi Georgousopoulou, Christina Chrysohoou², Dimitrios Tousoulis, Christos Pitsavos Exclusive olive oil consumption and 10-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence: the ATTICA Study παρουσίαση ως Επιτοίχια Παρουσίαση εργασίας στο ESC Congress 2018, Munich, Germany, 25-29 August 2018.
8. **GM. Kouli**, D B. Panagiotakos, I. Kyrou, E. Magriplis, E. Georgousopoulou, C. Chrysohoou, C. Tsigos, D. Tousoulis, C. Pitsavos. Exclusive olive oil consumption and 10-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence: the ATTICA Study. EuroPrevent 2018; ESC, Slovenia, 19-21 April, 2018.
9. **Γ. Μ. Κούλη**, Β. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Κ. Τσίγκος, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος. «Αντιφλεγμονώδης διατροφή και 10ετής επίπτωση καρδιαγγειακής νόσου (2002-2012): Μελέτη «Αττική» 7^ο Πανελλήνιο Συμπόσιο Ομάδων Εργασίας της Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης (Αθήνα, 1-2 Δεκεμβρίου 2017).

10. **Kouli GM.**, Panagiotakos D B., Georgousopoulou E., Mellor D., Zana A., Tsigos C., Tousoulis D., Stefanadis C., Pitsavos C. J-shaped relationship between habitual coffee drinking and 10-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence: the ATTICA study. ESC Congress 2017, Barcelona, Spain.
11. **Georgia-Maria Kouli**, Demosthenes B. Panagiotakos, Ekavi N Georgousopoulou, Aikaterini Kalogeropoulou, Adela Zana, Christina Chrysohoou, Constantine Tsigos, Dimitrios Tousoulis, Christodoulos Stefanadis, Christos Pitsavos. Effect of an anti-Inflammatory Diet on 10-year (2002-2012) Cardiovascular Disease incidence among healthy adults: the ATTICA Study poster presentation in Europrevent 2017 (Malaga, Spain 6-8 April 2017).
12. **Γ.Μ.Κούλη**, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Ν. Σκουρλής, Β. Μεταξά, Χ. Χατζηνικολάου, Ι. Σκούμας, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος, και η ομάδα ΑΤΤΙΚΗ «Διατροφικά πρότυπα και επίπτωση της καρδιαγγειακής νόσου: δεκαετής επανέλεγχος της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ (2002-2012)». Επιτοίχια Παρουσίαση εργασίας στο 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Αθηροσκλήρωσης (Αθήνα, 1-3 Δεκεμβρίου 2016).
13. **Γ.Μ.Κούλη**, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Α. Χρήστου, Ε. Κόκκου, Α. Ζάνα, Ι. Σκούμας, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος, και η ομάδα ΑΤΤΙΚΗ «Επίδραση της κατανάλωσης αλκοόλ στην αρτηριακή πίεση σε υγιή άτομα: δεκαετής επανέλεγχος μελέτης ΑΤΤΙΚΗ» Επιτοίχια Παρουσίαση εργασίας στο 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Αθηροσκλήρωσης (Αθήνα, 1-3 Δεκεμβρίου 2016).
14. **Γ.Μ.Κούλη**, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Α. Ζάνα, Λ. Παπαδημητρίου, Κ. Καλογεροπούλου, Ι. Σκούμας, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος, και η ομάδα ΑΤΤΙΚΗ «Γαλακτοκομικά προϊόντα και δεκαετής επίπτωση καρδιαγγειακής νόσου σε υγιή άτομα: δεκαετής επανέλεγχος μελέτης ΑΤΤΙΚΗ (2002-2012)». Επιτοίχια Παρουσίαση εργασίας στο 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Αθηροσκλήρωσης (Αθήνα, 1-3 Δεκεμβρίου 2016).
15. **Γ.Μ.Κούλη**, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Ν. Σκουρλής, Β. Μεταξά, Χ. Χατζηνικολάου, Ι. Σκούμας, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος, και η ομάδα ΑΤΤΙΚΗ «Παράλληλη ύπαρξη υπέρβαρου/παχυσαρκίας και μεταβολικού συνδρόμου συνδέονται με αυξημένο δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο σε υγιή άτομα δεκαετής επανέλεγχος μελέτης ΑΤΤΙΚΗ (2002-2012)». Επιτοίχια Παρουσίαση εργασίας στο 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Αθηροσκλήρωσης (Αθήνα, 1-3 Δεκεμβρίου 2016).
16. **Γ.Μ.Κούλη**, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Α. Χρήστου, Ε. Κόκκου, Α. Ζάνα, Ι. Σκούμας, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος, και η ομάδα ΑΤΤΙΚΗ «Συσχέτιση κατανάλωσης καφέ, Μεσογειακή διατροφή και δεκαετής επίπτωση μη-θανατηφόρου καρδιαγγειακής νόσου: δεκαετής επανέλεγχος (2002-2012) της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ». Επιτοίχια Παρουσίαση εργασίας στο 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Αθηροσκλήρωσης (Αθήνα, 1-3 Δεκεμβρίου 2016).
17. **Γ.Μ.Κούλη**, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Α. Ζάνα, Λ. Παπαδημητρίου, Κ. Καλογεροπούλου, Ι. Σκούμας, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος, και η ομάδα ΑΤΤΙΚΗ «Επίδραση του μορφωτικού επιπέδου στη δεκαετή επίπτωση καρδιαγγειακής νόσου σε ενήλικα υγιή άτομα: δεκαετής επανέλεγχος (2002-2012) της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ». Επιτοίχια Παρουσίαση εργασίας στο 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Αθηροσκλήρωσης (Αθήνα, 1-3 Δεκεμβρίου 2016).
18. **Γ.Μ.Κούλη**, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Α. Χρήστου, Ε. Κόκκου, Α. Ζάνα, Ι. Σκούμας, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος, και η ομάδα ΑΤΤΙΚΗ «Προσκόλληση στη Μεσογειακή διατροφή και δεκαετής επίπτωση της υπέρτασης σε υγιή άτομα ηλικίας άνω των 45 ετών: δεκαετής επανέλεγχος (2002-2012) της μελέτης

ΑΤΤΙΚΗ». Επιτοίχια Παρουσίαση εργασίας στο 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Αθηροσκλήρωσης (Αθήνα, 1-3 Δεκεμβρίου 2016)

19. **Γ.Μ.Κούλη**, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε.Ν. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Ε. Πιτταράκη, Κ. Μασουρα, Α. Λάσκαρης, Ι. Σκούμας, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος, και η ομάδα ΑΤΤΙΚΗ “Ρόλος Της Μεσογειακής Διατροφής στη 10ετή επίπτωση της Καρδιαγγειακής Νόσου σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο: 10ετής επανέλεγχος (2002-2012) της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ”. Επιτοίχια Παρουσίαση εργασίας στο πλαίσιο του 37^{ου} Πανελλήνιου Καρδιολογικού Συνεδρίου (Αθήνα, 20-22 Οκτωβρίου 2016)
20. **Γ.Μ.Κούλη**, Δ.Β. Παναγιωτάκος, Ε.Ν. Γεωργουσοπούλου, Χ. Χρυσόχου, Ν. Σκουρλής, Β. Μεταξά, Χ. Χατζηνικολάου, Ι. Σκούμας, Δ. Τουσούλης, Χ. Στεφανάδης, Χ. Πίτσαβος, και η ομάδα ΑΤΤΙΚΗ. “Επίδραση των Διατροφικών Προτύπων Στην Επίπτωση Της Καρδιαγγειακής Νόσου σε Υγιείς άνδρες και γυναίκες: 10ετής επανέλεγχος της Μελέτης Αττική (2002-2012).” Επιτοίχια Παρουσίαση εργασίας στο πλαίσιο του 37^{ου} Πανελλήνιου Καρδιολογικού Συνεδρίου (Αθήνα, 20-22 Οκτωβρίου 2016)

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	10
ABSTRACT.....	11
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ.....	12
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	14
1.1 Η ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ.....	14
1.1.1 Επιδημιολογία της καρδιαγγειακής νόσου.....	16
1.1.2 Επιδημιολογία της καρδιαγγειακής νόσου στην Ελλάδα.....	19
1.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΝΟΣΟΥ.....	23
1.3 ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ.....	30
1.3.1 Παράμετροι μεταβολικού συνδρόμου.....	32
1.3.2 Μεταβολικό σύνδρομο και καρδιαγγειακός κίνδυνος	33
1.4 ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΝΟΣΟΥ.....	35
1.4.1 Τρόφιμα, ομάδες τροφίμων και ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου.....	35
1.4.2 Διατροφικά πρότυπα και ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου.....	40
2. ΣΚΟΠΟΣ.....	44
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	45
3.1 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	45
3.2 ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	45
3.3 ΒΙΟΗΘΙΚΗ.....	47
3.4 ΜΕΤΡΗΣΙΜΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....	47
3.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	58
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	59
4.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΔΕΚΑΕΤΗ ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΝΟΣΟΥ.....	59
4.2 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΔΙΑΙΤΑΣ ΣΤΗ ΔΕΚΑΕΤΗ ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΝ.....	63
4.3 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΚΑΦΕ ΣΤΗ ΔΕΚΑΕΤΗ ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΝ.....	67
4.4 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΤΗ ΔΕΚΑΕΤΗ ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΝ.....	70
4.5 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΛΚΟΟΛ ΣΤΗ ΔΕΚΑΕΤΗ ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΝ.....	74
4.6 ΔΕΪΚΤΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟΥ ΠΡΟΦΙΛ ΣΤΗ ΔΕΚΑΕΤΗ ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΝ.....	77
4.6.1 Δείκτης σπλαχνικού λίπους (Visceral Adiposity Index-VAI).....	77
4.6.2 Δείκτης συσσώρευσης λίπους (Lipid Accumulation Product-LAP).....	81
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	86
5.1 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΣΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΚΝ.....	87
5.2 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΚΑΦΕ ΚΑΙ ΤΟΥ ΑΛΚΟΟΛ ΣΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΚΝ.....	89
5.3 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΚΝ.....	91
5.4 ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΑΙ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΚΝ.....	93
5.5 ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ.....	94
5.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	95
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	96

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: να εξεταστεί η επίδραση κλινικών/μεταβολικών δεικτών μαζί με διατροφικούς παράγοντες (τρόφιμα και πρότυπα διατροφής) στην εξέλιξη της καρδιαγγειακής νόσου (ΚΝ). **Υλικό-Μέθοδος:** από το Μάιο του 2001 έως το Δεκέμβριο 2002, 1514 άνδρες και 1528 γυναίκες άνω των 18 ετών, που κατοικούσαν στην ευρύτερη περιοχή της Αθήνας, χωρίς καμία κλινική εκδήλωση ΚΝ συμφώνησαν εθελοντικά να συμμετέχουν στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ. Το 2011-12 πραγματοποιήθηκε ο δεκαετής επανέλεγχος σε 2583 άτομα (15% χάθηκαν μέχρι το follow-up). Η επίπτωση θανατηφόρου ή μη ΚΝ προσδιορίστηκε με τα κριτήρια WHO-ICD-10 σε 2020 άτομα. Στο δείγμα αποτιμήθηκαν κλινικά/βιοχημικά/συμπεριφοριστικά χαρακτηριστικά ενώ η αξιολόγηση των διατροφικών χαρακτηριστικών του δείγματος έγινε με έγκυρο ημιποσοτικό ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Για την αναγνώριση της δυσλειτουργίας του λιπώδους ιστού που αποθηκεύεται σπλαχνικά χρησιμοποιήθηκαν οι μεταβολικοί δείκτες VAI, LAP που υπολογίστηκαν και για τα δύο φύλα. **Αποτελέσματα:** η δεκαετής επίπτωση ΚΝ αποτιμήθηκε στο 15.7%. Αύξηση του δείκτη D-AII (που αντικατοπτρίζει μια αντιφλεγμονώδη δίαιτα) κατά 12% συσχετίστηκε με 19% μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου μέσα στη δεκαετία. Μειωμένη προς μέτρια κατανάλωση καφέ (150-250 ml/ ημέρα προσαρμοσμένο για το 28% της καφεΐνης) και μέτρια κατανάλωση αλκοόλ (≤ 1 ποτήρι κρασιού ή μπύρας / εβδομάδα, έως 12 g. αιθανόλης) σε σχέση με την πλήρη αποχή φάνηκε να εμφανίζει παραβολική συσχέτιση με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ, ενώ και η αποκλειστική χρήση ελαιόλαδου φάνηκε να σχετίζεται αντίστροφα με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Όσο αφορά στους μεταβολικούς δείκτες, ο δείκτης VAI παρουσίασε μία ανεξάρτητη και θετική συσχέτιση με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ στους άνδρες ενώ ο δείκτης LAP αναδείχθηκε ως ανεξάρτητος προβλεπτικός παράγοντας καρδιαγγειακού κινδύνου. **Συμπεράσματα:** η προσκόλληση σε μία αντιφλεγμονώδη διατροφή μαζί με την υιοθέτηση πιο υγιεινών συνηθειών όπως μέτρια κατανάλωση αλκοόλ/ καφέ και η αποκλειστική καθημερινή χρήση ελαιόλαδου φαίνεται να παρέχουν προστασία έναντι της ΚΝ. Τέλος, οι δείκτες VAI, LAP αναγνωρίστηκαν ως ανεξάρτητα διαγνωστικά εργαλεία ανίχνευσης καρδιαγγειακού κινδύνου. **Λέξεις-Κλειδιά:** καρδιαγγειακή νόσος, VAI, LAP, ελαιόλαδο, καφές, μπύρα, κρασί, αντιφλεγμονώδης διατροφή

ABSTRACT

Aim: to investigate the impact of various metabolic indices and nutritional parameters towards the ten-year incidence of cardiovascular disease (CVD).

Materials and methods: from May 2001 to December 2002, 1514 men and 1528 women (>18 y) without any clinical evidence of CVD, living in the greater Athens area, in Greece were recruited. In 2011-12, the ten-year follow-up was performed in 2583 participants (15% were lost to follow-up). The fatal/ non-fatal ten-year CVD incidence was calculated according to WHO-ICD-10 criteria in 2020 participants. Many clinical/biochemical/lifestyle features were measured in the study's sample while dietary characteristics were evaluated through a validated semi-quantitative food frequency questionnaire. To recognize the malfunction of adipose tissue two recent metabolic indices VAI, LAP were measured for both sexes. **Results:** 15.7% of the subjects that were followed-up developed CVD event. A relative increase of the D-All (12%), reflecting an anti-inflammatory diet, was related to 19% decrease of the ten-year CVD risk. Interestingly, low to moderate consumption of coffee (150-250 ml/ day adjusted for 28% caffeine containment) and moderate consumption of alcohol (≤ 1 glass of wine or beer/ week, < 12 g. ethanol) compared to abstention revealed a J-shaped association with ten-year CVD incidence, while exclusive olive oil use/ consumption was inversely related to ten-year CVD risk. The calculation of metabolic indices showed a positive and independent correlation of VAI index with ten-year CVD incidence in men, while LAP appeared as an independent predictive index for CVD risk. **Conclusions:** adhering to an anti-inflammatory diet by following healthier habits (moderate consumption of coffee/ alcohol and exclusive olive oil use) seems to be protective towards the development of CVD. The present work also identified that VAI, LAP are independent predictive tools for CVD risk, easily applied in clinical practice.

Keywords: cardiovascular disease, VAI, LAP, olive oil, coffee, beer, wine, anti-inflammatory diet

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

AACE	American Association of Clinical Endocrinology
AHA/NHLBI	American Heart Association/ National Heart, Lung and Blood Institute
Apo A1	Απολιποπρωτεΐνη A1
Apo B	Απολιποπρωτεΐνη B
ATP III	Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults
CRP	C-αντιδρώσα πρωτεΐνη
DASH	Dietary Approaches to Stop Hypertension
DHA	δοκοσαεξαενοϊκό οξύ
D-AII	Dietary Anti-Inflammation Index
EGIR	European Group for the study of Insulin Resistance
EPA	εικοσαπεντανοϊκό οξύ
EPIC	Ευρωπαϊκή Προοπτική Έρευνα για τον Καρκίνο και τη Διατροφή
HDL	Υψηλής πυκνότητας Λιποπρωτεΐνη
IDF	International Diabetes Federation
IL-6	Ιντερλευκίνη - 6
IPAQ	International Physical Activity Questionnaire
Lp(a)	Λιποπρωτεΐνη a
LDL	Χαμηλής Πυκνότητας Λιποπρωτεΐνη
MedDietScore	Δείκτης Αποτίμησης της υιοθέτησης της Μεσογειακής Διατροφής
MET	Metabolic Equivalent Task
MUFA	Μονοακόρεστο Λιπαρό Οξύ
NCEP	National Cholesterol Education Program
PUFA	Πολυακόρεστο Λιπαρό Οξύ
ROS	Reactive Oxygen Species, Αντιδραστικά Είδη Οξυγόνου
SAA	αμυλοειδές ορού Α
SFA	Κορεσμένο Λιπαρό Οξύ
TG	Τριγλυκερίδια
TNF-α	Tumor Necrosis Factor α: Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων α
VAI	Δείκτης Σπλαχνικού Λίπους
WC	Περίμετρος μέσης (cm)
WHR	Λόγος Περιφέρειας Μέσης προς Περιφέρεια Ισχίων
WHtR	Λόγος Περιφέρειας Μέσης προς Ύψος
ΔΜΣ	Δείκτης Μάζας Σώματος
ΔΕ	Διάστημα Εμπιστοσύνης
ΕΣΚΤ	Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων
Ε.Σ.Υ.Ε.	Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας της Ελλάδος
ΚΝ	Καρδιαγγειακή νόσος
ΜΔ	Μεσογειακή Διατροφή (Δίαιτα)

ΠΟΥ	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
ΣΛ	Σχετικός Λόγος
ΣΚ	Σχετικός Κίνδυνος

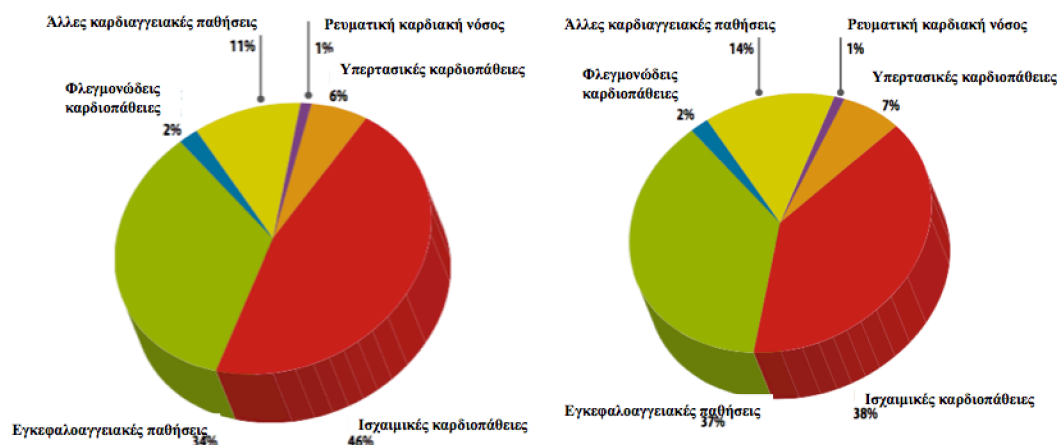
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η καρδιαγγειακή νόσος

Η καρδιαγγειακή νόσος (ΚΝ) αποτελεί ένα μεγάλο φάσμα διαταραχών της καρδιάς και των αιμοφόρων αγγείων που ταξινομούνται σε:

1. Καρδιαγγειακά νοσήματα λόγω αθηροσκλήρωσης
 - a) Ισχαιμική καρδιοπάθεια ή στεφανιαία νόσος (π.χ. έμφραγμα του μυοκαρδίου)
 - b) Εγκεφαλοαγγειακές παθήσεις (π.χ. εγκεφαλικό)
 - c) Παθήσεις της αορτής και των αρτηριών, συμπεριλαμβανομένων της υπέρτασης και περιφερική αγγειοπάθεια
2. Άλλα καρδιαγγειακά νοσήματα (εκ γενετής καρδιοπάθεια, ρευματική καρδιοπάθεια, καρδιομυοπάθεια, καρδιακές αρρυθμίες)

Οι θάνατοι που οφείλονται στο έμφραγμα του μυοκαρδίου, το εγκεφαλικό και τους άλλους τύπους ΚΝ ως μέρος των συνολικών θανάτων από ΚΝ για άνδρες και για γυναίκες φαίνεται στο Γράφημα 1.



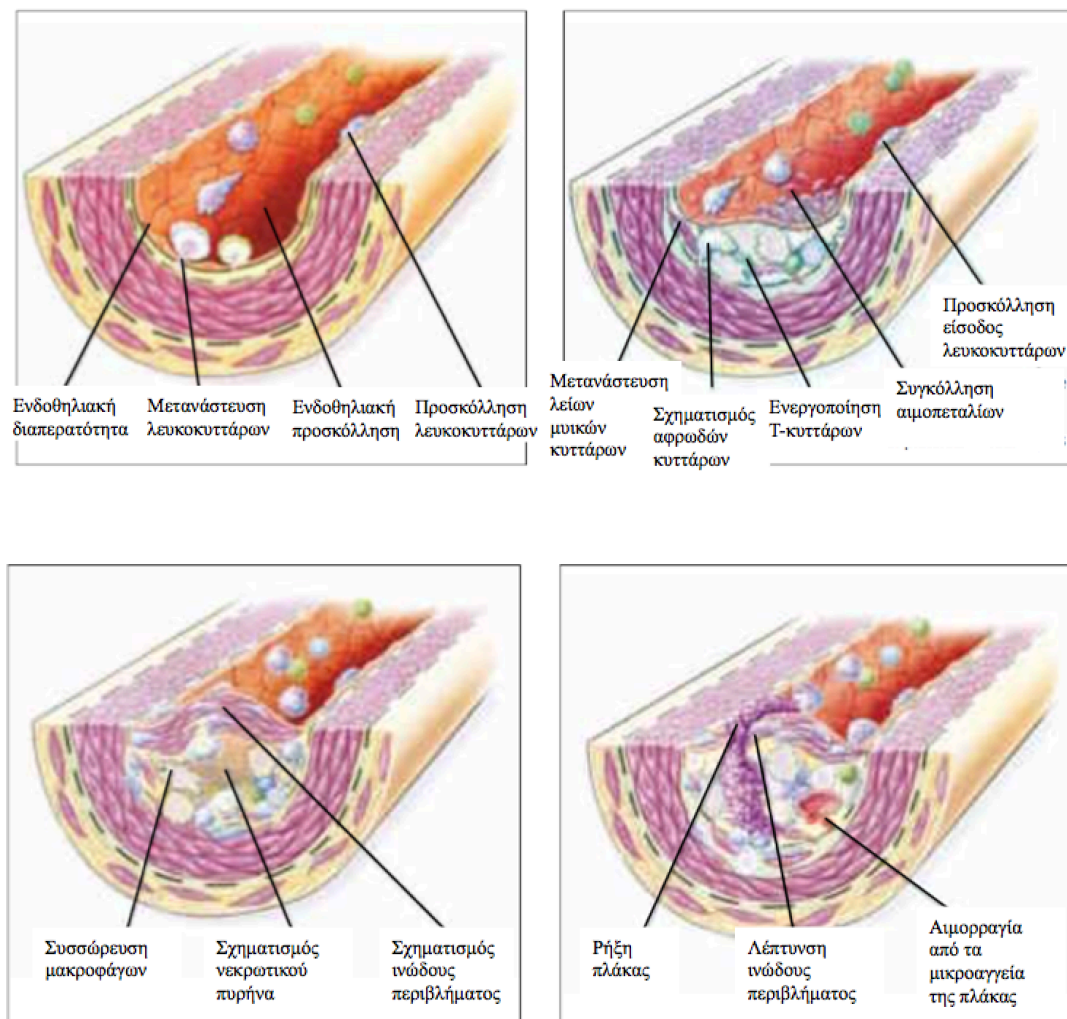
Γράφημα 1: Κατανομή καρδιαγγειακών θανάτων που οφείλονται σε έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικό και άλλα είδη καρδιαγγειακών παθήσεων σε άνδρες και γυναίκες (*Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control 2011*)

Μία από τις παθολογικές διεργασίες που υπόκεινται της στεφανιαίας νόσου και του εγκεφαλικού είναι γνωστή ως αθηροσκλήρωση. Υπάρχουν στοιχεία που δείχνουν ότι η διαδικασία αυτή αρχίζει μετά τον τοκετό ακολουθώντας όλα τα στάδια της ζωής από την παιδική ηλικία μέχρι την ενηλικίωση. Η αθηροσκλήρωση είναι μία φλεγμονώδης διαδικασία που επηρεάζει τον έσω χιτώνα σε μεσαία και μεγάλα αιμοφόρα αγγεία του καρδιαγγειακού συστήματος.

- Όταν το ενδοθήλιο των αιμοφόρων αγγείων εκτίθεται σε αυξημένα επίπεδα χαμηλής πυκνότητας σε χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών (LDL-χοληστερόλης) και άλλων ουσιών όπως ελεύθερες ρίζες (ROS), αυξάνεται η διαπερατότητα του

τοιχώματος σε λευκοκύτταρα και μονοκύτταρα που συσσωρεύονται σε συνδυασμό με τα μακροφάγα. Έτσι παρατηρείται ενδοθηλιακή βλάβη.

- Η βλάβη και η ασυνέχεια του ενδοθηλίου αυξάνει τη διαπερατότητα του τοιχώματος στα μόρια της LDL-χοληστερόλης. Ειδικοί υποδοχείς προσδένονται με τις τροποποιημένες LDL. Ο σχηματισμός των οξειδωμένων LDL διαδραματίζει πρωταρχικό ρόλο στη γενίκευση της προ-φλεγμονώδους απόκρισης όντας προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες που προωθούν την προσκόλληση, μετακίνηση και διήθηση των λευκοκυττάρων στον έσω χιτώνα.
- Μετά την ενδοθηλιακή βλάβη, τα μονοκύτταρα (που προέρχονται από τα μακροφάγα) διαπερνούν τον έσω χιτώνα ευνοώντας την οξείδωση των λιπιδίων με την ακόλουθη εισροή των φλεγμονωδών διαμεσολαβητών. Τα μακροφάγα πολλαπλασιάζονται μεταβάλλοντας τη μορφολογία των κυττάρων με το σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων. Παράλληλα εκκρίνονται ιντερλευκίνες και ο παράγοντας νέκρωσης όγκου (TNF- α). Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα εκκρίνουν αυξητικούς παράγοντες.
- Σε απάντηση των αυξητικών παραγόντων, τα λεία μυϊκά κύτταρα που προέρχονται από το αγγειακό τοίχωμα μεταναστεύουν και πολλαπλασιάζονται κατά μήκος του έσω χιτώνα.
- Παράλληλα τα αιμοπετάλια εκτίθενται σε υποενδοθηλιακά στρώματα που αποτελούνται από πρωτεΐνες της εξωκυττάριας στοιβάδας, όπως ο παράγοντας Willebrand και το κολλαγόνο. Μετά από την προσκόλληση αυτών των παραγόντων στους γλυκοπρωτεϊνικούς υποδοχείς, η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και η πρόσδεση αυτών σε υποδοχείς ιντεγκρίνης προωθούν ακόμα περισσότερο τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων. Αυτές οι διαδικασίες αθροίζονται καθώς τα αιμοπετάλια διαμορφώνουν μία μη αναστρέψιμη, συμπίεσμένη μάζα που λειτουργεί σαν υπόστρωμα για την αποφρακτική βλάβη.
- Έτσι σχηματίζεται ένα ινώδες περίβλημα που αποτελείται από λείο μυϊκό ιστό και κολλαγόνο. Την ίδια στιγμή, τα μακροφάγα που ενεπλάκησαν στην αρχική αντίδραση αρχίζουν να νεκρώνουν, με αποτέλεσμα να σχηματίζεται ένας νεκρωτικός πυρήνας που περιβάλλεται από ινώδες περίβλημα. Αυτές οι βλάβες (αθηρωματικές πλάκες) μεγεθύνονται καθώς τα κύτταρα και τα λιπίδια συσσωρεύονται μέσα σε αυτές και η πλάκα ξεκινά να διογκώνεται μέσα στην κοιλότητα των αιμοφόρων αγγείων (Εικόνα 1). Όσο η διαδικασία συνεχίζεται, το ινώδες περίβλημα λεπταίνει και συνοδεύεται από ρωγμές της επιφάνειας του ενδοθηλίου της πλάκας, που μπορεί να οδηγήσουν σε ρήξη. Με τη ρήξη της πλάκας, κλάσματα λιπιδίων και κυτταρικά υπολείμματα απελευθερώνονται στην κοιλότητα του αγγείου. Αυτά εκτίθενται σε θρομβογόνους παράγοντες πάνω στην επιφάνεια του ενδοθηλίου, με αποτέλεσμα το σχηματισμό θρόμβου. Αν ο θρόμβος είναι αρκετά μεγάλος και εμφανιστεί σε στεφανιαίο αιμοφόρο αγγείο τότε εκδηλώνεται η στεφανιαία νόσος.



Εικόνα 1: Σχηματισμός αθηρωματικής πλάκας (*Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control 2011*)

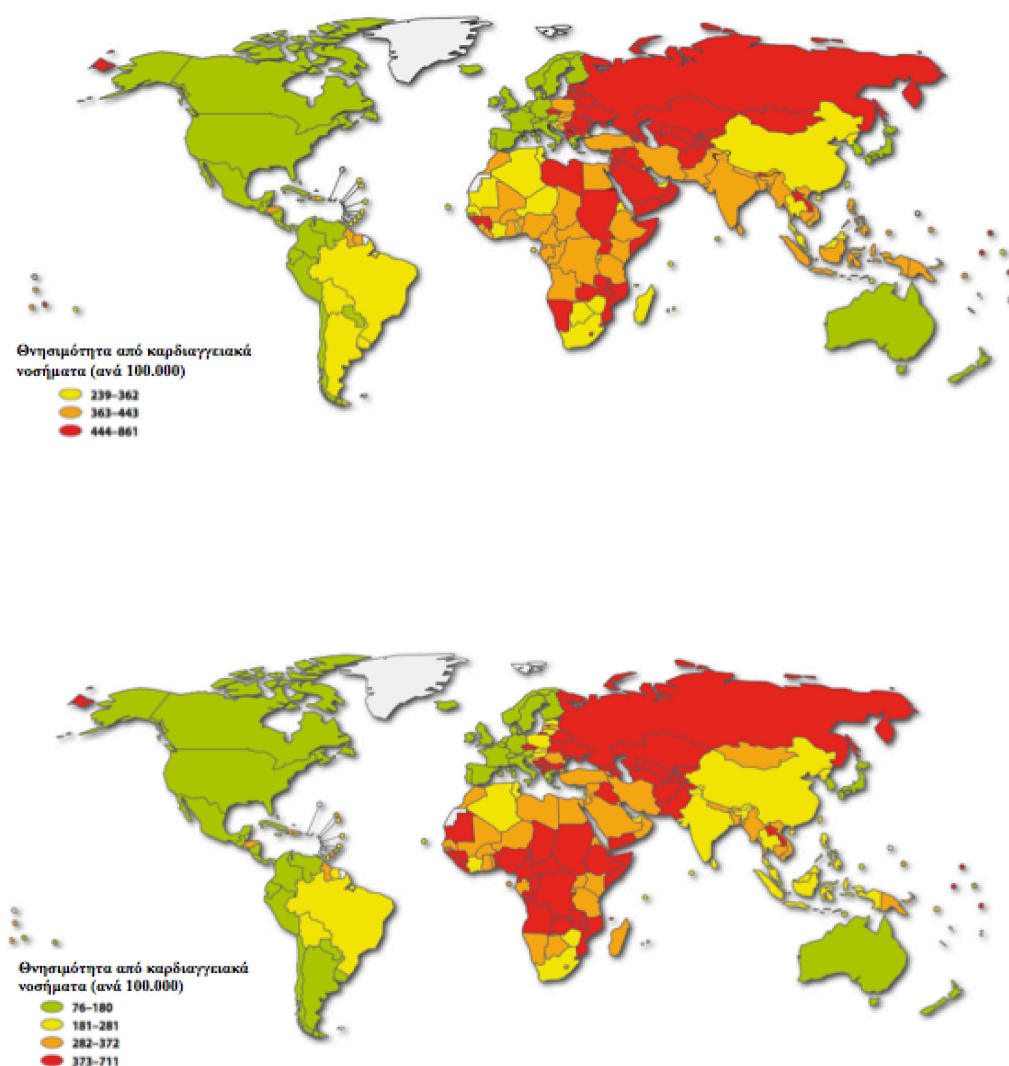
Τα αγγειακά επεισόδια που απεικονίζονται παραπάνω επάγονται από φλεγμονώδη ερεθίσματα και ανήκουν σε ένα φαύλο κύκλο που προάγει την αθηροσκλήρωση.

1. Βλάβη και ενεργοποίηση ενδοθηλιακών κυττάρων
2. Οξείδωση LDL
3. Διήθηση αιμοπεταλίων
4. Πολλαπλασιασμός και μετανάστευση λείων μυϊκών κυττάρων
5. Θρόμβωση

1.1.1 Επιδημιολογία της καρδιαγγειακής νόσου

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν την κυριότερη αιτία θανάτου παγκοσμίως με αποτέλεσμα περισσότεροι άνθρωποι να πεθαίνουν από ΚΝ παρά από οποιαδήποτε άλλη ασθένεια. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ) το 2016 17.9 εκατομμύρια πέθαναν από ΚΝ, ποσοστό που αναλογεί στο 31%

των θανάτων παγκοσμίως (World Health Organisation 2018). Η πλειονότητα των καρδιαγγειακών θανάτων (>85%) οφείλεται στο έμφραγμα του μυοκαρδίου και το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο. Η παγκόσμια θνησιμότητα από ΚΝ σε άνδρες και γυναίκες φαίνεται στην Εικόνα 2 αντίστοιχα.

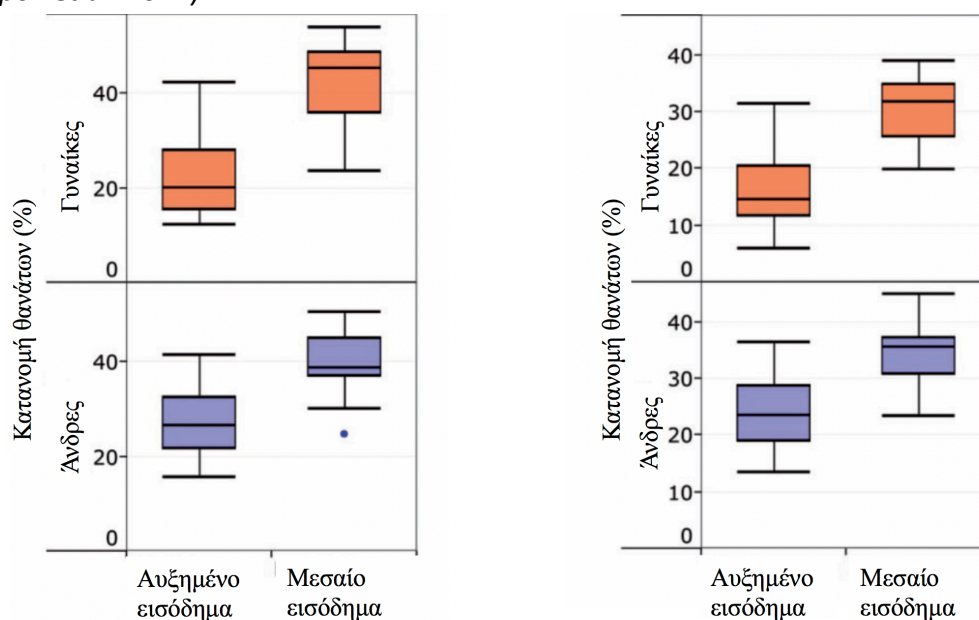


Εικόνα 2: Κατανομή της παγκόσμιας θνησιμότητας από καρδιαγγειακά νοσήματα σε άνδρες και γυναίκες (Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control 2011)

Το κάπνισμα, η ανθυγιεινή διατροφή, η καθιστική ζωή και η επιβλαβής κατανάλωση αλκοόλ φαίνεται να αποτελούν καταστάσεις που διεγείρουν την εμφάνιση ΚΝ και εκδηλώνονται σε άτομα που πάσχουν από υπέρταση, αυξημένο σάκχαρο αίματος, υπέρβαρο και παχυσαρκία. Τα καρδιαγγειακά νοσήματα παραμένουν η κύρια αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας στην Ευρώπη, παρά τις

παρατηρούμενες βελτιώσεις στις καρδιαγγειακές εκβάσεις τα τελευταία χρόνια. Συγκεκριμένα, η προσαρμοσμένη ως προς την ηλικία θνησιμότητα από στεφανιαία νόσο έχει μειωθεί σημαντικά στην Ευρώπη σε σχέση με το 1980, ιδίως σε κράτη υψηλού εισοδήματος, ενώ ο επιπολασμός της νόσου σε πολλές ευρωπαϊκές χώρες εκτιμάται ότι έχει μειωθεί σε ποσοστό >50% συγκριτικά με αυτόν που είχε καταγραφεί κατά τις αρχές της δεκαετίας του 1980, λόγω της εφαρμογής προληπτικών μέτρων συμπεριλαμβανομένης της αποτελεσματικότητας της νομοθεσίας για το κάπνισμα σε πολλές χώρες (Moran AE et al. 2014).

Σύμφωνα με τα επίσημα στατιστικά στοιχεία (European Cardiovascular Disease Statistics 2017) τα καρδιαγγειακά νοσήματα κάθε χρόνο προκαλούν 3.9 εκατομμύρια θανάτους στην Ευρώπη και πάνω από 1.8 εκατομμύρια θανάτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Επιπλέον, εκτιμάται ότι ευθύνονται συνολικά για το 45% των θανάτων (εκ των οποίων >50% αποδίδονται στη στεφανιαία νόσο και περίπου 1/3 στο αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο) και τους περισσότερους πρώιμους θανάτους (πριν την ηλικία των 65 ετών) στην Ευρώπη, ενώ εξακολουθούν να υπάρχουν σημαντικές ανισότητες μεταξύ των διαφόρων χωρών ως προς τον αντίκτυπό τους. Λαμβάνοντας υπόψη τα δεδομένα αυτά γίνεται σαφές ότι η εφαρμογή στρατηγικών για τη μείωση του επιπολασμού των καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι επιτακτική και πρέπει να δοθεί έμφαση όχι μόνο στη μείωση της έκτασης των επικρατέστερων παραγόντων κινδύνου για αυτά, αλλά και στη βελτιστοποίηση της μακροχρόνιας εφαρμογής κατάλληλων προληπτικών μέτρων (Piepoli et al. 2017).

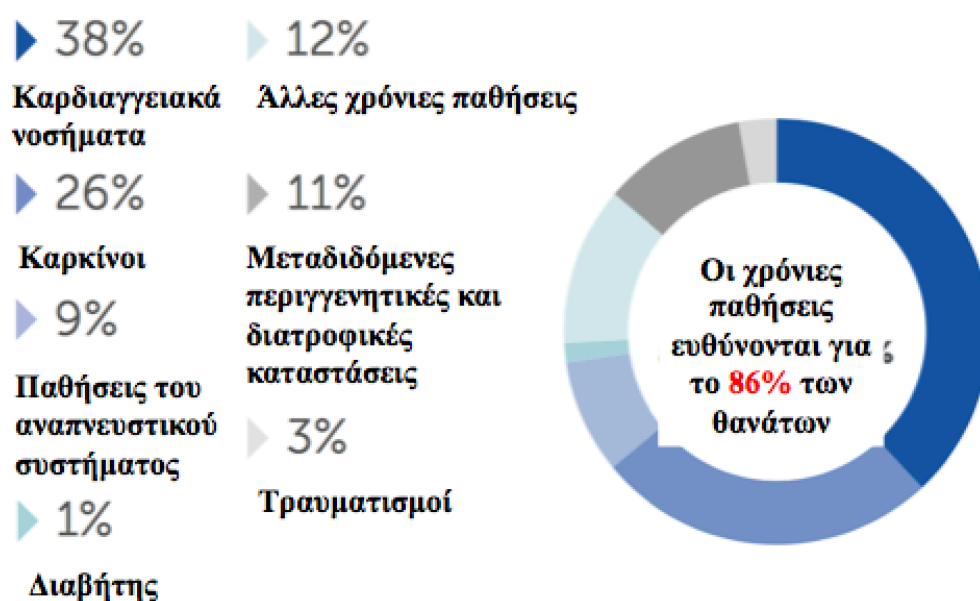


Γράφημα 2: Κατανομή όλων των καρδιαγγειακών θανάτων σε ηλικίες κάτω των 75 και 65 ετών αντίστοιχα ανάλογα με το φύλο και την εθνική κατάσταση εισοδήματος έως το 2014 (WHO Mortality Database <http://apps.who.int/healthinfo/statistics/mortality/whodpms/>)

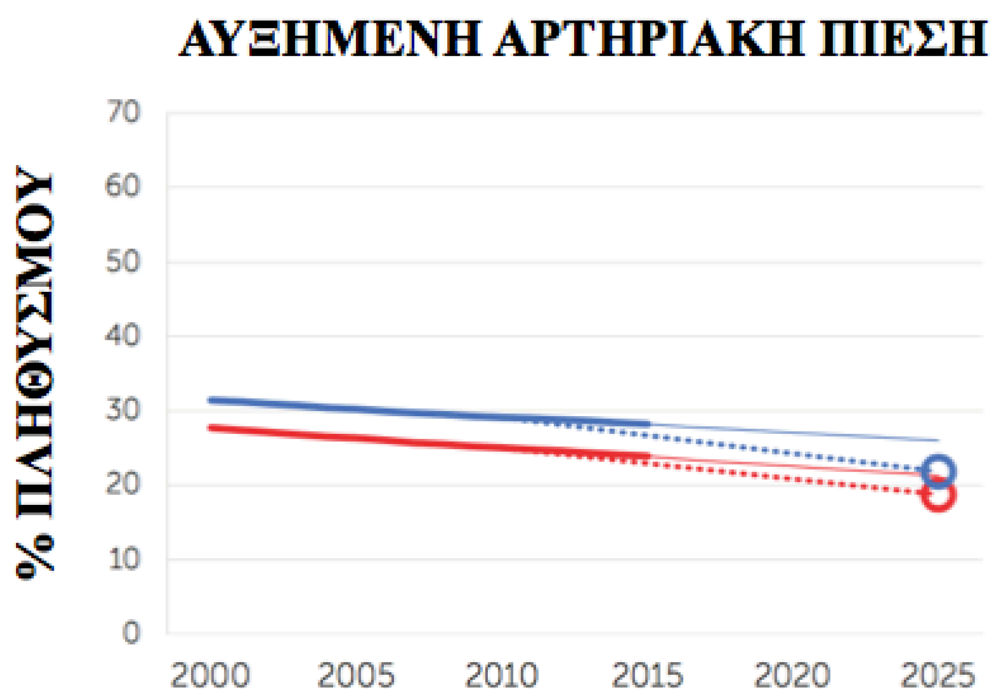
Πέρα από την αποτελεσματικότητα της πρόληψης σε δείκτες υγείας, ένα ακόμα σημαντικό σημείο που αφορά στο σχεδιασμό πολιτικών υγείας, είναι η αξιολόγηση κόστους-οφέλους, το εάν δηλαδή η πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων και η χρήση πόρων και ανθρωπίνου δυναμικού προς αυτήν την κατεύθυνση αποτελεί μια οικονομικά αποδοτική προσέγγιση. Το 2009, οι δαπάνες που σχετίζονταν με την ΚΝ ανήλθαν σε 106 δισεκατομμύρια ευρώ, αντιπροσωπεύοντας το 9% του συνόλου των δαπανών υγειονομικής περίθαλψης σε ολόκληρη την Ευρωπαϊκή Ένωση (Nichols MT et al. 2012). Γίνεται επομένως κατανοητό ότι τα καρδιαγγειακά νοσήματα αντιπροσωπεύουν μια σημαντική οικονομική επιβάρυνση για την κοινωνία και η πρόληψή τους αναδεικνύεται αναγκαία και για τους λόγους αυτούς. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με τον ΠΟΥ, η τροποποίηση των πολιτικών και του περιβάλλοντος θα μπορούσε να μειώσει την έκταση των καρδιαγγειακών νοσημάτων σε όλες τις χώρες του κόσμου, με κόστος λιγότερο από 1 δολάριο ανά άτομο ανά έτος. Επιπλέον σύμφωνα με έκθεση του Εθνικού Ινστιτούτου Αριστείας για την Υγεία και τη Φροντίδα (National Institute for Health and Care Excellence – NICE), ένα εθνικό πρόγραμμα για μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου του πληθυσμού του Ηνωμένου Βασιλείου κατά 1% θα προλάμβανε 25.000 περιστατικά ΚΝ και θα οδηγούσε σε εξοικονόμηση 40 εκατομμυρίων ευρώ ανά έτος.

1.1.2 Επιδημιολογία της καρδιαγγειακής νόσου στην Ελλάδα

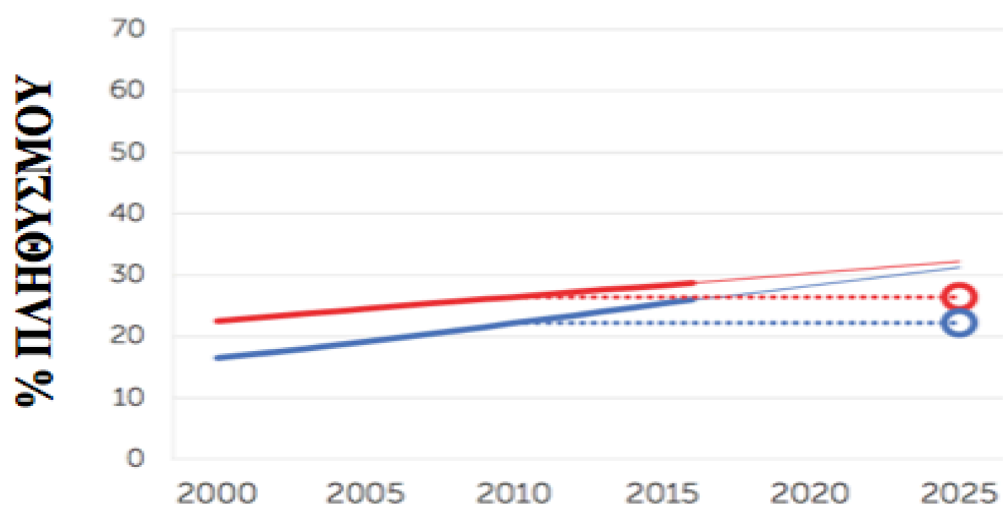
Σε αντιστοιχία με τις υπόλοιπες χώρες του ευρωπαϊκού χώρου, στην Ελλάδα οι χρόνιες παθήσεις ευθύνονται για το 86% των θανάτων. Με πρόσφατα στατιστικά στοιχεία που προέκυψαν από τον ΠΟΥ το 2016, οι καρδιαγγειακές παθήσεις ευθύνονται για το 38% των θανάτων, με τη δεύτερη πιο πιθανή αιτία θανάτου να είναι ο καρκίνος (Γράφημα 3). Ειδικότερα, όσο αφορά στους παράγοντες κινδύνου για ΚΝ φαίνεται ότι οι Έλληνες έχουν μειώσει δραστικά το κάπνισμα και πάσχουν όλο και λιγότερο από αυξημένα επίπεδα αρτηριακής πίεσης. Πάραυτα, τα επίπεδα παχυσαρκίας συνεχίζουν να αυξάνονται σύμφωνα με τα πρόσφατα δεδομένα από τον ΠΟΥ (Γράφημα 4).



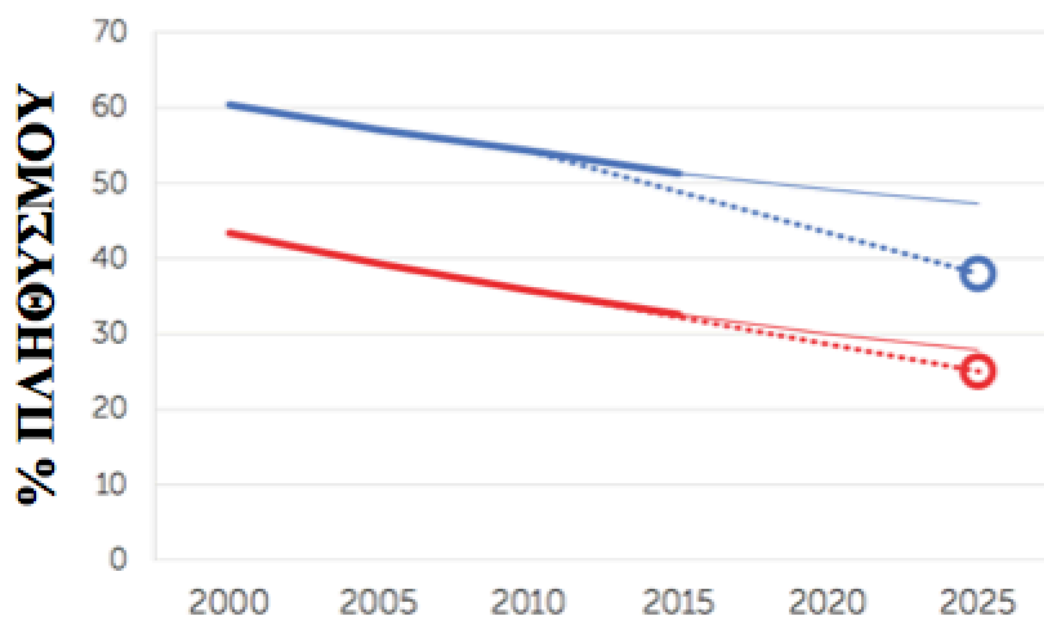
Γράφημα 3: Κατανομή όλων των καρδιαγγειακών θανάτων για όλες τις ηλικίες το 2016 στην Ελλάδα (Contra statistics and global health estimates by WHO and UN partners (http://who.int/gho/mortality_burden_disease/en/) Lastupdated: January 2015)



ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ



ΚΑΠΝΙΣΜΑ



Τάσεις Παρελθόντος
 Ανδρες — (solid blue line)
 Γυναίκες — (solid red line)

Προβλεπόμενες Τάσεις
 — (dotted blue line)
 — (dotted red line)

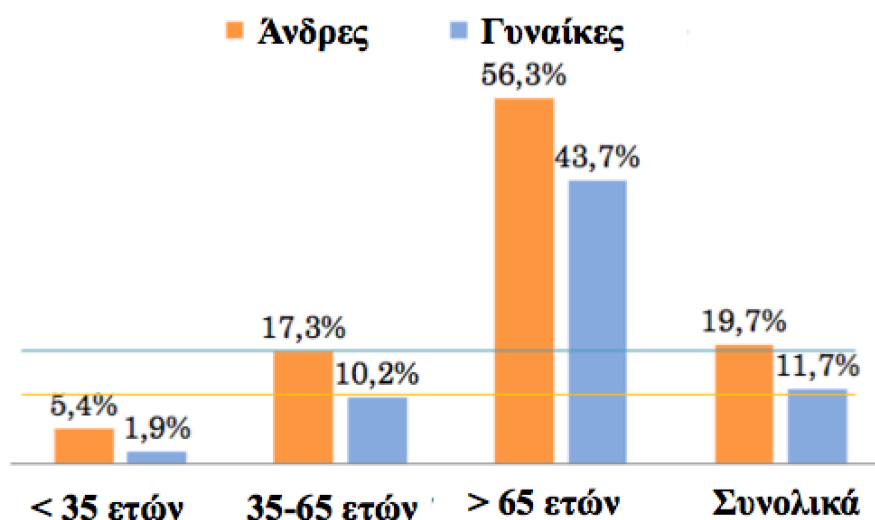
Παγκόσμιοι στόχοι
 — (dotted blue line with circle)
 — (dotted red line with circle)

Γράφημα 4: Εξέλιξη παραγόντων κινδύνου για ΚΝ στην Ελλάδα το 2015 (Country statistics and global health estimates by WHO and UN partners (http://who.int/gho/mortality_burden_disease/en/) Last updated: January 2015)

Η επιδημιολογία της ΚΝ στην Ελλάδα αποτυπώθηκε κυρίως από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, ενώ είχαν γίνει και προηγούμενες προσπάθειες στο παρελθόν με περιορισμένη απήχηση (ενδεικτικά, μελέτη ΑΘΗΝΩΝ, μελέτη CARDIO2000).

Η επιδημιολογική μελέτη ΑΤΤΙΚΗ (που αποτελεί και το υλικό της παρούσας διατριβής) διεξήχθη στην ευρύτερη περιοχή της Αττικής από το 2001-2002 και με την ολοκλήρωση του δεκαετούς επανελέγχου το 2012 δημοσιεύτηκαν σύγχρονα δεδομένα για την καρδιαγγειακή επιδημιολογία και τους παράγοντες κινδύνου ΚΝ. Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν αρχικά 3042 άτομα χωρίς καμία κλινική εκδήλωση ΚΝ. Κατά το δεκαετή επανέλεγκο 73 (5.7%) άνδρες και 26 (2.0%) γυναίκες απεβίωσαν (ολική θνησιμότητα = 3.8%). Οι κυριότερες αιτίες θανάτου ήταν λόγω των καρδιαγγειακών νοσημάτων (42.2% στεφανιαία νόσος, 4.4% εγκεφαλικό, και 4.4% άλλα ΚΝ), 30% λόγω κακοηθειών, 7.8% λόγω λοιμώξεων (κυρίως του αναπνευστικού), 6.7% λόγω ατυχημάτων και το υπόλοιπο 4.4% από άλλες αιτίες.

Όσο αφορά στην 10ετη επίπτωση της ΚΝ, η θανατηφόρα ή μη-θανατηφόρα δεκαετής επίπτωση της ΚΝ ήταν 317 (15.7%) (3.3% λόγω εγκεφαλικού). Από αυτά τα 317 περιστατικά τα 46 ήταν θανατηφόρα και επομένως η συνολική δεκαετής καρδιαγγειακή θνησιμότητα εκτιμήθηκε στο 1.8% (Γράφημα 5). Συγκεκριμένα, άνδρες μεταξύ 65-75 ετών είχαν 10 φορές περισσότερες πιθανότητες να εμφανίσουν κάποιο καρδιαγγειακό νόσημα σε σχέση με όσους ήταν μεταξύ 35-45 ετών. Τέλος, όσο αφορά στα συμπεριφοριστικά χαρακτηριστικά του δείγματος για την περίοδο (2002-2012) φάνηκε ότι το κάπνισμα μειώθηκε μέσα στη δεκαετία, ενώ αυξήθηκε και η συμμόρφωση στη Μεσογειακή διατροφή. Αντίθετα, όσο αφορά στους κλινικούς παράγοντες, η επίπτωση της παχυσαρκίας, της υπέρτασης, του διαβήτη και της υπερχοληστερολαιμίας αυξήθηκε σημαντικά (Panagiotakos D et al. 2014).



Γράφημα 5: Δεκαετής επίπτωση καρδιαγγειακής νόσου ανά φύλο και ηλικία (Panagiotakos D et al 2014)

1.2 Παράγοντες κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου

Κατά αντιστοιχία με άλλα χρόνια μη μεταδιδόμενα νοσήματα, τόσο γενετικοί όσο και περιβαλλοντικοί παράγοντες εμπλέκονται στην παθογένεια των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Ωστόσο από το σύνολο των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, με κυριότερους αυτούς που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής, είναι τροποποιήσιμοι και επομένως αποτελούν πρωταρχικό στόχο οποιασδήποτε προσπάθειας πρόληψης. Αναφορικά με τη συνεισφορά του τρόπου ζωής στην εμφάνιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων, ο ΠΟΥ εκτιμά ότι οκτώ παράγοντες κινδύνου συνολικά ευθύνονται για το 60% των καρδιαγγειακών θανάτων σε παγκόσμιο επίπεδο (*European Heart Network 2011*). Οι παράγοντες αυτοί είναι:

- η υπερβαίνουσα τις συστάσεις κατανάλωση αλκοόλ
- η χρήση προϊόντων καπνού
- η αυξημένη αρτηριακή πίεση
- το υπερβάλλον σωματικό βάρος
- τα υψηλά επίπεδα χοληστερόλης αίματος (υπερχοληστερολαιμία)
- τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης αίματος (υπεργλυκαιμία)
- η χαμηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών
- η σωματική αδράνεια

Η μείωση της έκθεσης σε αυτούς τους οκτώ παράγοντες κινδύνου θα μπορούσε να οδηγήσει σε αύξηση του παγκόσμιου προσδόκιμου ζωής σχεδόν κατά πέντε έτη. Επιπλέον, τα ευρήματα της μελέτης INTERHEART, μιας μελέτης ασθενών-μαρτύρων με περισσότερα από 15.000 περιστατικά οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου από 52 χώρες του κόσμου, επιβεβαίωσε ότι ένας σχετικά μικρός αριθμός δυνητικά τροποποιήσιμων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου προβλέπει το μεγαλύτερο ποσοστό του καρδιαγγειακού κινδύνου (*Yusuf S et al. 2004*). Συγκεκριμένα, εννέα παράγοντες, φάνηκαν να εξηγούν το 90% και 94% του κινδύνου εμφάνισης ενός αρχικού οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου στους άνδρες και τις γυναίκες αντιστοίχως δηλαδή: κάπνισμα, ο λόγος απολιποπρωτεΐνης Β προς την απολιποπρωτεΐνη Α1 στο αίμα (ΑpoB/ΑpoA1), το ιστορικό υπέρτασης, ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη, η παρουσία κεντρικού τύπου παχυσαρκίας, διάφοροι ψυχοκοινωνικοί παράγοντες, κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, κατανάλωση αλκοόλ, σωματική δραστηριότητα.

i. Υπέρβαρο και παχυσαρκία

Τόσο το υπέρβαρο όσο και η παχυσαρκία συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων και θνησιμότητας από όλα τα αίτια. Οι κύριες κλινικές επιπλοκές της αύξησης του βάρους είναι η αύξηση της αρτηριακής πίεσης, η δυσλιπιδαιμία, η αντίσταση στην ινσουλίνη, η συστηματική φλεγμονή, η επαγωγή μιας προθρομβωτικής κατάστασης, η αλβουμινουρία, καθώς και η

ανάπτυξη σακχαρώδους διαβήτη και καρδιαγγειακών επεισοδίων (καρδιακή ανεπάρκεια, στεφανιαία νόσος, κολπική μαρμαρυγή και αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο).

Η παχυσαρκία προσδιορίζεται χρησιμοποιώντας το Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) που αποτελεί μία μέτρηση του σωματικού βάρους. Υπολογίζεται ως ο λόγος του βάρους (σε kg) προς το τετράγωνο του ύψους (σε m^2) (Poirier P et al. 2009). Στους ενήλικες:

- $18.5 < \Delta\text{ΜΣ} < 24.9$ (kg/m^2) χαρακτηρίζεται φυσιολογικό
- $25.0 < \Delta\text{ΜΣ} < 30$ (kg/m^2) χαρακτηρίζεται ως υπέρβαρο
- $\Delta\text{ΜΣ} > 30$ (kg/m^2) χαρακτηρίζεται ως παχυσαρκία

Η θνησιμότητα από όλα τα αίτια είναι η μικρότερη δυνατή σε τιμές ΔΜΣ που κυμαίνονται μεταξύ 20 και 25 kg/m^2 (σε άτομα <60 ετών), ωστόσο μεγαλύτερη μείωση του δείκτη δε φαίνεται να επιφέρει προστασία έναντι της ΚΝ.

Εντούτοις, η κεντρική εναπόθεση λίπους φαίνεται να ευθύνεται περισσότερο στον καθορισμό του καρδιαγγειακού κινδύνου από το σωματικό βάρος. Εκτός από τη συνολική λιπώδη μάζα σώματος, η κατανομή του σωματικού λίπους είναι εξίσου σημαντική. Αυτό αυξάνει το ενδιαφέρον για τις ανθρωπομετρικές μετρήσεις εκτίμησης του κινδύνου και την πιο ομαλή κατανομή μεταξύ λιπώδους και άλιπης μάζας σώματος. Συγκεκριμένα, το σωματικό λίπος που αποθηκεύεται στην κοιλιακή χώρα (ενδοκοιλιακό λίπος) συσχετίζεται με υψηλότερο κίνδυνο σε σχέση με το υποδόριο λίπος. Η κεντρική παχυσαρκία μπορεί να εκτιμηθεί τόσο με τη μέτρηση της περιφέρειας μέσης όσο και με τον υπολογισμό περιφέρειας μέσης προς την περιφέρεια ισχίου. Τελευταίες συστάσεις καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι για άτομα ηλικίας μικρότερης των 65 ετών, ανεξάρτητα αν διατρέχουν κίνδυνο ή όχι, η μέτρηση περιφέρειας μέσης και ο λόγος μέσης προς ισχίο κρίνονται ως καταλληλότεροι δείκτες πρόβλεψης του κινδύνου και της θνησιμότητας της στεφανιαίας νόσου σε σχέση με το ΔΜΣ (Piepoli MF et al. 2017). Με βάση αυτά, συστήνονται δύο επίπεδα δράσης:

- τιμές περιφέρειας μέσης ≥ 94 cm στους άνδρες και ≥ 80 cm στις γυναίκες αντιπροσωπεύουν το όριο στο οποίο το βάρος δε θα πρέπει να αυξηθεί περαιτέρω
- τιμές περιφέρειας μέσης ≥ 102 cm στους άνδρες και ≥ 88 cm στις γυναίκες αντιπροσωπεύουν το όριο στο οποίο θα πρέπει να συστήνεται απώλεια βάρους

Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι μια πρόσφατη μετανάλυση κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τόσο ο ΔΜΣ όσο και η περιφέρεια μέσης είναι εξίσου ισχυροί δείκτες αναφορικά με την πρόβλεψη του κινδύνου εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη και ΚΝ (Emerging Risk Factors Collaboration et al. 2011).

ii. Υπέρταση

Η αυξημένη αρτηριακή πίεση αποτελεί πρωταρχικό παράγοντα κινδύνου για ΚΝ, όντας υπεύθυνη για 9.4 εκατομμύρια θανάτους παγκοσμίως. Μάλιστα, ο κίνδυνος

θανάτου είτε από στεφανιαία νόσο είτε από εγκεφαλικό αυξάνεται προοδευτικά και γραμμικά με επίπεδα αρτηριακής πίεσης που ξεκινούν και υπερβαίνουν τα 115 mm Hg (συστολική) και 75 mm Hg (διαστολική) (*Pierpoli MF et al. 2017*).

Η υπέρταση ορίζεται ως συστολική πίεση ≥ 140 mm Hg ή διαστολική ≥ 90 mm Hg. Αρτηριακή πίεση πάνω από αυτήν την τιμή μπορεί περαιτέρω να ταξινομηθεί ως:

- Βαθμού 1: $\geq 140/90$ mm Hg
- Βαθμού 2: $\geq 160/110$ mm Hg
- Βαθμού 3: $\geq 180/110$ mm Hg

Αυξημένα επίπεδα πίεσης αίματος βλάπτουν το ενδοθήλιο, με αποτέλεσμα να εισέρχονται μεγάλα ποσά LDL-χοληστερόλης στο εσωτερικό των αρτηριών. Η αυξημένη αρτηριακή πίεση μειώνει περαιτέρω την ελαστικότητα των αρτηριών και αυξάνει τον κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου ή εγκεφαλικού.

Αλλαγές στον τρόπο ζωής, έλεγχος του σωματικού βάρους και τακτική φυσική δραστηριότητα από μόνα τους μπορεί να είναι επαρκή σε άτομα που πάσχουν από πρώιμα στάδια υπέρτασης. Η παρέμβαση στον τρόπο ζωής ειδικά στην υπέρταση σχετίζεται με τον περιορισμό του αλατιού. Για το λόγο αυτό συνίσταται η διακοπή του πρόσθετου αλατιού και η μειωμένη κατανάλωση αλμυρών φαγητών. Η επίδραση της διατροφής στην πίεση αίματος έγκειται στο όφελος που προκύπτει από τη μείωση του αλατιού και την εφαρμογή της δίαιτας DASH (*Dietary Approach to Stop Hypertension*), που είναι πλούσια σε φρούτα, λαχανικά, περιέχει χαμηλά σε λίπος γαλακτοκομικά προϊόντα, χαμηλή σε διαιτητική χοληστερόλη όπως και σε κορεσμένο και συνολικό λίπος. Στο ίδιο πλαίσιο, με δεδομένη την ιδιότητα της αυξημένης πρόσληψης καλίου να μειώνει τα επίπεδα πίεσης, ασθενείς με υπέρταση βαθμού 1 συνιστάται να καταναλώνουν περισσότερα φρούτα και λαχανικά και να μειώνουν την κατανάλωση χοληστερόλης και κορεσμένων λιπαρών (*Perk J et al. 2012*).

iii. Δυσλιπιδαιμία

Ο κρίσιμος ρόλος της δυσλιπιδαιμίας, ειδικά της υπερχοληστερολαιμίας, στην ανάπτυξη των ΚΝ καταγράφεται πέρα από κάθε είδους μελέτη.

Στο πλάσμα αίματος, λιπίδια όπως η χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια (TG) κυκλοφορούν ως λιποπρωτεΐνες μαζί με διάφορες πρωτεΐνες (απολιποπρωτεΐνες). Ο κύριος φορέας χοληστερόλης στο πλάσμα είναι (LDL-χοληστερόλη) αθηρογόνος. Ο ρόλος των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών είναι ακόμα υπό διερεύνηση: τα χυλομικρά και οι πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDLs) φαίνεται πως δεν είναι αθηρογόνες, αλλά πολύ μεγάλες συγκεντρώσεις αυτών των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών μπορούν να προκαλέσουν παγκρεατίτιδα. Υπολείμματα λιποπρωτεϊνών [ολική χοληστερόλη – (LDL-C + HDL-C)] έχουν πρόσφατα αναγνωριστεί σε μενδελικές μελέτες ως προ-αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες.

a. Ολική χοληστερόλη και χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL-C)

Το μεγαλύτερο μέρος της χοληστερόλης φυσιολογικά το φέρουν οι LDL-χοληστερόλες. Πέρα από το μεγάλο εύρος της συγκέντρωσης χοληστερόλης στο αίμα, υπάρχει ισχυρή και βαθμιαία θετική συσχέτιση της LDL-C με την ΚΝ. Αυτή η συσχέτιση ισχύει σε άνδρες και γυναίκες, σε όσους δεν πάσχουν από ΚΝ αλλά και σε όσους έχουν κάποια εγκατεστημένη ΚΝ.

b. Απολιποπρωτεΐνη Β (apo-B)

Η απολιποπρωτεΐνη Β (apo-B; η κύρια αποπρωτεΐνη των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών) έχει μετρηθεί παράλληλα με την LDL-C. Με βάση τα διαθέσιμα δεδομένα, φαίνεται ότι η apo-B αποτελεί παρόμοιο παράγοντα κινδύνου με την LDL-C. Ακόμα δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι η apo-B είναι καλύτερος προβλεπτικός δείκτης της ΚΝ από την LDL-C (*McQueen MJ et al. 2008*).

c. Τριγλυκερίδια (TG)

Η υπερτριγλυκεριδαμία αποτελεί σημαντικό και ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για ΚΝ, αλλά η συσχέτιση είναι πολύ πιο ασθενής σε σχέση με την υπερχοληστερολαιμία (*Sarwar N et al. 2007*). Μέχρι και τώρα επίπεδα τριγλυκεριδίων νηστείας $> 1.7 \text{ mmol/L}$ ($>150 \text{ mg/dL}$) συνεχίζουν να θεωρούνται δείκτης αυξημένου κινδύνου.

d. Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (HDL-C)

Χαμηλά επίπεδα HDL-C συνδέονται ανεξάρτητα με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Τα χαμηλά επίπεδα HDL-C μπορούν ακόμα και να ανταγωνιστούν την υπερχοληστερολαιμία (λόγω των αυξημένων συγκεντρώσεων LDL-C) ως παράγοντας κινδύνου για στεφανιαία νόσο (*Fruchart JC et al. 2008*). Συνδυασμός μέτρια αυξημένων TG και χαμηλών συγκεντρώσεων HDL-C είναι πολύ συχνός σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, κεντρική παχυσαρκία και ινσουλινοαντίσταση. Επίπεδα $\text{LDL-C} < 1.2 \text{ mmol/L}$ ($<45 \text{ mg/dL}$) στις γυναίκες μπορεί να αποδειχθούν δείκτης αυξημένης επικινδυνότητας.

e. Λιποπρωτεΐνη a [Lp(a)]

Η λιποπρωτεΐνη a [Lp(a)] είναι μια χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη στην οποία προσκολλάται μία επιπλέον πρωτεΐνη που λέγεται λιποπρωτεΐνη (*Nordestgaard BG et al. 2010*). Αυξημένες συγκεντρώσεις Lp(a) συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για στεφανιαία νόσο και ισχαιμικό εγκεφαλικό. Ακόμα δε ζητείται να εκτιμηθούν τα επίπεδά της στο γενικό πληθυσμό.

f. Λόγος απολιποπρωτεΐνης Β/ απολιποπρωτεΐνη Α1 (ΑpoB/ΑpoA1)

Η απολιποπρωτεΐνη Α1 (apoA1) είναι η κύρια αποπρωτεΐνη της HDL-C. Αδιαμφισβήτητα ο λόγος ApoB:ApoA1 είναι ένας από τους ισχυρότερους βιοχημικούς δείκτες που αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ΚΝ (*Warren-Gash C et al. 2012*). Πάραυτα, επειδή η μέτρηση είναι δαπανηρή και προσθέτει μονάχα μέτρια παραπάνω από τους συνηθισμένους λιπιδαιμικούς δείκτες, δεν υπολογίζεται συχνά στην κλινική πράξη.

iv. Σακχαρώδης διαβήτης (τύπος 2 και τύπος 1)

Η αντίσταση στην ινσουλίνη δείχνει μια κατάσταση στην οποία το πάγκρεας παράγει υψηλότερα επίπεδα ινσουλίνης (υπερινσουλιναιμία) για να ανταποκριθεί σε μία φυσιολογική ποσότητα γλυκόζης. Αν δεν αντιμετωπιστεί ή τεθεί υπό έλεγχο εξελίσσεται σε διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης και διαβήτη. Η αντίσταση στην ινσουλίνη συσχετίζεται με τον κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη τύπου 2 και ΚΝ.

Άτομα με σακχαρώδη διαβήτη διατρέχουν κατά μέσο όρο διπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ (*Emerging Risk Factors Collaboration et al. 2010*). Επομένως όσο πιο κοντά βρίσκονται τα επίπεδα αρτηριακής πίεσης, λιπιδίων και γλυκόζης αίματος στα συνιστώμενα τόσο πιο επιτυχημένη είναι η προσπάθεια πρόληψης των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Έτσι, η Ευρωπαϊκή Καρδιολογική Εταιρία προτείνει αλλαγές στον τρόπο ζωής. Δεδομένου ότι οι περισσότεροι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη είναι παχύσαρκοι, ο έλεγχος του σωματικού βάρους αποτελεί κρίσιμο σημείο. Αρκετά διατροφικά πρότυπα μπορούν να υιοθετηθούν στα οποία κυρίαρχο ρόλο διαδραματίζουν τα φρούτα, λαχανικά, τα ολικής άλεσης δημητριακά και οι μειωμένων λιπαρών πρωτεϊνικές πηγές. Παράλληλα, προτείνεται η μείωση της κατανάλωσης αλατιού. Ειδικές διατροφικές συστάσεις περιλαμβάνουν τη μείωση κατανάλωσης κορεσμένων και trans λιπαρών, αλκοόλ, ενώ προτείνουν τον έλεγχο πρόσληψης υδατανθράκων με τη σύγχρονη αύξηση κατανάλωσης διαιτητικών ινών. Αποδεκτό διατροφικό πρότυπο είναι η Μεσογειακή Διατροφή, όπου η κύρια πηγή λίπους είναι τα μονοακόρεστα λιπαρά (*Piepoli MF et al. 2017*).

v. Κάπνισμα

Το κάπνισμα είναι μια εδραιωμένη αιτία εμφάνισης πληθώρας νοσημάτων και είναι υπεύθυνο για το 50% θανάτων που μπορούν να αποφευχθούν, εκ των οποίων οι μισοί αντιστοιχούν σε θανάτους από ΚΝ. Ο δεκαετής κίνδυνος θανατηφόρου ΚΝ είναι περίπου διπλάσιος στους καπνιστές. Ο σχετικός κίνδυνος (ΣΚ) στους καπνιστές <50 ετών είναι πέντε φορές μεγαλύτερος, σε σχέση με τους μη καπνιστές. Λιγότεροι από τους μισούς χρόνιους καπνιστές συνεχίζουν το κάπνισμα μέχρι το θάνατο (*Piepoli MF et al. 2017*).

Το κάπνισμα συμβάλλει στη δημιουργία αθηροσκλήρωσης και επάλληλων θρομβωτικών επεισοδίων. Το κάπνισμα επηρεάζει την ενδοθηλιακή λειτουργία, τις οξειδωτικές διαδικασίες, τη λειτουργία των αιμοπεταλίων, την ινωδόλυση, τη

φλεγμονή, την οξειδωση των λιπιδίων και την αγγειοκινητική λειτουργία. Σε πειραματικές μελέτες έχει φανεί ότι αρκετές από αυτές τις επιδράσεις είναι πλήρως ή μερικώς αναστρέψιμες σε σύντομο χρονικό διάστημα. Η δημιουργία αθηρωματικής πλάκας, όμως, δε φαίνεται να είναι πλήρως αναστρέψιμη, συνεπώς οι καπνιστές δεν αναμένεται να έχουν τον ίδιο κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ με τους μη καπνιστές. Η υποκατάσταση νικοτίνης δε φαίνεται να επιφέρει ανεπιθύμητες ενέργειες σε ασθενείς με ΚΝ (Woolf KJ et al. 2012).

Οι κίνδυνοι που σχετίζονται με το κάπνισμα υποδεικνύουν μία δόσοεξαρτώμενη σχέση, χωρίς να υπάρχει κατώτερο όριο για την εμφάνιση των βλαβερών επιδράσεων. Η διάρκεια παίζει εξίσου σημαντικό ρόλο και, ενώ το κάπνισμα τσιγάρων είναι πιο διαδεδομένο, όλα τα είδη καπνού, συμπεριλαμβανομένων των τσιγάρων με χαμηλή περιεκτικότητα σε πίσσα, των τσιγάρων με φίλτρο, των πούρων και της πίπας είναι επιβλαβή. Το κάπνισμα είναι επιβλαβές ανεξαρτήτως με ποιον τρόπο γίνεται, συμπεριλαμβανομένης της πίπας νερού. Ο καπνός είναι περισσότερο επιβλαβής όταν εισπνέεται, ωστόσο οι καπνιστές που ισχυρίζονται ότι δεν εισπνέουν τον καπνό (π.χ. καπνιστές που κάνουν χρήση πίπας) έχουν εξίσου αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ. Ο μασώμενος καπνός ή ο καπνός που εμφυσάται μέσα στη μύτη σχετίζεται με μικρό αλλά στατιστικά σημαντικά αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου και αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου (Centers for Disease Control and Prevention 2010).

Το παθητικό κάπνισμα αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου (Law MR et al. 1997). Ένας σύντροφος που καπνίζει ή η έκθεση στον καπνό του τσιγάρου στο εργασιακό περιβάλλον αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ περίπου κατά 30%.

Τα ηλεκτρονικά τσιγάρα είναι συσκευές που λειτουργούν με μπαταρίες και προσομοιώνουν τα τσιγάρα, θερμαίνοντας νικοτίνη και άλλες χημικές ουσίες και παράγοντας ατμό που εισπνέεται. Τα ηλεκτρονικά τσιγάρα παρέχουν την εθιστική νικοτίνη χωρίς τη συντριπτική πλειονότητα των χημικών ουσιών του καπνού και είναι πιθανώς λιγότερο επιβλαβή από αυτόν (Pisinger C 2014). Οι ενδείξεις της αποτελεσματικότητας των ηλεκτρονικών τσιγάρων είναι περιορισμένες, καθώς ο αριθμός των κλινικών δοκιμών είναι μικρός, τα ποσοστά συμμετοχής είναι μικρά και υπάρχουν μεγάλα διαστήματα εμπιστοσύνης (ΔΕ).

vi. Καθιστική συμπεριφορά και σωματική δραστηριότητα

Η σωματική δραστηριότητα έχει θετική επίδραση σε πολλούς παράγοντες κινδύνου, συμπεριλαμβανομένης της υπέρτασης, της LDL- χοληστερόλης και της non-HDL χοληστερόλης (ολική χοληστερόλη - HDL-χοληστερόλη), του σωματικού βάρους και του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (Physical Activity Guidelines Advisory Committee 2008). Αυτό ισχύει για τους άνδρες αλλά και για τις γυναίκες, σε ένα μεγάλο ηλικιακό εύρος, ξεκινώντας από την παιδική μέχρι την τρίτη ηλικία. Επίσης ο καθιστικός τρόπος ζωής είναι ένας από τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου για ΚΝ, ανεξάρτητα από τη συμμετοχή σε σωματική δραστηριότητα (Lee DC et al. 2014).

a. Αερόβια σωματική δραστηριότητα

Η αερόβια σωματική δραστηριότητα, το πιο μελετημένο και συνιστώμενο είδος σωματικής δραστηριότητας, με ευεργετική επίδραση δόσης-απάντησης για την πρόγνωση περιλαμβάνει κινήσεις μεγάλων μυικών ομάδων με ρυθμικό τρόπο για παρατεταμένο χρονικό διάστημα (*Lee DC et al. 2014*). Η τακτική αερόβια άσκηση επιδρά θετικά μέσω της ικανότητας χρήσης οξυγόνου για παραγωγή έργου. Αυτό αφορά σε ένταση άσκησης μεταξύ 40-80% VO_2 (μέγιστος όγκος (V) οξυγόνου (O_2) σε ml). Μειώνει τις απαιτήσεις του μυοκαρδίου σε οξυγόνο με μείωση του καρδιακού ρυθμού. Βελτιώνει την αιμάτωση του μυοκαρδίου αυξάνοντας την εσωτερική διάμετρο των κυριότερων αρτηριών, τη μικροκυκλοφορία και βελτιώνοντας την ενδοθηλιακή λειτουργία (*Perk J et al. 2012*).

Σε αυτήν εντάσσονται δραστηριότητες της καθημερινότητας, όπως ο ενεργός τρόπος μετακίνησης (περπατώντας ή ποδηλατώντας), οι βαριές δουλειές του σπιτιού, η κηπουρική, κάποιες δραστηριότητες στην εργασία και στον ελεύθερο χρόνο, όπως γρήγορο περπάτημα, πεζοπορία, αργό ή γρήγορο τρέξιμο, ποδηλασία, χορός ή κολύμπι. Παρόμοια με όλες τις άλλες παρεμβάσεις, πρέπει να δίνονται οδηγίες για τη συχνότητα, τη διάρκεια και την ένταση της αερόβιας σωματικής δραστηριότητας. Ωστόσο, πρέπει να ενθαρρύνεται η ένταξη της σωματικής δραστηριότητας στην καθημερινότητα σε χαμηλότερα επίπεδα ή σε άτομα που υιοθετούν έναν καθιστικό τρόπο ζωής, τα οποία μόλις έχουν ξεκινήσει να ασκούνται.

b. Σωματική δραστηριότητα μυϊκής ενδυνάμωσης / αντίστασης

Η ισοτονική σωματική δραστηριότητα διεγείρει τον οστικό σχηματισμό και μειώνει την οστική απώλεια: διατηρεί και αυξάνει τη μυϊκή μάζα, δύναμη και λειτουργική ικανότητα, και σύμφωνα με αποτελέσματα ερευνών φαίνεται να επιφέρει οφέλη στη ρύθμιση των συγκεντρώσεων των λιπιδίων στο αίμα και της αρτηριακής πίεσης και στην ινσουλινοευαισθησία, ιδίως όταν συνδυάζεται με αερόβια άσκηση (*Schwingshackl et al. 2014*). Θα πρέπει να στοχεύει στις μεγάλες μυϊκές ομάδες και να περιλαμβάνει πολλαπλές σύνθετες κινήσεις του πλήρους φάσματος των αρθρώσεων, όπως άσκηση με ζώνες αντίστασης, γυμναστική χρησιμοποιώντας ως αντίσταση το βάρος του σώματος, μεταφορά φορτίων με βάρος και δύσκολη κηπουρική. Για κάθε συνεδρία άσκησης, η προτεινόμενη οδηγία είναι: 2-3 σετ των 8-12 επαναλήψεων με ένταση ίση με το 60-80% της 1 μέγιστης επανάληψης του ατόμου σε συχνότητα τουλάχιστον 2 ημέρες την εβδομάδα.

vii. **Διατροφή**

Οι διατροφικές συνήθειες επηρεάζουν τον κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ, είτε επιδρώντας σε παράγοντες κινδύνου, όπως τα επίπεδα χοληστερόλης στο αίμα, η αρτηριακή πίεση, το σωματικό βάρος και ο σακχαρώδης διαβήτης, είτε μέσω άλλων παραγόντων. Οι περισσότερες ενδείξεις που αφορούν στη σχέση ανάμεσα

διατροφή και στα καρδιαγγειακά νοσήματα προέρχονται από μελέτες παρατήρησης. Ελάχιστες τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές έχουν διερευνήσει την επίδραση της δίαιτας στα καταληκτικά σημεία που αναφέρθηκαν παραπάνω. Τα διαθέσιμα ερευνητικά δεδομένα μελετούν το ρόλο των διαιτητικών συνηθειών στον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων σε τρία επίπεδα: σε επίπεδο θρεπτικών συστατικών, σε επίπεδο μεμονωμένων τροφίμων/ ομάδων τροφίμων και σε επίπεδο διατροφικών προτύπων. Σε επίπεδο διατροφικών προτύπων, η Μεσογειακή Δίαιτα έχει μελετηθεί περισσότερο. Τα θρεπτικά συστατικά που έχουν κερδίσει το ερευνητικό ενδιαφέρον είναι τα λιπαρά οξέα (τα οποία επηρεάζουν κυρίως τις συγκεντρώσεις λιποπρωτεϊνών στο αίμα), τα ανόργανα στοιχεία (τα οποία επηρεάζουν κυρίως την αρτηριακή πίεση), οι βιταμίνες και οι διαιτητικές ίνες (Perk J et al. 2012).

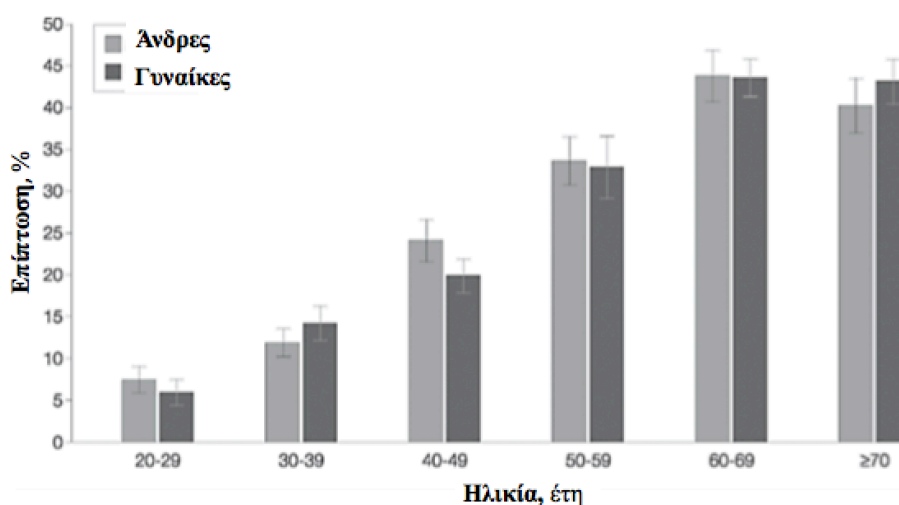
1.3 Μεταβολικό σύνδρομο και καρδιαγγειακή νόσος

Το μεταβολικό σύνδρομο αποτελεί ένα σύμπλεγμα παραγόντων κινδύνου για την ΚΝ, το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και τη θνησιμότητα από κάθε αιτία. Όπως αρχικά ορίστηκε, οι κύριες συνιστώσες του περιλαμβάνουν την ινσουλινοαντίσταση, την κεντρική παχυσαρκία, την υπέρταση και τη δυσλιπιδαιμία (αυξημένα TG και χαμηλά επίπεδα HDL-χοληστερόλης) (Esposito K et al. 2012). Πρόσφατα, το ενδιαφέρον επικεντρώθηκε στη φλεγμονή ως πιθανός συνδετικός κρίκος των παραπάνω παραμέτρων, γεγονός που καθιστά τη διαμόρφωση του ορισμού της νόσου ακόμα πιο περίπλοκη υπόθεση.

Η συσχέτιση του μεταβολικού συνδρόμου με τη χρόνια φλεγμονώδη αντίδραση, συνεπάγεται ότι σχετίζεται με την ανώμαλη ενεργοποίηση προφλεγμονωδών μεταβολικών μονοπατιών (Kaur J et al. 2014; Fuentes E et al. 2013). Ανεξαρτήτου παρουσίας ή εξέλιξης του μεταβολικού συνδρόμου σε ένα άτομο, τα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) μπορούν να προβλέψουν την πιθανή εμφάνιση μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβάντων (Kaur J et al. 2014). Εμμέσως, και άλλοι δείκτες φλεγμονής σχετίζονται με παραμέτρους του μεταβολικού συνδρόμου όπως η ιντερλευκίνη 6 (IL-6) που σχετίζεται θετικά με το ΔΜΣ και τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας. Παρόλο που ο ορισμός του μεταβολικού συνδρόμου επεκτείνεται, τα στοιχεία που προσδιορίζουν τόσο την παθογένεσή του όσο και την παγίωση των διαγνωστικών κριτηρίων αυτού παραμένουν ασαφή (Kassi E et al. 2011).

Τα κλινικά χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου καθιστούν επιρρεπή τα άτομα που πάσχουν από αυτό να εμφανίσουν σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και ΚΝ, επάγοντας μάλιστα και το βαθμό καρδιαγγειακής θνησιμότητας. Στην Αμερική, το μεταβολικό σύνδρομο είναι διαδεδομένο και θα γίνει ακόμα περισσότερο, επηρεάζοντας το 24% των ενηλίκων του αμερικάνικου πληθυσμού ηλικίας 20 έως 70 ετών και άνω. Άτομα με μεταβολικό σύνδρομο είναι πιθανότερο να εμφανίσουν ΚΝ και πάνω από 4 φορές πιθανό να αναπτύξουν διαβήτη σε σχέση με άτομα που

δεν πάσχουν. Δεδομένα από συστηματική ανασκόπηση για τη συσχέτιση του καρδιαγγειακού κινδύνου με το μεταβολικό σύνδρομο, όπως διατυπώθηκε από το National Cholesterol Education Program (NCEP) του 2001 και τον αναθεωρημένο ορισμό του NCEP (rNCEP) έδειξαν ότι το μεταβολικό σύνδρομο συσχετίζεται με διπλάσια αύξηση του κινδύνου για ΚΝ και αύξηση της θνησιμότητας από κάθε αιτία κατά 1.5-φορές (Ford ES et al. 2002). Τέλος, σύμφωνα με τον ορισμό του μεταβολικού συνδρόμου από την 3^η αναφορά του National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III) σημειώνεται ότι η επίπτωση του μεταβολικού συνδρόμου ήταν 21.8% μετά από ανάλυση δεδομένων την περίοδο 1988-1994 σε 8814 Αμερικάνους άνδρες και γυναίκες ηλικίας 20 ετών και άνω (Ford ES et al. 2002) (Γράφημα 6).



Γράφημα 6 : Επίπτωση Μεταβολικού συνδρόμου σε ενήλικες των Η.Π.Α ανάλογα με την ηλικία (1988-2004) (Στοιχεία από Third National Health and Nutrition Examination Survey)

Στον ευρωπαϊκό χώρο, ερευνητές από 8 ευρωπαϊκές μελέτες συνέβαλαν στην καταγραφή της συχνότητας εμφάνισης του μεταβολικού συνδρόμου, ανάλογα με το φύλο και την ηλικία καθώς και τη συνολική συχνότητα εμφάνισης αυτού σε 8200 άνδρες και 9363 γυναίκες. Η συχνότητα του μεταβολικού συνδρόμου αυξάνεται με την ηλικία και το φύλο, με τους άνδρες να είναι περισσότερο επιρρεπείς για μια δεδομένη ηλικία. Σε μη διαβητικά άτομα η συχνότητα του μεταβολικού συνδρόμου (ορισμός κατά ΠΟΥ) κυμαινόταν από 7% έως 36% για άνδρες ηλικίας 40 έως 55 ετών, ενώ για γυναίκες ίδιας ηλικίας από 5% έως 22%. Η συγκεκριμένη αναφορά τόνιζε ακόμα περισσότερο την ποικιλομορφία που υπάρχει ανάμεσα σε διαφορετικούς πληθυσμούς στη συχνότητα εμφάνισης του μεταβολικού συνδρόμου (Balkau B et al. 2002).

Τα αποτελέσματα αυτά συμβαδίζουν με την επικίνδυνα αυξημένη επίπτωση του μεταβολικού συνδρόμου σε εθνικό επίπεδο. Στην Ελλάδα, η πιο πρόσφατη

μελέτη που παρέχει δεδομένα επίπτωσης του μεταβολικού συνδρόμου είναι η μελέτη ΑΤΤΙΚΗ. Συνολικά, η επίπτωση του μεταβολικού συνδρόμου ήταν 453 από τα 2282 άτομα (19.8%). Από αυτά τα άτομα 284 (25.2%) ήταν άνδρες και 169 (14.6%) ήταν γυναίκες. Η επίπτωση του μεταβολικού συνδρόμου αυξήθηκε αντίστοιχα με την αύξηση της ηλικίας (*Panagiotakos DB et al 2004*). Λίγο αργότερα, στοιχεία από μελέτη ασθενών-μαρτύρων που διοργανώθηκε το MetS-Greece Collaborative Group και στην οποία συμμετείχαν 4153 άτομα ηλικίας άνω των 18 ετών, έδειξε ότι η επίπτωση του μεταβολικού συνδρόμου προσαρμοσμένη για την ηλικία ήταν 23.6%, ποσοστό παρόμοιο σε άνδρες (24.2%) και γυναίκες (22.8%) (*Athyros VG et al. 2005*).

1.3.1 Παράμετροι μεταβολικού συνδρόμου

Αρκετοί διεθνείς οργανισμοί υγείας, όπως ο ΠΟΥ, European Group for the study of Insulin Resistance (EGIR), National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP:ATPIII), American Association of Clinical Endocrinology (AACE), International Diabetes Federation (IDF), American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute (AHA/NHLBI), προσπάθησαν να ενσωματώσουν όλες τις διαφορετικές πτυχές του μεταβολικού συνδρόμου με σκοπό το σαφή ορισμό του (*Kassi E et al. 2011*). Το 2005, ο NCEP:ATP III εξέδωσε ένα σύνολο κριτηρίων που περιλάμβαναν την αξιολόγηση της περιφέρειας μέσης, των λιπιδίων στο αίμα, της αρτηριακής πίεσης και της γλυκόζης νηστείας (*Grundy SM et al. 2004*). Τα κριτήρια που τέθηκαν από το NCEP:ATP III διέφεραν τόσο από τον ΠΟΥ, που επικεντρωνόταν στην αξιολόγηση της γλυκόζης όσο και από τον EGIR που εστίαζε στην ινσουλινοαντίσταση. Τα υπόλοιπα 4 χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου ήταν πανομοιότυπα κατά τον ορισμό AHA/NHLBI σε σχέση με τον IDF, με τη διαφορά ότι η κεντρική παχυσαρκία είχε οριστεί διαφορετικά. Πιο συγκεκριμένα, ο IDF πρότεινε ότι το κατώφλι για την περιφέρεια μέσης στους Ευρωπαίους πρέπει να είναι 94 cm για τους άνδρες και 80 cm για τις γυναίκες, ενώ ο AHA/NHLBI 102 cm και 88 cm αντίστοιχα.

Μέχρι τώρα οι 2 πιο διαδεδομένοι ορισμοί για το μεταβολικό σύνδρομο είναι εκείνοι των NCEP:ATPIII και IDF (προσανατολιζόμενος στην αξιολόγηση της παχυσαρκίας) που εστιάζουν ειδικά στην περιφέρεια μέσης, που είναι υποκειμενική στη μέτρηση της κεντρικής παχυσαρκίας (*Kassi E et al. 2011*). Το 2009, νέα ομάδα κριτηρίων καλούμενα Harmonized Criteria προτάθηκαν για την εφαρμογή διεθνών συγκρίσεων και περιλάμβαναν προ-συμφωνημένα κατώφλια διαφορετικά ανάλογα με τις εθνικές ομάδες και τα φύλα για την κλινική διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου (*Alberti KG et al. 2009*).

Συνοπτικά, ο ορισμός NCEP ATP III περιλαμβάνει 3 ή περισσότερα από τα παρακάτω: περιφέρεια μέσης ≥ 102 cm για άνδρες και ≥ 88 cm για γυναίκες, TG ≥ 150 mg/dL, HDL < 40 mg/dL για άνδρες και < 50 mg/dL για γυναίκες, αρτηριακή πίεση $\geq 130/85$ mmHg, γλυκόζη νηστείας (FPG) ≥ 100 mg/dL (*Grundy SM et al. 2004*). Ο ορισμός IDF περιγράφει το μεταβολικό σύνδρομο ως αυξημένη περιφέρεια μέσης (≥ 94 cm για άνδρες ή ≥ 80 cm για γυναίκες) συν 2 από τα επόμενα: TG ≥ 150

mg/dl, HDL < 40 mg/dL για άνδρες ή 50 mg/dL για γυναίκες, αρτηριακή πίεση $\geq$ 130/85 mmHg, FPG $\geq$ 100 mg/dL (*The IDF Consensus 2005*). Τέλος, τα Harmonized Criteria περιλαμβάνουν 3 ή περισσότερα από τα παρακάτω: περιφέρεια μέσης $\geq$ 94 cm για άνδρες και $\geq$ 80 cm για γυναίκες, TG $\geq$ 150 mg/dL, HDL < 40 mg/dL για άνδρες και < 50 mg/dL για γυναίκες, αρτηριακή πίεση $\geq$ 130/85 mm Hg, FPG $\geq$ 100 mg/dL (*Alberti KG et al. 2009*) (Πίνακας 1).

Ορισμός	Παράμετροι
NCEP:ATP III	Διάγνωση: $\geq$ 3 από τα παρακάτω • Περιφέρεια μέσης $\geq$ 102 cm (άνδρες) ή $\geq$ 88 cm (γυναίκες) • Τριγλυκερίδια ορού νηστείας: $\geq$ 150 mg/ dl • HDL-χοληστερόλη ορού: < 40 mg/ dl (άνδρες) ή 50 mg/ dl (γυναίκες) • Συστολική πίεση $\geq$ 130 ή διαστολική πίεση $\geq$ 85 mm Hg • Γλυκόζη ορού νηστείας $\geq$ 100 mg/ dl
IDF	Διάγνωση: Περιφέρεια μέσης $\geq$ 94 cm (άνδρες) ή $\geq$ 80 cm (γυναίκες) και $\geq$ 2 από τα παρακάτω • Τριγλυκερίδια ορού νηστείας: $\geq$ 150 mg/ dl • HDL-χοληστερόλη ορού: < 40 mg/ dl (άνδρες) ή 50 mg/ dl (γυναίκες) • Συστολική πίεση $\geq$ 130 ή διαστολική πίεση $\geq$ 85 mm Hg • Γλυκόζη ορού νηστείας $\geq$ 100 mg/ dl
Harmonized criteria*	Διάγνωση: $\geq$ 3 από τα παρακάτω • Περιφέρεια μέσης $\geq$ 94 cm (άνδρες) ή $\geq$ 80 cm (γυναίκες) • Τριγλυκερίδια ορού νηστείας: $\geq$ 150 mg/ dl • HDL-χοληστερόλη ορού: < 40 mg/ dl (άνδρες) ή 50 mg/ dl (γυναίκες) • Συστολική πίεση $\geq$ 130 ή διαστολική πίεση $\geq$ 85 mm Hg • Γλυκόζη ορού νηστείας $\geq$ 100 mg/ dl
*International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; International Association for the Study of Obesity	

Η μελέτη ΑΤΤΙΚΗ λαμβάνοντας υπόψη όλους τους πιθανούς ορισμούς και διαγνωστικά κριτήρια του μεταβολικού συνδρόμου εξέτασε για πρώτη φορά λεπτομερώς τη συσχέτιση του μεταβολικού συνδρόμου με τη δεκαετή επίπτωση της ΚΝ προοπτικά. Το δεκαετές follow-up της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ χρησιμοποίησε και τους 3 ορισμούς του μεταβολικού συνδρόμου (rNCEP ATP III, IDF, Harmonized definition). Καρδιαγγειακά επεισόδια συνέβησαν σε 317 άτομα (που αφορούσε στο 15.7% του δείγματος της μελέτης); 40.7% των οποίων συνέβησαν σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο (*Kastorini CM et al. 2016*).

1.3.2 Μεταβολικό σύνδρομο και καρδιαγγειακός κίνδυνος

Το μεταβολικό σύνδρομο, όντας κοινός τύπος πολλαπλών μεταβολικών ανωμαλιών συσχετίζεται με υψηλότερο καρδιαγγειακό κίνδυνο μέσω πολλών διαφορετικών μονοπατιών. Πιο συγκεκριμένα, τα τρία συστατικά στοιχεία της αθηρογόνου δυσλιπιδαιμίας (αυξημένα επίπεδα LDL, μειωμένα επίπεδα HDL και αυξημένη συγκέντρωση TG) μεμονωμένα συσχετίζονται με αυξημένο

καρδιαγγειακό κίνδυνο, ενώ η ινσουλινοαντίσταση αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2 που αποτελεί κύριο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση ΚΝ. Η παρουσία κεντρικού τύπου παχυσαρκίας έχει συσχετιστεί με τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο, ως κινητήριος δύναμη της αθηροσκλήρωσης μέσω των φλεγμονωδών διαδικασιών, της αρτηριακής πίεσης και της δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου (Giugliano D et al. 2004).

Πέρα από τα προαναφερθέντα μεταβολικά μονοπάτια που συσχετίζονται με την παρουσία του μεταβολικού συνδρόμου είτε ως αιτία είτε ως αποτέλεσμα, υπάρχουν σημαντικές πτυχές του τρόπου ζωής που σχετίζονται άμεσα με το μεταβολικό σύνδρομο όπως η παχυσαρκία. Η ύπαρξη παχυσαρκίας αυξάνει τον κίνδυνο νεφρικής δυσλειτουργίας προωθώντας περαιτέρω τη βλάβη σε αγγειακό επίπεδο (Gluba A et al. 2013). Δεδομένα από παχύσαρκους ασθενείς κατέγραψαν αύξηση των επιπέδων ουρικού οξέος στο αίμα ως απόκριση στη μείωση του δείκτη νεφρικής διήθησης αποτελώντας ένδειξη σύνδεσης των δύο συστατικών στοιχείων του μεταβολικού συνδρόμου.

Αρκετές επιδημιολογικές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο σε άτομα στα οποία έχει γίνει διάγνωση για μεταβολικό σύνδρομο, ανεξαρτήτου των κριτηρίων διάγνωσης που χρησιμοποιήθηκαν (Arnlov J et al. 2010; Mozumbar et al. 2011; Ford ES 2004; McNeil AM et al. 2005; Hunt KJ et al. 2004; Lakka et al. 2002; Ford ES 2005). Συνολικά, εύρος της τάξης 1.5-3 φορές υψηλότερος κίνδυνος για θνησιμότητα από καρδιαγγειακή και στεφανιαία νόσο σε σχέση με υγιή άτομα έχει αναφερθεί σε αρκετές προοπτικές μελέτες, ενώ μια πρόσφατη μετα-ανάλυση κατέληξε ότι η παρουσία του μεταβολικού συνδρόμου συσχετίστηκε με 2 φορές αύξηση όλων των εκβάσεων για καρδιαγγειακά νοσήματα (Motillo et al. 2010). Αντίθετα, μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε μεγαλύτερα άτομα, όπως η Casale Monteferrano Study και η PROSPER, δεν κατάφεραν να αποδείξουν κάποια συσχέτιση ανάμεσα στο μεταβολικό σύνδρομο και τον καρδιαγγειακό κίνδυνο (Bruno G et al. 2004; Sattar N et al. 2008). Λόγω αυτών των αντιφάσεων, πρόσφατα, περισσότερες μελέτες είχαν ως σκοπό να διερευνήσουν ποιος από τους προτεινόμενους ορισμούς του μεταβολικού συνδρόμου συνδέεται συγκεκριμένα με τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Στο πλαίσιο αυτό η μελέτη ΑΤΤΙΚΗ εξέτασε το προαναφερθέν ζήτημα σκοπεύοντας να δώσει μια πιθανή εξήγηση σχετικά με την επίδραση της νεφρικής δυσλειτουργίας και της φλεγμονής στην επίπτωση της ΚΝ (Kastorini CM et al. 2016).

Η επίπτωση του μεταβολικού συνδρόμου εκτιμήθηκε 20% σύμφωνα με τον αναθεωρημένο ορισμό NCEP ATPIII (revised NCEP ATP III), 48.9% σύμφωνα με τον ορισμό του IDF και 51% σύμφωνα με τα Harmonized Criteria. Ανάμεσα στους ορισμούς του μεταβολικού συνδρόμου, μόνο ο αναθεωρημένος NCEP ATP III τόνισε ότι το ιστορικό για μεταβολικό σύνδρομο συσχετιζόταν στατιστικά σημαντικά (83% υψηλότερος σχετικός λόγος) με την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβάντων, ακόμα και μετά από εξέταση των συγχυτικών παραγόντων όπως φύλο, ηλικία,

οικογενειακό ιστορικό ΚΝ, φυσική δραστηριότητα, προσκόλληση στη Μεσογειακή δίαιτα (MedDietScore) και το κάπνισμα ($p < 0.001$). Τα ευρήματα αυτά επιβεβαίωσαν ότι η επιλογή του κατάλληλου ορισμού για το μεταβολικό σύνδρομο αποτελεί κορυφαίας σημασίας ζήτημα για τη δημόσια υγεία. Οι περισσότεροι από τους συμμετέχοντες στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ ταξινομήθηκαν σε αυτούς που είχαν το μεταβολικό σύνδρομο χρησιμοποιώντας τους ορισμούς των IDF και των Harmonized Criteria σε σχέση με τον NCEP, καθώς ο τελευταίος είχε διαφορετικά κατώφλια για την περιφέρεια μέσης. Αντίθετα, η σημαντική συσχέτιση που παρουσιάζει ο ορισμός του μεταβολικού συνδρόμου από τον revised NCEP ATP III επιβεβαιώνεται επίσης από μία πρόσφατη μετα-ανάλυση, όπου το ορισμένο από τον NCEP μεταβολικό σύνδρομο συσχετίστηκε με 200% υψηλότερο κίνδυνο για ΚΝ (Eckel *et al.* 2007).

Όταν δε εξετάστηκε ο προβλεπτικός ρόλος των δεικτών φλεγμονής (CRP, IL-6, ουρικό οξύ) για να εξηγήσουν τη σχέση των 3 ορισμών του μεταβολικού συνδρόμου με το 10ετή καρδιαγγειακό κίνδυνο, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > 0.40$). Το γεγονός αυτό με τη σειρά του προτείνει περισσότερη διερεύνηση των φλεγμονωδών διαμεσολαβητών του μεταβολικού συνδρόμου στην επίπτωση της ΚΝ.

1.4 Διατροφή και ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου

1.4.1 Τρόφιμα, ομάδες τροφίμων και ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου

Θρεπτικά συστατικά

Τα θρεπτικά συστατικά που συγκεντρώνουν το ενδιαφέρον σε σχέση με τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι τα λιπαρά οξέα (που επηρεάζουν κυρίως τα επίπεδα λιποπρωτεϊνών), τα ιχνοστοιχεία (που κυρίως επηρεάζουν την πίεση αίματος), οι βιταμίνες και οι φυτικές ίνες (Perk J *et al.* 2012).

Για την πρόληψη της ΚΝ, το είδος των λιπαρών οξέων που καταναλώνονται είναι πιο σημαντικό από το συνολικό περιεχόμενο της δίαιτας σε λιπίδια. Τα λιπαρά οξέα διακρίνονται σε κορεσμένα (SFA) και ακόρεστα, με τα τελευταία να χωρίζονται σε πολυακόρεστα (PUFA), μονοακόρεστα (MUFA) και trans. Ο κίνδυνος εμφάνισης στεφανιαίας νόσου μειώνεται κατά 2-3% όταν το 1% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης που προέρχεται από SFA αντικαθίσταται με PUFA. Ωστόσο δεν έχει φανεί κάτι αντίστοιχο όταν τα SFA αντικαθίστανται από MUFA και υδατάνθρακες, που ενώ μειώνουν την ολική χοληστερόλη ανεβάζουν τα επίπεδα TG στο αίμα. Η πρόσληψη SFA πρέπει ιδανικά να κυμαίνεται στο 10% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης και η περίσσεια να αντικαθίσταται από PUFA (Astrup A *et al.* 2011).

Τα MUFA επιδρούν θετικά στα επίπεδα της HDL-χοληστερόλης όταν αντικαθιστούν τα SFA ή τους υδατάνθρακες, αλλά δεν έχει αποδειχθεί πλήρως ότι τα MUFA μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Τα PUFA μειώνουν τα επίπεδα της LDL-χοληστερόλης και σε μικρότερο βαθμό την HDL-χοληστερόλη, όταν αντικαθιστούν τα SFA. Τα PUFA μπορούν να διαχωριστούν σε δύο υποομάδες:

τα ωμέγα-6 (ω-6) που προέρχονται κυρίως από φυτικές ίνες και τα ωμέγα-3 (ω-3), τα οποία εμπεριέχονται κυρίως στο λίπος και στα ιχθυέλαια. Ανάμεσα στα ω-3 λιπαρά οξέα, το εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA) και το δοκοσαεξαενοϊκό οξύ (DHA) είναι ιδιαίτερος, σημαντικός. Δε μεταβάλλουν τις συγκεντρώσεις της χοληστερόλης στον ορό και, εν συγκρίσει με τις υπάρχουσες καρδιοπροστατευτικές θεραπείες, είναι αμφισβητήσιμο το αν και κατά πόσο ασκούν προστατευτική επίδραση στη θνησιμότητα από κάθε αιτία, από στεφανιαία νόσο και από αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, αντιστοίχως (Wen YT et al. 2014).

Τα trans λιπαρά οξέα, μια υποκατηγορία των ακόρεστων λιπαρών οξέων, που βρίσκονται στη μαργαρίνη και τα αρτοπαρασκευάσματα, αυξάνουν την ολική χοληστερόλη και μειώνουν την HDL-χοληστερόλη (Perk J et al. 2012). Τα συγκεκριμένα λιπαρά σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της βιομηχανικής επεξεργασίας (υδρογόνωση/ σκλήρυνση) των λιπών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μιας μετα-ανάλυσης προοπτικών μελετών κοορτής, μια αύξηση της ενεργειακής πρόσληψης κατά 2% από την κατανάλωση trans λιπαρών οξέων, αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου κατά 23% (Mozaffarian D et al. 2006). Συστήνεται η κατανάλωση trans λιπαρών οξέων να αντιστοιχεί στο 1% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης – όσο το λιγότερο, τόσο το καλύτερο.

Η επίδραση της χοληστερόλης που προσλαμβάνεται διατροφικά στα επίπεδα της χοληστερόλης πλάσματος είναι αρκετά μικρή, καθώς η μείωση του κορεσμένου λίπους συνεπάγεται και μείωση της πρόσληψης χοληστερόλης από τη δίαιτα. Λίγες μόνο οδηγίες προσδιορίζουν τη μείωση της πρόσληψης της χοληστερόλης από τη διατροφή σε <300 mg/ ημέρα, ενώ κάποιες άλλες συμπεριλαμβανομένων της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας δεν περιλαμβάνουν κάποια συγκεκριμένη σύσταση για την πρόσληψη χοληστερόλης (Piepoli MF et al. 2017).

Από τα ιχνοστοιχεία που λαμβάνονται με τη διατροφή ιδιαίτερο ενδιαφέρον εμφανίζουν το νάτριο και το κάλιο. Η επίδραση του νατρίου στην πίεση αίματος είναι παγιωμένη εδώ και πολύ καιρό. Η δοσοεξαρτώμενη αυτή σχέση επιβεβαιώθηκε με την εφαρμογή της δίαιτας DASH για τη μείωση της αρτηριακής πίεσης και των επιπέδων λιπιδίων (Sacks FM et al. 2001). Η δίαιτα DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) είναι πλούσια σε φρούτα και λαχανικά, περιέχει χαμηλά σε λίπος γαλακτοκομικά προϊόντα και είναι μειωμένη σε κορεσμένο και ολικό λίπος. Η τωρινή πρόσληψη αλατιού που βρίσκεται σε πολλά επεξεργασμένα τρόφιμα, ξεπερνά κατά πολύ τα 5 g./ ημέρα, ενώ τα ιδανικά επίπεδα πρόσληψης είναι πολύ χαμηλότερα, αγγίζοντας τα 3 g./ ημέρα. Κατά μέσο όρο, το 80% της διαιτητικής πρόσληψης αλατιού προέρχεται από επεξεργασμένα τρόφιμα, ενώ μόνο το 20% προστίθεται αργότερα. Παράλληλα, η πρόσληψη καλίου, που βρίσκεται σε φρούτα και λαχανικά φαίνεται να σχετίζεται αρνητικά με την πίεση αίματος (Piepoli MF et al. 2017).

Όσο αφορά στις βιταμίνες πολλές μελέτες ασθενών-μαρτύρων και προοπτικές μελέτες παρατήρησης έχουν αναδείξει αντίστροφες συσχετίσεις ανάμεσα στα

επίπεδα βιταμίνης Α και βιταμίνης Ε και τον κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ. Ωστόσο τα ευρήματα αυτά δεν έχουν επιβεβαιωθεί από μελέτες παρέμβασης. Για τις βιταμίνες του συμπλέγματος Β (Β6, φυλλικό οξύ και Β12) και τη βιταμίνη C δεν έχουν αναδειχθεί ευεργετικές δράσεις από κλινικές μελέτες. Η βιταμίνη D παρεμποδίζει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυικών κυττάρων, τη μείωση της έκκρισης προφλεγμονωδών κυτταροκινών, την αύξηση της έκκρισης αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών και δρα ως αρνητικός ρυθμιστής του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης. Επειδή δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικά ευρήματα για τη συμπληρωματική πρόσληψη βιταμίνης D, δεν μπορούν ακόμα να διατυπωθούν συμπεράσματα αναφορικά με τη συμπληρωματική χορήγηση (*Piepoli MF et al. 2017*).

Η αυξημένη πρόσληψη διαιτητικών ινών φαίνεται να μειώνει τις μεταγευματικές αποκρίσεις γλυκόζης ύστερα από κατανάλωση γευμάτων πλούσιων σε υδατάνθρακες και τις συγκεντρώσεις ολικής και LDL-χοληστερόλης. Σύμφωνα με πρόσφατες μεταanalύσεις προοπτικών μελετών κοορτής, η αύξηση της συνολικής πρόσληψης διαιτητικών ινών κατά 7 g./ ημέρα σχετίζεται με 9% χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου (ΣΚ: 0.91, 95% ΔΕ:0.87-0.94). Δεν έχουν, ακόμη, βρεθεί παρόμοιες συσχετίσεις ειδικά για τις διαιτητικές ίνες που περιέχονται σε φρούτα και λαχανικά (*Zhang Z et al. 2013*).

Τρόφιμα και ομάδες τροφίμων

Η πρόσληψη φρούτων και λαχανικών έχει εκτενώς μελετηθεί σε σχέση με τα ποικίλα αποτελέσματα που μπορεί να έχει για την υγεία, και ιδιαίτερα την καρδιαγγειακή νόσο, με τη θετική επίδραση της κατανάλωσής τους να παρατηρείται στην πρωτογενή πρόληψη της ΚΝ, με βάση τα δεδομένα από τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες (*Hartley L et al. 2013*). Οι μηχανισμοί με τους οποίους τα φρούτα και τα λαχανικά ασκούν την προστατευτική τους επίδραση δεν είναι ακόμα απόλυτα ξεκάθαροι, αλλά πιθανόν να σχετίζονται με τις αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές τους. Έτσι, κατανάλωση μεγαλύτερης ποικιλίας φρούτων και λαχανικών συνδέεται με χαμηλότερες συγκεντρώσεις CRP, που αποτελεί δείκτη φλεγμονής. Αρκετά μικροσυστατικά των φρούτων και των λαχανικών όπως, οι φυτικές ίνες, το μαγνήσιο και το κάλιο δρουν συνεργιστικά και αποδίδουν ένα συνολικό ευεργετικό αποτέλεσμα. Πιο συγκεκριμένα, η σύσταση είναι να καταναλώνονται τουλάχιστον 200 g. φρούτων (2-3 μερίδες) και 200g. λαχανικών (2-3 μερίδες) ημερησίως (*Perk J et al. 2012*).

Όσο αφορά στις επιδημιολογικές μελέτες, μέχρι και πρόσφατα η μελέτη PREDIMED στοιχειοθέτησε τη σχέση των φυτικών ινών και των τροφίμων που είναι πλούσια σε φυτικές ίνες με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Με γνώμονα την ετήσια διαιτητική παρακολούθηση των εθελοντών της μελέτης, συμπεριλήφθηκαν και άτομα αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου. Σε αυτή τη μελέτη παρακολούθηθηκαν για 7 χρόνια συνολικά 7216 άνδρες (ηλικίας 55 έως 80 ετών) και γυναίκες (ηλικίας 60 έως 80 ετών) που αρχικά δεν έπασχαν από ΚΝ. Τα

αποτελέσματα επιβεβαίωσαν την αντίστροφη συσχέτιση της κατανάλωσης φυτικών ινών και φρούτων μετά από έλεγχο για τις παραμέτρους ηλικία και φύλο, με τη στατιστική σημαντικότητα να χάνεται στα πλήρως προσαρμοσμένα μοντέλα. Πάραυτα, αποδείχθηκε η αντίστροφη συσχέτιση της επίπτωσης της ΚΝ με τη συνολική κατανάλωση φρούτων και λαχανικών. Πιο συγκεκριμένα, συμμετέχοντες που κατανάλωναν στο σύνολο περισσότερες από 9 μερίδες φρούτων και λαχανικών ημερησίως εμφάνιζαν 40% μειωμένο καρδιαγγειακό κίνδυνο σε σχέση με άτομα που κατανάλωναν λιγότερες από 5 μερίδες την ημέρα (*Buil-Cosiales P et al. 2016*).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μιας μετανάλυσης προοπτικών μελετών, η καθημερινή κατανάλωση 30 g. ξηρών καρπών μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ κατά 30% (ΣΚ: 0.71, 95% ΔΕ:0.59-0.85) (*Luo C et al 2014*), Ωστόσο, οι ξηροί καρποί έχουν υψηλή ενεργειακή πυκνότητα.

Τα ψάρια συγκεντρώνουν το ενδιαφέρον λόγω του περιεχομένου τους σε ω-3 λιπαρά οξέα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα πρόσφατης μετανάλυσης, η κατανάλωση ψαριού 2-4 φορές την εβδομάδα μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης εγκεφαλικού επεισοδίου κατά 6% (ΣΚ: 0.94, 95% ΔΕ:0.90-0.98), συγκριτικά με την κατανάλωση ψαριού λιγότερο από μία φορά την εβδομάδα (*Chowdhury R et al. 2014*). Η σχέση ανάμεσα στην κατανάλωση ψαριού και τον κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ δεν είναι γραμμική. Ο κίνδυνος είναι αυξημένος όταν η κατανάλωση ψαριού είναι μηδενική ή πολύ χαμηλή. Μια μικρή αύξηση στην κατανάλωση ψαριού στο γενικό πληθυσμό έχει συνεπώς μεγάλο αντίκτυπο στη δημόσια υγεία. Όσο αφορά στα ιχθυέλαια, έχουν δημοσιευθεί σχετικά τρεις τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές. Σε όλες η συμπληρωματική χορήγηση 400-1000 g EPA/DHA ημερησίως σε ασθενείς που έχουν υποστεί έμφραγμα του μυοκαρδίου ή με στεφανιαία νόσο δε συσχετίστηκε με μειωμένο αριθμό καρδιαγγειακών συμβάντων. Μια πρόσφατη μετανάλυση 20 κλινικών δοκιμών οι οποίες πραγματεύονταν κυρίως την επίδραση της συμπληρωματικής χορήγησης ιχθυελίων στην πρόληψη επανεμφάνισης καρδιαγγειακών επεισοδίων, δεν κατάφερε να αναδείξει κάποιο όφελος (*Rizos EC et al. 2012*).

Η κατανάλωση τριών ή περισσότερων αλκοολούχων ποτών ημερησίως έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ. Αποτελέσματα επιδημιολογικών μελετών έχουν δείξει ότι η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ (1-2 μονάδες/ ημέρα) σχετίζεται με χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ, σε σχέση με τη μη κατανάλωση. Αυτή η συσχέτιση δε φαίνεται να εξηγείται από ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ατόμων που απέχουν από το αλκοόλ, ωστόσο δεν μπορεί να αποκλειστεί πλήρως η πιθανότητα να υπάρχει υπολειπόμενη συγχυτική δράση και αντίστροφη αιτιότητα (*Ronksley PE et al. 2011*). Επιπλέον, μια πρόσφατη μετα-ανάλυση με Μενδελική τυχαιοποίηση που συμπεριλαμβάνει αναλύσεις από 59 επιδημιολογικές μελέτες δεν κατάφερε να αναδείξει καμία ευεργετική επίδραση της μέτριας κατανάλωσης αλκοόλ, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι άτομα που δεν καταναλώνουν αλκοόλ έχουν χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ καθώς και ότι η κατανάλωση αλκοόλ,

ανεξαρτήτως της ποσότητας, συσχετίζεται με αυξημένη αρτηριακή πίεση και αυξημένο ΔΜΣ (*Holmes MV et al. 2014*). Η ιδανική κατανάλωση αλκοόλ είναι 20g./ημέρα για τους άντρες και 10g./ημέρα (περίπου 1 ποτό) για τις γυναίκες (*Perk J et al. 2012*).

Το αλκοόλ έχει εμπλακεί στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης ΚΝ. Πρόσφατα δεδομένα για J-shaped σχέση δόθηκαν από μετα-ανάλυση που περιλάμβανε 84 προοπτικές μελέτες συσχέτισης της κατανάλωσης αλκοόλ και της ολικής θνησιμότητας από ΚΝ, επίπτωσης και θνησιμότητας από στεφανιαία νόσο/εγκεφαλικό επεισόδιο. Σε αυτή την εργασία φάνηκε ότι ελαφρά προς μέτρια (2.5-14.9 g/ημέρα δλδ <1 ποτό/ημέρα) κατανάλωση αλκοόλ συσχετίζεται με 14-25% μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης πολλαπλών καρδιαγγειακών εκβάσεων σε σύγκριση με την πλήρη αποχή από το αλκοόλ. Αντίθετα, μεγαλύτερη κατανάλωση αλκοόλ συνδέθηκε με αυξημένο κίνδυνο θνησιμότητας από εγκεφαλικό (*Ronksley PE et al. 2011*). Σε δημοσίευση από τη μελέτη EPIC αναφέρεται ότι η εφόρου ζωής περιορισμένη κατανάλωση αλκοόλ σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο θνησιμότητας. Σε σύγκριση με τους μακροχρόνια ελαφρούς καταναλωτές αλκοόλ, οι άνδρες που έπιναν <5 ποτά/ημέρα είχαν 24% μειωμένο κίνδυνο θνησιμότητας από ΚΝ. Αντίστοιχα στις γυναίκες, ο κίνδυνος θνησιμότητας από στεφανιαία νόσο ήταν 34-46% μικρότερος για όσες έπιναν σε μέτριο βαθμό αλκοόλ σε σχέση με τις γυναίκες που έπιναν πολύ ελαφρά, με τη σχέση αυτή να είναι εντονότερη σε υγιή άτομα (*Bergmann MM et al. 2013*).

Εκτεταμένη μελέτη έχει δείξει ότι η κατανάλωση καφέ έχει τόσο ωφέλιμη όσο και επιβλαβή επίδραση στην υγεία. Καταρχάς, πρόσφατη μετα-ανάλυση 21 προοπτικών μελετών κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η κατανάλωση καφέ δεν συνδέεται με μακροχρόνια αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Πιο συγκεκριμένα η συνηθισμένη κατανάλωση καφέ (3-4 φλιτζάνια την ημέρα) συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου στις γυναίκες (*Wu JN et al. 2009*). Αντίθετα, η ευρωπαϊκή μελέτη EPIC μελετώντας προοπτικά την κατανάλωση καφέ και τον κίνδυνο για θάνατο από έμφραγμα του μυοκαρδίου και εγκεφαλικό, αποφάνθηκε ότι η κατανάλωση καφέ δε συνδέεται με αύξηση κινδύνου για χρόνιες ασθένειες, με εξαίρεση τον κίνδυνο για διαβήτη τύπου 2 που φαίνεται να τον μειώνει (*Floegel A et al. 2012*). Μετανάλυση του 2013 προσδιόρισε καλύτερα την παραπάνω σχέση καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι υπάρχει μη γραμμική συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση καφέ και τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Μέτρια κατανάλωση καφέ συσχετίστηκε αντίστροφα με τον κίνδυνο για ΚΝ, με τον μικρότερο κίνδυνο να παρατηρείται σε ποσότητες της τάξης 3-5 φλιτζανιών. Τέλος, η μεγάλη κατανάλωση καφέ δεν συσχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα καρδιαγγειακού κινδύνου (*Ding M et al. 2014*).

Τα αναψυκτικά με ζάχαρη αποτελούν την κυριότερη πηγή ενέργειας στη διατροφή των Ηνωμένων Πολιτειών αλλά αρκετά σημαντική και στην Ευρώπη. Ειδικότερα, σε παιδιά και εφήβους, τα ροφήματα με ζάχαρη αντιπροσωπεύουν το

10-15% των ημερήσιων θερμίδων, ενώ η τακτική κατανάλωσή τους σχετίζεται με το υπέρβαρο και το διαβήτη τύπου 2. Η αύξηση συχνότητας κατανάλωσης των αναψυκτικών με προσθήκη ζάχαρης σε 2 ημερησίως από 1 το μήνα αυξάνει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο κατά 35% στις γυναίκες. Αντιθέτως, η κατανάλωση ροφημάτων με γλυκαντικά δε συσχετίστηκε με τη στεφανιαία νόσο. Η παρατήρηση αυτή δεν αναφέρεται στα αναψυκτικά με γλυκαντικά (*Perk J et al. 2012*). Η αντικατάσταση των αναψυκτικών με ζάχαρη με τα αντίστοιχα αναψυκτικά με τεχνητά γλυκαντικά φάνηκε να οδηγεί σε μικρότερη αύξηση βάρους σε παιδιά, ύστερα από 18 μήνες παρακολούθησης (*de Ruyter JC et al. 2012*). Σύμφωνα με τον ΠΟΥ, συστήνεται τα σάκχαρα (μονο- και δι-σακχαρίτες), στα οποία περιλαμβάνονται τα προστιθέμενα σάκχαρα καθώς αυτά που υπάρχουν στα φρούτα και στους χυμούς, να μην ξεπερνούν το 10% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης (*ΠΟΥ 2015*).

Λειτουργικά τρόφιμα που περιέχουν φυτοστερόλες (φυτικές στερόλες και στανόλες) αναδεικνύονται αποτελεσματικά στη μείωση της LDL-χοληστερόλης γύρω στο 10%, όταν καταναλώνονται σε ποσότητα 2 g./ ημέρα. Η μείωση της χοληστερόλης είναι πρόσθετο αποτέλεσμα μίας δίαιτας μειωμένης περιεκτικότητας σε λίπος ή της χρήσης στατινών. Πρόσφατες έρευνες δείχνουν ότι, ειδικά οι στανόλες, αν προσληφθούν σε μεγαλύτερες ποσότητες μπορούν να επιτύχουν επιπλέον μείωση της χοληστερόλης (*Perk J et al. 2012*).

1.4.2 Διατροφικά πρότυπα και ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου

Τα τελευταία χρόνια η έρευνα των διατροφικά εξαρτώμενων ασθενειών έχει στραφεί στην ολιστική προσέγγιση της διατροφής, τόσο για πρακτικούς όσο και για μεθοδολογικούς λόγους. Συνεπώς, η μελέτη των διατροφικών προτύπων είναι μια νέα κατάσταση. Στην περίπτωση της καρδιαγγειακής νόσου και των παραμέτρων αυτής, η «δυτικού τύπου» διατροφή που χαρακτηρίζεται από την κατανάλωση κόκκινου κρέατος, επεξεργασμένου κρέατος, επεξεργασμένων σιτηρών, γλυκών και επιδορπίων και γενικά προϊόντων πλούσιων σε λιπαρά έχει επιβαρυντική επίδραση. Αντίθετα, το «συνετό» πρότυπο διατροφής με την αυξημένη κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, ψαριών, προϊόντων ολικής άλεσης και πουλερικών έχουν ευεργετική επίδραση στην καρδιαγγειακή νόσο (*Panagiotakos DB et al. 2009*).

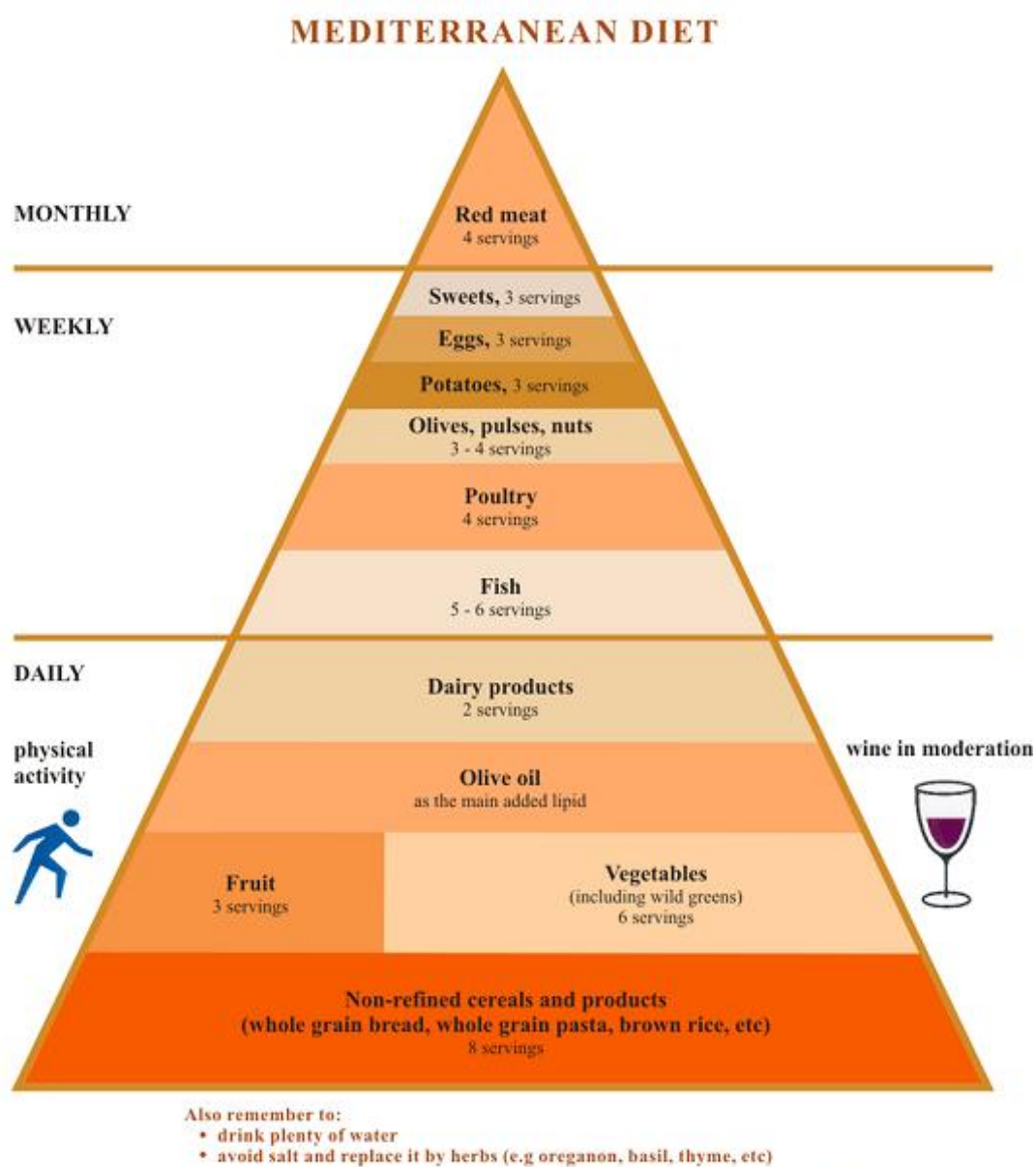
Η μελέτη ενός συνολικού διαιτητικού προτύπου δείχνει θεωρητικά τη συνολική προστατευτική δυνατότητα της δίαιτας, καθώς προκύπτει μια συνδυασμένη εκτίμηση επιδράσεων αρκετών ωφέλιμων διαιτητικών συνηθειών.

Η Μεσογειακή διατροφή

Ένα πρότυπο με υποσχόμενα αποτελέσματα κατά της εξέλιξης των χρόνιων ασθενειών, με παγιωμένη επίδραση στην καρδιαγγειακή νόσο (*Panagiotakos et al. 2004*) και τους παράγοντες κινδύνου αυτής (υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, παχυσαρκία (*Sanchez-Tainta A et al. 2008*)), είναι η Μεσογειακή διατροφή (ΜΔ). Η Μεσογειακή

πυραμίδα στηρίζεται στις διατροφικές συνήθειες του πληθυσμού της Κρήτης και της Νοτίου Ιταλίας. Σε αυτές τις περιοχές το προσδόκιμο ζωής ήταν το μεγαλύτερο ανά τον κόσμο, ενώ ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές ασθένειες και άλλες χρόνιες, εξαρτώμενες από τη διατροφή παθήσεις έφταναν τα χαμηλότερα επίπεδα.

Η τυπική ΜΔ χαρακτηρίζεται από αφθονία φρούτων, λαχανικών, ξηρών καρπών, οσπρίων, προϊόντων ολικής άλεσης, μέτρια κατανάλωση ψαριών και πουλερικών, χαμηλή κατανάλωση κόκκινου κρέατος, μέτρια κατανάλωση κρασιού (κυρίως με τα γεύματα) και αυξημένη κατανάλωση ελαιόλαδου πλούσιο σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (Fox CS et al. 2007; Kastorini CM et al. 2011; Tanglely CC et al. 2007).



Source: Supreme Scientific Health Council, Hellenic Ministry of Health

Εικόνα 3 : Η σύγχρονη εκδοχή της Μεσογειακής διατροφής

Το ευεργετικό αποτέλεσμα από την προσκόλληση στη ΜΔ αναφορικά με τη θνησιμότητα από κάθε αιτία, την ΚΝ, το διαβήτη τύπου 2, τον καρκίνο, έχει μελετηθεί εκτενώς (*Kastorini CM et al. 2016; Tortosa A et al. 2007*) και συνδέεται συχνά με τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες της ΜΔ όπως η αναστολή της ενεργοποίησης της NADPH οξειδάσης (*Calabriso N et al. 2016*), η μείωση των επιπέδων της IL-6 (*Jiang R et al. 2006*), η μείωση της διαλυτής συγκόλλησης των κυττάρων σε αγγειακό επίπεδο (*Ros E et al. 2004*), η αναστολή της σύνθεσης των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών όπως ο TNF- α , και ιντερλευκίνες 1,2 (*Giugliano D et al. 2004*) και η μειωμένη έκφραση της συγκόλλησης των μορίων στο ενδοθήλιο. Συνεπώς, η προστατευτική επίδραση των υγιεινών προτύπων διατροφής όπως η ΜΔ κατά της ΚΝ θα μπορούσε περισσότερο να αποδοθεί στη μειωμένη επαγωγή των φλεγμονωδών διαδικασιών, αν και η παραπάνω σχέση έχει ελάχιστα μελετηθεί από προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες (*Giugliano D et al. 2004*).

Η τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή PREDIMED εκτίμησε τη μακροπρόθεσμη επίδραση της Μεσογειακής διατροφής στην επίπτωση της ΚΝ σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο χωρίζοντας τυχαία τα άτομα σε διατροφικές παρεμβάσεις: (α) ΜΔ ενισχυμένη με παρθένο ελαιόλαδο (β) ΜΔ με ξηρούς καρπούς (γ) διατροφικές οδηγίες για συμμόρφωση σε υποθερμιδική δίαιτα (ομάδα ελέγχου). Ο πρωταρχικός σκοπός ήταν να εκτιμηθεί η επίδραση δύο εκδοχών της ΜΔ, μίας εμπλουτισμένης με παρθένο ελαιόλαδο (1L/ εβδομάδα) και μίας ενισχυμένης με ξηρούς καρπούς (30 g/ημέρα), όντας και οι δύο πλούσιες σε ολικό και ακόρεστο λίπος, στην έκβαση του καρδιαγγειακού θανάτου, εμφράγματος του μυοκαρδίου και εγκεφαλικού, σε σύγκριση με τη μειωμένου σε λίπος διατροφή. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τόσο η ενισχυμένη με λάδι όσο και η ενισχυμένη με ξηρούς καρπούς Μεσογειακή διατροφή έτειναν να αντιστρέφουν την αρχική κατάσταση του μεταβολικού συνδρόμου. Πιο συγκεκριμένα, μία ενεργειακά περιορισμένη ΜΔ φάνηκε πιο χρήσιμη στη μείωση του κινδύνου για κεντρική παχυσαρκία και υπεργλυκαιμία σε άτομα αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου (*Babio N et al. 2014*).

Πολλές μελέτες παρατήρησης έχουν προτείνει ότι η Μεσογειακή διατροφή χαρακτηρίζεται ως ένα συνετό πρότυπο διατροφής που παραδοσιακά ακολουθείται στην ευρύτερη Μεσογειακή διατροφή. Η Μεσογειακή διατροφή έχει επίσης προταθεί να ασκεί προστατευτική επίδραση στη θνησιμότητα από κάθε αιτία, την ΚΝ, τον καρκίνο λόγω των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων της (*Kastorini CM et al. 2011*). Η μελέτη EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition), είναι μία εν εξελίξει προοπτική μελέτη κοορτής σχεδιασμένη να διερευνήσει τη σχέση ανάμεσα στη διατροφή και τον καρκίνο, με προοπτική μελέτη άλλων ασθενειών, συμπεριλαμβανομένης της ΚΝ. Στην ελληνική κοορτή από τη μελέτη αυξημένη προσκόλληση στη ΜΔ (αύξηση της τάξης 2/9 στην κλίμακα του MedDietScore)

συσχετίστηκε 33% μείωση της θνησιμότητας από στεφανιαία νόσο (*Trichopoulou A et al. 2003*).

Ευρήματα από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ έδειξαν ότι αύξηση της συμμόρφωσης στη ΜΔ συσχετίστηκε με 20% μείωση των επιπέδων της CRP και 17% μείωση της IL-6 σε σχέση με άτομα που βρίσκονται στο χαμηλότερο τεταρτημόριο προσκόλλησης στη Μεσογειακή διατροφή (*Chrysohoou C et al. 2004*). Από τη στιγμή που το μεταβολικό σύνδρομο αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ΚΝ, διερευνήθηκε περαιτέρω αν ο βαθμός προσκόλλησης στη ΜΔ μπορεί να τροποποιήσει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο, όταν υπάρχει μεταβολικό σύνδρομο. Λαμβάνοντας υπόψη κλασικούς συγχυτικούς παράγοντες (ηλικία, φύλο, οικογενειακό ιστορικό ΚΝ, φυσική δραστηριότητα, καπνιστικές συνήθειες όπως και ιστορικό μεταβολικού συνδρόμου), κάθε 1/55 αύξησης της προσκόλλησης στη Μεσογειακή δίαιτα στην κλίμακα του MedDietScore, συσχετίστηκε με 3% μείωση της επίπτωσης της ΚΝ (95% ΔΕ: 0.94-1.01). Επιπλέον, οι συμμετέχοντες με μικρότερη προσκόλληση στη ΜΔ είχαν διπλάσιες πιθανότητες να εμφανίσουν κάποιο καρδιαγγειακό επεισόδιο σε σχέση με το μέτριο βαθμό προσκόλλησης στο Μεσογειακό πρότυπο. Πάραυτα, για άτομα με υψηλότερη προσκόλληση στη ΜΔ, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις (*Simopoulos AP et al. 2001*).

2. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της συγκεκριμένης διατριβής ήταν με αφορμή την καταγεγραμμένη δεκαετή επίπτωση (2002-2012) καρδιαγγειακής νόσου σε άτομα με ή χωρίς αρχική διάγνωση μεταβολικού συνδρόμου στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, να εξετάσει:

1. την επίδραση παραμέτρων μεταβολικού συνδρόμου, όπως υπερχοληστερολαιμία, υπέρταση, κεντρική παχυσαρκία, δυσλιπιδαιμία
2. το ρόλο διατροφικών συνηθειών, σε επίπεδο τροφίμων αλλά και προτύπων διατροφής, με έμφαση στο ρόλο της αντιφλεγμονώδους διατροφής, και
3. τη δράση των μεταβολικών δεικτών που αποτιμούν το σπλαχνικό λίπος

στην εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου, σε αρχικώς φαινομενικά υγιή άτομα.

3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.1 Σχεδιασμός της μελέτης

Η μελέτη ΑΤΤΙΚΗ είναι μία επιδημιολογική μελέτη καταγραφής και παρακολούθησης της υγείας του πληθυσμού της ευρύτερης περιφέρειας των Αθηνών και Πειραιώς, καθώς και των παραγόντων που την επηρεάζουν. Πραγματοποιήθηκε τα έτη 2001-2002 από την Α' Καρδιολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών (*Pitsavos C et al. 2003*), ενώ ο 10ετής επανέλεγχος διεξήχθη με τη συνεργασία του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

3.2 Το δείγμα της μελέτης

Το δείγμα της μελέτης περιλάμβανε 3042 άτομα από τους 4056 που κλήθηκαν τυχαία (75% συμμετοχή), από το Μάιο του 2001 μέχρι τον Αύγουστο του 2002, να συμμετάσχουν στη μελέτη. Στόχοι της μελέτης ήταν οι εξής: α] να καταγράψει την κατανομή βιοχημικών, κλινικών και οξειδωτικών παραγόντων και να εκτιμήσει τον επιπολασμό και την ετήσια επίπτωση παραγόντων κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα (π.χ. σακχαρώδης διαβήτης, υπέρταση κλπ) β] να διερευνήσει τις συσχετίσεις μεταξύ αυτών και κοινωνικό-δημογραφικών, ψυχολογικών παραγόντων και χαρακτηριστικών του τρόπου ζωής των συμμετεχόντων και γ] να εκτιμήσει την προγνωστική ικανότητα αυτών στην επίπτωση της στεφανιαίας νόσου και των παραγόντων κινδύνου αυτής μέσα από περιοδικούς επανελέγχους στα 1.5 και 10 χρόνια.

Το επιδιωκόμενο τελικό μέγεθος του δείγματος προέκυψε ύστερα από την ανάλυση στατιστικής ισχύος, ούτως ώστε να επιτρέπεται προοπτική παρακολούθηση 10 ετών, η αποτίμηση διαφορών μεγαλύτερων από 10% στον εκτιμώμενο σχετικό κίνδυνο (ΣΚ), σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας μικρότερης του 0.05 (τιμή p) και με στατιστική ισχύ >80%, για ελέγχους δύο κατευθύνσεων. Η δειγματοληψία ήταν τυχαία, και διαστρωματοποιημένη ανά πόλη (με βάση τον πληθυσμό των δήμων και κοινοτήτων της Υπερνομαρχίας Αττικής καθώς επίσης των νομαρχιών Ανατολικής και Δυτικής Αττικής), ηλικιακή κατηγορία και φύλο. Με βάση την πληθυσμιακή στρωματοποίηση της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας της Ελλάδος (Ε.Σ.Υ.Ε.) δημιουργήθηκαν “χάρτες” ανά περιοχή μελέτης, έτσι ώστε να προσδιορίζεται επακριβώς ο πληθυσμός-στόχος.

Στο δείγμα συμπεριλήφθηκαν άτομα αστικών, ημιαστικών και αγροτικών περιοχών. Καθώς στη Αττική διαβιεί περίπου το 40% του πληθυσμού ολόκληρης της χώρας (*Πηγή: Ε.Σ.Υ.Ε. 2001*), τα αποτελέσματα και επαγόμενα συμπεράσματα από τη μελέτη - και με δεδομένη την αντιπροσώπευση στο δείγμα και ημιαστικών και αγροτικών περιοχών - δύνανται να θεωρούνται γενικεύσιμα για όλη την Ηπειρωτική Ελλάδα, το δε δείγμα αντιπροσωπευτικό αφού παρατηρήθηκαν

ελάσσονες μόνο, μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ως προς την κατανομή του φύλου και της ηλικίας ανάμεσα στο δείγμα και τον ελληνικό πληθυσμό.

Μετά τον ορισμό των περιοχών, ο σχεδιασμός απαιτούσε την τυχαία επιλογή εργασιακών χώρων –δημοσίων και ιδιωτικών- κέντρων συγκέντρωσης ηλικιωμένων καθώς και δημοτικών χώρων. Κατόπιν, διενεργείτο τυχαία επιλογή ατόμων (με τη μέθοδο της δυαδικής ακολουθίας τυχαίων αριθμών όπου 1=ένταξη στη μελέτη, 0=μη ένταξη στη μελέτη), από τις λίστες που είχαν δημιουργηθεί για κάθε χώρο. Με τον τρόπο αυτό, επιτεύχθηκε ελαχιστοποίηση της συμμετοχής εθελοντών στη μελέτη και κατά συνέπεια, περιορισμός του συστηματικού σφάλματος κατά την επιλογή. Το πρωτόκολλο προέβλεπε ακόμα, την επιλογή ενός ατόμου ανά οικογένεια, οικοδομικό συγκρότημα και τετράγωνο.

Από το δείγμα των 3042 ατόμων που τελικώς ανταποκρίθηκαν στο κάλεσμα της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ 1514 ήταν άνδρες (48%) και 1528 γυναίκες (52%). Οι άνδρες είχαν ηλικία από 18-87 έτη, ενώ οι γυναίκες 18-89 έτη.

Τα διάφορα στοιχεία συγκεντρώθηκαν μέσω συνεντεύξεων με τη χρήση τυποποιημένου ερωτηματολογίου, από τους ερευνητές πεδίου (καρδιολόγους, διαιτολόγους και νοσηλεύτες). Στη συνέχεια τα στοιχεία κωδικοποιήθηκαν σε στατιστική βάση δεδομένων που σχεδιάστηκε για τον σκοπό της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ. Μετά τη λήψη της συνέντευξης, αποκλείστηκαν από τη μελέτη άτομα με ιστορικό ΚΝ ή άλλης αθηρωσκληρωτικής νόσου καθώς και άτομα με γνωστή κακοήθεια. Οι συμμετέχοντες δεν έπασχαν από καμία οξεία νόσο, όπως απλό κοινό κρυολόγημα, οξεία λοίμωξη του αναπνευστικού, οδοντικά προβλήματα πληγμένα με φλεγμονή, άλλου είδους οξείες λοιμώξεις-φλεγμονές ή κακώσεις, ούτε είχαν υποστεί οποιαδήποτε μείζονα χειρουργική επέμβαση ή ελάσσονα χειρουργική πράξη, μία εβδομάδα προ της έναρξης της μελέτης.

Το χρονικό διάστημα 2012-2013 προσήλθαν 2583 άτομα εκ των 3042 συμμετεχόντων της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ για επανέλεγχο (85% ποσοστό συμμετοχής). Από τα 459 άτομα που χάθηκαν στη δεκαετία, οι 224 χάθηκαν λόγω λανθασμένων ή άκυρων στοιχείων επικοινωνίας, και οι 235 αρνήθηκαν τη συμμετοχή τους. Όσο αφορά στην καρδιαγγειακή εκτίμηση κατά τον επανέλεγχο, δεδομένα χωρίς καμία έλλειψη λήφθηκαν από 2020 εθελοντές. Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές όσο αφορά στην κατανομή ως προς το φύλο και την ηλικία στο δεδομένο δείγμα και το αρχικό (p 's >0.80) (Panagiotakos DB et al. 2014).

Ο επανέλεγχος έγινε μέσω προσωπικών συνεντεύξεων και περιλάμβανε:

- Παρούσα κατάσταση υγείας των ασθενών (εν ζωή ή θάνατος)
- Ιατρικό ιστορικό (δηλ., αξιολόγηση για υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, σακχαρώδη διαβήτη)
- Επίπτωση (θανατηφόρα ή μη) ΚΝ (ΟΕΜ, αγγειακό εγκεφαλικό)
- Αξιολόγηση διατροφικών συνηθειών (μέσω έγκυρου ΕΣΚΤ) και βαθμού προσκόλλησης στη Μεσογειακή διατροφή (μέσω MedDietScore)

- Ανθρωπομετρικά στοιχεία (βάρος, ύψος, περιφέρεια μέσης και γοφών)
- Σωματική δραστηριότητα (μέσω ενός δείκτη που αντανakλά την εβδομαδιαία ενεργειακή δαπάνη, μέσω της συχνότητας, διάρκειας και έντασης της άσκησης)

3.3 Βιοηθική

Όλα τα άτομα ενημερώθηκαν για τους σκοπούς της μελέτης και έδωσαν την έγκριση τους για τη συμμετοχή. Η μελέτη είχε επιπλέον την έγκριση της Επιστημονικής Επιτροπής της Α' Καρδιολογικής Κλινικής, της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, πληρώνοντας τις προϋποθέσεις της διακήρυξης του Ελσίνκι (*World Medical Association 2000*).

3.4 Μετρήσιμα χαρακτηριστικά

Συνολικά στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ μελετήθηκαν δημογραφικά στοιχεία (π.χ. φύλο, ηλικία, μορφωτικό επίπεδο, εισόδημα), καθημερινές ατομικές συνήθειες (φυσική δραστηριότητα και άσκηση, κάπνισμα, κατανάλωση αλκοόλ κλπ), διατροφικές συνήθειες, σωματομετρικά χαρακτηριστικά (π.χ. βάρος, ύψος, ΔΜΣ, περίμετρος μέσης και ισχίων), ιατρικό κληρονομικό ιστορικό (ειδικά περί ΚΝ και σχετικών παραγόντων κινδύνου), ατομικό αναμνηστικό και φαρμακευτική αγωγή (με ιδιαίτερη μνεία σε ενδεχόμενη αντί-υπερτασική, αντιδιαβητική ή αντιλιπιδαιμική αγωγή), ψυχολογική εκτίμηση και παρακλινικές-εργαστηριακές παράμετροι (αιματολογικές εξετάσεις, γενετικοί δείκτες και ηλεκτροκαρδιογράφημα).

Στην παρούσα μελέτη το ενδιαφέρον εστιάστηκε στο κοινωνικό-οικονομικό επίπεδο και στην σχέση του με καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου και διατροφικές και λοιπές συνήθειες. Ακολουθώς λοιπόν, εξετάζονται αναλυτικά, μόνο αυτοί οι παράγοντες που αξιοποιήθηκαν από την παρούσα διατριβή και όσοι κρίθηκαν πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες στην προαναφερόμενη σχέση.

Αξιολόγηση κοινωνικο-δημογραφικών μεταβλητών

Η αρχική αξιολόγηση περιλάμβανε πληροφορίες σχετικά με κοινωνικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά (φύλο, ηλικία, μέσο ετήσιο εισόδημα και έτη σπουδών). Ως προς το μορφωτικό τους επίπεδο, οι συμμετέχοντες κατατάχθηκαν σε χαμηλό με λιγότερα από 9 έτη σπουδών, μέσο με 10-12 έτη (εκπαίδευση άνω της υποχρεωτικής, δηλαδή, Λύκειο ή τεχνικές σχολές), υψηλό με περισσότερα από 12 έτη (πανεπιστημιακές ή άλλες ανώτερες/ ανώτατες σχολές).

Αξιολόγηση κλινικών παραγόντων

Η αρτηριακή πίεση μετρήθηκε στο τέλος της φυσικής εξέτασης και αφού ο εξεταζόμενος βρισκόταν σε καθιστή θέση τουλάχιστον για 30 λεπτά. Λαμβανόταν από καρδιολόγο, τρεις φορές στο δεξί χέρι, - το οποίο έπρεπε να είναι χαλαρό και καλά στηριζόμενο από τραπέζι- σε γωνία 45 ° από τον κορμό (με τη χρήση

σφυγμομανομέτρου ELKA, της γερμανικής εταιρείας Von Schillieben Co). Αν για κάποιο λόγο, η μέτρηση γινόταν στο άλλο χέρι, αυτό σημειωνόταν στην κάρτα-ερωτηματολόγιο του ατόμου. Επίσης σημειωνόταν τυχόν διαφορά στην ψηλάφηση του σφυγμού στις κερκιδικές αρτηρίες των δύο χεριών, οπότε σ'αυτήν την περίπτωση, αρτηριακή πίεση μετριόταν και στα δύο άκρα. Ο χρόνος που μεσολαβούσε μεταξύ των μετρήσεων ήταν ακριβώς όσος απαιτείτο για την καταγραφή της προηγούμενης μέτρησης και το πλήρες ξεφούσκωμα της περιχειρίδας. Προ της μέτρησης της αρτηριακής πίεσεως ελεγχόταν ότι η στήλη υδραργύρου ήταν στο 0 mm Hg της κλίμακας, όταν η περιχειρίδα ήταν εντελώς ξεφουσκωμένη. Το επίπεδο της συστολικής αρτηριακής πίεσης καθοριζόταν από τον πρώτο ήχο καλής ακουστικής ποιότητας, ενώ η διαστολική πίεση από την πλήρη εξαφάνιση των επαναλαμβανόμενων ήχων (φάση V). Αλλαγές στην ένταση των ήχων δεν αξιολογήθηκαν. Τα άτομα με μέσα επίπεδα αρτηριακής πίεσεως ίσα ή μεγαλύτερα των 140/90 mm Hg καθώς και εκείνοι υπό αντι-υπερτασική φαρμακευτική αγωγή κατατάχθηκαν στους υπερτασικούς, σύμφωνα με τη συνήθη πρακτική των επιδημιολογικών μελετών.

Ως υπερχοληστερολαιμία ορίστηκαν επίπεδα ολικής χοληστερόλης νηστείας > 200 mg/dl ή η λήψη υπολιπιδαιμικών φαρμάκων. Τα άτομα διαγνώστηκαν με μεταβολικό σύνδρομο σύμφωνα με τον ορισμό NCEP:ATP III.

Αποτίμηση του τρόπου ζωής

Ως καπνιστές ορίστηκαν αυτοί που κάπνιζαν τουλάχιστον ένα τσιγάρο ημερησίως. Αυτοί που ορίστηκαν ως περιστασιακοί καπνιστές (λιγότερα από επτά τσιγάρα ανά εβδομάδα) καταγράφηκαν και συνδυάστηκαν με τους καπνιστές, λόγω του μικρού τους αριθμού. Ως μη καπνιστές θεωρήθηκαν αυτοί που δε δοκίμασαν στη ζωή τους ούτε ένα τσιγάρο και ως πρώην καπνιστές ορίστηκαν αυτοί που είχαν διακόψει το κάπνισμα, τουλάχιστον ένα χρόνο πριν την ένταξή τους στη μελέτη. Οι σχετικές πληροφορίες σχετικά με τις καπνιστικές συνήθειες συλλέχθηκαν με βάση το τυποποιημένο ερωτηματολόγιο που σχεδιάστηκε ειδικά για τη μελέτη (διερευνώντας τα έτη καπνίσματος, τον ημερήσιο αριθμό τσιγάρων, τα αίτια διακοπής καθώς επίσης και την έκθεση σε παθητικό κάπνισμα). Για την πολυπαραγοντική στατιστική ανάλυση, ο αριθμός των τσιγάρων αποδόθηκε σε πακέτα- χρόνια (ο αριθμός πακέτων/ ημέρα επί χρόνια καπνίσματος), προσαρμοσμένα σε περιεχόμενο νικοτίνης 0.8 mg/ τσιγάρο.

Όσο αφορά στην εκτίμηση της σωματικής δραστηριότητας, χρησιμοποιήθηκε μία συνοπτική έκδοση (7 ερωτήσεων) του Διεθνούς Ερωτηματολογίου Φυσικής Δραστηριότητας (International Physical Activity Questionnaire, IPAQ) (Parathanasiou et al. 2009). Καταρχήν, λήφθηκε υπόψιν η συχνότητα (φορές ανά εβδομάδα), η διάρκεια (λεπτά ανά φορά) και η ένταση της φυσικής δραστηριότητας, κατά την τελευταία χρονική περίοδο. Η ένταση της σωματικής δραστηριότητας βαθμονομήθηκε με ποιοτικούς όρους σε ελαφρά (<4 kcal/ λεπτό,

χαρακτηριστική δραστηριοτήτων όπως το αργό βάδισμα, η στατική ποδηλασία, οι ελαφρές διατάσεις κλπ), μέτρια (4-7 kcal/ λεπτό: γοργό περπάτημα, ποδήλατο υπαίθρου, κολύμβηση μέτριας έντασης) και έντονη (>7 kcal/ λεπτό: έντονο βάδισμα σε ανωφέρεια, τρέξιμο μεγάλων αποστάσεων, γρήγορη ή αγωνιστική ποδηλασία, γρήγορη κολύμβηση ελεύθερου στυλ κλπ). Οι συμμετέχοντες, οι οποίοι δε δήλωσαν σωματική δραστηριότητα, ορίστηκαν ως φυσικά μη δραστήριοι (δηλαδή ότι διάγουν καθιστική ζωή). Για όλους τους υπόλοιπους, πολλαπλασιάζοντας την εβδομαδιαία συχνότητα, με τη διάρκεια και την ένταση της φυσικής δραστηριότητας, υπολογίστηκε ένας ειδικός δείκτης, το μεταβολικό ισοδύναμο ανά λεπτό άσκησης, για διάρκεια μίας εβδομάδας ή MET (Metabolic Equivalent Task) (όπου ένα MET αντιστοιχεί στο οξυγόνο που χρησιμοποιεί το σώμα όταν κάθεται).

Με βάση τα τριτημόρια του δείκτη, οι σωματικά δραστήριοι κατατάχθηκαν σε τρεις ομάδες: χαμηλής φυσικής δραστηριότητας (1^ο τριτημόριο), μεσαίας φυσικής δραστηριότητας (2^ο τριτημόριο) και υψηλής φυσικής δραστηριότητας (3^ο τριτημόριο).

Αξιολόγηση ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών

Το ύψος των ατόμων μετρήθηκε μία φορά, στρογγυλοποιημένο στο πλησιέστερο μισό του εκατοστού του μέτρου. Κατά τη μέτρηση του αναστήματος, τα άτομα του δείγματος δεν έφεραν υποδήματα, είχαν την πλάτη τους ίσια και ακουμπισμένη σε μέτρο του τοίχου και τους οφθαλμούς να κοιτάζουν ίσια εμπρός. Το βάρος των ατόμων-χωρίς υποδήματα, με ελαφρά ένδυση- μετρήθηκε μία φορά, με ράβδο εξισορρόπησης. Η ζυγαριά ρυθμιζόταν και ελεγχόταν πριν και μετά από κάθε ζύγιση. Οι μετρήσεις στρογγυλοποιήθηκαν στην πλησιέστερη εκατοντάδα γραμμαρίων. Στη συνέχεια, ο ΔΜΣ υπολογίστηκε ως το πηλίκο του βάρους (σε kg) προς το τετράγωνο του ύψους (σε m). Σύμφωνα με τις ισχύουσες οδηγίες, ως παχυσαρκία ορίζεται ΔΜΣ > 29.9 kg/m², ενώ το υπέρβαρο χαρακτηρίζεται το άτομο με ΔΜΣ 25-29.9 kg/m² (WHO 2000). Μετρήθηκε επίσης η περίμετρος μέσης (waist circumference- WC) σε εκατοστά (στο μέσο 12^{ου} πλευρού και λαγόνιας ακρολοφίας), καθώς και η περίμετρος ισχίων, στο πιο προεξέχον σημείο (WtHR). Οι περίμετροι αυτές χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της κεντρικής παχυσαρκίας. Ως κεντρική παχυσαρκία ορίστηκε η περίμετρος μέσης ≥ 94 cm στους άνδρες και ≥ 80 cm στις γυναίκες (Dobbelsteyn CJ et al. 2001).

Εργαστηριακές μετρήσεις

Τα δείγματα του αίματος λήφθηκαν μεταξύ 8 και 10 π.μ., σε καθιστή θέση μετά από 12ωρη νηστεία και αποχή από το αλκοόλ. Η βιοχημική ανάλυση διενεργήθηκε, για όλες τις περιπτώσεις, στο ίδιο εργαστήριο, που πληροί τα κριτήρια των Εργαστηρίων Αναφοράς του ΠΟΥ.

▪ **Μέτρηση λιπιδαιμικού προφίλ**

Οι βιοχημικές εξετάσεις: ολική χοληστερόλη ορού (mg/dl), HDL-χοληστερόλη (mg/dl) και TG (mg/dl) μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας χρωματογραφική ενζυμική μέθοδο σε έναν αυτόματο αναλυτή Technicon RA-1000 (Dade Behring, Marburg, Germany). Η HDL-χοληστερόλη προσδιορίστηκε μετά από απόπλυση των περιεχομένων στην apo B με δεξτράνη-μαγνήσιο-χλώριο. Ο ορός που χρησιμοποιήθηκε για τις μετρήσεις των λιπιδίων συλλέχτηκε αμέσως μετά τη λήψη αίματος. Η LDL-χοληστερόλη υπολογίστηκε με τη χρήση του τύπου Friedewald: {ολική χοληστερόλη}-{HDL-χοληστερόλη}-1/5 {TG} (Friedewald *WT et al.* 1972). Υπήρξε εσωτερικός ποιοτικός έλεγχος για την αξιολόγηση της εγκυρότητας των μεθόδων μέτρησης της χοληστερόλης, των TG και της HDL-χοληστερόλης.

• **Μέτρηση γλυκόζης**

Τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα (mg/dl) μετρήθηκαν αμέσως μετά τη λήψη, με αναλυτή Beckman Glucose Analyzer (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA).

• **Μέτρηση δεικτών φλεγμονής**

Για τον καθορισμό του ινωδογόνου, το αίμα τέθηκε σε αντιπηκτικό με 3.8% κιτρικό τρινάτριο (αναλογία όγκων 9:1) και ψύχθηκε ωσότου φυγοκεντρηθεί. Το ινωδογόνο (mg/dl), η υψηλής ευαισθησίας CRP (mg/l) και το αμυλοειδές ορού A-SAA (mg/l) μετρήθηκαν με αυτόματο νεφελόμετρο (BNII της Dade Behring, Marburg GmbH, Marburg, Germany). Η CRP είχε εύρος τιμών από 0.175-1100 mg/L και συντελεστές μεταβλητότητας μικρότερους από 5%, το ίδιο και το SAA, ενώ οι αντίστοιχοι συντελεστές για το ινωδογόνο δεν ξεπερνούσαν το 9%. Η IL-6 (pg/ml) μετρήθηκε με υψηλής ευαισθησίας (ενζυμο-προσδεμένη) ανοσοδοκιμασία και είχε συντελεστή μεταβλητότητας <10%. Για τον ποσοτικό προσδιορισμό του TNF-α (pg/ml) στα δείγματα από τον ορό των συμμετεχόντων, χρησιμοποιήθηκε το “κιτ” ανοσοδοκιμασίας “Quantikine HS/human TNF-alpha” (R & d Systems INC., Minneapolis, Minnesota).

• **Μέτρηση δεικτών οξειδωτικού στρες**

Η οξειδωμένη LDL-χοληστερόλη (U/L) μετρήθηκε στο πλάσμα με τη χρήση ενζυμικά-προσδεμένου αντιδραστηρίου, σε δοκιμασία ανοσοαπορρόφησης (Mercodia AB, Uppsala, Sweden) και τεχνική ELISA. Το αναμενόμενο εύρος τιμών της οξειδωμένης LDL ήταν 30-120 U/L και οι συντελεστές μεταβλητότητας δεν ξεπερνούσαν το 3%.

Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα-TAC (mol/L) μετρήθηκε με χρωματομετρική δοκιμασία στον ορό (ImAnOx – Immunodiagnostik AG, Bensheim, Germany). Ο καθορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας βασίστηκε στην αντίδραση των αντιοξειδωτικών του δείγματος με ένα καθορισμένο ποσό υπεροξειδίου του υδρογόνου που χορηγήθηκε εξωγενώς. Η τιμή των 280 $\mu\text{mol/l}$ θεωρήθηκε χαμηλή

αντιοξειδωτική ικανότητα ενώ τιμές υψηλότερες από 320 $\mu\text{mol/l}$ θεωρήθηκαν υψηλές σύμφωνα με τον προμηθευτή. Όλοι οι συντελεστές της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας δεν ξεπερνούσαν το 7%.

- **Μέτρηση μεταβολικού προφίλ**

Πρόσφατα, προτάθηκε ο Δείκτης Σπλαχνικού Λίπους (Visceral Adiposity Index-VAI) ως απλός και αξιόπιστος δείκτης αναγνώρισης της δυσλειτουργίας του λιπώδους ιστού στην περίπτωση της κεντρικής τύπου παχυσαρκίας που αντανακλώντας καρδιομεταβολικό κίνδυνο (Amato MC et al. 2010). Στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ ο VAI υπολογίστηκε για κάθε συμμετέχοντα με στοιχεία από την αρχική αξιολόγηση των εθελοντών. Εν συντομία, χρησιμοποιώντας το ΔΜΣ (kg/m^2), WC (cm), TG (mmol/l) και HDL (mmol/l), οι προτεινόμενες εξισώσεις για τον υπολογισμό του VAI σε άνδρες και γυναίκες είναι οι παρακάτω:

Για τους άνδρες:

$$VAI = \left(\frac{WC}{(39.68 + (1.88 \times BMI))} \right) \times \left(\frac{TG}{1.03} \right) \times \left(\frac{1.31}{HDL} \right)$$

Για τις γυναίκες:

$$VAI = \left(\frac{WC}{(39.58 + (1.89 \times BMI))} \right) \times \left(\frac{TG}{0.81} \right) \times \left(\frac{1.52}{HDL} \right)$$

Για τις παρούσες αναλύσεις, ο VAI διαιρέθηκε σε τεταρτημόρια (<2.4; 2.4-4.5; >4.5) στο δείγμα της μελέτης.

Το 2005, χρησιμοποιώντας δεδομένα από το 3^ο National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III), ο Henry Kahn πρότεινε τον υπολογισμό του Δείκτη Λιπώδους Συσσώρευσης (Lipid Accumulation product-LAP) με βάση την περίμετρο μέσης, (WC σε cm) και τα τριγλυκερίδια νηστείας (TG σε mmol/L):

Για τους άνδρες:

$$LAP = [WC(cm) - 65] \times [TG(mm\text{ol/l})]$$

Για τις γυναίκες:

$$LAP = [WC(cm) - 58] \times [TG(mm\text{ol/l})]$$

Σε αυτή τη λογική φαινόταν ότι ο LAP εξέθετε καλύτερες συσχετίσεις για να περιγράψει την υπερσυσσώρευση λίπους στην κεντρική παχυσαρκία και φάνηκε να έχει καλύτερη απόδοση στην αναγνώριση του καρδιαγγειακού κινδύνου (Kahn HS et al. 2005).

Αξιολόγηση διατροφικών συνηθειών

Η αξιολόγηση των διατροφικών συνηθειών στηρίχθηκε σε ένα έγκυρο ημιποσοτικό ερωτηματολόγιο εβδομαδιαίας καταγραφής της συχνότητας κατανάλωσης των τροφίμων (ΕΣΚΤ), που συμπληρώθηκε από τους συμμετέχοντες με τη βοήθεια εκπαιδευμένων ατόμων. Το ερωτηματολόγιο προερχόταν από το

εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και είναι ίδιο με αυτό που χρησιμοποιείται και για το ελληνικό τμήμα της μελέτης Ευρωπαϊκής Προοπτικής Έρευνας για τον Καρκίνο και τη Διατροφή (EPIC) (Katsouyanni K et al. 1997). Ζητήθηκε από όλους τους συμμετέχοντες να αναφέρουν τη μέση ημερήσια ή εβδομαδιαία πρόσληψη διαφόρων τροφίμων που κατανάλωναν στη διάρκεια των τελευταίων 12 μηνών, καθώς και το μέγεθος της μερίδας αυτών (μικρή, μεσαία και μεγάλη, σε σύγκριση με αυτής του εστιατορίου). Κατόπιν, η συχνότητα κατανάλωσης κάθε τρόφιμου ποσοτικοποιήθηκε κατά προσέγγιση, αποδιδόμενη σε φορές ανά μήνα. Έτσι, η ημερήσια κατανάλωση πολλαπλασιάστηκε επί 30 και η εβδομαδιαία επί τέσσερα ενώ μηδενική τιμή αποδόθηκε σε τρόφιμα που καταναλώνονταν σπάνια ή ουδέποτε. Η κατανάλωση αλκοόλ μετρήθηκε με ποτήρια του κρασιού (150 ml) και ποσοτικοποιήθηκε αναλόγως της πρόσληψης αιθανόλης (g./ποτό). Ένα ποτό του κρασιού ισοδυναμούσε με συγκέντρωση αιθανόλης 12%. Επειδή τα αποστάγματα (λικέρ, ούισκι, βότκα, τζιν μπράντι, κονιάκ, ούζο, άλλα ποτά) σπάνια καταναλώνονταν στο εξεταζόμενο δείγμα οι αναλύσεις που παρουσιάζονται επικεντρώνονται στην κατανάλωση μπύρας και κρασιού. Σύμφωνα επομένως με το FFQ, η κατανάλωση κρασιού (λευκό και κόκκινο) και μπύρας διαιρέθηκε σε τρεις κατηγορίες: (i) αποχή (μηδενική κατανάλωση), (ii) >0 και ≤ 1 ποτήρι/εβδομάδα και (iii) >1 ποτήρι/εβδομάδα.

Τα τρόφιμα –56 φαγητά και ποτά που συνηθίζεται να καταναλώνονται στην Ελλάδα- καθώς και άλλες διατροφικές ερωτήσεις που περιέχονταν στο ερωτηματολόγιο είναι τα ακόλουθα: ψωμί (λευκό ή μαύρο), παξιμάδι, ζυμαρικά, ρύζι και άλλα μη επεξεργασμένα δημητριακά, φρούτα (πορτοκάλια, μανταρίνια, μήλα, αχλάδια, καρπούζι, πεπόνι, ροδάκινο, σταφύλια, βερίκοκα, κεράσια, φράουλες, μπανάνα, σύκα, ανανάς, ακτινίδια, αβοκάντο, φρούτα κομπόστα, φρούτα αποξηραμένα κλπ), λαχανικά (σπανάκι, μαρούλι, λάχανο κλπ), όσπρια (φακές, ρεβίθια, φασόλια κλπ), πατάτες, μικρά ή μεγάλα ψάρια, διάφορα είδη κρέατος (βοδινό, χοιρινό, αρνί, κοτόπουλο) και προϊόντα τους (αλλαντικά κλπ), διάφορα γλυκά (σοκολάτα, κέικ κλπ), γαλακτοκομικά προϊόντα (πλήρη και χαμηλών λιπαρών), όπως τυρί, γάλα, γιαούρτι και τέλος αλκοολούχα ποτά όπως επίσης ο καφές και το τσάι. Όσον αφορά στα μη αλκοολούχα ποτά και ροφήματα, υπήρχαν ερωτήσεις σχετικά με την κατανάλωση διαφόρων ειδών καφέ και τσαγιού. Όλα τα είδη καφέ (στιγμιαίος, ελληνικός, φίλτρου ή καπουτσίνο) προσαρμόστηκαν σε όγκο 150 ml και συγκέντρωση καφεΐνης 28% (Bunker ML et al. 1979). Μετά την αναπροσαρμογή 1 “προσαρμοσμένο φλιτζάνι καφέ” (δلد 150 ml) ισοδυναμούσε με 450 ml καφέ φίλτρου ή 300 ml στιγμιαίου. Σύμφωνα με την παρατηρούμενη κατανομή καφέ δημιουργήθηκαν 4 κατηγορίες: αποχή, χαμηλή κατανάλωση (0-150 ml/ημέρα), μέτρια κατανάλωση (150-250 ml/ημέρα) και αυξημένη κατανάλωση καφέ (> 250 ml/ημέρα). Επίσης, καταγράφηκε η κατανάλωση καφέ χωρίς καφεΐνη (ντεκαφεϊνέ) ($n= 47$), αλλά, λόγω περιορισμένης αναφοράς, δεν συμπεριλήφθηκε

στην ανάλυση. Τέλος, σχετικά με την κατανάλωση ελαιόλαδου, όλοι οι συμμετέχοντες παρείχαν λεπτομερείς πληροφορίες για την κατανάλωση ελαίων, βουτύρου και μαργαρινών αναφέροντας τη χρήση διάφορων ελαίων στην καθημερινή μαγειρική και την προετοιμασία γευμάτων (π.χ. προσθήκη σε σαλάτες, σάλτσες κλπ). Σύμφωνα με την αναφερόμενη κατανάλωση ελαιόλαδου που είχε δηλωθεί εξ αρχής, οι συμμετέχοντες της μελέτης ταξινομήθηκαν σε όσους χρησιμοποιούσαν ελαιόλαδο καθημερινά και σε όσους δεν κατανάλωναν καθόλου. Υπήρξε περαιτέρω ταξινόμηση σε: μηδενική κατανάλωση ελαιόλαδου (χρήση άλλων ελαίων εκτός από ελαιόλαδο), μεικτή χρήση (κατανάλωση ελαιόλαδου μαζί με άλλα έλαια) και αποκλειστική χρήση ελαιόλαδου (κατανάλωση αποκλειστικά και μόνο ελαιόλαδου).

Αποτίμηση προσκόλλησης στη Μεσογειακή Διατροφή (MedDietScore)

Προκειμένου να περιγραφεί το σύνολο της διατροφικής πρόσληψης, χρησιμοποιήθηκαν σύνθετοι πίνακες βαθμολόγησης, που είναι απαραίτητοι για την εκτίμηση επιδημιολογικών συσχετίσεων. Στις διάφορες συσχετίσεις τα τρόφιμα παρουσιάζονται συχνά ομαδοποιημένα (π.χ. γαλακτοκομικά, φρούτα, λαχανικά). Ωστόσο, στο επίκεντρο της μελέτης και των διαφόρων συσχετίσεων βρέθηκε κυρίως η ΜΔ.

Το Μεσογειακό διατροφικό πρότυπο ορίστηκε σύμφωνα με τη διατροφική πυραμίδα, που έχει προταθεί από το Ανώτατο Επιστημονικό Συμβούλιο Υγείας του Υπουργείου Υγείας και Πρόνοιας (*SSHHC Ministry of Health 1999*). Στη βάση της πυραμίδας τοποθετούνται τα συχνά καταναλισκόμενα τρόφιμα και στην κορυφή τα σπανίως. Στο πρότυπο αυτό, βασική πηγή λίπους είναι το ελαιόλαδο (ίσως και άνω του 40% της ολικής ενεργειακής πρόσληψης προέρχεται από το λίπος, ενώ είναι χαρακτηριστική και η υψηλή αναλογία MUFA προς SFA). Ειδοποιό επίσης στοιχείο του μεσογειακού προτύπου είναι και η μέτρια κατανάλωση οίνου (1-2 ποτήρια κρασιού ημερησίως, συνοδευτικά συνήθως των γευμάτων). Επιπλέον, παρόλο που η κατανάλωση γάλακτος είναι περιορισμένη, η κατανάλωση τυριού (κυρίως φέτας) και γιαουρτιού είναι σχετικά υψηλές.

Αναλυτικότερα, το συγκεκριμένο διατροφικό πρότυπο συνίσταται σε:

- Καθημερινή κατανάλωση μη επεξεργασμένων δημητριακών και προϊόντων τους (ψωμί ολικής άλεσης, ζυμαρικά, ρύζι κλπ), λαχανικών (2-3 μερίδες/ημέρα), φρούτων (6 μερίδες/ημέρα), ελαιόλαδου (ως κύριου λίπους της διατροφής) και γαλακτοκομικών προϊόντων (1-2 μερίδες)
- Εβδομαδιαία κατανάλωση ψαριών (4-5 μερίδες/εβδομάδα), πουλερικών (3-4 μερίδες/εβδομάδα), οσπρίων, ελιών και ξηρών καρπών (3 μερίδες/εβδομάδα), πατατών, αυγών και γλυκών (3-4 μερίδες/εβδομάδα)
- Μηνιαία κατανάλωση κόκκινου κρέατος και προϊόντων αυτού (4-5 μερίδες/μήνα)

Αρχικά, ακολουθώντας τη λογική της Μεσογειακής πυραμίδας εκτιμήθηκε η κατανάλωση 11 ομάδων τροφίμων (με γνώμονα ότι οι τροφές της ίδιας ομάδας έχουν παρόμοια επίπεδα μακροθρεπτικών και ειδικών συστατικών), προκειμένου για κάθε άτομο να υπολογιστεί ο δείκτης αποτίμησης προσήλωσης στη ΜΔ (εύρος 0-55). Οι 11 ομάδες ήταν μη επεξεργασμένα σιτηρά, πατάτες, φρούτα, λαχανικά, όσπρια, ψάρια, κόκκινο κρέας και παράγωγά του, πουλερικά, πλήρη γαλακτοκομικά προϊόντα (τυρί, γιαούρτι, γάλα) χρήση ελαιόλαδου στο μαγείρεμα (φορές/εβδομάδα) και αλκοολούχα ποτά (ml/ημέρα, όπου 100 ml= 12 g. αιθανόλης). Ο δείκτης προέκυψε ως το άθροισμα των επί μέρους βαθμολογιών για τροφές κοντά και μακριά από το Μεσογειακό διατροφικό πρότυπο (*Willett WC et al. 1995*) καθώς και για το αλκοόλ. Όσο υψηλότερο το διατροφικό σκορ, τόσο μεγαλύτερη η προσκόλληση στο Μεσογειακό διατροφικό πρότυπο (*Panagiotakos DB et al. 2006*). Πιο συγκεκριμένα, τροφές που χαρακτηρίζουν τη ΜΔ (π.χ. φρούτα ή λαχανικά, όπως αναλύθηκε παραπάνω) βαθμολογήθηκαν με:

- 0, σε περίπτωση μηδενικής ή σπάνιας κατανάλωσης
- 1, για κατανάλωση 1-4 φορές /μήνα
- 2 για κατανάλωση 5-8 φορές/μήνα
- 3 για 9-12 φορές/μήνα
- 4 για 13-18 φορές/μήνα
- 5 για καθημερινή κατανάλωση

Αντιθέτως, για την κατανάλωση τροφών που δε συνάδουν τόσο με τη συγκεκριμένη παραδοσιακή διατροφή, όπως το κρέας και τα προϊόντα αυτού, η καθημερινή κατανάλωση τους χαρακτηριζόταν με 0 ενώ με 5, η σπάνια ή μηδενική κατανάλωσή τους.

Όσο αφορά στη χρήση αλκοόλ, δόθηκε:

- βαθμολογία 5, για κατανάλωση λιγότερων από 3 ποτήρια κρασιού/ημέρα (300ml)
- βαθμολογία 0, για την κατανάλωση περισσότερων από 7 ποτήρια κρασιού/ημέρα ή μηδενικής κατανάλωσης
- βαθμολογία 1-4 , για τις ενδιάμεσες καταναλώσεις

Για την ακριβέστερη αριθμητική απεικόνιση της διατροφής των συμμετεχόντων χρησιμοποιήθηκαν σύνθετες βαθμολογίες, οι οποίες είναι απαραίτητες για την αξιολόγηση των επιδημιολογικών συσχετίσεων. Έτσι, χρησιμοποιήθηκε μια τροποποιημένη έκδοση του αρχικού MedDietScore (εύρος 0-55) (*Panagiotakos DB et al. 2006*). Στην τροποποιημένη βαθμολογία που χρησιμοποιήθηκε, στην κατανάλωση πατάτας δόθηκε βαθμολογία 5 για τη συνιστώμενη πρόσληψη των 3-4 μερίδων την εβδομάδα, βαθμολογία 4 δόθηκε για 1-2 μερίδες την εβδομάδα, και βαθμολογίες 3-0 δόθηκαν για σπάνια, συχνή, πολύ συχνή και καθημερινή κατανάλωση, αντίστοιχα. Προκειμένου να υπολογιστεί ο δείκτης αποτίμησης προσήλωσης στη ΜΔ, η διατροφική αξιολόγηση επαναλήφθηκε στο ίδιο δείγμα. Βάσει πινάκων σύνθεσης τροφίμων, υπολογίστηκε επίσης, η ημερήσια ολική

ενεργειακή πρόσληψη των συμμετεχόντων (σε kcal) και το ποσοστό συνεισφοράς κάθε μακροθρεπτικού (Trichopoulou A et al. 2003). Ειδικά για τα λίπη, υπολογίστηκε η ημερήσια πρόσληψη λίπους (σε g.), προερχόμενη από κάθε τύπο με βάση το βαθμό κορεσμού του (SFA, MUFA, PUFA) και ο λόγος MUFA/ SFA.

	Συχνότητα κατανάλωσης (μερίδες /εβδομάδα)					
Μη επεξεργασμένα δημητριακά (ολικής άλεσης ψωμί, ζυμαρικά, ρύζι)	Ποτέ	1-6	7-12	13- 18	19- 31	>32
	0	1	2	3	4	5
Πατάτες	Ποτέ	1-4	5-8	9-12	13- 18	>18
	0	1	2	3	5	4
Φρούτα	Ποτέ	1-4	5-8	9-15	16- 21	>22
	0	1	2	3	4	5
Λαχανικά	Ποτέ	1-6	7-12	13- 20	21- 32	>33
	0	1	2	3	4	5
Όσπρια	Ποτέ	<1	1-2	3-4	5-6	>6
	0	1	2	3	4	5
Ψάρια	Ποτέ	<1	1-2	3-4	5-6	>6
	0	1	2	3	4	5
Κόκκινο κρέας και παράγωγα	≤1	2-3	4-5	6-7	8-10	>10
	5	4	3	2	1	0
Πουλερικά	≤3	4-5	5-6	7-8	9-10	>10
	5	4	3	2	1	0
Γαλακτοκομικά προϊόντα (τυρί, γιαούρτι, γάλα)	≤10	11-15	16- 20	21- 28	29- 30	>30
	5	4	3	2	1	0
Χρήση ελαιόλαδου στο μαγείρεμα (φορές /εβδομάδα)	Ποτέ	Σπάνια	<1	1-3	3-5	Καθημερινά
	0	1	2	3	4	5
Αλκοολούχα ποτά (ml/ημέρα, 100ml = 1 ποτήρι)	<300	300	400	500	600	>700 ή 0
	5	4	3	2	1	0

Πίνακας 3.1. The Mediterranean diet score (MedDietScore)

Υπολογισμός του αντιφλεγμονώδους φορτίου τη διατροφής (Dietary Intinflammation Index, D-AII)

Η αξιολόγηση του διατροφικού αντιφλεγμονώδους φορτίου των εθελοντών αποτιμήθηκε σύμφωνα με τη μεθοδολογία και τη λογική του Dietary Inflammation Index (DII) (Shivappa N et al. 2014). Σύμφωνα με τους δημιουργούς του DII, η διατροφική πρόσληψη 45 διατροφικών παραμέτρων (μακροθρεπτικά συστατικά προϊόντων ολικής άλεσης, μικροθρεπτικά και άλλα βιοδραστικά συστατικά όπως φλαβονοειδή, μπαχαρικά και τσάι κ.λπ., βλ. Πίνακας 3.1) και η σχέση τους με τη φλεγμονή στηρίχθηκε σε βάσεις δεδομένων τροφίμων από 11 χώρες (Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, Ηνωμένο Βασίλειο, Ταιβάν, Μπαχρέιν, Δανία, Μεξικό, Ινδία, Νέα Ζηλανδία, Αυστραλία, Ιαπωνία, Νότια Κορέα) με σκοπό να δημιουργηθεί μια ενιαία αντιπροσωπευτική βάση ανάλυσης. Στη συνέχεια, τα τρόφιμα βαθμολογήθηκαν με σκορ +1, -1 και 0 ανάλογα με το αν αύξαναν, μείωναν ή δεν ασκούσαν καμία επίδραση, αντίστοιχα, σε φλεγμονώδεις δείκτες (όπως αυξημένα επίπεδα IL-1β, IL-6, TNF-α και CRP), βάση της βιβλιογραφίας. Στην παρούσα διατριβή, και χρησιμοποιώντας το ΕΣΚΤ της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, υπολογίστηκε ο δείκτης αντιφλεγμονώδους διατροφής (D-AII), εμμέσως μέσω του DII (αντίστροφη σχέση με το DII – δηλ., τα τρόφιμα βαθμολογήθηκαν με σκορ +1, -1 και 0 ανάλογα με το αν μείωναν, αύξαναν, ή δεν ασκούσαν καμία επίδραση, αντίστοιχα, σε φλεγμονώδεις δείκτες), με το σκορ του να έχει θεωρητικό εύρος από 10 έως 77.

Food parameter	Weighted number of articles	Raw inflammatory effect score [*]	Overall inflammatory effect score [†]	Global daily mean intake [‡] (units/d)	SD [‡]
Alcohol (g)	417	-0.278	-0.278	13.98	3.72
Vitamin B ₁₂ (μg)	122	0.205	0.106	5.15	2.70
Vitamin B ₆ (mg)	227	-0.379	-0.365	1.47	0.74
β-Carotene (μg)	401	-0.584	-0.584	3718	1720
Caffeine (g)	209	-0.124	-0.110	8.05	6.67
Carbohydrate (g)	211	0.109	0.097	272.2	40.0
Cholesterol (mg)	75	0.347	0.110	279.4	51.2
Energy (kcal)	245	0.180	0.180	2056	338
Eugenol (mg)	38	-0.868	-0.140	0.01	0.08
Total fat (g)	443	0.298	0.298	71.4	19.4
Fibre (g)	261	-0.663	-0.663	18.8	4.9
Folic acid (μg)	217	-0.207	-0.190	273.0	70.7
Garlic (g)	277	-0.412	-0.412	4.35	2.90
Ginger (g)	182	-0.588	-0.453	59.0	63.2
Fe (mg)	619	0.032	0.032	13.35	3.71
Mg (mg)	351	-0.484	-0.484	310.1	139.4
MUFA (g)	106	-0.019	-0.009	27.0	6.1
Niacin (mg)	58	-1.000	-0.246	25.90	11.77
n-3 Fatty acids (g)	2588	-0.436	-0.436	1.06	1.06
n-6 Fatty acids (g)	924	-0.159	-0.159	10.80	7.50
Onion (g)	145	-0.490	-0.301	35.9	18.4
Protein (g)	102	0.049	0.021	79.4	13.9
PUFA (g)	4002	-0.337	-0.337	13.88	3.76
Riboflavin (mg)	22	-0.727	-0.068	1.70	0.79
Saffron (g)	33	-1.000	-0.140	0.37	1.78
Saturated fat (g)	205	0.429	0.373	28.6	8.0
Se (μg)	372	-0.191	-0.191	67.0	25.1
Thiamin (mg)	65	-0.354	-0.098	1.70	0.66
Trans fat (g)	125	0.432	0.229	3.15	3.75
Turmeric (mg)	814	-0.785	-0.785	533.6	754.3
Vitamin A (RE)	663	-0.401	-0.401	983.9	518.6
Vitamin C (mg)	733	-0.424	-0.424	118.2	43.46
Vitamin D (μg)	996	-0.446	-0.446	6.26	2.21
Vitamin E (mg)	1495	-0.419	-0.419	8.73	1.49
Zn (mg)	1036	-0.313	-0.313	9.84	2.19
Green/black tea (g)	735	-0.536	-0.536	1.69	1.53
Flavan-3-ol (mg)	521	-0.415	-0.415	95.8	85.9
Flavones (mg)	318	-0.616	-0.616	1.55	0.07
Flavonols (mg)	887	-0.467	-0.467	17.70	6.79
Flavonones (mg)	65	-0.908	-0.250	11.70	3.82
Anthocyanidins (mg)	69	-0.449	-0.131	18.05	21.14
Isoflavones (mg)	484	-0.593	-0.593	1.20	0.20
Pepper (g)	78	-0.397	-0.131	10.00	7.07
Thyme/oregano (mg)	24	-1.000	-0.102	0.33	0.99
Rosemary (mg)	9	-0.333	-0.013	1.00	15.00

Πίνακας 3.2 Οι διατροφικές παράμετροι που συμπεριελήφθησαν στο διατροφικό φλεγμονώδη δείκτη, φλεγμονώδη σκορ και τιμές πρόσληψης από την παγκόσμια βάση δεδομένων; Dietary Inflammatory Index Development Study, Columbia, SC, USA, 2011-12

3.5 Στατιστική ανάλυση

Η επίπτωση των θανατηφόρων καθώς και των συνολικών καρδιαγγειακών επεισοδίων υπολογίστηκε ως ο λόγος των νέων περιστατικών της προς το συνολικό αριθμό των ατόμων που συμμετείχαν στον επανέλεγχο. Τα άτομα με ελλείπουσες τιμές δε συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση, οπότε τα στοιχεία από 2020 συμμετέχοντες εισήχθησαν στα μοντέλα.

Τα περιγραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος παρουσιάστηκαν ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση για τις ποσοτικές μεταβλητές που ακολουθούν την κανονική κατανομή (όλες εκτός από CRP και κατανάλωση αιθανόλης), ενώ ως Διάμεσος (25^ο, 75^ο εκατοστημόριο) για τις μεταβλητές που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή (CRP, κατανάλωση αιθανόλης). Ο έλεγχος για την κανονικότητα διενεργήθηκε με γραφικό τρόπο (ιστογράμματα) αλλά και σε στατιστικό έλεγχο Kolmogorov-Smirnoff. Οι ποιοτικές/κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάστηκαν ως απόλυτες (σχετικές) συχνότητες (%) και οι συγκρίσεις μεταξύ τους έγιναν με έλεγχο Chi-square (χ^2).

Οι μονοπαραγοντικές συγκρίσεις για τις ποσοτικές μεταβλητές που ακολουθούν την κανονική κατανομή, ως προς όποια δίτιμη ποιοτική μεταβλητή, έγινε με Student's t-test, ενώ για όσες δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή με Mann-Whitney μη-παραμετρικό έλεγχο. Για τον ίδιο έλεγχο ως προς ποιοτική μεταβλητή με παραπάνω από δύο ομάδες, πραγματοποιήθηκε έλεγχος ANOVA για τις ποσοτικές μεταβλητές που ακολουθούν την κανονική κατανομή, ενώ Kruskal-Wallis μη-παραμετρικός έλεγχος για όσες δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή. Οι μονοπαραγοντικές συσχετίσεις έγιναν με Pearson's r για τις μεταβλητές που ακολουθούν την κανονική κατανομή και με Spearman's rho για τις μεταβλητές που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή.

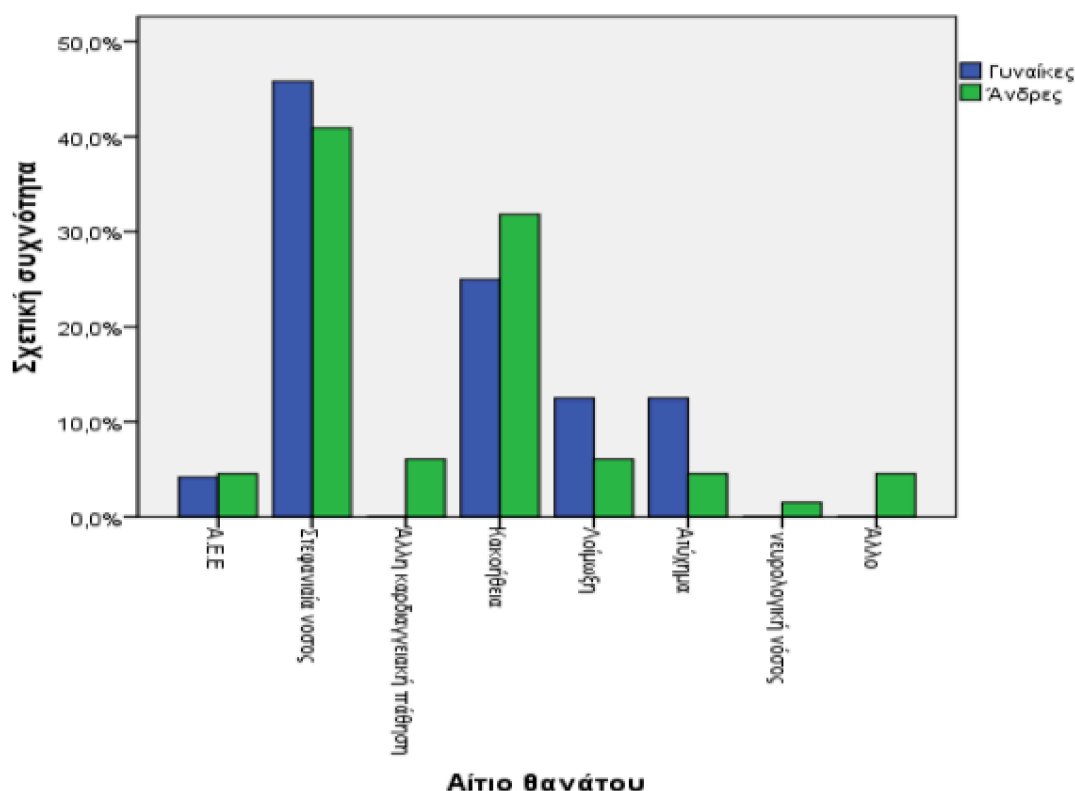
Στη συνέχεια, εκτιμήθηκε το μοντέλο δεκαετούς επιβίωσης συναρτήσει διαφόρων παραγόντων, χρησιμοποιώντας ποικίλες στατιστικές τεχνικές. Ο Σχετικός Κίνδυνος (ΣΚ) εκδήλωσης ΚΝ στη διάρκεια της δεκαετίας, εκτιμήθηκε με τη χρήση ημι-παραμετρικών μοντέλων αναλογικών κινδύνων Cox. Η διατροφική πληροφορία (είτε ως συνολικό σκορ, είτε ως μεμονωμένα τρόφιμα ή ομάδες τροφίμων), εισήλθε στο μοντέλο κινδύνου ως ανεξάρτητος παράγοντας. Η σύγκριση της εκτιμητικής ικανότητας των μοντέλων που υπολογίστηκαν, έγινε με τη χρήση καμπύλων ROC και κριτήριο ήταν η αύξηση του εμβαδού κάτω από την καμπύλη, καθώς και του λόγου πιθανοφάνειας ($-2\log L$) των μοντέλων. Η αύξηση της ορθής ταξινόμησης (όπως αυτή συγκρίνεται με τα πραγματικά δεδομένα) με την προσθήκη νέας μεταβλητής (π.χ. της διατροφικής πληροφορίας) θεωρείται βελτίωση του μοντέλου και αξιολογήθηκε. Η στατιστική ανάλυση των μοντέλων έγινε με το στατιστικό πακέτο SPSS 18 (SPSS Inc., Chicago, USA)

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Περιγραφικά στοιχεία για τη δεκαετή επίπτωση καρδιαγγειακής νόσου

Στο δεκαετή επανέλεγχο η επίπτωση της ΚΝ υπολογίστηκε στα 2020 άτομα για τα οποία υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα. Η δεκαετής επίπτωση θανατηφόρου και μη-θανατηφόρου ΚΝ ήταν 157 επεισόδια ανά 1000 άτομα. Πιο συγκεκριμένα, από τα συνολικά 317 καρδιαγγειακά επεισόδια που σημειώθηκαν στο σύνολο, τα 198 συνέβησαν σε άνδρες εθελοντές ($n = 195$ επεισόδια / 1000 άτομα) και τα υπόλοιπα 119 σε γυναίκες ($n = 118$ επεισόδια / 1000 άτομα) ($p < 0.001$). Όπως φαίνεται και στο Γράφημα 5, αναδείχθηκε μία γραμμική συσχέτιση ανάμεσα στην ηλικία των συμμετεχόντων και την επίπτωση για ΚΝ ($p < 0.001$). Πιο συγκεκριμένα, άνδρες ηλικίας 65-75 ετών το 2002, διέτρεχαν 10 φορές μεγαλύτερο καρδιαγγειακό κίνδυνο σε σχέση με άνδρες 35-45 ετών. Όσο αφορά στις γυναίκες ηλικίας 65-75 ετών ο αντίστοιχος καρδιαγγειακός κίνδυνος ήταν 14 φορές μεγαλύτερος σε σύγκριση με τις γυναίκες ηλικίας 35-45 ($p < 0.001$). Προκειμένου να μελετηθεί περισσότερο η διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα ανά ηλικία, οι συγκρίσεις έδειξαν ότι για τις νεαρότερες ηλικίες οι άνδρες σημειώνουν διπλάσια καρδιαγγειακή επίπτωση σε σχέση με τις γυναίκες, που φαίνεται να εξομοιώνεται στο ηλικιακό εύρος 65-75. Όσο αφορά στους συμμετέχοντες που η ηλικία τους ξεπερνούσε τα 75 έτη, η δεκαετής επίπτωση ΚΝ ήταν 1.6 φορές μεγαλύτερη στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες.

Σε αυτό το διάστημα, $n = 73$ άνδρες (5.7%) και $n = 26$ γυναίκες (2.0%) κατέληξαν, με την ολική θνησιμότητα να σημειώνεται στο 3.8%, ενώ η δεκαετής θνησιμότητα από ΚΝ καταγράφηκε στο 1.8% (3.4% στους άνδρες και 1.2% στις γυναίκες). Οι κυριότερες αιτίες θανάτου όπως φαίνονται και στο Γράφημα 7 ήταν 51.1% λόγω καρδιαγγειακών νοσημάτων (δλδ, 42.2% από στεφανιαία νόσο, 4.4% από εγκεφαλικό και 4.4% από άλλα καρδιαγγειακά νοσήματα), 30.0 % λόγω κακοήθειας, 7.8% λόγω λοιμώξεων (κυρίως του αναπνευστικού), 6.7% από ατυχήματα και το υπόλοιπο 4.4% από άλλα αίτια. Αρκεί να σημειωθεί ότι δεν παρατηρήθηκαν διαφορές ανάμεσα στα δύο φύλα ($p < 0.55$) (Panagiotakos D et al. 2014).



Γράφημα 7 : Οι κυριότερες αιτίες θανάτου ανά φύλο στο δεκαετή επανέλεγχο της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ

Κατανομή των χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων στη μελέτη

Τα δημογραφικά, κλινικά χαρακτηριστικά και στοιχεία τρόπου ζωής των ατόμων που συμμετείχαν στο δεκαετές follow-up περιγράφονται στον **Πίνακα 4.1**. Συνολικά ο επιπολασμός του μεταβολικού συνδρόμου στο δείγμα ήταν 20%. Όπως φαίνεται, από τα $n=317$ επεισόδια ΚΝ, τα $n=129$ (41%) συνέβησαν σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο. Πιο συγκεκριμένα, σε σύγκριση με όσους δεν ασθένησαν τα άτομα που εμφάνισαν ΚΝ μέσα στη δεκαετία ήταν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό άνδρες μεγαλύτερης ηλικίας, που κάπνιζαν περισσότερο, ήταν υπέρβαροι (αυξημένος ΔΜΣ και λόγος περιμέτρου μέσης προς ισχίων), ενώ παράλληλα χαρακτηρίζονταν από αυξημένα επίπεδα γλυκόζης, αρτηριακής πίεσης και λιπιδίων στο αίμα, καθώς επίσης και από χαμηλότερη συμμόρφωση στη ΜΔ (δηλαδή είχαν χαμηλότερο MedDietScore, με μέσο όρο 23 στα 55) (όλες οι τιμές των $p < 0.001$). Από την άλλη πλευρά, δεν εντοπίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για τη φυσική δραστηριότητα.

Πίνακας 4.1. Δημογραφικά, συμπεριφοριστικά και κλινικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ σύμφωνα με την εμφάνιση ή όχι ΚΝ μέχρι το δεκαετή επανέλεγχο ($n=2020$).

	Εμφάνιση ΚΝ $n=1703$	Μη Εμφάνιση ΚΝ $n=317$	P
Ηλικία, έτη	43 ± 13	58 ± 13	<0.001
Φύλο, % άνδρες	48	63	<0.001
Κάπνισμα, πακετοέτη	441 ± 425	767 ± 705	<0.001
Σωματικά δραστήριοι, %	40	41	0.95
Δείκτης Μάζας Σώματος, kg/m^2	26 ± 5	28 ± 5	<0.001
Περίμετρος μέσης, cm	89 ± 15	97 ± 14	<0.001
Πηλίκο περιμέτρου μέσης προς ισχίων	0.85 ± 0.11	0.92 ± 0.11	<0.001
Υπέρταση, %ναι	28	51	<0.001
Σακχαρώδης διαβήτης, %ναι	5	22	<0.001
Υπερχοληστερολαιμία, %ναι	40	57	<0.001
MedDietScore (εύρος 0-55)	26 ± 6	23 ± 7	<0.001
Μεταβολικό σύνδρομο, %ναι	18	41	<0.001

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε πολλαπλή λογιστική παλινδρόμηση, ώστε να προσδιοριστεί η προβλεπτική ικανότητα διαφόρων από τους προαναφερθέντες παράγοντες κινδύνου στην ανάπτυξη ΚΝ (**Πίνακας 4.2**). Οι παράμετροι που αναδείχθηκαν ήταν η ηλικία, το φύλο, η προσκόλληση στη ΜΔ και ο σακχαρώδης διαβήτης (όλα τα $p < 0.001$). Ειδικότερα, κάθε ένα έτος αύξησης της ηλικίας σχετίστηκε με 6% αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ μέσα στη δεκαετία. Επιπλέον οι άνδρες σημείωσαν 66% μεγαλύτερο καρδιαγγειακό κίνδυνο σε σχέση με τις γυναίκες. Όσο αφορά στα άτομα που ήταν περισσότερο προσκολλημένα στη ΜΔ φαίνεται να είχαν 5% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ σε σχέση με άτομα που δεν ακολουθούσαν τόσο τη ΜΔ. Τέλος, άτομα που έπασχαν από σακχαρώδη διαβήτη σε σχέση με άτομα που δεν έπασχαν διέτρεχαν διπλάσιο καρδιαγγειακό κίνδυνο μέσα στη δεκαετία.

Πίνακας 4.2. Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης για τη συσχέτιση ποικίλων χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ ($n=2020$).

Όλοι οι συμμετέχοντες	Σχετικός Λόγος	95% ΔΕ
Ηλικία (ανά 1 έτος)	1.06	1.04, 1.08
Άνδρες έναντι γυναικών	1.66	1.06, 2.61
Καπνιστές vs. μη καπνιστές	1.00	1.00, 1.01
Ελάχιστη φυσική δραστηριότητα	0.74	0.49, 1.11
Εκπαίδευση (έτη σχολείου)	0.98	0.93, 1.04
MedDietScore (εύρος 0-55)	0.95	0.92, 0.99
Υπέρταση (ναι/ όχι)	1.06	0.71, 1.60
Σακχαρώδης διαβήτης (ναι/ όχι)	2.39	1.33, 4.29
Υπερχοληστερολαιμία (ναι/ όχι)	1.33	0.90, 1.97

Μεταβολικό σύνδρομο και δεκαετής καρδιαγγειακός κίνδυνος στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ

Λαμβάνοντας υπόψη την πολυπλοκότητα διάγνωσης του μεταβολικού συνδρόμου λόγω της πληθώρας κριτηρίων που υπάρχουν η μελέτη ΑΤΤΙΚΗ προσέγγισε το ζήτημα ερευνώντας ποιος ορισμός του μεταβολικού συνδρόμου συσχετίζεται περισσότερο με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο.

Η επίπτωση του μεταβολικού συνδρόμου εκτιμήθηκε στο 20% σύμφωνα με τον αναθεωρημένο ορισμό rNCEP ATP III, 48.9% με τον ορισμό IDF και 51% με τα Harmonized Criteria. Ανάμεσα στους διαφορετικούς ορισμούς, μόνο ο rNCEP ATP III ανέδειξε ότι το ιστορικό για μεταβολικό σύνδρομο συσχετιζόταν σημαντικά με τα καρδιαγγειακά επεισόδια, ακόμα και μετά από συνυπολογισμό αρκετών παραγόντων κινδύνου όπως ηλικία, φύλο, οικογενειακό ιστορικό ΚΝ, φυσική δραστηριότητα, προσκόλληση στη ΜΔ και κάπνισμα ($p < 0.001$). Αυτά τα ευρήματα επιβεβαίωσαν ότι η επιλογή κατάλληλου ορισμού για το μεταβολικό σύνδρομο αποτελεί υψίστης σημασίας για την εξαγωγή συμπερασμάτων για τη δημόσια υγεία. Περισσότεροι συμμετέχοντες κατηγοριοποιήθηκαν να πάσχουν από μεταβολικό σύνδρομο σύμφωνα με τον ορισμό IDF και τα Harmonized Criteria σε σχέση με τον αναθεωρημένο ορισμό rNCEP ATP III καθώς ο τελευταίος έχει διαφορετικά κατώφλια για την περιφέρεια μέσης. Αξίζει να σημειωθεί ότι, ακόμα και όταν εξετάστηκε η προβλεπτική ικανότητα άλλων φλεγμονωδών δεικτών (CRP, IL-6, GFR) να εξηγήσουν τη σχέση των τριών ορισμών για το μεταβολικό σύνδρομο με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις (όλα $p > 0.40$) (Kastorini CM et al. 2016).

4.2 Ο ρόλος της αντιφλεγμονώδους διαίτας στη δεκαετή επίπτωση ΚΝ

Όσο αφορά στο συνολικό δείγμα τα επίπεδα του D-AII σκορ συσχετίστηκαν με τα επίπεδα CRP, IL-6, TG και ολικής χοληστερόλης όπως επίσης και με τα επίπεδα γλυκόζης αίματος ($\rho = -0.084, -0.174, -0.152, -0.128, -0.126$ αντίστοιχα). Όλες οι

τιμές $p < 0.001$). Τα άτομα που εμφάνισαν ΚΝ στη δεκαετία είχαν κατά μέσο όρο 17% χαμηλότερο D-AII σκορ σε σύγκριση με όσους δε σημείωσαν κάποιο καρδιαγγειακό επεισόδιο ($p < 0.001$). Για να γίνουν οι συγκρίσεις περισσότερο κατανοητές τα κυριότερα χαρακτηριστικά των εθελοντών παρουσιάστηκαν σε τριτημόρια για το δείκτη D-AII (<31, 31-36, >36).

Τα περιγραφικά στοιχεία των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, ανάλογα με το αντιφλεγμονώδες φορτίο της διατροφής τους φαίνονται στον **Πίνακα 4.3**. Συνολικά, οι συμμετέχοντες που ανήκαν στο 1^ο τριτημόριο D-AII, που αντικατοπτρίζει μία ανθυγιεινή φλεγμονώδη διατροφή, σε σύγκριση με εκείνους που σημείωναν υψηλότερα D-AII σκορ (3^ο τριτημόριο) ήταν ως επί το πλείστον άνδρες μεγαλύτερης ηλικίας, που κάπνιζαν περισσότερο και ακολουθούσαν λιγότερο πιστά τη ΜΔ (αναφερόμενο MedDietSore 17 στα 55 έναντι 29 στα 55). Χαμηλότερο D-AII σκορ συσχετίστηκε επίσης με αυξημένα ποσοστά διάφορων καρδιομεταβολικών διαταραχών των συμμετεχόντων (όπως υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης, υπερχοληστερολαιμία) το μεταβολικό σύνδρομο (όλες οι τιμές $p < 0.001$) και με δεκαετή επίπτωση ΚΝ. Όσο αφορά στην αρχικά διαγνωσμένη φλεγμονώδη κατάσταση των εθελοντών της μελέτης, όσοι ανήκαν στο 1^ο τριτημόριο D-AII είχαν στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα CRP, σε σχέση με όσους ανέφεραν αυξημένα σκορ. Στη συνέχεια η ανάλυση διαστρωματοποιήθηκε ανάλογα με την αρχική παρουσία ή μη μεταβολικού συνδρόμου, όπου διαπιστώθηκαν παρόμοιες συγκρίσεις στα διαφορετικά D-AII σκορ των εθελοντών.

Πίνακας 4.3. Χαρακτηριστικά των εθελοντών της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ σύμφωνα με την ταξινόμηση σε τριτημόρια D-All σκορ ($n=2020$).

	D-All τριτημόρια			
	1 ^ο	2 ^ο	3 ^ο	P
Όλοι οι συμμετέχοντες, $n=2020$				
Εμφάνιση ΚΝ, %ναι	27	25	4	<0.001
Ηλικία, έτη	52 ± 16	52 ± 11	38 ± 11	<0.001
Φύλο, % άνδρες	58	76	25	<0.001
Κάπνισμα, πακετοέτη	556 ± 531	654 ± 581	307 ± 287	<0.001
Σωματικά δραστήριοι, %	41	40	42	0.82
Δείκτης Μάζας Σώματος (kg/m^2)	29 ± 5	28 ± 4	24 ± 3	<0.001
Περίμετρος μέσης, cm	97 ± 14	99 ± 13	81 ± 11	<0.001
Πηλίκιο περιμέτρου μέσης προς ισχίων	0.90 ± 0.09	0.92 ± 0.11	0.80 ± 0.09	<0.001
Υπέρταση, %ναι	45	48	14	<0.001
Σακχαρώδης διαβήτης, %ναι	12	12	1	<0.001
Υπερχοληστερολαιμία, %ναι	47	56	30	<0.001
MedDietScore (εύρος 0-55)	17 ± 6	26 ± 0.8	29 ± 5	<0.001
Μεταβολικό Σύνδρομο, %ναι	30	37	6	<0.001
CRP (mg/L)	2.3 ± 2.8	2.4 ± 2.6	1.5 ± 2.1	<0.001
Συμμετέχοντες με Μεταβολικό Σύνδρομο, $n=442$				
Εμφάνιση ΚΝ, %ναι	33	30	6	<0.001
Ηλικία, έτη	58 ± 14	52 ± 11	38 ± 11	<0.001
Φύλο, % άνδρες	52	73	26	<0.001
Κάπνισμα, πακετοέτη	764 ± 637	726 ± 633	266 ± 204	<0.001
Σωματικά δραστήριοι, %	32	34	35	0.96
Δείκτης Μάζας Σώματος (kg/m^2)	31 ± 6	30 ± 4	27 ± 4	<0.001
Περίμετρος μέσης, cm	105 ± 12	105 ± 13	96 ± 9	<0.001
Πηλίκιο περιμέτρου μέσης προς ισχίων	0.92 ± 0.08	0.95 ± 0.10	0.86 ± 0.07	<0.001
Υπέρταση, %ναι	64	65	30	<0.001
Σακχαρώδης διαβήτης, %ναι	27	21	6	0.006
Υπερχοληστερολαιμία, %ναι	53	57	46	0.25
MedDietScore (εύρος 0-55)	20 ± 6	25 ± 1	32 ± 9	<0.001
CRP (mg/L)	3.2 ± 3.2	2.9 ± 2.9	2.3 ± 2.2	0.23
Συμμετέχοντες χωρίς Μεταβολικό Σύνδρομο, $n=1578$				
Εμφάνιση ΚΝ, %ναι	24	21	4	<0.001
Ηλικία, έτη	49 ± 17	51 ± 11	37 ± 11	<0.001
Φύλο, % άνδρες	62	57	25	<0.001
Κάπνισμα, πακετοέτη	486 ± 473	610 ± 542	310 ± 293	<0.001
Σωματικά δραστήριοι, %	44	44	42	0.71
Δείκτης Μάζας Σώματος (kg/m^2)	27 ± 4	28 ± 4	23 ± 3	<0.001

Περίμετρος μέσης, cm	93 ± 13	96 ± 12	80 ± 11	<0.001
Πηλίκo περιμέτρου μέσης προς ισχίων	0.89 ± 0.10	0.90 ± 0.10	0.80 ± 0.09	<0.001
Υπέρταση, %ναι	37	37	13	<0.001
Σακχαρώδης διαβήτης, %ναι	6	7	1	<0.001
Υπερχοληστερολαιμία, %ναι	45	55	29	<0.001
MedDietScore (εύρος 0-55)	17 ± 4	26 ± 0.7	29 ± 5	<0.001
CRP (mg/L)	2.0 ± 2.6	2.1 ± 2.4	1.5 ± 2.1	<0.001

Όσο αφορά στο όφελος της αντιφλεγμονώδους διατροφής σε καθέναν από τους παράγοντες μεταβολικού συνδρόμου, η μη φυσιολογική περίμετρος μέσης, τα TG, η HDL-χοληστερόλη, η γλυκόζη και τα επίπεδα αρτηριακής πίεσης συσχετίστηκαν με τον D-AII. Εθελοντές που βρίσκονταν στο χαμηλότερο D-AII σκορ, σε σύγκριση με μεγαλύτερα τριτημόρια D-AII, ήταν πιο πιθανό να έχουν μη φυσιολογική περίμετρο μέσης (49% έναντι 15%), υπερτριγλυκεριδαιμία (30% έναντι 10%), υπεργλυκαιμία (42% έναντι 38%) και υπέρταση (46% έναντι 15%) (όλες οι τιμές $p < 0.001$). Οι συμμετέχοντες δε διέφεραν ως προς την πιθανότητα για μη φυσιολογικά χαμηλά επίπεδα HDL-χοληστερόλης (<40 mg/dl).

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε πολυπαραγοντική ανάλυση, ώστε να ληφθούν υπόψη κλασικοί συγχυτικοί παράγοντες (**Πίνακας 4.4**). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται για να εκτιμηθεί ο κίνδυνος εμφάνισης καρδιαγγειακού επεισοδίου (θανατηφόρου και μη). Συνολικά, το σκορ D-AII συσχετίστηκε οριακά στατιστικά σημαντικά με μειωμένο δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο στο σταθμισμένο για το φύλο και την ηλικία μοντέλο (Μοντέλο 1). Όπως φαίνεται, η προαναφερθείσα σχέση παρέμεινε στατιστικά σημαντική όταν συμπεριελήφθησαν το κάπνισμα, η φυσική δραστηριότητα και ο ΔΜΣ στο μοντέλο (Μοντέλο 2) όπως επίσης και στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο που συμπεριλάμβανε και κλινικά χαρακτηριστικά (υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης και υπερχοληστερολαιμία) και το δείκτη φλεγμονής CRP (Μοντέλο 3). Αυτή η συσχέτιση θα μπορούσε να ερμηνευθεί περαιτέρω δεδομένου ότι 10 μονάδες αύξησης του D-AII σκορ (που αντιστοιχεί σε 12% αύξηση) συσχετίζεται με 19% μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου μέσα στη δεκαετία. Πάραυτα, σημαντική αλληλεπίδραση παρατηρήθηκε μεταξύ D-AII και μεταβολικού συνδρόμου στον καρδιαγγειακό κίνδυνο ($p < 0.001$). Έτσι η ανάλυση διαστρωματοποιήθηκε περαιτέρω ανάλογα με την αρχική διάγνωση ή όχι μεταβολικού συνδρόμου. Η επίδραση του D-AII σκορ παρέμεινε προστατευτική ανάμεσα στους συμμετέχοντες που δεν είχαν αρχικά διαγνωσθεί με μεταβολικό σύνδρομο, γεγονός που δηλώνει ότι σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο εμπλέκονται και άλλοι παράγοντες που ουδετεροποιούν εν μέρει αυτή τη σχέση.

Πίνακας 4.4. Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης (ΣΛ, 95%ΔΕ) για την εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακού επεισοδίου (έκβαση) ανάλογα με την παρουσία ή όχι μεταβολικού συνδρόμου ($n=2020$).

Όλοι οι συμμετέχοντες	Σχετικός Λόγος , 95% ΔΕ		
	Μοντέλο 1	Μοντέλο 2	Μοντέλο 3
Ηλικία (ανά 1 έτος)	1.09 (1.07-1.09)	1.09 (1.07-1.10)	1.08 (1.07-1.98)
Άνδρες έναντι γυναικών	1.79 (1.36-2.38)	1.61 (1.19-2.18)	1.38 (0.99-1.93)
D-AII (ανά 1 μονάδα)	0.97 (0.96-0.99)	0.98 (0.96-1.00)	0.98 (0.96-1.01)
Καπνιστές vs. μη καπνιστές	-	1.31 (0.98-1.77)	1.36 (0.98-1.91)
Ελάχιστη φυσική δραστηριότητα	-	0.95 (0.71-1.26)	0.96 (0.70-1.32)
ΔΜΣ (ανά 1 μονάδα kg/m ²)	-	1.03 (1.00-1.07)	1.02 (0.99-1.07)
Υπέρταση (ναι/ όχι)	-	-	1.24 (0.90-1.72)
Σακχαρώδης διαβήτης (ναι/ όχι)	-	-	1.69 (1.06-2.68)
Υπερχοληστερολαιμία (ναι/ όχι)	-	-	1.09 (0.80-1.49)
CRP (ανά 1 mg/L)	-	-	1.04 (0.98-1.11)
Συμμετέχοντες χωρίς Μεταβολικό Σύνδρομο			
	Μοντέλο 1	Μοντέλο 2	Μοντέλο 3
Ηλικία (ανά 1 έτος)	1.08 (1.06-1.09)	1.08 (1.06-1.09)	1.08 (1.06-1.10)
Άνδρες έναντι γυναικών	1.61 (1.14-2.27)	1.59 (1.10-2.29)	1.43 (0.95-2.16)
D-AII (ανά 1 μονάδα)	0.96 (0.94-0.99)	0.97 (0.94-0.99)	0.97 (0.94-0.99)
Καπνιστές vs. μη καπνιστές	-	0.96 (0.67-1.37)	0.97 (0.65-1.44)
Ελάχιστη φυσική δραστηριότητα	-	0.97(0.69-1.38)	1.02 (0.69-1.51)
ΔΜΣ (ανά 1 μονάδα kg/m ²)	-	1.02 (0.97-1.06)	1.03 (0.97-1.08)
Υπέρταση (ναι/ όχι)	-	-	0.90 (0.59-1.38)
Σακχαρώδης διαβήτης (ναι/ όχι)	-	-	0.94 (0.40-2.18)
Υπερχοληστερολαιμία (ναι/ όχι)	-	-	1.09 (0.74-1.62)
CRP (ανά 1 mg/L)	-	-	1.01 (0.93-1.10)
Συμμετέχοντες με Μεταβολικό Σύνδρομο			
	Μοντέλο 1	Μοντέλο 2	Μοντέλο 3
Ηλικία (ανά 1 έτος)	1.0 (1.06-1.11)	1.10 (1.07-1.13)	1.09 (1.06-1.12)
Άνδρες έναντι γυναικών	1.86 (1.12-3.09)	1.38 (0.79-2.39)	1.08 (0.57-2.05)
D-AII (ανά 1 μονάδα)	1.00 (0.97-1.04)	1.00 (0.97-1.04)	0.99 (0.95-1.04)
Καπνιστές vs. μη καπνιστές	-	2.67 (1.48-4.79)	3.02 (1.52-6.01)
Ελάχιστη φυσική δραστηριότητα	-	0.91 (0.55-1.52)	0.88 (0.49-1.56)
ΔΜΣ (ανά 1 μονάδα kg/m ²)	-	1.02 (0.96-1.08)	1.01 (0.95-1.07)
Υπέρταση (ναι/ όχι)	-	-	1.86 (1.05-3.29)
Σακχαρώδης διαβήτης (ναι/ όχι)	-	-	2.09 (1.14-3.86)
Υπερχοληστερολαιμία (ναι/ όχι)	-	-	0.97 (0.56-1.67)
CRP (ανά 1 mg/L)	-	-	1.06 (0.97-1.17)

4.3 Ο ρόλος του καφέ στη δεκαετή επίπτωση ΚΝ

Σύμφωνα με την παρατηρούμενη κατανομή κατανάλωσης καφέ δημιουργήθηκαν 4 κατηγορίες (0, <150, 150-250, >250 ml/ημέρα) βάσει των οποίων μελετήθηκαν τα αρχικά χαρακτηριστικά του δείγματος όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.5**.

Η δεκαετής επίπτωση της ΚΝ ήταν $n=60$ (19%) σε άτομα που απείχαν από την κατανάλωση καφέ, $n=175$ (16%) στην ομάδα των ατόμων με χαμηλή κατανάλωση καφέ, $n=23$ (7%) στην ομάδα των ατόμων που έπιναν μέτρια καφέ και $n=54$ (25%) στην ομάδα της αυξημένης κατανάλωσης. Με βάση τα τελευταία, εμφανίστηκε μια παραβολική συσχέτιση (J-shaped) ($p=0.005$). Έτσι, σε σύγκριση με τα άτομα που δεν κατανάλωναν καφέ, η ομάδα των ατόμων που έπινε καθημερινά μικρές ποσότητες καφέ που άγγιζαν το 1 φλιτζάνι/ ημέρα (< 150 ml/ημέρα), αποτελούνταν από νεαρότερης ηλικίας άνδρες, με αυξημένο λόγο περιμέτρου μέσης προς ισχίων, με αυξημένη αρτηριακή πίεση και επίπεδα γλυκόζης, και μειωμένα επίπεδα λιπιδίων, που προσκολλούνταν περισσότερο στη ΜΔ (όλες οι τιμές $p < 0.001$). Παρόμοια, άτομα που έπιναν 1-2 φλιτζάνια καφέ (150-250 ml/ημέρα), σε σύγκριση με όσους απείχαν τελείως, ήταν πιο πιθανό να είναι νεαρότερης ηλικίας άνδρες, που κάπνιζαν λιγότερο, ακολουθούσαν στενότερα τη ΜΔ (δλδ, είχαν υψηλότερο MedDietScore με μέσο όρο 27/55) και μάλιστα σημείωναν λιγότερες πιθανότητες να πάσχουν από υπέρταση, σακχαρώδη διαβήτη, υπερχοληστερολαιμία και μεταβολικό σύνδρομο. Για τη φυσική δραστηριότητα δε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές ($p=0.38$). Ο μέσος όρος των επιπέδων φλεγμονωδών δεικτών των συμμετεχόντων παρουσιάζεται επίσης στον **Πίνακα 4.5**. Συνολικά, εθελοντές που κατανάλωναν μειωμένη ή μέτρια ποσότητα καφέ ημερησίως (περίπου 1-2 φλιτζάνια) είχαν κατά μέσο όρο χαμηλότερα επίπεδα οξειδωμένης LDL-χοληστερόλης, ινωδογόνου αλλά αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης σε σχέση με όσους απείχαν. Παρόμοια αποτελέσματα για την ομοκυστεΐνη και το ινωδογόνο εξήχθησαν και για την κατηγορία αυξημένης κατανάλωσης καφέ (>2 φλιτζάνια/ημέρα) αλλά όχι για τα επίπεδα οξειδωμένης LDL-χοληστερόλης που ήταν αυξημένα. Όσο αφορά στους φλεγμονώδεις δείκτες, η IL-6 εμφάνιζε διαφορές μεταξύ των τεσσάρων κατηγοριών, ενώ η CRP δε διέφερε σημαντικά ανάλογα με την κατανάλωση καφέ ($p=0.15$).

Πίνακας 4.5 Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των $n=2020$ εθελοντών ανάλογα με την κατανάλωση καφέ

	Ημερήσια κατανάλωση καφέ (ml/ημέρα)				<i>P</i>
	<i>Ποτέ</i>	<i>Μειωμένη</i>	<i>Μέτρια</i>	<i>Αυξημένη</i>	
	<i>0</i> (<i>n=342</i>)	<i>0-150</i> (<i>n=1126</i>)	<i>150-250</i> (<i>n=338</i>)	<i>>250</i> (<i>n=214</i>)	
Εμφάνιση ΚΝ, %ναι	19	16	7	25	<0.001
Δημογραφικά, συμπεριφοριστικά και κλινικά χαρακτηριστικά					
Ηλικία, έτη	50 ± 14	46 ± 13	36 ± 12	50 ± 13	<0.001
Φύλο, % άνδρες	26	45	66	77	<0.001
Κάπνισμα, πακετοέτη	20 ± 11	20 ± 12	16 ± 10	23 ± 11	<0.001
Σωματικά δραστήριοι, %	36	40	41	39	0.38
Πηλίκo περιμέτρου μέσης προς ισχίων	0.83 ± 0.09	0.86 ± 0.11	0.86 ± 0.10	0.92 ± 0.12	<0.001
Εκπαίδευση (έτη σχολείου)	12 ± 3	12 ± 4	13 ± 3	12 ± 4	<0.001
Υπέρταση, %ναι	29	31	21	38	<0.001
Σακχαρώδης διαβήτης, %ναι	7	8	3	10	<0.001
Υπερχοληστερολαιμία, %ναι	52	37	29	55	<0.001
MedDietScore (εύρος 0-55)	25 ± 6	26 ± 7	27 ± 7	24 ± 6	<0.001
Μεταβολικό Σύνδρομο, %ναι	21	21	14	24	<0.001
Δείκτες οξειδωτικού στρες και φλεγμονής					
Οξειδωμένη LDL-χοληστερόλη (mg/dL)	72 ± 21	49 ± 23	63 ± 30	83 ± 22	<0.001
IL-6 (ng/mL)	1.5 ± 0.7	1.5 ± 0.5	1.4 ± 0.3	1.5 ± 0.8	<0.001
CRP (mg/L)	2.1 ± 2.5	2 ± 2.5	1.8 ± 2.3	1.8 ± 2.1	0.15
Ομοκυστεΐνη (μmol/L)	11 ± 4	12 ± 6	12 ± 7	13 ± 5	0.03
Ινωδογόνο (mg/dL)	331 ± 78	314 ± 69	288 ± 61	319 ± 67	<0.001

Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.6**, στην πολυπαραγοντική ανάλυση που ακολούθησε στο σταθμισμένο για ηλικία και φύλο μοντέλο, αποκαλύφθηκε μία στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση καφέ και τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ (Μοντέλο 1) αποκαλύπτοντας την παραβολική συσχέτιση ($p < 0.005$). Όταν συμπεριελήφθησαν προσωπικά και συμπεριφοριστικά χαρακτηριστικά (περίμετρος μέσης προς ισχίων, κάπνισμα, κατάσταση φυσικής δραστηριότητας, εκπαίδευση και προσκόλληση στη ΜΔ), η μειωμένη κατανάλωση καφέ (1-2 φλιτζάνια/ ημέρα) συσχετίστηκε αντίστροφα

με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ σε σχέση με την πλήρη αποχή. Αντίθετα, η κατανάλωση πάνω από 2 φλιτζάνια καφέ ημερησίως, συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών επεισοδίων (Μοντέλο 2). Ακόμα και τότε όμως η παραβολική συσχέτιση ήταν εμφανής. Τα παραπάνω αποτελέσματα παρέμειναν στατιστικά σημαντικά ακόμα και στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο της πολυπαραγοντικής παλινδρόμησης λαμβάνοντας υπόψη κλασικούς παράγοντες κινδύνου (υπέρταση, διαβήτης, υπερχοληστερολαιμία) (Μοντέλο 3). Επίσης, επειδή η κατανάλωση καφέ μπορεί να επηρεαστεί από άλλες διατροφικές συνήθειες, όπως η πρόσληψη φρούτων, χυμών και άλλων ροφημάτων με ζάχαρη, επιπλέον αναλύσεις στο Μοντέλο 3 έδειξαν ότι η J-shaped σχέση της κατανάλωσης καφέ στον καρδιαγγειακό κίνδυνο έμεινε ανεπηρέαστη και στατιστικά σημαντική (ΣΛ, 95% ΔΕ για όσους καταναλώνουν καφέ καθόλου/ λίγο/ μέτρια/ πολύ: 1 (αναφορά), 0.48 (0.32-0.73), 0.62 (0.34, 1.11) και 2.85 (1.86, 4.38), αντίστοιχα). Τέλος, λαμβάνοντας υπόψη ότι η μελέτη ΑΤΤΙΚΗ είχε αποδείξει μια δοσοεξαρτώμενη σχέση ανάμεσα στην κατανάλωση καφέ και τους φλεγμονώδεις δείκτες (Zampelas A et al. 2004) (CRP, IL-6, οξειδωμένη LDL, ομοκυστεΐνη), οι τελευταίοι δείκτες εισήχθησαν σταδιακά και μεμονωμένα στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο, χωρίς να σημειώνονται αλλαγές στην παρατηρούμενη παραβολική συσχέτιση της κατανάλωσης καφέ και τον καρδιαγγειακό κίνδυνο.

Αξίζει να σημειωθεί ότι μία σημαντική αλληλεπίδραση είχε σημειωθεί ήδη από τον **Πίνακα 4.5** ανάμεσα στην κατανάλωση καφέ και την εμφάνιση μεταβολικού συνδρόμου. Επομένως, η ανάλυση επαναλήφθηκε ανάλογα με το αν είχε γίνει ή όχι διάγνωση μεταβολικού συνδρόμου με αρχικά δεδομένα των συμμετεχόντων από το 2002. Σύμφωνα με πρόσθετες αναλύσεις, παρατηρήθηκε ότι μειωμένη προς μέτρια καθημερινή κατανάλωση καφέ σε σχέση με την πλήρη αποχή παρέμεινε στατιστικά σημαντική έναντι του καρδιαγγειακού κινδύνου σε εθελοντές που δεν έπασχαν από μεταβολικό σύνδρομο εξαρχής (ΣΛ για 0-150 ml ημερησίως έναντι αποχής= 0.26; 95% ΔΕ 0.16, 0.54, ΣΛ για 150-250 ml ημερησίως έναντι αποχής= 0.18; 95% ΔΕ 0.06, 0.52). Αντιθέτως, δεν διαπιστώθηκε κάποια συσχέτιση με το δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο σε άτομα που είχαν αρχικά διαγνωσθεί με μεταβολικό σύνδρομο.

Πίνακας 4.6 Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης (ΣΛ, 95% ΔΕ) για τη συσχέτιση κατανάλωσης καφέ με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ ($n=2020$).

Όλοι οι συμμετέχοντες	Σχετικός Λόγος (ΣΛ), 95% ΔΕ		
	Μοντέλο 1	Μοντέλο 2	Μοντέλο 3
Ηλικία (ανά 1 έτος)	1.01 (1.08-1.10)	1.07(1.05-1.10)	1.06 (1.04-1.09)
Άνδρες έναντι γυναικών	2.13 (1.59-2.86)	2.01 (1.19-3.40)	1.99 (1.16-3.42)
Κατηγορίες κατανάλωσης καφέ			
Μειωμένη κατανάλωση vs. αποχή	0.47 (0.32-0.71)	0.47 (0.31-0.72)	0.44 (0.29-0.68)
Μέτρια κατανάλωση vs. αποχή	0.58 (0.31-1.04)	0.53 (0.29-0.97)	0.49 (0.27-0.92)
Αυξημένη κατανάλωση vs. αποχή	2.81 (1.84-4.23)	2.62 (1.67-4.09)	2.48 (1.56-2.93)
Καπνιστές vs. μη καπνιστές	-	1.00 (0.98-1.02)	1.00 (0.98-1.02)
Ελάχιστη φυσική δραστηριότητα	-	0.68 (0.45-1.02)	0.68 (0.45-1.04)
Πηλίκo περιμέτρου μέσης προς ισχίων	-	8.7 (0.95-80)	3.86 (0.38-39)
Εκπαίδευση (έτη σχολείου)	-	0.97 (0.92-1.02)	0.98 (0.92-1.03)
MedDietScore (εύρος 0-55)	-	0.96 (0.93-1.001)	0.96 (0.93-0.99)
Υπέρταση (ναι/ όχι)	-	-	1.13 (0.74-1.70)
Σακχαρώδης διαβήτης (ναι/ όχι)	-	-	2.4 (1.33-4.40)
Υπερχοληστερολαιμία (ναι/ όχι)	-	-	1.42 (0.95-2.13)

4.4 Ο ρόλος του ελαιόλαδου στη δεκαετή επίπτωση ΚΝ

Σύμφωνα με τις διατροφικές αναφορές, 89.5% από τους $n=2020$ συμμετέχοντες ανέφεραν καθημερινή χρήση ελαιόλαδου (μαζί με άλλα πρόσθετα λίπη ή αποκλειστικά), ενώ οι υπόλοιποι (10.5%) ανέφεραν καμία χρήση/κατανάλωση ελαιόλαδου. Πιο συγκεκριμένα, η αποκλειστική χρήση ελαιόλαδου στην καθημερινή μαγειρική αναφέρθηκε από το 1.1% των συμμετεχόντων. Ο **Πίνακας 4.7** παρουσιάζει τα δημογραφικά, κλινικά και συμπεριφοριστικά χαρακτηριστικά αυτών των εθελοντών σύμφωνα με την αρχική αξιολόγησή τους για την κατανάλωση ελαιόλαδου (καμία χρήση έναντι καθημερινή χρήση). Αθροιστικά, σε σύγκριση με τους εθελοντές που ανέφεραν μηδενική χρήση ελαιόλαδου, αυτοί που ανέφεραν καθημερινή χρήση ήταν άτομα νεαρότερης ηλικίας, που κάπνιζαν λιγότερο και είχαν χαμηλότερο ΔΜΣ, αλλά αυξημένη περίμετρο μέσης και πηλίκo περιμέτρου μέσης προς ισχίων. Παράλληλα, είχαν αυξημένα επίπεδα λιπιδίων και ήταν πιο πιθανό να έχουν διαγνωσθεί με μεταβολικό σύνδρομο κατά την αρχική αξιολόγηση (όλες οι τιμές $p < 0.05$). Συμμετέχοντες που κατανάλωναν ελαιόλαδο σε καθημερινή βάση παρουσίαζαν μεγαλύτερη προσκόλληση στη ΜΔ, όπως φανερώνεται από μεγαλύτερο MedDietScore ($p = 0.03$), είχαν αυξημένο λόγο πρόσληψης MUFA/PUFA ($p = 0.006$), ενώ η ενεργειακή πρόσληψη από SFA ($p = 0.007$) ήταν μειωμένη σε σύγκριση με εθελοντές που ανέφεραν ουδεμία χρήση ελαιόλαδου. Όσο αφορά στην πρόσληψη

των ωμέγα-3 λιπαρών οξέων, οι συμμετέχοντες που ανέφεραν χρήση ελαιόλαδου σε καθημερινή βάση σημείωναν αυξημένα επίπεδα ωμέγα-3 λιπαρών οξέων (g/d) σε σχέση με όσους απείχαν από αυτό (ΜΟ ±ΤΑ: 2.19 ± 0.80 έναντι 2.11 ± 0.59 , $p=0.002$).

Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί ότι δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση όταν συγκρίθηκαν συμμετέχοντες που δε χρησιμοποιούσαν ελαιόλαδο με όσους ανέφεραν (μεικτή ή αποκλειστική) κατανάλωση όσο αφορά στο δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο ($p=0.40$). Πάραυτα, μετά την ταξινόμηση των εθελοντών στις τρεις ομάδες, δηλαδή στην ομάδα που δεν κατανάλωνε καθόλου ελαιόλαδο, στην ομάδα που έκανε μεικτή χρήση ελαιόλαδου και στην ομάδα που χρησιμοποιούσε αποκλειστικά ελαιόλαδο, φάνηκε ότι οι εθελοντές που ανήκαν στην πρώτη ή στη δεύτερη κατηγορία (δλδ, που κατανάλωναν ελαιόλαδο μαζί με άλλα έλαια/ λίπη) είχαν 4.2 φορές και 5.3 φορές αντίστοιχα μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν κάποιο καρδιαγγειακό επεισόδιο μέσα στη δεκαετία σε σύγκριση με τους αποκλειστικούς χρήστες ελαιόλαδου.

Πίνακας 4.7. Επιλεγμένα χαρακτηριστικά (δημογραφικά, συμπεριφοριστικά, κλινικά και διατροφικά) της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ σχετικά με την κατανάλωση ελαιόλαδου

	Χρήση/κατανάλωση ελαιόλαδου		P
	Καμία χρήση	Μεικτή ή αποκλειστική καθημερινή χρήση	
	n=212 (10.5%)	n=1808 (89.5%)	
Αρχικά χαρακτηριστικά			
Εμφάνιση ΚΝ, %ναι	12.8	3.0	0.03
Ηλικία, έτη	50 ± 15	44 ± 14	<0.001
Φύλο, % άνδρες	48	50	0.39
Κάπνισμα, πακετοέτη	50	43	0.012
Σωματικά δραστήριοι, %	39	40	0.46
ΔΜΣ (kg/m ²)	27 ± 4	26 ± 5	0.04
Περίμετρος μέσης, cm	88 ± 16	90 ± 14	0.03
Πηλίκιο περιμέτρου μέσης προς ισχίων	0.83 ± 0.09	0.86 ± 0.11	<0.001
Εκπαίδευση (έτη σχολείου)	11 ± 3	12 ± 4	<0.001
Υπέρταση, %ναι	27	30	0.29
Σακχαρώδης διαβήτης, %ναι	8	7	0.49
Υπερχοληστερολαιμία, %ναι	26	41	<0.001
Μεταβολικό σύνδρομο, %ναι	10	21	<0.001
Ινωδογόνο (mg/dL)	309 ± 66	311 ± 70	0.69
Αρχικά διατροφικά χαρακτηριστικά			
MedDietScore (εύρος 0-55)	25 ± 8	27 ± 7	0.03
Συνολική ενεργειακή πρόσληψη (kcal/ημέρα)	2292 ± 963	2371± 951	0.44
Πρόσληψη αιθανόλης (g/ ημέρα)	14 ± 11	16 ± 17	0.21
Ενεργειακή πρόσληψη από λίπος, %	34	35	0.89
Ενεργειακή πρόσληψη από SFA, %	10	9	0.007
Ενεργειακή πρόσληψη από MUFA, %	23	24	0.37
Λόγος πρόσληψης MUFA/SFA	1.6 ± 0.48	1.8 ± 0.47	0.006
Ενεργειακή πρόσληψη από trans-fatty acids, %	0.60	0.59	0.90

Στη συνέχεια, η λογιστική παλινδρόμηση που εφαρμόστηκε συμπεριέλαβε και άλλους παράγοντες κινδύνου για ΚΝ (**Πίνακας 4.8**). Στο σταθμισμένο για το φύλο και την ηλικία μοντέλο φανερώθηκε μία στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην αποκλειστική κατανάλωση ελαιόλαδου και τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ (Μοντέλο 1), ακόμα και όταν άλλες μεταβλητές (όπως ΔΜΣ, κάπνισμα, φυσική δραστηριότητα, εκπαίδευση, υπέρταση, διαβήτης, υπερχοληστερολαιμία και μεταβολικό σύνδρομο) εισήχθησαν στο μοντέλο (Μοντέλο 2). Παρομοίως, λαμβάνοντας υπόψη τους δείκτες που υποδηλώνουν μία ήπιας μορφής φλεγμονή που θα μπορούσε να διαμεσολαβεί της σχέσης ελαιόλαδο-δεκαετής επίπτωση ΚΝ,

εισήχθησαν στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο (Μοντέλο 2) σταδιακά και μεμονωμένα δημοφιλείς φλεγμονώδεις δείκτες. Από τους τελευταίους μόνο το ινωδογόνο έδειξε μία στατιστικά σημαντική μεσολάβηση. Αντίθετα, τα μοντέλα στα οποία συμπεριελήφθησαν η CRP, η οξειδωμένη LDL, η IL-6 και η ομοκυστεΐνη δεν τροποποίησαν την επίδραση του ελαιόλαδου στον καρδιαγγειακό κίνδυνο ($\Sigma\Lambda=1.05$, 95% ΔΕ: 0.98-1.12; $\Sigma\Lambda=1.00$, 95% ΔΕ: 0.99-1.01; $\Sigma\Lambda=1.02$, 95% ΔΕ: 0.78-1.34; $\Sigma\Lambda=1.01$, 95% ΔΕ: 0.97-1.03, αντίστοιχα).

Πίνακας 4.8. Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης ($\Sigma\Lambda$, 95% ΔΕ) για τη συσχέτιση κατανάλωσης ελαιόλαδου με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ ($n=2020$).

Όλοι οι συμμετέχοντες	Σχετικός Λόγος ($\Sigma\Lambda$), 95% ΔΕ					
	Μοντέλο 1		Μοντέλο 2		Μοντέλο 3	
Χρήση ελαιόλαδου						
Καμία χρήση (κατηγορία αναφοράς)	1.00	-	1.00	-	1.00	-
Μεικτή χρήση μαζί με άλλα λίπη /έλαια στη μαγειρική	0.98	0.52, 1.85	0.91	0.45, 1.83	2.02	0.69-5.90
Αποκλειστική καθημερινή χρήση	0.11	0.01, 0.95	0.07	0.01-0.66	0.24	0.02-2.54
Ηλικία (ανά 1 έτος)	1.09	1.08, 1.10	1.08	1.07-1.10	1.07	1.06-1.09
Άνδρες έναντι γυναικών	1.99	1.52, 2.63	1.72	1.28-2.33	1.78	1.27-2.50
ΔΜΣ (ανά 1 kg/m ²)	-	-	1.03	0.99-1.07	1.03	0.99-1.07
Καπνιστές vs. μη καπνιστές	-	-	1.30	0.96-1.78	1.44	1.02-2.05
Ελάχιστη φυσική δραστηριότητα	-	-	0.97	0.72-1.30	0.98	0.70-1.37
Εκπαίδευση (>14 έτη vs. <9 έτη)	-	-	0.97	0.93-1.01	0.96	0.92-1.00
Ιστορικό						
Υπέρταση (ναι/ όχι)	-	-	1.04	0.77-1.42	1.01	0.71-1.43
Σακχαρώδης διαβήτης (ναι/ όχι)	-	-	1.07	0.80-1.43	1.11	0.80-1.54
Υπερχοληστερολαιμία (ναι/ όχι)	-	-	1.67	1.08-2.59	1.47	0.89-2.44
Μεταβολικό σύνδρομο (ναι/ όχι)	-	-	1.56	1.12-2.20	1.76	1.19-2.60
Ινωδογόνο (ανά 1 mg/dL)					1.00	1.00-1.01

4.5 Ο ρόλος της κατανάλωσης αλκοόλ στη δεκαετή επίπτωση ΚΝ

Η κατανάλωση αλκοόλ (σε εβδομαδιαία βάση) αναφέρθηκε από το 56% των συμμετεχόντων που δεν εμφάνισαν ΚΝ και από το 49% όσο εμφάνισαν κατά το δεκαετές follow-up ($p=0.004$) (Πίνακας 4.9), χωρίς να εμφανίζονται διαφορές ανάμεσα στα δύο φύλα ($p=0.25$). Η κατανομή της κατανάλωσης των αλκοολούχων ποτών όπως κρασί, μπύρα και άλλα ποτά ήταν 65, 22 και 13%, αντίστοιχα στους άνδρες και 77,11 και 12% αντίστοιχα στις γυναίκες ($p=0.45$). Επιπλέον, η ποσότητα αλκοόλ που καταναλωνόταν (g./ ημέρα) σε συμμετέχοντες που ανέφεραν ότι έπιναν, στα αρχικά δεδομένα ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη στα άτομα

που εμφάνισαν ΚΝ σε σχέση με τα άτομα που παρέμειναν υγιή μέχρι και το τέλος του follow-up ($p < 0.001$).

Πίνακας 4.9. Κατανάλωση αλκοόλ μεταξύ των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, σε σχέση με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ ($n=2020$).

	Μη εμφάνιση ΚΝ $n=1703$	Εμφάνιση ΚΝ $n=317$	P
Κατανάλωση οποιουδήποτε αλκοολούχου ποτού, n (%)	953 (56%)	155 (49%)	0.04
Πρόσληψη αλκοόλ (g/ημέρα)	14 ± 16	21 ± 18	<0.001
Είδος αλκοολούχου ποτού			
Κατανάλωση κρασιού, n (%)			0.61
Καθόλου	470 (28%)	81 (26%)	
≤ 1 ποτήρι/ εβδομάδα	440 (26%)	97 (30%)	
>1 ποτήρι/ εβδομάδα	793 (46%)	139 (44%)	
Κατανάλωση μπύρας, n (%)			0.32
Καθόλου	630 (37%)	137 (43%)	
≤ 1 ποτήρι/ εβδομάδα	477 (28%)	95 (30%)	
>1 ποτήρι/ εβδομάδα	596 (35%)	85 (27%)	

Αξίζει να σημειωθεί ότι επιπλέον αναλύσεις έδειξαν ότι η δεκαετής επίπτωση ΚΝ ήταν 18.6% σε συμμετέχοντες που ανέφεραν αποχή από το αλκοόλ και 14.9% σε εκείνους που ανέφεραν κατανάλωση οποιουδήποτε ροφήματος. Επιπλέον, αναλύσεις ανά τεταρτημόριο της πρόσληψης αιθανόλης (<2 , 2-10, 10-20, >20 g./ημέρα) έδειξε ότι η δεκαετής επίπτωση ΚΝ ήταν 11.9, 9.4, 16.9 και 21.7% αντίστοιχα. Έτσι, σε σύγκριση με την κατανάλωση αιθανόλης μικρότερη <2 g./ημέρα, οι συμμετέχοντες που ανέφεραν 2-10, 10-20, και πάνω από 20 g./ημέρα είχαν καρδιαγγειακό κίνδυνο (95% ΔΕ) από 0.60 (0.40-0.98), 1.22 (0.60-1.14) και 1.81 (0.70-4.61), αντίστοιχα. Με βάση αυτά τα ποσοστά αποκαλύφθηκε μία παραβολική συσχέτιση (J-shaped).

Προκειμένου να αξιολογηθεί η σχέση ανάμεσα στην αρχική κατανάλωση αλκοολούχων ροφημάτων και τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ, εφαρμόστηκε πολυπαραγοντική ανάλυση όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.10** ξεχωριστά για την κατανάλωση κρασιού και ξεχωριστά για την κατανάλωση μπύρας. Σε σχέση με την πλήρη αποχή από το κρασί, παρατηρήθηκε μια αντίστροφη ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση λιγότερου από ένα ποτήρι την εβδομάδα και το δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο, σχέση που παρέμεινε σημαντική και στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο (για ηλικία, φύλο, κάπνισμα, φυσική δραστηριότητα, εκπαίδευση, ΔΜΣ, προσκόλληση στη ΜΔ, συνολική κατανάλωση αλκοόλ, υπέρταση, διαβήτης, υπερχοληστερολαιμία με στοιχεία από την αρχική αξιολόγηση). Όντως, άτομα που ανέφεραν κατανάλωση κρασιού λιγότερου από ένα ποτήρι την

εβδομάδα διέτρεχαν 60% χαμηλότερο δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο, σε σχέση με τα άτομα που απείχαν εντελώς από την κατανάλωση αλκοόλ ($\Sigma\Lambda=0.40$; 95%ΔΕ: 0.17-1.98). Αντίθετα, σε σχέση με την αρχική πλήρη αποχή από το κρασί στα άτομα που έπιναν πάνω από ένα ποτήρι την εβδομάδα δεν φάνηκε καμία τέτοια συσχέτιση ($\Sigma\Lambda=0.75$; 95%ΔΕ: 0.29-1.94). Όσο αφορά στην κατανάλωση μπύρας, παρόμοια ισχυρή συσχέτιση εμφανίστηκε ανάμεσα στην κατανάλωση λιγότερου από ένα ποτήρι μπύρας την εβδομάδα και τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ, σε σχέση με την πλήρη αποχή. Ειδικότερα, άτομα που έπιναν λιγότερο από ένα ποτήρι μπύρα την εβδομάδα διέτρεχαν 57% λιγότερο δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο σε σχέση με την πλήρη αποχή ($\Sigma\Lambda=0.43$; 95%ΔΕ: 0.20-0.93) στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο (ίδιο με την περίπτωση του κρασιού). Σε σύγκριση με τα άτομα που δήλωναν στην αρχή πλήρη αποχή από την μπύρα, η ομάδα των ατόμων που έπινε πάνω από ένα ποτήρι την εβδομάδα δε φάνηκε να παρουσιάζει κάποια συσχέτιση με την ΚΝ ($\Sigma\Lambda=0.67$; 95%ΔΕ: 0.29-1.55).

Πίνακας 4.10. Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης (ΣΛ, 95%ΔΕ) για τη συσχέτιση της κατανάλωσης κρασιού και μπύρας των συμμετεχόντων στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ (έκβαση)

Όλοι οι συμμετέχοντες (n=2020)	Σχετικός Λόγος (ΣΛ), 95% ΔΕ	
	<i>Μοντέλο 1</i>	<i>Μοντέλο 2</i>
Ηλικία (ανά 1 έτος)	1.06 (1.02-1.10)	1.05 (1.01-1.09)
Άνδρες έναντι γυναικών	2.30 (0.96-5.39)	1.99 (0.88-4.51)
Κατανάλωση κρασιού		
≤1 ποτήρι/ εβδομάδα έναντι καθόλου	0.40 (0.17-0.98)	-
>1 ποτήρι/ εβδομάδα έναντι καθόλου	0.75 (0.29-1.94)	-
Κατανάλωση μπύρας		
≤1 ποτήρι/ εβδομάδα έναντι καθόλου	-	0.43 (0.20-0.93)
>1 ποτήρι/ εβδομάδα έναντι καθόλου	-	0.67 (0.29-1.55)
Καπνιστές vs. μη καπνιστές	1.00 (1.00-1.01)	1.00 (0.99-1.01)
Ελάχιστη φυσική δραστηριότητα	0.70 (0.34-1.47)	0.63 (0.31-1.30)
ΔΜΣ (ανά 1 kg/m ² unit)	1.06 (0.97-1.15)	1.06 (0.97-1.15)
Εκπαίδευση (έτη σχολείου)	0.91 (0.82-0.99)	0.89 (0.80-0.98)
MedDietScore (εύρος 0-55)	0.95 (0.88-1.01)	0.94 (0.88-1.01)
Υπέρταση (ναι/ όχι)	1.18 (0.58-2.40)	1.16 (0.57-2.37)
Σακχαρώδης διαβήτης (ναι/ όχι)	1.56 (0.49-4.99)	1.62 (0.49-5.29)
Υπερχοληστερολαιμία (ναι/ όχι)	1.67 (0.85-3.27)	1.67 (0.85-3.26)

Τέλος, τα πλήρως σταθμισμένα μοντέλα για την κατανάλωση κρασιού και μπύρας εξετάστηκαν περαιτέρω και για βιοχημικούς δείκτες (CRP, IL-6, ομοκυστεΐνη, επίπεδα γλυκόζης νηστείας, TG, HDL-χοληστερόλη) με σκοπό να διερευνηθεί ο πιθανός διαμεσολαβητικός τους ρόλος στη σχέση κρασιού/μπύρας και δεκαετούς επίπτωσης ΚΝ. Σύμφωνα με αυτά τα επιπλέον μοντέλα, όλοι οι βιοχημικοί δείκτες φάνηκε ότι επηρέαζαν τη σχέση της κατανάλωσης <1 ποτήρι κρασιού/μπύρας την εβδομάδα και της επίπτωσης ΚΝ, φανερώνοντας διαμεσολάβηση.

4.6 Δείκτες μεταβολικού προφίλ στη δεκαετή επίπτωση ΚΝ

4.6.1. Δείκτης Σπλαχνικού λίπους (Visceral Adiposity Index- VAI)

Το σκορ του VAI όπως μετρήθηκε από τα στοιχεία που είχαν συλλεχθεί αρχικά στο δείγμα βρέθηκε να συσχετίζεται θετικά με το ΔΜΣ, με την περίμετρο μέσης, τους λόγους WHR, WHtR, CRP, IL-6, TNF- α , TG, ολική χοληστερόλη και τα επίπεδα γλυκόζης ($\rho = 0.262, 0.331, 0.280, 0.329, 0.147, 0.168, 0.136, 0.915, 0.309, 0.227$, αντίστοιχα; όλες οι τιμές $p < 0.001$), ενώ αποδείχθηκε ότι συσχετίζεται αντίστροφα με την HDL-χοληστερόλη ($\rho = -0.395$; $p < 0.001$). Ακόμα και όταν η ανάλυση διαστρωματοποιήθηκε ανά φύλο αυτές οι συσχετίσεις παρέμειναν σημαντικές σε άνδρες και γυναίκες.

Συμμετέχοντες με ΚΝ μέσα στη δεκαετία είχαν κατά 29% μεγαλύτερες τιμές του δείκτη VAI σε σχέση με τα υγιή άτομα. Με βάση τις συγκρίσεις αυτές το σκορ VAI διαιρέθηκε σε τριτημόρια ($<2.4, 2.4-4.5, >4.5$) πάνω στα οποία υπολογίστηκαν τα αρχικά χαρακτηριστικά του δείγματος όπως φαίνεται και στον **Πίνακα 4.11**. Αθροιστικά, φαίνεται ότι η ηλικία των εθελοντών και οι πιθανότητες εμφάνισης υπέρτασης, σακχαρώδους διαβήτη και υπερχοληστερολαιμίας με τα αρχικά δεδομένα αυξάνονται σημαντικά στα τριτημόρια του VAI. Είναι αξιοσημείωτο ότι οι συμμετέχοντες του 1^{ου} τριτημορίου VAI (που αντικατοπτρίζει ένα μεταβολικό προφίλ με λιγότερο δυσλειτουργικό λιπώδη ιστό) ήταν άτομα νεαρότερης ηλικίας, κυρίως γυναίκες, που κάπνιζαν λιγότερο, ήταν περισσότερο φυσικά δραστήρια, λιγότερο κεντρικά και συνολικά παχύσαρκα και με αυξημένη προσκόλληση στη ΜΔ (MedDietScore 28/55) σε σχέση με τα άτομα του 3^{ου} τριτημορίου VAI (αυξημένες τιμές VAI). Επιπλέον, οι εθελοντές του χαμηλότερου τριτημορίου VAI εξέθεσαν και μειωμένες πιθανότητες αρχικής εμφάνισης πληθώρας καρδιομεταβολικών δεικτών (όπως υπέρταση, διαβήτη, υπερχοληστερολαιμία και μεταβολικό σύνδρομο; όλες οι τιμές $p < 0.001$). Όπως ήταν αναμενόμενο, οι συμμετέχοντες του 1^{ου} τριτημορίου εμφάνισαν και τη χαμηλότερη δεκαετή επίπτωση ΚΝ.

Πίνακα 4.11 Εκτίμηση καρδιαγγειακών επεισοδίων κατά το 10ετές follow-up της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, μαζί με την ανάλυση αρχικών χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων ($n=2020$) ανά τριτημόρια του VAI (VAI τριτημόρια: <2.4; 2.4-4.5; >4.5).

	Τριτημόρια VAI			P
	1 ^ο	2 ^ο	3 ^ο	
Εμφάνιση ΚΝ, %ναι	8	12	24	<0.001
Αρχικά χαρακτηριστικά				
Ηλικία, έτη	19 ± 13	45 ± 14	50 ± 13	<0.001
Φύλο, % άνδρες	42	45	58	<0.001
Κάπνισμα, πακετοέτη	362 ± 385	422 ± 420	617 ± 534	<0.001
Σωματικά δραστήριοι, %	48	43	33	<0.001
ΔΜΣ (kg/m^2)	24 ± 3.6	26 ± 4.5	28 ± 4.6	<0.001
Περίμετρος μέσης, cm	82 ± 13	90 ± 14	98 ± 14	<0.001
Πηλίκο περιμέτρου μέσης προς ισχίων	0.81 ± 0.10	0.86 ± 0.11	0.91 ± 0.12	<0.001
Πηλίκο περιμέτρου μέσης προς ύψος	0.48 ± 0.07	0.53 ± 0.08	0.58 ± 0.08	<0.001
Πηλίκο τριγλυκεριδίων προς HDL- χοληστερόλη	1.12 ± 0.34	2.12 ± 5.06	5.06 ± 4.05	<0.001
Εκπαίδευση (έτη σχολείου)	13 ± 3.4	12 ± 3.8	11 ± 3.9	<0.001
Υπέρταση, %ναι	21	32	43	<0.001
Σακχαρώδης διαβήτης, %ναι	2	4	13	<0.001
Υπερχοληστερολαιμία, %ναι	22	45	64	<0.001
Μεταβολικό Σύνδρομο, %ναι	28 ± 7	26 ± 7	24 ± 6	<0.001
Υπέρταση, %ναι	3	14	55	<0.001
CRP (mg/L)	1.36 ± 2.05	2.03 ± 2.53	2.65 ± 2.6	<0.001
IL-6 (ng/mL)	1.35 ± 0.39	1.47 ± 0.40	1.6 ± 0.43	<0.001
TNF-α (pg/mL)	5.44 ± 3.81	6.41 ± 4.75	7.22 ± 3.63	<0.001

Η πολυπαραγοντική ανάλυση που ακολούθησε εξείρεσε του δείκτες που κανονικά ανήκουν στην εξίσωση για τον υπολογισμό του VAI (ΔΜΣ, WC, TG και HDL) για να αποφευχθεί η πολυσυγγραμικότητα. Στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο αυτής της ανάλυσης συμπεριελήφθησαν δημογραφικά (ηλικία και ανδρικό φύλο), κλινικά (υπέρταση, διαβήτης, υπερχοληστερολαιμία) και αρκετά χαρακτηριστικά (κάπνισμα, φυσική δραστηριότητα, εκπαίδευση και προσκόλληση στη ΜΔ) που γενικά προβλέπουν καρδιαγγειακό κίνδυνο, όπως φαίνεται στον **Πίνακα 4.12**. Όταν ο VAI προστέθηκε, τα μοντέλα της λογιστικής παλινδρόμησης έδειξαν ότι συσχετιζόταν ανεξάρτητα με το δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο. Αξίζει να σημειωθεί ότι στο Μοντέλο 3, φαίνεται ότι αύξηση του σκορ VAI κατά 2.5 μονάδες, όσο περίπου η διαφορά στους μέσους όρους ανάμεσα στην ομάδα που εμφάνισε και δεν εμφάνισε ΚΝ, συσχετίστηκε με 13% αύξηση του δεκαετούς καρδιαγγειακού κινδύνου.

Πίνακας 4.12. Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης (ΣΛ, 95% ΔΕ) για τη συσχέτιση των αρχικών τιμών του δείκτη VAI των συμμετεχόντων της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ

Όλοι οι συμμετέχοντες	Σχετικός Λόγος (ΣΛ) [*] , 95% ΔΕ					
	Πλήρως προσαρμοσμένο Μοντέλο 1	Μοντέλο 2	Μοντέλο 3	Μοντέλο 4	Μοντέλο 5	Μοντέλο 6
Ηλικία (ανά 1 έτος)	1.06 (1.04-1.08)	1.08 (1.07-1.10)	1.06 (1.04-1.09)	1.06 (1.04-1.09)	1.05 (1.03-1.08)	1.06 (1.03-1.09)
Άνδρες έναντι γυναικών	1.66 (1.06-2.61)	2.03 (1.47-2.81)	2.29 (1.32-3.98)	2.07 (1.17-3.67)	1.99 (1.14-3.50)	1.94 (1.01-3.76)
VAI (ανά 1 μονάδα)	-	1.06 (1.02-1.09)	1.05 (1.01-1.10)	1.04 (1.00-1.09)	1.04 (1.00-1.09)	1.05 (1.00-1.11)
Καπνιστές vs. μη καπνιστές	1.00 (1.00-1.01)	-	1.00 (1.00-1.01)	1.00 (1.00-1.01)	1.00 (1.00-1.05)	1.00 (1.00-1.01)
Ελάχιστη φυσική δραστηριότητα	0.74 (0.49-1.11)	-	0.82 (0.51-1.32)	0.87 (0.52-1.43)	0.87 (0.53- 1.43)	0.63 (0.35-1.13)
Εκπαίδευση (έτη σχολείου)	0.98 (0.93-1.04)	-	0.98 (0.93-1.05)	0.97 (0.91-1.03)	0.97 (0.91-1.04)	0.95 (0.88-1.02)
MedDietScore (εύρος 0-55)	0.95 (0.92-0.99)	-	0.96 (0.92-1.01)	0.95 (0.91-1.00)	0.95 (0.91-0.99)	0.95 (0.91-1.00)
Υπέρταση (ναι/ όχι)	1.06 (0.71-1.60)	-	1.22 (0.77-1.94)	1.44 (0.89-2.32)	1.43 (0.88-2.31)	1.23 (0.71-2.14)
Σακχαρώδης διαβήτης (ναι/ όχι)	2.39 (1.33-4.29)	-	2.35 (1.18-4.70)	2.13 (1.02-4.43)	2.23 (1.08-4.62)	2.21 (0.91-5.39)
Υπερχοληστερολαιμ ία (ναι/ όχι)	1.33 (0.90-1.97)	-	1.43 (0.90-2.28)	1.32 (0.82-2.14)	1.32 (0.82-2.12)	1.67 (0.97-2.88)
CRP (mg/L)	-	-	-	1.12 (1.03-1.21)	-	-
IL-6 (ng/mL)	-	-	-	-	1.62 (0.92-2.86)	-
TNF-α (pg/mL)	-	-	-	-	-	1.10 (1.01-1.20)

Τέλος, για να συγκριθεί η προβλεπτική αξία του VAI στο δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο έναντι άλλων απλών ανθρωπομετρικών και λιπιδαιμικών δεικτών/ πηλίκων (κάποιοι εκ των οποίων περιλαμβάνονται στη φόρμουλα του VAI), εφαρμόστηκαν επιπλέον αναλύσεις που αντί για το VAI περιείχαν ΔΜΣ, WC, WHR, WHtR, TG/HDL-χοληστερόλη, αντίστοιχα. Ο **Πίνακας 4.13** παρουσιάζει τους ΣΛ και το 95% ΔΕ αυτών των μοντέλων, ενώ εφαρμόστηκε το Hosmer-Lemeshow test να συγκριθεί η προβλεπτική ικανότητα του VAI έναντι των υπόλοιπων μεταβλητών. Όπως φαίνεται ο VAI είχε καλύτερη προβλεπτική ικανότητα (ΣΛ=1.05, 95% ΔΕ: 1.01-1.10, -2Loglikelihood = 701). Παράλληλα, ο VAI φάνηκε να υπερέχει όλων των άλλων ανθρωπομετρικών δεικτών, περιλαμβάνοντας τη WC (ΣΛ=1.01, 95% ΔΕ: 0.99-1.02, -2Loglikelihood = 692), WHR (ΣΛ=2.71, 95% ΔΕ: 0.21-5.45, -2Loglikelihood = 690) και WHtR (ΣΛ=1.05, 95% ΔΕ: 1.01-1.10, -2Loglikelihood = 701) και TG/HDL πηλίκιο (ΣΛ=1.07, 95% ΔΕ: 1.01-1.14, -2Loglikelihood = 523).

Πίνακας 4.13 Αποτελέσματα από τις πρόσθετες λογιστικές παλινδρομήσεις που αναπτύχθηκαν για να εκτιμηθεί η προβλεπτική ικανότητα του VAI στο δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο (έκβαση) σε σύγκριση με άλλους ανθρωπομετρικούς δείκτες όπως Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ), περίμετρος μέσης (WC), πηλίκο περιμέτρου μέσης προς ισχίων (WtHR), πηλίκο περιμέτρου μέσης προς ύψος (WHR), πηλίκο τριγλυκεριδίων προς HDL-χοληστερόλη (TG/HDL-χοληστερόλη)

	Σχετικός Λόγος (ΣΛ)	95% ΔΕ	Hosmer and Lemeshow Goodness of fit test
Πλήρως σταθμισμένο Μοντέλο	-	-	704.29
Πλήρως σταθμισμένο Μοντέλο+ VAI	1.05	(1.01-1.10)	516.72
Πλήρως σταθμισμένο Μοντέλο+ ΔΜΣ	1.03	(0.99-1.08)	700.79
Πλήρως σταθμισμένο Μοντέλο+ WC	1.01	(0.99-1.02)	691.80
Πλήρως σταθμισμένο Μοντέλο+ WtHR	1.33	(0.18-9.98)	687.37
Πλήρως σταθμισμένο Μοντέλο+ WHR	2.71	(0.21-5.45)	690.42
Πλήρως σταθμισμένο Μοντέλο+ TG/HDL- χοληστερόλη	1.07	(1.01-1.14)	526.94

4.6.2. Δείκτης συσσώρευσης λίπους (Lipid Accumulation Product-LAP)

Με δεδομένα από την αρχική αξιολόγηση των συμμετεχόντων παρουσιάστηκε ότι ο LAP συσχετιζόταν θετικά στατιστικά σημαντικά με το ΔΜΣ, WC, WHR, WtHR, TG, ολική χοληστερόλη, επίπεδα γλυκόζης νηστείας, CRP, IL-6 και TNF-α ($\rho = 0.488, 0.624, 0.515, 0.075, 0.897, 0.343, 0.281, 0.189, 0.225$ και 0.221 αντίστοιχα; όλες οι τιμές $p < 0.001$), ενώ αποδείχθηκε ότι συσχετιζόταν αντίστροφα με την HDL-χοληστερόλη ($\rho = -0.318$; $p < 0.001$). Ακόμα και όταν η ανάλυση διαστρωματοποιήθηκε ανά φύλο αυτές οι συσχετίσεις παρέμειναν σημαντικές σε άνδρες και γυναίκες.

Ο μέσος όρος των τιμών του LAP με τα αρχικά δεδομένα ήταν 69% υψηλότερος στην ομάδα των ατόμων που εμφάνισαν κάποιο καρδιαγγειακό επεισόδιο μέσα στη δεκαετία σε σχέση με όσους παρέμειναν υγιείς από ΚΝ ($p < 0.001$). Στη συνέχεια το σκορ LAP διαιρέθηκε σε τριτημόρια (< 19 ; $19-44$; $> 44 \text{ cm} \cdot \text{mmol/L}$) πάνω στα οποία υπολογίστηκαν τα αρχικά χαρακτηριστικά του δείγματος. Τα κομβικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων της μελέτης σύμφωνα με τα τριτημόρια του LAP εμφανίζονται στον **Πίνακα 4.14**. Η ηλικία των εθελοντών και οι πιθανότητες αρχικής εμφάνισης υπέρτασης, σακχαρώδους διαβήτη, υπερχοληστερολαιμίας και μεταβολικού συνδρόμου αυξάνονταν κατά μήκος των τριτημορίων LAP, με τους συμμετέχοντες που ανήκαν στο χαμηλότερο τριτημόριο LAP να είναι νεαρότεροι και να έχουν λιγότερες πιθανότητες εμφάνισης παραγόντων κινδύνου ΚΝ ($p < 0.001$). Επιπρόσθετα, οι συμμετέχοντες που ανήκαν στο χαμηλότερο τριτημόριο LAP ήταν κυρίως γυναίκες, που κάπνιζαν λιγότερο, ήταν περισσότερο φυσικά δραστήριες και προσκολλούνταν στενότερα στη ΜΔ (MedDietScore) έχοντας μικρότερο ΔΜΣ, WC, WHR και WtHR (όλες οι τιμές $p < 0.001$).

Η συσχέτιση ανάμεσα στις τιμές LAP έτσι όπως εκτιμήθηκαν κατά την αρχική αξιολόγηση των συμμετεχόντων και τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ εξετάστηκε περαιτέρω με την πολυπαραγοντική ανάλυση. Λόγω πολυσυγγραμικότητας, εξαιρέθηκαν οι μεταβλητές που ανήκουν στη φόρμουλα του LAP (TG, WC).

Πίνακας 4.14. Εκτίμηση καρδιαγγειακών επεισοδίων κατά το 10ετές follow-up της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ, μαζί με την ανάλυση αρχικών χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων ($n=2020$) ανά τριτημόρια του LAP (LAP τριτημόρια: <19; 19-44; >44cm·mmol/L)

	Τριτημόρια LAP			
	1 ^ο	2 ^ο	3 ^ο	P
Εμφάνιση ΚΝ, %ναι	5	14	25	<0.001
Αρχικά χαρακτηριστικά				
Ηλικία, έτη	36 ± 11	46 ± 13	50 ± 13	<0.001
Φύλο, % άνδρες	27	53	67*	<0.001
Κάπνισμα, πακετοέτη	304 ± 316	482 ± 487	644 ± 550	<0.001
Σωματικά δραστήριοι, %	49	40	36	<0.001
MedDietScore (εύρος 0-55)	29 ± 7.2	25 ± 5.8	24 ± 5.9	<0.001
Εκπαίδευση (έτη σχολείου)	13 ± 3.2	12 ± 3.7	11 ± 4.0	<0.001
ΔΜΣ (kg/m ²)	23 ± 2.7	26 ± 3.4	30 ± 4.4	<0.001
Περίμετρος μέσης, cm	76 ± 8.6	92 ± 9.1	103 ± 13	<0.001
Πηλίκο περιμέτρου μέσης προς ισχίων	0.78 ± 0.08	0.87 ± 0.08	0.93 ± 0.10	<0.001
Πηλίκο περιμέτρου μέσης προς ύψος	0.52 ± 0.05	0.54 ± 0.05	0.60 ± 0.07	0.007
Μεταβολικό Σύνδρομο, %ναι	1	12	53	<0.001
Υπέρταση, %ναι	11	31	46	<0.001
Σακχαρώδης διαβήτης, %ναι	1	3	14	<0.001
Υπερχοληστερολαιμία, %ναι	18	43	65	<0.001
CRP (mg/L)	1.01, 1.08-2.56	1.08, 1.05-2.69	1.80, 1.10-2.80	<0.001
IL-6 (ng/mL)	1.3 ± 0.36	1.5 ± 0.4	1.6 ± 0.4	<0.001
TNF-α (pg/mL)	5.9, 2.9-4.6	6.1, 3.0-7.0	7.8, 2.6-8.1	<0.001

Αρχικά μελετήθηκαν τυπικά δημογραφικά (φύλο, ηλικία, εκπαίδευση), συμπεριφοριστικά (κάπνισμα, φυσική δραστηριότητα, προσκόλληση στη ΜΔ) και κλινικά χαρακτηριστικά (υπέρταση, διαβήτης, υπερχοληστερολαιμία) που εμφανίζουν γνωστές συσχετίσεις με την μακροπρόθεσμη εμφάνιση καρδιαγγειακού επεισοδίου και διαμόρφωσαν το Βασικό Μοντέλο 1. Στο σταθμισμένο για το φύλο και την ηλικία Μοντέλο 2, οι τιμές LAP ήταν στατιστικά σημαντικά συσχετισμένες με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ. Συνεπώς, προστέθηκε και ο LAP στο Βασικό Μοντέλο 1, δείχνοντας ότι οι τιμές LAP έτσι όπως υπολογίστηκαν με τα αρχικά δεδομένα

εμφάνιζαν μία θετική στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ ακόμα και όταν συμπεριελήφθησαν όλοι οι γνωστοί παράγοντες κινδύνου για ΚΝ (Μοντέλο 3). Στο τελευταίο μοντέλο, αύξηση των αρχικών τιμών του LAP κατά 10 μονάδες συσχετίστηκε με 11% αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Επιπλέον, με σκοπό να εξεταστεί η πιθανή διαμεσολαβητική επίδραση φλεγμονωδών δεικτών στη σχέση LAP και δεκαετούς επίπτωσης ΚΝ, στο Μοντέλο 3 προστέθηκαν ξεχωριστά και διαδοχικά οι CRP, IL-6 και TNF-α σχηματίζοντας τα αντίστοιχα Μοντέλα 4, 5 και 6 (**Πίνακας 4.15**).

Τέλος, για να συγκριθεί η προβλεπτική αξία του LAP στο δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο έναντι άλλων απλών ανθρωπομετρικών και λιπιδαιμικών δεικτών/ πηλίκων (κάποιοι εκ των οποίων περιλαμβάνονται στη φόρμουλα του LAP όπως WC ή τα TG νηστείας), εφαρμόστηκαν επιπλέον αναλύσεις που αντί για το LAP περιείχαν ΔΜΣ, WHR, WHtR, αντίστοιχα. Ο **Πίνακας 4.16** παρουσιάζει τους ΣΛ και το 95% ΔΕ αυτών των μοντέλων, ενώ εφαρμόστηκε το Hosmer-Lemeshow test να συγκριθεί η προβλεπτική ικανότητα του LAP έναντι των υπόλοιπων μεταβλητών. Όπως φαίνεται ο LAP φάνηκε να υπερέχει όλων των άλλων ανθρωπομετρικών δεικτών, όπως ΔΜΣ, WHR και WHtR.

Πίνακας 4.15. Αποτελέσματα της λογιστικής παλινδρόμησης (ΣΛ, 95% ΔΕ) για τη συσχέτιση των αρχικών τιμών του δείκτη LAP των συμμετεχόντων της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ

Όλοι οι συμμετέχοντες	Σχετικός Λόγος (ΣΛ), 95% ΔΕ					
	Βασικό Μοντέλο 1	Μοντέλο 2	Μοντέλο 3	Μοντέλο 4	Μοντέλο 5	Μοντέλο 6
Ηλικία (ανά 1 έτος)	1.06 (1.04-1.08)	1.08 (1.07-1.09)	1.06 (1.04-1.08)	1.06 (1.04-1.08)	1.05 (1.03-1.08)	1.06 (1.03-1.08)
Άνδρες έναντι γυναικών	1.66 (1.06-2.61)	1.86 (1.36-2.55)	1.81 (1.10-3.01)	1.70 (1.01-2.88)	1.65 (0.98-2.77)	1.38 (0.76-2.52)
LAP (ανά 1 μονάδα)	-	1.04 (1.00-1.08)	1.10 (1.05-1.15)	1.11 (1.04-1.19)	1.18 (1.09-1.27)	1.21 (1.11-1.31)
Καπνιστές vs. μη καπνιστές	1.00 (1.00-1.01)	-	1.00 (1.00-1.01)	1.00 (1.00-1.01)	1.00 (1.00-1.01)	1.00 (1.00-1.01)
Ελάχιστη φυσική δραστηριότητα	0.74 (0.49-1.11)	-	0.75 (0.48-1.18)	0.79 (0.49-1.26)	0.80 (0.50- 1.28)	0.63 (0.36-1.08)
Εκπαίδευση (έτη σχολείου)	0.98 (0.93-1.04)	-	0.98 (0.93-1.04)	0.97 (0.91-1.03)	0.97 (0.91-1.03)	0.95 (0.88-1.02)
MedDietScore (εύρος 0-55)	0.95 (0.92-0.99)	-	0.97 (0.93-1.01)	0.96 (0.92-1.00)	0.96 (0.92-0.99)	0.97 (0.92-1.02)
Υπέρταση (ναι/ όχι)	1.06 (0.71-1.60)	-	1.17 (0.75-1.81)	1.36 (0.86-2.15)	1.34 (0.85-2.11)	1.23 (0.72-2.08)
Σακχαρώδης διαβήτης (ναι/ όχι)	2.39 (1.33-4.29)	-	2.15 (1.11-4.18)	1.84 (0.91-3.74)	1.96 (0.97-3.93)	2.01 (0.87-4.67)
Υπερχοληστερολαιμία (ναι/ όχι)	1.33 (0.90-1.97)	-	1.43 (0.92-2.22)	1.34 (0.84-2.13)	1.35 (0.85-2.12)	1.45 (0.86-2.42)
CRP (mg/L)	-	-	-	1.10 (1.02-1.19)	-	-
IL-6 (ng/mL)	-	-	-	-	1.49 (0.86-2.59)	-
TNF-α (pg/mL)	-	-	-	-	-	1.13 (1.05-1.22)

Πίνακας 4.16. Αποτελέσματα από τις πρόσθετες λογιστικές παλινδρομήσεις που αναπτύχθηκαν για να εκτιμηθεί η προβλεπτική ικανότητα του LAP στο δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο (έκβαση) σε σύγκριση με άλλους ανθρωπομετρικούς δείκτες όπως Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ), περίμετρος μέσης (WC), πηλίκο περιμέτρου μέσης προς ισχίων (WtHR), πηλίκο περιμέτρου μέσης προς ύψος (WHR)

	Σχετικός Λόγος (ΣΛ)	95% ΔΕ	-2logL	AUC (95%CI)
Βασικό Μοντέλο 1	-	-	704	0.80 (0.77-0.83)
Βασικό Μοντέλο 1 + LAP (ανά 1 cm·mmol/L)	1.01	(1.00-1.01)	584	0.84 (0.78-0.89)
Βασικό Μοντέλο 1 + WC (ανά 1 cm)	1.01	(0.99-1.02)	692	0.81 (0.76-0.85)
Βασικό Μοντέλο 1 + TG νηστείας (ανά 1 mg/dL)	1.00	(1.00-1.01)	592	0.82 (0.78-0.85)
Βασικό Μοντέλο 1 + ΔΜΣ (ανά 1 kg/m ²)	1.03	(0.99-1.08)	701	0.80 (0.76-0.86)
Βασικό Μοντέλο 1 + WtHR (ανά 1 μονάδα)	1.33	(0.18-9.98)	687	0.80 (0.74-0.86)
Βασικό Μοντέλο 1 + WHR (ανά 1 μονάδα)	2.71	(0.21-5.45)	690	0.80 (0.76-0.83)

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν να μελετηθεί η αλληλεπίδραση κλινικών, μεταβολικών δεικτών και διατροφικών παραμέτρων στην εξέλιξη της αθηρωματικής νόσου σε αντιπροσωπευτικό, επαρκές και τυχαίο δείγμα του ελληνικού πληθυσμού. Από την παρούσα διατριβή προέκυψαν τα παρακάτω συμπεράσματα:

- Η αντιφλεγμονώδης διατροφή, εκφραζόμενη από μεγαλύτερα D-AII σκορ, συσχετίστηκε με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ, γεγονός που επιβεβαιώθηκε και σε άτομα που δεν είχαν αρχικά διαγνωσθεί με μεταβολικό σύνδρομο.
- Η κατανάλωση καφέ εμφάνισε παραβολική συσχέτιση (J-shaped) με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ. Πιο συγκεκριμένα, άτομα που κατανάλωναν μειωμένη (<150 ml/ ημέρα) και μέτρια ποσότητα καφέ (150-250 ml/ ημέρα) είχαν 56% και 51% αντίστοιχα μικρότερο καρδιαγγειακό κίνδυνο, ενώ τα άτομα που έπιναν ακόμα περισσότερο καφέ (>150-250 ml/ ημέρα) διέτρεχαν 2.5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο σε σχέση με άτομα που δεν έπιναν καθόλου καφέ.
- Η μειωμένη προς μέτρια κατανάλωση κρασιού/ μπύρας (≤ 1 ποτήρι/ εβδομάδα) παρουσίασε αντίστροφη συσχέτιση με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ.
- Το μέγεθος επίδρασης της μειωμένης κατανάλωσης κρασιού και μπύρας έναντι της ΚΝ ήταν ισοδύναμο.
- Παρατηρήθηκε παραβολική συσχέτιση (J-shaped) ανάμεσα στην κατανάλωση αιθανόλης και του καρδιαγγειακού κινδύνου.
- Η φλεγμονή φάνηκε να διαμεσολαβεί της σχέσης μεταξύ κατανάλωσης κρασιού/ μπύρας και δεκαετούς επίπτωσης ΚΝ.
- Η αποκλειστική χρήση ελαιόλαδου συσχετίστηκε αντίστροφα με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ, ενώ το ινωδογόνο φάνηκε να διαμεσολαβεί αυτής της σχέσης.
- Ο μεταβολικός δείκτης VAI παρουσίασε μία ανεξάρτητη και θετική συσχέτιση με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ, λαμβάνοντας υπόψη κλασικούς συγγυτικούς παράγοντες.
- Ο VAI αποδείχθηκε στατιστικά σημαντικός προβλεπτικός δείκτης ανίχνευσης καρδιαγγειακού κινδύνου στους άνδρες και όχι στις γυναίκες.
- Ο δείκτης LAP φάνηκε να συσχετίζεται με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ σε ενήλικες χωρίς κάποιο προϋπάρχον καρδιαγγειακό νόσημα.
- Ο LAP συσχετίστηκε με το μακροχρόνιο καρδιαγγειακό κίνδυνο ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες κινδύνου για ΚΝ. Επίσης, αποτελεί καλύτερο προβλεπτικό δείκτη για τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ από το ΔΜΣ, WC, WHR και WHtR

Παρ όλους τους μεθοδολογικούς περιορισμούς που κρύβει μια προοπτική επιδημιολογική μελέτη, τα ανωτέρω αποτελούν σημαντική πληροφορία για την κατανόηση του ρόλου της διατροφής και διαφόρων μεταβολικών δεικτών στον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου σε ένα μεγάλο και αντιπροσωπευτικό δείγμα ενηλίκων ανδρών και γυναικών, χωρίς αρχικά διαγνωσμένη ΚΝ.

5.1 Ο ρόλος της αντιφλεγμονώδους διατροφής στην εμφάνιση ΚΝ

Η παραδοσιακή ΜΔ, πλούσια σε φρούτα, λαχανικά, όσπρια, ξηρούς καρπούς και προϊόντα ολικής άλεσης και άμεσα συνδεδεμένη με τη μέτρια κατανάλωση ελαιόλαδου/ αλκοόλ (κυρίως με γεύματα) και τη μειωμένη κατανάλωση κόκκινου κρέατος έχει αποδεδειγμένες αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες (*Tangney CC et al. 2011; Giugliano D et al. 2006*). Συγκεκριμένα θρεπτικά συστατικά όπως ω-3 που αφθονούν στα ψάρια, πολυφαινόλες από το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο αλλά και αντιοξειδωτικά (β-καροτένιο, βιταμίνη Ε, βιταμίνη C, φλαβονοειδή) από φρούτα και λαχανικά έχουν συστηματικά συσχετιστεί με χαμηλότερα επίπεδα φλεγμονής (*Calabriso N et al. 2016, van Herpen-Broekmans WM et al. 2004*). Η έννοια «αντιφλεγμονώδους» διατροφή έχει μελετηθεί έμμεσα από πολλές μελέτες που ασχολήθηκαν με τη ΜΔ. Τα αποτελέσματα της διατριβής αυτής έδειξαν ότι το επίπεδο προσκόλλησης σε μια αντιφλεγμονώδη δίαιτα, και όχι κατ' ανάγκη στο Μεσογειακό διατροφικό πρότυπο, όπως αντικατοπτρίζεται από τα υψηλότερα επίπεδα του σκορ του δείκτη D-AII, συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ. Η τελευταία σχέση παρέμεινε στατιστικά σημαντική λαμβάνοντας υπόψη ένα μεγάλο εύρος παραγόντων (κλινικών, βιοχημικών και συμπεριφοριστικών) κινδύνου για το σύνολο του δείγματος αλλά και μεταξύ των συμμετεχόντων που δεν είχαν αρχικά διαγνωσθεί με μεταβολικό σύνδρομο. Επομένως θα μπορούσε να υποτεθεί ότι η αθηροσκλήρωση είναι μια ήπιας φλεγμονής διαταραχή και από τη στιγμή που η εδραίωση ενός φλεγμονώδους περιβάλλοντος αποτελεί έδαφος τόσο για την ανάπτυξη ΚΝ όσο και για την ανάπτυξη μεταβολικού συνδρόμου, η αυξημένη κατανάλωση αντιοξειδωτικών (φρούτα, λαχανικά, φυτικές ίνες) μπορεί να τροποποιήσει την αναφερθείσα σχέση μετριάζοντας αυτή τη συστηματική φλεγμονώδη διεργασία. Το γεγονός ότι κάτι αντίστοιχο δεν παρατηρήθηκε σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο ενδεχομένως να σημαίνει ότι και άλλοι συγχυτικοί παράγοντες πρέπει να ληφθούν υπόψιν. Σε αυτά τα άτομα οι αθηροσκληρωτικοί μηχανισμοί έχουν ξεκινήσει από νωρίς γεγονός που μπορεί να έχει επηρεάσει την επίδραση της αντιφλεγμονώδους δίαιτας στον καρδιαγγειακό κίνδυνο, χωρίς όμως να αποκλείεται το δυνητικό της όφελος καθότι τυχαιοποιημένες μελέτες, ακόμα και σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο (π.χ. η παλαιότερη Lyon Heart Study, και η πιο πρόσφατη PREDIMED) έχουν δείξει κάτι αντίστοιχο. Πιο συγκεκριμένα, η τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη PREDIMED εκτίμησε την μακροπρόθεσμη επίδραση της ΜΔ στην επίπτωση ΚΝ σε άτομα που έπασχαν από μεταβολικό σύνδρομο και τα οποία τυχαιοποιήθηκαν σε τρεις διατροφικές παρεμβάσεις: ΜΔ εμπλουτισμένη με παρθένο ελαιόλαδο, ΜΔ εμπλουτισμένη σε ξηρούς καρπούς και δίαιτα μειωμένου λίπους με ταυτόχρονη συμβουλευτική από ειδικούς (ομάδα ελέγχου). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι δύο πρώτες παρεμβάσεις αντέστρεφαν το αρχικά διαγνωσμένο μεταβολικό σύνδρομο, μειώνοντας την κεντρική παχυσαρκία και την υπεργλυκαιμία (*Babio N et al. 2014*). Επομένως ακόμα και για τα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο (κατάσταση που

εξ'ορισμού τα εκθέτει σε αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο), η αυξημένη προσκόλληση σε μια αντιφλεγμονώδη διατροφή όπως εξασφαλίζεται από τη στενή παρακολούθηση μια κλινικής δοκιμής (συχνή αξιολόγηση, συνεντεύξεις με διαιτολόγους), μπορεί να προκύψουν θετικά αποτελέσματα.

Αναφορικά με την προστατευτική επίδραση της αντιφλεγμονώδους διατροφής τα ευρήματά μας βρίσκονται σε συμφωνία με προοπτικές μελέτες που έχουν μελετήσει τη σχέση μεταξύ αντιφλεγμονωδών διαιτών και κινδύνου για ΚΝ. Δύο από αυτές περιλαμβάνουν τις ισπανικές μελέτες PREDIMED (*Garcia-Arellano A et al. 2015*) και SUN (*Ramallal R et al. 2015*), που εξέτασαν τεταρτημόρια D-AI και κατέληξαν σε μια ισχυρή γραμμική δόσοεξαρτώμενη συσχέτιση μεταξύ σκορ του δείκτη D-AI και καρδιαγγειακού κινδύνου. Μία άλλη μελέτη, που πραγματοποιήθηκε στη Γαλλία το 2016, η SU.VI.MAX, διερεύνησε τη σχέση μιας αντιφλεγμονώδους διατροφής με διαφορετικά είδη ΚΝ και κατέληξε στο ότι μια προφλεγμονώδους διατροφή συσχετιζόταν με αυξημένο κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου (*Neufcourt L et al. 2016*).

Η χρόνια φλεγμονή φαίνεται να αποτελεί μηχανισμός-κλειδί που αιτιολογεί την παθογένεση και την εξέλιξη της αθηρωματικής νόσου. Είναι ευρέως γνωστό ότι η διατροφή διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη χρόνια φλεγμονή. Μια αντιφλεγμονώδους διατροφή έχει περιγραφεί στο πλαίσιο μιας δίαιτας που προσομοιάζει στη ΜΔ, που είναι πλούσια σε φρούτα, λαχανικά, ολικής άλεσης προϊόντα και ψάρια, χαρακτηρίζεται από μέτρια κατανάλωση ελαιόλαδου και αλκοόλ και χαμηλή κατανάλωση κόκκινου κρέατος και γλυκών. Επιπρόσθετα, δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε μικροθρεπτικά συστατικά όπως ω-3 λιπαρά οξέα, βιταμίνη C, βιταμίνη E, β-καροτένιο και μαγνήσιο μπορούν να προστεθούν στο πλαίσιο μιας αντιφλεγμονώδους διατροφής. Η πιθανή ευεργετική επίδραση των φρούτων και των λαχανικών βασίζεται στο πλήθος των αντιοξειδωτικών όπως βιταμίνες και φλαβονοειδή που συμβάλλουν στο προστατευτικό τους αποτέλεσμα. Μηχανισμοί που αναδεικνύουν το όφελος από την κατανάλωση φυτικών ινών στη φλεγμονή φαίνεται να σχετίζονται με τη μειωμένη παραγωγή ελεύθερων ριζών, μείωση της υπερλιπιδαιμίας και της υπέρτασης, αναστέλλοντας την απορρόφηση των λιπαρών οξέων, απλών υδατανθράκων και τοξινών. Επιπλέον τα ω-3 λιπαρά οξέα, που βρίσκονται στα ψάρια μπορούν να αναστείλουν την παραγωγή πρωτεϊνών φλεγμονής (IL-6, CRP) και να μειώσουν την έκφραση μορίων συγκόλλησης στο ενδοθήλιο. Τα δεδομένα αυτά σχετικά με την αυξημένη κατανάλωση συγκεκριμένων αντιφλεγμονωδών τροφίμων έναντι του καρδιαγγειακού κινδύνου μπορεί να ενθαρρύνουν την κατανάλωση μεμονωμένων θρεπτικών συστατικών, χωρίς το πρόσθετο όφελος που μπορεί να προσφέρει ένα αντιφλεγμονώδες διατροφικό πρότυπο στην ολότητά του. Έτσι αποτελεί πρόκληση να γίνει κατανοητή η δράση της αντιφλεγμονώδους διατροφής αναφορικά με τα χρόνια νοσήματα από τη στιγμή που τα αντιοξειδωτικά συστατικά δρουν

συνεργιστικά ή πρόσθετα στο ρόλο της για να ρυθμίσουν το πλήθος των διεργασιών που σχετίζονται με αυτά τα νοσήματα.

5.2 Ο ρόλος της κατανάλωσης καφέ και αλκοόλ στην εμφάνιση ΚΝ

Από το 2000 η σχέση της κατανάλωσης καφέ με την ΚΝ, την εμφάνιση διαβήτη αλλά και κάποιες ακόμα μεταβολικές διαταραχές, έχει ήδη μελετηθεί στη βιβλιογραφία, με ποικίλα και πολλές φορές αντικρουόμενα αποτελέσματα. Πρόσφατη μελέτη κοορτής από τους *Liu et al.* έδειξε ότι η κατανάλωση καφέ (4 φλιτζάνια/ ημέρα) συσχετίστηκε με αυξημένη θνησιμότητα, σχέση που δεν είχε ισχύ σε άτομα ηλικίας 55 ετών (*Liu J et al. 2013*), ενώ η μελέτη EPIC ανέφερε ότι η κατανάλωση καφέ δε συνδεόταν με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο (*Floegel A et al. 2012*). Σε αυτό το πλαίσιο, το 2014 μετανάλυση από 21 προοπτικές μελέτες και 997.464 εθελοντές (121.915 θάνατοι) ανέδειξε μία μη-γραμμική δοσοεξαρτώμενη σχέση ανάμεσα στον καφέ και την καρδιαγγειακή θνησιμότητα τονίζοντας ότι οι μέγιστες μειώσεις του κινδύνου παρουσιάζονταν στην κατανάλωση 3 φλιτζανιών καφέ ημερησίως (21% μειωμένος κίνδυνος) (*Crippa A et al 2014*). Η παρούσα μελέτη ανέδειξε μια παραβολική σχέση ανάμεσα στην κατανάλωση καφέ και τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ. Συγκεκριμένα, μειωμένη προς μέτρια κατανάλωση καφέ (150-250 ml/ ημέρα) συσχετίστηκε με 56% και 51% μειωμένο καρδιαγγειακό κίνδυνο αντίστοιχα σε σχέση με την πλήρη αποχή. Αντίθετα η αυξημένη κατανάλωση καφέ (>250 ml/ ημέρα) συσχετίστηκε με 2.5 φορές αύξηση του κινδύνου, ανεξαρτήτου παραγόντων κινδύνου. Αν και δεν αναγνωρίστηκαν φλεγμονώδεις δείκτες ως πιθανοί διαμεσολαβητές αυτής της σχέσης, η καθημερινή κατανάλωση 1-2 φλιτζανιών καφέ φάνηκε να έχει προστατευτική επίδραση και σε άτομα που δεν είχαν αρχικά διαγνωσθεί με μεταβολικό σύνδρομο, όχι όμως και σε άτομα που έπασχαν, γεγονός που δηλώνει ότι πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν και άλλοι παράγοντες που πιθανόν να ρυθμίζουν αυτή τη σχέση.

Πιθανοί μηχανισμοί που δικαιολογούν την αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ κατανάλωσης καφέ και καρδιαγγειακού κινδύνου σχετίζονται με το ότι ο καφές είναι πηγή αντιοξειδωτικών που επηρεάζουν το οξειδωτικό στρες και τη λειτουργία του ενδοθηλίου. Ανισορροπία στην αντιοξειδωτική άμυνα και παραγωγή ελευθέρων ριζών μπορούν να συνεισφέρουν στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Κατά τη φλεγμονή παράγονται από την NADPH οξειδάση, ρίζες υπεροξειδίου (O_2^-) που με τη σειρά τους οδηγούν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών και τη γενίκευση της κατάστασης του οξειδωτικού στρες. Τα χλωρογενικά οξέα που είναι διαθέσιμα στον καφέ αποτελούν μία ομάδα φαινολών με μεγάλη βιοδιαθεσιμότητα. Μάλιστα παίζουν σημαντικό ρόλο στην αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος σε υγιείς ενήλικες, μειώνοντας τον κίνδυνο για αθηροσκλήρωση (*Lockyer S et al. 2016; Agudelo-Ochoa GM et al. 2016*). Πάραυτα, η καφεΐνη σε αυξημένες συγκεντρώσεις έχει συσχετιστεί με οξεία αύξηση της αρτηριακής πίεσης και της εξαρτώμενης από το ενδοθήλιο αγγειοδιαστολής. Παράλληλα, η

μακροχρόνια αυξημένη κατανάλωση καφέ έχει συσχετιστεί με την υπέρταση (Mesas AE et al. 2011).

Μια πρόσφατη μετανάλυση προοπτικών μελετών κατέληξε ότι μέτρια κατανάλωση καφέ (3-5 φλιτζάνια/ ημέρα) συσχετιζόταν αντίστροφα με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο, ενώ δεν φάνηκε κάτι αντίστοιχα για την αυξημένη κατανάλωση, αναδεικνύοντας μια U-shaped σχέση (Ding M et al. 2014). Είτε η παραβολική συσχέτιση U-shaped είτε η J-shaped μπορούν να βασίζονται στην παρασκευή του καφέ: σε αυξημένες συγκεντρώσεις κατανάλωσης καφέ, η πρόσληψη αθηρογόνων λιπιδίων από τον καφέ μπορεί να υπερβεί την ευεργετική δράση των άλλων του συστατικών.

Όσο αφορά στην κατανάλωση αλκοόλ, φάνηκε μια παραβολική σχέση (J-shaped) ανάμεσα στην μέση ποσότητα κατανάλωσης κρασιού και μπύρας και την καταγραφόμενη δεκαετή επίπτωση ΚΝ, επισημαίνοντας την πιθανή αντίστροφη συσχέτιση χαμηλής προς μέτριας κατανάλωσης έναντι της αυξημένης κατανάλωσης αλκοόλ και αποχής με την επίπτωση ΚΝ. Ειδικότερα, οι προς μελέτη ομάδες που κατανάλωναν μέτρια κρασί και μπύρα διέτρεχαν 60% και 57% λιγότερο κίνδυνο, αντίστοιχα, εμφάνισης ΚΝ σε σχέση με τα άτομα που ανήκαν σε ομάδες που απείχαν τελείως, ενώ σε άτομα που υπερέβαιναν την κατανάλωση δύο ποτηριών κρασιού ή μπύρας ανά εβδομάδα δε φάνηκε κάποια συσχέτιση. Τέλος, φάνηκε και ο διαμεσολαβητικός ρόλος της φλεγμονής στην παραπάνω σχέση (CRP, IL-6, HDL-χοληστερόλη και TG).

Μία σειρά μηχανισμών έχει προταθεί με σκοπό να εξηγήσει την αντίστροφη συσχέτιση της μέτριας κατανάλωσης αλκοόλ με την ΚΝ, περιλαμβάνοντας πιθανή ωφέλιμη σύνδεση με εγκατεστημένους παράγοντες κινδύνου για ΚΝ (δλδ στην υπεργλυκαιμία και στο αθηρογενές λιπιδαιμικό προφίλ με αυξημένα επίπεδα LDL-χοληστερόλης, TG και μειωμένα επίπεδα HDL-χοληστερόλης) και στις διαδικασίες θρομβόλυσης/ ινωδονόλυσης (Poli A et al. 2013; Katsiki N et al. 2014; Arranz S et al. 2012). Η μειωμένη προς μέτρια κατανάλωση αλκοόλ μπορεί να εκθέτει αντίστροφη συσχέτιση με την ΚΝ αυξάνοντας τα επίπεδα της HDL-χοληστερόλης και την ινσουλινοευαισθησία, μειώνοντας την συγκόλληση των αιμοπεταλίων και τα επίπεδα του ινωδογόνου, αποτελέσματα που αποδίδονται στην περιεχόμενη αιθανόλη. Επιπρόσθετα, φαίνεται ότι το κρασί παρουσιάζει ευεργετικές ιδιότητες, ανεξάρτητα από την παρουσία αλκοόλ, που αποδίδονται κυρίως στο φαινολικό περιεχόμενό του (Chrysoshoou C et al. 2003; Klatsky AL 2015). Έτσι, δράσεις κατά της αθηροσκλήρωσης και της θρόμβωσης, όπως και η ρύθμιση της ενδοθηλιακής λειτουργίας (π.χ. καλύτερη απελευθέρωση νιτρικού οξέος) φαίνεται να σχετίζονται κυρίως στο μη αλκοολικό περιεχόμενο των ποτών (κυρίως πολυφαινόλες), που παρίστανται τόσο στο κρασί όσο και στη μπύρα (Sacanella E et al. 2007). Η αναστολή της επαγωγής σύνθεσης του νιτρικού οξέος διαμεσολαβείται από την ξανθοχουμόλη, η οποία φαίνεται να έχει αντιφλεγμονώδη επίδραση αναστέλλοντας

την ενδογενή σύνθεση της προσταγλανδίνης E2 μέσω της κυκλοοξυγενάσης 2 (COX-2), που επάγεται από τον TNF-α (Chiva-Blanch G et al. 2015).

Στις αρχές του 2010, δημοσιευμένη μετανάλυση επιβεβαίωσε τα προαναφερθέντα αναδεικνύοντας την παραβολική συσχέτιση (J-shaped) ανάμεσα στην κατανάλωση κρασιού και τον καρδιαγγειακό κίνδυνο, ενώ παράλληλα αποκάλυψε μια παρόμοια με την κατανάλωση κρασιού, παραβολική συσχέτιση μεταξύ μπύρας και καρδιαγγειακού κινδύνου (Costanzo S et al. 2011). Άρα τα ευρήματά μας βρίσκονται σε συμφωνία με την παραπάνω μετανάλυση, προτείνοντας μία παρεμφερή αντίστροφη συσχέτιση με την ΚΝ τόσο του κρασιού όσο και της μπύρας σε συγκρίσιμες δόσεις αλκοόλ.

5.3 Ο ρόλος της κατανάλωσης ελαιόλαδου στην εμφάνιση ΚΝ

Το ελαιόλαδο είναι το κύριο χαρακτηριστικό της ΜΔ και ίσως ο βασικότερος συντελεστής της ιδιαίτερης καρδιοπροστατευτικής της δράσης. Μελέτες όπως η EPIC αναφορικά με το ελαιόλαδο έχει δείξει ότι στην Ισπανία η συνολική πρόσληψη ελαιόλαδου συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο για στεφανιαία νόσο, ολική και καρδιαγγειακή θνησιμότητα (Buckland G et al. 2012). Παρόμοια, η τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη PREDIMED έδειξε ότι η εμπλουτισμένη με παρθένο ελαιόλαδο ΜΔ μειώνει την επίπτωση των καρδιαγγειακών επεισοδίων και τη θνησιμότητα σε εθελοντές αυξημένου κινδύνου (Guasch-Ferré M et al. 2014). Παράλληλα, μελέτη ασθενών-μαρτύρων που διεξήχθη στην Ελλάδα ανέφερε ότι η αποκλειστική χρήση ελαιόλαδου παρουσιάζει σημαντικά ευεργετικά αποτελέσματα έναντι των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων (Kontogianni MD et al. 2007). Στο μεγάλο δείγμα αυτής της προοπτικής μελέτης ατόμων χωρίς ΚΝ, αποδείχθηκε μια αντίστροφη στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην αποκλειστική χρήση/ κατανάλωση του ελαιόλαδου και της δεκαετούς επίπτωσης ΚΝ. Μάλιστα, τα αναφερόμενα αποτελέσματα προτείνουν περαιτέρω ότι το ινωδογόνο, που αποτελεί παράγοντα πήξης με πιθανή προφλεγμονώδη δράση στο αγγειακό τοίχωμα, μπορεί να διαμεσολαβεί αυτής της προστατευτικής επίδρασης. Το γεγονός ότι το ινωδογόνο αντανakλά αγγειακή βλάβη, μπορεί μερικώς να εξηγηθεί από τα παρόντα αποτελέσματα, λόγω έλλειψης διαμεσολάβησης από τους υπόλοιπους φλεγμονώδους δείκτες.

Η ευεργετική επίδραση από το ελαιόλαδο αποδίδεται κυρίως στην αυξημένη περιεκτικότητά του σε MUFA (κυρίως το ελαϊκό οξύ), αν και άλλα συστατικά/ ενώσεις που περιέχονται σε μικρότερο βαθμό όπως μόρια λιπιδίων (σκουαλένιο, τοκοφερόλες) και φαινόλες (υδροξυτυροσόλη, ελεωρωπαίνη) έχουν σημαντικές ιδιότητες. Αυτό έχει μεγάλη σημασία, καθώς πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η υδροξυτυροσόλη βοηθά στη βελτίωση των λιπιδίων του πλάσματος και επιδιορθώνει την οξειδωτική βλάβη που σχετίζεται με την ΚΝ (Delgado-Lista J et al. 2011). Επιπρόσθετα, σε μια πρόσφατη μελέτη στην Ισπανία παρατηρήθηκε μεγαλύτερη κατανάλωση πολυφαινολών από το ελαιόλαδο σε συμμετέχοντες που

ακολουθούσαν στενότερα τη ΜΔ, γεγονός που εξηγεί την καρδιοπροστατευτική επίδραση του ελαιόλαδου (*de la Torre-Robles A et al. 2014*). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα MUFA που βρίσκονται στο ελαιόλαδο, σε αντίθεση με τα SFA που βρίσκονται στις μαργαρίνες και το βούτυρο, μειώνουν την LDL-χοληστερόλη και αυξάνουν την HDL-χοληστερόλη (*Conas MI et al. 2015*). Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψη ότι τα φαινολικά συστατικά του ελαιόλαδου αποτελούν πιθανούς δεσμευτές των ελευθέρων ριζών οξυγόνου και αναστέλλουν την οξειδωση της LDL-χοληστερόλης, η επίδραση της κατανάλωσης ελαιόλαδου στη διατήρηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας μπορεί να προσφέρει πρόσθετο όφελος έναντι της σύνδεσης της δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου με το οξειδωτικό στρες, τη φλεγμονή και την ΚΝ (*Ruiz-Canela M et al. 2011; Schwingshackl L et Hoffmann G 2014*). Τέλος, πρόσφατη μετανάλυση τυχαιοποιημένων μελετών που διερευνούσε την επίδραση του ελαιόλαδου στους δείκτες φλεγμονής και λειτουργίας του ενδοθηλίου πρότεινε ότι τόσο οι προφλεγμονώδεις δείκτες (CRP, IL-6) όσο και η ενδοθηλιακή λειτουργία ευεργετούνταν από παρεμβάσεις με ελαιόλαδο (*Schwingshackl L, Christoph M et Hoffman G 2014*).

Τα ευρήματά μας είναι σε συμφωνία με τη μελέτη EPICOR στην οποία μειωμένος καρδιαγγειακός κίνδυνος ($ΣΛ = 0.56$; 95% ΔΕ: 0.31-0.99) σημειώθηκε σε Ιταλίδες γυναίκες που βρίσκονταν στο υψηλότερο τεταρτημόριο της κατανάλωσης ελαιόλαδου κατά το οκταετές follow-up (*Bendinelli B et al. 2011*). Επιπλέον, στη μελέτη EPIC (follow-up διάρκειας 13.4 έτη) οι εθελοντές που ανήκαν στο υψηλότερο τεταρτημόριο κατανάλωσης ελαιόλαδου διέτρεχαν 44% λιγότερο κίνδυνο θνησιμότητας από ΚΝ σε σχέση με όσους δεν κατανάλωναν ελαιόλαδο (*Buckland G et al. 2012*). Η ευεργετική επίδραση έναντι της ΚΝ υποστηρίχθηκε περαιτέρω από τη μελέτη PREDIMED, που έδειξε ότι η εμπλουτισμένη με παρθένο ελαιόλαδο ΜΔ συσχετίστηκε με ξεκάθαρη μείωση των καρδιαγγειακών επεισοδίων ($ΣΛ = 0.70$; 95% ΔΕ: 0.54-0.92) σε άτομα αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου (*Estruch R et al. 2013*).

5.4 Μεταβολικοί δείκτες και εμφάνιση ΚΝ

Πρόσφατα ο VAI αναγνωρίστηκε ως ένας απλός, αξιόπιστος δείκτης της κεντρικής παχυσαρκίας που αντανακλά στον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Πρώτοι το 2010, οι *Amato et al.* είχαν δείξει σε πληθυσμό 1498 Καυκάσιων από την αναδρομική μελέτη AlkaMeSy ότι η αύξηση του VAI συσχετιζόταν ανεξάρτητα με καρδιαγγειακά επεισόδια (2.5 φορές) και ότι προέβλεπε καλύτερα τον κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη από άλλους δείκτες (WC, ΔΜΣ, TG, HDL) (*Amato MC et al. 2010*). Πάραυτα υπάρχει μία έλλειψη στις προοπτικές μελέτες που μελέτησαν μια αντίστοιχη συσχέτιση. Στη παρούσα μελέτη φάνηκε ότι αυξημένες τιμές του δείκτη VAI (που αντικατοπτρίζει δυσλειτουργία του λιπώδους ιστού) παρουσίαζαν σημαντική και ανεξάρτητη συσχέτιση με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ, ειδικά στους άνδρες. Ιδιαίτερα ενδιαφέρον ήταν ότι αυτή η θετική συσχέτιση παρέμεινε ακόμα

και μετά από μελέτη πολλών πιθανών συγχυτικών παραγόντων. Μάλιστα, στο πλήρως σταθμισμένο μοντέλο μόνο ο VAI αποτέλεσε σημαντική ένδειξη ανίχνευσης καρδιαγγειακού κινδύνου ανεξάρτητα των λοιπών εγκατεστημένων παραγόντων κινδύνου για ΚΝ. Επομένως θα μπορούσε να υποτεθεί ότι επειδή ο VAI συμπεριλαμβάνει τόσο ανθρωπομετρικές (ΔΜΣ και WC) όσο και μεταβολικές/λιπιδαιμικές (TG και HDL) μεταβλητές παχυσαρκίας (κυρίως κεντρικού τύπου), μπορεί να αντανακλά άμεσα στο φάσμα των πιθανών προ-αθηρωματικών διαδικασιών που μακροπρόθεσμα οδηγούν σε αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο.

Οι πιθανοί μηχανισμοί με τους οποίους συνδέεται ο VAI με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Αξίζει να σημειωθεί ότι όταν εξετάστηκε η φλεγμονή (CRP, IL-6 και TNF-α) ως πιθανός διαμεσολαβητικός παράγοντας της προαναφερθείσας σχέσης, η επίδραση των αρχικών τιμών του VAI στη δεκαετή επίπτωση ΚΝ παρέμεινε στατιστικά σημαντική. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στη θετική συσχέτιση του VAI με το μακροπρόθεσμα αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο μέσω προφλεγμονωδών μηχανισμών που σχετίζονται με τη δυσλειτουργία του λιπώδους ιστού (π.χ. διαταραγμένο προφίλ αδιπνονεκτίνης, περιλαμβάνοντας την παραγωγή κυτοκινών όπως IL-6 και TNF-α) και δεν αντικατοπτρίζονται πάντα κατά την κλινική εκτίμηση του κινδύνου για ΚΝ (*Amato MC et al. 2014*).

Το 2010 οι Amato και συν πρότειναν το VAI ως έναν πρότυπο δείκτη στο πλαίσιο της αναδρομικής μελέτης AlkaMeSy (*Amato MC et al. 2010*). Στα 1498 άτομα της μελέτης ο δείκτης αυτός φάνηκε να συσχετίζεται με το σπλαχνικό λίπος, ενώ εξέθεσε μία ισχυρή θετική σχέση με τα καρδιαγγειακά επεισόδια (ΣΛ: 2.45, 95% ΔΕ: 1.52-3.95) και μια αντίστροφη συσχέτιση με την ινσουλινοευαισθησία. Επιπλέον, η ανάλυση ROC σε αυτή τη μελέτη απέδειξε ότι ο δείκτης VAI είχε μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα από μεμονωμένες παραμέτρους σχετικά με τα καρδιαγγειακά επεισόδια αν και ο σχεδιασμός της μελέτης δεν επέτρεπε να μελετήσει αιτιολογικές σχέσεις. Από το 2010, ο δείκτης έχει μελετηθεί σε αρκετές κοορτές σε γενικό και υγιή πληθυσμό αλλά και σε πληθυσμό αυξημένου καρδιομεταβολικού κινδύνου (π.χ. παχύσαρκοι ή σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών) με ιδιαίτερη έμφαση στην πρόβλεψη του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (*Knowles KM et al. 2011; Zhang X et al. 2013*). Πάραυτα, λίγες μελέτες έχουν ερευνήσει τον VAI σαν ένδειξη μακροχρόνιου καρδιαγγειακού κινδύνου.

Όσο αφορά στο δείκτη συσσώρευσης λίπους (LAP) η παρούσα διατριβή παρουσίασε μία σημαντική θετική συσχέτιση με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ. Αυτή η θετική συσχέτιση παρέμεινε σταθερή ακόμα και όταν συνυπολογίστηκαν και άλλοι παράγοντες κινδύνου για ΚΝ. Παράλληλα, η προβλεπτική αξία του LAP στη δεκαετή επίπτωση ΚΝ ήταν καλύτερη και από μεμονωμένες παραμέτρους του (π.χ. WC και TG νηστείας), αλλά και από ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά για ολική και κεντρική παχυσαρκία (π.χ. ΔΜΣ, WHR και WHtR).

Σε αυτό το πλαίσιο, δεδομένα από τη μελέτη Tehran Lipid and Glucose Study έδειξε ότι ο LAP είναι ανεξάρτητος προβλεπτικός δείκτης της ΚΝ (μέσος όρος παρακολούθησης: 10.1 έτη; 160 καρδιαγγειακά επεισόδια) σε 2378 ενήλικες χωρίς αρχική διάγνωση ΚΝ (57% άνδρες) με φυσιολογικό ΔΜΣ (*Hosseinpanah F et al. 2016*). Άρα τα ευρήματά μας βρίσκονται σε συμφωνία με τη συσχέτιση του LAP με τη δεκαετή επίπτωση ΚΝ. Φαίνεται λοιπόν ότι ο δείκτης LAP αποτελεί προέκταση του όρου «υπερτριγλυκεριδαιμική μέση» παρέχοντας ένα συνεχή δείκτη ανίχνευσης κινδύνου που υποδεικνύει καλύτερα την υπερσυσσώρευση λίπους στην κεντρική τύπου παχυσαρκία και το σχετικό καρδιομεταβολικό κίνδυνο (*Kahn HS et al. 2005*). Ο τελευταίος αντανακλά στις συνεχείς διεργασίες που ακολουθούν την υπερβολική συσσώρευση σπλαχνικού λίπους και σταδιακά οδηγούν στην ήπια φλεγμονή. Μάλιστα, αρκετές προφλεγμονώδεις αδιπονεκτίνες/κυτοκίνες που εκκρίνονται κυρίως από τις λιποαποθήκες επιφέρουν βλαπτικά αποτελέσματα στο μεταβολισμό και την καρδιαγγειακή λειτουργία (*Deng Y et al. 2010; Matsuzawa Y et al. 2011; Kyrou I et al. 2017; Yang X et al. 2007*).

5.5 Περιορισμοί της μελέτης

Δεδομένου του προοπτικού σχεδιασμού της μελέτης ΑΤΤΙΚΗ θα πρέπει να λάβουμε υπόψη μας ότι η αξιολόγηση έγινε μία φορά στην αρχή και επομένως υπάρχει ένα ενδεχόμενο να μην έχουν διατηρηθεί σταθερά τα χαρακτηριστικά των εθελοντών. Πάραυτα, η μεθοδολογία που εφαρμόζεται είναι παρόμοια με εκείνη άλλων μεγάλων προοπτικών μελετών της επιδημιολογίας των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Όσο αφορά στον υπολογισμό τους αντιφλεγμονώδους φορτίου της δίαιτας η εκτίμηση του δείκτη D-AII έγινε εμμέσως από το ΕΣΚΤ από την αρχική αξιολόγηση. Πάραυτα αυτή η έκδοση του D-AII έχει κριθεί έγκυρη σε προηγούμενες αναλύσεις και έχει παρουσιαστεί εκτεταμένα στη βιβλιογραφία. Όσο αφορά στην κατανάλωση καφέ, δεν εξετάστηκε η μέθοδος απόσταξης του καφέ και ενώ υπήρχαν στοιχεία για τον ντεκαφεϊνέ καφέ λόγω του ιδιαίτερα μικρού αριθμού ατόμων που τον κατανάλωναν ($n=47$) αυτά δε χρησιμοποιήθηκαν στις αναλύσεις. Στη συνήθη κατανάλωση αλκοόλ πρέπει να συνυπολογιστεί η δυσκολία εκτίμησης της ακριβούς πρόσληψης λόγω υποκαταγραφής και δυσταξινόμησης, φαινόμενα συχνά σε τέτοιου είδους αναλύσεις. Στοχεύοντας στη συνολική ευεργετική επίδραση του ελαιόλαδου, δεν έγινε διάκριση ανάμεσα σε εξαιρετικά παρθένο και παρθένο ελαιόλαδο. Τέλος, σχετικά με τους μεταβολικούς δείκτες, επειδή ο αριθμός των θανατηφόρων καρδιαγγειακών επεισοδίων ήταν πολύ μικρός, τα αποτελέσματα εστίασαν συνδυαστικά στη συσχέτιση των δεικτών VAI, LAP με τη δεκαετή επίπτωση θανατηφόρου και μη-θανατηφόρου ΚΝ.

5.6 Συμπεράσματα

Το φορτίο ασθενείας από την ΚΝ είναι αρκετά αυξημένο στον ελληνικό πληθυσμό, παρά τις διάφορες στρατηγικές πρόληψης και τις δράσεις της δημόσιας υγείας που έχουν αναπτυχθεί πρόσφατα. Αν σε αυτά συνυπολογιστεί η οικονομική κρίση, οι ακριβές φαρμακευτικές αγωγές και τα νοσήλια που χρειάζονται μετά τη διάγνωση ΚΝ, η ανάγκη για την υιοθέτηση συνηθειών και εργαλείων διάγνωσης που θα μειώσουν το κόστος πρόληψης κρίνεται υψίστης σημασίας.

Με τη μελέτη της αντιφλεγμονώδους διατροφής φάνηκε ότι όντως η προσκόλληση σε ένα τέτοιο πρότυπο μπορεί να μειώσει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο σε υγιείς ενήλικες, με τη σχέση αυτή να ουδετεροποιείται σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο, επειδή, ενδεχομένως η χρόνια έκθεσή τους σε συνθήκες οξειδωτικού στρες τα καθιστά άτομα αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου όπου και άλλοι παράγοντες πρέπει να λαμβάνονται υπόψη. Πάραυτα, δεδομένα από τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές επιβεβαιώνουν όφελος και σε αυτά τα άτομα. Ανεξάρτητα από το βαθμό ευεργετικής επίδρασης, η συμμόρφωση σε μια διατροφή πλούσια σε αντιοξειδωτικά καλό είναι να ενθαρρύνεται σε νεαρότερη ηλικία ώστε να δρα ανασταλτικά στην εκδήλωση της ΚΝ. Όπως και στην κατανάλωση καφέ, μύρας και κρασιού η ευεργετική επίδραση της χαμηλής προς μέτριας κατανάλωσης έναντι της αυξημένης κατανάλωσης ή της πλήρους αποχής φαίνεται να συμβάλλει περισσότερο στην πρόληψη της ΚΝ όταν υιοθετείται ως συνήθεια από νωρίς.

Όσο αφορά στους μεταβολικούς δείκτες σπλαχνικού λίπους, αναδείχθηκαν νέα εργαλεία ένδειξης καρδιαγγειακού κινδύνου που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην κλινική πράξη. Πιο συγκεκριμένα, ο δείκτης VAI, που αντιπροσωπεύει τη συσσώρευση/ δυσλειτουργία σπλαχνικού λίπους μπορεί να εφαρμοστεί ως ένα απλό εργαλείο για ανίχνευση μακροχρόνιου καρδιαγγειακού κινδύνου σε υγιείς άνδρες Καυκάσιας φυλής ή της ευρύτερης περιοχής της Μεσογείου. Παρόμοια, ο δείκτης LAP αποτελεί έναν απλό και ακριβή δείκτη εκτίμησης του καρδιαγγειακού κινδύνου σε σχέση με άλλους δείκτες προσδιορισμού της παχυσαρκίας. Επιπλέον έρευνα χρειάζεται για να διερευνηθούν αυτά τα ευρήματα σε ακόμα μεγαλύτερες μελέτες κοορτής, σε συγκεκριμένους πληθυσμούς και σε άλλες εθνικότητες. Σε κάθε περίπτωση όμως η πρόταση τόσο του VAI όσο και του LAP στην ανίχνευση πρώιμου καρδιαγγειακού κινδύνου με χαμηλού κόστους μέσα τα καθιστά υποψήφια διαγνωστικά εργαλεία που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην καθημερινή κλινική πράξη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Agudelo-Ochoa GM, Pulgarín-Zapata IC, Velásquez-Rodríguez CM, Duque-Ramírez M, Naranjo-Cano M, Quintero-Ortiz MM, Lara-Guzmán OJ, Muñoz-Durango K Coffee Consumption Increases the Antioxidant Capacity of Plasma and Has No Effect on the Lipid Profile or Vascular Function in Healthy Adults in a Randomized Controlled Trial. *J Nutr* 2016;146:524-31.
- Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC Jr; International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; International Association for the Study of Obesity. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009;120:1640-5
- Amato MC, Giordano C, Galia M, Criscimanna A, Vitabile S, Midiri M, Galluzzo A; AlkaMeSy Study Group. Visceral Adiposity Index: a reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. *Diabetes Care*. 2010;33:920-2.
- Amato MC, Pizzolanti G, Torregrossa V, Misiano G, Milano S, Giordano C. Visceral adiposity index (VAI) is predictive of an altered adipokine profile in patients with type 2 diabetes. *PLoS One*. 2014;9:e91969.
- Astrup A, Dyerberg J, Elwood P, Hermansen K, Hu FB, Jakobsen MU, Kok FJ, Krauss RM, Lecerf JM, LeGrand P, Nestel P, Riserus U, Sanders T, Sinclair A, Stender S, Tholstrup T, Willett WC. The role of reducing intakes of saturated fat in the prevention of cardiovascular disease: where does the evidence stand in 2010? *Am J Clin Nutr* 2011;93:684–688.
- Athyros VG, Bouloukos VI, Pehlivanidis AN, Papageorgiou AA, Dionysopoulou SG, Symeonidis AN, Petridis DI, Kapousouzi MI, Satsoglou EA, Mikhailidis DP; MetS-Greece Collaborative Group. The prevalence of the metabolic syndrome in Greece: the MetS-Greece Multicentre Study. *Diabetes Obes Metab*. 2005;7:397-405.
- Arnlov J, Ingelsson E, Sundström J, Lind L. Impact of body mass index and the metabolic syndrome on the risk of cardiovascular disease and death in middle-aged men. *Circulation*. 2010;121:230-6.
- Arranz S, Chiva-Blanch G, Valderas-Martínez P, Medina-Remón A, Lamuela-Raventós RM, Estruch R. Wine, beer, alcohol and polyphenols on cardiovascular disease and cancer. *Nutrients*. 2012;4:759-81.
- Babio N, Toledo E, Estruch R et al. Mediterranean diets and metabolic syndrome

- status in the PREDIMED randomized trial. *CMAJ*. 2014;186:E649-57.
- Babio N, Sorlí M, Bulló M, Basora J, Ibarrola-Jurado N, Fernández-Ballart J, Martínez-González MA, Serra-Majem L, González-Pérez R, Salas-Salvadó J; Nureta-PREDIMED Investigators. Association between red meat consumption and metabolic syndrome in a Mediterranean population at high cardiovascular risk: cross-sectional and 1-year follow-up assessment. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012;22:200-7.
- Ballantyne CM, Heiss G: The metabolic syndrome and 11-year risk of incident cardiovascular disease in the atherosclerosis risk in communities' study. *Diabetes Care* 2005, 28:385-390.
- Balk L, Hoekstra T, Twisk J. Relationship between long-term coffee consumption and components of the metabolic syndrome: the Amsterdam Growth and Health Longitudinal Study. *Eur J Epidemiol*. 2009;24:203-9.
- Balkau B, Charles MA, Drivsholm T, Borch-Johnsen K, Wareham N, Yudkin JS, Morris R, Zavaroni I, van Dam R, Feskens E, Gabriel R, Diet M, Nilsson P, Hedblad B; European Group For The Study Of Insulin Resistance (EGIR). Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts, and an alternative definition of an insulin resistance syndrome. *Diabetes Metab*. 2002;28:364-76.
- Bendinelli B, Masala G, Saieva C, Salvini S, Calonico C, Sacerdote C, Agnoli C, Grioni S, Frasca G, Mattiello A, Chiodini P, Tumino R, Vineis P, Palli D, Panico S. Fruit, vegetables, and olive oil and risk of coronary heart disease in Italian women: the EPICOR Study. *Am J Clin Nutr* 2011;93:275-83.
- Bergmann MM, Rehm J, Klipstein-Grobusch K, Boeing H, Schütze M, Drogan D, Overvad K, Tjønneland A, Halkjær J, Fagherazzi G, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Teucher B, Kaaks R, Trichopoulou A, Benetou V, Trichopoulos D, Palli D, Pala V, Tumino R, Vineis P, Beulens JW, Redondo ML, Duell EJ, Molina-Montes E, Navarro C, Barricarte A, Arriola L, Allen NE, Crowe FL, Khaw KT, Wareham N, Romaguera D, Wark PA, Romieu I, Nunes L, Riboli E, Ferrari P. The association of pattern of lifetime alcohol use and cause of death in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) study. *Int J Epidemiol*. 2013;42:1772-90.
- Bountziouka V, Bathrellou E, Giotopoulou A, et al. Development, repeatability and validity regarding energy and macronutrient intake of a semi-quantitative food frequency questionnaire: Methodological considerations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012; 22 :659-67.
- Bruno G, Merletti F, Biggeri A, Bargerò G, Ferrero S, Runzo C, Prina Cerai S, Pagano G, Cavallo-Perin P, Casale Monferrato Study: Metabolic syndrome as a predictor of all-cause and cardiovascular mortality in type 2 diabetes: the Casale Monferrato Study. *Diabetes Care* 2004, 27:2689-2694.
- Buckland G, Mayén AL, Agudo A, Travier N, Navarro C, Huerta JM, Chirlaque MD,

- Barricarte A, Ardanaz E, Moreno-Iribas C, Marin P, Quirós JR, Redondo ML, Amiano P, Dorronsoro M, Arriola L, Molina E, Sanchez MJ, Gonzalez CA. Olive oil intake and mortality within the Spanish population (EPIC-Spain). *Am J Clin Nutr* 2012;96:142-9.
- Buil-Cosiales P, Toledo E, Salas-Salvadó J, Zazpe I, Farràs M, Basterra-Gortari FJ, Diez-Espino J, Estruch R, Corella D, Ros E, Marti A, Gómez-Gracia E, Ortega-Calvo M, Arós F, Moñino M, Serra-Majem L, Pintó X, Lamuela-Raventós RM, Babio N, Gonzalez JI, Fitó M, Martínez-González MA; PREDIMED investigators. Association between dietary fibre intake and fruit, vegetable or whole-grain consumption and the risk of CVD: results from the PREvención con Dieta MEDiterránea (PREDIMED) trial. *Br J Nutr*. 2016;116:534-46.
- Bunker ML, McWilliams M. Caffeine content of common beverages. *J Am Diet Assoc*. 1979;74:28-32.
- Calabriso N, Massaro M, Scoditti E, D'Amore S, Gno- ni A, Pellegrino M, StorelliC, De Caterina R, Palasciano G, Carluccio MA. Extra virgin olive oil rich in polyphenols modulates VEGF-induced angiogenic responses by preventing NADPH oxidase activity and expression. *J Nutr Biochem* 2016;28:19-29
- Centers for Disease Control and Prevention. How Tobacco Smoke Causes Disease: The Biology and Behavioural Basis for Smoking-attributable Disease 2010. A Report of the Surgeon General. <http://www.surgeongeneral.gov/library/tobaccosmoke/index.html>.
- Chiva-Blanch G, Magraner E, Condines X, Valderas-Martínez P, Roth I, Arranz S et al. Effects of alcohol and polyphenols from beer on atherosclerotic biomarkers in high cardiovascular risk men: a randomized feeding trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2015;25:36-45.
- Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Das UN, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA Study. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:152-8
- Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Skoumas J, Toutouza M, Papaioannou I, Toutouzas PK, Stefanadis C. Effects of chronic alcohol consumption on lipid levels, inflammatory and haemostatic factors in the general population: the 'ATTICA' Study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2003;10:355-61.
- Chowdhury R, Kunutsor S, Vitezova A, Oliver-Williams C, Chowdhury S, Kieftede Jong JC, Khan H, Baena CP, Prabhakaran D, Hoshen MB, Feldman BS, Pan A, Johnson L, Crowe F, Hu FB, Franco OH. Vitamin D and risk of cause specific death: systematic review and meta-analysis of observational cohort and randomised intervention studies. *BMJ* 2014;348:g1903.
- Costanzo S, Di Castelnuovo A, Donati MB, Iacoviello L, de Gaetano G. Wine, beer or spirit drinking in relation to fatal and non-fatal cardiovascular events: a meta-analysis. *Eur J Epidemiol*. 2011;26:833-50.
- Covas MI, de la Torre R, Fitó M. Virgin olive oil: a key food for cardiovascular

- risk protection. *Br J Nutr* 2015;113 Suppl 2:S19-28.
- Crippa A, Discacciati A, Larsson SC, Wolk A, Orsini N. Coffee consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: a dose-response meta-analysis. *Am J Epidemiol* 2014;180:763-75.
- Delgado-Lista J, Garcia-Rios A, Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F. Olive oil and haemostasis: platelet function, thrombogenesis and fibrinolysis. *Curr Pharm Des* 2011;17:778-85.
- Deng Y, Scherer PE. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1212:E1-E19.
- de la Torre-Robles A, Rivas A, Lorenzo-Tovar ML, Monteagudo C, Mariscal-Arcas M, Olea-Serrano F. Estimation of the intake of phenol compounds from virgin olive oil of a population from southern Spain. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2014; 31:1460-9.
- de Ruyter JC, Olthof MR, Seidell JC, Katan MB. A trial of sugar-free or sugar-sweetened beverages and body weight in children. *N Engl J Med* 2012; 367:1397 – 1406.
- Ding M, Bhupathiraju SN, Satija A, van Dam RM, Hu FB. Long-term coffee consumption and risk of cardiovascular disease: a systematic review and a dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Circulation* 2014;129:643-59.
- Dobbelsteyn CJ, Joffres MR, MacLean DR, Flowerdew G. A comparative evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio and body mass index as indicators of cardiovascular risk factors. The Canadian Heart Health Surveys. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001;25:652-61.
- Eckel RH. Mechanisms of the components of the metabolic syndrome that predispose to diabetes and atherosclerotic CVD. *Proc Nutr Soc.* 2007;66:82-95.
- Emerging Risk Factors Collaboration, Wormser D, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Wood AM, Pennells L, Thompson A, Sarwar N, Kizer JR, Lawlor DA, Nordestgaard BG, Ridker P, Salomaa V, Stevens J, Woodward M, Sattar N, Collins R, Thompson SG, Whitlock G, Danesh J. Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies. *Lancet.* 2011;377:1085-95.
- Emerging Risk Factors Collaboration, Sarwar N, Gao P, Seshasai SR, Gobin R, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Ingelsson E, Lawlor DA, Selvin E, Stampfer M, Stehouwer CD, Lewington S, Pennells L, Thompson A, Sattar N, White IR, Ray KK, Danesh J. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet.* 2010;375:2215-22.
- Esmailzadeh A, Kimiagar M, Mehrabi Y, Azadbakht L, Hu FB, Willett WC. Fruit

- and vegetable intakes, C-reactive protein, and the metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr.* 2006;84:1489-97.
- Esposito K, Chiodini P, Colao A, Lenzi A, Giugliano D. Metabolic syndrome and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care.* 2012 ;35:2402-11.
- Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, Gómez-Gracia E, Ruiz-Gutiérrez V, Fiol M, Lapetra J, Lamuela-Raventos RM, Serra-Majem L, Pintó X, Basora J, Muñoz MA, Sorlí JV, Martínez JA, Martínez-González MA; PREDIMED Study Investigators. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med* 2013;368:1279-90.
- European Heart Network. Diet, physical activity and cardiovascular disease prevention in Europe. 2011
- Floegel A, Pischon T, Bergmann MM, Teucher B, Kaaks R, Boeing H. Coffee consumption and risk of chronic disease in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Germany study. *Am J Clin Nutr.* 2012;95:901-8.
- Fountoulakis KN, Papadopoulou M, Kleanthous S, et al. Reliability and psychometric properties of the Greek translation of the State-Trait Anxiety Inventory form Y: preliminary data. *Ann Gen Psychiatry.* 2006;5:2.
- Fountoulakis KN, Iacovides A, Samolis S, Kleanthous S, Kaprinis SG, St Kaprinis G, Bech P. Reliability, validity and psychometric properties of the Greek translation of the Zung Depression Rating Scale. *BMC Psychiatry.* 2001;1:6.
- Fuentes E, Fuentes F, Vilahur G, Badimon L, Palomo I. Mechanisms of chronic state of inflammation as mediators that link obese adipose tissue and metabolic syndrome. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:136584.
- Ford ES: The metabolic syndrome and mortality from cardiovascular disease and all-causes: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey II Mortality Study. *Atherosclerosis* 2004;173:309-314.
- Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA.* 2002;287(3):356-9.
- Ford ES: Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence. *Diabetes Care* 2005;28:1769-1778.
- Fox CS, Coady S, Sorlie PD, D'Agostino RB Sr, Pencina MJ, Vasan RS, Meigs JB, Levy D, Savage PJ. Increasing cardiovascular disease burden due to diabetes mellitus: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2007;115:1544-50.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18:499-502.

- Fruchart JC, Sacks F, Hermans MP, Assmann G, Brown WV, Ceska R, Chapman MJ, Dodson PM, Fioretto P, Ginsberg HN, Kadowaki T, Lablanche JM, Marx N, Plutzky J, Reiner Z, Rosenson RS, Staels B, Stock JK, Sy R, Wanner C, Zambon A, Zimmet P. The Residual Risk Reduction Initiative: a call to action to reduce residual vascular risk in patients with dyslipidemia. *Am J Cardiol.* 2008;102:1K-34K.
- Garcia-Arellano A, Ramallal R, Ruiz-Canela M et al. Dietary Inflammatory Index and Incidence of Cardiovascular Disease in the PREDIMED Study. *Nutrients.* 2015;7:4124-38.
- Guasch-Ferré M, Hu FB, Martínez-González MA, Fitó M, Bulló M, Estruch R, Ros E, Corella D, Recondo J, Gómez-Gracia E, Fiol M, Lapetra J, Serra-Majem L, Muñoz MA, Pintó X, Lamuela-Raventós RM, Basora J, Buil-Cosiales P, Sorlí JV, Ruiz-Gutiérrez V, Martínez JA, Salas-Salvadó J Olive oil intake and risk of cardiovascular disease and mortality in the PREDIMED Study. *BMC Med* 2014;12:78.
- Grundy SM, Brewer HB Jr., Cleeman JI, Smith SC Jr., Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004;109:433– 8
- Giugliano D, Ceriello A, Esposito K. The effects of diet on inflammation: emphasis on the metabolic syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48:677-85.
- Grundy SM, Brewer HB Jr., Cleeman JI, Smith SC Jr., Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004;109:433– 8
- Gluba A, Mikhailidis DP, Lip GY, Hannam S, Rysz J, Banach M. Metabolic syndrome and renal disease. *Int J Cardiol.* 2013;164:141-50.
- Hartley, L., et al., *Increased consumption of fruit and vegetables for the primary prevention of cardiovascular diseases.* *Cochrane Database Syst Rev*, 2013. **6**: p. CD009874.
- Holmes MV, Dale CE, Zuccolo L, Silverwood RJ, Guo Y, Ye Z, Prieto-Merino D, Dehghan A, Trompet S, Wong A, Cavadino A, Drogan D, Padmanabhan S, Li S, Yesupriya A, Leusink M, Sundstrom J, Hubacek JA, Pikhart H, Swerdlow DI, Panayiotou AG, Borinskaya SA, Finan C, Shah S, Kuchenbaecker KB, Shah T, Engmann J, Folkersen L, Eriksson P, Ricceri F, Melander O, Sacerdote C, Gamble DM, Rayaprolu S, Ross OA, McLachlan S, Vikhireva O, Sluijs I, Scott RA, Adamkova V, Flicker L, Bockxmeer FM, Power C, Marques-Vidal P, Meade T, Marmot MG, Ferro JM, Paulos-Pinheiro S, Humphries SE, Talmud PJ, Matteo Leach I, Verweij N, Linneberg A, Skaaby T, Doevendans PA, Cramer MJ, van der Harst P, Klungel OH, Dowling NF, Dominiczak AF, Kumari M, Nicolaides AN, Weikert C, Boeing H, Ebrahim S, Gaunt TR, Price JF, Lannfelt L,

- Peasey A, Kubinova R, Pajak A, Malyutina S, Voevoda MI, Tamosiunas A, Maitland-van der Zee AH, Norman PE, Hankey GJ, Bergmann MM, Hofman A, Franco OH, Cooper J, Palmen J, Spiering W, de Jong PA, Kuh D, Hardy R, Uitterlinden AG, Ikram MA, Ford I, Hypponen E, Almeida OP, Wareham NJ, Khaw KT, Hamsten A, Husemoen LL, Tjonneland A, Tolstrup JS, Rimm E, Beulens JW, Verschuren WM, Onland-Moret NC, Hofker MH, Wannamethee SG, Whincup PH, Morris R, Vicente AM, Watkins H, Farrall M, Jukema JW, Meschia J, Cupples LA, Sharp SJ, Fornage M, Kooperberg C, LaCroix AZ, Dai JY, Lanktree MB, Siscovick DS, Jorgenson E, Spring B, Coresh J, Li YR, Buxbaum SG, Schreiner PJ, Ellison RC, Tsai MY, Patel SR, Redline S, Johnson AD, Hoogeveen RC, Hakonarson H, Rotter JI, Boerwinkle E, de Bakker PI, Kivimaki M, Asselbergs FW, Sattar N, Lawlor DA, Whittaker J, Davey Smith G, Mukamal K, Psaty BM, Wilson JG, Lange LA, Hamidovic A, Hingorani AD, Nordestgaard BG, Bobak M, Leon DA, Langenberg C, Palmer TM, Reiner AP, Keating BJ, Dudbridge F, Casas JP. Association between alcohol and cardiovascular disease: Mendelian randomisation analysis based on individual participant data. *BMJ* 2014;349:g4164.
- Hosseini F, Barzin M, Mirbolouk M, Abtahi H, Cheraghi L, Azizi F. Lipid accumulation product and incident cardiovascular events in a normal weight population: Tehran Lipid and Glucose Study. *Eur J PrevCardiol.* 2016;23:187-93.
- Hunt KJ, Resendez RG, Williams K, Haffner SM, Stern MP: National Cholesterol Education Program versus World Health Organization metabolic syndrome in relation to all-cause and cardiovascular mortality in the San Antonio Heart Study. *Circulation* 2004;110:1251-1257.
- Jiang R, Jacobs DR Jr, Mayer-Davis E, Szklo M, Herrington D, Jenny NS, Kronmal R, Barr RG. Nut and seed consumption and inflammatory markers in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Am J Epidemiol.* 2006;163:222-31.
- Kahn HS. The "lipid accumulation product" performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: a population-based comparison. *BMC CardiovascDisord.* 2005;5:26.
- Kassi Eva, Panagiota Pervanidou, Gregory Kaltsas, George Chrousos Metabolic syndrome: definitions and controversies *BMC Med.* 2011; 9: 48.
- Kastorini CM, Panagiotakos DB, Georgousopoulou EN, Laskaris A, Skourlis N, Zana Chatziniolaou C, Chrysohoou C, Puddu PE, Tousoulis D, Stefanadis C, Pitsavos C; ATTICA Study Group. Metabolic syndrome and 10-year cardiovascular disease incidence: The ATTICA study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2016;26:223-31.
- Kastorini CM, Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Georgousopoulou E, Pitaraki E, Puddu PE, Tousoulis D, Stefanadis C, Pitsavos C; ATTICA Study Group. Metabolic syndrome, adherence to the Mediterranean diet and 10-year

- cardiovascular disease incidence: The ATTICA study. *Atherosclerosis*. 2016;246:87-93.
- Kastorini CM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB. The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:1299-313
- Katsiki N, Tziomalos K, Mikhailidis DP. Alcohol and the cardiovascular system: a double-edged sword. *Curr Pharm Des*. 2014;20:6276-88.
- Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A. Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers. *Int J Epidemiol*. 1997;26 Suppl1:S118-27.
- Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract* . 2014;2014:943162.
- Klatsky AL. Alcohol and cardiovascular diseases: where do we stand today? *J Intern Med*. 2015;278:238-50.
- Knowles KM, Paiva LL, Sanchez SE, Revilla L, Lopez T, Yasuda MB, Yanez ND, Gelaye B, Williams MA. Waist Circumference, Body Mass Index, and Other Measures of Adiposity in Predicting Cardiovascular Disease Risk Factors among Peruvian Adults. *Int J Hypertens*. 2011;2011:931402.
- Kontogianni MD, Panagiotakos DB, Chrysohou C, Pitsavos C, Zampelas A, Stefanadis C The impact of olive oil consumption pattern on the risk of acute coronary syndromes: The CARDIO2000 case-control study. *Clin Cardiol* 2007;30:125-9.
- Kyrou I, Mattu HS, Chatha K, Randeve HS. Chapter 7 - Fat Hormones, Adipokines. In Schisler JC, Lang CH, Willis MS (eds) *Endocrinology of the Heart in health and disease*. pp 167-205. Academic Press, 2017.
- Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT: The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 2002;288:2709-2716.
- Law MR, Morris JK, Wald NJ. Environmental tobacco smoke exposure and ischaemic heart disease: an evaluation of the evidence. *BMJ* 1997;315:973 – 980.
- Lee DC, Pate RR, Lavie CJ, Sui X, Church TS, Blair SN. Leisure-time running reduces all-cause and cardiovascular mortality risk. *J Am Coll Cardiol* 2014;64: 472 – 481.
- Liu J, Sui X, Lavie CJ, Hebert JR, Earnest CP, Zhang J, Blair SN. Association of coffee consumption with all-cause and cardiovascular disease mortality. *Mayo Clin Proc* 2013;88:1066-74.
- Lockyer S, Rowland I, Spencer JP, Yaqoob P, Stonehouse W. Impact of phenolic-rich

- olive leaf extract on blood pressure, plasma lipids and inflammatory markers: a randomised controlled trial. *Eur J Nutr*. 2017;56:1421-1432.
- Luo C, Zhang Y, Ding Y, Shan Z, Chen S, Yu M, Hu FB, Liu L. Nut consumption and risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2014;100:256 – 269.
- Matsuzawa Y, Funahashi T, Nakamura T. The concept of metabolic syndrome: contribution of visceral fat accumulation and its molecular mechanism. *J Atheroscler Thromb*. 2011;18:629-39.
- McQueen MJ, Hawken S, Wang X, Ounpuu S, Sniderman A, Probstfield J, Steyn K, Sanderson JE, Hasani M, Volkova E, Kazmi K, Yusuf S; INTERHEART study investigators. Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins as risk markers of myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): a case-control study. *Lancet*. 2008;372:224-33.
- Mesas AE, Leon-Muñoz LM, Rodriguez-Artalejo F, Lopez-Garcia E The effect of coffee on blood pressure and cardiovascular disease in hypertensive individuals: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2011; 94:1113-26.
- Micha R, Wallace SK, Mozaffarian D. Red and processed meat consumption and risk of incident coronary heart disease, stroke, and diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 2010;121:2271-83.
- Moran AE, Forouzanfar MH, Roth GA, Mensah GA, Ezzati M, Murray CJ, Naghavi M. Temporal trends in ischemic heart disease mortality in 21 world regions, 1980 to 2010: the Global Burden of Disease 2010 study. *Circulation*. 2014;129:1483-92.
- Mozumdar A, Liguori G. Persistent increase of prevalence of metabolic syndrome among U.S. adults: NHANES III to NHANES 1999-2006. *Diabetes Care*. 2011;34:216-9.
- Mozaffarian D, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Willett WC. Trans fatty acids and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2006;354:1601 – 1613.
- McNeill AM, Rosamond WD, Girman CJ, Golden SH, Schmidt MI, East HE, Mottillo S, Filion KB, Genest J, Joseph L, Pilote L, Poirier P, Rinfret S, Schiffrin EL, Eisenberg MJ: The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:1113-1132.
- Neufcourt L, Assmann KE, Fezeu LK et al. Prospective Association Between the Dietary Inflammatory Index and Cardiovascular Diseases in the SUPplémentation en Vitamines et Minéraux AntioXydants (SU.VI.MAX) Cohort. *J Am Heart Assoc*. 2016;4:e002735.
- Nichols MT, Scarborough P, Rayner P. European Cardiovascular Disease Statistics, 2012 edition.
- Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, Borén J, Andreotti F, Watts GF, Ginsberg H,

- Amarencu P, Catapano A, Descamps OS, Fisher E, Kovanen PT, Kuivenhoven JA, Lesnik P, Masana L, Reiner Z, Taskinen MR, Tokgözoğlu L, Tybjærg-Hansen A; European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J.* 2010;31:2844-53.
- DC: U.S. Department of Health and Human Services, 2008.
- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Skoumas J, Tousoulis D, Toutouza M, Toutouzas P, Stefanadis C. Impact of lifestyle habits on the prevalence of the metabolic syndrome among Greek adults from the ATTICA study. *Am Heart J.* 2004;147:106-12.
- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Polychronopoulos E, Chrysoshoou C, Zampelas A, Trichopoulou A. Can a Mediterranean diet moderate the development and clinical progression of coronary heart disease? A systematic review. *Med Sci Monit.* 2004;10:RA193-8.
- Panagiotakos DB, Pitsavos CH, Zampelas AD, Chrysoshoou CA, Stefanadis CI. Dairy products consumption is associated with decreased levels of inflammatory markers related to cardiovascular disease in apparently healthy adults: the ATTICA study. *J Am Coll Nutr.* 2010;29:357-64.
- Panagiotakos, D.B., C. Pitsavos, and C. Stefanadis, Inclusion of dietary evaluation in cardiovascular disease risk prediction models increase accuracy and reduces bias of the estimations. *Risk Anal.* 2009. 29(2): p. 176-86.
- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Arvaniti F, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean food pattern predicts the prevalence of hypertension, hypercholesterolemia, diabetes and obesity, among healthy adults; the accuracy of the MedDietScore. *Prev Med.* 2007;44:335-40.
- Panagiotakos DB, Milias GA, Pitsavos C, Stefanadis C. MedDietScore: a computer program that evaluates the adherence to the Mediterranean dietary pattern and its relation to cardiovascular disease risk. *Comput Methods Programs Biomed.* 2006;83:73-7.
- Panagiotakos DB, Georgousopoulou EN, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Metaxa V, Georgiopoulos GA, Kalogeropoulou K, Tousoulis D, Stefanadis C; ATTICA Study group. Ten-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence and all-cause mortality, in urban Greek population: The ATTICA Study. *Int J Cardiol.* 2015; 180:178-84.
- Pencina MJ, D'Agostino RB Sr, D'Agostino RB Jr, Vasan RS. Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under curve to reclassification and beyond. *Stat Med.* 2008; 27: 157-72.
- Perk J, G De Backer, H Gohlke, I Graham, Z Reiner, M.W.M. Verschuren, C Albus, P Benlian, G Boysen, Cifkova R, Deaton C, Ebrahim S, Fisher M, Germano G, Hobbs R, Hoes A, Karadeniz S, Mezzani A, Prescott E, Ryden L, Scherer M, Syväne M, Scholte op Reimer WJ, Vrints C, Wood D, Zamorano JL, Zannad F; European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR);

- ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J*. 2012;33:1635-701.
- Physical Activity Guidelines Advisory Committee. Physical Activity Guidelines Advisory Committee Report, 2008. Washington,
- Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, Cooney MT, Corrà U, Cosyns B, Deaton C, Graham I, Hall MS, Hobbs FDR, Løchen ML, Löllgen H, Marques-Vidal P, Perk J, Prescott E, Redon J, Richter DJ, Sattar N, Smulders Y, Tiberi M, van der Worp HB, van Dis I, Verschuren WMM. [2016 European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts. Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation]. *G Ital Cardiol (Rome)*. 2017;18:547-612.
- Pisinger C, Dossing M. A systematic review of health effects of electronic cigarettes. *Prev Med* 2014;69:248 – 260.
- Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohou C, Stefanadis C. Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. *BMC Public Health*. 2003;3:32.
- Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohou C, Skoumas J, Papaioannou I, Stefanadis C, Toutouzas PK. The effect of Mediterranean diet on the risk of the development of acute coronary syndromes in hypercholesterolemic people: a case-control study (CARDIO2000). *Coron Artery Dis*. 2002; 13:295-300.
- Poirier P, Alpert MA, Fleisher LA, Thompson PD, Sugerman HJ, Burke LE, Marceau P, Franklin BA; American Heart Association Obesity Committee of Council on Nutrition, Physical Activity and Metabolism, Council on Cardiopulmonary Perioperative and Critical Care, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, Council on Cardiovas. Cardiovascular evaluation and management of severely obese patients undergoing surgery: a science advisory from the American Heart Association. *Circulation*. 2009;120:86-95.
- Poli A, Marangoni F, Avogaro A, Barba G, Bellentani S, Bucci M et al. Moderate alcohol use and health: a consensus document. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2013;23:487-504
- Ramallal R, Toledo E, Martínez-González MA et al. Dietary Inflammatory Index and Incidence of Cardiovascular Disease in the SUN Cohort. *PLoS One*. 2015;10:e0135221.

- Rizos EC, Ntzani EE, Bika E, Kostapanos MS, Elisaf MS. Association between omega-3 fatty acid supplementation and risk of major cardiovascular disease events: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2012;308:1024–1033.
- Ronksley PE, Brien SE, Turner BJ, Mukamal KJ, Ghali WA. Association of alcohol consumption with selected cardiovascular disease outcomes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2011;342:d671.
- Ros E, Núñez I, Pérez-Heras A, Serra M, Gilabert R, Casals E, Deulofeu R. A walnut diet improves endothelial function in hypercholesterolemic subjects: a randomized crossover trial. *Circulation*. 2004;109:1609-14.
- Sacanella E, Vázquez-Agell M, Mena MP, Antúnez E, Fernández-Solá J, Nicolás JM, Lamuela-Raventós RM, Ros E, Estruch R. Down-regulation of adhesion molecules and other inflammatory biomarkers after moderate wine consumption in healthy women: a randomized trial. *Am J Clin Nutr*. 2007;86:1463-9.
- Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, Harsha D, Obarzanek E, Conlin PR, Miller ER 3rd, Simons-Morton DG, Karanja N, Lin PH. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 2001;344:3 – 10.
- Sánchez-Taínta A, Estruch R, Bulló M, Corella D, Gómez-Gracia E, Fiol M, Algorta J, Covas MI, Lapetra J, Zazpe I, Ruiz-Gutiérrez V, Ros E, Martínez-González MA; PREDIMED group. Adherence to a Mediterranean-type diet and reduced prevalence of clustered cardiovascular risk factors in a cohort of 3,204 high-risk patients. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2008;15:589-93.
- Sarwar N, Danesh J, Eiriksdottir G, Sigurdsson G, Wareham N, Bingham S, Boekholdt SM, Khaw KT, Gudnason V. Triglycerides and the risk of coronary heart disease: 10,158 incident cases among 262,525 participants in 29 Western prospective studies. *Circulation*. 2007;115:450-8.
- Sattar N, McConnachie A, Shaper AG, Blauw GJ, Buckley BM, de Craen AJ, Ford I, Forouhi NG, Freeman DJ, Jukema JW, Lennon L, Macfarlane PW, Murphy MB, Packard CJ, Stott DJ, Westendorp RG, Whincup PH, Shepherd J, Wannamethee SG: Can metabolic syndrome usefully predict cardiovascular disease and diabetes? Outcome data from two prospective studies. *Lancet* 2008;371:1927-1935.
- Schwingshackl L, Christoph M, Hoffmann G. Effects of Olive Oil on Markers of Inflammation and Endothelial Function-A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* 2015;7:7651-75.
- Schwingshackl L, Hoffmann G. Monounsaturated fatty acids, olive oil and health status: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Lipids Health Dis* 2014;13:154.
- Schwingshackl L, Missbach B, Dias S, König J, Hoffmann G. Impact of different

- training modalities on glycaemic control and blood lipids in patients with type 2 diabetes: a systematic review and network meta-analysis. *Diabetologia* 2014;57: 1789 – 1797.
- Shivappa N, Steck SE, Hurley TG, Hussey JR, Hébert JR. Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. *Public Health Nutr.* 2014;17:1689-96.
- Soedamah-Muthu SS, Ding EL, Al-Delaimy WK, Hu FB, Engberink MF, Willett WC, Geleijnse JM. Milk and dairy consumption and incidence of cardiovascular diseases and all-cause mortality: dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Am J Clin Nutr.* 2011;93:158-71.
- Simopoulos AP. The Mediterranean diets: What is so special about the diet of Greece? The scientific evidence. *J Nutr* 2001;131:3065S-73S.
- Tangney CC, Kwasny MJ, Li H, Wilson RS, Evans DA, Morris MC. Adherence to a Mediterranean-type dietary pattern and cognitive decline in a community population. *Am J Clin Nutr.* 2011;93:601-7
- The International Diabetes Federation: The IDF consensus worldwide definition of metabolic syndrome [article online]; 2005. In: http://www.idf.org/webdata/docs/MetS_def_update2006.pdf
- Tortosa A, Bes-Rastrollo M, Sanchez-Villegas A, Basterra-Gortari FJ, Nuñez-Córdoba JM, Martínez-González MA. Mediterranean diet inversely associated with the incidence of metabolic syndrome: The SUN prospective cohort. *Diabetes Care* 2007;30:2957-9
- Trichopoulou A. Traditional Mediterranean diet and longevity in the elderly: a review. *Public Health Nutr.* 2004;7:943-7.
- Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *N Engl J Med.* 2003;348:2599-608.
- Tsigos C, Stefanaki C, Lambrou GI, Boschiero D, Chrousos GP. Stress and inflammatory biomarkers and symptoms are associated with bioimpedance measures. *Eur J Clin Invest.* 2015;45:126-34.
- Tsioufis C. Cardiovascular disease statistics: The Greek reality. *Hellenic J Cardiol.* 2018 Dec 5.
- van Herpen-Broekmans WM, Klöpping-Ketelaars IA, Bots ML, Kluft C, Princen H, Hendriks HF, Tijburg LB, van Poppel G, Kardinaal AF. Serum carotenoids and vitamins in relation to markers of endothelial function and inflammation. *Eur J Epidemiol.* 2004;19:915-21.
- Warren-Gash C, Hayward AC, Hemingway H, Denaxas S, Thomas SL, Timmis AD, Whitaker H, Smeeth L. Influenza infection and risk of acute myocardial infarction in England and Wales: a CALIBER self-controlled case series study. *J Infect Dis.* 2012;206:1652-9.
- Wen YT, Dai JH, Gao Q. Effects of omega-3 fatty acid on major cardiovascular

- events and mortality in patients with coronary heart disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases. Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2014;24:470 – 475.
- Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E, Trichopoulos D. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr.* 1995;61:1402S-1406S.
- Woolf KJ, Zabad MN, Post JM, McNitt S, Williams GC, Bisognano JD. Effect of nicotine replacement therapy on cardiovascular outcomes after acute coronary syndromes. *Am J Cardiol.* 2012;110:968-70.
- World Health Organization: Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. Report of a WHO Consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 2000;894:i-xii, 1-253.
- World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2000;284:3043-5.
- World Health Organization. Guideline: Sugars Intake for Adults and Children. Geneva: World Health Organization, 2015.
- Wu JN, Ho SC, Zhou C, Ling WH, Chen WQ, Wang CL, Chen YM. Coffee consumption and risk of coronary heart diseases: a meta-analysis of 21 prospective cohort studies. *Int J Cardiol.* 2009;137:216-25.
- Yang X, Smith U. Adipose tissue distribution and risk of metabolic disease: does thiazolidinedione-induced adipose tissue redistribution provide a clue to the answer? *Diabetologia.* 2007;50:1127-39.
- Yannakoulia M, Poulimeneas D, Mamalaki E, Anastasiou CA. Dietary modifications for weight loss and weight loss maintenance. *Metabolism.* 2019 Jan 6.
- Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L; INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet.* 2004;364:937-52.
- Zampelas A, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Stefanadis C. Associations between coffee consumption and inflammatory markers in healthy persons: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr.* 2004;80:862-7.
- Zhang X, Shu XO, Li H, Yang G, Xiang YB, Cai Q, Ji BT, Gao YT, Zheng W. Visceral adiposity and risk of coronary heart disease in relatively lean Chinese adults. *Int J Cardiol.* 2013;168:2141-5.
- Zhang Z, Xu G, Liu D, Zhu W, Fan X, Liu X. Dietary fiber consumption and risk of stroke. *Eur J Epidemiol* 2013;28:119 – 130.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Δημοσιευμένα άρθρα από τη διδακτορική διατριβή

(τα κείμενα των άρθρων αποτελούν αναπόσπαστο τμήμα της διατριβής, και έχουν παρουσιαστεί στο κυρίως σώμα αυτής, στο Κεφάλαιο Αποτελέσματα)

Anti-Inflammatory Diet and 10-year (2002-2012) Cardiovascular Disease incidence: the ATTICA Study

Ekavi N Georgousopoulou¹, PhD, Georgia-Maria Kouli¹, MSc, Demosthenes B. Panagiotakos¹, PhD, Aikaterini Kalogeropoulou¹, MSc, Adela Zana¹, MSc, Christina Chrysohoou², MD, PhD, Constantine Tsigos¹, MD, PhD, Dimitrios Tousoulis², MD, PhD, Christodoulos Stefanadis², MD, PhD, Christos Pitsavos², MD, PhD.

¹ Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education Harokopio University, Athens, Greece

² First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, Greece

All authors state that they take the responsibility for all aspects of the reliability and freedom from bias of the data presented and their discussed interpretation.

Corresponding author

Professor Demosthenes B. Panagiotakos
46 Paleon Polemiston St., Glyfada,
Attica, 166 74, Greece
Tel. +30 210-9549332, & +30 210-9600719 (Fax)
E-mail. d.b.panagiotakos@usa.net

Acknowledgement of grant support

The ATTICA study is supported by research grants from the Hellenic Cardiology Society (HCS2002) and the Hellenic Atherosclerosis Society (HAS2003). Demosthenes Panagiotakos and Ekavi Georgousopoulou have received grants by the Coca-Cola Company.

Potential Conflict of interest: none.

Key words: Cardiovascular Diseases; Metabolic Syndrome X; Diet; Inflammation

Abstract

Background/ Objectives: The aim of the present work was to evaluate the association between the inflammatory potential of the diet and the 10-year cardiovascular disease (CVD) incidence in the ATTICA Study, and whether this is modified by baseline the presence or absence of-metabolic syndrome (MetS).

Methods: During 2001-2002, 3042 healthy adults (1514 men and 1528 women) living in the greater area of Athens were voluntarily recruited to the ATTICA study. In 2011-2012, the 10-year follow-up was performed in 2583 participants (15% of the participants were lost to follow-up). Incidence of fatal or non-fatal CVD event was recorded using WHO-ICD-10 criteria and MetS was defined by the National Cholesterol Education Program Adult Treatment panel III (revised) definition. A proxy dietary anti-inflammatory index (D-AII) score computed using participants' diet records.

Results: The 10-year fatal or non-fatal CVD event rate was 157 cases / 1000 participants. After adjusting for several confounding factors, an anti-inflammatory diet, as expressed by higher DII scores, was borderline associated with 10-year CVD incidence ($OR_{3rd \text{ tertile vs. } 1st \text{ tertile}}=0.98$, 95%CI: 0.96-1.01). This inverse association was also verified among participants without MetS at baseline ($OR_{3rd \text{ tertile vs. } 1st \text{ tertile}}=0.97$, 95%CI: 0.94-0.99), but not among participants with the MetS.

Conclusions: Results of the present work verified the protective effect of an anti-inflammatory diet towards the 10-year CVD incidence among participants without MetS. In contrast, the presence of MetS already at baseline seemed to impede this anti-inflammatory diet protective effect, which underlines the independent importance of MetS on CVD risk.

Key words: Cardiovascular Diseases; Metabolic Syndrome X; Diet; Inflammation

1. Introduction

Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of mortality in the world, representing 31% of the total global mortality in 2012. Metabolic disorders such as diabetes, hyper-lipidemia and abdominal obesity are traditional risk factors in the development of CVD. Recently, the concept of metabolic syndrome (MetS)-a clustering of co-existing risk factors-has received much attention [1]. It is a common condition, present in approximately 20-30% of the global adult population and has become a leading health problem [2]. The main components of MetS are insulin resistance, central adiposity, dyslipidemia, arterial hypertension and endothelial dysfunction. Over the years, various additional abnormalities such as chronic inflammation and thrombotic tendency have been added to the entity of the syndrome, all further promoting atherosclerosis [3]. Ridker et al found that each component of the metabolic syndrome is significantly associated with higher levels of C-reactive protein (CRP) [4]. Besides the issues surrounding the definition of the

MetS, the predictive role of the latter for the development of CVD has met much debate. In 2005, the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes emphasized the need to identify the cardiovascular risk associated with the MetS [5]. Moreover, a recent systematic review and meta-analysis found that the metabolic syndrome was associated with a 2-fold increase in cardiovascular events implying that patients with the metabolic syndrome were at higher risk for CVD compared to those without the syndrome [6].

As inflammatory processes may be a common ground for the development of atherosclerosis that lead to plaque rupture and thrombosis, dietary patterns rich in antioxidant components have been proposed for the prevention and treatment of CVD [6]. The traditional Mediterranean diet, which supplies an abundance of fruit, green vegetables, legumes, nuts and whole grains, associated with moderate consumption of olive oil and alcohol (especially with meals) and low consumption of red meat and butter has shown anti-inflammatory effects [7,8]. Specific nutrients such as n-3 fatty acids found in fish [9], polyphenols [10,11] from extra virgin oil and antioxidant components including β -carotene, vitamin E, vitamin C and flavonoids [12] from fruit and vegetables have consistently been shown to be associated with lower levels of inflammation. As a result, the Mediterranean diet due to its attribution to the lower generation of the proinflammatory milieu may also exert protective effects regarding the development of the MetS.

As stated before, even though the emerging role of chronic inflammation in MetS and CVD has stimulated research into the effect of dietary components on inflammatory indices, the potential protective effect of an anti-inflammatory diet regarding CVD has rarely been studied. Thus, the aim of this work was to evaluate whether adherence to an anti-inflammatory diet was associated with 10-year CVD incidence in the ATTICA study, and whether this was affected by the presence of MetS among apparently healthy adults at entry examination.

2. Materials and Methods

2.1 Sampling procedure at baseline examination

The ATTICA is a prospective population-based study that was carried in the greater metropolitan area of Athens in Greece, which included 78% urban and 22% rural population. The baseline examination of the study was carried out during 2001-2002 [13]. The sampling procedure anticipated enrolling only one participant per household; it was random, multistage and based on the age, sex distribution of the Attica region (census of 2001). Of the 4056 invited individuals at baseline examination, 3042 agreed to participate (75% participation rate); 1514 of the participants were men (18-87 years) and 1528 were women (18-89 years). All participants were interviewed by trained personnel (cardiologists, general practitioners, dietitians and nurses) who used a standard questionnaire. Exclusion of CVD at baseline evaluation was performed through a detailed clinical evaluation by the physicians of the study. The examination was performed in the individuals' homes or workplaces.

2.2 Baseline measurements

The baseline evaluation included information about demographic characteristics (age, sex), personal and family history of hypertension, hypercholesterolemia and diabetes, family history of CVD, dietary and other lifestyle habits (i.e., smoking status and physical activity). In the present analysis, smoking was defined through pack years. The evaluation of the dietary habits was based on a validated semi-quantitative food-frequency questionnaire [14], the EPIC-Greek questionnaire that was kindly provided by the Unit of Nutrition of Athens Medical School. The use of this FFQ collected information for the whole year before the enrolment, including several seasonal foods as well. Participants were asked if they had recently changed their diet, for any reason, but no one of them followed nutrition advice. The MedDietScore was also applied (range 0-55) to evaluate adherence to the Mediterranean diet [15]. For the ascertainment of physical activity status, the International Physical Activity Questionnaire was used (IPAQ) [16], as an index of weekly energy expenditure using frequency (times per week), duration (in minutes per time) and intensity of sports or other habits related to physical activity (in expended calories per time). Participants who did not report any physical activities were defined as physically inactive. Waist circumference was measured in the middle between the lowest rib and the iliac crest using an inelastic measuring tape to the nearest 0.5 cm, while waist to hip ration was also calculated. Body mass index (BMI) was calculated as weight (in kilograms) divided by standing height (in meters squared). Obesity was defined as BMI greater than 29.9 kg/m². Arterial blood pressure (3 recordings) was measured at the end of the baseline physical examination in a sitting position after resting for at least 30 minutes. Participants whose average blood pressure levels were greater or equal to 140/90 mmHg or were under antihypertensive medication were classified as having hypertension. Blood samples were collected from the antecubital vein between 8 to 10 a.m., in a sitting position after 12 hours of fasting and alcohol abstinence. Total serum cholesterol, HDL-cholesterol, and triglycerides were measured using chromatographic enzymic method in a Technicon automatic analyser RA-1000 (Dade Behring, Marburg, Germany). Hypercholesterolemia was defined as total cholesterol levels greater than 200 mg/dl or the use of lipids lowering agents. Blood glucose levels (mg/dl) measured with a Beckman Glucose Analyzer (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA). Diabetes mellitus (type 2) was defined according to the American Diabetes Association diagnostic criteria (i.e., blood glucose levels greater than 125 mg/dl classified participants as having diabetes). High sensitivity C-reactive protein was assayed by particle-enhanced immunonephelometry (N Latex, Dade-Behring Marburg GmbH, Marburg, Germany) with a range from 0.175 to 1100 mg/dl. Furthermore, participants with chronic inflammation or CRP levels above 10 mg/L were not included in the analyses

The calculation of the dietary inflammatory load of the participants' diet was according to the methodology and the rationale of the Dietary Inflammation Index (DII) that has been previously proposed by Shivappa and colleagues [17]. Thus, a Dietary Anti-Inflammation Index (D-AII) was developed based on participants' dietary habits. In particular, various foods of the study's database were scored with -1, +1 and 0 if they increased, decreased or had no effect, respectively, on specific inflammatory biomarkers (i.e., IL-4, IL-6, IL-10, IL-1 β , TNF- α , and C-reactive protein) according to the literature. Following to this procedure a specific Z-score for each food item according to participants' consumption was calculated and then was

multiplied by the aforementioned scoring. The sum of these products was used to generate the total D-All score for each participant [18]. The D-All score ranged from 10 to 77.

2.3 Definition of the Metabolic Syndrome (MetS)

Participants were classified as having the MetS or not, according to the NCEP ATP III (revised 2005) definition. MetS presence was defined if three or more of the following metabolic syndrome components were present: waist circumference ≥ 102 cm for males or ≥ 88 cm for females; triglyceride level ≥ 150 mg/dl; HDL cholesterol level < 40 mg/dL for males or < 50 mg/dL for females; blood pressure $\geq 130/85$ mmHg; fasting blood glucose ≥ 100 mg/dL [19].

2.4 Follow-up examination (2011-2012)

During 2011-12, the ATTICA Study's investigators performed the 10-year follow-up (mean follow-up time 8.41 y) [20]. Of the $n=3042$ initially enrolled participants, $n=2583$ were found during the follow-up (85% participation rate). Mean age at baseline ($\pm$ SD) was 45 ± 14 and 46 ± 14 years for women and men respectively (no difference with the overall sample). Of the individuals that were lost to follow-up (i.e., $n=459$), $n=224$ were not found because of missing or wrong addresses and telephone numbers that they have provided at baseline examination and $n=235$ because they denied being re-examined. Regarding CVD evaluation at follow-up clinically accurate data were obtained from $n=2020$ participants. In order to participate in the follow-up all participants were initially contacted through telephone calls. Afterwards, the investigators approached the $n=2583$ participants that were allocated in the follow-up and performed a detailed evaluation of their medical records. Among other characteristics, information of participants': (a) vital status (death from any cause or due to CVD), (b) development of CHD (i.e., myocardial infarction, angina pectoris, other identified forms of ischemia -WHO-ICD coding 410-414.9, 427.2, 427.6-, heart failure of different types, and chronic arrhythmias -WHO-ICD coding 400.0-404.9, 427.0 -427.5, 427.9-), (c) development of stroke (WHO-ICD coding 430-438), as well as management of these conditions, was assessed.

2.5 Bioethics

The study was approved by the Bioethics Committee of Athens Medical School and was carried out in accordance to the Declaration of Helsinki (1989) of the World Medical Association. Prior to the collection of any information, participants were informed about the aims and procedures of the study and provided their written signed consent.

2.6 Statistical analysis

Crude, non-fatal and fatal incidence rates of combined CVD (i.e., CHD or stroke) were calculated as the ratio of new cases to the number of people participated in the follow-up. Continuous variables were presented as mean values $\pm$ standard deviation and categorical variables are presented as frequencies. Associations between categorical variables were tested using the chi-square test, while between continuous variables using Pearson r or Spearman's ρ coefficients, for the normally and skewed variables respectively. Comparisons between mean values of normally distributed variables between those who developed an event and the rest of the participants were performed using Student's t-test, after controlling for equality of variances using the Levene's test. Comparisons of continuous variables that did not

follow the normal distribution were performed using the non-parametric U-test proposed by Mann and Whitney. The continuous variables were tested for normality through P-P plots. The hazard ratios (HR) and the corresponding 95% confidence intervals (CI) of developing a CVD event during the 10-year period, according to the participants' baseline characteristics were estimated using Cox proportional hazards models. The time to CVD event was recorded on annual basis. All reported *p*-values are based on two-sided tests and the corresponding 95% confidence interval (CI). SPSS version 21 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago, IL, U.S.A.) software was used for all the statistical calculations.

3. Results

3.1 Baseline characteristics and determinants of 10-year CVD incidence

The 10-year fatal or non-fatal CVD event rate was 157 cases / 1000 participants (i.e., $n = 317$ subjects, of them $n=198$ were men (198 cases / 1000 participants) and $n=119$ were women (117 cases / 1000 participants) (p for gender difference <0.001). The levels of D-AII score were positively correlated with HDL-cholesterol ($\rho=0.117$, $p<0.001$) and inversely associated with CRP, IL-6, triglycerides, total cholesterol as well as with glucose levels ($\rho= -0.084$, -0.174 , -0.152 , -0.128 , -0.126 , respectively. All p -values < 0.001).

Baseline characteristics of the studied sample, according to the 10-year CVD status, are presented in **Table 1**. Overall, prevalence of the MetS in the sample was 20%. As it can be seen, of the $n=317$ events, $n=129$ (41%) occurred in participants with MetS. The group of participants who developed CVD was mainly consisted by older men, heavier smokers, with increased BMI and waist to hip ratio, but also with increased levels of blood lipids, arterial blood pressure and glucose, as well as lower levels of adherence to the Mediterranean Diet (i.e., lower MedDietScore, with a mean score 23 out of 55) (all p -values < 0.001). Furthermore, patients with a CVD event had 17% lower D-AII score compared to those who did not develop a CVD event ($p<0.001$).

In **Table 2** the main characteristics of the participants by D-AII tertiles (<31 , $31-36$, >36) are presented. Overall, participants that belonged to the 1st D-AII tertile, i.e., reflecting an unhealthy inflammatory diet, as compared to those with higher D-AII scores (3rd tertile) were older, men, heavier smokers and lower adherers to the Mediterranean diet (i.e., reported MedDietScore 17 out of 55 vs. 29 out of 55). A lower D-AII score was also associated with increased baseline prevalence of various cardio-metabolic disorders of the participants (i.e., hypertension, diabetes mellitus, hypercholesterolemia) and MetS (all p -values < 0.001), as well as 10-year CVD incidence. As far as baseline inflammation state is concerned, participants that belonged to the 1st D-AII tertile had significantly higher C-RP levels, compared to those with higher D-AII scores. Then, the analysis was stratified according to the presence or not of the MetS; similar associations regarding D-AII score and participants' characteristics were noticed (**Table 2**). Regarding the benefit of an anti-

inflammatory diet to each of the metabolic syndrome's factors alone, abnormal waist, triglycerides, HDL-cholesterol, glucose and blood pressure levels have been associated to D-AII (*data not shown*). Participants at the lowest D-AII score, as compared to the highest D-AII tertile, were more likely to have abnormal waist circumference (49% vs. 15%), hypertriglyceridemia (30% vs. 10%), hyperglycemia (42% vs. 38%) and hypertension (46% vs. 15%) (*all p-values <0.001*). The participants did not differ for the prevalence of abnormally low HDL cholesterol level (<40 mg/dL).

3.2 Multi-variable analysis

However, the aforementioned comparisons were prone to residual confounding; therefore, a multi-adjusted analysis was performed. In **Table 3** results from multi-adjusted analyses are presented, evaluating the risk of having a CVD event (fatal or non-fatal). Overall, D-AII was borderline associated with lower 10-year CVD risk in the age, sex adjusted model (*model 1, Table 3*). As it can be seen, the aforementioned association remained even after adjusting for lifestyle behaviors (smoking, physical activity, BMI) (*model 2, Table 3*), as well as clinical characteristics (hypertension, diabetes mellitus, and hypercholesterolemia) and CRP (*model 3, Table 3*). This association could be interpreted in more ways, since a 10-unit increase of the D-AII score (which reflects a 12% relative increase) was associated with 19% decrease of 10-year CVD event risk. However, a significant interaction was observed between D-AII and MetS on CVD risk ($p<0.001$); thus, the analysis was stratified by presence or not of MetS at the baseline examination. The effect of the D-AII score remained significantly protective among participants who did not have MetS at baseline; however, D-AII score was no longer associated with 10-year CVD risk among MetS participants (**Table 3**).

4. Discussion

In this work, level of adherence to the anti-inflammatory diet as reflected by higher D-AII scores diet was borderline associated with the 10-year CVD incidence. The latter association remained even after adjusting for a wide range of potential confounders including lifestyle factors, clinical history features and biochemical markers. This protective effect was indicative in the overall sample and significant among MetS free participants. Thus, it could be hypothesised that atherosclerosis is a low-grade inflammatory disease and since the generation of the inflammatory milieu is a common ground for both CVD and MetS [21], increased consumption of antioxidants (fruit, vegetables, fibre) can moderate the above mentioned relationship by mitigating this low-grade systemic inflammation [22]. However, the anti-inflammatory diet was not protective against CVD outcomes among MetS participants (i.e., high-CVD risk individuals). A possible explanation could be that

atherosclerotic mechanisms, initiated from earlier stages of life since the participants already had MetS, may have influenced the effect of anti-inflammatory diet on CVD risk [23-25]. In any case the reported findings have a considerable importance for public health since they revealed that higher adherence to an anti-inflammatory diet was associated with reduced 10-year risk for CVD, whereas presence of MetS seems to impede the preventive role of this diet, a fact that needs special attention by public health strategies.

Chronic inflammation is now recognized as being a key etiological factor in the pathogenesis and progression of atherosclerosis. It is widely adopted that diet plays a central role in the regulation of chronic inflammation. An anti-inflammatory diet has been previously described on a basis of a Mediterranean-like dietary pattern, which is rich in fruit, vegetables, whole grains and fish, characterized by moderate consumption of olive oil and alcohol and low intake of red meat and sweets [18]. Moreover, diets high in micronutrients such as n-3 fatty acids, vitamin C, vitamin E, b-carotene and magnesium can be added to the entity of an anti-inflammatory dietary pattern [17, 18]. The potential beneficial effect of fruit and vegetables could lie in numerous antioxidant micronutrients such as vitamins and flavonoids that contribute to their anti-inflammatory effect. Mechanisms for the benefit of whole grains (rich in fibers) on inflammation appear to be related to reduced reactive oxidation, lipidemia, and blood pressure by inhibiting the absorption of fats, simple carbohydrates, or toxins [26]. Furthermore, long chain n-3 polyunsaturated fatty acids, found in fish, may inhibit the synthesis of systemic inflammatory proteins (IL-6 and CRP) and decrease expression of adhesion molecules in the endothelium [27, 28]. Ultimately, extra virgin oil rich in potent antioxidant phenolic compounds (hydroxytyrosol and oleuropein) modulates VEGF-induced angiogenic responses by preventing NADPH oxidase activity and expression [11]. Such evidence regarding higher consumption of specific anti-inflammatory foods on CVD prevention may encourage the idea of consuming foods and nutrients in isolation, without the added benefit on health offered by the consumption of a holistic anti-inflammatory dietary pattern. It could be suggested that understanding the complex role of an anti-inflammatory diet in chronic diseases is challenging since the bioactive antioxidant compounds act combined either additively or synergistically to modify a multitude of processes that are related to these diseases [29, 30].

The effect of an anti-inflammatory diet rich in antioxidants is differentiated on inflammation conditions depending on compounds. Fat-soluble vitamin A, E and carotenoids show a U-shaped dose-response curve which is not clear since baseline serum levels are rarely tested. Thus, it is difficult to determine whether further supplementation has no effect or becomes detrimental for cardiovascular health. Although long-term intake of vitamin C has minimal effect on CVD, other antioxidant compounds such as tocotrienols, tocopherols (except for α -tocopherol), resveratrol

and quercetin found in red wine, but also alpha-linolenic acid of nuts and N-Acetyl Cysteine of animal protein beneficially affect the cardiovascular system. Ultimately, the benefit of antioxidants is apparent in conditions of oxidative stress, when both dietary antioxidants and endogenous enzymes are depleted. Otherwise, in case of antioxidants' adequacy the beneficial effect of is borderline [31].

To our knowledge, very few prospective studies have investigated the association between the anti-inflammatory diets and risk of CVD. Two of these studies that were based on the Spanish cohorts PREDIMED and SUN, examined D-AII quartiles and have found a strong linear dose-response trend between D-AII scores and CVD risk [32, 33]. Another study, conducted in French adults in 2016, the SU.VI.MAX study, investigated the association of anti-inflammatory diet with the incidence of different CVD subtypes and found that a pro-inflammatory diet was associated with an elevated myocardial infarction risk [34]. Thus, our findings are in accordance with the above mentioned results, concluding to the fact that an anti-inflammatory diet has a cardioprotective effect by reducing the CVD risk. To the best of our knowledge, very few studies have investigated the association between anti-inflammatory diet and CVD among participants with and without MetS; a condition that poses individuals by default at high CVD risk. In this work it was confirmed that anti-inflammatory diet may reduce CVD risk among people at low risk, whereas, focusing on high CVD risk individuals the protective effect of this diet seems to disappear. Importantly, no beneficial or adverse effects are reported in case of antioxidant supplementation directed trials, where high pharmacological doses of vitamin E and b-carotene failed to reverse potential risk and CVD outcomes [35, 36]. This carries a specific public health message, since healthier choices coming from an anti-inflammatory diet compared to long-term dietary supplement use are more likely to reflect real practices of generally healthy individuals trying to reverse the results of several decades of oxidative stress.

The PREDIMED randomised clinical trial evaluated the long-term effect of Mediterranean diet on the incidence of CVD among individuals with MetS by randomly assigning participants to dietary interventions: Mediterranean diet supplemented with extra virgin oil, a Mediterranean diet supplemented with nuts or advice on following a low-fat diet (control group). The findings showed that either the extra-virgin oil fortified diet or the nuts-fortified diet seemed to reverse the baseline metabolic condition. In particular, an energy-unrestricted Mediterranean diet proved to be useful in reducing risks of central obesity and hyperglycemia in people at high risk of CVD [37]. However, the results are contradictory to the ones presented here, since in our population based study an anti-inflammatory diet did not reverse the CVD risk among participants with MetS at baseline. These differences could be attributed to the fact that the PREDIMED study, as clinical trials do, used an intervention design that maintained a close surveillance to its participants (frequent interviews, sessions with dietitians) in order to succeed the

maximum possible adherence to the dietetic interventions. The conditions formed in a clinical trial often abstain from real life especially when compared to prospective designed studies such as the ATTICA study.

4.1 Limitations

The present study has several strengths since its prospective design and large sample size from general population being followed for a long period of 10 years, allowed us to assess the incidence of several outcomes. Furthermore, the analyses performed had adequate internal and external controls, which decreased the likelihood of measurement error. However, some limitations of the study should be acknowledged. Considering the impact of an anti-inflammatory diet on metabolic syndrome presence, associations were extracted only for baseline data, since the 10-year follow-up included only CVD hard end-points. Thus, the metabolic syndrome's 10-year incidence and C-RP levels were not measured at 10-year follow-up. The anti-inflammatory diet was calculated indirectly, through the food frequency questionnaire used in the baseline evaluation, and under various assumption made (see Methods section). However, the D-AII-like version used here has been found valid in previous analyses and presented in detail in the literature. Moreover, the baseline evaluation was performed once and may be susceptible to measurement error. Still, the applied methodology was similar to those of other prospective epidemiological studies in Europe and the US, and therefore the results are comparable.

4.2 Conclusions

To conclude an anti-inflammatory diet may diminish the risk of CVD in healthy individuals, but may be impossible to reverse the results of several years of exposure to oxidative stress among participants with established MetS. Thus, the presented findings suggest that favouring anti-inflammatory diet at early stages of life could be found to act preventively as regards to the development of CVD and challenge us to evaluate potential antioxidant therapies that could be applied on public health action plans.

Acknowledgements

The authors would like to thank the ATTICA study group of investigators: Yannis Skoumas, Natasa Katinioti, Labros Papadimitriou, Constantina Masoura, Spiros Vellas, Yannis Lentzas, Manolis Kambaxis, Konstanitna Paliou, Vassiliki Metaxa, Agathi Ntzouvani, Dimitris Mpougatas, Nikolaos Skourlis, Christina Papanikolaou, Aikaterini Kalogeropoulou, Evangelia Pitaraki, Alexandros Laskaris, Mihail Hatzigeorgiou and Athanasios Grekas, Eleni Kokkou for either assistance in the initial physical examination and follow-up evaluation, Efi tsetsekou for her assistance in psychological evaluation and follow-up evaluation, as well as laboratory team: Carmen Vassiliadou and George Dedousis (genetic analysis), Marina Toutouza-Giotsa, Constantina Tselika and Sia Pouloupoulou (biochemical analysis) and Maria Toutouza for the database management.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Contributors

Demosthenes Panagiotakos, Ekavi Georgousopoulou and Georgia-Maria Kouli had the concept of the paper, performed data analyses and interpreted the results. Aikaterini Kalogeropoulou, Adela Zana, Christina Chrysohoou, Constantine Tsigos, Dimitrios Tousoulis, Christodoulos Stefanadis and Christos Pitsavos contributed by providing the design of the study, critically reviewed the paper and approved the final version.

6. References

1. Esposito K, Chiodini P, Colao A, Lenzi A, Giugliano D. Metabolic syndrome and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* 2012;35(11):2402-11.
2. Grundy SM. Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28(4):629-36.
3. Papageorgiou N, Tousoulis D. Is HDL a prognostic biomarker for coronary atherosclerosis? *Int J Cardiol*. 2014;174(3):465-7.
4. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 initially healthy American women. *Circulation* 2003;28;107(3):391-7.
5. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. American Diabetes Association; European Association for the Study of Diabetes. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28(9):2289-304.
6. Mottillo S, Filion KB, Genest J et al. The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56:1113-1132.
7. Perk J, De Backer G, Gohlke H et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012): the fifth joint task force of the European society of cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Int J Behav Med*. 2012;19(4):403-88.
8. Kastorini CM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB. The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(11):1299-313.
9. Tangney CC, Kwasny MJ, Li H, Wilson RS, Evans DA, Morris MC. Adherence to a Mediterranean-type dietary pattern and cognitive decline in a community population. *Am J Clin Nutr*. 2011;93(3):601-7.

10. Giugliano D, Ceriello A, Esposito K. The effects of diet on inflammation: emphasis on the metabolic syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(4):677-85.
11. Calabriso N, Massaro M, Scoditti E, et al. Extra virgin olive oil rich in polyphenols modulates VEGF-induced angiogenic responses by preventing NADPH oxidase activity and expression. *J Nutr Biochem*. 2016;28:19-29.
12. van Herpen-Broekmans WM, Klöpping-Ketelaars IA, Bots ML et al. Serum carotenoids and vitamins in relation to markers of endothelial function and inflammation. *Eur J Epidemiol*. 2004;19(10):915-21.
13. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chryschoou C, Stefanadis C. Epidemiology of Cardiovascular risk factors in Greece; aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. *BMC Public Health* 2003;3:32:1-9.
14. Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A. Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers. *Int J Epidemiol*. 1997;26: S118-27.
15. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2006; 16:559-68.
16. Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, et al. Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 2009;50(4):283-94.
17. Shivappa N, Steck SE, Hurley TG, Hussey JR, Hébert JR. Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. *Public Health Nutr*. 2014;17(8):1689-96.
18. Cavicchia PP, Steck SE, Hurley TG et al. A new dietary inflammatory index predicts interval changes in serum high-sensitivity C-reactive protein. *J Nutr*. 2009;139(12):2365-72.
19. Grundy SM, Brewer HB Jr., Cleeman JI, Smith SC Jr., Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004;109:433– 8.
20. Panagiotakos DB, Georgousopoulou EN, Pitsavos C et al. Ten-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence and all-cause mortality, in urban Greek population: The ATTICA Study. *Int J Cardiol*. 2015;180:178-84.
21. Synetos A, Papanikolaou A, Toutouzas K et al. Metabolic syndrome predicts plaque rupture in patients with acute myocardial infarction. An optical coherence study. *Int J Cardiol*. 2016;209:139-41.
22. Chryschoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Das UN, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA Study. *J Am Coll Cardiol*. 2004 ;44(1):152-8.

23. Czernichow S, Vergnaud AC, Galan P et al. Effects of long-term antioxidant supplementation and association of serum antioxidant concentrations with risk of metabolic syndrome in adults. *Am J Clin Nutr.* 2009;90(2):329-35.
24. Steinhubl SR. Why have antioxidants failed in clinical trials? *Am J Cardiol.* 2008;101(10A):14D-19D.
25. Hercberg S, Galan P, Preziosi P et al. The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med.* 2004;164(21):2335-42.
26. Widmer RJ, Flammer AJ, Lerman LO, Lerman A. The Mediterranean diet, its components, and cardiovascular disease. *Am J Med.* 2015;128(3):229-38.
27. He K, Liu K, Daviglus ML et al. Associations of dietary long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and fish with biomarkers of inflammation and endothelial activation (from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis [MESA]). *Am J Cardiol.* 2009;103(9):1238-43.
28. Coats AJ. Round table on "Current evidence and future perspectives on n-3 PUFA": publication of the Proceedings as a supplement to the International Journal of Cardiology. *Int J Cardiol.* 2013;170(2 Suppl 1):S1-2.
29. Salas-Salvadó J, Fernández-Ballart J, Ros E et al. Effect of a Mediterranean diet supplemented with nuts on metabolic syndrome status: one-year results of the PREDIMED randomized trial. *Arch Intern Med.* 2008;168(22):2449-58.
30. Carlsen MH, Halvorsen BL, Holte K et al. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. *Nutr J.* 2010;9:3.
31. Nicoll, R. Cardiovascular calcification and bone: a comparison of the effects of dietary and serum antioxidants. *International Cardiovascular Forum Journal.* 2015; 2:8-15.
32. Garcia-Arellano A, Ramallal R, Ruiz-Canela M et al. Dietary Inflammatory Index and Incidence of Cardiovascular Disease in the PREDIMED Study. *Nutrients.* 2015;7(6):4124-38.
33. Ramallal R, Toledo E, Martínez-González MA et al. Dietary Inflammatory Index and Incidence of Cardiovascular Disease in the SUN Cohort. *PLoS One.* 2015;10(9):e0135221.
34. Neufcourt L, Assmann KE, Fezeu LK et al. Prospective Association Between the Dietary Inflammatory Index and Cardiovascular Diseases in the Supplémentation en Vitamines et Minéraux AntioXydants (SU.VI.MAX) Cohort. *J Am Heart Assoc.* 2016;4(3):e002735.
35. Lonn E, Yusuf S, Hoogwerf B et al. Effects of vitamin E on cardiovascular and microvascular outcomes in high-risk patients with diabetes: results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy. *Diabetes Care.* 2002;25(11):1919-27.
36. Sacco M, Pellegrini F, Roncaglioni MC, Avanzini F, Tognoni G, Nicolucci A; PPP

- Collaborative Group. Primary prevention of cardiovascular events with low-dose aspirin and vitamin E in type 2 diabetic patients: results of the Primary Prevention Project (PPP) trial. *Diabetes Care*. 2003;26(12):3264-72.
37. Babio N, Toledo E, Estruch R et al. Mediterranean diets and metabolic syndrome status in the PREDIMED randomized trial. *CMAJ*. 2014;186(17):E649-57.

Table 1. Demographic, behavioral, lifestyle and clinical baseline characteristics and follow-up of the ATTICA Study participants by CVD status, ($n=2020$).

	Baseline $n = 2020$	Status at 10-year follow-up		<i>P</i>
		CVD event free $n=1703$	CVD events $n= 317$	
Age (years)	45 ± 14	43 ± 13	58 ± 13	<0.001
Gender, %male	50	48	63	<0.001
Pack years of cigarette smoking	496 ± 501	441 ± 425	767 ± 705	<0.001
Physical Activity, % physically active	41	40	41	0.95
Body Mass Index (kg/m ²)	26 ± 5	26 ± 5	28 ± 5	<0.001
Waist circumference (cm)	90 ± 15	89 ± 15	97 ± 14	<0.001
Waist to hip ratio	0.86 ± 0.1	0.85 ± 0.11	0.92 ± 0.11	<0.001
Hypertension, %yes	30	28	51	<0.001
Diabetes Mellitus, %yes	7	5	22	<0.001
Hypercholesterolemia, %yes	39	40	57	<0.001
MedDietScore (range 0-55)	26 ± 7	26 ± 6	23 ± 7	<0.001
Metabolic syndrome, %yes	20	18	41	<0.001
D-AII (10-77)	35 ± 8	35 ± 8	30 ± 7	<0.001

*p-values for the comparisons between CVD event and event-free group derived using the t-test, while for the comparisons of categorical variables using the chi-square test.

Table 2 Characteristics of the Study's participants according to the classification of the participants in tertiles of D-All score ($n=2020$).

	D-All tertiles			
	1 st tertile	2 nd tertile	3 rd tertile	P
All participants, n = 2020				
CVD event, %yes	27	25	4	<0.001
Age (years)	52 ± 16	52 ± 11	38 ± 11	<0.001
Gender, male, %	58	76	25	<0.001
Pack years of cigarette smoking	556 ± 531	654 ± 581	307 ± 287	<0.001
Physical Activity, % physically active	41	40	42	0.82
Body Mass Index (kg/m ²)	29 ± 5	28 ± 4	24 ± 3	<0.001
Waist circumference (cm)	97 ± 14	99 ± 13	81 ± 11	<0.001
Waist to hip ratio	0.90 ± 0.09	0.92 ± 0.11	0.80 ± 0.09	<0.001
Hypertension, %yes	45	48	14	<0.001
Diabetes Mellitus, %yes	12	12	1	<0.001
Hypercholesterolemia, %yes	47	56	30	<0.001
MedDietScore (range 0-55)	17 ± 6	26 ± 0.8	29 ± 5	<0.001
Metabolic Syndrome, %yes	30	37	6	<0.001
CRP (mg/L)	2.3 ± 2.8	2.4 ± 2.6	1.5 ± 2.1	<0.001
Participants with Metabolic Syndrome, n=442				
CVD event, %yes	33	30	6	<0.001
Age (years)	58 ± 14	52 ± 11	38 ± 11	<0.001
Gender, male, %	52	73	26	<0.001
Pack years of cigarette smoking	764 ± 637	726 ± 633	266 ± 204	<0.001
Physical Activity, % moderately active	32	34	35	0.96
Body Mass Index (kg/m ²)	31 ± 6	30 ± 4.	27 ± 4	<0.001
Waist circumference (cm)	105 ± 12	105 ± 13	96 ± 9	<0.001
Waist to hip ratio	0.92 ± 0.08	0.95 ± 0.10	0.86 ± 0.07	<0.001
Hypertension, %yes	64	65	30	<0.001
Diabetes Mellitus, %yes	27	21	6	0.006
Hypercholesterolemia, %yes	53	57	46	0.25
MedDietScore (range 0-55)	20 ± 6	25 ± 1	32 ± 9	<0.001
CRP (mg/L)	3.2 ± 3.2	2.9 ± 2.9	2.3 ± 2.2	0.23
Participants without Metabolic Syndrome, n=1578				
CVD event, %yes	24	21	4	<0.001
Age (years)	49 ± 17	51 ± 11	37 ± 11	<0.001
Gender, male, %	62	57	25	<0.001
Pack years of cigarette smoking	486 ± 473	610 ± 542	310 ± 293	<0.001
Physical Activity, % physically active	44	44	42	0.71

Body Mass Index (kg/m ²)	27 ± 4	28 ± 4	23 ± 3	<0.001
Waist circumference (cm)	93 ± 13	96 ± 12	80 ± 11	<0.001
Waist to hip ratio	0.89 ± 0.10	0.90 ± 0.10	0.80 ± 0.09	<0.001
Hypertension, %yes	37	37	13	<0.001
Diabetes Mellitus, %yes	6	7	1	<0.001
Hypercholesterolemia, %yes	45	55	29	<0.001
MedDietScore (range 0-55)	17 ± 4	26 ± 0.7	29 ± 5	<0.001
CRP (mg/L)	2.0 ± 2.6	2.1 ± 2.4	1.5 ± 2.1	<0.001

*p-values for the comparisons between CVD event and event-free group derived using the t-test, while for the comparisons of categorical variables using the chi-square test.

*Hazard Ratios derived from semi-parametric Cox proportional hazards models.

Table 3. Results from the multiple Cox proportional hazards survival analysis that was developed to evaluate the risk of having a cardiovascular event (outcome) according to the metabolic syndrome absence or presence ($n=2020$).

All participants	Hazard Ratios (HR), 95% Confidence Intervals		
	<i>Model 1</i>	<i>Model 2</i>	<i>Model 3</i>
Age (per 1 year)	1.09 (1.07-1.09)	1.09 (1.07-1.10)	1.08 (1.07-1.98)
Men vs. Women	1.79 (1.36-2.38)	1.61 (1.19-2.18)	1.38 (0.99-1.93)
D-All (per 1 unit)	0.97 (0.96-0.99)	0.98 (0.96-1.00)	0.98 (0.96-1.01)
Smokers vs. non smokers	-	1.31 (0.98-1.77)	1.36 (0.98-1.91)
Minimal Physical Activity	-	0.95 (0.71-1.26)	0.96 (0.70-1.32)
BMI (per 1 kg/m ² unit)	-	1.03 (1.00-1.07)	1.02 (0.99-1.07)
Hypertension (y/n)	-	-	1.24 (0.90-1.72)
Diabetes Mellitus (y/n)	-	-	1.69 (1.06-2.68)
Hypercholesterolemia (y/n)	-	-	1.09 (0.80-1.49)
CRP (per 1 mg/L)	-	-	1.04 (0.98-1.11)
Participants without MetS			
	<i>Model 1</i>	<i>Model 2</i>	<i>Model 3</i>
Age (per 1 year)	1.08 (1.06-1.09)	1.08 (1.06-1.09)	1.08 (1.06-1.10)
Men vs. Women	1.61 (1.14-2.27)	1.59 (1.10-2.29)	1.43 (0.95-2.16)
D-All (per 1 unit)	0.96 (0.94-0.99)	0.97 (0.94-0.99)	0.97 (0.94-0.99)
Smokers vs. non smokers	-	0.96 (0.67-1.37)	0.97 (0.65-1.44)
Minimal Physical Activity	-	0.97(0.69-1.38)	1.02 (0.69-1.51)
BMI (per 1 kg/m ²)	-	1.02 (0.97-1.06)	1.03 (0.97-1.08)
Hypertension (y/n)	-	-	0.90 (0.59-1.38)
Diabetes Mellitus (y/n)	-	-	0.94 (0.40-2.18)
Hypercholesterolemia (y/n)	-	-	1.09 (0.74-1.62)
CRP (per 1mg/L)	-	-	1.01 (0.93-1.100)
Participants with MetS			
	<i>Model 1</i>	<i>Model 2</i>	<i>Model 3</i>
Age (per 1 year)	1.0 (1.06-1.11)	1.10 (1.07-1.13)	1.09 (1.06-1.12)
Men vs. Women	1.86 (1.12-3.09)	1.38 (0.79-2.39)	1.08 (0.57-2.05)
D-All (per 1 unit)	1.00 (0.97-1.04)	1.00 (0.97-1.04)	0.99 (0.95-1.04)
Smokers vs. non smokers	-	2.67 (1.48-4.79)	3.02 (1.52-6.01)
Minimal Physical Activity	-	0.91 (0.55-1.52)	0.88 (0.49-1.56)
BMI (per 1 kg/m ²)	-	1.02 (0.96-1.08)	1.01 (0.95-1.07)
Hypertension (y/n)	-	-	1.86 (1.05-3.29)
Diabetes Mellitus (y/n)	-	-	2.09 (1.14-3.86)
Hypercholesterolemia (y/n)	-	-	0.97 (0.56-1.67)
CRP (per 1mg/L)	-	-	1.06 (0.97-1.17)

J-Shaped relationship between habitual coffee consumption and 10-year (2002-2012) Cardiovascular Disease incidence: the ATTICA Study

Georgia-Maria Kouli¹, MSc, Demosthenes B. Panagiotakos¹, PhD, Ekavi N Georgousopoulou^{1,2}, PhD, Duane D. Mellor², PhD, Christina Chrysoshoou³, MD, MSc, PhD, Adela Zana¹, MSc, Constantine Tsigos¹, MD, PhD, Dimitrios Tousoulis³, MD, PhD, Christodoulos Stefanadis³, MD, PhD, Christos Pitsavos³, MD, PhD.

¹ Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education Harokopio University, Athens, Greece

² Faculty of Health, University of Canberra, Canberra, Australian Capital Territory, Australia

³ First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, Greece

All authors state that they take the responsibility for all aspects of the reliability and freedom from bias of the data presented and their discussed interpretation.

Acknowledgements: The authors would like to thank the ATTICA study group of investigators: Yannis Skoumas, Natasa Katinioti, Labros Papadimitriou, Constantina Masoura, Spiros Vellas, Yannis Lentzas, Manolis Kambaxis, Konstanitna Paliou, Vassiliki Metaxa, Agathi Ntzouvani, Dimitris Mpougatas, Nikolaos Skourlis, Christina Papanikolaou, Aikaterini Kalogeropoulou, Evangelia Pitaraki, Alexandros Laskaris, Mihail Hatzigeorgiou and Athanasios Grekas, Eleni Kokkou for either assistance in the initial physical examination and follow-up evaluation, Efi Tsetsekou for her assistance in psychological evaluation and follow-up evaluation, as well as laboratory team: Carmen Vassiliadou and George Dedousis (genetic analysis), Marina Toutouza-Giotsa, Constantina Tselika and Sia Pouloupouloou (biochemical analysis) and Maria Toutouza for the database management.

Funding: D.B. Panagiotakos and E. Georgousopoulou received research grants by Coca-Cola SA. The ATTICA Study has been funded by research grants from the Hellenic Cardiology Society and the Hellenic Atherosclerosis Society.

Corresponding author

Professor Demosthenes B. Panagiotakos

46 Paleon Polemiston St., Glyfada, Attica, 166 74, Greece

Tel. +30 210-9549332, & +30 210-9600719 (Fax)

E-mail. d.b.panagiotakos@usa.net

Abstract

Purpose: The purpose of this work was to evaluate the association between coffee consumption and 10-year cardiovascular disease (CVD) incidence in the ATTICA Study, and whether this is modified by baseline the presence or absence of metabolic syndrome (MetS) at baseline. **Methods:** During 2001-2002, 3042 healthy adults (1514 men and 1528 women) living in the greater area of Athens were voluntarily recruited to the ATTICA study. In 2011-2012, the 10-year follow-up was performed in 2583 participants (15% of the participants were lost to follow-up). Coffee consumption was assessed by a validated food-frequency questionnaire at baseline (abstention, low, moderate, heavy). Incidence of fatal or non-fatal CVD event was recorded using WHO-ICD-10 criteria and MetS was defined by the National Cholesterol Education Program Adult Treatment panel III (revised) criteria. **Results:** Overall, after controlling for potential CVD risk factors, the multivariate analysis revealed a J-shaped association between daily coffee drinking and the risk for a first CVD event in a 10-year period. Particularly, the odds ratio for low (<150 ml/d), moderate (150-250 ml/d) and heavy coffee consumption (>250 ml/d), compared to abstention, were 0.44 (95%CI: 0.29-0.68), 0.49 (95%CI: 0.27-0.92) and 2.48 (95%CI: 1.56-1.93) respectively. This inverse association was also verified among participants without MetS at baseline but not among participants with the MetS. **Conclusions:** These data supports the protective effect of drinking moderate quantities of coffee (equivalent to approximately 1-2 cups daily) against CVD incidents. This protective effect was only significant for participants without MetS at baseline.

Key words: Cardiovascular Diseases; Metabolic Syndrome X; coffee; inflammation

1. Introduction

Coffee is one of the most commonly consumed beverages around the world. Because of its popularity, investigating the association between coffee consumption and chronic disease risk has important public health consequences. Coffee is a complex chemical mixture, containing >1000 bioactive compounds with potential beneficial properties, including insulin-sensitizing and anti-inflammatory effects [1, 2]. Notably, chronic low-grade inflammation underlies the pathogenesis of all components of metabolic syndrome (MetS): hyperglycemia, insulin resistance, hypertension, obesity, and dyslipidemia, all of which are risk factors for cardiovascular disease. Therefore, dietary interventions designed to reduce the inflammatory procedure could be of benefit to reduce the cardiovascular disease (CVD) risk [3]. Existing data do support the effect of habitual coffee consumption on cardiovascular health.

Since 2000, the association between coffee consumption and other CVD outcomes including stroke, heart failure, and total CVD mortality has been widely investigated. However, the nature of this association remains unclear since many prospective cohort studies reported conflicting data. A recent cohort study by Liu et al found that coffee consumption (4 cups/day) was associated with increased mortality, but the association was no longer significant for persons under 55 years old [4], whereas the EPIC study reported that coffee consumption was not associated with risk of CVD [5]. Interestingly, in 2014, a meta-analysis of 21 prospective studies and 997,464 participants (121,915 deaths), found a non-linear dose-response relationship between coffee and CVD mortality suggesting that the largest risk reductions were observed for 3 cups/day for CVD mortality (21% lower risk) [2]. These results for coffee-CVD mortality were comparable to those reported in a previous meta-analysis including 36 studies and 1,279,804 participants (36,352 CVD cases) that strengthened the coffee-CVD non-linear U-shaped relationship, i.e. moderate coffee consumption (3-5 cups/day) was associated with lower CVD risk, and heavy coffee consumption (≥ 6 cups/day) was neither associated with a higher nor a lower risk of CVD [6].

While current research aims to reveal the actual association between coffee consumption and CVD risk little is known about the potential mediators of this association. Prolonged inflammatory processes is closely related to oxidative stress and contribute to the pathogenesis of atherosclerosis [7,8]. Epidemiological data have found that coffee is associated with reduced biomarkers of oxidative stress since several compounds found in coffee (polyphenols i.e. chlorogenic acid; volatile aroma compounds e.t.c.) contribute to its antioxidant capacity; moreover, several studies have revealed a beneficial, acute effect of coffee consumption on endothelial function [9, 10]. As a result, coffee drinking increases plasma antioxidants that can antagonize the oxidative stress and inflammation process, which both underlie atherogenesis and increase aortic stiffness.

Despite the increasing understanding of the emerging role of chronic inflammation in CVD has stimulated research into the potential protective effect of coffee consumption, a major source of dietary antioxidants, the evaluation of inflammatory and oxidative stress indices on coffee-CVD relationship in the long-term has rarely been studied. Furthermore, very few studies have tested the aforementioned association at high CVD risk people, e.g., hypertensive, diabetic [3, 11]. Therefore, the aim of the current work was to prospectively examine the associations of coffee consumption and the 10-year CVD incidence in the participants of the ATTICA study, and examine whether this is modified by chronic inflammation and oxidative stress status. Secondly, we wished to assess whether this association was affected by the presence of MetS among apparently healthy adults. By answering the tested hypotheses new insights in the coffee consumption - CVD risk associations will be revealed.

2. Materials and Methods

2.1 Sampling procedure at baseline examination

The ATTICA Study is a prospective population-based study that was carried out in the greater metropolitan area of Athens in Greece, which included 78% urban and 22% rural population. The baseline examination of the study was carried out during 2001-2002 [12]. The sampling procedure anticipated enrolling only one participant per household; it was random, multistage and based on the age, sex distribution of the Attica region (census of 2001). Of the 4056 invited individuals at baseline-examination, 3042 agreed to participate (75% participation rate); 1514 of the participants were men (18-87 years) and 1528 were women (18-89 years). All participants were interviewed by trained personnel (cardiologists, general practitioners, dieticians and nurses) who used a standard questionnaire. Exclusion of CVD at baseline evaluation was performed through a detailed clinical evaluation by the physicians of the study. The examination was performed in the individuals' homes or workplaces.

2.2 Baseline measurements

The baseline evaluation included information about demographic characteristics (age, sex), personal history of hypertension, hypercholesterolemia and diabetes, dietary and other lifestyle habits (i.e., smoking status, physical activity, education). In the present analysis, smoking was defined through years of smoking while education was measured in years of school. The evaluation of the dietary habits was based on a validated semi-quantitative food-frequency questionnaire [13], the EPIC-Greek questionnaire that was kindly provided by the Unit of Nutrition of Athens Medical School. On the basis of the FFQ, all participants were asked about their usual frequency (average) of daily coffee consumption.

The MedDietScore was also applied (range 0-55) to evaluate adherence to the Mediterranean diet [14]. For the ascertainment of physical activity status the International Physical Activity Questionnaire was used (IPAQ) [15], as an index of weekly energy expenditure using frequency (times per week), duration (in minutes per time) and intensity of sports or other habits related to physical activity (in expended calories per time). Participants who did not report any physical activities were defined as physically inactive. Waist circumference was measured in the middle between the lowest rib and the iliac crest using an inelastic measuring tape to the nearest 0.5 cm, while waist to hip ratio was also calculated. Arterial blood pressure (mean of 3 recordings) was measured at the end of the baseline physical examination in a sitting position after resting for at least 30 minutes. Participants whose average blood pressure levels were greater or equal to 140/90 mmHg or were under antihypertensive medication were classified as having hypertension. Blood samples were collected from the antecubital vein between 8 to 10 am, in a sitting position after 12 hours of fasting and alcohol abstinence. Blood lipids (total cholesterol, HDL-cholesterol) and triglycerides were measured using chromatographic enzymic method in a Technicon automatic analyser RA-1000 (Dade Behring, Marburg, Germany). Hypercholesterolemia was defined as total cholesterol levels greater than 200 mg/dl or the use of lipids lowering agents. Blood glucose levels (mg/dl) were measured with a Beckman Glucose Analyzer (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA). Diabetes mellitus (type 2) was defined according to the American Diabetes Association diagnostic criteria (i.e., blood glucose levels greater than 125 mg/dl classified participants as having diabetes) [16]. Participants were classified as having the MetS or not, according to the NCEP ATP III (revised 2005) definition. MetS presence was defined if three or more of the following metabolic syndrome components were present: waist circumference ≥ 102 cm for males or ≥ 88 cm for females; triglyceride level ≥ 150 mg/dl; HDL cholesterol level < 40 mg/dL for males or < 50 mg/dL for females; blood pressure $\geq 130/85$ mmHg; fasting blood glucose ≥ 100 mg/dL [17].

High sensitivity C-reactive protein was assayed by particle-enhanced immunonephelometry (N Latex, Dade-Behring Marburg GmbH, Marburg, Germany). Participants with chronic inflammation or CRP levels above 10 mg/L were not included in the analyses. Furthermore, inflammatory markers, such as homocysteine, fibrinogen, Interleukin-6 (IL-6)), and oxidative stress markers (plasma oxidized LDL-cholesterol (ox-LDL)), were also measured.

2.3 Coffee consumption

All participants were asked about average coffee drinking habits during the preceding year. Consumption of all reported types of coffee (i.e., instant coffee, brewed coffee, Greek-type coffee, cappuccino or filtered coffee) were recorded in cups of coffee per day (1 cup = 150 ml) and then recalculated (in ml), after adjustment for 28% caffeine containment [18] for analytical reasons. Thus, after this

re-calculation, 1 “adjusted” cup of coffee (i.e., 150 ml) could be equivalent to 450 ml brewed coffee or 300 ml instant coffee. According to the observed distribution of coffee drinking pattern, four coffee consumption categories were created: abstention, low (0-150 ml/day), moderate (150-250 ml/day) and high (>250 ml/day). Information of decaffeinated coffee drinking was also recorded, but not used in the analysis because of the very small number of participants reported drinking this type of coffee (n=47).

2.4 Follow-up examination (2011-2012)

During 2011-12, the ATTICA Study’s investigators performed the 10-year follow-up (mean follow-up time 8.41 y) [19]. Of the $n=3042$ initially enrolled participants, $n=2583$ were found during the follow-up (85% participation rate). The participants that were lost to follow-up compared to those who were not lost did not differ in terms of coffee intake, physical activity, smoking habits e.t.c. ($p>0.05$). Mean age at baseline ($\pm$ SD) was 45 ± 14 and 46 ± 14 years for women and men respectively (no difference with the overall sample). Of the individuals that were lost to follow-up (i.e., $n=459$), $n=224$ were not found because of missing or wrong addresses and telephone numbers that they have provided at baseline examination and $n=235$ because they denied being re-examined. Regarding CVD evaluation at follow-up clinically accurate data were obtained from $n=2020$ participants. In order to participate in the follow-up all participants were initially contacted through telephone calls. Afterwards, the investigators approached the $n=2583$ participants that were allocated in the follow-up and performed a detailed evaluation of their medical records. In particular, from June 2011 to June 2012 information about participants': (a) vital status (death from any cause or due to CVD), (b) development of CHD (i.e., myocardial infarction, angina pectoris, other identified forms of ischemia -WHO-ICD coding 410-414.9, 427.2, 427.6-, heart failure of different types, and chronic arrhythmias -WHO-ICD coding 400.0-404.9, 427.0 -427.5, 427.9-), (c) development of stroke (WHO-ICD coding 430-438). The study’s sample size was adequate to achieve 92% statistical power to evaluate relative risk of 0.70 between the null and the alternative two-sided hypothesis, when the exposure variable (i.e., coffee drinking category) was increased by 1-unit and with a significance level (alpha) of 0.05

2.5 Bioethics

The study was approved by the Bioethics Committee of Athens Medical School and was carried out in accordance to the Declaration of Helsinki (1989) of the World Medical Association. Prior to the collection of any information, participants were informed about the aims and procedures of the study and provided their written signed consent.

2.6 Statistical analysis

Crude, non-fatal and fatal incidence rates of combined CVD (i.e., CHD or stroke) were calculated as the ratio of new cases to the number of people participated in the

follow-up. Incidence by coffee drinking status was calculated as the ratio of new cases in each coffee category to the number of participants in the same category. The continuous variables were tested for normality through P-P plots and presented as mean values $\pm$ standard deviation or as median (1st, 3rd quartile) if not normally distributed while categorical variables were presented as relative frequencies. Associations between categorical variables were tested using the chi-square test, while between continuous variables using Pearson *r* or Spearman's *rho* coefficients, for the normally and skewed variables respectively. Comparisons of mean values of normally distributed variables by coffee drinking status were performed using analysis of variance (ANOVA) and post-hoc analyses using Bonferroni rule were performed to account for the inflation of the probability of type-I error. Comparisons between mean values of normally distributed variables between those who developed an event and the rest of the participants were performed using Student's t-test, after controlling for equality of variances using the Levene's test. Comparisons of continuous variables that did not follow the normal distribution were performed using the non-parametric U-test proposed by Mann and Whitney and the Kruskal-Wallis H-test. The hazard ratios (HR) and the corresponding 95% confidence intervals (CI) of developing a CVD event during the 10-year period, according to the participants' baseline characteristics were estimated using Cox proportional hazards models. The time to CVD event was recorded on annual basis. Furthermore, non-linear trend analysis was applied in order to evaluate curve fitting on the effect size measures (hazard ratios) between coffee drinking categories and the outcome. Trend analysis was applied by fitting smoothing lines (linear, quadratic or cubic) on the odds ratios derived by age-sex adjusted analysis, by coffee drinking category (coffee was categorized in 4 categories to perform this analysis, abstention, 0-150 ml, 150-250 ml, >250 ml); the corresponding R-squared values indicated which line best fit the observed data. All reported *p*-values are based on two-sided tests. SPSS version 21 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago, IL, U.S.A.) software was used for all the statistical calculations.

3. Results

3.1 Ten-year CVD incidence

The 10-year fatal or non-fatal CVD event rate was 157 cases/ 1000 participants (*n*=317), 198 being in males (198 cases/ 1000 participants) and 119 being in females (117 cases/ 1000 participants) (*p* for gender difference <0.001).

3.2 Participants' baseline characteristics by coffee drinking status

Baseline characteristics of the studied sample, by adjusted coffee drinking status (0, <150ml/d, 150-250ml/d, >250 ml/d), are presented in **Table 1**. As it can be seen, compared to abstainers, the group of participants, who were drinking daily lower amounts of coffee up to 1 adjusted cup (<150 ml/d), included younger men, with increased waist to hip ratio, with increased arterial blood pressure and glucose,

and decreased levels of blood lipids, who adhered closer to the Mediterranean diet, (all p -values <0.001). Similarly, subjects drinking 1 to 2 adjusted cups of coffee (150-250 ml/d), compared to coffee non-drinkers, were more likely to be younger male participants, lighter smokers, more strongly adhering to the Mediterranean diet (i.e. higher MedDietScore, mean score of 27/55), but also less likely to have a history of hypertension, diabetes, hypercholesterolemia and therefore MetS. Finally, those reporting drinking over 2 adjusted cups of coffee daily (>250 ml/d) when compared to abstainers were the most likely to be male, heavier smokers, obese, lower adherers to the Mediterranean diet, with increased susceptibility to hypertension, diabetes mellitus, hypercholesterolemia and MetS. No significant differences were observed out as regards physical activity levels ($p=0.38$).

Mean circulating concentrations of participants' inflammation state characteristics, by coffee consumption categories, are also shown in **Table 1**. Overall, participants who consumed low and moderate amounts of coffee daily (barely 1-2 cups of coffee) had on average lower ox-LDL, lower fibrinogen but higher homocysteine concentrations, compared to coffee abstainers. Similar results were extracted for fibrinogen and homocysteine levels for heavy coffee drinkers, consuming over 2 cups of coffee daily, but not for ox-LDL levels which were increased. As for the rest of the inflammatory biomarkers, IL-6 was comparable among the 4 groups, while CRP levels did not differ significantly by coffee drinking status ($p=0.15$).

3.3 10-year CVD incidence and coffee drinking

The 10-year incidence of CVD (**Table 1**) was $n=60$ (19%) among coffee abstainers, $n=175$ (16%) among participants who consumed lower amounts of coffee, $n=23$ (7%) among moderate drinkers and $n=54$ (25%) among heavy coffee drinkers ($p<0.001$). Based on these rates a trend analysis was applied; a J-shape association was revealed (p for parabolic trend = 0.05).

However, all the afore mentioned comparisons may be prone to bias due to potential factors; therefore multi-adjusted analysis was performed, controlling for various CVD covariates (see **Table 2**). Age-sex adjusted analysis revealed a significant association between coffee drinking and CVD incidence (**Table 2, Model 1**); and a J-shape trend was evident ($p<0.05$). When personal and behavioral characteristics were taken into consideration (i.e., waist to hip circumference ratio, ever smoking, physical activity status, education and adherence to the Mediterranean diet), drinking 1-2 cups of coffee/d was inversely associated with CVD incidence compared to abstention, whereas drinking > 2 cups of coffee daily was associated with increased risk of CVD events (**Table 2, Model 2**); still J-shape trend was evident even after adjusting for the aforementioned lifestyle behaviors. The aforementioned findings regarding the J-shaped trend of coffee drinking on CVD risk remained significant even after controlling for the classical CVD risk factors (i.e., hypertension, diabetes, hypercholesterolemia) (**Table 2, Model 3**). Moreover, and in order to

further take into account the role of smoking, a restricted analysis only among never smokers was applied and revealed a similar trend of coffee drinking on CVD risk (HR, 95%CI for abstainers/low/moderate/high coffee drinkers: 1 (*Reference*), 0.46 (0.27, 0.77), 0.49 (0.21, 1.18) and 3.15 (1.86, 5.14), respectively). Coffee intake might also be confounded by specific dietary habits, i.e., intakes of fruits, juices and sugar sweetened beverages; additional analysis based on *Model 3* (Table 2) showed that the J-shaped trend of coffee drinking on CVD risk remained significant even after controlling for the aforementioned covariates (HR, 95%CI for abstainers/low/moderate/high coffee drinkers: 1 (*Reference*), 0.48 (0.32, 0.73), 0.62 (0.34, 1.11) and 2.85 (1.86, 4.38), respectively). Additionally, taking into account that the ATTICA study had previously shown a dose-response relation between coffee consumption and inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, oxidative - LDL, homocysteine) [20], the latter biomarkers were entered consecutively and separately in the latest fully adjusted *Model 3*; no alterations as regards the observed J-shaped trend of coffee drinking on CVD risk were found.

Notably, a significant interaction was observed between coffee drinking and presence of MetS on 10-year CVD risk (*p for interaction* = 0.012). This was also supported by the significant association observed between quantity of coffee drinking and prevalence of MetS (**Table 1**). Thus, the analysis was repeated by MetS group at the baseline examination. Based on the additional stratified analysis, it was observed that low and moderate daily coffee consumption compared to coffee abstention remained significantly protective against CVD risk among participants who did not have MetS at baseline (OR for 0-150ml daily vs. abstainers =0.26;95% CI: 0.16, 0.54, HR for 150-250ml daily vs. abstainers =0.18;95% CI: 0.06, 0.52); however coffee consumption was not associated with 10-year CVD risk among participants with MetS.

4. Discussion

The present study demonstrated a J-shaped association between coffee consumption and the 10-year CVD incidence. In particular, low and moderate coffee consumption (150-250 ml coffee/d), was associated with 56% and 51% lower CVD risk respectively, compares to abstention, whereas heavy consumption (>250 ml coffee/d) was associated with a significant 2.5-fold increase in risk, independently of the known potential confounders including lifestyle factors and clinical characteristics. However, in an effort to identify potential mediators of the above mentioned association we failed to identify any of the known inflammatory biomarkers as having such a mediating effect. The protective effect of consuming daily 1-2 cups of coffee daily was significant in the overall sample and among MetS free participants but not in high-CVD risk individuals (i.e MetS subjects), indicating that atherosclerotic mechanisms have already been triggered in earlier stages of their life and have, thus possibly neutralizing the protective effect of coffee on CVD risk [21-23]. In any case, the reported findings offer a considerable message for

public health i.e. long-term low and moderate daily coffee drinking may be of benefit on 10-year risk for CVD, whereas heavy consumption is associated with significantly increased risk in healthy adults.

A potential biological mechanism for the inverse association of low and moderate coffee consumption with 10-year CVD incidence may be related, according to recent studies, to the fact that coffee is a source of antioxidants that may influence oxidative stress and endothelium function [3,24]. An imbalance of antioxidant defences and the production of reactive oxygen species can contribute to the pathogenesis and progression of atherosclerosis via various pathways [25, 26]. During inflammation, the produced, by active NADPH oxidase, superoxide (O_2^-) leads to other reactive oxygen species. Apart from the respiratory burst, mitochondrial electron transport chain during inflammation produces extra O_2^- that generates oxidative stress [27]. Chlorogenic acid (CGA) is the most prevalent polyphenol in coffee and has high bioavailability. Moreover, recent data support that polyphenols offer protection by stimulating endogenous antioxidant defence systems through specific gene response elements that are inducible by oxidative stress [28, 29]. In the context, CGA, the most highly prevalent polyphenol in coffee, may play a key role in acutely raising the plasma antioxidant capacity in healthy adults, thereby lowering the risk of atherosclerosis [30, 31].

The observed J-shaped association between coffee consumption and CVD risk (i.e., low/moderate consumption seems beneficial, whereas increased consumption may be harmful) can also be based on other plausible biological mechanisms. In particular, coffee is a composite brew with several bioactive compounds including caffeine, CGA, diterpene alcohols, minerals such as potassium and magnesium, niacin and lignans [1]. Several studies have concluded that coffee has been inversely associated with diabetes risk and CRP levels [9,10]. However, caffeine in higher concentrations has been associated with acute increases in blood pressure and adverse effects on arterial stiffness and endothelium dependent vasodilation [6]. Furthermore, long-term heavy coffee consumption has been associated with risk of hypertension and higher homocysteine levels [11]. Thus, it remains to be further studied if the association between coffee and homocysteine levels explains the J-shaped association. It is therefore possible that with low and moderate coffee consumption, beneficial effects may be greater, whereas with heavy coffee consumption, negative effects may counterbalance the positive ones.

To our knowledge, based on a large sample of healthy subjects, this prospective study is one of the few in the literature that suggests a J-shaped association between coffee consumption and the risk of developing CVD [2, 4-6,10]. Until recently case-control studies have reported a J-shaped relation between coffee consumption and the risk of CVD. In accordance with our findings the Greek CARDIO2000 case-control study examined the association between coffee consumption and the risk of developing acute coronary syndromes based on a large

sample of coronary patients and CVD-free controls. After controlling for the presence of known CVD confounders, the analysis raised a J-shaped association between the quantity of coffee consumed per day and the risk of developing acute coronary syndromes. Moderate coffee consumption (<300 ml coffee/d), was associated with a lower coronary risk, whereas heavy or very heavy consumption (>300 ml/d) was associated with a significant increase in risk [32]. This result may explain partially the contradictory results reports by earlier studies.

Although many studies in the past have attempted to assess the role of coffee consumption on CVD incidence, the findings remain inconsistent mainly as a result of the different study designs. With the exception of few studies, a recent meta-analysis of prospective cohort studies has concluded that moderate coffee (3-5 cups/d) consumption was inversely significantly associated with CVD risk, while heavy consumption was not, demonstrating a non-linear U-shaped association [6]. However, residual confounding by smoking may have biased the association for heavy coffee drinkers (higher prevalence of cigarette smoking) upward. The U- or J-shaped association could be attributed to the coffee's preparation: at higher intakes of coffee prepared, the intake of atherogenic coffee lipids may outweigh the potentially beneficial micronutrient compounds of coffee. Cohort studies generally showed a null association. Differences among studies in sample sizes, the characteristics of the study populations, the assessment methods for coffee consumption, and the statistical adjustments may have contributed to divergent results [33]. Since the true association between coffee consumption and CVD risk is likely to be modest and non linear, the differences in coffee assessments and covariate adjustments may result in changing the magnitude and even the direction of the associations and thus lead to different conclusions.

The major strengths of the present study are its prospective design, the large sample size from general population and a long period of follow up (10-years), which allowed us to assess the incidence of several outcomes. It is the first prospective study suggesting a J-shaped association between coffee consumption and 10-year CVD incidence, compared to case-control studies where recall biases affect their results. Another advantage of our study was that we conducted a first-event dose-response analysis which provides a comprehensive description of the shape of low/moderate and heavy coffee consumption that can be proved to be cardioprotective or detrimental for cardiovascular health. Particularly, our study is one of the few that extracted significant protective results for minimum daily coffee quantities reaching barely 1-2 cups of coffee that can contribute to the CVD prevention. Furthermore, our results remained significant when potential CVD confounders were taken into consideration among participants with or without the MetS; a condition that poses individuals by default at high CVD risk. In this work it was confirmed that low and moderate coffee consumption may reduce CVD risk among people at low risk, whereas focusing on high CVD risk individuals (e.g. with

MetS) the protective effect of this habit seems to disappear. This carries a specific health message, since the adoption of dietary habits are more likely to reflect real practices of generally healthy individuals trying to reverse the results of several decades of oxidative stress.

4.1 Limitations

However, some limitations of the study should be acknowledged. Firstly, coffee consumption was assessed by FFQ at the time of recruitment and relied on participants' self report even though, results from dietary validation studies suggest that the use of FFQ for coffee self-report assessment is highly reproducible and agrees well with assessments using diet records [34]. Secondly, the number of cases is relatively few, but according to our statistical power analysis a-posteriori the achieved power was enough to evaluate the observed associations in our results. Furthermore, some participants may have changed their coffee habits during the long follow-up of 10 years, but the same research methodology has been widely used in prospective studies, thus, the results are comparable. As previously described, filtering may alter coffee's metabolic effects. The method of coffee preparation was not assessed in our study in our study population, and we were therefore not able to study whether the association between coffee consumption and CVD depends on the filtering of coffee. Next, we did not include information of decaffeinated coffee drinking which was also recorded, but not used in the analyses because of the very small number of participants reported drinking this type of coffee (n=47).

4.2 Conclusions

Our findings provide an important public message, since moderate coffee appears to be beneficial on long-term CVD prevention, whereas heavy consumption is associated with significant increase of the 10-year CVD risk. The present study suggests a J-shaped coffee-CVD association that may partially explain the contradictory findings reported by previous studies. Interestingly, none of the inflammatory factors, speculated to mediate the coffee CVD association, seemed to modify significantly the association we observed. Finally, our findings that among subjects with MetS and hence after several years of exposure to oxidative stress, the protective effect of low to moderate coffee consumption against CVD was lost, suggests that it can only have such beneficial/preventive effects if such a habit is acquired at a relatively young age.

Acknowledgements

The authors would like to thank the ATTICA study group of investigators: Yannis Skoumas, Natasa Katinioti, Labros Papadimitriou, Constantina Masoura, Spiros Vellas, Yannis Lentzas, Manolis Kambaxis, Konstanitna Paliou, Vassiliki Metaxa, Agathi Ntzouvani, Dimitris Mpougatas, Nikolaos Skourlis, Christina Papanikolaou, Aikaterini Kalogeropoulou, Evangelia Pitaraki, Alexandros Laskaris, Mihail Hatzigeorgiou and Athanasios Grekas, Eleni Kokkou for either assistance in the initial

physical examination and follow-up evaluation, Efi Tsetsekou for her assistance in psychological evaluation and follow-up evaluation, as well as laboratory team: Carmen Vassiliadou and George Dedousis (genetic analysis), Marina Toutouza-Giotsa, Constantina Tselika and Sia Pouloupoulou (biochemical analysis) and Maria Toutouza for the database management.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Contributors

Georgia-Maria Kouli had the concept of the paper, performed data analyses and interpreted the results. Demosthenes Panagiotakos, Christina Chrysohoou, Ekavi Georgousopoulou, contributed by providing the design of the study, critically reviewed the paper and approved the final version, Adela Zana, Constantine Tsigos, Dimitrios Tousoulis, Christodoulos Stefanadis and Christos Pitsavos critically reviewed the paper. All authors approved the final version.

Funding: D.B. Panagiotakos and E. Georgousopoulou received research grants by Coca-Cola SA. The ATTICA Study has been funded by research grants from the Hellenic Cardiology Society and the Hellenic Atherosclerosis Society.

5. References

1. O'Keefe JH, Bhatti SK, Patil HR, DiNicolantonio JJ, Lucan SC, Lavie CJ (2013) Effects of habitual coffee consumption on cardiometabolic disease, cardiovascular health, and all-cause mortality. *J Am Coll Cardiol* 17;62:1043-51. doi: 10.1016/j.jacc.2013.06.035.
2. Crippa A, Discacciati A, Larsson SC, Wolk A, Orsini N (2014) Coffee consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: a dose-response meta-analysis. *Am J Epidemiol* 180:763-75. doi:10.1093/aje/kwu194.
3. Lopez-Garcia E, van Dam RM, Qi L, Hu FB (2006) Coffee consumption and markers of inflammation and endothelial dysfunction in healthy and diabetic women. *Am J Clin Nutr* 84:888-93.
4. Liu J, Sui X, Lavie CJ, Hebert JR, Earnest CP, Zhang J, Blair SN (2013) Association of coffee consumption with all-cause and cardiovascular disease mortality. *Mayo Clin Proc* 88:1066-74. doi: 10.1016/j.mayocp.2013.06.020.
5. Floegel A, Pischon T, Bergmann MM, Teucher B, Kaaks R, Boeing H (2012) Coffee consumption and risk of chronic disease in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Germany study. *Am J Clin Nutr* 95:901-8. doi: 10.3945/ajcn.111.023648.
6. Ding M, Bhupathiraju SN, Satija A, van Dam RM, Hu FB (2014) Long-term coffee consumption and risk of cardiovascular disease: a systematic review and a dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Circulation* 129:643-59. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.005925.

7. Zampelas A, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Stefanadis C (2004) Associations between coffee consumption and inflammatory markers in healthy persons: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr* 80:862-7.
8. Yamashita K, Yatsuya H, Muramatsu T, Toyoshima H, Murohara T, Tamakoshi K (2012) Association of coffee consumption with serum adiponectin, leptin, inflammation and metabolic markers in Japanese workers: a cross-sectional study. *Nutr Diabetes* 2:e33. doi: 10.1038/nutd.2012.6.
9. Andersen LF, Jacobs DR Jr, Carlsen MH, Blomhoff R (2006) Consumption of coffee is associated with reduced risk of death attributed to inflammatory and cardiovascular diseases in the Iowa Women's Health Study. *Am J Clin Nutr* 83:1039-46.
10. Vlachopoulos C, Panagiotakos D, Ioakeimidis N, Dima I, Stefanadis C (2005) Chronic coffee consumption has a detrimental effect on aortic stiffness and wave reflections. *Am J Clin Nutr* 81:1307-12.
11. Mesas AE, Leon-Muñoz LM, Rodriguez-Artalejo F, Lopez-Garcia E (2011) The effect of coffee on blood pressure and cardiovascular disease in hypertensive individuals: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 94:1113-26. doi: 10.3945/ajcn.111.016667.
12. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysoshoou C, Stefanadis C (2003) Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. *BMC Public Health* 3:32.
13. Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A (1997) Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers. *Int J Epidemiol* 26: S118-127.
14. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C (2006) Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 16: 559-568.
15. Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, Spyropoulos P, Georgakopoulos D, Kalfakakou V, Evangelou A. (2009) Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 50:283-294.
16. American Diabetes Association (1997) Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 20: 1183-97.
17. Grundy SM, Brewer HB Jr., Cleeman JI, Smith SC Jr., Lenfant C (2004) Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 109:433– 8.
18. Bunker ML, McWilliams M (1979) Caffeine content of common beverages. *J Am Diet Assoc* 74: 28-32.

19. Panagiotakos DB, Georgousopoulou EN, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Metaxa V, Georgiopoulos GA, Kalogeropoulou K, Tousoulis D, Stefanadis C; ATTICA Study group (2015) Ten-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence and all-cause mortality, in urban Greek population: the ATTICA Study. *Int J Cardiol* 180:178-84. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.11.206.
20. Zampelas A, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Stefanadis C (2004) Associations between coffee consumption and inflammatory markers in healthy persons: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr* 80:862-7.
21. Georgousopoulou EN, Kouli GM, Panagiotakos DB, Kalogeropoulou A, Zana A, Chrysoshoou C, Tsigos C, Tousoulis D, Stefanadis C, Pitsavos C (2016) Anti-inflammatory diet and 10-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence: The ATTICA study. *Int J Cardiol* 222:473-478. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.08.007.
22. Czernichow S, Vergnaud AC, Galan P, Arnaud J, Favier A, Faure H, Huxley R, Hercberg S, Ahluwalia N (2009) Effects of long-term antioxidant supplementation and association of serum antioxidant concentrations with risk of metabolic syndrome in adults. *Am J Clin Nutr* 90:329-35. doi: 10.3945/ajcn.2009.27635.
23. Steinhubl SR (2008) Why have antioxidants failed in clinical trials? *Am J Cardiol* 101:14D-19D.
24. Valtueña S, Pellegrini N, Franzini L, Bianchi MA, Ardigò D, Del Rio D, Piatti P, Scazzina F, Zavaroni I, Brighenti F (2008) Food selection based on total antioxidant capacity can modify antioxidant intake, systemic inflammation, and liver function without altering markers of oxidative stress. *Am J Clin Nutr* 87:1290-7.
25. Wyss-Coray T, Mucke L (2002) Inflammation in neurodegenerative disease--a double-edged sword. *Neuron* 35:419-32.
26. Vakkila J, Lotze MT (2004) Inflammation and necrosis promote tumour growth. *Nat Rev Immunol* 4:641-8.
27. Quinn MT, Gauss KA (2004) Structure and regulation of the neutrophil respiratory burst oxidase: comparison with nonphagocyte oxidases. *J Leukoc Biol* 76:760-81.
28. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C (2005) Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem* 16:577-86.
29. Lockyer S, Rowland I, Spencer JP, Yaqoob P, Stonehouse W (2016) Impact of phenolic-rich olive leaf extract on blood pressure, plasma lipids and inflammatory markers: a randomised controlled trial. *Eur J Nutr* [online available ahead of print]
30. Agudelo-Ochoa GM, Pulgarín-Zapata IC, Velásquez-Rodríguez CM, Duque-Ramírez M, Naranjo-Cano M, Quintero-Ortiz MM, Lara-Guzmán OJ, Muñoz-Durango K (2016) Coffee Consumption Increases the Antioxidant Capacity of

- Plasma and Has No Effect on the Lipid Profile or Vascular Function in Healthy Adults in a Randomized Controlled Trial. *J Nutr* 146:524-31.
31. Chang WC, Chen CH, Lee MF, Chang T, Yu YM (2010) Chlorogenic acid attenuates adhesion molecules upregulation in IL-1beta-treated endothelial cells. *Eur J Nutr* 49:267-75. doi: 10.1007/s00394-009-0083-1.
32. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoshoou C, Kokkinos P, Toutouzas P, Stefanadis C (2003) The J-shaped effect of coffee consumption on the risk of developing acute coronary syndromes: the CARDIO2000 case-control study. *J Nutr* 133:3228-32.
33. Zulli A, Smith RM, Kubatka P, Novak J, Uehara Y, Loftus H, Qaradakh T, Pohanka M, Kobyliak N, Zagatina A, Klimas J, Hayes A, La Rocca G, Soucek M, Kruzliak P (2016) Caffeine and cardiovascular diseases: critical review of current research. *Eur J Nutr* 55:1331-43. doi: 10.1007/s00394-016-1179-z.
34. Bohlscheid-Thomas S, Hoting I, Boeing H, Wahrendorf J (1997). Reproducibility and relative validity of energy and macronutrient intake of a food frequency questionnaire developed for the German part of the EPIC project. *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Epidemiol* 26 Suppl 1:S71-81.

Table 1 Demographic and clinical characteristics of the n = 2020 participants by daily coffee consumption.

	Daily coffee consumption (ml/d)				<i>p</i> ¹
	<i>Never</i> 0 (n=342)	<i>Low</i> 0-150 (n=1126)	<i>Moderate</i> 150-250 (n=338)	<i>High</i> >250 (n=214)	
10-year incidence of CVD, %	19	16	7	25	<0.001
<i>Demographic, lifestyle and clinical characteristics</i>					
Age (years)	50 ± 14	46 ± 13	36 ± 12	50 ± 13	<0.001
Gender, % male	26	45	66	77	<0.001
Smoking (years)	20 ± 11	20 ± 12	16 ± 10	23 ± 11	<0.001
Physical activity, %	36	40	41	39	0.38
Waist to hip ratio	0.83 ± 0.09	0.86 ± 0.11	0.86 ± 0.10	0.92 ± 0.12	<0.001
Education (years of school)	12 ± 3	12 ± 4	13 ± 3	12 ± 4	<0.001
Hypertension, %yes	29	31	21	38	<0.001
Diabetes Mellitus, %yes	7	8	3	10	<0.001
Hypercholesterolemia, %yes	52	37	29	55	<0.001
MedDietScore (range 0-55)	25 ± 6	26 ± 7	27 ± 7	24 ± 6	<0.001
Metabolic Syndrome, %yes	21	21	14	24	<0.001
<i>Oxidative and Inflammatory biomarkers</i>					
Oxidized LDL-C (mg/dL)	72 ± 21	49 ± 23	63 ± 30	83 ± 22	<0.001
Interleukin-6 (ng/mL)	1.5 ± 0.7	1.5 ± 0.5	1.4 ± 0.3	1.5 ± 0.8	<0.001
C-reactive protein (mg/L)	2.1 ± 2.5	2 ± 2.5	1.8 ± 2.3	1.8 ± 2.1	0.15
Homocysteine (μmol/L)	11 ± 4	12 ± 6	12 ± 7	13 ± 5	0.03
Fibrinogen (mg/dL)	331 ± 78	314 ± 69	288 ± 61	319 ± 67	<0.001

¹p-values for the comparisons between coffee drinking categories derived using the t-test, while for the comparisons of categorical variables using the chi-square test.

Table 2. Results from the multi-adjusted Cox proportional hazards models that were developed to evaluate the 10-year risk of having a cardiovascular event (outcome) according to the daily coffee consumption among ATTICA study participants (n=2020).

All participants	Hazard Ratios (HR) ¹ , 95% Confidence Intervals		
	<i>Model 1</i>	<i>Model 2</i>	<i>Model 3</i>
Age (per 1 year)	1.01 (1.08-1.10)	1.07(1.05-1.10)	1.06 (1.04-1.09)
Men vs. Women	2.13 (1.59-2.86)	2.01 (1.19-3.40)	1.99 (1.16-3.42)
Coffee drinking			
<i>Low coffee drinkers vs. abstainers</i>	0.47 (0.32-0.71) ²	0.47 (0.31-0.72) ²	0.44 (0.29-0.68) ²
<i>Moderate coffee drinkers vs. abstainers</i>	0.58 (0.31-1.04) ²	0.53 (0.29-0.97) ²	0.49 (0.27-0.92) ²
<i>High coffee drinkers vs. abstainers</i>	2.81 (1.84-4.23) ²	2.62 (1.67-4.09) ²	2.48 (1.56-2.93) ²
Smokers vs. non smokers	-	1.00 (0.98-1.02)	1.00 (0.98-1.02)
Physically activity vs. inactive	-	0.68 (0.45-1.02)	0.68 (0.45-1.04)
Waist to hip ratio	-	8.7 (0.95-80)	3.86 (0.38-39)
Education (years of school)	-	0.97 (0.92-1.02)	0.98 (0.92-1.03)
MedDietScore (range 0-55)	-	0.96 (0.93-1.001)	0.96 (0.93-0.99)
Hypertension (y/n)	-	-	1.13 (0.74-1.70)
Diabetes Mellitus (y/n)	-	-	2.4 (1.33-4.40)
Hypercholesterolemia (y/n)	-	-	1.42 (0.95-2.13)

¹ Hazard Ratios derived from semiparametric Cox proportional hazards models.

² *p*-value for J-shape (quadratic) trend using non-linear curve estimation <0.05

Table 3. Results from the additive Cox proportional hazards models that were developed to evaluate the mediating role of oxidative and inflammatory markers on the association between coffee consumption and the risk of 10-year cardiovascular disease events (outcome).

	Hazard Ratios (HR) ² , 95% CI for coffee consumption		
	<i>Low vs. Never</i>	<i>Moderate vs. Never</i>	<i>High vs. Never</i>
Full Model ¹	0.44 (0.29-0.68)	0.49 (0.27-0.92)	2.48 (1.56-1.93)
Full Model ¹ + <i>C-reactive protein</i>	0.46 (0.24-0.89)	0.42 (0.18-0.98)	1.60 (0.74-3.46)
Full Model ¹ + <i>Oxidized LDL-C</i>	0.34 (0.12-0.95)	0.19 (0.05-0.83)	1.26 (0.46-3.46)
Full Model ¹ + <i>Interleukin-6</i>	0.49 (0.25-0.95)	0.43 (0.18-0.99)	1.62 (0.76-3.45)
Full Model ¹ + <i>Homocysteine</i>	0.57 (0.24-0.98)	0.50 (0.18-0.97)	1.76 (0.66-4.72)
Full Model ¹ + <i>Fibrinogen</i>	0.42 (0.21-0.82)	0.32 (0.13-0.75)	1.56 (0.69-3.51)

Visceral adiposity index and 10-year Cardiovascular Disease incidence: the ATTICA Study

Georgia-Maria Kouli¹, MSc, Demosthenes B. Panagiotakos¹, PhD, Ioannis Kyrou^{1,2,3,4}, MD, PhD, Ekavi N Georgousopoulou¹, PhD, Christina Chrysohoou⁵, MD, Constantine Tsigos¹, MD, PhD, Dimitrios Tousoulis⁵, MD, PhD, Christos Pitsavos⁵, MD, PhD.

¹Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education Harokopio University, Athens, Greece

²Aston Medical Research Institute, Aston Medical School, Aston University, B4 7ET, Birmingham, UK

³WISDEM, University Hospital Coventry and Warwickshire NHS Trust, CV2 2DX, Coventry, UK

⁴Translational & Experimental Medicine, Division of Biomedical Sciences, Warwick Medical School, University of Warwick, CV4 7AL, Coventry, UK

⁵First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, Greece

Corresponding author

Professor Demosthenes B. Panagiotakos

Tel. +30 210-9549332, & +30 210-9600719 (Fax)

E-mail. d.b.panagiotakos@usa.net

Abstract

Background/Aims: Visceral adiposity index (VAI) has been proposed as a marker of visceral adipose tissue accumulation/dysfunction. Our aim was to evaluate potential associations between the VAI and the 10-year cardiovascular disease (CVD) incidence. **Methods and Results:** During 2001-2002, 3042 Greek adults (1514 men; age: ≥ 18 years) without previous CVD were recruited into the ATTICA study, whilst the 10-year study follow-up was performed in 2011-2012, recording the fatal/non-fatal CVD incidence in 2020 (1010 men) participants. The baseline VAI scores for these participants were calculated based on anthropometric and lipid variables, while VAI tertiles were extracted for further analyses. During the study follow-up a total of 317 CVD events (15.7%) were observed. At baseline, the participants' age and the prevalence of hypertension, diabetes, hypercholesterolemia and metabolic syndrome increased significantly across the VAI tertiles. After adjusting for multiple confounders, VAI exhibited a significantly independent positive association with the 10-year CVD incidence (OR= 1.05, 95%CI: 1.01, 1.10), whereas the association of the body mass index (HR= 1.03, 95%CI: 0.99, 1.08), or the waist circumference (HR= 1.01, 95%CI: 0.99, 1.02) was less prominent. Sex-specific analysis further showed that VAI remained significantly predictive of CVD in men alone (HR= 1.06, 95%CI: 1.00, 1.11) but not in women (HR= 1.06, 95%CI: 0.96, 1.10). **Conclusions:** Our findings show for the first time in a large-sample, long-term, prospective study in Europe that the VAI is independently associated with elevated 10-year CVD risk, particularly in men. This suggests that the VAI may be utilized as an additional indicator of long-term CVD risk for Caucasian/Mediterranean men without previous CVD.

Key words: Cardiovascular Disease; CVD; visceral adiposity; obesity; visceral adiposity index; VAI

Abbreviations

CVD	Cardiovascular disease
VAI	Visceral adiposity index
BMI	Body Mass Index
WC	Waist circumference
MetS	Metabolic Syndrome
CHD	Coronary heart disease
TG	Triglycerides
HDL	High-density lipoprotein
AlkaMeSY	Alkam Metabolic Syndrome Study
WHR	Waist to hip ratio
WHtR	Waist to height ratio
IPAQ	International Physical Activity Questionnaire
CRP	C-reactive protein
IL-6	Interleukin-6
TNF- α	Tumor necrosis factor α
SD	Standard deviation
HR	Hazard Ratio
CI	Confidence Interval
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
PCOS	Polycystic ovary syndrome

1. Introduction

Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of mortality worldwide, representing 31% of the total global mortality in 2012 [1]. Abdominal (visceral) fat adiposity together with insulin resistance and metabolic syndrome (MetS) components (*e.g.* type 2 diabetes, hyperlipidemia, hypertension) are key risk factors in the development of CVD [2-4]. Notably, the distribution of excess adipose tissue is regarded as a more important CVD risk factor than obesity *per se* [5]. Indeed, although epidemiological data show that there is higher prevalence of cardiometabolic complications associated with increasing body mass index (BMI), there is often remarkable heterogeneity amongst individuals with similar BMI values [6, 7]. As such, data from the INTERHEART study, evaluating the impact of obesity on CVD, have shown that visceral adiposity contributes more than BMI to CVD risk [7]. Moreover, Yusuf *et al.* further specified that the association between visceral obesity and coronary heart disease (CHD) risk was significant in all 52 countries of the INTERHEART study [8].

Recently, the Visceral Adiposity Index (VAI) has been identified as a simple, reliable marker of visceral adiposity dysfunction that reflects cardiometabolic risk [9]. VAI was introduced as a sex-specific index, based on simple anthropometric measures [waist circumference (WC) and BMI] and common lipidemic parameters [triglycerides (TG), and high-density lipoprotein (HDL) cholesterol], expressing visceral fat function. Indeed, in 2010 Amato *et al.* first showed in a population of 1498 Caucasian adults from the retrospective Alkam Metabolic Syndrome (AlkaMeSy) Study that increased VAI was independently associated with cardiovascular (2.5-fold increase) and cerebrovascular events (1.5-fold increase), whilst this novel index also proved to be a better indicator for incident diabetes than its individual components (*i.e.*, WC, BMI, TG, HDL) [10].

Importantly, VAI has been proposed as a prognostic tool of early cardiometabolic risk even when overt MetS manifestations are absent [11]. However, to date there is a paucity of long-term, prospective studies evaluating the CVD risk predictive power of VAI. Thus, the aim of the present work was to evaluate potential associations between the VAI values at the baseline/entry examination of the ATTICA Study and the documented 10-year CVD incidence in this cohort of Caucasian adults without previous CVD.

2. Materials and Methods

2.1 ATTICA Study Cohort

The ATTICA Study is a prospective, population-based study conducted in the greater metropolitan area of Athens (Greece). The study baseline examination was performed during 2001-2002, as previously described [12]. Briefly, the study was designed to enrol only one participant per household through a random, multistage process based on the age/sex distribution of the Attica region (2001 Census). A total

of 3042 Caucasian adults [1514 men (18-87 years); 1528 women (18-89 years)] agreed to participate and were assessed by trained personnel, as per study protocol [12]. Exclusion of CVD at baseline was performed through a detailed clinical evaluation by the study physicians.

2.2 Baseline measurements

The baseline study data included demographic characteristics (age; sex; years of education), personal/family history of hypertension, hypercholesterolemia and diabetes, CVD family history, as well as dietary and other lifestyle habits, such as smoking status (pack years) and physical activity. The dietary evaluation was based on a validated semi-quantitative food-frequency questionnaire, *i.e.* the EPIC-Greek questionnaire [13], which was kindly provided by the Unit of Nutrition of Athens Medical School. The MedDietScore was also applied to assess adherence to the Mediterranean diet (range 0-55; higher score values indicate better adherence) [14]. To assess the physical activity status of study participants the International Physical Activity Questionnaire was used (IPAQ), as an index of weekly energy expenditure, and participants not reporting any physical activities were defined as physically inactive [15]. Moreover, simple anthropometric indices were measured/calculated for all study participants, including BMI (kg/m^2), WC (cm), waist to hip ratio (WHR), and waist to height ratio (WHtR). Resting arterial blood pressure (BP; mean of 3 recordings) was also measured at the end of the baseline physical examination and participants with average BP $\geq 140/90$ mmHg [or on antihypertensive medication(s)] were classified as hypertensive. Finally, blood samples were collected between 8 to 10 a.m., after 12 hours of fasting and alcohol abstinence. Total serum cholesterol, HDL-cholesterol, and TG were measured using a chromatographic enzymatic method in a Technicon automatic analyser RA-1000 (Dade Behring, Marburg, Germany). Hypercholesterolemia was defined as total cholesterol levels >200 mg/dl (or use of lipid lowering agents). Blood glucose levels (mg/dl) were measured with a Beckman Glucose Analyzer (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA) and diabetes mellitus was defined according to the American Diabetes Association criteria (*i.e.*, fasting blood glucose >125 mg/dl). Furthermore, to assess circulating pro-inflammatory biomarkers, measurements were performed for: C-reactive protein (CRP) by particle-enhanced immunonephelometry (N Latex; Dade-Behring Marburg GmbH, Marburg, Germany); interleukin-6 (IL-6) by a high-sensitivity enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA; R&D Systems Europe Ltd, Abingdon, United Kingdom); and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) by ELISA (Quantikine HS/human TNF- α , R&D Systems, Inc. Minneapolis, MN), following the manufacturer's protocols.

For the purposes of this study, according to the criteria for the clinical diagnosis of the MetS proposed in 2009 by the joint statement of the International Diabetes Federation (IDF); National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI); American Heart Association (AHA); World Heart Federation; International

Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity [16], the study participants were also classified according to MetS presence at baseline, based on whether three or more of the following components were present: (i) WC ≥ 102 cm for males or ≥ 88 cm for females (WC thresholds for abdominal obesity in the 2009 MetS definition recommended by the European Cardiovascular Societies for European populations [16]); (ii) TG ≥ 150 mg/dl (or on drug treatment for elevated TG); (iii) HDL-cholesterol < 40 mg/dL for males or < 50 mg/dL for females (or on drug treatment for reduced HDL-cholesterol); (iv) systolic BP ≥ 130 mm Hg or diastolic BP ≥ 85 mm Hg (or on antihypertensive drug treatment); (v) fasting blood glucose ≥ 100 mg/dL (or on antidiabetic treatment).

2.3 Visceral adiposity index (VAI) assessment

The VAI was calculated for each study participant at the baseline study examination, as previously described by Amato and colleagues [9]. Briefly, using BMI (kg/m^2), WC (cm), TG (mmol/l) and HDL (mmol/l), the proposed equations for calculating VAI in males and females are as follows:

$$\text{Males: VAI} = \left(\frac{\text{WC}}{39.68 + (1.88 \times \text{BMI})} \right) \times \left(\frac{\text{TG}}{1.03} \right) \times \left(\frac{1.31}{\text{HDL}} \right)$$

$$\text{Females: VAI} = \left(\frac{\text{WC}}{36.58 + (1.89 \times \text{BMI})} \right) \times \left(\frac{\text{TG}}{0.81} \right) \times \left(\frac{1.52}{\text{HDL}} \right)$$

For the analyses of this study, VAI tertiles (< 2.4 ; $2.4-4.5$; > 4.5) were also extracted for the study sample.

2.4 Follow-up ATTICA Study examination (2011-2012)

During 2011-12, the ATTICA Study 10-year follow-up (mean follow-up: 8.41 years) was performed, as previously described [17]. Of the 3042 initially enrolled participants, 2583 were re-evaluated for this follow-up [85% participation rate; mean age at baseline (years $\pm$ SD): 45 ± 14 and 46 ± 14 years for women and men, respectively, with no difference to the overall study sample]. Detailed evaluation of the medical records of all participants ($n=2583$) for their 10-year CVD status was performed and data (with WHO-ICD coding) were collected for: (a) vital status (death from any cause or due to CVD); (b) development of CVD, including myocardial infarction, angina pectoris, other identified forms of ischemia, heart failure of different types, chronic arrhythmias and stroke [17]. Regarding CVD status at the follow-up, complete and clinically accurate data were obtained from 2020 participants. The scope of the present work focuses on the role of VAI as a predictor of CVD risk, thus herein we present our data in relation to the 10-year incidence of fatal/non-fatal CVD.

2.5 Bioethics

The study was approved by the Institutional Bioethics Committee and was carried out in accordance to the Declaration of Helsinki (1989) of the World Medical Association. Prior to any study procedures, all participants were informed about the study protocol, and provided written signed consent.

2.6 Statistical analysis

Crude, non-fatal and fatal incidence rates of combined CVD (*i.e.*, CHD or stroke) were calculated as the ratio of new cases to the number of participants in the follow-up. Continuous variables are presented as mean values $\pm$ standard deviation (SD) and categorical variables as frequencies. Associations between categorical variables were tested using the chi-square test, while between continuous variables using Pearson *r* or Spearman's *rho* coefficients for the normally and skewed variables, respectively. Comparisons of mean values of normally distributed variables between those study participants who developed a CVD event and the rest of the participants were performed using Student's t-test, after controlling for equality of variances using the Levene's test. Comparisons of continuous variables without normal distribution were performed using the non-parametric U-test proposed by Mann and Whitney. Continuous variables were tested for normality through P-P plots. The hazard ratios (HR) and the corresponding 95% confidence intervals (CI) of developing a CVD event during the 10-year follow-up period, according to the participants' baseline characteristics were estimated using Cox proportional hazards models. Moreover, Hosmer-Lemeshow statistic and $-2\log\text{Likelihood}$ were calculated to evaluate model's goodness-of-fit, and Nagelkerke R-square as a proxy of models' discriminant power. The time to CVD event was recorded on an annual basis. All reported *p*-values are based on two-sided tests and the corresponding 95% CI. The Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 21 (SPSS Inc, Chicago, IL, U.S.A.) was used for all statistical analyses.

3. Results

3.1 10-year CVD incidence and baseline VAI correlations

The 10-year fatal or non-fatal CVD event rate was 157 cases/1000 participants [*i.e.*, *n*=317 subjects; men: *n*=198 (195 cases/1000 participants); women: *n*=119 (118 cases/1000 participants); *p* for gender difference <0.001]. VAI scores at baseline were positively correlated with BMI, WC, WHR, WHtR, CRP, IL-6, TNF- α , TG, total cholesterol, and glucose levels (ρ = 0.262, 0.331, 0.280, 0.329, 0.147, 0.168, 0.136, 0.915, 0.309, 0.227, respectively; all *p*-values <0.001), and inversely associated with HDL-cholesterol (ρ = -0.395; *p* <0.001). Even when the analysis was stratified by gender these correlations remained significant for both men and women (*data not shown*).

3.2 Baseline characteristics of study participants by VAI tertiles

Baseline characteristics of the study sample, according to the 10-year CVD status, are presented in **Table 1**. Compared to CVD-free participants, the group of participants who developed CVD during the 10-year follow-up consisted mainly of older men, heavier smokers, and had higher BMI, WC, WHR, WHtR and TG/HDL ratio values. Furthermore, this group also exhibited higher fasting lipid and glucose levels, higher BP, as well as worse Mediterranean Diet adherence (*i.e.*, lower MedDietScore) (all p-values <0.001). Participants with a CVD event during the 10-year study follow-up had 29% higher VAI baseline values compared to those without (p <0.001).

For the purposes of this study, the 2020 study participants with complete 10-year CVD incidence data were further grouped in VAI tertiles (<2.4; 2.4-4.5; >4.5) based on their baseline VAI scores as presented in **Table 2**. Overall, the age of participants and the baseline prevalence of hypertension, diabetes, hypercholesterolemia and MetS increased significantly across VAI tertiles. Of note, study participants in the 1st VAI tertile (reflecting a less dysfunctional visceral adipose tissue profile) were younger, mostly women, lighter smokers, more physically active, and with lower total and central obesity, and higher Mediterranean diet adherence (*i.e.*, higher mean MedDietScore: 28 out of 55) compared to those in the 3rd VAI tertile (highest VAI values). Furthermore, the participants in the lower VAI tertile also exhibited decreased baseline prevalence of various established cardiometabolic risk factors (*i.e.*, hypertension, diabetes, hypercholesterolemia and MetS; all p-values <0.001). As expected, these participants in the 1st VAI tertile exhibited the lowest 10-year CVD incidence.

3.3 Ten-year CVD incidence and VAI

The aforementioned comparisons may be prone to residual confounding due to various potential factors; therefore, a multi-adjusted analysis was also performed, controlling for multiple CVD covariates. Importantly, variables being part of the VAI formulas (*i.e.*, BMI, WC, TG and HDL) were not included in the models with VAI due to multicollinearity. **Table 3** presents the results from the multi-adjusted analyses in the context of this study, evaluating VAI and the risk of having a CVD event (fatal or non-fatal) within the 10-year follow-up period. Our study *Full Model 1* included common demographic factors (age and male sex), clinical characteristics (*i.e.*, hypertension, diabetes, hypercholesterolemia) and certain factors (*i.e.*, smoking, physical activity, educational level, and Mediterranean diet adherence) that generally predict the 10-year CVD incidence. When VAI was included in the analyses, binary logistic regression models showed that it was independently associated with the 10-year CVD risk. Indeed, VAI was associated with higher 10-year CVD incidence in the age-sex adjusted analysis (*Model 2*, **Table 3**). This association remained even after adjusting for smoking, physical activity educational level and the MedDietScore, as well as for other established CVD risk factors (*i.e.*, hypertension,

diabetes, and hypercholesterolemia) (*Model 3*, **Table 3**). *Model 3* was further adjusted for certain circulating inflammatory biomarkers, *i.e.* CRP, IL-6 and TNF- α , to explore the potential mediating role of pro-inflammatory processes in the association between adiposity and CVD. Thus, CRP, IL-6 and TNF- α , were entered consecutively and separately in *Model 3*, as presented in *Model 4*, *5*, and *6*, respectively. According to these latter models, CRP, IL-6 and TNF- α appeared to similarly impact on VAI when entered in *Model 3*, since the VAI-CVD association shifted borderline towards significance, suggesting possible mediating effects. Overall, the presented binary logistic regression models showed that VAI is an index/indicator that independently predicts 10-year CVD risk within our study cohort. Notably, as seen in *Model 3*, a 2.5-unit increase of the VAI score, which is approximately the difference in the means between the CVD event-free study group and the CVD group, was associated with 13% increase of the 10-year CVD event risk.

Furthermore, to compare the predictive value of VAI on the 10-year CVD risk against simpler anthropometric and lipidemic variables/ratios (some of which are included in the VAI formulas), additional analyses were applied including models which instead of the VAI included BMI, WC, WHR, WHtR and TG/HDL-cholesterol, respectively. **Table 4** presents the HR and 95% CI of these models, whilst the Hosmer-Lemeshow test was used to compare head-to-head the CVD predictive value of VAI against the rest of these variables. As presented in **Table 4**, VAI had a better CVD prognostic value (HR= 1.05, 95%CI: 1.01, 1.10, -2Loglikelihood= 517) than BMI (HR= 1.03, 95%CI: 0.99-1.08, -2Loglikelihood= 701). In addition, VAI proved to be superior than all the other anthropometric indices, including WC (HR= 1.01, 95%CI: 0.99, 1.02, -2Loglikelihood= 692), WHR (HR= 1.33, 95%CI: 0.18, 9.98, -2Loglikelihood= 687), and WHtR (HR= 2.71, 95%CI: 0.21, 5.45, -2Loglikelihood= 690) and the TG/HDL ratio (HR= 1.07, 95%CI: 1.01, 1.14, -2Loglikelihood= 523).

To test how much the VAI adds to the predictive and discriminant power of the HellenicSCORE [18] (a tool that evaluates 10-year risk of fatal CVD events using age, sex, smoking, total cholesterol and blood pressure levels, according to the ESC SCORE project), an additive logistic model was developed. It was observed that inclusion of VAI on the model contained HellenicSCORE improved models' predictive ability by 2% (-2log Likelihood of the crude model 1106 vs. the model that included VAI, 1084) and the "discriminant power" from 18.5% to 20.7% (Nagelkerke R-square).

Finally, taking into account that VAI is a sex-specific index, the analysis described in *Model 3* (**Table 3**) was repeated separately in men and women. These results showed that VAI remained significantly predictive of CVD in men alone (HR= 1.06, 95%CI: 1.00, 1.11,) but not in women (HR= 1.06, 95%CI: 0.96, 1.10). Furthermore, the VAI had better predictive ability against 10-year CVD incidence when examined in men alone (HR= 1.06, 95%CI: 1.00, 1.11,-2Loglikelihood= 128)

compared to the whole study sample (HR= 1.05, 95%CI: 1.01, 1.10, -2Loglikelihood= 517).

4. Discussion

Our study presents novel data from a large cohort of prospectively followed Caucasian (Mediterranean/Greek) adults without previous CVD, showing that higher VAI scores (indicating accumulated dysfunctional visceral adipose tissue [9]) exhibit a significant and independent association with 10-year CVD incidence, particularly in men. Interestingly, this positive association remained even after taking into account a wide range of potential confounders, including lifestyle factors and clinical/biochemical variables. Indeed, in our fully adjusted model only VAI was a significant indicator of the 10-year CVD risk, independently of other established CVD factors. Thus, it could be hypothesized that because VAI takes into account both anthropometric (BMI and WC) and metabolic/lipidemic (TG and HDL) variables of obesity (particularly central obesity), it may reflect more directly the array of potential pro-atherogenic processes that in the long-term result in higher CVD risk (*e.g.* visceral and ectopic fat deposition, dysregulated adipokine production, and increased adipose tissue lipolysis and free fatty acid efflux) [19-21].

The mechanisms by which VAI may be associated with CVD risk are not fully understood. Of note, when inflammation (as expressed by circulating CRP, IL-6 and TNF- α) was tested in this study in a mediation analysis, as a possible explanatory factor of the association between VAI and 10-year CVD risk, the effect of VAI baseline values on 10-year CVD incidence remained significant. This could be potentially attributed to a positive association of VAI with higher long-term CVD risk through early pro-inflammatory mechanisms related to dysfunctional visceral adiposity (*e.g.* altered adipokine profile, including amplified secretion of pro-inflammatory adipokines and cytokines, such as IL-6 and TNF- α), which are not always directly reflected in the clinical evaluation of CVD risk [10].

Additionally, sex-specific analysis in our study revealed a positive association of VAI on CVD risk in men, but not in women. This could be attributed to the fact that men - in general - as well as in our study, had greater BMI, higher WC and lower HDL levels. Considering that men are more susceptible to visceral adiposity, this could also suggest greater visceral adipose tissue dysfunction (*e.g.* greater changes in expression/secretion of multiple adipokines such as visfatin, resistin, leptin, omentin, and adiponectin). Thus, VAI, as an empirical mathematical model/index of adipose distribution and function that indirectly expresses cardio-metabolic risk [9, 10], appears to have higher accuracy in linking visceral obesity dysfunction and CVD risk in men compared to women. Nevertheless, VAI importance in predicting future CVD candidates should be considered irrespective of individuals' gender, since visceral adiposity has shown its crucial role in the development and progression of atherosclerotic disease in both men and women.

Importantly, our findings indicate that the predictive effect of VAI for the 10-year CVD incidence in this study cohort was better when compared to typically used anthropometric and lipidemic variables, *i.e.* BMI, WC, WHR, WHtR and TG/HDL ratio. This is significant also for the clinical practice, since it suggests that the calculation of VAI based on the simple measurements of BMI, WC, TG and HDL-cholesterol offers a stronger CVD indicator compared to its individual components and to other simpler ratios (*e.g.* WHR, WHtR, TG/HDL ratio).

Over the last few decades there has been compelling evidence showing that adipose tissue acts as an endocrine organ with pleiotropic effects, due to the dynamic secretory function of adipocytes and resident macrophages [22]. These effects may lead to a chronic, low-grade pro-inflammatory state in obesity (particularly in visceral/central/android obesity) that is further associated with insulin resistance and CVD [22]. Indeed, sustained weight increase and adipose tissue accumulation induces significant changes inside the various fat depots, resulting in dysregulated function with increased lipolysis, insulin resistance and altered adipokine production (*e.g.*, increased production of pro-inflammatory adipokines, such as leptin, and cytokines such as TNF- α and IL-6; and decreased production of anti-inflammatory adipokines, such as adiponectin and omentin) [22]. These changes are considered responsible for the overall adipose tissue dysfunction, playing a vital role in the obesity-related cardiometabolic sequelae [22-24]. Visceral adiposity appears to be a critical factor in the underlying pathophysiological mechanisms [6], whilst it is also hypothesized that subcutaneous fat has a limited capacity to safely increase its mass [25]. As such, emphasis has been placed in identifying simple indices which can be reliably applied in everyday clinical practice as surrogate markers of visceral adiposity and as indicators of increased cardiometabolic risk. In 2010 Amato *et al.* proposed VAI as a novel index with such attributes in the context of the retrospective AlkaMeSy study [9]. In the 1498 Caucasian adults of this study, VAI was shown to correlate with visceral adipose tissue, whilst exhibited a strong positive association with cardiovascular events (OR: 2.45, 95% CI: 1.52-3.95) and an inverse association with insulin sensitivity [9]. Moreover, ROC analysis in this study proved VAI to have greater sensitivity and specificity than its individual components regarding cardiovascular events, although the cross-sectional nature of the study did not allow exploring causal inferences between VAI and CVD [9]. Since 2010, the VAI has been studied in various cohorts from general/healthy populations and in specific patient groups at increased cardiometabolic risk (*e.g.*, in obese patients or in women with polycystic ovary syndrome, PCOS), with particular focus on the prediction of type 2 diabetes [26, 27]. However, so far there are limited data from prospective studies exploring VAI as an indicator of long-term CVD risk. It should be also highlighted that, the VAI was modeled and validated on a Caucasian (Italian/Mediterranean) population of adults from the city of Alcamo in Western Sicily, whereas currently existing data on the

long-term association between VAI and CVD are mostly from population-based studies conducted in Asia and South America [28, 29]. Indeed, a 9-year follow-up in the context of the Tehran lipid and glucose study demonstrated that the VAI was associated with multivariate-adjusted, increased risk of incident CVD among women [28]. However, the magnitude of risk conferred by VAI in this study was not significantly higher than those conferred by BMI, WHR or WHtR [28]. Additionally, data from a long-term study in Buenos Aires (Argentina) showed that VAI was not able to recognize subjects at high CVD risk compared to the TG/HDL ratio [29]. These results are not in accord with the present findings of the ATTICA study, potentially due to significant differences in the ethnicity and in the age range of the studied cohorts [28, 29], especially since as aforementioned VAI is modeled based on a cohort of Caucasian adults [Caucasian (Italian/Mediterranean) men and women aged between 19 and 83 years) [9, 30, 31]. Hence, the application of VAI has not been validated in non-Caucasian populations (*e.g.* the study in Tehran studied a population of Persian ancestry) [28], and in adolescents aged <16 years (*e.g.* the study in Buenos Aires studied a population aged ≥ 15 years) [29].

Compared to available data, the significance of our findings is strengthened by the characteristics of our study design and population, *i.e.*, prospective, long-term design, large sample size, Caucasian/Mediterranean population, and adjustment for multiple anthropometric and clinical parameters. In addition, our data originate from a reliable, prospective follow-up process in a well-characterized population-based sample in which CVD and its risk factors have been assessed with standardized measures/procedures both at baseline and during the follow-up. As such, the ATTICA study extends previous research on the application of VAI, indicating that this relatively simple index may represent a useful predictive marker for men from the general population in whom CVD risk classification based on simple/single variables, such as BMI, is particularly sub-optimal. Indeed, in the fully adjusted analyses, accounting for age, gender, clinical, behavioral, and pro-inflammatory variables, the HR (95% CIs) for 10-year CVD incidence was 1.05 (1.01, 1.10) per 1 unit increase in the baseline VAI score, while including separately the rest of the anthropometric indices (BMI, WC, WHR, WHtR) had no better predictive effect. This is also significant for epidemiological research studies, since additional reliable indices associated to visceral adiposity (android/central obesity) are still required in the effort to predict more accurately the obesity-related long-term cardiometabolic risk without the need for visceral fat assessments by imaging techniques (*i.e.*, CT and MRI).

4.1 Limitations

Despite the aforementioned strengths, certain limitations of the present study should be also acknowledged. Thus, it must be noted that the baseline study examination was performed once and may be susceptible to measurement error. However, the applied methodology within our study protocol was similar to those of

other prospective epidemiological studies in Europe and the US, and therefore our results can be considered reliable and comparable. Moreover, taking into consideration that the number of fatal events was too small [17], we decided to present the analyses on VAI and 10-year CVD fatal and not-fatal incidence combined.

4.2 Conclusion

In conclusion, this study offers novel evidence revealing an independent positive association between the VAI and 10-year CVD incidence in men from a cohort of Caucasian adults without previous CVD. Thus, it may be suggested that this index, which reflects visceral adipose tissue accumulation/dysfunction, could be also applied as a relatively simple tool for long-term CVD risk assessment, at least in healthy or apparently healthy men of Caucasian/Mediterranean origin. Additional research is clearly required to further explore these findings in even larger cohorts, in specific patient populations (*e.g.* in non-alcoholic liver disease or PCOS) and in other ethnic groups.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the ATTICA study group of investigators: Yannis Skoumas, Natasa Katinioti, Labros Papadimitriou, Constantina Masoura, Spiros Vellas, Yannis Lentzas, Manolis Kambaxis, Konstanitna Paliou, Vassiliki Metaxa, Agathi Ntzouvani, Dimitris Mpougatas, Nikolaos Skourlis, Christina Papanikolaou, Aikaterini Kalogeropoulou, Evangelia Pitaraki, Alexandros Laskaris, Mihail Hatzigeorgiou, Athanasios Grekas, and Eleni Kokkou for assistance in the initial physical examination and/or the follow-up evaluation; Efi Tsetsekou for her assistance in psychological evaluation and follow-up evaluation, as well as the laboratory team: Carmen Vassiliadou and George Dedousis (genetic analysis), Marina Toutouza-Giotsa, Constantina Tselika and Sia Poulopoulou (biochemical analysis), and Maria Toutouza for the database management. The ATTICA study is supported by research grants from the Hellenic Cardiology Society (HCS2002) and the Hellenic Atherosclerosis Society (HAS2003). Demosthenes Panagiotakos and Ekavi Georgousopoulou have received grants by the Coca-Cola Company.

Contributors

Georgia-Maria Kouli performed data analyses, interpreted the results and approved the final manuscript version. Demosthenes Panagiotakos and Christos Pitsavos designed the ATTICA study, critically reviewed the manuscript and approved the final manuscript version. Ioannis Kyrou developed the concept of the paper and drafted the manuscript. Ekavi Georgousopoulou, Christina Chrysohoou, Ioannis Kyrou,

Constantine Tsigos, and Dimitrios Tousoulis, critically reviewed the manuscript and approved the final manuscript version.

6. References

1. World Health Organization. Cardiovascular Diseases Fact Sheet Web Site. WHO. [Last reviewed on September 2016]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>
2. Esposito K, Chiodini P, Colao A, Lenzi A, Giugliano D. Metabolic syndrome and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* 2012;35:2402-11.
3. Grundy SM. Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:629-36.
4. Lemieux I. Energy partitioning in gluteal-femoral fat: does the metabolic fate of triglycerides affect coronary heart disease risk? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:795-7.
5. Okura T, Nakata Y, Yamabuki K, Tanaka K. Regional body composition changes exhibit opposing effects on coronary heart disease risk factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:923-9.
6. Kyrrou I, Randeva HS, Weickert MO. Clinical Problems Caused by Obesity. 2014 Apr 24. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, Koch C, Korbonits M, McLachlan R, New M, Purnell J, Rebar R, Singer F, Vinik A, editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278973/>
7. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L; INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004 Sep 11-17;364:937-52.
8. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Bautista L, Franzosi MG, Commerford P, Lang CC, Rumboldt Z, Onen CL, Lisheng L, Tanomsup S, Wangai P Jr, Razak F, Sharma AM, Anand SS; INTERHEART Study Investigators. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet*. 2005;366:1640-9.
9. Amato MC, Giordano C, Galia M, Criscimanna A, Vitabile S, Midiri M, Galluzzo A; AlkaMeSy Study Group. Visceral Adiposity Index: a reliable indicator of visceral fat function associated with cardiometabolic risk. *Diabetes Care*. 2010 Apr;33(4):920-2.
10. Amato MC, Pizzolanti G, Torregrossa V, Misiano G, Milano S, Giordano C. Visceral adiposity index (VAI) is predictive of an altered adipokine profile in patients with type 2 diabetes. *PLoS One*. 2014;9:e91969.
11. Amato MC, Giordano C, Pitrone M, Galluzzo A. Cut-off points of the visceral adiposity index (VAI) identifying a visceral adipose dysfunction associated with cardiometabolic risk in a Caucasian Sicilian population. *Lipids Health Dis*. 2011;10:183.

12. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chryschoou C, Stefanadis C. Epidemiology of Cardiovascular risk factors in Greece; aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. *BMC Public Health* 2003;3:32:1-9.
13. Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A. Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers. *Int J Epidemiol.* 1997;26: S118-27.
14. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2006; 16:559-68.
15. Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, et al. Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 2009;50:283-94.
16. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation.* 2009;120:1640-5.
17. Panagiotakos DB, Georgousopoulou EN, Pitsavos C et al. Ten-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence and all-cause mortality, in urban Greek population: The ATTICA Study. *Int J Cardiol.* 2015;180:178-84.
18. Panagiotakos DB et al. Validation of the HellenicSCORE (a Calibration of the ESC SCORE Project) Regarding 10-Year Risk of Fatal Cardiovascular Disease in Greece. *Hellenic J Cardiol.* 2015;56:302-8
19. Rader DJ. Effect of insulin resistance, dyslipidemia, and intra-abdominal adiposity on the development of cardiovascular disease and diabetes mellitus. *Am J Med.* 2007;120:S12-8.
20. Després JP. Intra-abdominal obesity: an untreated risk factor for Type 2 diabetes and cardiovascular disease. *J Endocrinol Invest.* 2006;29:77-82.
21. Sironi AM, Gastaldelli A, Mari A, Ciociaro D, Positano V, Buzzigoli E, Ghione S, Turchi S, Lombardi M, Ferrannini E. Visceral fat in hypertension: influence on insulin resistance and beta-cell function. *Hypertension.* 2004;44:127-33.
22. Kyrou I, Mattu HS, Chatha K, Randeva HS. Chapter 7 - Fat Hormones, Adipokines. In Schisler JC, Lang CH, Willis MS (eds) *Endocrinology of the Heart in health and disease.* pp 167-205. Academic Press, 2017.
23. Bays H, Abate N, Chandalia M. Adiposopathy: sick fat causes high blood sugar, high blood pressure and dyslipidemia. *Future Cardiol.* 2005;1:39-59.
24. Cimellaro A, Perticone M, Fiorentino TV, Sciacqua A, Hribal ML. Role of endoplasmic reticulum stress in endothelial dysfunction. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2016;26:863-71.

25. Garg A. Adipose tissue dysfunction in obesity and lipodystrophy. Clin Cornerstone. 2006;8 Suppl 4:S7-S13.
26. Knowles KM, Paiva LL, Sanchez SE, Revilla L, Lopez T, Yasuda MB, Yanez ND, Gelaye B, Williams MA. Waist Circumference, Body Mass Index, and Other Measures of Adiposity in Predicting Cardiovascular Disease Risk Factors among Peruvian Adults. Int J Hypertens. 2011;2011:931402.
27. Zhang X, Shu XO, Li H, Yang G, Xiang YB, Cai Q, Ji BT, Gao YT, Zheng W. Visceral adiposity and risk of coronary heart disease in relatively lean Chinese adults. Int J Cardiol. 2013;168:2141-5.
28. Mohammadreza B, Farzad H, Davoud K, Fereidoun Prof AF. Prognostic significance of the complex "Visceral Adiposity Index" vs. simple anthropometric measures: Tehran lipid and glucose study. Cardiovasc Diabetol. 2012;11:20.
29. Salazar MR, Carbajal HA, Espeche WG, Aizpurúa M, Maciel PM, Reaven GM. Identification of cardiometabolic risk: visceral adiposity index versus triglyceride/HDL cholesterol ratio. Am J Med. 2014;127:152-7.
30. Amato MC, Giordano C. Visceral adiposity index: an indicator of adipose tissue dysfunction. Int J Endocrinol. 2014;2014:730827.
31. Amato MC, Giordano C. Clinical indications and proper use of Visceral Adiposity Index. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2013;23:e31-2.

Table 1. Demographic, behavioral, lifestyle and clinical characteristics of the ATTICA Study participants at baseline and at the 10-year follow-up by cardiovascular disease (CVD) status ($n=2020$).

	Baseline $n = 2020$	CVD status at 10-year follow-up		<i>P</i>
		CVD event free $n=1703$	CVD events $n= 317$	
Age (years, range 18-89)	45 ± 14	43 ± 13	58 ± 13	<0.001
Gender, %male	50.24	47.97	62.46	<0.001
Smoking (pack years)	496 ± 501	441 ± 425	767 ± 705	<0.001
Smoking at baseline or before, %	43	55	57	0.46
Physical Activity, % physically active	41	40	41	0.95
Body Mass Index (kg/m ²)	26 ± 5	26 ± 5	28 ± 5	<0.001
Waist circumference (cm)	90 ± 15	89 ± 15	97 ± 14	<0.001
Waist to hip ratio	0.86 ± 0.1	0.85 ± 0.11	0.92 ± 0.11	<0.001
Waist to height ratio	0.53 ± 0.08	0.52 ± 0.08	0.57 ± 0.07	<0.001
Triglycerides to HDL-cholesterol ratio	2.79 ± 2.89	2.62 ± 2.33	4.32 ± 6.02	<0.001
Obesity, %yes	18	20	30	<0.001
Hypertension, %yes	30	28	51	<0.001
Diabetes Mellitus, %yes	7	5	22	<0.001
Hypercholesterolemia, %yes	39	40	57	<0.001
MedDietScore (range 0-55)	26 ± 7	26 ± 6	23 ± 7	<0.001
Metabolic syndrome, %yes	20	18	41	<0.001
C-reactive protein (mg/L)	1.93 ± 2.4	0.99±0.9	1.42 ±1.15	<0.001
Interleukin-6 (ng/mL)	1.46 ± 0.55	1.43± 0.55	1.65 ± 0.51	<0.001
Tumor necrosis factor-α (pg/mL)	6.21 ± 4.90	6.00 ± 4.70	8.33 ± 5.47	<0.001
VAI	4.4 ± 5	4.1 ± 3	6.6 ± 9	<0.001

Table 2. Cardiovascular disease (CVD) events during the 10-year ATTICA Study follow-up, as well as participants' baseline characteristics ($n=2020$) grouped by tertiles of the Visceral Adipose Index (VAI tertiles: <2.4; 2.4-4.5; >4.5).

	VAI tertiles at baseline			<i>P</i>
	1 st tertile	2 nd tertile	3 rd tertile	
CVD event during 10-yr follow-up, %yes	8	12	24	<0.001
Baseline characteristics				
Age (years)	19 ± 13	45 ± 14	50 ± 13	<0.001
Gender, %male	42	45	58	<0.001
Smoking (pack years)	362 ± 385	422 ± 420	617 ± 534	<0.001
Physical Activity, % physically active	48	43	33	<0.001
Body Mass Index (kg/m ²)	24 ± 3.6	26 ± 4.5	28 ± 4.6	<0.001
Waist circumference (cm)	82 ± 13	90 ± 14	98 ± 14	<0.001
Waist to hip ratio	0.81 ± 0.10	0.86 ± 0.11	0.91 ± 0.12	<0.001
Waist to height ratio	0.48 ± 0.07	0.53 ± 0.08	0.58 ± 0.08	<0.001
Triglycerides to HDL-cholesterol ratio	1.12 ± 0.34	2.12 ± 5.06	5.06 ± 4.05	<0.001
Education (years of school)	13 ± 3.4	12 ± 3.8	11 ± 3.9	<0.001
Hypertension, %yes	21	32	43	<0.001
Diabetes mellitus, %yes	2	4	13	<0.001
Hypercholesterolemia, %yes	22	45	64	<0.001
MedDietScore (range 0-55)	28 ± 7	26 ± 7	24 ± 6	<0.001
Metabolic Syndrome, %yes	3	14	55	<0.001
C-reactive protein (mg/L)	1.36 ± 2.05	2.03 ± 2.53	2.65 ± 2.6	<0.001
Interleukin-6 (ng/mL)	1.35 ± 0.39	1.47 ± 0.40	1.6 ± 0.43	<0.001
Tumor necrosis factor-α (pg/mL)	5.44 ± 3.81	6.41 ± 4.75	7.22 ± 3.63	<0.001

Continuous variables are presented as mean values ± standard deviation and categorical variables as frequencies. *P* values for the comparisons between the 1st and the 3rd VAI tertile groups derived using the t-test, while for comparisons of categorical variables using the chi-square test. MedDietScore: score evaluating the adherence to the Mediterranean diet (higher score values indicate better adherence).

Table 3. Results from the Cox proportional hazard models applied to evaluate the 10-year risk of having a cardiovascular event (outcome) according to the baseline Visceral Adipose Index (VAI) values.

All participants	Hazard Ratios (HR) *, 95% Confidence Intervals					
	<i>Full Model 1</i>	<i>Model 2</i>	<i>Model 3</i>	<i>Model 4</i>	<i>Model 5</i>	<i>Model 6</i>
Age (per 1 year)	1.06 (1.04-1.08)	1.08 (1.07-1.10)	1.06 (1.04-1.09)	1.06 (1.04-1.09)	1.05 (1.03-1.08)	1.06 (1.03-1.09)
Men vs. Women	1.66 (1.06-2.61)	2.03 (1.47-2.81)	2.29 (1.32-3.98)	2.07 (1.17-3.67)	1.99 (1.14-3.50)	1.94 (1.01-3.76)
VAI (per 1 unit)	-	1.06 (1.02-1.09) [‡]	1.05 (1.01-1.10) [‡]	1.04 (1.00-1.09) [‡]	1.04 (1.00-1.09) [‡]	1.05 (1.00-1.11) [‡]
Smokers vs. non smokers	1.00 (1.00-1.01)	-	1.00 (1.00-1.01)	1.00 (1.00-1.01)	1.00 (1.00-1.05)	1.00 (1.00-1.01)
Physically activity vs. inactive	0.74 (0.49-1.11)	-	0.82 (0.51-1.32)	0.87 (0.52-1.43)	0.87 (0.53- 1.43)	0.63 (0.35-1.13)
Education (years of school)	0.98 (0.93-1.04)	-	0.98 (0.93-1.05)	0.97 (0.91-1.03)	0.97 (0.91-1.04)	0.95 (0.88-1.02)
MedDietScore (range 0-55)	0.95 (0.92-0.99)	-	0.96 (0.92-1.01)	0.95 (0.91-1.00)	0.95 (0.91-0.99)	0.95 (0.91-1.00)
Hypertension (y/n)	1.06 (0.71-1.60)	-	1.22 (0.77-1.94)	1.44 (0.89-2.32)	1.43 (0.88-2.31)	1.23 (0.71-2.14)
Diabetes Mellitus (y/n)	2.39 (1.33-4.29)	-	2.35 (1.18-4.70)	2.13 (1.02-4.43)	2.23 (1.08-4.62)	2.21 (0.91-5.39)
Hypercholesterolemia (y/n)	1.33 (0.90-1.97)	-	1.43 (0.90-2.28)	1.32 (0.82-2.14)	1.32 (0.82-2.12)	1.67 (0.97-2.88)
C-reactive protein (mg/L)	-	-	-	1.12 (1.03-1.21)	-	-
Interleukin-6 (ng/mL)	-	-	-	-	1.62 (0.92-2.86)	-
Tumor necrosis factor-α (pg/mL)	-	-	-	-	-	1.10 (1.01-1.20)

* Hazard Ratios derived from semi-parametric Cox proportional hazards models. ‡ p <0.05.

MedDietScore: score evaluating the adherence to the Mediterranean diet (higher score values indicate better adherence). Smoking was analyzed as a continuous variable through pack years.

Table 4. Results from the additive Cox proportional hazards models developed to evaluate the predictive role of VAI on the risk of 10-year cardiovascular disease events (outcome) compared to other anthropometric indices such as the body mass index (BMI), waist circumference, waist to hip ratio, waist to height ratio and triglycerides to HDL-cholesterol ratio.

	Hazard Ratios (HR) ²	95% Confidence Intervals	Hosmer and Lemeshow Goodness of fit test ³
Full Model ¹	-	-	704.29
Full Model ¹ + <i>VAI</i>	1.05	(1.01-1.10)	516.72
Full Model ¹ + <i>BMI</i>	1.03	(0.99-1.08)	700.79
Full Model ¹ + <i>waist circumference</i>	1.01	(0.99-1.02)	691.80
Full Model ¹ + <i>waist to hip ratio</i>	1.33	(0.18-9.98)	687.37
Full Model ¹ + <i>waist to height ratio</i>	2.71	(0.21-5.45)	690.42
Full Model ¹ + <i>triglycerides to HDL-cholesterol ratio</i>	1.07	(1.01-1.14)	526.94

¹adjusted for age, sex, smoking (pack years), physical activity (active/inactive), education (years of school), MedDietScore, history of hypertension, diabetes mellitus, hypercholesterolemia

²Hazard Ratios derived from semiparametric Cox proportional hazards models.

³The Hosmer–Lemeshow statistical test was used for goodness of fit for the logistic regression models.

Olive oil consumption and 10-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence: the ATTICA Study

Georgia-Maria Kouli¹, MSc, Demosthenes B. Panagiotakos^{1,5}, PhD, Ioannis Kyrou^{1,2,3,4}, MD, PhD, Emanuela Magriplis¹, PhD, Ekavi N Georgousopoulou^{1,5}, PhD, Christina Chrysohoou⁶, MD, PhD, Constantine Tsigos¹, MD, PhD, Dimitrios Tousoulis⁵, MD, PhD, Christos Pitsavos⁵, MD, PhD.

¹Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education Harokopio University, Athens, Greece; ²Aston Medical Research Institute, Aston Medical School, Aston University, B4 7ET, Birmingham, UK; ³WISDEM, University Hospital Coventry and Warwickshire NHS Trust, CV2 2DX, Coventry, UK; ⁴Translational & Experimental Medicine, Division of Biomedical Sciences, Warwick Medical School, University of Warwick, CV4 7AL, Coventry, UK; ⁵Faculty of Health, University of Canberra, Canberra, Australia; ⁶First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, Greece

Acknowledgements

The authors would like to thank the ATTICA study group of investigators: Yannis Skoumas, Natasa Katinioti, Labros Papadimitriou, Constantina Masoura, Spiros Vellas, Yannis Lentzas, Manolis Kambaxis, Konstanitna Paliou, Vassiliki Metaxa, Agathi Ntzouvani, Dimitris Mpougatas, Nikolaos Skourlis, Christina Papanikolaou, Aikaterini Kalogeropoulou, Evangelia Pitaraki, Alexandros Laskaris, Mihail Hatzigeorgiou and Athanasios Grekas, Eleni Kokkou for either assistance in the initial physical examination and follow-up evaluation, Efi Tsetsekou for her assistance in psychological evaluation and follow-up evaluation, as well as laboratory team: Carmen Vassiliadou and George Dedousis (genetic analysis), Marina Toutouza-Giotsa, Constantina Tselika and Sia Pouloupoulou (biochemical analysis) and Maria Toutouza for the database management.

Corresponding author

Prof Demosthenes B Panagiotakos
Harokopio University, 176 71 Athens, Greece
Tel. +30 210-9549332
Email:dbpanag@hua.gr

Abstract

Purpose: Olive oil, being rich in mono-unsaturated fatty acids and anti-inflammatory compounds, may have protective effects against cardiovascular disease (CVD). The aim of the present work was to examine the association of olive oil consumption with the 10-year CVD incidence in adults without pre-existing CVD. **Methods:** The ATTICA Study is a prospective, population-based study conducted in the greater metropolitan area of Athens (Attica, Greece). During 2001-2002, 3042 CVD-free adults (1514 men and 1528 women) were voluntarily recruited to the ATTICA study. Among various dietary habits, consumption of olive oil and other fats/oils was assessed at baseline; participants were classified into three groups (no use; mixed use; and exclusive use of olive oil). In 2011-2012, the 10-year study follow-up was performed, recording the fatal/non-fatal CVD incidence in 2020 participants (mean follow-up duration: 8.41 years). **Results:** After controlling for various covariates, an inverse association between exclusive olive oil use and the risk of developing CVD was observed (relative risk 0.07, 95%CI: 0.01-0.66) compared to those not consuming olive oil. Further adjustment for fibrinogen plasma levels (among various inflammatory markers) showed a significant mediation effect on the previous association. **Conclusions:** These findings support exclusive olive oil consumption, a key component of the Mediterranean diet, for the primary CVD prevention, in adults without pre-existing disease. Circulating fibrinogen levels appear to play a mediating role in this relationship.

Keywords: olive oil, cardiovascular disease, nutrition, inflammation, fibrinogen

1. Introduction

Non-communicable diseases account for 70% of all deaths globally, with cardiovascular disease (CVD) constituting the most common cause (3.9 million CVD-related deaths in Europe, accounting for 45% of all deaths) [1]. Notably, mortality rates from ischaemic heart disease and stroke tend to be generally higher in Central and Eastern Europe than in Western and Southern Europe (*e.g.* in France, Spain, Greece, Italy and Portugal) [1, 2], contributing to the trends for longer life expectancy in these countries. Among the behavioral CVD risk factors, dietary factors are considered to have the greatest impact on CVD mortality/morbidity [1]. Indeed, the Mediterranean diet has been proposed as one of the major protective factors responsible for these geographical disparities in CVD mortality trends [3, 4].

The typical Mediterranean diet represents the traditional dietary pattern that prevailed in olive-growing areas of the Mediterranean region, such as the Greek island of Crete and southern Italy, in the late 1950s and early 1960s [5]. As such, olive oil, being the main source of culinary fat in these countries/regions [6, 7], is regarded as a key component of the traditional Mediterranean diet. In recent years, several health benefits have been credited to olive oil (virgin or refined) consumption and its nutritional value [8]. These are mainly attributed to its high content of mono-unsaturated fatty acids (MUFA), antioxidants and anti-inflammatory compounds, which may exert beneficial effects against the development and progression of diseases associated with chronic low-grade inflammation, including CVD where chronic inflammation of the vascular endothelium is linked to CVD events [8].

Compiling epidemiological data suggest that olive oil intake is inversely associated with CVD [9-12]. In the Spanish branch of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study, the total olive oil intake was associated with decreased risk of coronary heart disease (CHD) and lower all-cause and CVD mortality [10]. Similarly, the Prevention through Mediterranean Diet (PREDIMED) randomized clinical trial showed that a Mediterranean diet supplemented with olive oil reduces the incidence of CVD episodes and mortality in high CVD risk patients [11]. Moreover, in a case-control study conducted in Greece exclusive use of olive oil was also found to have a significant protective effect against acute coronary syndromes [12].

Despite the increasing evidence supporting the protective effects of olive oil consumption in relation to CVD and chronic subclinical inflammation [8], limited epidemiological data exist from the general population on the relationship between olive oil intake and long-term CVD risk. Therefore, the aim of the current work was to prospectively examine the association of olive oil consumption with the 10-year CVD incidence in the ATTICA study cohort of adults without pre-existing CVD.

2. Materials and Methods

2.1 Sampling procedure at baseline

The ATTICA Study is a prospective, population-based study conducted in the greater metropolitan area of Athens (Attica region, Greece). The study baseline examination was performed during 2001-2002, as previously described [13]. Briefly, the study was designed to enroll only one participant per household through a random, multistage process based on the age/sex distribution of the general population of the Attica region (2001 National Census). A total of 3042 free-living, Caucasian adults [1514 men (age: 18-87 years); 1528 women (age: 18-89 years)] consented to participate and were assessed by trained personnel, as per study protocol [13]. The study's physicians performed exclusion of individuals with pre-existing CVD at baseline through a detailed clinical evaluation.

2.2 Baseline measurements

The baseline evaluation included data on demographic characteristics (*e.g.*, age, sex, education), personal/family medical history (*e.g.* hypercholesterolemia, hypertension and diabetes), as well as dietary and other lifestyle habits (*e.g.* smoking status and physical activity) [13]. In the context of the present study, smokers were defined as those who smoked at least one cigarette per day or had stopped smoking during the preceding year (the rest of the participants were defined as non-smokers), and education was measured in years of school. Dietary habits were assessed based on a validated semi-quantitative food-frequency questionnaire (FFQ) [14], namely the EPIC-Greek questionnaire, which was kindly provided by the Unit of Nutrition of Athens Medical School. Moreover, the MedDietScore was also applied to assess the adherence to the Mediterranean diet (range 0-55; higher score values indicating greater adherence to the Mediterranean diet), as previously described [15]. In addition, study participants were asked to report the average intake of several foods and liquids consumed during the previous 12 months, and data on the total energy intake (kcal/day), ethanol intake (g/d), and percent (%) energy intake from fat were calculated based on food composition tables. Moreover, the intake of MUFA, saturated fatty acids (SFA), and trans-fatty acids (TFA), as well as the MUFA/SFA intake ratio and omega-3 fatty acids, were also calculated based on the information retrieved through the FFQ and relevant food composition tables. To evaluate the baseline physical activity status of study participants the International Physical Activity Questionnaire was used (IPAQ) [16], as an index of weekly energy expenditure using frequency (times per week), duration (in minutes per time) and intensity of sports or other habits related to physical activity (in expended calories per time). Accordingly, participants who did not report any physical activities were defined as physically inactive.

Anthropometric measurements were performed for all participants at baseline and the body mass index (BMI) was calculated as weight (in Kg) divided by standing height (in square meters, m^2). The waist-to-hip ratio (WHR) was also calculated for each participant based on the hip and waist circumference measured (to the nearest 0.5 cm) using an inelastic measuring tape at the iliac crest and in the middle between the lowest rib and the iliac crest, respectively.

Arterial blood pressure (mean of 3 recordings) was also measured at the end of the baseline physical examination with the study participant in a sitting position after resting for at least 30 minutes. Participants with average blood pressure levels greater or equal to 140/90 mmHg (or on antihypertensive treatment) were classified as having hypertension.

Baseline blood samples were also collected from each participant at 8-10 am after 10-12 hours of overnight fasting and alcohol abstinence. From these samples, blood lipids (total cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides) were measured using a chromatographic enzymic method in a Technicon automatic analyser RA-1000 (Dade Behring, Marburg, Germany). Hypercholesterolemia was defined as total cholesterol levels greater than 200 mg/dl (or treatment with lipid-lowering agents). Blood glucose levels (mg/dl) were measured with a Beckman Glucose Analyzer (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA), and participants with fasting blood glucose levels greater than 125 mg/dl were classified as having diabetes according to the American Diabetes Association diagnostic criteria [17]. In addition, measurements of selected circulating pro-inflammatory biomarkers were also performed, including C-reactive protein (CRP), fibrinogen, and interleukin-6 (IL-6), as well as homocysteine and plasma oxidized LDL-cholesterol (ox-LDL; as an oxidative stress biomarker). High sensitivity CRP was assayed by particle-enhanced immunonephelometry (N Latex, Dade-Behring Marburg GmbH, Marburg, Germany) and participants with CRP levels above 10 mg/L were excluded from the analyses.

In the context of this work, the participants were also classified according to the presence/absence of metabolic syndrome (MetS), using the criteria of the NCEP ATP III (revised 2005) MetS definition [18].

2.3 Olive oil consumption at baseline

All participants provided detailed information on the consumption of olive oil, vegetable seed oils, butter and margarines by reporting the use of various oils in daily cooking and preparation of meals (*e.g.* addition to salads, dressings, etc.). Based on the reported baseline olive oil consumption, study participants were divided to those reporting daily olive oil use/consumption and those reporting no olive oil intake at all, and were also further sub-grouped into three categories, namely to no olive oil use group (consumption of other dietary fats/oils except for olive oil), mixed use group (combined use of olive oil and other dietary fats/oils) and exclusive olive oil use group (consumption/use of olive oil only).

2.4 Follow-up examination (2011-2012)

During 2011-12, the 10-year follow-up of the ATTICA Study was performed by trained study investigators (mean follow-up duration: 8.41 years), as previously described [19]. In brief, 2583 of the 3042 initially enrolled participants were re-evaluated for this follow-up [85% participation rate; mean age at baseline (years $\pm$ standard deviation): 45 ± 14 and 46 ± 14 years for women and men, respectively, with no difference to the overall study sample]. Detailed evaluation of the medical records of

all these re-evaluated participants (n=2583) was performed, focusing on their 10-year CVD status, and data (with WHO-ICD coding) were collected for: (a) vital status (death from any cause or due to CVD); (b) development of CVD, including myocardial infarction, angina pectoris, other identified forms of ischemia, heart failure of different types, chronic arrhythmias and stroke [19]. Regarding the CVD status at the 10-year follow-up, clinically accurate and complete data were obtained from 2020 study participants (Table 1). For the aims of the present study in order to explore the association of olive oil consumption with long-term CVD risk, herein we present our data in relation to the 10-year incidence of fatal/non-fatal CVD for these 2020 study participants.

2.5 Bioethics

The study was approved by the Bioethics Committee of Athens Medical School and was carried out in accordance to the Declaration of Helsinki (1989) of the World Medical Association. Prior to any study-related procedures, each participant was informed on the aims and protocol of the study and provided written signed consent.

2.6 Statistical analysis

Crude, non-fatal and fatal incidence rates of combined CVD (*i.e.*, coronary heart disease or stroke) were calculated as the ratio of new cases to the number of study participants in the 10-year follow-up. Continuous variables were tested for normality through P-P plots and are presented as mean values $\pm$ standard deviation (SD) or as median if not normally distributed, whilst categorical variables are presented as frequencies. Associations between categorical variables were tested using the chi-square test, while between continuous variables using the Pearson *r* or Spearman's *rho* coefficients for the normally and skewed variables, respectively. Comparisons of mean values of normally distributed variables by olive oil use/consumption were performed using analysis of variance (ANOVA), and post-hoc analyses using the Bonferroni rule were performed to account for the inflation of the probability of type-I error. Comparisons between mean values of normally distributed variables between those who developed a CVD event and the rest of the participants who remained CVD-free were performed using Student's t-test, after controlling for equality of variances using the Levene's test. Comparisons of continuous variables that did not follow a normal distribution were performed using the non-parametric U-test proposed by Mann and Whitney and the Kruskal-Wallis H-test. The hazard ratios (HR) and the corresponding 95% confidence intervals (CI) of developing a CVD event during the 10-year period according to the participants' baseline characteristics were estimated using Cox proportional hazards models. The time to CVD event was recorded on an annual basis. Multicollinearity between independent variables was tested using the Correlation Matrix of the models' estimates. Sobel's test was applied to test for a potential mediating effect of various biomarkers on the tested association. All reported *p*-values are based on two-sided tests. The Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 21 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software was used for all statistical analyses.

3. Results

3.1 Baseline characteristics of study participants by olive oil consumption status

Based on the baseline dietary reports, 89.5% of the 2020 participants reported daily olive oil consumption (mixed with other additive fats or exclusive, while the rest (10.5%) reported no olive oil use/consumption; particularly, exclusive olive oil use in daily cooking was reported by 1.1% of the participants. **Table 1** presents the demographic, clinical, lifestyle and behavioral characteristics of these study participants based on olive oil consumption at baseline (no use vs. daily use). Overall, compared to participants reporting no olive oil use, those who reported daily olive oil consumption at baseline were younger, less likely to be smokers, and had lower BMI values; but had higher WHR and waist circumference, higher fasting levels of plasma lipids and were also more likely to have MetS at baseline (Table 1; all p-values <0.05). Participants who consumed olive oil on a daily basis exhibited closer adherence to the Mediterranean diet, as indicated by the higher MedDietScore ($p=0.03$), and a higher MUFA/SFA ratio intake ($p=0.006$), whilst they also had lower energy intake from SFA ($p=0.007$) compared to participants reporting no olive oil use (**Table 1**). As far as omega-3 intake is concerned, participants reporting olive oil use on a daily basis had higher levels of omega-3 fatty (g/d) acids compared to olive oil abstainers (mean $\pm$ SD: 2.19 ± 0.80 vs. 2.11 ± 0.59 , $p\text{-value}=0.002$).

3.2 10-year CVD incidence and baseline olive oil consumption

The 10-year fatal or non-fatal CVD event rate documented in the study was 157 cases/1000 participants [*i.e.*, $n=317$ subjects; men: $n=198$ (195 cases/1000 participants); women: $n=119$ (118 cases/1000 participants); p for gender difference <0.001].

No association was observed when compared participants with no olive use with those reported (mixed or exclusive) use as regards 10-year CVD risk ($p=0.40$). However, after classifying the participants into three groups, *i.e.* no olive oil use group, mixed use group and exclusive olive oil use, participants in the no olive oil use or in the mixed use group (*i.e.*, consuming olive oil along with other dietary fats/oils) were 4.2-times and 5.3-times more likely to develop a CVD event during the 10-year study follow-up compared to those reporting exclusive olive oil use (**Table 1**).

The aforementioned comparisons may be prone to residual confounding due to various factors. Thus, multi-adjusted analysis was also performed, controlling for multiple CVD-related covariates (**Table 2**). Age-sex analysis revealed a significant protective association between exclusive olive oil consumption and the 10-year CVD incidence (**Table 2, Model 1**); even when other variables (*i.e.*, BMI, smoking, physical activity status, education, hypertension, diabetes, hypercholesterolemia, and MetS) were entered in this model as potential confounders or mediating factors, participants who consumed exclusively olive oil at baseline had a 93% lower risk of a CVD event during the study follow-up period compared to the no olive oil use group (**Table 2**,

Model 2). Similarly, when MedDietScore and omega-3 fatty acids intake were entered in the model, the effect size of the association between olive oil use and CVD risk remained unaltered (data not shown). Moreover, no significant interactions were observed between olive oil use and the aforementioned potential confounders / mediating factors.

Taking into account that sub-clinical, low-grade inflammation could be a possible mediator of the association between exclusive olive oil consumption and the CVD risk, selected relevant circulating biomarkers were entered, consecutively (and separately) in the fully adjusted model (**Model 2**). Amongst these tested models, only adjustment for fibrinogen plasma levels showed a significant mediation of olive oil use on CVD risk (**Model 3, Table 2**; p for Sobel's test 0.05). Contrary, the models including CRP, ox-LDL, IL-6 and homocysteine, did not alter the impact of olive oil use on CVD risk (OR=1.05, 95% CI: 0.98-1.12; OR=1.00, 95% CI: 0.99-1.01; OR=1.02, 95% CI: 0.78-1.34; OR=1.01, 95% CI: 0.97-1.03, respectively) (*models/data not shown*).

4. Discussion

The present study reported novel data from a large cohort of prospectively followed adults without pre-existing CVD, showing a significant inverse association between exclusive use/consumption of olive oil and the 10-year CVD incidence, irrespective of the level of adherence to the Mediterranean diet and or other important constituents (e.g., omega-3 fatty acids intake). Of note, the reported results further suggest that fibrinogen, which is a key plasma coagulation factor with a potential pro-inflammatory role in vascular wall disease [20], may have a mediating effect in this protective association. Interestingly, there is evidence in the literature indicating that olive oil consumption can lower plasma fibrinogen levels and impact on platelet function, thrombogenesis and fibrinolysis [21, 22]. The fact that fibrinogen levels may better reflect vascular damage, could, partially be an explanation of the present study's findings, regarding the lack of mediating effect from the other inflammatory markers levels. However, the link between olive oil consumption, haemostasis, subclinical inflammation and CVD offers an intriguing hypothesis, which requires further experimental research. The presented findings are of particular importance for public health strategies on nutrition/diet and primary CVD prevention, supporting the notion that olive oil may be a key-player for the protection against CVD in the general population, potentially involving haemostasis and pro-inflammatory mechanisms.

The beneficial effects of olive oil are mainly attributed to its high content of MUFA (*i.e.*, mainly to oleic acid), although other minor compounds/components, such as lipid molecules (*e.g.*, squalene, tocopherols, triterpennic alcohols) and phenols (*e.g.*, hydroxytyrosol and oleuropein) may also have important biological properties. This has particular importance, as recent studies have showed that hydroxytyrosol helps to improve plasma lipids levels and repair oxidative damage related to CVD [8, 22].

Moreover, in a recent study located in southern Spain a greater dietary consumption of polyphenols in olive oil among participants who more closely followed the Mediterranean diet pattern, was observed; a fact that may also explain the cardioprotective effects of olive oil [23]. Of note, its high MUFA content confers to olive oil (virgin or refined) high resistance to elevated temperatures, thus allowing it to be reutilized more than once for frying [24]. In comparison to SFA from butter and margarine, olive oil/MUFA reduces low-density lipoprotein cholesterol (LDL) and favors an increase in high-density lipoprotein cholesterol (HDL) levels [8]. Furthermore, taking into consideration that the phenolic compounds of olive oil are potential scavengers of superoxide radicals and inhibit LDL oxidation, the effect of olive oil consumption on preserving the endothelial function may offer an additional benefit against the links between endothelial dysfunction, oxidative stress, inflammation and CVD [25, 26]. Moreover, a recent meta-analysis of randomized controlled trials (RCTs) investigating the effects of olive oil on markers of inflammation and endothelial function suggested that both pro-inflammatory biomarkers (CRP and IL-6) and endothelial function (flow-mediated dilatation) were favorably affected following interventions with olive oil [27]. It becomes evident, that all these mechanisms support the advantages of exclusive olive oil consumption compared to SFA-rich dietary patterns (*e.g.* cooking with butter and margarine) and may explain its protective role against CVD [8, 23].

It is also important to note the present findings are in accord with the existing epidemiological evidence from prospective studies showing that high olive oil consumption is inversely associated with CVD risk [10, 28, 29]. Indeed, in the EPICOR study reduced CVD risk (HR=0.56; 95%CI: 0.31-0.99) was observed among Italian women in the highest quartile of olive oil consumption during the study follow-up period (approximately 8 years) [28]. Moreover, in the EPIC-Spain study (13.4 years of follow-up) participants in the highest quartile of olive oil consumption had a 44% lower risk in CVD mortality compared to those not consuming olive oil [10]. The beneficial impact of olive oil consumption against CVD was further supported by the PREDIMED study, which showed that a Mediterranean diet supplemented with extra-virgin oil was associated with a clear reduction in CVD events (HR=0.70; 95%CI: 0.54-0.92) in individuals at high CVD risk [29]. As such, the results presented are in agreement with the results of the PREDIMED study that highlighted olive oil consumption as a crucial Mediterranean Diet component for CVD prevention [11, 29]. It is of interest that the observed findings were not altered by the dietary pattern that the ATTICA study participants followed. Specifically, although olive oil consumers were higher adherers to the traditional dietary pattern and also reported higher omega-3 fatty acids intake, when adherence to the Mediterranean diet was taken into account in the epidemiological models, no alterations were observed in the tested relationship between olive oil and CVD risk, enphasizing the important role of olive oil on cardiovascular system.

Taking into consideration the traditional dietary patterns in Europe, it is not surprising that most of the limited existing prospective studies on the association between exclusive olive oil use and CVD risk are from Greece [12, 30, 31]. Although these previous studies focused on patients with coronary artery disease, their results also agree with the findings of the present study [12, 30, 31]. Indeed, the Greek CARDIO2000 case-control study, examined the association between exclusive olive oil consumption and the risk of developing acute coronary syndromes (ACS) in a large sample of ACS patients and CVD-free controls (748 cases and 1048 controls) showing a protective effect for the exclusive olive oil use against ACS (OR=0.53, 95% CI: 0.34-0.71) [12]. Moreover, the prospective GRECS study for secondary CVD prevention among patients with a history of ACS, exhibited an association between exclusive olive oil consumption and lower risk of recurrent ACS events [31].

4.1 Study strengths and limitations

The data of this work were obtained through a reliable and prospective follow-up process in a well-characterized, large CVD-free cohort from the general population in which multiple CVD-associated risk factors were comprehensively assessed with standardized procedures/methods. The characteristics of the study design/protocol and population strengthen the significance of the findings, since the associations of the olive oil consumption pattern with long-term CVD-risk were explored at baseline in a unique cohort from a Mediterranean country that traditionally has the highest daily use of olive oil in food cooking/preparation, while adjusting for multiple confounders.

However, certain study limitations must be also acknowledged. As such, it should be noted that the baseline study examination was performed once, hence may be susceptible to measurement error. Furthermore, the daily quantity of olive oil consumption was not evaluated, and therefore, it was not able to provide information about the contribution of olive oil to the total fat intake, as well as fat from ready to eat meals. Moreover, there was no characterization of the different varieties of olive oil (*e.g.* common, virgin or extra virgin olive oil), and, thus, the role of polyphenol intake was not specifically explored in this context. Moreover, it is possible that a number of participants may have changed their olive oil use habits during the follow-up period. Nevertheless, the applied methodology is similar to that followed in other prospective epidemiological studies in this field and, thus, the results can be considered reliable and generally comparable.

4.2 Conclusions

The present study offers evidence revealing an independent inverse association between exclusive olive oil use/consumption and CVD incidence in a cohort of Caucasian/Mediterranean adults without previous CVD. In addition, the multi-adjusted analyses suggest that fibrinogen may play a mediating role in this protective association. As such, these findings from the ATTICA study cohort extend the existing epidemiological evidence in this field and highlight the beneficial impact of olive oil consumption, a key component of the Mediterranean diet, on primary CVD prevention.

Acknowledgements

The authors would like to thank the ATTICA study group of investigators: Yannis Skoumas, Natasa Katinioti, Labros Papadimitriou, Constantina Masoura, Spiros Vellas, Yannis Lentzas, Manolis Kambaxis, Konstanitna Paliou, Vassiliki Metaxa, Agathi Ntzouvani, Dimitris Mpougatas, Nikolaos Skourlis, Christina Papanikolaou, Aikaterini Kalogeropoulou, Evangelia Pitaraki, Alexandros Laskaris, Mihail Hatzigeorgiou and Athanasios Grekas, Eleni Kokkou for either assistance in the initial physical examination and follow-up evaluation, Efi Tsetsekou for her assistance in psychological evaluation and follow-up evaluation, as well as laboratory team: Carmen Vassiliadou and George Dedousis (genetic analysis), Marina Toutouza-Giotsa, Constantina Tselika and Sia Pouloupoulou (biochemical analysis) and Maria Toutouza for the database management.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Contributors

GMK had the concept of the paper, performed data analyses and interpreted the results; DP supervised the study and reviewed the paper, CC, EG CP, designed the study, critically reviewed the paper, EM, IK, CT, DT critically reviewed the paper. All authors approved the final version.

Funding: D.B. Panagiotakos and E. Georgousopoulou received research grants by Coca-Cola SA. The ATTICA Study has been funded by research grants from the Hellenic Cardiology Society and the Hellenic Atherosclerosis Society.

6. References

1. European Cardiovascular Disease Statistics (2017) Web site. <http://www.ehnheart.org/cvd-statistics.html>. Accessed 17 July 2017
2. World Health Organization (2017) Cardiovascular Diseases Fact Sheet Web Site. WHO. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>. Accessed 17 July 2017.
3. Trichopoulou A, Kouris-Blazos A, Wahlqvist ML, Gnardellis C, Lagiou P, Polychronopoulos E, Vassilakou T, Lipworth L, Trichopoulos D (1995) Diet and overall survival in elderly people. *BMJ* 311:1457-60.
4. Willett WC (2006) The Mediterranean diet: science and practice. *Public Health Nutr* 9:105-10.
5. Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Djordjevic BS, Dontas AS, Fidanza F, Keys MH, Kromhout D, Nedeljkovic S, Punsar S, Seccareccia, Toshima H (1986) The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol* 124:903-15.
6. Psaltopoulou T, Sergentanis TN, Panagiotakos DB, Sergentanis IN, Kostis R, Scarmeas N (2013) Mediterranean diet, stroke, cognitive impairment, and depression: A meta-analysis. *Ann Neurol* 74:580-91.
7. Kastorini CM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB (2011) The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *J Am Coll Cardiol* 57:1299-313.
8. Covas MI, de la Torre R, Fitó M (2015) Virgin olive oil: a key food for cardiovascular risk protection. *Br J Nutr* 113 Suppl 2:S19-28.
9. Schwingshackl L, Hoffmann G (2014) Monounsaturated fatty acids, olive oil and health status: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Lipids Health Dis* 13:154.
10. Buckland G, Mayén AL, Agudo A, Travier N, Navarro C, Huerta JM, Chirlaque MD, Barricarte A, Ardanaz E, Moreno-Iribas C, Marin P, Quirós JR, Redondo ML, Amiano P, Dorronsoro M, Arriola L, Molina E, Sanchez MJ, Gonzalez CA (2012) Olive oil intake and mortality within the Spanish population (EPIC-Spain). *Am J Clin Nutr* 96:142-9.
11. Guasch-Ferré M, Hu FB, Martínez-González MA, Fitó M, Bulló M, Estruch R, Ros E, Corella D, Recondo J, Gómez-Gracia E, Fiol M, Lapetra J, Serra-Majem L, Muñoz MA, Pintó X, Lamuela-Raventós RM, Basora J, Buil-Cosiales P, Sorlí JV, Ruiz-Gutiérrez V, Martínez JA, Salas-Salvadó J (2014) Olive oil intake and risk of cardiovascular disease and mortality in the PREDIMED Study. *BMC Med* 12:78.
12. Kontogianni MD, Panagiotakos DB, Chrysohooou C, Pitsavos C, Zampelas A, Stefanadis C (2007) The impact of olive oil consumption pattern on the risk of acute coronary syndromes: The CARDIO2000 case-control study. *Clin Cardiol* 30:125-9.

13. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Stefanadis C (2003) Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. *BMC Public Health* 3:32.
14. Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A (1997) Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers. *Int J Epidemiol* 26: S118-127.
15. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C (2006) Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 16: 559-568.
16. Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, Spyropoulos P, Georgakopoulos D, Kalfakakou V, Evangelou A (2009) Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 50:283-294.
17. American Diabetes Association Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (2014) *Diabetes Care* 20:1183-97.
18. Grundy SM, Brewer HB Jr., Cleeman JI, Smith SC Jr., Lenfant C (2004) Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 109:433– 8.
19. Panagiotakos DB, Georgousopoulou EN, Pitsavos C, Chrysohoou C, Metaxa V, Georgiopoulos GA, Kalogeropoulou K, Tousoulis D, Stefanadis C; ATTICA Study group (2014) Ten-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence and all-cause mortality, in urban Greek population: the ATTICA Study. *Int J Cardiol* 180:178-84.
20. Davalos D, Akassoglou K (2012) Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease. *Semin Immunopathol* 34:43-62.
21. Oosthuizen W, Vorster HH, Jerling JC, Barnard HC, Smuts CM, Silvis N, Kruger A, Venter CS (1994) Both fish oil and olive oil lowered plasma fibrinogen in women with high baseline fibrinogen levels. *Thromb Haemost* 72:557-62.
22. Delgado-Lista J, Garcia-Rios A, Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F (2011) Olive oil and haemostasis: platelet function, thrombogenesis and fibrinolysis. *Curr Pharm Des* 17:778-85.
23. de la Torre-Robles A, Rivas A, Lorenzo-Tovar ML, Monteagudo C, Mariscal-Arcas M, Olea-Serrano F. Estimation of the intake of phenol compounds from virgin olive oil of a population from southern Spain. (2014) *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 31:1460-9.
24. Casal S, Malheiro R, Sendas A, Oliveira BP, Pereira JA. (2010) Olive oil stability under deep-frying conditions. *Food Chem Toxicol* 48:2972-9.
25. Ruiz-Canela M, Martínez-González MA (2011) Olive oil in the primary prevention of cardiovascular disease. *Maturitas* 68:245-50.

26. Schwingshackl L, Hoffmann G (2014) Monounsaturated fatty acids, olive oil and health status: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Lipids Health Dis* 13:154.
27. Schwingshackl L, Christoph M, Hoffmann G (2015) Effects of Olive Oil on Markers of Inflammation and Endothelial Function-A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* 7:7651-75.
28. Bendinelli B, Masala G, Saieva C, Salvini S, Calonico C, Sacerdote C, Agnoli C, Grioni S, Frasca G, Mattiello A, Chiodini P, Tumino R, Vineis P, Palli D, Panico S (2011) Fruit, vegetables, and olive oil and risk of coronary heart disease in Italian women: the EPICOR Study. *Am J Clin Nutr* 93:275-83.
29. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, Gómez-Gracia E, Ruiz-Gutiérrez V, Fiol M, Lapetra J, Lamuela-Raventos RM, Serra-Majem L, Pintó X, Basora J, Muñoz MA, Sorlí JV, Martínez JA, Martínez-González MA; PREDIMED Study Investigators (2013) Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med* 368:1279-90.
30. Dimitriou M, Rallidis LS, Theodoraki EV, Kalafati IP, Kolovou G, Dedoussis GV (2016) Exclusive olive oil consumption has a protective effect on coronary artery disease; overview of the THISEAS study. *Public Health Nutr* 19:1081-7.
31. Kouvari M, Notara V, Panagiotakos DB, Michalopoulou M, Vassileiou N, Papataxiarchis E, Tzanoglou D, Mantas Y, Kogias Y, Stravopodis P, Papanagnou G, Zombolos S, Pitsavos C; GREECS Study Investigators (2016) Exclusive olive oil consumption and 10-year (2004-2014) acute coronary syndrome incidence among cardiac patients: the GREECS observational study. *J Hum Nutr Diet* 29:354-62.

Table 1. Selected characteristics (demographic, lifestyle, clinical and diet characteristics) of the ATTICA Study participants as regards olive oil use at baseline.

	Total n=2020	Olive oil use/consumption		P
		No use n=212 (10.5%)	Mixed or exclusive daily use n=1808 (89.5%)	
Baseline characteristics				
10-year CVD events, %	15.7	12.8	3.0	0.03
Age (years)	45 ± 14	50 ± 15	44 ± 14	<0.001
Gender, %male	50	48	50	0.39
Smoking habits, %yes	43	50	43	0.012
Physical Activity, %physically active	41	39	40	0.46
Body Mass Index (kg/m ²)	26 ± 5	27 ± 4	26 ± 5	0.04
Waist circumference (cm)	90 ± 15	88 ± 16	90 ± 14	0.03
Waist-to-hip ratio	0.86 ± 0.1	0.83 ± 0.09	0.86 ± 0.11	<0.001
Education (years of school)	12 ± 4	11 ± 3	12 ± 4	<0.001
Hypertension, %yes	30	27	30	0.29
Diabetes Mellitus, %yes	7	8	7	0.49
Hypercholesterolemia, %yes	39	26	41	<0.001
Metabolic syndrome, %yes	20	10	21	<0.001
Fibrinogen (mg/dL)	311± 69	309 ± 66	311 ± 70	0.69
Baseline dietary factors				
MedDietScore (range 0-55)	26 ± 7	25 ± 8	27 ± 7	0.03
Total energy intake (kcal/day)	2365 ± 952	2292 ± 963	2371± 951	0.44
Ethanol intake (g/d)	15 ± 15	14 ± 11	16 ± 17	0.21
Energy intake from fat, %	35	34	35	0.89
Energy intake from SFA, %	11	10	9	0.007
Energy intake from MUFA, %	23	23	24	0.37
MUFA/SFA intake ratio intake	1.7 ± 0.49	1.6 ± 0.48	1.8 ± 0.47	0.006
Energy from trans-fatty acids, %	0.59	0.60	0.59	0.90

Continuous variables are presented as mean ± standard deviation and categorical variables as frequencies. P-values for the comparisons between the no olive oil consumption group and the daily olive oil consumption group derived using the t-test, while for the comparisons of categorical variables using the chi-square test. MedDietScore: score evaluating the adherence to the Mediterranean diet (higher score values indicate better adherence); MUFA: mono-unsaturated fatty acids; SFA: saturated fatty acids

Table 2. Results from the Cox proportional hazards models [Hazard Ratios (HR) and 95% confidence intervals (CI)] that were applied to evaluate the 10-year risk of developing a fatal or non-fatal cardiovascular disease (CVD) event (outcome) according to the olive oil use/consumption pattern at baseline.

	Hazard Ratios ¹ , 95% Confidence Intervals					
	<i>Model 1</i>		<i>Model 2</i>		<i>Model 3</i>	
Olive oil use						
<i>No use (reference category)</i>	1.00	-	1.00	-	1.00	-
<i>Mixed use with other oils/fats in cooking</i>	0.98	0.52, 1.85 ²	0.91	0.45, 1.83 ²	2.02	0.69-5.90 ²
<i>Exclusive use in daily cooking</i>	0.11	0.01, 0.95 ²	0.07	0.01-0.66 ²	0.24	0.02-2.54 ²
Age (per 1 year)	1.09	1.08, 1.10	1.08	1.07-1.10	1.07	1.06-1.09
Men vs. Women	1.99	1.52, 2.63	1.72	1.28-2.33	1.78	1.27-2.50
Body Mass Index (per 1 kg/m ²)	-	-	1.03	0.99-1.07	1.03	0.99-1.07
Smoking habits (ever vs. never)	-	-	1.30	0.96-1.78	1.44	1.02-2.05
Physically active vs. inactive	-	-	0.97	0.72-1.30	0.98	0.70-1.37
Education (>14 years vs. <9 years)	-	-	0.97	0.93-1.01	0.96	0.92-1.00
History of						
<i>Hypertension (y/n)</i>	-	-	1.04	0.77-1.42	1.01	0.71-1.43
<i>Hypercholesterolemia (y/n)</i>	-	-	1.07	0.80-1.43	1.11	0.80-1.54
<i>Diabetes mellitus (y/n)</i>	-	-	1.67	1.08-2.59	1.47	0.89-2.44
Metabolic syndrome (y/n)	-	-	1.56	1.12-2.20	1.76	1.19-2.60
Fibrinogen (per 1 mg/dL)	-	-	-	-	1.00	1.00-1.01

¹ Hazard Ratios derived from semiparametric Cox proportional hazards models.

² *p*-value <0.05

Beer, wine consumption and 10-year CVD incidence: the ATTICA Study

Demosthenes B. Panagiotakos^{1,2}, PhD, Georgia-Maria Kouli¹, MSc, Emmanuela Magriplis¹, PhD, Ioannis Kyrou^{1,3,4,5}, MD, PhD, Ekavi N Georgousopoulou^{1,2}, PhD, Christina Chrysohoou⁶, MD, PhD, Constantine Tsigos¹, MD, PhD, Dimitrios Tousoulis⁶, MD, PhD, Christos Pitsavos⁶, MD, PhD.

¹Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education Harokopio University, Athens, Greece; ²Faculty of Health, University of Canberra, Canberra, Australia; ³Aston Medical Research Institute, Aston Medical School, Aston University, B4 7ET, Birmingham, UK; ⁴WISDEM, University Hospital Coventry and Warwickshire NHS Trust, CV2 2DX, Coventry, UK; ⁵Translational & Experimental Medicine, Division of Biomedical Sciences, Warwick Medical School, University of Warwick, CV4 7AL, Coventry, UK;

⁶First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, Greece

Corresponding author

Prof Demosthenes B Panagiotakos
Harokopio University, 176 71 Athens, Greece
Tel. +30 210-9549332
Email: dbpanag@hua.gr

Abstract

Background/Objectives: Low/moderate alcohol consumption seems to be protective against cardiovascular disease (CVD). This study aimed to investigate the association of wine/beer consumption with the 10-year CVD incidence. **Subjects/Methods:** During 2001-2002, 3042 CVD-free adults consented to participate in the ATTICA study; of them 2583 completed the 10-year follow-up (85% participation rate), but precise information about fatal/non-fatal CVD incidence (myocardial infarction, angina pectoris, cardiac ischemia, heart failure, chronic arrhythmias, stroke) was available in 2020 participants (overall retention rate 66%). Alcohol/ethanol intake and the alcoholic beverages consumed were assessed; participants were categorized into 3 groups (no use; ≤ 1 glass/week; >1 glass/week). **Results:** Alcohol drinking was reported by 56% of the participants who did not develop a CVD event and by 49% of those who had ($p=0.04$); whereas ethanol intake was 14 ± 16 g among those who did not had an event vs. 21 ± 18 g among those who had a CVD event ($p<0.001$). A strong inverse and similar association between low wine/beer intake (≤ 1 glass/week) and the risk of developing CVD was observed [HR: 0.40, 95%CI: 0.17-0.98; and HR: 0.43, 95%CI: 0.20-0.93, respectively], as compared to abstention. No significant association was found in participants exceeding drinking 1 glass/week compared to abstainers. Compared to <2 g/day ethanol intake, participants who reported 2-10 g/day, 10-20 g/day and >20 g/day had CVD risk HRs (95%CI) of 0.60 (0.40, 0.98), 1.22 (0.60, 1.14), 1.81 (0.70, 4.61), respectively. **Conclusions:** This study revealed similar results of low wine/beer consumption against CVD incidence, mainly due to its implication on low-grade chronic inflammation.

Keywords: alcohol, ethanol, wine, beer, cardiovascular disease

1. Introduction

Wine consumption has been closely related to daily diet in several places of the world since antiquity; moreover, there are numerous studies that have associated moderate wine consumption with better health status [1]. Beer has also been an important part of the human diet, in several cultures, since ancient times, too [2]. Despite, its lower antioxidant activity beer also exerts a protective role, mainly, against cardiovascular disease (CVD). However, the health effect of beer is undistinguishable from that of wine, especially in population investigations where a typical healthy dietary pattern, like the Mediterranean where wine represents the alcoholic drink of choice typically consumed with the main meals, is evaluated [3-5]. Recently, the effects of alcohol on human health have received increasing attention, with particular focus and debate, not only on alcohol abuse, but also on the health impact of moderate alcohol drinking [6-13]. Of note, in SUN prospective study new data revealed that the consumption of alcohol following a dietary pattern that gets away from the traditional Mediterranean habits has been associated with higher mortality, as it is the total abstention of alcohol in comparison with good conformity to the traditional Mediterranean drinking pattern that matters [1].

Although there are studies that have already examined the effect of wine and beer consumption on CVD risk [6, 11, 12], however, limited are the prospective studies that examine the long-term CVD risk with wine and/or beer drinking. Thus, the aim of the present study was to examine the 10-year CVD incidence in relation to wine and/or beer consumption, among adults with no previous CVD. Secondarily the study aimed to explore potential differential pathways on the CVD risk exists between these most commonly consumed alcoholic beverages.

2. Materials and Methods

2.1 Baseline Sampling procedure

The ATTICA Study is a prospective, population-based study, which was conducted in the greater metropolitan area of Athens (Attica region, Greece) [14]. The baseline examination through a random, multistage sampling design took place during 2001-2002. In total, 3042 free-living, Caucasian adults [1514 men (age: 18-87 years); 1528 women (age: 18-89 years)] consented to participate; individuals with pre-existing CVD at baseline excluded from the sampling through a detailed clinical evaluation by the study physicians.

2.2 Baseline measurements

Measurements included demographic characteristics (*e.g.*, age, sex, education in school years), personal and family medical history, as well various lifestyle habits. Smoking was defined through pack years, with smokers being participants smoking one or more cigarette per day including those having quit smoking the past year. All other participants were categorized as non-smokers. Physical activity status was assessed through the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) [16]. Participants

reporting no physical activities were defined as physically inactive. Participants with an average blood pressure greater or equal to 140/90 mmHg, or those on antihypertensive treatment, were classified as having hypertension. Moreover, fasting lipids, blood glucose (mg/dl) and circulating pro-inflammatory biomarkers were measured. Hypercholesterolemia was defined as total cholesterol levels greater than 200 mg/dl (or treatment with lipid-lowering medications). Blood glucose was measured with a Beckman glucose analyzer (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA). Diabetes was defined as fasting blood glucose levels greater than 125 mg/dl. Participants classified as diabetics during the first measurement, were confirmed by a second glucose test, according to the American Diabetes Association diagnostic criteria [17]. Circulating pro-inflammatory biomarkers, measured included C-reactive protein (CRP), fibrinogen, tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6), as well as homocysteine and oxidized LDL-cholesterol. High sensitivity CRP levels were measured by particle-enhanced immunonephelometry (N Latex, Dade-Behring Marburg GmbH, Marburg, Germany). Study participants found to have CRP levels above 10 mg/L were excluded from the analyses. Furthermore, weight, height waist and hip circumferences were also measured and body mass index (BMI) was calculated as weight (in kg) divided by standing height (in square meters, m^2).

2.2.1 Dietary and alcohol consumption evaluation, at baseline examination

The EPIC-Greek questionnaire, a validated semi-quantitative food-frequency questionnaire (FFQ) that was provided by Athens Medical School was used to examine dietary intake during the year prior to enrolment [18, 19]. In addition, the MedDietScore was used to examine adherence to the Mediterranean diet (range 0-55; higher score indicating greater adherence to the Mediterranean diet) [15]. Regarding consumed alcoholic beverages, *i.e.*, wine, beer, whisky, traditional Greek alcoholic drinks (*e.g.*, “retsina” or “tsipouro”) and other spirits (liquor), as well as the daily ethanol intake were recorded in a 7-day food record. Daily alcohol intake (in grams; g) was calculated using food composition tables [20]. Because other spirits were rarely consumed in our study’s population, the present analyses were focused only on beer and wine intake. Based on the FFQ used, wine (red or white) and beer intake was categorized into three categories: (i) abstention (no drinking); (ii) >0 and ≤ 1 glass/week; and (iii) >1 glass/week; with one standard glass (*i.e.*, 150 ml wineglass, or a can of beer) being equivalent to 12 g of alcohol.

2.3 Follow-up examination (2011-2012)

During 2011-12, the 10-year follow-up of the ATTICA Study (mean follow-up duration: 8.41 years) was performed [21]. Briefly, 2583 participants of the 3042 initially enrolled were re-evaluated [85% retention; mean baseline age (years $\pm$ standard deviation): 45 ± 14 and 46 ± 14 years for women and men, respectively, with no difference as compared to the overall study sample]. Of the individuals that were lost to follow-up (*i.e.*, $n=459$), $n=224$ were not found because of missing or wrong addresses and telephone numbers that they have provided at baseline examination and $n=235$

because they denied re-examination. Regarding CVD evaluation, data without any missing information were obtained from $n=2020$ participants (thus the final retention rate for CVD outcomes was 66%). However, no significant differences were observed regarding the age and sex distribution, as well as baseline smoking habits, physical activity levels and dietary habits (including alcohol drinking) between those who participated and those that were lost in the follow-up (all p -values > 0.40), as detailed previously [21].

Evaluation of CVD events at follow-up examination The 10-year CVD status was ascertained using the WHO - International Classification of Diseases (ICD-10) coding. Information on: (a) vital status (death from any cause or due to CVD), (b) coronary heart disease (CHD) development, including myocardial infarction, angina pectoris, other identified forms of ischemia, different types of heart failure, chronic arrhythmias (410–414.9, 427.2, 427.6 (I20–I25)); coronary revascularization (414.01) (*i.e.*, coronary artery bypass surgery and percutaneous coronary intervention); heart failure of different types (400.0–404.9, 427.0–427.5, 427.9, 428. –(I50.2-); and chronic arrhythmias (I49.-), as well as development of stroke (430–438 (I63.-)), was retrieved through the examination of the participants. Regarding participants who might have first suffered from stroke and then had CHD, it was a-priori decided the first outcome to be considered as the end-point, but also to record the consequent event for further testing of competing risks (however, there were no such cases in the study sample). Further details about the 10-year follow-up may be found elsewhere [21].

2.5 Bioethics

The ATTICA study obtained approval from the Bioethics Committee of Athens Medical School and was carried out in accordance to the Declaration of Helsinki (1989) of the World Medical Association. Each participant was explained the protocol, was informed on the aims of the ATTICA study and was asked to provide a written signed consent, prior to any study-related procedure.

2.6 Statistical analysis

The ratio of new cases to the number of participants in the 10-year follow-up was used to obtain crude, non-fatal and fatal, incidence rates of combined CVD (*i.e.*, CHD or stroke). P-P plots were used to test the distribution (normality) of continuous variables. Mean values $\pm$ standard deviation (SD) were used for normally distributed variables and median (range 25, 75) for the skewed. Categorical variables are presented as frequencies (n , %). Pearson r (for normally distributed variables) or Spearman's ρ (*for skewed data*) correlation coefficients were used to assess relationships between continuous variables and chi-square test for categorical variables. Analysis of variance (ANOVA), was used to compare mean values of normally distributed variables by wine/beer consumption categories. Post-hoc analyses using the Bonferroni rule were performed to account for the inflation of the probability of type-I error. The Student's t -test was used to examine mean differences (of normally distributed variables) between participants who developed a CVD event and those who remained CVD-free.

Levene's test was used to control for equality of variances. The non-parametric Mann and Whitney U-test and the Kruskal-Wallis H-test were used to compare skewed continuous variables. The hazard ratios (HR) and the corresponding 95% confidence intervals (CI) of developing a CVD event according to the participants' baseline characteristics were estimated using Cox proportional hazards models. Time to CVD event was recorded on an annual basis. Correlation Matrix of the models' estimates was used to assess multicollinearity between independent variables. The Sobel's test was used to evaluate the potential mediating association between alcohol consumption and CVD incidence, of various biomarkers. The potential mediator was included in the full model together with the independent variable (alcohol consumption), and the effect size measure (logHR) of the independent variable was again calculated and compared with the value that had before the introduction of the mediator. Thus, it was determined whether the change in the logHR of the independent variable, after including the mediator in the model, was significant and, therefore, whether the mediation effect is significant. Regarding statistical power, according to the final working sample of participants and events, the statistical power was adequate (86%) to evaluate two-sided HR equal to 1.20 of dichotomous variables (alcohol) with frequency equal to 60% at 0.05 significance level. All reported *p*-values are based on two-sided tests. All statistical analyses were performed using STATA software, version 14 (MP & Associates, Sparta, Greece).

3. Results

3.1 Baseline alcoholic beverages (wine, beer) drinking pattern and 10-year CVD incidence

The 10-year fatal or non-fatal CVD event rate was 157 cases/1000 participants [*i.e.*, *n*=317 study participants; men: *n*=198 (195 cases/1000 participants); women: *n*=119 (118 cases/1000 participants); *p* for sex difference <0.001], as previously described [21].

Alcohol drinking (on a weekly basis, as defined in Methods section) was reported by 56% of the participants who did not develop a CVD event and by 49% of those who had an event during the follow-up (*p*=0.04) (**Table 1**); no sex differences were observed (*p*=0.25). The distribution of alcoholic beverages intake from wine, beer and other spirits/drinks was 65%, 22% and 13%, respectively, in men and 77%, 11%, and 12%, respectively in women (*p*=0.45). Moreover, the quantity of alcohol intake (g/d) in the participants who reported alcohol consumption at baseline was significantly higher among those who developed CVD as compared to those who remained CVD-free at the end of follow-up (*p*<0.001; **Table 1**).

3.2 Baseline characteristics of participants by wine and beer consumption

Table 2 presents the baseline characteristics of the participants according to both the wine and beer consumption classification (0, ≤1 glass/week, >1 glass/week).

Among these categories of wine and beer consumption at baseline certain differences were identified in the baseline variables of the study participants as follows:

3.2.1 Baseline characteristics/variables in the wine consumption groups

Compared to participants reporting wine abstinence at baseline, participants who reported drinking less or equal to 1 glass/week of wine were more likely to be men and older, have hypercholesterolemia, have lower adherence to the Mediterranean diet (shown by a lower MedDietScore) and higher waist circumference. Furthermore, these participants also exhibited higher TNF- α levels and lower fasting blood glucose levels compared to participants reporting wine abstinence (**Table 2**; all p -values <0.05). On the other hand, compared to the other two groups, the group of participants who at baseline reported drinking more than 1 glass of wine per week included mostly older men, with higher waist circumference, lower Mediterranean diet adherence and higher hypercholesterolemia incidence. This group also exhibited elevated circulating levels of certain pro-inflammatory biomarkers (*i.e.*, IL-6, TNF- α) and higher blood glucose levels compared to the other two groups (**Table 2**; all p -values <0.05). No significant differences were found among the three groups of wine consumption in any of the other baseline variables, including personal habits (smoking, physical activity status), BMI, rates of MetS, hypertension and, diabetes, as well as circulating levels of CRP, fibrinogen, homocysteine, ox-LDL, and triglycerides (**Table 2**; all p -values >0.05).

3.2.2 Baseline characteristics/variables in the beer consumption groups

Compared to participants reporting beer abstinence at baseline, participants who reported consuming beer (both beer consuming groups) were more likely men, with higher BMI and waist circumference (**Table 2**; all p -values <0.05). Participants consuming >1 glass of beer per week also reported lower adherence to the Mediterranean diet (*i.e.* lower MedDietScore) (**Table 2**). No significant differences were found among the three groups of beer consumption in any of the other baseline variables (**Table 2**; all p -values >0.05).

3.3 10-year CVD incidence and alcohol (wine/beer) drinking

Crude analysis revealed that the 10-year CVD incidence was 18.6% in participants reporting alcohol abstinence and 14.9% in those reporting any type of alcoholic beverages consumption (p <0.001). Moreover, further analysis by quartiles of ethanol intake (<2 g/d; 2-10 g/d; 10-20 g/d; >20 g/d) showed that the 10-year CVD incidence was 11.9%, 9.4%, 16.9% and 21.7%, respectively. Furthermore, compared to <2 g/day ethanol intake, participants who reported 2-10 g/day, 10-20 g/day and >20 g/day had CVD risk HRs (95% CI) of 0.60 (0.40, 0.98), 1.22 (0.60, 1.14), 1.81 (0.70, 4.61), respectively. Based on these rates a trend analysis was also applied which revealed a J-shape association (p for trend analysis<0.001) (*data not shown*).

In order to further evaluate the relationship between alcoholic beverages consumption at baseline and 10-year CVD incidence, multi-adjusted analysis, controlling for multiple potential confounders was performed (**Table 3**); the analysis

was stratified by wine or beer consumption, as this was the aim of the present work. Compared to wine abstinence, a strong inverse association between wine consumption less or equal to 1 glass/week and 10-year CVD risk was observed, which remained significant even in the fully adjusted model. Indeed, participants reporting wine consumption less or equal to 1 glass weekly had 60% lower risk of developing CVD within the 10-year study follow-up as compared with those reporting wine abstinence (HR=0.40, 95%CI: 0.17-0.98), taking into account age, sex, smoking, physical activity status, education, BMI, adherence to the Mediterranean diet, total alcohol intake and hypertension, diabetes and hypercholesterolemia at baseline. However, compared to participants reporting wine abstinence at baseline, those reporting wine consumption >1 glass/week no association with 10-year CVD incidence was observed (HR= 0.75; 95%CI: 0.29-1.94).

Similarly, the same multi-adjusted analysis was also performed for the sub-groups of beer consumption (**Table 4**). Compared to beer abstinence, a strong inverse association between beer consumption of less or equal to 1 glass/week and the 10-year CVD risk was revealed, even after various adjustments were made. In particular, participants reporting beer consumption less or equal to 1 glass weekly had 57% lower risk of developing CVD within the 10-year study follow-up compared with those reporting wine abstinence (HR=0.43, 95% CI: 0.20-0.93), taking into account age, sex, smoking, physical activity status, education, BMI, adherence to the Mediterranean diet, total alcohol intake and hypertension, diabetes and hypercholesterolemia at baseline. Compared to the participant reporting beer abstinence at baseline, in the group reporting beer consumption >1 glass/week, this beer intake was not associated with 10-year CVD incidence (HR= 0.67; 95% CI: 0.29-1.55). **Figure 1** illustrates multi-adjusted HRs and 95%CI of each wine or beer consumption class in relation to 10-year CVD risk. At this point it should be noted that overall, the effect sizes of both wine and beer consumption on 10-year CVD incidence were similar ($p = 0.9$).

Then, wine and beer consumption categories were combined to investigate their joint association regarding 10-year CVD incidence. Only wine and beer consumption not exceeding 1 glass/week was significantly associated with lower 10-year lower CVD incidence as compared to abstinence (HR= 0.24; 95% CI: 0.10-0.60), in the fully adjusted models. Compared to wine and beer abstainers, a non-significant association was recorded between 10-year CVD risk and participants who reported consumption of wine $\leq$ 1 glass/week, but >1 glass of beer (HR= 1.25; 95% CI: 0.45-3.41) and vice versa (HR= 0.56; 95% CI: 0.21-1.47).

3.4 Exploring the mediating role of inflammatory and lipid biomarkers on wine, beer consumption and CVD-risk

The full models tested for wine and beer consumption were further adjusted for certain circulating biomarkers/variables (*i.e.* for CRP, IL-6, homocysteine, fasting blood glucose, triglycerides and HDL-C) in order to explore their potential mediating role in the association between wine/beer consumption and CVD. Thus, these

biomarkers were entered consecutively and separately as presented in **Table 4**. According to these models, all biomarkers appeared to impact on wine/beer intake less or equal than 1 glass/week when entered in the full model, since the wine/beer intake-CVD association shifted towards non-significance, suggesting mediating roles of the additive variables. To confirm the mediating role of these biomarkers the Sobel's test was applied showing that when CRP, IL-6, homocysteine, glucose, triglycerides or HDL-cholesterol variables were entered into the models, the effect size measure (i.e., HR) of alcohol (< or >1 glass/week vs. abstainers) on the CVD outcome was significantly modified (all p-values <0.10).

At this point it should be noted that even though it would be interesting to investigate sex-specific differences of wine and beer on participants, due to the lack of adequate data, the analysis was not stratified by sex.

4. Discussion

The present work revealed a J-shaped trend between the average amount of wine or beer intake and the documented 10-year CVD incidence, highlighting the potential inverse association of low/moderate vs. high alcohol consumption and abstinence with CVD incidence. Particularly, moderate wine and beer consumption study groups had a 60% and 57% lower risk, respectively, of developing CVD compared to the groups of participants reporting wine or beer abstinence; whereas no association was found among those exceeding 2 glasses of wine or beer per week (**Table 3**). It is also of interest that the effect sizes of both moderate wine and beer consumption on the 10-year CVD incidence were similar. Moreover, certain pro-inflammatory biomarkers (i.e., CRP, IL-6, and homocysteine), as well as fasting glucose and lipid (HDL-C, triglycerides) levels showed to have a mediating role in the reported association between CVD incidence and wine and beer consumption (**Table 4**). The results of this study deserves further attention from a public health perspective since they revealed a similar effect on CVD risk of two commonly and widely drunk alcoholic beverages, wine and beer.

A key finding of the present analysis was the role of certain pro-inflammatory, glucose and lipid biomarkers on the investigated association. Previous studies have also suggested a link between moderate ethanol consumption (1-2 standard glasses/day) and lower plasma levels of triglycerides, homocysteine, and CRP, as well as higher HDL-C levels [23, 24]. Various mechanisms have been proposed in order to explain the inverse association of moderate alcohol consumption with CVD, including potential beneficial link with well-established CVD risk factors (e.g., on hyperglycemia and atherogenic lipid profiles with elevated LDL-C and triglyceride levels, and decreased HDL-C levels) and on thrombolysis/fibrinolysis processes [6, 10, 13, 25, 26]. Low/moderate alcohol consumption may be exerting an inverse association to CVD by increasing HDL-C and insulin sensitivity, as well as decreasing platelet aggregation and fibrinogen levels; effects which have all been attributed to the ethanol content [13, 25, 26]. Moreover, there is also evidence that wine exhibits beneficial properties, which

are independent of the presence of alcohol, and are potentially attributed to its phenolic content [27, 28]. As such, anti-atherogenic and anti-thrombotic effects, as well as regulation of endothelial function (*i.e.*, enhanced release of nitric oxide) appear mainly related to the non-alcoholic components of alcoholic beverages (primarily polyphenols), which are present in both wine and beer [29]. The main anti-inflammatory effects mediated by inhibition of nitric oxide synthase (iNOS) induction seem to be attributed to xanthohumol. Furthermore, both xanthohumol and hurmulone induce an anti-inflammatory effect through inhibition of the endogenous synthesis of prostaglandin E2 via cyclooxygenase 2 (COX-2) inducible by TNF- α [30]. Further research is clearly needed to elucidate the alcohol-CVD association and the underlying links to pro-inflammatory and pro-atherogenic pathways, and to identify more precisely a threshold level below which the association of low/moderate alcohol consumption to CVD is not negated.

A meta-analysis published in early 2010s confirmed previous evidence supporting the J-shaped relationship between wine intake and CVD risk, whilst it further revealed a similar, to wine drinking, J-shaped relationship between beer intake and CVD risk [12, 31, 32]. This is in accord with the findings of the present study, suggesting a similar inverse association with CVD of either wine or beer at comparable alcohol doses. Furthermore, de Gaetano *et al.*, have also suggested that a J-shaped relationship also exists between alcohol consumption (including beer) and all-cause mortality, with lower risk for moderate alcohol consumption [up to 1 drink (equivalent to about 12 g of ethanol) per day in women, and up to 2 drinks in men] compared to individuals reporting alcohol abstinence or regularly high alcohol consumption [31].

4.1 Study strengths and limitations

Robust and reliable methods prospective follow-up procedures, in a well-characterized, large cohort of CVD-free adults from the general population, were used to obtain the present study's data. Also, through standardized methodology and procedures, multiple risk factors known to be associated with CVD, were assessed in the present cohort. As such, the characteristics of the study design/protocol and the sampled population strengthen the significance of the present findings, exploring the associations of the reported wine and beer baseline intake with the long-term CVD-risk in a unique cohort from a typical Mediterranean country (*i.e.*, Greece), whilst adjusting for multiple confounders.

However, there are also study limitations, which should be acknowledged. Hence, the baseline examination was performed once and so may be susceptible to random measurement error. Precise evaluation of habitual alcohol consumption is difficult, due to possible underreporting and misclassification should be further acknowledged as a common limitation in this type of research. Furthermore, detailed information on the timing/occasions of alcohol consumption (*e.g.*, consumption with meals, occasions of binge drinking during weekends), as well as the distinction between lifetime and current (during the past year) alcohol abstaining were not

recorded. The semi-quantitate food frequency questionnaire used in the ATTICA study is the most commonly applied tool in observational studies of this kind, and its validation properties and detailed dietary assessment [18] ensures robustness of the reported data/findings. However, there were no biomarkers included in the ATTICA study to corroborate the self-reported information on alcohol intake. Moreover, there was no assessment of the overall participants' drinking patterns (e.g., weekend or seasonal consumption). Furthermore, there is a possibility for suboptimal retention rate, but the main characteristics of the participants who were not found at the follow-up examination, were similar to those of the participants who participated in the follow-up, limiting the possibility of potential selection bias due to selective drop outs. Regarding potential suboptimal statistical power, according to the final working sample, the statistical power was adequate to evaluate the observed HRs.

4.2 Conclusions

The present study showed that the low/moderate consumption of wine or beer were similarly associated with reduced 10-year CVD incidence in adults from the general population without pre-existing CVD. Overall, the findings of this study agree with the existing evidence on a J-shaped relationship between the quantity of ethanol intake and the CVD risk, and also suggest that pro-inflammatory biomarkers and plasma lipids may have significant mediating impact on the documented association between wine/beer consumption and the long-term risk of developing CVD.

Acknowledgements

The authors would like to thank the ATTICA study group of investigators: Yannis Skoumas, Natasa Katinioti, Labros Papadimitriou, Constantina Masoura, Spiros Vellas, Yannis Lentzas, Manolis Kambaxis, Konstanitna Paliou, Vassiliki Metaxa, Agathi Ntzouvani, Dimitris Mpougatas, Nikolaos Skourlis, Christina Papanikolaou, Aikaterini Kalogeropoulou, Evangelia Pitaraki, Alexandros Laskaris, Mihail Hatzigeorgiou and Athanasios Grekas, Eleni Kokkou for either assistance in the initial physical examination and follow-up evaluation, Efi Tsetsekou for her assistance in psychological evaluation and follow-up evaluation, as well as the laboratory team: Carmen Vassiliadou and George Dedousis (genetic analysis), Marina Toutouza-Giotsa, Constantina Tselika and Sia Pouloupoulou (biochemical analysis) and Maria Toutouza for the database management.

Conflict of interest: No conflicts of interest are declared by the authors.

Funding: D.B. Panagiotakos and E. Georgousopoulou received research grants by Coca-Cola SA. The ATTICA Study has been funded by research grants from the Hellenic Cardiology Society and the Hellenic Atherosclerosis Society.

5. References

1. Gea A, Bes-Rastrollo M, Toledo E, Garcia-Lopez M, Beunza JJ, Estruch R, et al., Mediterranean alcohol-drinking pattern and mortality in the SUN (Seguimiento Universidad de Navarra) Project: a prospective cohort study. *Br J Nutr.* 2014 May 28;111(10):1871-80.
2. de Gaetano G, Costanzo S, Di Castelnuovo A, Badimon L, Bejko D, Alkerwi A et al. Effects of moderate beer consumption on health and disease: A consensus document. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2016;26:443-67.
3. Sluik D, Bezemer R, Sierksma A, Feskens E. Alcoholic Beverage Preference and Dietary Habits: A Systematic Literature Review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2016;56:2370-82.
4. Sieri S, Krogh V, Saieva C, Grobbee DE, Bergmann M, Rohrmann S et al. Alcohol consumption patterns, diet and body weight in 10 European countries. *Eur J Clin Nutr.* 2009;63:S81-100.
5. León-Muñoz LM, Galán I, Valencia-Martín JL, López-García E, Guallar-Castillón P, Rodríguez-Artalejo F. Is a specific drinking pattern a consistent feature of the Mediterranean diet in Spain in the XXI century? *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014;24:1074-81.
6. Poli A, Marangoni F, Avogaro A, Barba G, Bellentani S, Bucci M et al. Moderate alcohol use and health: a consensus document. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2013;23:487-504.
7. Testino G, Patussi V, Leone S, Scafato E, Borro P. Moderate alcohol use and health: a nonsense. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014;24:e4-5.
8. Poli A, Marangoni F; Moderate Alcohol and Health Consensus Panel. Response to the letter by Testino et al. on moderate alcohol use and health. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014;24:e13-4.
9. Zhang C, Qin YY, Chen Q, Jiang H, Chen XZ, Xu CL et al. Alcohol intake and risk of stroke: a dose-response meta-analysis of prospective studies. *Int J Cardiol.* 2014;174:669-77.
10. Katsiki N, Tziomalos K, Mikhailidis DP. Alcohol and the cardiovascular system: a double-edged sword. *Curr Pharm Des.* 2014;20:6276-88.
11. Wood AM, Kaptoge S, Butterworth AS, Willeit P, Warnakula S, Bolton T, et al.; Emerging Risk Factors Collaboration/EPIC-CVD/UK Biobank Alcohol Study Group. Risk thresholds for alcohol consumption: combined analysis of individual-participant data for 599 912 current drinkers in 83 prospective studies. *Lancet.* 2018;391:1513-1523.
12. Costanzo S, Di Castelnuovo A, Donati MB, Iacoviello L, de Gaetano G. Wine, beer or spirit drinking in relation to fatal and non-fatal cardiovascular events: a meta-analysis. *Eur J Epidemiol.* 2011;26:833-50.

13. Arranz S, Chiva-Blanch G, Valderas-Martínez P, Medina-Remón A, Lamuela-Raventós RM, Estruch R. Wine, beer, alcohol and polyphenols on cardiovascular disease and cancer. *Nutrients*. 2012;4:759-81.
14. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chryschoou C, Stefanadis C. Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. *BMC Public Health* 2003;3:32.
15. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006;16: 559-568.
16. Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, Spyropoulos P, Georgakopoulos D, Kalfakakou V et al. Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 2009;50:283-294.
17. American Diabetes Association Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2014;20:1183-97.
18. Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A. Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers. *Int J Epidemiol* 1997;26: S118-127.
19. Arvaniti F, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Zampelas A, Stefanadis C. Dietary habits in a Greek sample of men and women: the ATTICA study. *Cent Eur J Public Health*. 2006;14:74-7.
20. USDA, National Nutrient Database for Standard Reference. Composition of Foods Raw, Processed, Prepared. Release 28, Available at: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/>
21. Panagiotakos DB, Georgousopoulou EN, Pitsavos C, Chryschoou C, Metaxa V, Georgiopoulos GA et al.; ATTICA Study group. Ten-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence and all-cause mortality, in urban Greek population: the ATTICA Study. *Int J Cardiol* 2014;180:178-84.
22. Hannibal L, Blom HJ. Homocysteine and disease: Causal associations or epiphenomenons? *Mol Aspects Med*. 2017;53:36-42.
23. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Kontogianni MD, Chryschoou C, Chloptsios Y, Zampelas A et al. The J-shape association of ethanol intake with total homocysteine concentrations: the ATTICA study. *Nutr Metab (Lond)*. 2004;1:9.
24. Chryschoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Skoumas J, Toutouza M, Papaioannou I et al. Effects of chronic alcohol consumption on lipid levels, inflammatory and haemostatic factors in the general population: the 'ATTICA' Study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2003;10:355-61.
25. Klatsky AL. Alcohol and cardiovascular diseases: where do we stand today? *J Intern Med*. 2015;278:238-50.
26. Di Castelnuovo A, Costanzo S, di Giuseppe R, de Gaetano G, Iacoviello L. Alcohol consumption and cardiovascular risk: mechanisms of action and epidemiologic perspectives. *Future Cardiol*. 2009;5:467-77.

27. Estruch R, Sacanella E, Badia E, Antúnez E, Nicolás JM, Fernández-Solá J et al. Different effects of red wine and gin consumption on inflammatory biomarkers of atherosclerosis: a prospective randomized crossover trial. Effects of wine on inflammatory markers. *Atherosclerosis*. 2004;175:117-23.
28. Sacanella E, Vázquez-Agell M, Mena MP, Antúnez E, Fernández-Solá J, Nicolás JM et al. Down-regulation of adhesion molecules and other inflammatory biomarkers after moderate wine consumption in healthy women: a randomized trial. *Am J Clin Nutr*. 2007;86:1463-9.
29. Chiva-Blanch G, Magraner E, Condines X, Valderas-Martínez P, Roth I, Arranz S et al. Effects of alcohol and polyphenols from beer on atherosclerotic biomarkers in high cardiovascular risk men: a randomized feeding trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2015;25:36-45.
30. Chung WG, Miranda CL, Stevens JF, Maier CS. Hop proanthocyanidins induce apoptosis, protein carbonylation, and cytoskeleton disorganization in human colorectal adenocarcinoma cells via reactive oxygen species. *Food Chem Toxicol*. 2009;47:827-36.
31. de Gaetano G, Costanzo S, Di Castelnuovo A, Badimon L, Bejko D, Alkerwi A, et al. Effects of moderate beer consumption on health and disease: A consensus document. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2016;26:443-67.
32. Costanzo S, Di Castelnuovo A, Donati MB, Iacoviello L, de Gaetano G. Alcohol consumption and mortality in patients with cardiovascular disease: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:1339-47.

Table 1. Alcohol consumption of the ATTICA Study participants at baseline, according to the 10-year cardiovascular disease (CVD) incidence ($n=2020$).

	CVD status at 10-year follow-up		<i>P</i>
	CVD event free <i>n=1703</i>	CVD events <i>n= 317</i>	
Any alcoholic drinks consumption, n (%)	953 (56%)	155 (49%)	0.04
Ethanol intake (g/d)	14 ± 16	21 ± 18	<0.001
Type of alcohol consumed			
Wine consumption, n (%)			0.61
None	470 (28%)	81 (26%)	
≤1 glass/ week	440 (26%)	97 (30%)	
>1 glass/ week	793 (46%)	139 (44%)	
Beer consumption, n (%)			0.32
None	630 (37%)	137 (43%)	
≤1 glass/ week	477 (28%)	95 (30%)	
>1 glass/ week	596 (35%)	85 (27%)	

Continuous variables are presented as mean values ± standard deviation and categorical variables as frequencies. *P* values for the comparisons between CVD event and event-free group derived using the t-test, while for the comparisons of categorical variables using the chi-square test.

Table 2. Baseline Demographic, lifestyle and clinical characteristics of the ATTICA Study participants according to wine and beer intake reported at baseline (n=2020).

	Alcohol intake (glasses/week) [*]							
	Wine				Beer			
	0	≤1 glass/week	>1 glass/week	P	0	≤1 glass/week	>1 glass/ week	P
Demographic, lifestyle & clinical characteristics								
Age (years)	37 ±12	38 ± 11	42 ± 10	<0.001	40 ± 12	39 ± 11	40 ± 9.9	0.48
Sex, %male	38	49	66	<0.001	42	51	71	<0.001
Smoking (pack years)	386 ± 398	415 ± 377	460 ± 441	0.09	424 ± 414	415 ± 410	448 ± 422	0.73
Physically active**, %	42	40	48	0.06	44	48	41	0.23
Body Mass Index (kg/m ²)	26 ± 5.2	25 ± 4.5	26 ± 4.1	0.77	25 ± 4.5	26 ± 4.9	26 ± 4.2	0.01
Waist circumference (cm)	87 ± 17	88 ± 16	92 ± 15	<0.001	87 ± 17	90 ± 16	92 ± 14	<0.001
Education, years of school	12 ± 3.4	13 ± 3.1	13 ± 3.2	<0.001	13 ± 3.3	13 ± 3.1	13 ± 3.4	<0.001
Hypertension, %	24	23	31	0.05	27	25	29	0.64
Diabetes Mellitus, %	4.3	1.9	5.6	0.06	4.9	3.4	4.5	0.64
Hypercholesterolemia, %	23	27	38	<0.001	28	33	32	0.31
MedDietScore, range 0-55	29 ± 9.1	27 ± 8.4	26 ± 7.2	<0.001	28 ± 8.6	27 ± 8.7	26 ± 7.0	<0.001
Oxidative and Inflammatory biomarkers								
C-reactive protein (mg/L)	1.9 ± 2.6	1.9 ± 2.6	2.00 ± 2.5	0.89	1.9 ± 2.5	2.0 ± 2.6	2.0 ± 2.5	0.87
Interleukin-6 (ng/mL)	1.4 ± 0.41	1.4 ± 0.31	1.5 ± 0.35	0.01	1.4 ± 0.38	1.4 ± 0.35	1.4 ± 0.35	0.73
TNF-α (ng/mL)	5.8 ± 3.2	5.97 ± 3.0	6.82 ± 2.8	<0.001	6.1 ± 3.2	6.2 ± 3.1	6.7 ± 2.7	0.08
Fibrinogen (mg/dL)	302 ± 66	311 ± 64	303 ± 65	0.15	309 ± 62	308 ± 70	297 ± 63	0.32
Homocysteine (μmol/ L)	11 ± 5.1	12 ± 5.9	12 ± 6.8	0.10	11 ± 5.5	12 ± 7.6	12 ± 5.6	0.23
Oxidized LDL-C (mg/dL)	56 ± 24	57 ± 27	58 ± 27	0.78	56 ± 28	57 ± 24	60 ± 26	0.41
Fasting BG (mg/dl)	94 ± 32	90 ± 17	95 ± 24	0.05	95 ± 25	93 ± 28	93 ± 21	0.54
Triglycerides (mg/dL)	104 ± 123	99 ± 60	112 ± 63	0.11	101 ± 103	106 ± 72	113 ± 66	0.18
HDL-cholesterol(mmol/L)	50 ± 12	48 ± 13	48 ± 13	0.05	49 ± 13	48 ± 13	48 ± 13	0.09

¹ Hazard Ratios derived from semiparametric Cox proportional hazards models.² p-value <0.05

Table 3. Results from the Cox proportional hazards models that were developed to evaluate the 10-year risk of developing a cardiovascular event (outcome) according to the wine and beer consumption (glasses/week^{*}).

All participants (n=2020)		Hazard Ratios (HR) ^a , 95% Confidence Intervals	
	<i>Model 1^c</i>	<i>Model 2^c</i>	
Age (per 1 year)	1.06 (1.02-1.10) ^b	1.05 (1.01-1.09) ^b	
Men vs. Women	2.30 (0.96-5.39)	1.99 (0.88-4.51)	
Wine intake			
≤1 glass/week vs. none	0.40 (0.17-0.98) ^b	-	
>1 glass/week vs. none	0.75 (0.29-1.94)	-	
Beer intake			
≤1 glass/week vs. none	-	0.43 (0.20-0.93) ^b	
>1 glass/week vs. none	-	0.67 (0.29-1.55)	
Smokers vs. non smokers	1.00 (1.00-1.01)	1.00 (0.99-1.01)	
Physically active vs. inactive	0.70 (0.34-1.47)	0.63 (0.31-1.30)	
BMI (per 1 kg/m ² unit)	1.06 (0.97-1.15)	1.06 (0.97-1.15)	
Education (years of school)	0.91 (0.82-0.99) ^b	0.89 (0.80-0.98) ^b	
MedDietScore (range 0-55)	0.95 (0.88-1.01)	0.94 (0.88-1.01)	
Hypertension (y/n)	1.18 (0.58-2.40)	1.16 (0.57-2.37)	
Diabetes Mellitus (y/n)	1.56 (0.49-4.99)	1.62 (0.49-5.29)	
Hypercholesterolemia (y/n)	1.67 (0.85-3.27)	1.67 (0.85-3.26)	

^a Hazard Ratios derived from semiparametric Cox proportional hazards models

^b *p*-value <0.05

^c All models are adjusted for the total amount of weekly alcohol intake (g/week)

*: one standard glass being equivalent to 12 g of alcohol

BMI: body mass index; MedDietScore: score evaluating the adherence to the Mediterranean diet (higher score values indicate better adherence)

Table 4. Results from the additive Cox proportional hazards models that were developed to evaluate the mediating role of oxidative, inflammatory markers, fasting glucose and lipid levels on the association between wine and beer consumption (glasses/week)[§] and the risk of 10-year cardiovascular disease events (outcome).

	Hazard Ratios (HR) ^{**} , 95% CI for wine consumption		Hazard Ratios (HR) ^{**} , 95% CI for beer consumption	
	≤ 1 glass/week vs. 0	>1 glass/week vs. 0	≤1 glass/week vs. 0	>1 glass/week vs. 0
Full Model [*]	0.40 (0.17-0.98)	0.75 (0.29-1.94)	0.43 (0.20-0.93)	0.67 (0.29-1.55)
Full Model [*] + <i>C-reactive protein</i>	0.75 (0.29-1.94)	0.38 (0.15-0.94)	0.75 (0.32-1.74)	0.45 (0.21-0.99)
Full Model [*] + <i>Interleukin-6</i>	0.74 (0.29-1.93)	0.39 (0.16-0.96)	0.73 (0.31-1.70)	0.44 (0.20-0.96)
Full Model [*] + <i>Homocysteine</i>	0.52 (0.19-1.46)	0.39 (0.15-1.01)	0.69 (0.29-1.67)	0.36 (0.16-0.84)
Full Model [*] + <i>Fasting Glucose</i>	0.68 (0.26-1.80)	0.38 (0.15-0.96)	0.61 (0.26-1.43)	0.44 (0.20-0.94)
Full Model [*] + <i>Triglycerides</i>	0.75 (0.28- 1.99)	0.42 (0.17-1.05)	0.58 (0.24-1.41)	0.43 (0.20-0.95)
Full Model [*] + <i>HDL-C</i>	0.65 (0.25-1.72)	0.38 (0.15-0.95)	0.63 (0.27-1.48)	0.46 (0.21-1.01)

^{*} Adjusted for age, sex, smoking (years), physical activity (active / inactive), BMI, education in years of school, MedDietScore, alcohol quantity, history of hypertension, diabetes mellitus, hypercholesterolemia.

^{**} Hazard Ratios derived from semiparametric Cox proportional hazards models.

[§] one standard glass being equivalent to 12 g of ethanol

HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol

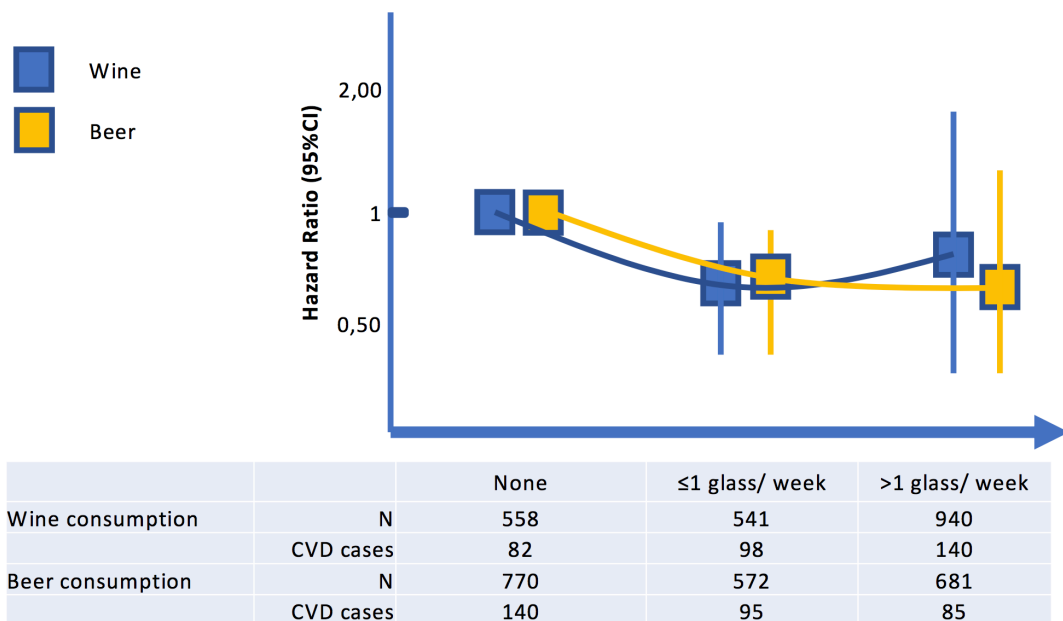


Figure 1: Hazard Ratios (95% confidence intervals) and respective spline lines of classes of wine and beer consumption in relation to 10-year CVD risk among the ATTICA Study participants

Lipid accumulation product in relation to 10-year cardiovascular disease incidence in Caucasian adults: the ATTICA Study.

Ioannis Kyrou^{a,b,c,d}, Demosthenes B. Panagiotakos^{a,e}, Georgia-Maria Kouli^a, Ekavi Georgousopoulou^{a,e}, Christina Chrysohoou^f, Constantine Tsigos^a, Dimitrios Tousoulis^f, Christos Pitsavos^f

^a Department of Science of Dietetics and Nutrition, School of Health Science and Education, Harokopio University, Athens, Greece

^b Aston Medical Research Institute, Aston Medical School, Aston University, B4 7ET, Birmingham, UK

^c Translational & Experimental Medicine, Division of Biomedical Sciences, Warwick Medical School, University of Warwick, CV4 7AL, Coventry, UK

^d WISDEM, University Hospitals Coventry and Warwickshire NHS Trust, CV2 2DX, Coventry, UK

^e Faculty of Health, University of Canberra, Canberra, Australia

^f First Cardiology Clinic, School of Medicine, University of Athens, Athens, Greece

ORCID

Ioannis Kyrou: <http://orcid.org/0000-0002-6997-3439>

Demosthenes Panagiotakos: <http://orcid.org/0000-0001-8583-153X>

Manuscript:3462words; Number of Tables: 4; Figure: 1; References: 45; Abstract: 255 words

Corresponding author

Prof Demosthenes B. Panagiotakos, FRSPH, FACE

Harokopio University in Athens

176 71, Athens, Greece

Tel: +30 210-9549332

E-mail:dbpanag@hua.gr

Abstract

Background and aims: The lipid accumulation product (LAP) is an index which describes lipid over-accumulation based on waist circumference (WC) and fasting triglycerides, and can outperform the body mass index (BMI) in recognizing cardiovascular disease (CVD) risk. We aimed to explore the association of LAP with long-term CVD risk and compare its CVD-predictive value against common anthropometric indices/ratios of obesity. **Methods:** ATTICA is a prospective, population-based cohort that recruited 3042 adults without pre-existing CVD from the Greek general population (age 18 -89 years; 1514 men). The 10-year study follow-up (2011-2012) captured the fatal/non-fatal CVD incidence in 2020 participants (50% men). Baseline LAP (cm·mmol/L) was calculated and analyzed in relation to the 10-year CVD incidence. **Results:** In total, 317 CVD cases (15.7%) were documented during the follow-up. Baseline LAP showed a significant positive association with the 10-year CVD incidence, even after adjusting for hypertension, diabetes, hypercholesterolemia, smoking, physical activity, Mediterranean diet adherence, and key pro-inflammatory biomarkers (Hazard Ratios per 10 cm·mmol/L of LAP ranging from 1.1 to 1.21, $p=0.04$). Moreover, LAP predicted the 10-year CVD study incidence better than common obesity indices (BMI, WC, waist-to-hip, waist-to-height ratio). **Conclusions:** These findings support an independent positive association between LAP and long-term CVD incidence in CVD-free adults from the general population.

Key words: Lipid accumulation product, LAP, cardiovascular disease, CVD risk, ATTICA study

1. Introduction

Obesity, particularly central (abdominal/visceral), is a key risk factor of cardiovascular disease (CVD), with the abdominal fat mass playing a critical role in this relationship [1-3]. However, the body mass index (BMI), which is used to categorize obesity in clinical practice [4], fails to differentiate between lean and total fat mass, let alone account for the abdominal fat mass [3-5]. As such, BMI has been shown to be a crude predictor of CVD risk [5-7], whilst other surrogate markers of central obesity, such as waist circumference (WC), waist-to-hip ratio (WHR) and waist-to-height ratio (WHtR), are now used in clinical practice and/or epidemiological research as better CVD predictors [3,5-8].

In 2005, using data from the third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III), Henry Kahn proposed the calculation of the lipid accumulation product (LAP) based on WC (cm) and fasting serum triglycerides (TG; mmol/L) [LAP in men: $(WC-65) \times TG$; LAP in women: $(WC-58) \times TG$] [9]. LAP was proposed as a better continuous marker/index to describe lipid over-accumulation in relationship to central obesity, and was shown to outperform BMI for identifying CVD risk [9]. Indeed, in this NHANES cohort LAP exhibited better correlations with key CVD risk factors (*i.e.*, heart rate and circulating levels of lipids and uric acid) compared to BMI [9]. Subsequently, LAP has been reported as a reliable marker of CVD risk in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) and a useful index for recognizing insulin resistance, non-alcoholic fatty liver (NAFLD) and metabolic syndrome in various cohorts [10-16].

To date, the existing epidemiological data from prospective, community-based studies on the predictive value of LAP for long-term CVD risk are very limited [17,18]. Therefore, the objective of the present work was to assess LAP as a predictor of the 10-year CVD incidence in the ATTICA study cohort of Caucasian adults without previous CVD, and compare its discriminating ability against BMI and other commonly used anthropometric indices/ratios of central obesity (*i.e.*, WC, WHR and WHtR).

2. Methods

2.1 Study sample

In brief, ATTICA is a prospective, population-based, cohort study performed in Attica (Athens metropolitan region, Greece), which recruited 3042 non-institutionalized adults (Caucasians; women/men: 1528/1514; age: ≥ 18 years) without previous CVD. Recruitment was conducted during 2001-2002, applying a random sampling protocol and selecting a single participant per household. All participants underwent detailed baseline assessments which included medical history, physical examination and blood sampling for biochemical measurements. Baseline CVD was excluded in all participants by the study physicians. The ATTICA study was approved by our Institutional Ethics Committee and conformed to the ethical guidelines of the 1975

Declaration of Helsinki, with all participants providing written informed consent. The methodology details of the ATTICA study have been previously described [19].

2.2 Baseline study assessments

Comprehensive baseline data were collected, including demographic details (*e.g.*, age, gender and years of education), personal/family history of cardio-metabolic disease (*e.g.*, hypertension, diabetes, hypercholesterolemia and CVD), and information about dietary and pertinent lifestyle habits (*e.g.*, physical activity and smoking in pack years), as described previously [19]. Briefly, all participants underwent a detailed baseline dietary evaluation through the EPIC-Greek questionnaire [20], which is a validated semi-quantitative food-frequency questionnaire that was kindly provided by the Unit of Nutrition of Athens Medical School. Moreover, the MedDietScore was used to assess the adherence to the Mediterranean diet (score range: 0-55; higher values indicate better adherence)[21]. The physical activity level of each participant was also assessed at baseline using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ; participants reporting no physical activities or exercise on the IPAQ were classified as physically inactive) [22].

Standardized measurements were performed by trained study researchers at baseline examination, including body weight and height, as well as WC and hip circumference in order to calculate the BMI (body weight in kilograms divided by the height in meters squared; kg/m^2), WHR and WHtR. Furthermore, resting arterial blood pressure (BP; average of three recordings in sitting position) was also measured at baseline, and individuals exhibiting average BP $\geq 140/90$ mmHg or taking antihypertensive medication(s) were categorized as hypertensive.

At baseline, morning (8-10am) fasting blood samples were obtained from all participants after overnight fasting (10-12 hours without food/alcohol intake, except for water). TG, total cholesterol (TC) and high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) levels were measured by a chromatographic enzymatic method using a Technicon automatic analyzer RA-1000 [Dade Behring, Marburg, Germany; corresponding intra- and inter-assay coefficients of variation (CV): <4%, <9%, and <4%, respectively]. Low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) was calculated by the Friedewald formula [23]. Hypercholesterolemia was defined as TC > 200 mg/dl or treatment with lipid-lowering drug(s). Moreover, fasting blood glucose (FBG) levels were measured by a Beckman glucose analyzer (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA) and subjects with FBG > 125 mg/dl or on antidiabetic treatment were classified as having diabetes. Selected circulating pro-inflammatory biomarkers were also measured, namely high sensitivity C-reactive protein (CRP) by particle-enhanced immunonephelometry (N Latex; Dade-Behring Marburg GmbH, Marburg, Germany; intra- and inter-assay CV: <5%), as well as tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) by high-sensitivity enzyme-linked immunosorbent assays (R&D Systems; for both assays intra- and inter-assay CV: <10%), following the corresponding manufacturer's protocols.

Finally, participants were also categorized based on the presence/absence of metabolic syndrome at baseline according to the harmonized metabolic syndrome definition [24], namely based on the presence/absence of three or more of the following criteria: (i) WC ≥ 88 cm for women or ≥ 102 cm for men (WC cut-off values for central obesity as proposed by the European Cardiovascular Societies for European populations in the harmonized metabolic syndrome definition); (ii) TG ≥ 150 mg/dL (or relevant treatment); (iii) HDL-C < 50 mg/dL for women or < 40 mg/dL for men (or relevant treatment); (iv) systolic BP ≥ 130 mm Hg or diastolic BP ≥ 85 mm Hg (or antihypertensive treatment); (v) FBG ≥ 100 mg/dL (or antidiabetic treatment).

2.3 Lipid accumulation product (LAP) at baseline

The LAP values at baseline were also calculated for the study participants using the baseline WC (cm) and TG (mmol/L) values and the LAP formulas as proposed by Kahn [9], namely (i) LAP for men = $[WC \text{ (cm)} - 65] \times [TG \text{ concentration (mmol/L)}]$; and (ii) LAP for women = $[WC \text{ (cm)} - 58] \times [TG \text{ concentration (mmol/L)}]$. Accordingly, the baseline LAP tertiles (< 19 , $19 - 44$, > 44 cm·mmol/L) were also extracted.

2.4 Cardiovascular disease incidence at the 10-year follow-up (2002-2012)

The 10-year study follow-up was conducted in 2011-2012 (median follow-up period: 8.41 years), as previously described [25]. Briefly, 2583 of the 3042 initial participants were re-assessed during this follow-up [participation rate: 85%; no difference to the total study sample; baseline age (mean $\pm$ standard deviation; SD): 45 ± 14 and 46 ± 14 years for women and men, respectively]. As per protocol at the follow-up, study physicians obtained the medical records/data (WHO-ICD-10) to confirm the CVD status of each participant, capturing detailed relevant data (e.g., development of myocardial infarction, angina pectoris and other identified forms of ischemia, as well as chronic arrhythmias, heart failure and stroke). For participants who died during this study follow-up, relevant data were acquired from death certificates and living relatives. Through this process at the 10-year study follow-up, accurate CVD status data were obtained for 2020 participants (**Table 1**). In line with the aim of the present study to assess LAP as a potential predictor of long-term CVD risk, herein we present the analysis of the ATTICA study data and the documented 10-year incidence of fatal/non-fatal CVD of these 2020 participants in relation to the LAP at baseline.

2.5 Statistical analysis

Normally distributed continuous variables are presented as mean values $\pm$ SD, and categorical variables as frequencies. Normality was tested using the Shapiro-Wilk criterion; the non-normally distributed variables are presented as median and 1st, 3rd tertile. Crude, non-fatal and fatal incidence rates of combined CVD (coronary heart disease or stroke) were calculated as the ratio of new CVD cases to the number of participants at the 10-year follow-up. Associations between categorical variables were tested by the chi-square test, whereas between continuous variables by the Pearson *r* or Spearman's *rho* coefficients for normally distributed and skewed variables, respectively. Continuous variables were tested for normality via P-P plots. For normally

distributed variables, comparisons of means between participants who developed CVD and those who remained CVD-free were performed by the Student's t-test, after controlling for equality of variances by the Levene's test. For continuous variables without normal distribution (*e.g.*, TG), comparisons were performed by the non-parametric Mann-Whitney U-test. Cox proportional hazards models were used to estimate the hazard ratios (HR) and the corresponding 95% confidence intervals (CI) of developing a CVD event during the study follow-up according to the baseline characteristics of participants. Kaplan-Meier curves were plotted to illustrate 10-year CVD survival by LAP tertile (Log rank test was calculated to evaluate between tertiles' comparisons). The $-2\log\text{Likelihood}$ was also calculated to evaluate the goodness-of-fit of the estimated models. Moreover, ROC analysis and the corresponding Area Under the Curve (AUC; 95%CI) was also calculated in order to evaluate the additive value of LAP and other metabolic markers (*e.g.*, TG, waist circumference, BMI) on top of known CVD risk factors (illustrated in Model 1, Table 4). All *p*-values are based on two-sided tests and the corresponding 95% CI. STATA 15 software was used for all analyses (M Psarros and Assoc., Sparti, Greece / Stata Corp LLC, Texas, USA).

3. Results

3.1 Baseline LAP and key cohort characteristics according to 10-year CVD incidence

Table 1 presents key baseline characteristics of the $n=2020$ study participants according to the documented 10-year CVD status. The 10-year fatal/non-fatal CVD event rate was 157 cases/1000 participants [$n=317$ participants; 119 women (118 cases/1000 participants) and 198 men (195 cases/1000 participants); *p* for gender difference <0.001]. As expected, the group of participants who developed CVD during the 10-year study follow-up consisted mainly of older men, heavier smokers, and exhibited higher anthropometric indices/ratios of total and central obesity (BMI, WC, WHR, WHtR), compared to those who remained CVD-free. Furthermore, this group had higher BP and FBG levels, lower MedDietScore (*i.e.*, worse Mediterranean diet adherence), as well as worse profiles of circulating pro-inflammatory biomarkers (*i.e.*, CRP, IL-6, TNF- α) and lipids (*i.e.*, TC, TG, HDL-C, LDL-C) (all *p*-values <0.001 ; **Table 1**). The mean LAP values at baseline were 69% higher in the group of participants who developed a CVD event during the 10-year follow-up than in those who remained CVD-free ($p < 0.001$, **Table 1**).

Key characteristics of the study participants according to the baseline LAP tertiles are presented in **Table 2**. The age of participants and the prevalence of hypertension, diabetes, hypercholesterolemia and metabolic syndrome significantly increased across the baseline LAP tertiles, with the participants in the lowest LAP tertile being younger and exhibiting lower prevalence rates of these CVD risk factors (all *p*-values <0.001 ; **Table 2**). In addition, participants in the lowest LAP tertile were mostly women, lighter smokers, more physically active, more adherent to the Mediterranean

diet (*i.e.*, higher MedDietScore), and had lower BMI, WC, WHR and WHtR (all *p*-values <0.001; **Table 2**).

Moreover, LAP at baseline exhibited significant positive correlations to BMI, WC, WHR, WHtR, TG, TC, FBG,CRP, IL-6 and TNF- α levels (ρ = 0.488, 0.624, 0.515, 0.075, 0.897, 0.343, 0.281, 0.189, 0.225, and 0.221, respectively; all *p*-values <0.001), whereas it was inversely associated to HDL-C (ρ = -0.318; *p* <0.001). All these correlations remained significant for both male and female participants following stratification by gender (*data not shown*).

3.2 Baseline LAP in relationship to the 10-year CVD incidence

Figure 1 illustrates the higher survival rate of participants in the 1st tertile of LAP as compared to those in the 2nd and 3rd (*p* for Log-rank test = 0.04; inter-tertile comparisons: *p* 1st vs. 3rd <0.001, *p* 1st vs. 2nd <0.001, *p* 2nd vs. 3rd = 0.77). Moreover, the higher rate in the decay of the 10-year CVD survival observed from approximately sixth year of study follow-up, as expected based on the characteristics of the study's sample (relatively young adults without pre-existing CVD).

The association between baseline LAP and 10-year CVD incidence was further evaluated through a multi-adjusted analysis that controlled for multiple CVD-related covariates (**Table 3**). Due to multicollinearity, the two variables used in the LAP formulas (*i.e.*, WC, TG) were not entered together with LAP in these multi-adjusted models. At first, typical demographic variables (*i.e.*, age, sex, education), as well as certain lifestyle factors (*i.e.*, smoking, physical activity, Mediterranean diet adherence) and key clinical parameters (*i.e.*, hypertension, diabetes, hypercholesterolemia) that hold known associations with long-term CVD risk were entered into *Baseline Model 1* (**Table 3**). In the age-sex only adjusted model (*Model 2*, **Table 3**) LAP was significantly associated with higher 10-year CVD incidence. Subsequently, LAP was added into the *Baseline Model 1*, showing that baseline LAP had a significant and independent positive association with the 10-year CVD incidence, even after adjusting for established CVD risk factors (*Model 3*, **Table 3**). In this latter model, a 10-unit increase in the baseline LAP value was associated with an 11% increase of the 10-year risk of developing CVD. Moreover, in order to test for potential mediating effects of key circulating pro-inflammatory biomarkers in this association between LAP and CVD, *Model 3* was additionally adjusted for CRP, IL-6 and TNF- α which were entered separately and consecutively, as presented in *Models 4, 5, and 6*, respectively (**Table 3**). The association between LAP and 10-year CVD remained significant in these models, suggesting absence of robust mediating effects from these circulating pro-inflammatory biomarkers.

3.3 Predictive value of LAP on the study 10-year CVD risk against other common anthropometric indices/ratios of obesity

Table 4 presents the hazard ratios (HR and corresponding 95% CI), as well as -2logL and AUC values of the models applied to compare the predictive value of baseline LAP on the 10-year CVD risk against the single components/variables of the

LAP formulas (*i.e.*, WC or fasting TG), as well as against the most commonly used anthropometric indices of obesity (*i.e.*, models incorporating BMI, WHR, or WHtR instead of LAP). Based on these models, LAP exhibited better predictive value for the study 10-year CVD incidence as revealed through the -2logLikelihood ratio (the lower the better) and the AUC values (the higher the better), than its components, *i.e.*, WC and TG. Similarly, baseline LAP was also a better predictor of the 10-year CVD than BMI, WHR and WHtR (**Table 4**).

4. Discussion

In the 2005 study which introduced LAP as a better index for recognizing CVD risk compared to BMI, Henry Kahn highlighted the need for prospective data in order to assess whether LAP can be a useful CVD predictor in clinical practice and cardiovascular epidemiology [9]. The present study addresses this still unmet need by offering new long-term prospective data which show that baseline LAP exhibited a significant positive association with the 10-year CVD incidence in a large community-based cohort of CVD-free Caucasian adults. Notably, this positive association remained significant even after adjusting for various CVD risk factors (*i.e.*, Mediterranean diet adherence, physical activity smoking, hypertension, hypercholesterolemia and diabetes). Moreover, in the performed comparisons of the predictive value of LAP on the 10-year CVD incidence, LAP was better not only than each of its individual components (*i.e.*, WC and fasting TG), but also than common anthropometric indices of total and central obesity (*i.e.*, BMI, WHR and WHtR). Thus, the presented findings may suggest that LAP constitute a predictive marker of CVD, better than other classical anthropometric and metabolic CVD risk factors, but cannot be considered as an additive marker for CVD risk stratification.

Since its introduction in the literature, LAP has been shown to be a powerful index for identifying metabolic syndrome, insulin resistance, and NAFLD in several cohorts, as well as a reliable marker of CVD risk in women with PCOS [10-16]. Furthermore, a retrospective study by Ioachimescu *et al.*, has reported that LAP, but not BMI, can predict the all-cause mortality in high CVD risk, non-diabetic patients attending a preventive cardiology clinic [26]. Recent studies from China have also indicated that LAP is associated with increased risk of intracranial atherosclerotic stenosis in middle-aged and elderly Chinese females [27], whilst it may be a valuable index in predicting the risk of hypertension in the Chinese population [28]. Moreover, in a cross-sectional study with 191 adults and elderly participants LAP exhibited high accuracy in visceral obesity discrimination, as assessed by the area of visceral adipose tissue identified by computed tomography [29]. Notably, LAP has been also shown to discriminate between patients with and without steatosis, although it could not quantitatively predict liver fat as determined quantitatively by proton magnetic resonance spectroscopy [30]. Further research is still needed to specifically explore the correlation between LAP and quantitative measures/markers of adiposity.

Despite the increasing evidence on the direct correlation between LAP and multiple CVD risk factors, so far there is a paucity of data from prospective, community-based studies on the predictive value of LAP for long-term CVD incidence [17,18]. In this context, data from the prospective Tehran Lipid and Glucose Study have showed that LAP is an independent predictor of CVD (median follow-up: 10.1 years; 160 CVD cases during follow-up) in 2378 CVD-free adults (57% men) with normal BMI [18]. This is in accord with our results on the association of LAP to the 10-year CVD incidence. However, in this Iranian study LAP was not superior for predicting CVD over BMI, WC, WHR and WHtR [18]. This apparent inconsistency with our findings may be attributed to the fact that this community-based study included only adults with BMI <25 kg/m², whilst other significant differences in the cohort characteristics of this Iranian study are also present (*e.g.*, different ethnic background and higher minimum age at recruitment, since these participants were of Persian ancestry and at least 30 years old)[18].

It is noteworthy that, Després *et al.*, first introduced the concept of the “hypertriglyceridemic waist” as a dichotomous cardiometabolic risk marker/indicator, which proved to be a good predictor of CVD outcomes and mortality [31-35]. However, obesity is a continuous process rather than dichotomous, whilst both circulating TG and WC as single continuous variables are associated with CVD risk [9,35-37]. Thus, LAP is considered to expand on the concept of the hypertriglyceridemic waist by providing a continuous risk marker which better indicates the lipid over-accumulation in central obesity and the related cardiometabolic risk [9]. This related risk reflects the underlying continuous process which follows the excessive accumulation of visceral adipose tissue, progressively promoting metabolic dysregulation, atherosclerosis and low-grade inflammation [38-43]. Indeed, several pro-inflammatory adipokines/cytokines secreted mainly by the abdominal fat depots exert detrimental effects on metabolism and the cardiovascular function [41-44]. Of note, the significant positive association between LAP and CVD in the present study persisted even when the analysis was adjusted for CRP, IL-6 and TNF- α , suggesting lack of significant mediating effects from these circulating biomarkers which are implicated in obesity-related inflammation. Overall, the median CRP values observed in the ATTICA study cohort were similar to those generally noted in other general populations from European regions [45]. Further studies are required to fully elucidate the spectrum of underlying mechanisms/factors (*e.g.*, dysregulated adipokine secretion and ectopic fat accumulation in the liver, skeletal muscles and heart) which may be implicated in the documented association between LAP and CVD.

4.1 Limitations

The present study is not without limitations. As such, it should be acknowledged that the baseline/entry study examination was conducted once and, hence, may be susceptible to a certain degree of measurement error. However, the applied study methodology is similar to that in other large, prospective, CVD-outcome

epidemiological studies, and followed standardized and validated protocols/methods for collecting all study data. Thus, our findings can be considered reliable and generally comparable to those from studies with similar cohorts. Moreover, the study cohort consisted only of Caucasians, hence the present results cannot be extrapolated fully to other ethnicities. Finally, due to lack of an intervention arm in our protocol/design, the present study cannot provide insight as to whether it is useful to monitor LAP as an indicator of intervention effectiveness.

4.2 Conclusion

The present study adds to the emerging evidence suggesting that LAP may constitute a simple and accurate prognostic marker of CVD risk as compared to other obesity-related indices/markers. Indeed, the present findings offer new prospective data supporting a positive and independent association between LAP and 10-year CVD incidence in Caucasian (Mediterranean/European) adults from the general population without pre-existing CVD. LAP appears to be a better predictor of the long-term CVD risk than the commonly used anthropometric indices/ratios of total and central obesity. Future studies are still required to further evaluate the association between LAP and CVD in different ethnic and patient populations and explore whether monitoring LAP over time can be a useful indicator of the effectiveness of interventions against CVD.

Acknowledgements: The authors would like to thank the ATTICA study group of investigators: Yannis Skoumas, Natasa Katinioti, Labros Papadimitriou, Constantina Masoura, SpirosVellas, YannisLentzas, ManolisKambaxis, KonstanitnaPaliou, VassilikiMetaxa, AgathiNtzouvani, Dimitris Mpougatas, Nikolaos Skourlis, Christina Papanikolaou, AikateriniKalogeropoulou, EvangeliaPitaraki, Alexandros Laskaris, MihailHatzigeorgiou, Athanasios Grekas, and Eleni Kokkou for assistance in the initial physical examination and/or the follow-up evaluation; Efi Tsetsekou for her assistance in psychological evaluation and follow-up evaluation, as well as the laboratory team: Carmen Vassiliadou and George Dedousis (genetic analysis), Marina Toutouza-Giotsa, Constantina Tselika and Sia Pouloupoulou (biochemical analysis), and Maria Toutouza for the database management. We would also like to thank all the participants of the ATTICA study.

Funding:The ATTICA study is supported by research grants from the Hellenic Cardiology Society (HCS2002) and the Hellenic Atherosclerosis Society (HAS2003).

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Author contributions: Demosthenes Panagiotakos, Ioannis Kyrou, and Georgia-Maria Kouli had the concept of the paper, performed data analyses and interpreted the results. Ekavi Georgousopoulou, Christina Chrysohoou, Constantine Tsigos, Dimitrios Tousoulis, and Christos Pitsavos contributed by providing comments on the design of the study, and critically reviewed the paper. All authors approved the final version.

References

- [1] Bhupathiraju SN, Hu FB. Epidemiology of Obesity and Diabetes and Their Cardiovascular Complications. *Circ Res*. 2016 May 27;118(11):1723-35.
- [2] Kyrrou I, Randeve HS, Tsigos C, Kaltsas G, Weickert M. Clinical Problems Caused by Obesity. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000- Updated 2018 Jan 11. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278973/
- [3] Klein S, Allison DB, Heymsfield SB, et al. Waist Circumference and Cardiometabolic Risk: a Consensus Statement from Shaping America's Health: Association for Weight Management and Obesity Prevention; NAASO, the Obesity Society; the American Society for Nutrition; and the American Diabetes Association. *Obesity* (Silver Spring). 2007 May;15(5):1061-7.
- [4] World Health Organization: Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic: Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva, World Health Organization, 1998.
- [5] Franzosi MG. Should we continue to use BMI as a cardiovascular risk factor? *Lancet*. 2006 Aug 19;368(9536):624-5.
- [6] Romero-Corral A, Montori VM, Somers VK, et al. Association of bodyweight with total mortality and with cardiovascular events in coronary artery disease: a systematic review of cohort studies. *Lancet*. 2006 Aug 19;368(9536):666-78.
- [7] Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet*. 2005 Nov 5;366(9497):1640-9.
- [8] Ashwell M, Gunn P, Gibson S. Waist-to-height ratio is a better screening tool than waist circumference and BMI for adult cardiometabolic risk factors: systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*. 2012 Mar;13(3):275-86.
- [9] Kahn HS. The "lipid accumulation product" performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: a population-based comparison. *BMC CardiovascDisord*. 2005 Sep 8;5:26.
- [10] Wiltgen D, Benedetto IG, Mastella LS, Spritzer PM. Lipid accumulation product index: a reliable marker of cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2009 Jul;24(7):1726-31.
- [11] Macut D, BožićAntić I, Bjekić-Macut J, et al. Lipid accumulation product is associated with metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *Hormones* (Athens). 2016 Jan-Mar;15(1):35-44.
- [12] Xia C, Li R, Zhang S, et al. Lipid accumulation product is a powerful index for recognizing insulin resistance in non-diabetic individuals. *Eur J ClinNutr*. 2012 Sep;66(9):1035-8.
- [13] Kahn HS. The lipid accumulation product is better than BMI for identifying diabetes: a population-based comparison. *Diabetes Care*. 2006 Jan;29(1):151-3.

- [14] Dai H, Wang W, Chen R, Chen Z, Lu Y, Yuan H. Lipid accumulation product is a powerful tool to predict non-alcoholic fatty liver disease in Chinese adults. *NutrMetab (Lond)*. 2017 Aug 1;14:49.
- [15] Taverna MJ, Martínez-Larrad MT, Frechtel GD, Serrano-Ríos M. Lipid accumulation product: a powerful marker of metabolic syndrome in healthy population. *Eur J Endocrinol*. 2011 Apr;164(4):559-67.
- [16] Nascimento-Ferreira MV, Rendo-Urteaga T, Vilanova-Campelo RC, et al. The lipid accumulation product is a powerful tool to predict metabolic syndrome in undiagnosed Brazilian adults. *ClinNutr*. 2017 Dec;36(6):1693-1700.
- [17] Bozorgmanesh M, Hadaegh F, Azizi F. Predictive performances of lipid accumulation product vs. adiposity measures for cardiovascular diseases and all-cause mortality, 8.6-year follow-up: Tehran lipid and glucose study. *Lipids Health Dis*. 2010 Sep 16;9:100.
- [18] Hosseiniapanah F, Barzin M, Mirbolouk M, Abtahi H, Cheraghi L, Azizi F. Lipid accumulation product and incident cardiovascular events in a normal weight population: Tehran Lipid and Glucose Study. *Eur J PrevCardiol*. 2016 Jan;23(2):187-93.
- [19] Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohooou C, Stefanadis C. Epidemiology of Cardiovascular risk factors in Greece; aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. *BMC Public Health* 2003;3:32:1-9.
- [20] Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A. Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers. *Int J Epidemiol*. 1997;26: S118-27.
- [21] Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *NutrMetabCardiovasc Dis*. 2006; 16:559-68.
- [22] Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, et al. Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol*. 2009 Jul-Aug;50(4):283-94.
- [23] Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972 Jun;18(6):499-502.
- [24] Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009 Oct 20;120(16):1640-5.
- [25] Panagiotakos DB, Georgousopoulou EN, Pitsavos C, et al. Ten-year (2002-2012) cardiovascular disease incidence and all-cause mortality, in urban Greek population: the ATTICA Study. *Int J Cardiol*. 2015 Feb 1;180:178-84.

- [26] Ioachimescu AG, Brennan DM, Hoar BM, Hoogwerf BJ. The lipid accumulation product and all-cause mortality in patients at high cardiovascular risk: a PreCIS database study. *Obesity* (Silver Spring). 2010 Sep;18(9):1836-44.
- [27] Li R, Li Q, Cui M, et al. Visceral adiposity index, lipid accumulation product and intracranial atherosclerotic stenosis in middle-aged and elderly Chinese. *Sci Rep*. 2017 Aug 11;7(1):7951.
- [28] Wang H, Chen Y, Sun G, Jia P, Qian H, Sun Y. Validity of cardiometabolic index, lipid accumulation product, and body adiposity index in predicting the risk of hypertension in Chinese population. *Postgrad Med*. 2018 Apr;130(3):325-333.
- [29] Roriz AK, Passos LC, de Oliveira CC, Eickemberg M, Moreira Pde A, Sampaio LR. Evaluation of the accuracy of anthropometric clinical indicators of visceral fat in adults and elderly. *PLoS One*. 2014 Jul 31;9(7):e103499.
- [30] Cuthbertson DJ, Weickert MO, Lythgoe D, et al. External validation of the fatty liver index and lipid accumulation product indices, using ¹H-magnetic resonance spectroscopy, to identify hepatic steatosis in healthy controls and obese, insulin-resistant individuals. *Eur J Endocrinol*. 2014 Nov;171(5):561-9.
- [31] Lemieux I, Pascot A, Couillard C, et al. Hypertriglyceridemic waist: A marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia; hyperapolipoprotein B; small, dense LDL) in men? *Circulation*. 2000 Jul 11;102(2):179-84.
- [32] LaMonte MJ, Ainsworth BE, DuBose KD, et al. The hypertriglyceridemic waist phenotype among women. *Atherosclerosis*. 2003 Nov;171(1):123-30.
- [33] Kahn HS, Valdez R. Metabolic risks identified by the combination of enlarged waist and elevated triacylglycerol concentration. *Am J Clin Nutr*. 2003 Nov;78(5):928-34.
- [34] Tankó LB, Bagger YZ, Qin G, Alexandersen P, Larsen PJ, Christiansen C. Enlarged waist combined with elevated triglycerides is a strong predictor of accelerated atherogenesis and related cardiovascular mortality in postmenopausal women. *Circulation*. 2005 Apr 19;111(15):1883-90.
- [35] Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R. Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk. *Am J Clin Nutr*. 2004 Mar;79(3):379-84.
- [36] Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol*. 1998 Feb 26;81(4A):7B-12B.
- [37] Jeppesen J, Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F. Triglyceride concentration and ischemic heart disease: an eight-year follow-up in the Copenhagen Male Study. *Circulation*. 1998 Mar 24;97(11):1029-36.
- [38] Le Lay S, Krief S, Farnier C, et al. Cholesterol, a cell size-dependent signal that regulates glucose metabolism and gene expression in adipocytes. *J Biol Chem*. 2001 May 18;276(20):16904-10.
- [39] Matsuzawa Y. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Lett*. 2006 May 22;580(12):2917-21.
- [40] Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol*. 2010 Mar 25;316(2):129-39.

- [41] Deng Y, Scherer PE. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 2010 Nov;1212:E1-E19.
- [42] Matsuzawa Y, Funahashi T, Nakamura T. The concept of metabolic syndrome: contribution of visceral fat accumulation and its molecular mechanism. *J Atheroscler Thromb.* 2011;18(8):629-39.
- [43] Kyrou I, Mattu HS, Chatha K, Randeva HS. Chapter 7 - Fat Hormones, Adipokines. In Schisler JC, Lang CH, Willis MS (eds) *Endocrinology of the Heart in health and disease.* pp 167-205. Academic Press, 2017.
- [44] Yang X, Smith U. Adipose tissue distribution and risk of metabolic disease: does thiazolidinedione-induced adipose tissue redistribution provide a clue to the answer? *Diabetologia.* 2007 Jun;50(6):1127-39.
- [45] Arcari A, Zito F, Di Castelnuovo A, et al; European Collaborative Group of Immidiet Project. C reactive protein and its determinants in healthy men and women from European regions at different risk of coronary disease: the IMMIDIET Project. *J Thromb Haemost.* 2008 Mar;6(3):436-43.

Table 1. Demographic, lifestyle, behavioral and clinical characteristics of the ATTICA study participants at baseline based on the 10-year follow-up by cardiovascular disease (CVD) status ($n=2020$).

Baseline Variable	Total ($n=2020$)	CVD status at 10-year follow-up		<i>P</i>
		CVD-free ($n=1703$)	CVD ($n=317$)	
Age (years)	45 ± 14	43 ± 13	58 ± 13	<0.001
Gender, %male	50	48	62	<0.001
Smoking (pack years)	496 ± 501	441 ± 425	767 ± 705	<0.001
Physical Activity, % physically active	41	40	41	0.95
MedDietScore (range: 0-55)	26 ± 7	26 ± 6	23 ± 7	<0.001
Body Mass Index (kg/m ²)	26 ± 5	26 ± 5	28 ± 5	<0.001
Waist circumference (cm)	90 ± 15	89 ± 15	97 ± 14	<0.001
Waist-to-hip ratio	0.86 ± 0.1	0.85 ± 0.11	0.92 ± 0.11	<0.001
Waist-to-height ratio	0.53 ± 0.08	0.52 ± 0.08	0.57 ± 0.07	<0.001
Metabolic syndrome, %yes	20	18	41	<0.001
Hypertension, %yes	30	28	51	<0.001
Diabetes Mellitus, %yes	7	5	22	<0.001
Hypercholesterolemia, %yes	39	40	57	<0.001
Total cholesterol (mmol/L)	4.99±1.09	4.99±1.06	5.33±1.09	<0.001
HDL-cholesterol (mmol/L)	1.24±0.39	1.27±0.39	1.16±0.31	<0.001
LDL-cholesterol (mmol/L)	3.15±0.96	3.13±0.96	3.39±1.03	<0.001
Triglycerides (mmol/L), median, tertiles	1.10, 0.77-1.60	1.09, 0.77-1.61	1.11, 0.78-1.73	<0.001
C-reactive protein (mg/L), median, tertiles	1.02, 0.45-2.30	0.98, 0.44-2.23	1.50, 0.66-2.95	<0.001
Interleukin-6 (pg/mL)	1.46 ± 0.55	1.43 ± 0.55	1.65 ± 0.51	<0.001
Tumor necrosis factor-α (pg/mL), median, tertiles	5.77, 3.38-7.67	5.52, 3.22-7.49	7.49, 5.88-9.86	<0.001
LAP (cm·mmol/L), median, tertiles	31, 19-44	30, 14-54	35, 20-61	<0.001

Normally and non-normally distributed continuous variables are presented as mean values ± standard deviation, or median and 1st, 3rd tertile, respectively, and categorical variables as frequencies. *P*-values for the comparisons between the 10-year CVD-free and CVD group derived using the t-test, while for comparisons of categorical variables by the chi-square test or Mann-Whitney non-parametric test for variables without normal distribution (*i.e.*, triglycerides, CRP and LAP). LAP: Lipid Accumulation Product; MedDietScore: validated score evaluating the Mediterranean diet adherence (higher score indicates better adherence)

Table 2. Cardiovascular disease (CVD) cases during the ATTICA study 10-year follow-up and key baseline characteristics of the participants ($n=2020$) when categorized by baseline tertiles of the Lipid Accumulation Product (LAP tertiles: <19; 19–44; >44cm·mmol/L)

	Baseline LAP tertiles (cm·mmol/L; participants)			<i>P</i>
	1 st tertile (<19; $n=660$)	2 nd tertile (19–44; $n=680$)	3 rd tertile (>44; $n=680$)	
CVD during 10-year follow-up, %yes	5	14*	25*	<0.001
Baseline characteristics				
Age (years)	36 ± 11	46 ± 13*	50 ± 13*	<0.001
Gender, %male	27	53*	67*	<0.001
Smoking (pack years)	304 ± 316	482 ± 487*	644 ± 550*	<0.001
Physical Activity, % physically active	49	40*	36*	<0.001
MedDietScore (range: 0-55)	29 ± 7.2	25 ± 5.8*	24 ± 5.9*	<0.001
Education (years of school)	13 ± 3.2	12 ± 3.7	11 ± 4.0*	<0.001
Body Mass Index (kg/m ²)	23 ± 2.7	26 ± 3.4	30 ± 4.4*	<0.001
Waist circumference (cm)	76 ± 8.6	92 ± 9.1*	103 ± 13*	<0.001
Waist-to-hip ratio	0.78 ± 0.08	0.87 ± 0.08*	0.93 ± 0.10*	<0.001
Waist-to-height ratio	0.52 ± 0.05	0.54 ± 0.05	0.60 ± 0.07*	0.007
Metabolic Syndrome, %yes	1	12*	53*	<0.001
Hypertension, %yes	11	31*	46*	<0.001
Diabetes mellitus, %yes	1	3*	14*	<0.001
Hypercholesterolemia, %yes	18	43*	65*	<0.001
C-reactive protein (mg/L), median, tertiles	1.01, 1.08-2.56	1.08, 1.05-2.69*	1.80, 1.10-2.80*	<0.001
Interleukin-6 (pg/mL)	1.3 ± 0.36	1.5 ± 0.4*	1.6 ± 0.4*	<0.001
Tumor necrosis factor-α (pg/mL), median, tertiles	5.9, 2.9-4.6	6.1, 3.0-7.0*	7.8, 2.6-8.1*	<0.001

Normally and non-normally distributed continuous variables are presented as mean values ± standard deviation, or median and 1st, 3rd tertile, respectively, and categorical variables as frequencies. * $P<0.01$; P values for the between 1st vs. 2nd, 3rd tertile comparisons derived using the t-test, while for comparisons of categorical variables using the chi-square test, after correcting for the inflation of type-I error using the Bonferroni rule. MedDietScore: validated score evaluating the adherence to the Mediterranean diet (higher score indicates better adherence).

Table 3. Results from the applied Cox proportional hazard models evaluating the 10-year risk of developing a cardiovascular disease event (outcome) in relation to the baseline values of Lipid Accumulation Product (LAP).

<i>All participants</i>	Hazard Ratios (HR)*, 95% Confidence Intervals					
	<i>Baseline Model 1</i>	<i>Model 2</i>	<i>Model 3</i>	<i>Model 4</i>	<i>Model 5</i>	<i>Model 6</i>
Age (per 1 year)	1.06 (1.04-1.08)	1.08 (1.07-1.09)	1.06 (1.04-1.08)	1.06 (1.04-1.08)	1.05 (1.03-1.08)	1.06 (1.03-1.08)
Men vs. Women	1.66 (1.06-2.61)	1.86 (1.36-2.55)	1.81 (1.10-3.01)	1.70 (1.01-2.88)	1.65 (0.98-2.77)	1.38 (0.76-2.52)
LAP (per 10 cm·mmol/L)	-	1.04 (1.00-1.08) [‡]	1.10 (1.05-1.15) [‡]	1.11 (1.04-1.19) [‡]	1.18 (1.09-1.27) [‡]	1.21 (1.11-1.31) [‡]
Pack-years of smoking	1.00 (1.00-1.01)	-	1.00 (1.00-1.01)	1.00 (1.00-1.01)	1.00 (1.00-1.01)	1.00 (1.00-1.01)
Physically active vs. inactive	0.74 (0.49-1.11)	-	0.75 (0.48-1.18)	0.79 (0.49-1.26)	0.80 (0.50-1.28)	0.63 (0.36-1.08)
Education (years of school)	0.98 (0.93-1.04)	-	0.98 (0.93-1.04)	0.97 (0.91-1.03)	0.97 (0.91-1.03)	0.95 (0.88-1.02)
MedDietScore (range: 0-55)	0.95 (0.92-0.99)	-	0.97 (0.93-1.01)	0.96 (0.92-1.00)	0.96 (0.92-0.99)	0.97 (0.92-1.02)
Hypertension (y/n)	1.06 (0.71-1.60)	-	1.17 (0.75-1.81)	1.36 (0.86-2.15)	1.34 (0.85-2.11)	1.23 (0.72-2.08)
Diabetes Mellitus (y/n)	2.39 (1.33-4.29)	-	2.15 (1.11-4.18)	1.84 (0.91-3.74)	1.96 (0.97-3.93)	2.01 (0.87-4.67)
Hypercholesterolemia (y/n)	1.33 (0.90-1.97)	-	1.43 (0.92-2.22)	1.34 (0.84-2.13)	1.35 (0.85-2.12)	1.45 (0.86-2.42)
C-reactive protein (mg/L)	-	-	-	1.10 (1.02-1.19)	-	-
Interleukin-6 (pg/mL)	-	-	-	-	1.49 (0.86-2.59)	-
Tumor necrosis factor-α (pg/mL)	-	-	-	-	-	1.13 (1.05-1.22)

* Hazard Ratios derived from semi-parametric Cox proportional hazards models. ‡ p <0.05. MedDietScore: validated score evaluating the adherence to the Mediterranean diet (higher score indicates better adherence).

Table 4. Results from the nested Cox proportional hazards models evaluating the predictive value of the Lipid Accumulation Product (LAP) at baseline, as well as waist circumference, fasting triglyceride levels and other commonly used anthropometric indices of obesity, on the 10-year cardiovascular disease event risk (outcome).

	Hazard Ratios (HR) ^b	95% Confidence Intervals (CI)	-2logL ^c	AUC (95%CI)
Baseline Model 1 ^a	-	-	704	0.80 (0.77-0.83)
Baseline Model 1 ^a + LAP (per 1 cm·mmol/L)	1.01	(1.00-1.01)	584	0.84 (0.78-0.89)
Baseline Model 1 ^a + Waist circumference (per 1 cm)	1.01	(0.99-1.02)	692	0.81 (0.76-0.85)
Baseline Model 1 ^a + Fasting triglycerides (per 1 mg/dL)	1.00	(1.00-1.01)	592	0.82 (0.78-0.85)
Baseline Model 1 ^a + Body mass index (per 1 kg/m ²)	1.03	(0.99-1.08)	701	0.80 (0.76-0.86)
Baseline Model 1 ^a + Waist-to-hip ratio (per 1 unit)	1.33	(0.18-9.98)	687	0.80 (0.74-0.86)
Baseline Model 1 ^a + Waist-to-height ratio (per 1 unit)	2.71	(0.21-5.45)	690	0.80 (0.76-0.83)

^a Baseline Model 1 included age, sex, smoking (pack years), physical activity (active/inactive), years of education, Mediterranean diet adherence (MedDietScore: higher score indicates better adherence), and history of hypertension, diabetes mellitus, and hypercholesterolemia.

^b Semi-parametric Cox proportional hazards models were used to calculate the hazard ratios.

^c Goodness of fit for the logistic regression models was assessed with the -2logLikelihood (the lower the better).

AUC: Area Under the ROC Curve

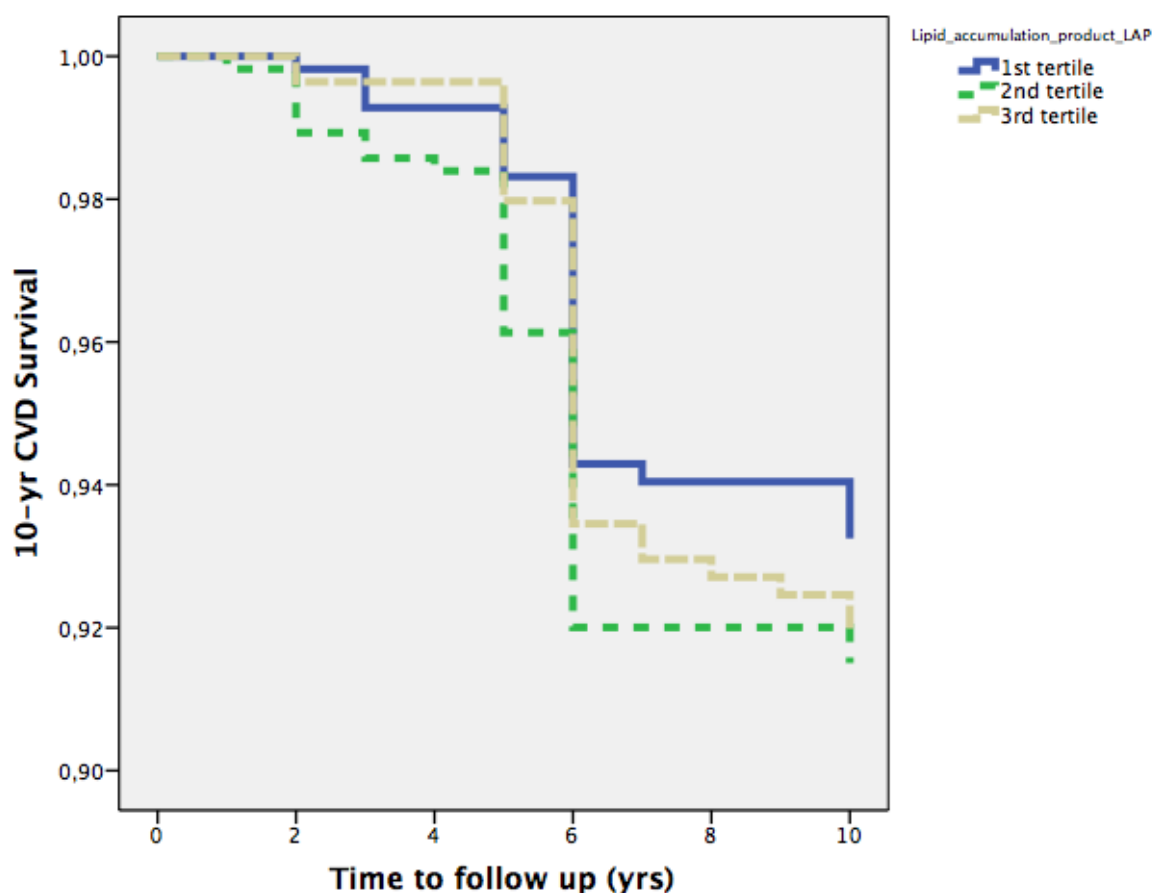


Figure 1. Survival curves derived from Cox proportional hazard models evaluating 10-year cardiovascular disease (CVD) risk by baseline Lipid Accumulation Product (LAP) tertile, in n=2020 participants of the ATTICA Study (p for Log-rank test = 0.04; inter-tertile comparisons: $p_{1st \text{ vs. } 3rd} < 0.001$, $p_{1st \text{ vs. } 2nd} < 0.001$, $p_{2nd \text{ vs. } 3rd} = 0.77$).