

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής
ΠΜΣ «Εφαρμοσμένη Διαιτολογία – Διατροφή»
Κατεύθυνση Κλινικής Διατροφής

Διπλωματική εργασία
“Επίδραση της μέτριας κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα
Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

Παφίλας Χρήστος (ΑΜ 4422019)



Αθήνα 2022

*“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των
Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”*



HAROKOPIO UNIVERSITY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCE AND EDUCATION
DEPARTMENT OF NUTRITION AND DIETETICS
M.Sc. "APPLIED NUTRITION AND DIETETICS"
CLINICAL NUTRITION

Master Thesis

"Effect of moderate wine consumption on biosynthetic enzymes activity of Platelet Activating factor in coronary artery disease patients"

Christos Pafilas



Athens 2022

"Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο"

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Φραγκοπούλου Ελισάβετ (Επιβλέπουσα καθηγήτρια)

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιολογικής Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Αντωνοπούλου Σμαραγδή

Καθηγήτρια Βιοχημείας, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.

Νομικός Τζώρτζης

Αναπληρωτής Καθηγητής, Διευθυντής Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών "Εφαρμοσμένη Διαιτολογία-Διατροφή", Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.

Εγώ ο Παφίλας Χρήστος δηλώνω υπεύθυνα ότι:

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

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

3) Όπου υφίστανται δικαιώματα άλλων δημιουργών έχουν διασφαλιστεί όλες οι αναγκαίες άδειες χρήσης ενώ το αντίστοιχο υλικό είναι ευδιάκριτο στην υποβληθείσα εργασία.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Δρ. Φραγκοπούλου για την πολύ καλή συνεργασία που είχαμε και περισσότερο για την καθοδήγηση, τον χρόνο και την υποστήριξη σε κάθε ανάγκη που προέκυψε κατά την εκπόνηση της παρούσας εργασίας, αλλά και για όσα έμαθα στην πορεία υλοποίησης της.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλη την ερευνητική ομάδα που εργαστήκαμε στο πειραματικό μέρος, και ειδικότερα την διδακτορική φοιτήτρια, Ελένη Ματαλλιωτάκη, με την οποία εργαστήκαμε αρκετά σκληρά για να έρθει σε πέρας όλη η πειραματική διαδικασία της έρευνας, καθώς και για όσα έμαθα στο εργαστήριο μαζί της.

Πίνακας περιεχομένων

Κατάλογος Εικόνων και Πινάκων	8
1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	13
Περίληψη (Ελληνικά).....	13
Περίληψη (Αγγλικά)- Abstract	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Κρασί και υγεία.....	15
1.1 Εισαγωγή	15
1.2 Αλκοολούχα ποτά και καρδιαγγειακά νοσήματα.....	15
1.3 Επιδημιολογικές μελέτες - το «Γαλλικό παράδοξο»	16
1.3.1 Παράγοντες Κινδύνου για CVD	21
1.2.2 Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού σε παράγοντες κινδύνου για τα CVD	24
1.4 Διαφορετική σύσταση αλκοολούχων ποτών - Σύσταση κρασιού.....	27
1.5 Μελέτες παρέμβασης με κρασί και επίδραση σε καρδιομεταβολικούς δείκτες	33
1.6 Καρδιο-προστατευτικές δράσεις των σημαντικότερων πολυφαινολών του κρασιού	35
1.6.1 Φλαβονοειδή	35
1.6.2 Μη Φλαβονοειδή.....	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Φλεγμονή στα Καρδιαγγειακά νοσήματα και ο ρόλος του PAF	44
2.1 Φλεγμονή	44
2.1.1 Τύποι Φλεγμονής.....	45
2.2 Περιγραφή της αθηρωμάτωσης στο επίπεδο του αγγείου	47
2.3 Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF)	51
2.3.1 Βιοσύνθεση του PAF.....	52
2.3.2 Αποικοδόμηση του PAF	54
2.3.3 Μεταγωγή σήματος και ρύθμιση του PAF	56
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Κρασί, Φλεγμονή & PAF.....	66
3.1 Κρασί και φλεγμονή – Μελέτες παρέμβασης.....	66
3.2 PAF και Διατροφή	74
3.2.1 PAF και Μεσογειακή Δίαιτα	74
3.2.2 Αναστολείς του PAF στο κόκκινο κρασί	75
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΣΚΟΠΟΣ	79
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	80
5.1 Βιοηθική.....	80
5.2 Συλλογή δείγματος.....	80
5.3 Σχεδιασμός μελέτης.....	82
5.4 Προετοιμασία συμμετεχόντων.....	83
5.5 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά.....	83
<i>“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”</i>	

5.6 Συλλογή δειγμάτων αίματος και έλεγχοι	84
5.7 Χειρισμός δειγμάτων και προσδιορισμός ενζυμικής δραστηριότητας	84
5.7.1 Λήψη ομογενοποιημένων λευκοκυττάρων	84
5.7.2 Ποσοτικός προσδιορισμός πρωτεϊνών (PAF-CPT & AT)	85
Υλικά και αντιδραστήρια	85
Πειραματική πορεία	86
5.7.3 Προσδιορισμός ενζυμικής δραστηριότητας των PAF-AT & PAF-CPT	86
5.7.3.1 Διαδικασία προσδιορισμού της δραστηριότητας AT	87
Υλικά και αντιδραστήρια	87
Πειραματική πορεία	87
5.7.3.2 Διαδικασία προσδιορισμού της δραστηριότητας της CPT	88
Υλικά και αντιδραστήρια	88
Πειραματική πορεία	89
5.7.4 Ανάλυση των επιπέδων του PAF με τη μέθοδο της συζευγμένης υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (LC-MS)	89
Υλικά και αντιδραστήρια	89
Πειραματική πορεία	90
5.8 Στατιστική ανάλυση	91
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	93
6.1 Βασικά ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των εθελοντών	93
6.2 Βασικά βιοχημικά χαρακτηριστικά των εθελοντών	94
6.3 Βασικά διατροφικά χαρακτηριστικά των εθελοντών	97
6.4 Ένζυμα του PAF	100
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	105
Περιορισμοί και πλεονεκτήματα της μελέτης	111
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	113

Κατάλογος Εικόνων και Πινάκων

Εικόνα 1. Απεικονίζεται η δόσο-εξαρτώμενη σχέση κατανάλωση αλκοόλης, εκφρασμένης σε γραμμάρια ανά ημέρα προς τον σχετικό κίνδυνο για CVD.).	19
Εικόνα 2. Στο σχήμα παρουσιάζεται ο μηχανισμός ενδογενούς ινωδόλυσης στην ρύθμιση του σχηματισμού αποφρακτικής αρτηριακής θρόμβωσης με αναφορά σε εμπλεκόμενα μόρια που αποτελούν δείκτες εργαστηριακών εξετάσεων αξιολόγησης του κινδύνου για θρόμβωση.	23
Εικόνα 3. Στο παρόν διάγραμμα παρουσιάζεται η κατηγοριοποίηση των βασικότερων τάξεων διαιτητικών φυτοχημικών.	30
Εικόνα 4. Ανάλυση της τάξης των Πολυφαινολών.	31
Εικόνα 5. Στο θερμικό χάρτη διακρίνεται το διαφορετικό προφίλ συγκέντρωσης πολυφαινολών μεταξύ παλαιωμένων κρασίων υπό διαφορετικές μεθόδους	32
Εικόνα 6. Χαρακτηριστική δομή φωσφο-γλυκολιποειδούς στο κόκκινο κρασί.	33
Εικόνα 7. Δομές των φλαβονοειδών του κρασιού.	36
Εικόνα 8. Δομές Μη φλαβονοειδών του κρασιού.	43
Εικόνα 9. Παρουσιάζονται τα βήματα της σταδιακής προσκόλλησης και μετανάστευσης των λευκοκυττάρων στον υποενδοθηλιακό χώρο, την ενεργοποίηση τους και η επακόλουθη έκκριση μεσολαβητών φλεγμονής.	49
Εικόνα 10. Βιοχημική πορεία βιοσύνθεσης του PAF μέσω ανασχηματισμού	53
Εικόνα 11. Βιοχημική πορεία De Novo Βιοσύνθεσης του PAF.	54
Εικόνα 12. Συνολική παρουσίαση των πορειών βιοσύνθεσης και Αποικοδόμησης του PAF.	55
Εικόνα 13. Καταρράκτης σηματοδότησης του PAF.	57
Εικόνα 14-1. Στο διάγραμμα παρουσιάζονται οι καταρρακτες Μεταγωγής σήματος φλεγμονής που δημιουργούνται από τον PAF και των αναλόγων του, με την ενεργοποίηση των υποδοχέων του.	58
Εικόνα 14-2. Στο διάγραμμα καταγράφονται τα ανάλογα καθοδικά αποτελέσματα από την ενεργοποίηση των διαφορετικών οδών Μεταγωγής σήματος που μπορεί να προκαλέσει ο PAF στα διάφορα κύτταρα στόχους.	60
Εικόνα 16. Διάγραμμα ροής της παρέμβασης.	81
Εικόνα 17. Διάγραμμα πειραματικού σχεδιασμού.	83
Εικόνα 18. Θηκόγραμμα σύγκρισης των ομάδων της μελέτης σε συγκεκριμένη χρονική στιγμή (%). Ανεξαρτητη δοκιμασία κριτηρίου Kruskal Wallis. *P<0,05.	104

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

Πίνακας 1.1. Ο πίνακας παρουσιάζει τα βασικά συστατικά που εντοπίζονται στο κρασί.....	29
Πίνακας 1.2. Οι σημαντικότερες κυτταροκίνες της φλεγμονής υπό την διάκριση της χρόνιας και οξείας φλεγμονής. Σημειώνεται πως οι οξείας φλεγμονής κυτταροκίνες μπορεί να εντοπιστούν και σε χρόνια φλεγμονή.....	47
Πίνακας 1.3. Παρουσιάζονται οι βασικότεροι μεσολαβητές της φλεγμονής, που προέρχονται από το κύτταρο, η προέλευση τους και οι κυριότερες δράσεις τους	50
Πίνακας 1.4. Μελέτες παρέμβασης για την δράση του κρασιού σε δείκτες φλεγμονής.	68
Πίνακας 6.1. Βασικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στην έναρξη της παρέμβασης.	94
Πίνακας 6.2. Βιοχημικοί δείκτες στην εκκίνηση της παρέμβασης.	96
Πίνακας 6.3. Χαρακτηριστικά της διατροφής των συμμετεχόντων.....	99
Πίνακας 6.4. Δραστικότητα των ενζύμων PAF-AT & PAF-CPT για τις τρεις ομάδες στην έναρξη της μελέτης.	100
Πίνακας 6.5. Αξιολόγηση της επίδρασης χάρacterιστικών και βιοχημικών δεικτών στα επιπεδα των PAF-AT & PAF-CPT (%).	101
Πίνακας 6.5. Επίδραση της παρέμβασης στις τρεις χρονικές στιγμές (%).	103

Συντομογραφίες

AAG	1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol	1-αλκυλο-2-ακέτυλο-sn-γλυκερόλης
AC	Adenylyl cyclase	Αδενυλική κυκλάση
ADP	Adenosine diphosphate	Διφωσφορική Αδενοσίνη
C3a, C3b, C4a & C5a	Complements (Effectors/ Peptides of the complementary system- Anaphylatoxins)	Πεπτίδια Πρωτεολυτικού Συστήματος Συμπληρώματος (Αναφυλατοξίνες)
cAMP	3'-5'-Cyclic adenosine monophosphate	3'-5'-κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη
CD4+	Cluster of differentiation 4+	Σύμπλεγμα διαφοροποίησης 4+ (Συμπαράγοντας υποδοχέα Τ-λεμφοκυττάρων)
COX-2	Cyclooxygenase-2	Κυκλοοξυγενάση- 2
cPLA2	Cytosolic phospholipase A2	Κυτταροπλασματική Φωσφολιπάση A2
CRP	C-reactive protein	C-αντιδρώσα πρωτεΐνη
CVD	Cardiovascular disease	Καρδιαγγειακά Νοσήματα
DAG	Diacylglycerol	Διακυλογλυκερόλη
ECG	Epicatechin-3-gallate	Επικατεχίνη γαλλικού εστέρα
EGC	Epigallocatechin	Επιγαλλοκατεχίνη
EGCG	Epigallocatechin gallate	Επιγαλλοκατεχίνη γαλλικού εστέρα
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase	Συνθάση του NO του ενδοθηλίου
ERK	Phosphorylated extracellular signal-regulated kinase	Ρυθμιζόμενη από εξωκυτταρικά μηνύματα πρωτεϊνική κινάση
HbA1c	hemoglobin A1c	(Γλυκοζιωμένη) Αιμοσφαιρίνη A1C
HDL-c	High Density Lipoprotein-Cholesterol	Υψηλής Πυκνότητας Λιποπρωτεΐνη- Χοληστερόλη
HOMA-IR	Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance	Ομοιοστατικό Μοντέλο Αξιολόγησης Αντίστασης στην Ινσουλίνη
Hsp	Heat shock protein	Πρωτεΐνες θερμικού σοκ

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1	Διακυτταρικό Μόριο Προσκόλλησης- 1
IFN	Interferon	Ιντερφερόνη
IL	Interleukin	Ιντερλευκίνη
iNOS	Inducible nitric oxide synthase	Επαγόμενη συνθάση του NO
IP3	Inositol trisphosphate	Τριφωσφορική ινοσιτόλη
JAK1	Janus kinase 1	Κινάση του Ιανού 1
JNK	c-Jun N-terminal kinase	Κινάση του αμινοτελικού άκρου του c-Jun
LDL-c	Low Density Lipoprotein-Cholesterol	Χαμηλής Πυκνότητας Λιποπρωτεΐνη- Χοληστερόλη
LPCAT	Lysophosphatidylcholine acyltransferase	Ακετυλοτρανσφεράση της Λυσοφωσφατιδυλοχολίνης
LPS	Lipopolysaccharide	Λιποπολυσακχαρίτης
NF-κB	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells	Πυρηνικός Παράγοντας Κάπα-ελαφρας αλύσου- ενισχυτής ενεργοποιημένων B κυττάρων
MAPK	Mitogen-activated protein kinase	Πρωτεϊνική κινάση ενεργοποιούμενη από μιτογόνα
NO	Nitric Oxide	Μονοξείδιο του Αζώτου
NOX-4	NADPH oxidase 4	Οξειδάση του NADPH- 4
oxLDL	Oxidized LDL	Οξειδωμένη LDL
oxPLs	Oxidized Phospholipids	Οξειδωμένα Φωσfolιπίδια
PAF	Platelet Activating Factor	Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων
PAF- AH	PAF acetylhydrolase	Ακετυλοϋδρολάση του PAF
PAF- AT	Lyso-PAF acetyltransferase	Ακετυλοτρανσφεράση του Λύσο-PAF
PAF- CPT	PAF-cholinephosphotransferase	PAF-φωσφοχολινο-τρανφεράση
PAF-LL	PAF Like- Lipids	Λιποδεικά Ανάλογα του PAF
PAFR	PAF Receptor	Υποδοχέας του PAF
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor-1	Αναστολέας του ενεργοποιητή πλασμινογόνου- 1

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

PGE₂	Prostaglandin E2	Προσταγλαδίνη E ₂
PIP2	Phosphatidylinositol biphosphate	Διφωσφορική φωσφατιδυλο- ινοσιτόλη
PKA	<i>Protein Kinase A</i>	Πρωτεϊνική Κινάση Α
PKC	Protein Kinase C	Πρωτεϊνική Κινάση C
RNS	Reactive nitrogen species	Δραστικές μορφές αζώτου
ROS	Reactive oxygen species	Δραστικές μορφές οξυγόνου
SFA	Saturated fatty acids	Κορεσμένα Λιπαρά Οξέα
STAT-1	Signal transducer and activator of transcription	Μεταγωγέας σήματος και ενεργοποιητής μεταγραφής-1
TC	Total Cholesterol	Ολική Χοληστερόλη
TG	Triacylglycerols	Τριακυλογλυκερόλες
TGF-β	Transforming growth factor beta	Αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού- β
TH	T-Helper	Βοηθητικά T λεμφοκύτταρα
TL	Total Lipids	Ολικά Λιποειδή
TLR-4	Toll- like receptor- 4	Toll- like υποδοχέων- 4
TNF-α	Tumor Necrosis Factor- α	Παράγοντα Νέκρωσης Όγκων- α
tPA	Tissue plasminogen activator	Ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου
TxA2	Thromboxane A2	Θρομβοξάνιο A2
uPA	Urokinase-type plasminogen activator	Ενεργοποιητής Πλασμινογόνου τύπου Ουροκινάσης
VCAM-1	Vascular cell adhesion protein 1	Πρωτεΐνη προσκόλλησης αγγειακών κυττάρων- 1
VEGF	Vascular endothelial growth factor	Αγγειακό Ενδοθηλιακό Αυξητικό Παράγοντα
vWF	Willebrand Factor	Παράγοντας Von Willebrand
WHO	World Health Organization	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
ΣΔ II		Σακχαρώδης Διαβητής τύπου II

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Περίληψη (Ελληνικά)

Υπόβαθρο: Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν βασική αιτία θανάτου παγκοσμίως. Η ανάπτυξη τους επέρχεται σταδιακά μέσα από την διαδικασία της αθηρωμάτωσης που αποτελεί μία κατάσταση χρόνιας φλεγμονής. Ο Παράγοντας Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (PAF) είναι ένα ισχυρός λιπιδειδικός μεσολαβητής της φλεγμονής και της θρόμβωσης που κατέχει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην διαδικασία της αθηρωμάτωσης. Προηγούμενες μελέτες της ερευνητικής μας ομάδας έχουν επισημάνει την ύπαρξη μικρο-συστατικών στο κρασί με αντιφλεγμονώδη και αντι-θρομβωτική δράση. Στο πλαίσιο αυτό έχει προηγουμένως βρεθεί ότι η κατανάλωση κρασιού παράλληλα με ένα γεύμα μειώνει τη δράση των βιοσυνθετικών ενζύμων του PAF σε υγιείς εθελοντές.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η αξιολόγηση της μακροχρόνιας επίδρασης της μέτριας κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα του μεταβολισμού του PAF σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο.

Μεθοδολογία: Στην μελέτη συμμετείχαν 64 εθελοντές που έπασχαν από στεφανιαία νόσο. Η παρέμβαση ήταν διάρκειας 8 εβδομάδων, κατά την οποία οι εθελοντές είχαν χωριστεί σε 3 ομάδες. Η πρώτη ομάδα απείχε από το αλκοόλ (ομάδα ελέγχου), η δεύτερη ομάδα κατανάλωνε καθημερινά 200mL κόκκινο κρασί (Cabernet Sauvignon, 13.5% v/v αλκ.), ενώ η τρίτη ομάδα προσλάμβανε 72ml τσίπουρο (ομάδα θετικού ελέγχου στην αιθανόλη), ώστε και οι δύο να καταναλώνουν 27g αιθανόλης ημερησίως. Λήφθηκαν βιολογικά δείγματα σε τρεις χρονικές στιγμές, στην έναρξη, στο μέσο της παρέμβασης (4 εβδομάδες) και με την ολοκλήρωση της, στις 8 εβδομάδες. Μετρήθηκε η δραστηριότητα των βασικών ενζύμων βιοσύνθεσης του PAF, δηλαδή της PAF-φωσφοχολινο-τρανφεράσης (PAF-CPT) και της λύσο-PAF ακετυλο-τρανφεράσης (PAF-AT) σε ομογενοποιημένα λευκοκυττάρων. Επίσης, αξιολογήθηκαν τα χαρακτηριστικά του δείγματος, ως προς ανθρωπομετρικά στοιχεία, διατροφικές συνήθειες, αιματολογικούς και βιοχημικούς δείκτες και την φυσική δραστηριότητα. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με την χρήση κατάλληλου στατιστικού λογισμικού.

Αποτελέσματα: Στα δεδομένα έναρξης της παρέμβασης δεν υπήρξε διαφορά στις δραστηριότητες των ενζύμων μεταξύ των 3 ομάδων και στα βασικά χαρακτηριστικά του δείγματος. Την παρέμβαση ολοκλήρωσαν 57 εθελοντές. Στα κύρια ευρήματα της μελέτης φάνηκε πως μεταξύ των τριών ομάδων, μόνο η ομάδα του κρασιού επέδρασε σημαντικά στη δραστηριότητα της PAF AT στις 4 εβδομάδες ($P=0,04$). Όσον αφορά την PAF-CPT, δεν εντοπίστηκε σημαντική επίδραση μεταξύ των τριών ομάδων ($P=0,117$), ωστόσο παρατηρήθηκε στο όριο της σημαντικότητας, τάση μείωσης της δραστηριότητας της PAF-CPT στην ομάδα του κρασιού, μεταξύ έναρξης και 8 εβδομάδων ($P=0,057$).

Συμπεράσματα: Η μακροχρόνια μέτρια προς ελαφριά κατανάλωση κρασιού μειώνει τη δράση των βιοσυνθετικών ενζύμων του μεσολαβητή της φλεγμονής PAF σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο, παρατήρηση που υποδηλώνει πως η εντοπισμένη αντιφλεγμονώδης και αντιθρομβωτική δράση του κρασιού μπορεί να είναι αποτέλεσμα της αναστολής του PAF από τα βιοδραστικά μικρο-συστατικά του κρασιού.

Λέξεις κλειδιά: Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων, κρασί, αλκοόλ, βιοδραστικά μικρο-συστατικά, ένζυμα βιοσύνθεσης PAF

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

Περίληψη (Αγγλικά)- Abstract

Background: Cardiovascular diseases (CVD) are the leading cause of death globally. The manifestation of CVD constitute the end- point of a pathological process, called Atherosclerosis. Platelet Activating Factor (PAF) is a potent lipid mediator of inflammation and thrombosis which crucially contributes to the process of atherosclerosis. Previous studies have pointed to the existence of micro-constituents in wine with anti-inflammatory and anti-thrombotic properties. Moreover, a study of our research group found that wine exhibits a postprandial effect on the biosynthesis enzymes of PAF in healthy volunteers by causing significant reduction on enzymes' activity levels.

Aim: The aim of our study was to examine the effect of long-term moderate daily wine consumption on the major enzymes of PAF's biosynthesis in coronary artery disease patients.

Methodology: The study was designed as a single-blind, randomized, controlled, three arm parallel intervention. Sixty-four male coronary artery disease patients were enrolled and randomized into three groups. The first group (control) was asked to abstain from alcohol consumption (<28gr./d.). The second group of participants were provided with red wine (Cabernet Sauvignon, 13.5% v/v) and asked to consume 200ml daily. The third group was asked to consume 72ml daily of the Greek distilled drink "tsipouro" (ethanol positive control). The second and third groups were calculated to consume 27gr. of ethanol per day. At the baseline, biological samples were collected for each participant, along with anthropometric measurements and nutritional data. The main tests evaluated the enzymatic activity of PAF's major biosynthesis enzymes, namely Lyso-PAF acetyltransferase (PAF-AT) and PAF-cholinephospho-transferase (PAF-CPT).

Results: At the baseline, all the checked variables among the groups were not significantly different. The intervention was completed by fifty- seven participants. The finding of our study has noticed significantly lower enzymatic activity levels of PAF-AT at the 4th week among the three groups ($P=0,04$). Moreover, no significant differences were found for PAF-CPT ($P=0,117$), although a borderline statistically insignificant reduction was shown when the baseline and 8th week levels were compared ($P=0,057$).

Conclusion: The long-term moderate daily wine consumption affects the enzymatic activity of PAF's biosynthesis enzymes in coronary artery disease patients. Meanwhile, ethanol's group did not exhibit any significant effect. These findings indicate that wine's anti-inflammatory and anti-thrombotic properties might be a result of wine's bioactive micro-constituents, which act as inhibitors of PAF's enzymes.

Keywords: Platelet- activating factor, wine, bioactive micro-constituents, alcohol, coronary artery disease, PAF biosynthetic enzymes

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Κρασί και υγεία

1.1 Εισαγωγή

Κατά τον Κανονισμό Β (ΕΚ) 1234/2007 της Ευρωπαϊκής Ένωσης, «Οίνος ή κρασί είναι το προϊόν που παράγεται αποκλειστικά με πλήρη ή μερική αλκοολική ζύμωση νωπών σταφυλιών, είτε αυτά έχουν υποστεί έκθλιψη είτε όχι, ή γλεύκους σταφυλιών (μούστος)».

Σε παγκόσμια κλίμακα, ως επι το πλείστον παρουσιάζεται ένα βασικό είδος αμπέλου που ονομάζεται *Vitis Vinifera*, ενώ υποδεέστερης αξίας και σπανιότερα εντοπιζόμενα είδη αποτελούν το *Vitis rupestris*, *Vitis berlandieri* και *Vitis amurensis*. Η παραγωγή σταφυλιών που αποτελούν την πρώτη ύλη για το κρασί, ποιοτικά και ποσοτικά εξαρτάται από το κλίμα, το έδαφος και τις πρακτικές καλλιέργειας (1).

Με περιορισμένες εξαιρέσεις το ποσοστό αιθυλικής αλκοόλης είναι στο ελάχιστο 8,5% και το μέγιστο 15%. Ακολούθως η ποιότητα του κρασιού και η σύσταση του διαφοροποιείται βάση της ποικιλίας των σταφυλιών, της γεωγραφικής προέλευσης, τις πρακτικές παραγωγής όπως της παρουσίας του φλοιού στο γλέυκος των σταφυλιών που είναι υπεύθυνο σε μεγάλο βαθμό και χρωματικές ποικιλίες των κρασιών, καθώς και τις τεχνικές παρασκευής και παλαίωσης (2).

1.2 Αλκοολούχα ποτά και καρδιαγγειακά νοσήματα

Ο όρος Καρδιαγγειακά νοσήματα (CVD) αφορά στο φάσμα των διαταραχών της καρδιάς και των αιμοφόρων αγγείων. Χαρακτηριστικότερα διαταραχές των CVD αποτελούν η στεφανιαία καρδιακή νόσος, που περιγράφεται από αδυναμία παροχής αίματος στο μυ της καρδιάς, η νόσος του αγγειακού εγκεφαλικού, όπου παρεμποδίζεται η παροχή αίματος στον εγκέφαλο, και η περιφερειακή αρτηριακή νόσος, που αφορά στην αδυναμία παροχής αίματος σε χέρια και πόδια. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) εκτιμά πως το 2019, από το σύνολο των θανάτων του έτους, το 38% προήλθε από CVD, όπου το 85% εξ' αυτών προέρχονται από Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο και Οξύ Έμφραγμα του Μυοκαρδίου. Πέραν των γενετικών παραγόντων, έχουν απομονωθεί παράγοντες του τρόπου ζωής που προκαλούν CVD. *“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”*

Αυτοί είναι το κάπνισμα, τα μη υγιεινά πρότυπα διατροφής, όπως η Δυτικού τύπου διατροφή, η έλλειψη φυσικής δραστηριότητας και η κατάχρηση αλκοόλ (3).

Το αλκοόλ (ή αιθανόλη) αποτελεί προϊόν με πολυδιάστατη επίδραση στον καταναλωτή. Έχει εθιστική και ψυχοτρόπο δράση, καθώς επίσης συνδέεται με περισσότερες από 200 ασθένειες που σχετίζονται με την κατανάλωση του, όπως είναι χαρακτηριστικά οι ηπατοπάθειες, οι νεφροπάθειες, καρκινογενέσεις και τα CVD. Παρόλα αυτά οι απόψεις διίστανται ερευνητικά, καθώς ένα μεγάλο μέρος επισημαίνει πως η κατανάλωση αλκοολούχων ποτών επιφέρει διαφορετικές επιδράσεις στην υγεία βάσει της ποσότητας, του είδους του αλκοολούχου ποτού (της ποιότητας) και του μοτίβου της κατανάλωσης της αιθανόλης. Από αυτά τα κριτήρια προκύπτει ο χαρακτηρισμός «Επιβλαβής χρήση του αλκοόλ», όμως άλλες απόψεις υποστηρίζουν, ότι δεν ευσταθεί ο χαρακτηρισμός και αντιτίθεται στην κατανάλωση του ως ουσία που μπορεί να παρέχει και όφελος στην υγεία (4).

1.3 Επιδημιολογικές μελέτες - το «Γαλλικό παράδοξο»

Η επιδημιολογική σχέση της πρόσληψης κρασιού με τα οφέλη της στην υγεία του ανθρώπου έχει από δεκαετίες επισημανθεί, ειδικότερα ως προς τη μείωση του κινδύνου για CVD όπως επισημαίνεται μέσα από το αναφερόμενο ως «Γαλλικό παράδοξο». Το Γαλλικό παράδοξο στηρίζεται στο γεγονός πως παρότι η υψηλή πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων (SFA) αποτελεί βασικό παράγοντα ανάπτυξης CVD, οι Γάλλοι καταναλωτές, ομοίως με κατοίκους άλλων χωρών, κατανάλωναν μεγάλες ποσότητες SFA, όμως κάποιος παράγοντας ασκούσε προστατευτικό ρόλο οδηγώντας σε σημαντικά χαμηλότερο κίνδυνο για CVD. Αυτή η παρατήρηση προήλθε από πρώιμα ευρήματα της μελέτη παρακολούθησης πληθυσμών βιομηχανικών χωρών, «MONICA project» του WHO, όπου στα αποτελέσματα της οποίας είχαν ληφθεί υπόψη σημαντικοί συγχυτικοί παράγοντες κινδύνου για CVD, όπως ο δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ), η αρτηριακή πίεση (ΑΠ) και το κάπνισμα. Στα ευρήματα της μελέτης έγινε διακριτό πως οι Γάλλοι παρότι χαρακτηρίζονταν από πολλούς παράγοντες κινδύνου για CVD, άνηκαν στην κατηγορία εθνών με χαμηλή θνησιμότητα, παρουσιάζοντας ένα παράδοξο (5,6).

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

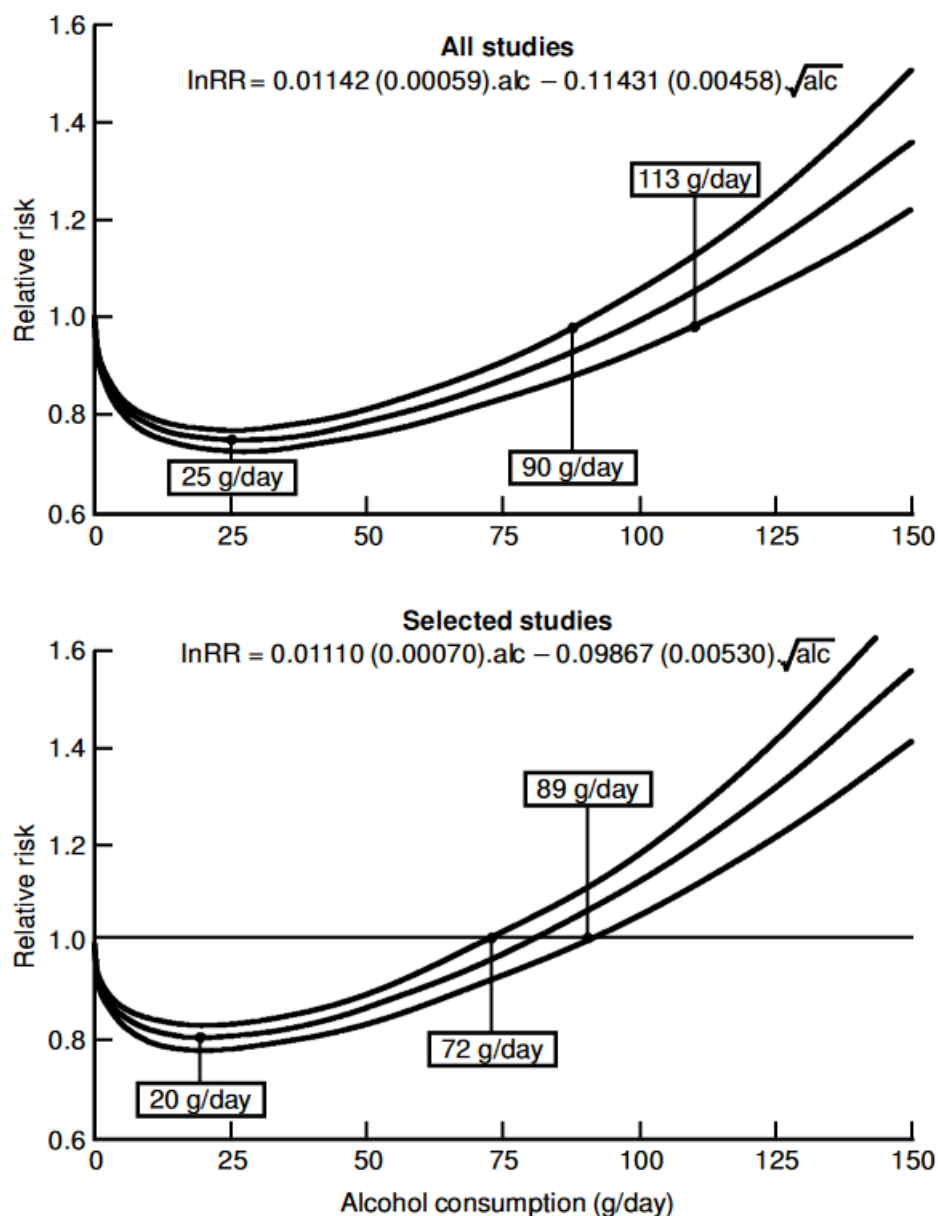
Η πρώτη αναφορά του όρου «Γαλλικό παράδοξο» διατυπώθηκε σε μελέτη των Renaud και de Lorgeril (1992). Μέσα και από προηγούμενες μελέτες παρατήρησης, αιτιολόγησαν το φαινόμενο, ως αποτέλεσμα της μέτριας πρόσληψης κρασιού, με ποσότητες 20-30 γραμμαρίων αιθυλικής αλκοόλης, που κατέληγε στην μείωση του κινδύνου για CVD κατά τουλάχιστον 40%. Μάλιστα, το γεγονός πως η Γαλλία (Τουλούζη) έναντι των ΗΠΑ (Στανφορντ), παρά τα παρόμοια επίπεδα πρόσληψης SFA, χοληστερόλης και αλκοόλ, εμφάνιζε τους Γάλλους με ευκρινώς χαμηλότερο κίνδυνο για CVD, οδηγώντας τους ερευνητές στο συμπέρασμα πως το κρασί δεν αποτελεί απλώς την βασική πηγή αιθανόλης για τους Γάλλους, αλλά και τον παράγοντα που πιθανότατα έκρινε το βαθμό κινδύνου μεταξύ των δύο κρατών. Έτσι, προχώρησαν στο συμπέρασμα πως το κρασί φέρει προστατευτικές ιδιότητες κατά των CVD (6).

Έκτοτε αρκετές μελέτες έχουν μελετήσει την επίδραση της κατανάλωσης κρασιού και γενικότερα αλκοόλ στα CVD. Η σχέση της κατανάλωσης αλκοόλ με την μακροζωία αποτελεί ερευνητικό ζήτημα με αλληλοσυγκρουόμενα ευρήματα μεταξύ μελετών. Η πιο πρόσφατη προοπτική μελέτη Κοορτής στην Ολλανδία, με πλήρη δεδομένα από το 1986 μέχρι το 2007, και ένα δείγμα 5.479 συμμετεχόντων, παρατήρησε πως είχαν 36% υψηλότερες πιθανότητες να έφταναν τα 90 έτη όσοι καταναλώνουν ημερησίως 5 έως 15 γραμμάρια αλκοόλης, δηλαδή λιγότερο από μία μερίδα αλκοόλης ημερησίως. Οπότε η χαμηλή πρόσληψη φάνηκε ευεργετική έναντι της μεγαλύτερης πρόσληψης, αλλά και της πλήρους αποχής. Όσον αφορά το μοτίβο κατανάλωσης, οι ερευνητές επισημαίνουν επιβλαβή επίδραση των σποραδικών επεισοδίων υπερκατανάλωσης αλκοόλ (γνωστό και ως “binge drinking”), οδηγώντας σε μειωμένο προσδόκιμο ζωής (7).

Στις αρχές της χιλιετίας, μετάνάλυση, μέσα από δεδομένα 51 μελετών παρατήρησης, διαπίστωσε πως η κατανάλωση αλκοόλ σε συνάρτηση με τον σχετικό κίνδυνο για CVD διαμόρφωνε μία γραμμική σχέση “J” σχήματος, όπως παρουσιάζεται στην **Εικόνα 1**. Αναδεικνύοντας πως η μέτρια κατανάλωση των 20-25 γραμμαρίων αιθανόλης παρείχε το μέγιστο όφελος, με σημαντική διαφορά συγκριτικά με τους απέχοντες, ενώ παρατηρώντας την αύξηση της ποσότητας, αυτή έφθινε αργά και σταδιακά. Μάλιστα εστιάζοντας στις μελέτες με την μεγαλύτερη βαρύτητα, το μέγιστο όφελος συναντάται στην υψηλότερη τιμή των 25 γραμμαρίων αιθανόλης (8).

Παρόλα αυτά, μεταγενέστερη μετα-ανάλυση, προχώρησε σε διάκριση των τύπων ποτού, από την οποία επιβεβαίωσε τη “J” μορφή στο διάγραμμα για το κρασί και την μπύρα, αλλά δεν εντοπίστηκε η ίδια συνάρτηση για τα αλκοολούχα ποτά απόσταξης. Παρατήρηση που δηλώνει πως αύξηση της προσλαμβανόμενης ποσότητας αιθανόλης, πέραν ενός ορίου, περίπου 20 γραμμαρίων, διατηρεί σημαντικό όφελος έναντι των CVD, αλλά λόγω άλλων συστατικών που εντοπίζονται στο κρασί και στην μπύρα, και όχι λόγω της αιθανόλης. Πρόσθετα, η “J” συνάρτηση της αιθανόλης από κρασί εντοπίστηκε προς τον κίνδυνο για CVD, με τα βέλτιστα αποτελέσματα περίπου στα 21 γραμμάρια (-31%) και όφελος έως τα 72 γραμμάρια, αλλά και στην θνησιμότητα όλων των αιτιών, με μείωση κατά 25% του κινδύνου, στα 10 γραμμάρια, και οφέλους που συνέχισε να παρατηρείται έως τα 41 γραμμάρια (9).

Ιδιαίτερα σημαντική παράμετρο επίδρασης που θα πρέπει να επισημανθεί αφορά στην επαναλαμβανόμενη παρατήρηση διαφορετικής επίδρασης της αιθανόλης, τουλάχιστον σε επίπεδο δόσης, μεταξύ των δύο φύλων. Μελέτη κοορτής στην Ιαπωνία, σε δείγμα 48.906 γυναικών, παρατήρησε ότι η πρόσληψη 0 έως 22,9 γραμμάρια αιθανόλης μείωσε τον κίνδυνο για Στεφανιαία νόσο, ενώ αντίστοιχα σημαντική μείωση είχαν και οι άνδρες με τα επίπεδα όμως αιθανόλης να παρουσιάζουν όφελος στο εύρος των 0 έως 45,9 γραμμαρίων αιθανόλης (10). Μάλιστα, αντίστοιχα επίπεδα αιθανόλης βρέθηκαν ωφέλιμα κατά των KAN και από δεδομένα της Nurses Health study, παρακολουθώντας 85.709 γυναίκες, σε διάστημα 12 ετών, όπου χαμηλότερο κίνδυνο για CVD είχαν οι γυναίκες που κατανάλωναν 1,5 έως 29,9 γραμμάρια ανά ημέρα. Έτσι, φαίνεται πως επιβεβαιώνεται ο ισχυρισμός πως οι γυναίκες συστήνεται να καταναλώνουν χαμηλότερες ποσότητες αιθανόλης από τους άνδρες (11).



Εικόνα 1. Απεικονίζεται η δοσο-εξαρτώμενη σχέση κατανάλωση αλκοόλης, εκφρασμένης σε γραμμάρια ανά ημέρα προς τον σχετικό κίνδυνο για CVD. Στα δύο γραφήματα παρουσιάζεται το σύνολο των 51 μελετών και των 28 μελετών κοορτής με την υψηλότερη μεθοδολογική ποιότητα (8).

Επιστρέφοντας στο θέμα του της ποσότητας και του μοτίβου κατανάλωσης αιθανόλης, μία μετα-ανάλυση μετα-αναλύσεων και μελετών παρατήρησης στο θέμα της κατανάλωσης αλκοόλ και των μοτίβων κατανάλωσης, ως προς τον σχετικό κίνδυνο για ισχαιμικό επεισόδιο, επιβεβαιώνει (μέσα από 11 μετα-αναλύσεις) την σχέση ποσότητας κατανάλωσης αλκοόλ, από κάθε τύπο ποτού, με τον σχετικό κίνδυνο για CVD, ως “J” μορφής. Αναλυτικότερα, παρατηρείται πως οι καταναλωτές αλκοόλ με επεισοδιακή υπερκατανάλωση, έχουν ανάλογο κίνδυνο με τους απέχοντες, ενώ οι “Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

μέτριοι καταναλωτές έως 30 γραμμαρίων αλκοόλης, χωρίς επεισόδια υπερκατανάλωσης, συναντούν μείωση του κινδύνου που κυμαίνεται από 19 έως 31%. Επιπλέον, ένα σημαντικό δεδομένο αποτελεί πως οι απέχοντες από το αλκοόλ είχαν σημαντικά χαμηλότερο ισχαιμικό κίνδυνο συγκριτικά με εκείνους που ήταν, αλλά έχουν παύσει να είναι συστηματικοί καταναλωτές αλκοόλ. Ένας σημαντικός περιορισμός των μελετών του συγκεκριμένου πεδίου αποτελεί απόλυτη κατηγοριοποίηση των απεχόντων από το αλκοόλ ως «απέχοντες» ή «επι του παρόντος απέχοντες», καθώς στις περισσότερες μελέτες παρατηρείται δυσκολία διαχωρισμού (12).

Μελέτη Κοορτής εστίασε αμιγώς στα μοτίβα κατανάλωσης αλκοόλ, προχωρώντας σε ξεχωριστές παρατηρήσεις ως προς τον τύπο του ποτού, την συχνότητα κατανάλωσης και την κατανάλωση του μαζί με φαγητό. Το τελικό δείγμα ήταν 309.123 συμμετέχοντες από την UK Biobank (UKB), με καταγραφές από το 2006 έως το 2010. Στα ευρήματα της μελέτης, όσον αφορά τον τύπο των ποτών, και συγκριτικά με καταναλωτές κόκκινου κρασιού, οι καταναλωτές μπύρας είχαν κατά 18% υψηλότερο κίνδυνο θανάτου από οποιοδήποτε αίτιο, και 25% όσοι κατανάλωναν αλκοολούχα ποτά απόσταξης. Συγκεκριμένα για τα CVD, η μπύρα είχε αυξημένη πιθανότητα κατά 16%, ενώ τα ποτά απόσταξης κατά 31%. Δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά σε καμία περίπτωση για την κατανάλωση λευκού κρασιού έναντι του κόκκινου κρασιού. Από την πλευρά της συχνότητας, ο κίνδυνος επταετίας έδειχνε υψηλότερο ποσοστό θανάτων οποιασδήποτε αιτίας (9%) και CVD (14%) σε όσους κατανάλωναν αλκοόλ μία με δύο φορές εβδομαδιαία, έναντι της επιλογής των τριών ή τεσσάρων φορές, που παρουσιάζεται ως η βέλτιστη. Ως προς την συχνότερη κατανάλωση, κατέληξαν στις τρεις με τέσσερις φορές, καθώς στην περίπτωση της καθημερινής κατανάλωσης αυξανόταν ραγδαία ο κίνδυνος κίρρωσης του ήπατος κατά 49%, παρότι δεν παρατηρούνταν σημαντική διαφορά ως προς τον δείκτη θνησιμότητας. Περνώντας στην κατανάλωση του αλκοόλ με το φαγητό ή όχι, φάνηκε πως κατανάλωση αλκοόλ χωρίς φαγητό αύξησε τον κίνδυνο θνησιμότητας κατά 10%, χωρίς σημαντική διαφορά για τα CVD (13).

Αντίστοιχα, εστιάζοντας στο αγγειακό εγκεφαλικό μεταξύ των CVD, τα δεδομένα δεν δείχνουν ανάλογο όφελος της αιθανόλης όπως παρουσιάστηκε στην στεφανιαία νόσο. Μελέτη Κοορτής με δείγμα 38.156 ανδρών, εστίασε στο ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό, όπου εντόπισε τάση οφέλους για την συνήθη, χαμηλή έως μέτρια πρόσληψη αιθανόλης στις τρεις με τέσσερις φορές εβδομαδιαία ($p=0,08$). Όταν

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

απομονώθηκαν τα αλκοολούχα ποτά ως προς συγκεκριμένους τύπους ποτών, παρατήρησαν ότι σε χαμηλή ποσότητα το κόκκινο κρασί παρείχε σημαντικά μειωμένο κίνδυνο, μία παρατήρηση που δεν εντοπίστηκε σε άλλα ποτά (14).

Αντίθετα, σε μία πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση, εντόπισαν πως το αλκοόλ έως δύο μερίδες ημερησίως μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο ισχαιμικού αγγειακού εγκεφαλικού, όμως εξετάζοντας τις υποκατηγορίες αγγειακού εγκεφαλικού, ενδοκρανική αιμορραγία και υπαράχνοειδή αιμορραγία, το αλκοόλ δεν παρείχε σε καμία περίπτωση όφελος στις διάφορες συγκεντρώσεις (15). Κοινό εύρημα των δύο μετα-αναλύσεων αποτελεί πως η υψηλή πρόσληψη αιθανόλης, αυξάνει το κίνδυνο για οποιοδήποτε τύπο αγγειακού εγκεφαλικού (14). Η αναφερόμενη διαπίστωση μπορεί να συνδεθεί με παρατηρήσεις παλαιότερων εργαστηριακών ερευνών για την δράση της σε υψηλή κατανάλωση. Έχει παρουσιαστεί αύξηση στην ΑΠ (16), σε συνδυασμό με μείωση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων (17), μείωση του ινωδογόνου στην κυκλοφορία και ενίσχυση της αναλογίας υπέρ των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, που έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη ινωδόλυση (18). Έτσι, το σύνολο των επιδράσεων της αιθανόλης μπορεί να δικαιολογήσει την αυξημένη πιθανότητα αιμορραγίας, και εν προκειμένω, εγκεφαλικής αιμορραγίας.

1.3.1 Παράγοντες Κινδύνου για CVD

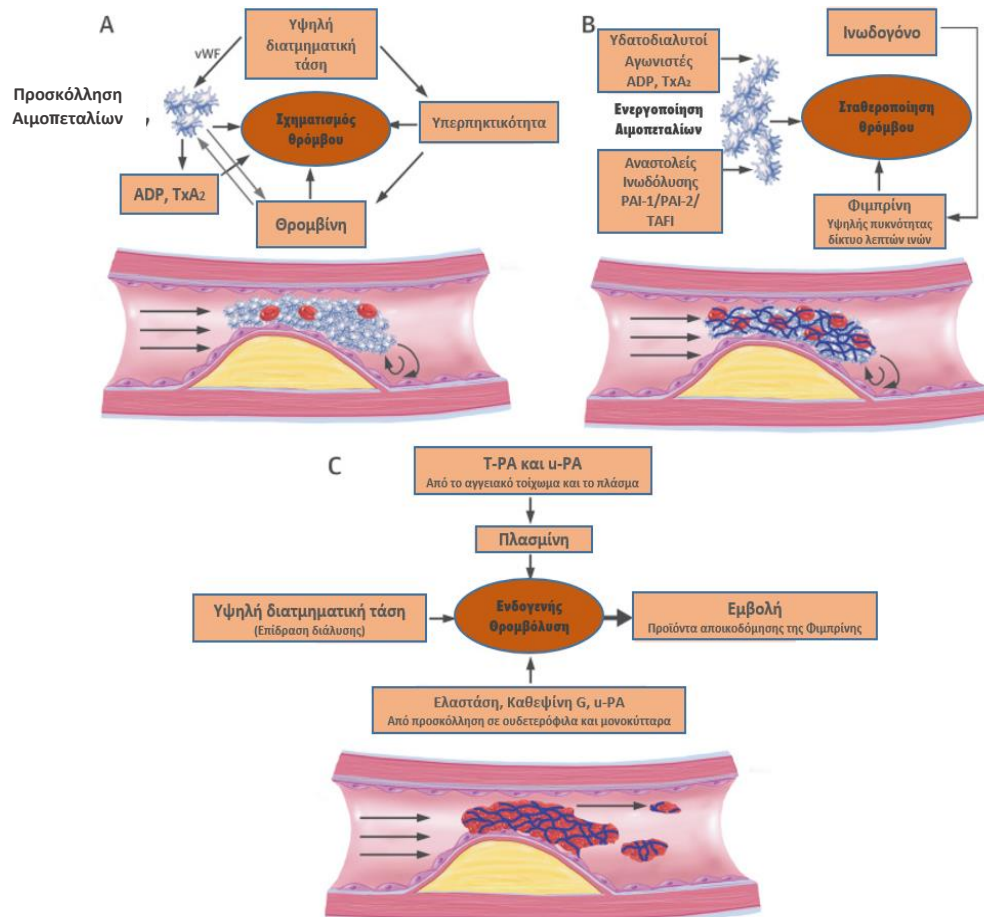
Οι παράγοντες που δύναται να αποτελέσουν και δείκτες κινδύνου για CVD χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες, ανάλογα με την δυνατότητα παρέμβασης που επιδέχονται. Έτσι, παρουσιάζονται οι τροποποιήσιμοι και τους μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου. Ξεκινώντας με τους μη τροποποιήσιμους, στην κατηγορία υπάγονται η μεγάλη ηλικία, το ανδρικό φύλο, η κληρονομικότητα, οι υπόλοιπες φυλές πέραν της καυκάσιας, και η εμμηνόπαυση στις γυναίκες. Από την άλλη πλευρά, οι παράγοντες κινδύνου που επιδέχονται τροποποίηση μέσω υγιεινοδιαιτητικής ή και φαρμακευτικής παρέμβασης είναι η παχυσαρκία και υπερβαρία, η χαμηλή ποιότητα διατροφής, η καθιστική ζωή (19), το κάπνισμα, η υψηλή ΑΠ, η δυσλιπιδαιμία, το μεταβολικό σύνδρομο, ο Σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) II, η κολπική μαρμαρυγή και η καρωτιδική νόσος (20,21). Από τους παράγοντες κινδύνου που αναφέρθηκαν, η ΑΠ, η χοληστερόλη, το κάπνισμα, το φύλο, η εθνικότητα και η ηλικιακή ομάδα χρησιμοποιούνται ως εργαλεία πρόβλεψης του καρδιαγγειακού κινδύνου σε βάθος

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

δεκαετίας. Ένα τέτοιο εργαλείο ελέγχου κινδύνου για CVD, για τον Ευρωπαϊκό πληθυσμό, είναι το εργαλείο “SCORE chart” (Systematic COronary Risk Evaluation) που παρέχεται από την Ευρωπαϊκή καρδιολογική εταιρεία (22).

Ο τρόπος που πλήττουν οι συγκεκριμένοι παράγοντες αυξάνοντας σταδιακά το ρίσκο για CVD, είναι εν μέρει μέσω της υποβόσκουσας και της χρόνιας φλεγμονής, που ευνοούν την εναπόθεση αθηρωματικών πλακών στον αυλό των αγγείων, προκαλώντας στένωση και θρόμβους. Έτσι, οι βιοχημικοί δείκτες που υποδηλώνουν αυξημένο κίνδυνο για CVD εκφράζονται κατά βάση από το φάσμα δεικτών του μεταβολικού συνδρόμου, που καλύπτει την παχυσαρκία (αξιολογημένη από την περίμετρο μέσης), την υψηλή ΑΠ, το διαταραγμένο γλυκαιμικό έλεγχο (με ινσουλινοαντίσταση και υπεργλυκαιμία), και το δυσμενές λιπιδαιμικό προφίλ (3).

Παράλληλα, στην βιβλιογραφία αξιολογούνται και περεταίρω εξειδικευμένοι δείκτες κινδύνου για CVD, με σημαντικότερους τους δείκτες θρόμβωσης και φλεγμονής. Χαρακτηριστικοί εκπρόσωποι δεικτών θρόμβωσης είναι μόρια όπως ο αναστολέας του ενεργοποιητή πλασμινογόνου- 1 (PAI-I) και ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tPA), ο Παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF), παράγοντες πήξης, όπως ο παράγοντας πήξης VII, και άλλοι δείκτες, με τον ρόλο κάποιων εξ αυτών να περιγράφεται στην **Εικόνα 2** στο πλαίσιο δημιουργίας και απελευθέρωσης θρόμβων (3). Όσον αφορά δείκτες φλεγμονής που διερευνώνται συχνότερα για την σύνδεση τους με τον κίνδυνο για CVD, περιλαμβάνονται μόρια όπως διάφορες κυτταροκίνες και ο PAF, με εκτενέστερη αναφορά στα σημαντικότερα μόρια φλεγμονής και του συστήματος πήξης να ακολουθεί στο 2ο Κεφάλαιο στο πλαίσιο φλεγμονής και του ρόλου της στα CVD.



Εικόνα 2. Στο σχήμα παρουσιάζεται ο μηχανισμός ενδογενούς ινωδολύσης στην ρύθμιση του σχηματισμού αποφρακτικής αρτηριακής θρόμβωσης και η σχέση του με πιθανούς βιοδείκτες εργαστηριακών εξετάσεων αξιολόγησης του κινδύνου για θρόμβωση. **I)** Ο Willebrand Factor (vWF) αποτελεί κύριο μεσολαβητή της διαμόρφωσης θρόμβου, μεταφέροντας τον παράγοντα πήξης VII, και επάγοντας την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο τραυματισμένο ενδοθήλιο, σε συνθήκες υψηλής διατμηματικής τάσης. **II)** Προκαλείται ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια παράγουν Διφωσφορική Αδενοσίνη (ADP) που μαζί με το Θρομβοξανθίο A2 (TxA2) επάγουν την συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Η Θρομβίνη κλιμακώνει την συσσώρευση αιμοπεταλίων και την μετατροπή του Ινωδογόνου σε Φιβρίνη (Ινώδες) που δημιουργεί μία κάψα που αντιστέκεται στην μετακίνηση ή λύση της, καθώς επίσης ενεργοποιεί τον Αναστολέα της ινωδολύσης ενεργοποιούμενο από την θρομβίνη (TAFI). Παράλληλα, παράγεται ο αναστολέας του ενεργοποιητή πλασμινογόνου- 1 (PAI-1), οπότε απενεργοποιεί του βασικούς ενεργοποιητές που είναι ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tPA) και ο ενεργοποιητής ουροκινάσης (uPA). Οι tPA και uPA σε εβεργη μορφή τους, θα προκαλούσαν την μετατροπή του ενζύμου πλασμινογόνο στην ενεργή μορφή του, που είναι η ινωδολυτική δράσης, πλασμίνη, δηλαδή θα ανέστρεφαν την διαδικασία θρομβογενεσης. **III)** Ενδογενής Θρομβόλυση: Διαδικασία ενζυμικής δράσης που προκαλείται για την αποφυγή απόφραξης του αγγείου, με την απελευθέρωση των t-PA και u-PA από το αγγειακό τοίχωμα και το πλάσμα, και με ταυτόχρονη απελευθέρωση της ελαστάσης και της καθεψίνης από τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα, οδηγώντας σε λύση του θρόμβου (23–25).

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

1.2.2 Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού σε παράγοντες κινδύνου για τα CVD

Πολυάριθμες μελέτες παρατήρησης επισημαίνουν την σχέση οφέλους της μέτριας πρόσληψης κρασιού ως προς την καρδιαγγειακή υγεία. Μία μεγάλη μελέτη, αποτελεί η μελέτη Κοορτής SWAN (Study of Women's health Across the Nation), η οποία επεδίωξε να ελέγξει την σχέση του κρασιού με δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου, παρακολουθώντας γυναίκες στις ΗΠΑ για διάρκεια 8 ετών. Συμπεριελήφθησαν 2.886 μεταβατικού σταδίου εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, 42 έως 52 ετών. Οι δείκτες φλεγμονής και αιμόστασης που εξετάστηκαν ήταν η C- Αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) ως δείκτης φλεγμονής, ο PAI-I, το Ινωδογόνο, ο Παράγοντας πήξης VII και το tPA, ενώ η πρόσληψη κρασιού εκτιμήθηκε με την χρήση ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ), υπολογίζοντας ένα ποτήρι ως τη μέτρια πρόσληψη κρασιού. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν πως η μέτρια κατανάλωση κρασιού ανεξαρτήτως εθνικότητας, φύλου, ηλικίας και κοινωνικοοικονομικής κατάστασης, είχαν χαμηλότερα επίπεδα προς όλους τους αναφερόμενους δείκτες αιμόστασης και φλεγμονής, όταν συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες μετρήσεις σε γυναίκες που απείχαν. Βάση της παρατήρησης προκύπτει πως η μέτρια δόση κρασιού μπορεί να μειώσει την φλεγμονή και να περιορίσει βιοχημικά μονοπάτια θρομβογένεσης, οπότε κατά προέκταση να συσχετιστεί το κρασί με προστατευτική δράση κατά των CVD (26).

Αντιστοίχως, σε ανάλογη κατεύθυνση, η προοπτική μελέτη κοορτής των Renaud et al. (2004), με δείγμα 36583 Γάλλων ανδρών σε διάρκεια 13 έως 21 ετών, εξέτασε την σχέση της μέτριας πρόσληψης κρασιού προς τον κίνδυνο για θάνατο που σχετίζεται με υπέρταση. Ακόμα και στην περίπτωση συμμετεχόντων με υπέρταση που έφτανε τα 158mm/Hg, παρουσιάστηκε σημαντική μείωση της σχετικής πιθανότητας θανάτου από οποιοδήποτε αίτιο κατά 23%, σε όσους κατανάλωναν κρασί. Σημαντικό πρόσθετο στοιχείο της μελέτης αποτελεί η ημερήσια δόση αλκοόλης που θεωρήθηκε ως μέτρια, καθώς πρόκειται για τα 60 γραμμάρια αιθανόλης, τα οποία υπολογίζονται αδρά στα 5 ποτήρια κρασί των 125ml ανα ημέρα, δηλαδή παρά την μεγάλη δόση εντοπιζόταν σημαντικό όφελος (27).

Η ποσότητα που φαίνεται να αντιπροσωπεύει καλύτερα την έννοια της μέτριας κατανάλωσης κρασιού, μπορεί να υποστηριχθεί από τις οδηγίες του USDA προς τους Αμερικανούς καταναλωτές. Στον οδηγό συστήνεται η συστηματική κατανάλωση κρασιού με τη ημερήσια κατανάλωση 1-2 ποτηριών, ένα για τις γυναίκες και δύο για

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

τους άνδρες, που ισοδυναμεί με περίπου 150ml ανά ποτήρι ή περίπου 15γρ. αιθανόλης, με την μέτρια πρόσληψη από άλλα αλκοολούχα ποτά να στοχεύει στην αντίστοιχη κατανάλωση αιθανόλης (350ml μπύρας και 45ml ποτών απόσταξης) (28). Οι νεότερες συστάσεις περιορίζουν την ποσότητα στην μία μερίδα ανά ημέρα ανεξαρτήτως φύλου (28).

Ένας ακόμα δείκτης κινδύνου για CVD οποίος έχει εντοπιστεί σε αρκετές μελέτες, είναι η υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη- χοληστερόλη (HDL), που εντοπίζεται αυξημένη με την συστηματική κατανάλωση κρασιού. Συγχρονική μελέτη επισημαίνει πως μόνο οι καταναλωτές μέτριας ποσότητας κρασιού ημερησίως, και όχι μπύρας ή οι απέχοντες, είχαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα HDL (29). Αντίστοιχα, σε κλινική μελέτη επιβεβαιώθηκε η παρατήρηση, αναδεικνύοντας πως οι συμμετέχοντες μέτριας κατανάλωσης κρασιού (άνδρες 38,3γρ. και γυναίκες 25,5 γρ. αιθανόλης), αύξησαν τα επίπεδα της HDL κατά 11-16%, δράση που αποδίδεται στην αιθανόλη αφού ο χυμός σταφυλιού, φάνηκε να μην έχει δράση στα επίπεδα της HDL (30), παρατήρηση που επιβεβαιώνουν παλαιότερες μελέτες που συνέδεσαν την αιθανόλη με αύξηση της HDL, ήδη από την δεκαετία του 1970, και εντοπίζεται με συνέπεια στην πιο πρόσφατη βιβλιογραφία (31). Αντίστοιχα, συνδέεται με αύξηση της Απολιποπρωτεΐνης (Apo) A-I και Apo A-II, αλλά αμφιλεγόμενα παρουσιάζονται τα δεδομένα για τις υπόλοιπες λιποπρωτεΐνες του πλάσματος (32). Επίσης, η αναφερόμενη κλινική μελέτη επιβεβαίωσε και την μείωση των επιπέδων ινωδογόνου, που όπως αναφέρθηκε, επίσης συνδέεται με παρατηρήσεις παλαιότερης μελέτης για επίδραση της αιθανόλης (18).

Μία ακόμα ιδιαίτερα σημαντική μελέτη παρέμβασης που επιβεβαιώνει το όφελος της αύξησης της HDL, μεταξύ των υπόλοιπων ευρημάτων της, είναι η κλινικής μελέτης CASCADE (CArdiovaSCulAr Diabetes & Ethanol) των Gepner et al. (2015), στην οποία συμμετείχαν 224 ασθενείς με ελεγχόμενο ΣΔ II που απείχαν από το αλκοόλ, σε παρέμβαση που διήρκησε 2 χρόνια. Η συγκεκριμένη μελέτη είχε διαμορφώσει τρεις ομάδες, την ομάδα κόκκινου κρασιού, την ομάδα λευκού κρασιού και την ομάδα ελέγχου με την κατανάλωση νερού, όπου ανάλογα την ομάδα που άνηκαν κατανάλωναν 150ml του αντίστοιχου ποτού. Συγκριτικά με τα επίπεδα πριν την παρέμβαση, το κόκκινο κρασί επέφερε αύξηση της HDL και ομοίως της Apo A, μείωση για την χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη-χοληστερόλη (LDL) και τα τριγλυκερίδια,

με το κόκκινο κρασί να αποτελεί την μόνη ομάδα με σημαντική συμβολή κατά δεικτών μεταβολικού συνδρόμου, ενώ επίσης συνδέθηκε με καλύτερη ποιότητα ύπνου.

Παράλληλα, ένα ακόμα στοιχείο που ανέκυψε από την μελέτη αφορούσε τον γλυκαιμικό έλεγχο, όπου παρατηρήθηκε ζήτημα διατομικότητας μεταξύ των εθελοντών η οποία αποδόθηκε σε διαφορετικές μορφές του γονιδίου της αλκοολικής αφυδρογονάσης. Συγκεκριμένα, οι εθελοντές που εντοπίστηκαν με το αλληλόμορφο της αλκοολικής αφυδρογονάσης, το *ADH1B*2* και ήταν φορείς του *ADH1B*1*, καλούνταν αργού μεταβολισμού της αιθανόλης, ενώ όσοι ομοζυγωτικά έφεραν *ADH1B*2* ήταν ταχέως μεταβολισμού. Η περίπτωση των εθελοντών αργού μεταβολισμού παρουσίαζαν σημαντικό όφελος όταν κατανάλωναν συστηματικά κρασί. Συγκρίνοντας τους δύο φορείς αλληλόμορφων (*ADH1B*2*- *ADH1B*1* έναντι *ADH1B*2*-*ADH1B*2*) για την επίδραση του κόκκινου κρασιού προς εκείνης του νερού, η ομάδα αργού μεταβολισμού εντοπίστηκε με χαμηλότερη γλυκόζη νηστείας, χαμηλότερη αντίσταση στην ινσουλίνη (HOMA-IR) και HbA1c. Αντίστροφα όμως, οι ομοζυγώτες με *ADH1B*2* καταναλωτές κρασιού, δηλαδή οι ταχέως μεταβολισμού, αν και δεν είχαν ανάλογα οφέλη στον γλυκαιμικό έλεγχο, παρουσίασαν σημαντικά μειωμένη διαστολική ΑΠ και μία αντίστοιχη τάση μείωσης της συστολικής ΑΠ. Επίσης, εντοπίστηκαν σημαντικές διαφορές στα οφέλη μεταξύ λευκού και κόκκινου κρασιού, γεγονός που υποδεικνύει ότι τα οφέλη που παρέχουν είναι ανεξάρτητα της δράσης της αλκοόλης (33). Σε κάθε περίπτωση τα δεδομένα της μελέτης δείχνουν όφελος της μέτριας κατανάλωσης κρασιού σε ρυθμισμένους ασθενείς ΣΔ II, παρά το ζήτημα διατομικότητας στην επίδραση του.

Εστιάζοντας στην επίδραση της μέτριας κατανάλωσης κόκκινου κρασιού (<30γρ. αιθανόλης ημερησίως) στα επίπεδα ινσουλινοαντίστασης, οι μελέτες τάσσονται υπέρ οφέλους με την συστηματική κατανάλωση. Μία κλινική μελέτη διασταυρούμενης παρέμβασης, με 67 άνδρες υψηλού κινδύνου για CVD, χορήγησε 272ml κόκκινο κρασί (798mg πολυφαινολών) ή 272ml κόκκινο κρασί που είχε αφαιρεθεί η αλκοόλη (μη αλκοολούχο κρασί- 798mg πολυφαινολών) ή 100ml τζιν. Για την ομάδα του κρασιού και του μη αλκοολούχου κρασιού, το HOMA-IR και τα επίπεδα ινσουλίνης μειώθηκαν σημαντικά συγκριτικά με την κατάσταση έναρξης της παρέμβασης. Επιπλέον, μόνο στην ομάδα με το κόκκινο κρασί εντοπίστηκε μείωση των επιπέδων LDL και της αναλογίας LDL/HDL. Τέλος, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων HDL και της Apo A-II μόνο στην ομάδα με το κόκκινο κρασί και το τζιν,

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

υποδηλώνοντας ότι αυτή η δράση οφείλετε στην αιθανόλη, όπως έχει επισημανθεί (34). Πέραν της συγκεκριμένης μελέτης, τα δεδομένα δράσης του κρασιού στην βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου δεν παρουσιάζουν συνέπεια (32).

Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η κατανάλωση κρασιού παρέχει πολυδιάστατα οφέλη που οδηγούν στην μείωση του κινδύνου για CVD. Το βασικό ερώτημα που προκύπτει επομένως είναι σε ποια συστατικά του κρασιού οφείλεται η δράση αυτή.

1.4 Διαφορετική σύσταση αλκοολούχων ποτών - Σύσταση κρασιού

Ο όρος «ποιότητα» του αλκοόλ δεν περιγράφεται με σαφήνεια στην βιβλιογραφία, καθώς η εκάστοτε επιστήμη που παραθέτει τον όρο, ακολουθεί διαφορετική σημασία. Στην προσέγγιση από πλευράς δημόσιας υγείας αναφέρεται ως ο κίνδυνος παρουσίας τοξικών ενώσεων (35).

Υπό το πρίσμα της ποιότητας ενός αλκοολούχου ποτού βάση άλλων διατροφικών ουσιών που περιέχονται σε αυτό, υπάρχει αρκετά μεγάλη ποικιλία προϊόντων. Σε βιομηχανικό επίπεδο παράγονται διάφορα είδη αλκοολούχων ποτών που διαφέρουν σημαντικά ως προς την σύστασή τους, όπως είναι χαρακτηριστικά το κρασί, η μπίρα και το κινέζικο κρασί από ρύζι, αλλά και τα αλκοολούχα ποτά απόσταξης, όπως το ουίσκι, το ρούμι και το τσίπουρο. Έχει εντοπιστεί πως τα αλκοολούχα ποτά, έχουν πάντα ως βάση το νερό και την αιθανόλη, με ποικιλία στους αλκοολικούς βαθμούς που φέρουν, αλλά και ως το πολύπλοκο δίκτυο ουσιών που περιέχουν, το οποίο εκτιμάται πως ξεπερνά τις 1300 ουσίες, σε μικρές ποσότητες ή και ίχνη. Τέτοιες ουσίες μπορεί να είναι οργανικά οξέα και αλδεΐδες, ή ακόμα και συντηρητικά και χρωστικές που προστέθηκαν σκόπιμα. Η ανάλυση της πλειοψηφίας αυτών των ουσιών που βρίσκονται σε ελάχιστες ποσότητες, γίνεται συνήθως με εργαλεία όπως με Φασματοφωτομετρία Υπεριώδους-Ορατού (UV-Vis), Αέρια χρωματογραφία (GC), Υγρή χρωματογραφία (LC), Φασματομετρία μάζας (MS), Χρωματογραφία Χάρτου και η Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) (36).

Ανάλογα με το εκάστοτε αλκοολούχο ποτό παρουσιάζονται διαφορετικού τύπου ουσίες, με ένα μέρος εξ αυτών να ονομάζονται φυτοχημικά, που παρότι εντοπίζονται σε περιορισμένες ποσότητες, προσδίδουν στο τρόφιμο λειτουργικές ιδιότητες, με σαφή ευεργετική επίδραση στην υγεία του καταναλωτή. Ειδικότερα τα αλκοολούχα ποτά που

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

αποτελούν αμιγώς προϊόντα ζύμωσης, όπως είναι χαρακτηριστικά το κρασί και η μπύρα, παρουσιάζουν διευρυμένη ποικιλία ενώσεων που υπάγονται στα φυτοχημικά. Κάποια σημαντικότερα εξ αυτών είναι η Ρεσβερατρόλη, οι Τανίνες, οι Ανθοκυανίνες, η Ναρινγενίνη και οι Κατεχίνες (37). Έτσι, ένα σημαντικό ζήτημα ποιότητας που τίθεται αφορά το είδος του αλκοολούχου ποτού, καθώς είναι πιθανό η διαφορετική σύσταση του ποτού, ως προς τον αλκοολικό βαθμό και τις ουσίες που περιέχει, να φέρει διαφορετικές επιδράσεις στην υγεία.

Η σύσταση του κρασιού είναι αποτέλεσμα του σταφυλιού που επιλέγεται, της διαδικασίας ζύμωσης του γλεύκους και της πιθανής παλαίωσης. Το κόκκινο κρασί, στο στάδιο παραγωγής του γλεύκους, παραμένει μεγαλύτερο χρόνο σε επαφή με τα στέμφυλα έναντι του λευκού, ενώ συνήθως υπόκειται σε παλαίωση επιμηκύνοντας το χρόνο ζύμωσης του. Η παραμονή των σκούρων σταφυλιών με τα στέμφυλα για την παραγωγή κόκκινου κρασιού, πέραν του χρώματος που αποκτά, διαφοροποιείται γευστικά και αυτό ιδίως ως αποτέλεσμα των τανινών που περνούν στο γλεύκος, που μαζί με άλλα μόρια οδηγούν στην παραγωγή κρασιού, σημαντικά διαφοροποιημένου στην σύσταση του από το λευκό κρασί (1). Ως προς τον προσδιορισμό του εμπλουτισμού που παρέχουν τα στέμφυλα στο κόκκινο κρασί, τα στέμφυλα περιέχουν κατά βάση φαινολικές ενώσεις, και συγκεκριμένα ανθοκυανίνες, τανίνες, φλαβόνες και φαινολικά οξέα (38). Στον **Πίνακα 1.1** παράτίθεται η βασική σύσταση του κρασιού. (39).

Πίνακας 1.1. Ο πίνακας παρουσιάζει τα βασικά συστατικά που εντοπίζονται στο κρασί (40).

Βασικά συστατικά	Επιμέρους συστατικά
Νερό (80-85%)	
Οργανικά συστατικά	
	Οργανικά οξέα
	Αλκοόλες (9-15%)
	Αρωματικές ενώσεις
	Σάκχαρα
	Πολυσακχαρίτες
	Φαινολικές ενώσεις
	Αζωτούχες ενώσεις
	Ένζυμα
	Βιταμίνες
Ανόργανα συστατικά	
	Ανιόντα: Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , F^- , Br^- , I^- κ.α.
	Κατιόντα: K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^+ , Al^{3+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} κ.α.

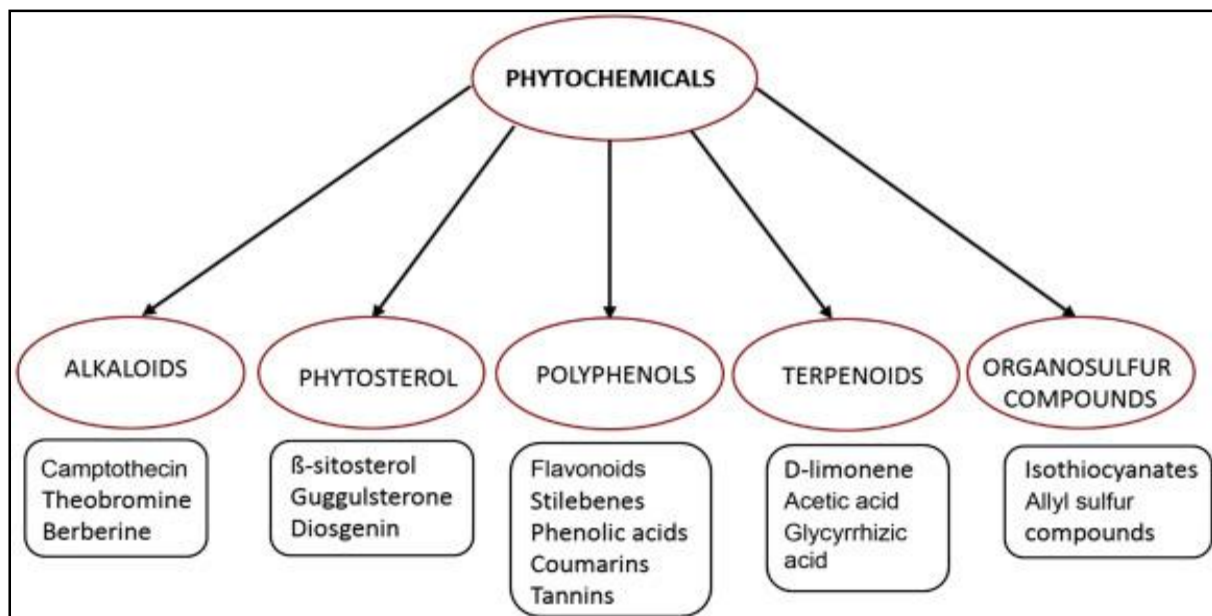
Οι φαινολικές ενώσεις, που αποτελούν κατηγορία φυτοχημικών, είναι ένα ιδιαίτερα μελετώμενο θέμα τις τελευταίες δεκαετίες, καθώς συνδέθηκαν με σημαντικά οφέλη στην ανθρώπινη υγεία. Στην βιβλιογραφία, με τον όρο «φυτοχημικά» καλούνται ουσίες φυτικής προέλευσης με αποδεδειγμένη ευεργετική επίδραση στην ανθρώπινη υγεία, όπου οι χαρακτηριστικές κατηγορίες είναι τα Φαινολικά συστατικά, με τις Πολυφαινόλες, τα Τερπενοειδή, τα Καροτενοειδή, οι Σαπωνίνες, οι Φυτοστερόλες και τα Αλκαλοειδή (**Εικόνα 3**).

Φυσιολογικά, τα φυτοχημικά απαντώνται στα φυτά κατέχοντας διάφορους ρόλους ως δευτερογενείς μεταβολίτες, των οποίων η παρουσία διαφέρει ποσοτικά και ποιοτικά μεταξύ των τροφίμων φυτικής προέλευσης (41,42). Ο βιοδραστικός τους ρόλος στον ανθρώπινο οργανισμό συνδέεται με πολλαπλές επιδράσεις που συνηθέστερα χαρακτηρίζονται από αντιοξειδωτικά αποτελέσματα με ρυθμιστικό ρόλο σε αντιοξειδωτικά ένζυμα, επωφελώντας με αυτό τον τρόπο στην διατήρηση του κατάλληλου ισοζυγίου οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων, δρώντας προστατευτικά κατά του οξειδωτικού στρες. Η παρουσία οξειδωτικού στρες είναι

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

ιδιαίτερα επιβλαβής, με οξειδωτικές βλάβες σε λιπίδια, πρωτεΐνες και στο DNA. Τέτοιου είδους καταστροφές επάγουν καρδιαγγειακές επιπλοκές, μεταβολικό σύνδρομο, νευροεκφυλιστικά νοσήματα, χρόνιες φλεγμονές, διαβήτη και καρκινογένεση (43).

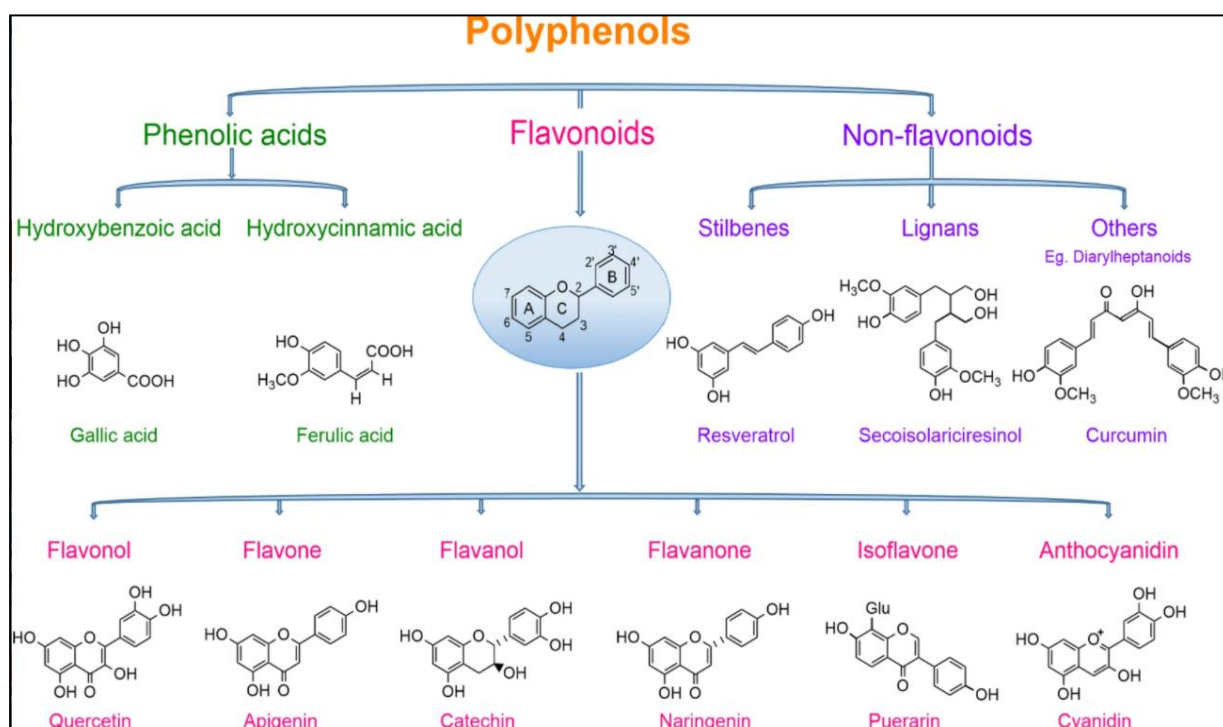
Πρόσθετα, αρκετά φυτοχημικά έχουν επιπλέον αντικαρκινική και χημειοπροστατευτική δράση επηρεάζοντας αρκετά εντοπισμένα μονοπάτια μεταγωγής σήματος, όπως είναι η ενεργοποίηση μηχανισμών απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων. Από μία άλλη οπτική, θετικά αποτελέσματα παρουσιάζονται και από την αντιμικροβιακή δράση κάποιων φυτοχημικών κατά διαφόρων λοιμώξεων, όπου στο μέλλον ενδεχομένως να μπορούσε να αποτελέσει μέτρο αντιμετώπισης του φαινομένου της αντίστασης παθογόνων μικροοργανισμών στα υπάρχοντα αντιβιοτικά (44,45).



Εικόνα 3. Στο παρόν διάγραμμα παρουσιάζεται η κατηγοριοποίηση των βασικότερων τάξεων διαιτητικών φυτοχημικών (46).

Εστιάζοντας στις φαινολικές ενώσεις του κρασιού, προέρχονται πρωτίστως από το σταφύλι, αλλά και σε σημαντικό βαθμό από την διαδικασία της ζύμωσης, υπό την διαδικασία μεταβολισμού των σακχάρων του σταφυλιού, και της παλαίωσης λόγω της μεταφοράς ενώσεων από τον εκάστοτε τύπο ξύλου που δομεί το βαρέλι αποθήκευσης, στο κρασί (47). Σε χημικό επίπεδο οι φαινόλες είναι ενώσεις με ένα ή δύο αρωματικούς δακτύλιους. Οι βασικότεροι δευτερογενείς μεταβολίτες των φαινολών είναι οι “Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

Πολυφαινόλες, οι οποίες παρουσιάζουν τα βασικά χαρακτηριστικά φαινολικών ενώσεων, σε παραλλαγές που επιτρέπουν τον διαχωρισμό σε επιμέρους ομάδες. Οι πιο σημαντικές διαφοροποιήσεις που παρουσιάζουν είναι εκείνες της μεθυλίωσης, της γλυκοζυλίωσης, της οξείδωσης και της υδροξυλίωσης. Σε επίπεδο ταξινόμησης, χωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες, τα Φαινολικά οξέα, τα Φλαβονοειδή και τα μη-Φλαβονοειδή, όπως παρουσιάζονται στην **Εικόνα 4** (48).

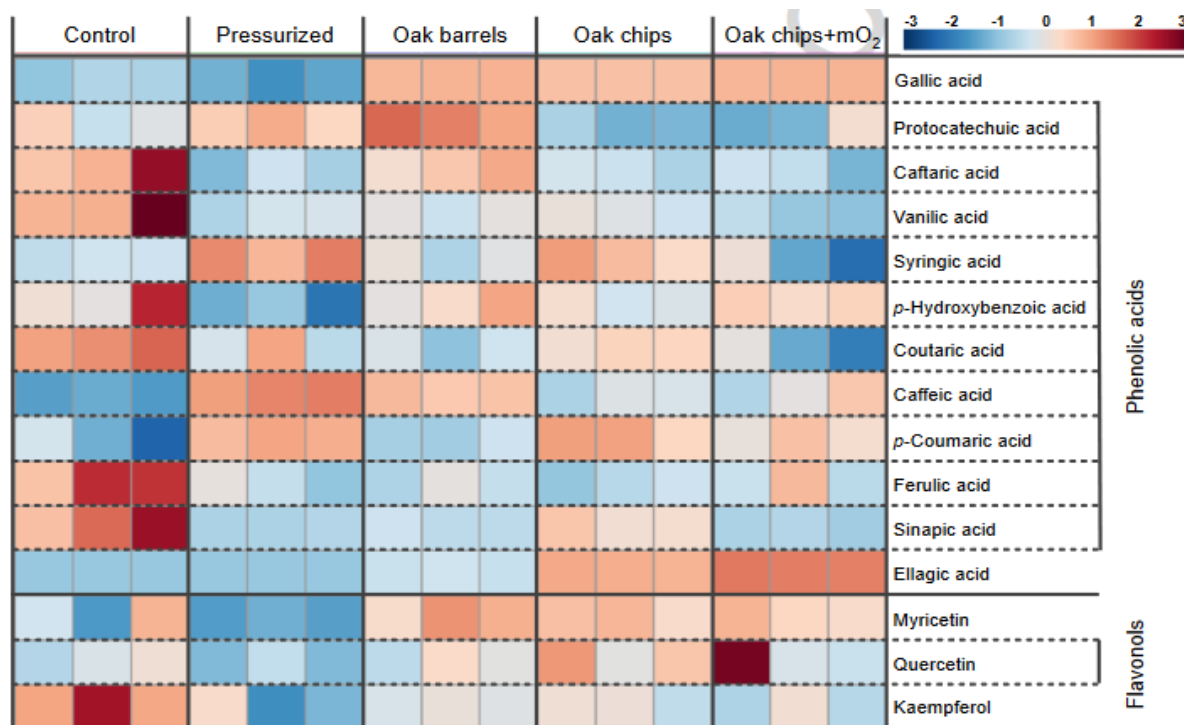


Εικόνα 4. Ανάλυση της τάξης των Πολυφαινολών (48).

Ο βασικότερος εκπρόσωπος φυτοχημικών στο κρασί είναι οι Πολυφαινόλες που εμφανίζονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στο κόκκινο κρασί. Το σταφύλι περιέχει κυρίως προανθοκυανιδίνες, ανθοκυανίνες, ενώ κατόπιν εντοπίζονται και άλλα φλαβονοειδή, φλαβονόλες και φλαβόνες, καθώς και φαινολικά οξέα και Μη φλαβονοειδή, όπως η υψηλού ερευνητικού ενδιαφέροντος Ρεσβερατρόλη και παράγωγα της. Περνώντας από την σύσταση του σταφυλιού στο στάδιο της οينوποίησης, ήδη από την διαδικασία παραγωγής του γλεύκους, με την έκθλιψη των σταφυλιών ξεκινούν ενζυμικές και μη ενζυμικές μεταβολικές διεργασίες, και από εκεί στην ζύμωση, για να δημιουργηθεί ένα ακόμα πολυπλοκότερο δίκτυο πολυφαινολών στο κρασί έναντι της αρχικής πρώτης ύλης (49).

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

Συνυπολογίζοντας λοιπόν, τις διαφορετικές ποικιλίες σταφυλιών, την επιλογή μεθόδου οινοποίησης και την παλαίωση του κρασιού, ειδικότερα σε επίπεδο πολυφαινολών, υπάρχουν πολύ σημαντικές διαφοροποιήσεις. Σε μία περίπτωση, κατόπιν παλαίωσης ενός έτους, κόκκινα Πορτογαλικά κρασιά παρουσίασαν ένα προφίλ πολυφαινολών που περιείχε κατά βάση Πολυμερή προανθοκυανιδινών, ακολουθούσαν ολιγομερή, και κατόπιν Κατεχίνες (50). Άλλη μελέτη επίσης εκτίμησε ως πολυφαινόλες σε κόκκινο κρασί, τις προανθοκυανιδίνες, τις κατεχίνες και το γαλλικό οξύ (51). Αντίστοιχα, μελέτη που επεδίωξε να εξετάσει πως οι διαφορετικοί μέθοδοι παλαίωσης κρασιού επηρεάζουν το φαινολικό προφίλ του, έδειξε σημαντικές διαφοροποιήσεις όπως παρουσιάζεται στην **Εικόνα 5** (52).



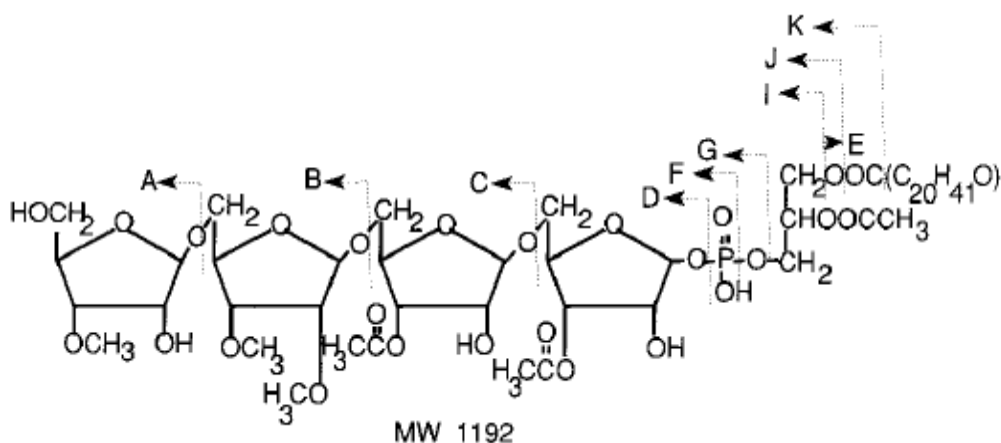
Εικόνα 5. Στο θερμικό χάρτη διακρίνεται το διαφορετικό προφίλ συγκεντρώσεων πολυφαινολών μεταξύ παλαιωμένων κρασιών υπό διαφορετικές μεθόδους (52).

Ως προς την συνολική εικόνα, οι Φαινολικές ενώσεις που κατά βάση αναμένεται να απαντώνται σε ποικίλες συγκεντρώσεις μεταξύ κρασιών είναι από τα Φλαβονοειδή, Φλαβονόλες (Μυρικετίνη, Κερκετίνη, Καμφερόλη και Ρουτίνη), Φλαβανόλες (Κατεχίνη και Επικατεχίνη), Ανθοκυανίνες (Μαλβιδίνη, Πετουινιδίνη, Πεονιδίνη, Δελφινιδίνη και Κυανιδίνη), Φλαβανόνες (Ναρινγενίνη) και μόνο στο κόκκινο κρασί, μικρές ποσότητες

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

Φλαβονών (Απιγενίνη). Στις άλλες κατηγορίες Πολυφαινολών του κρασιού βρίσκονται τα Φαινολικά οξέα που υπάγονται το Υδροξυκινναμικό οξύ (Καφεϊκό και Ταρταρικό οξύ) και το Υδροξυβενζοϊκό οξύ (Ελεύθερες μορφές των p- Υδροξυβενζοϊκού, Γαλλικού, Βανιλικού, Γεντισικού, Συρινγικού, Σαλικυλικού και Προτοκατεχουικού οξέος). Τέλος, στα μη- Φλαβονοειδή του κρασιού εντοπίζονται και τα Στιλβένια, με μεγαλύτερο ενδιαφέρον ως προς την Ρεσβερατρόλη, που συνήθως εντοπίζεται στο κόκκινο κρασί (53).

Εκτός από τα φαινολικά συστατικά, τα κρασιά περιέχουν και άλλα βιοδραστικά μικρο-συστατικά τα οποία ανήκουν στα κλασικά λιποειδή, δηλαδή φωσφο- γλυκο- λιποειδή με σκελετό γλυκερόλης τα όποια έχει βρεθεί ότι εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη και αντιθρομβωτική δράση (54).



Εικόνα 6. Χαρακτηριστική δομή φωσφο-γλυκολιποειδούς στο κόκκινο κρασί.

1.5 Μελέτες παρέμβασης με κρασί και επίδραση σε καρδιομεταβολικούς δείκτες

Τα ερευνητικά δεδομένα επιδημιολογικών μελετών συνηγορούν πως το κρασί μειώνει τον κίνδυνο για CVD. Αντιστοίχως, σημαντικός αριθμός κλινικών μελετών καταδεικνύει την ωφέλιμη μακροπρόθεσμη επίδραση του κρασιού σε σχετικούς με τα CVD δείκτες, ενώ παράλληλα επιδιώκεται να αποσαφηνιστεί κατά πόσο τα οφέλη είναι αποτέλεσμα της αιθανόλης ή μικρο- συστατικών του κρασιού. Έτσι, στις περισσότερες μελέτες παρέμβασης εξετάζεται και η επίδραση ενός ποτού απόσταξης ή κρασί που

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

έχει απομακρυνθεί η αιθανόλη. Θα πρέπει να επισημανθεί για τις μελέτες που κάνουν χρήση κρασιού που έχει αφαιρεθεί η αιθανόλη, πως στην απουσία αιθανόλης η βιοδιαθεσιμότητα κάποιων βιοδραστικών συστατικών του κρασιού μεταβάλλεται (32).

Σε μία πρόσφατη ανοιχτή, διασταυρούμενη τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη μελέτη με 38 εθελοντές, που αξιολογήθηκαν ως υψηλού κινδύνου για CVD, σχημάτισε παρέμβαση με 30 γραμμάρια ημερήσιας πρόσληψης αιθανόλης μέσα από παλαιωμένο λευκό κρασί (255ml) ή τζιν (92ml), για διάστημα 3 εβδομάδων. Η μελέτη αποσκοπούσε στην εκτίμηση της επίδρασης του κρασιού σε βιοδείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου. Μετά από 3 εβδομάδες παρέμβασης, το παλαιωμένο λευκό κρασί οδήγησε σε αύξηση των πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων (EPCs), τα οποία προστατεύουν από CVDs, καθώς προσδένονται στα πληχθέντα ενδοθηλιακά κύτταρα υποστηρίζοντας την αποκατάσταση και την ακεραιότητα του ενδοθηλίου, ενώ επίσης αύξησε και την HDL. Σε άλλους δείκτες των CVD, οδήγησε σε μείωση της ΑΠ, των μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο ICAM και VCAM, της ΑΠ, των IL-8 και IL-18, την IFN-γ, καθώς και των υποδοχέων στα Τ-Λεμφοκυττάρων, CD-40 και CD-31 που επάγουν την παραγωγή κυτταροκινών, καθώς και των υποδοχέων των μονοκυττάρων Lfa-1, Mac-1, CD-40, VLA-4, CD-31, CD36 και CCR2. Τζιν και κρασί μείωσαν από κοινού την IFN- γ, τα CD-40 των Τ-Λεμφοκυττάρων, και υποδοχέων των μονοκυττάρων Lfa-1, Mac-1, CD-40, VLA-4, CD-31, όπου με εξαίρεση τα CD-40 των Τ- Λεμφοκυττάρων και τα Lfa-1 και Mac-1 των μονοκυττάρων, η ομάδα του κρασιού επέφερε σημαντικά μεγαλύτερες μειώσεις σε όλους τους δείκτες έναντι του τζιν. Αντίστοιχα, και τα δύο ποτά αύξησαν τον χρόνο προθρομβίνης, οπότε μειώθηκε η ταχύτητα πήξης του αίματος, όμως το κρασί είχε σημαντικά μεγαλύτερη επίδραση. Επίσης, το τζιν αύξησε την γλυκόζη νηστείας, την LDL, την Apo A, αλλά και την Apo B, παρότι δεν αύξησε σημαντικά την HDL (51).

Η ερευνητική ομάδα των Chiva-Blanch et al., στην κλινική μελέτη που αναφέρθηκε με την χορήγηση άνευ αλκοόλης κόκκινου κρασιού, εντόπισε πέραν των αναφερομένων ευρημάτων και βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου, ανεξάρτητα από την αιθανόλη, εύρημα που παραπέμπει το όφελος στα βιοδραστικά μικρο-συστατικά του κρασιού (34).

Αντίστοιχα σε παράλληλη μελέτη της ίδιας ερευνητικής ομάδας, επεδίωξαν να αξιολογήσουν συγκεκριμένα την επίδραση των μικρο-συστατικών του κρασιού στην

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

ΑΠ, καθώς και να εξετάσει ως πιθανό σχετικό μηχανισμό, δράση πρὸς στο Μονοξειδίου του Αζώτου (NO). Διαπιστώθηκε μείωση των επιπέδων διαστολικής και συστολικής ΑΠ, με παράλληλη αύξηση των επιπέδων NO, καταλήγοντας στο συμπέρασμα πως τα μικρο-συστατικά του κρασιού, και όχι η αιθανόλη, μπορούν να ωφελήσουν κατά της υπέρτασης, μέσω αύξησης του NO (55).

Ευρύτερα τα βιοχημικά μονοπάτια που επηρεάζει το κρασί μέσω της αιθανόλης ή μικρο-συστατικών του έχει ερευνηθεί εκτενέστερα μέσα από δεδομένα μελέτες σε πειραματόζωα, από τις οποίες φαίνεται ότι η μέτρια κατανάλωση αιθανόλης και κρασιού ενεργοποιεί κάποια αντιφλεγμονώδη και αντιθρομβωτικά μονοπάτια, όμως αυτά τα μονοπάτια κατά κύριο λόγο διαφέρουν μεταξύ τους. Έτσι, παρότι οι μελέτες σε πειραματόζωα δεν μπορούν να εκπροσωπήσουν απόλυτα την επίδραση στον άνθρωπο, φαίνεται πως αυτές οι παρατηρούμενες αντιφλεγμονώδεις και αντιθρομβωτικές δράσεις του κρασιού είναι αποτέλεσμα κυρίως των μικρο-συστατικών που περιέχει και όχι τόσο της αιθανόλης (56,57). Συνδυαστικά και με ευρήματα μελετών που παρατέθηκαν, το συγκεκριμένο συμπέρασμα υποστηρίζεται από αρκετές μελέτες παρατήρησης, παρέμβασης και μεταanalύσεις αυτών, συνηγορώντας πως συγκεκριμένα το κρασί έναντι των αλκοολούχων ποτών απόσταξης έχει ισχυρότερη δράση και υπό διαφορετικούς μηχανισμούς κατά των CVD (6,9,33,34).

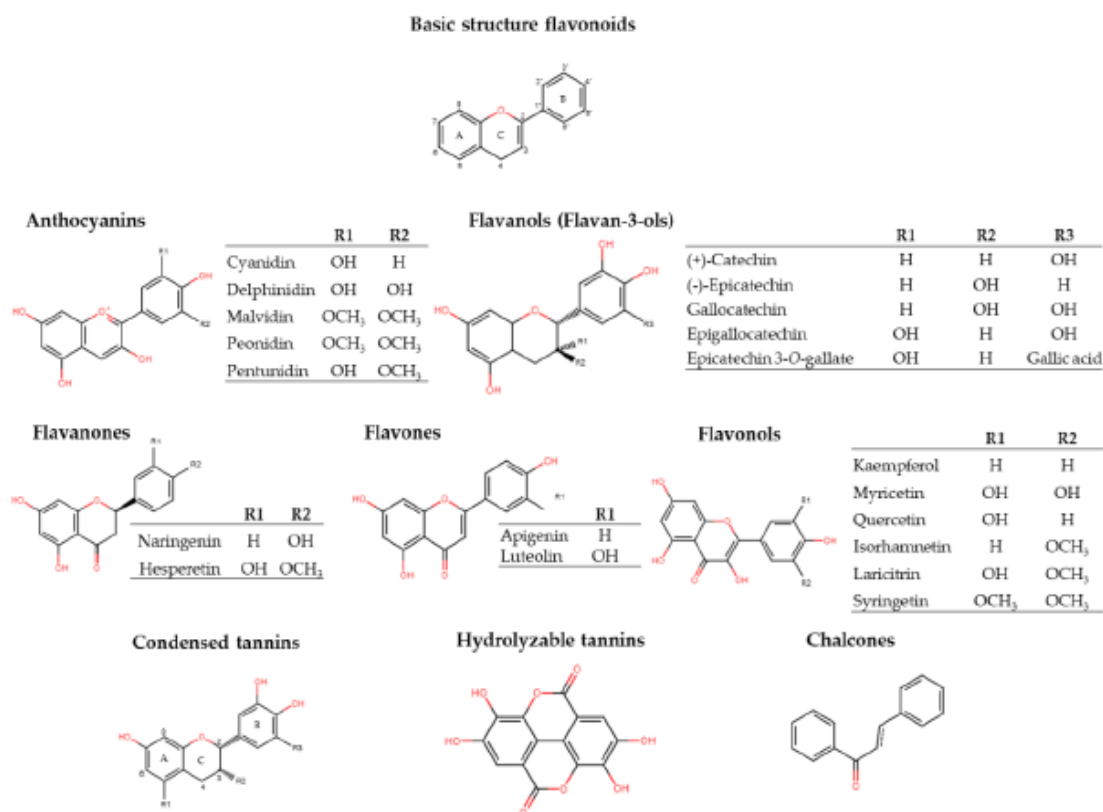
Το επόμενο ερώτημα που προκύπτει είναι κατά πόσο τα μικρο-συστατικά του κρασιού, θα μπορούσαν να υποστηρίξουν αυτή την σχέση οφέλους.

1.6 Καρδιο-προστατευτικές δράσεις των σημαντικότερων πολυφαινολών του κρασιού

1.6.1 Φλαβονοειδή

Όσον αφορά την κατηγορία των φλαβονοειδών του κρασιού, με εκπροσώπους όπως οι Κερκετίνες, Τανίνες και Κυανιδίνες (**Εικόνα 7**), σημαντικός αριθμός μελετών παρουσιάζει επιδράσεις τους που καταλήγουν σε όφελος στην ανθρώπινη υγεία, με την πλειονότητα των μελετών όμως να είναι *in vitro*. Τα οφέλη στην υγεία που έχουν αναγνωριστεί, αφορούν αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική, αντιική και *“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”*

αντιαλλεργική τους δράση. Ειδικότερα λόγω της αντιοξειδωτικής και αντιφλεγμονώδους δράσης τους, παρατηρείται έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον για την χρήση τους στην αντιμετώπιση χρόνιων φλεγμονωδών νοσημάτων (58).



Εικόνα 7. Δομές των φλαβονοειδών του κρασιού (59).

Φλαβονόλες

Από τους σημαντικότερους εκπροσώπους των φλαβονολών στο κρασί είναι η κερκετίνη και κατόπιν η καμφερόλη. Οι δύο φλαβονόλες, και κυρίως η κερκετίνη, έχει φανεί πως αναστέλλουν την ενεργοποίηση των μεταγραφικών παραγόντων NF-κΒ και STAT-1, που αποτελούν παράγοντες γονιδιακής έκφρασης του iNOS, με αποτέλεσμα η πρόσληψη των φλαβονολών να επηρεάζει δοσο-εξαρτώμενα τα επίπεδα των NO (60). Παράλληλα, η αναστολή των συγκεκριμένων μεταγραφικών παραγόντων έχει σαν αποτέλεσμα την μειωμένη έκφραση της Κυκλοοξυγενάσης (COX)-2 και των προφλεγμονωδών κυτταροκινών ιντερλευκίνης (IL)-1β, IL-6 και του Παράγοντα Νέκρωσης Όγκων (TNF)-α, έχοντας άμεση επίδραση και στα επίπεδα της Ιντερφερόνης (IFN)-γ. Η μειωμένη έκφραση του COX-2, σε συνδυασμό με την

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

αναστολή που προκαλεί η κερκετίνη στο συγκεκριμένο ένζυμο, προσδένοντας σε αυτό με την πλευρά της κατεχολικής ομάδας A, περιορίζει σημαντικά την παραγωγή Προσταγλαδινών E2 (PGE2), καταστέλλοντας την φλεγμονώδη απόκριση. Η αντιφλεγμονώδης επίδραση της κερκετίνης και της καμφερόλης ενισχύεται συνυπολογίζοντας την μειωμένη παραγωγή των αναφερομένων κυτταροκινών που προκαλούν, αλλά και την αναστολή που φαίνεται πως επάγουν στην IFN- γ , στον TNF- α , την IL-1 β , την IL-6 και την IL-8 (58,61).

Άλλη μελέτη, προσθέτει πέραν της μείωσης των επιπέδων των iNOS και COX-2, και μείωση της CRP, μέσω αναστολής στον Nf- κ B σε Chang (HeLa) ηπατικά κύτταρα (62). Μάλιστα, στην περίπτωση αθλητών, συμπλήρωμα κερκετίνης (500mg) επέφερε μείωση της CRP μετά από δύο μήνες παρέμβασης (63).

Σε επίπεδο δεικτών ρίσκου για CVD, η κερκετίνη έχει φανεί πως παρεμποδίζει την συσσώρευση αιμοπεταλίων, προφυλάσσει την ακεραιότητα του ενδοθηλίου και προκαλεί μείωση της ΑΠ μέσω διαστολής απομονωμένων αγγείων (64). Σε διασταυρούμενη, διπλά τυφλή ελεγχόμενη, τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη με 93 εθελοντές υψηλού κινδύνου για CVD, όπου χορήγησε 150mg κερκετίνης ανά ημέρα για 6 εβδομάδες, εντόπισε μείωση της ΑΠ και των επιπέδων οξειδωμένης LDL, αλλά και μείωση της HDL, χωρίς όμως να παρατηρηθεί μεταβολή στις αναλογίες HDL:LDL και HDL:TG (65). Παράλληλα οι φλαβονόλες παρουσιάζουν οφέλη κατά νευροεκφυλιστικών νοσημάτων (πχ. Αλτσχάιμερ), καρκίνων, γαστρίτιδας, αλλεργιών, βακτηριακών λοιμώξεων και ιώσεων (64).

Φλαβανόλες και Προκυανιδίνες

Στις Φλαβανόλες συγκαταλέγονται τα μονομερή (+) κατεχίνες και οι (-) επικατεχίνες, με το ολιγομερές τους να είναι οι προκυανιδίνες, ενώ οι τανίνες αποτελούν την πολυμερισμένη μορφή τους. Βασικές διατροφικές τους πηγές είναι το κόκκινο κρασί, το κόκκινο σταφύλι, το κακάο και το πράσινο τσάι. Στα τρόφιμα προσλαμβάνονται, είτε ως μονομερή ή ολιγομερή, είτε συνδεδεμένα με γαλλικό οξύ, της κατηγορίας των φαινολικών οξέων, διαμορφώνοντας την επιγαλλοκατεχίνη (EGC), την επικατεχίνη γαλλικού εστέρα (ECG) και την επιγαλλοκατεχίνη γαλλικού εστέρα (EGCG).

Στους μηχανισμούς δράσης των φλαβανολών, εντοπίζεται και σε αυτή την περίπτωση αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδης και αντιθρομβωτική επίδραση, με οφέλη *“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”*

κατά των CVD. Κάποιες βασικές δράσεις που έχουν εντοπιστεί, αρχικά αφορούν, τον αντιοξειδωτικό τους ρόλο, που φαίνεται να ξεκινά με την δέσμευση ελευθέρων ριζών στον οργανισμό. Αντίστοιχα, σημαντική αντιφλεγμονώδης δράση των φλαβονολών εντοπίζεται με τον περιορισμό της δραστηριότητας της 15-Λιποξυγενάσης και την μείωση των επιπέδων των κυτταροκινών, Ιντερλευκίνη-1b (IL-1b) and IL-2. Στην ίδια κατεύθυνση, έχει φανεί πως οι κατεχίνες, επικατεχίνες και οι προκυανιδίνες B2 και B5 αναστέλλουν τον μεταγραφικό παράγοντα NF-κΒ, ο οποίος επάγει την έκφραση φλεγμονωδών και προ-θρομβωτικών μορίων (66).

Σε επίπεδο κλινικών μελετών σε ανθρώπους, κατά βάση εντοπίζεται η χορήγηση κατεχινών μέσω εκχυλισμάτων πράσινου τσαγιού. Μία μελέτη με 936 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, μετά από ένα χρόνο παρέμβασης, εντόπισε όφελος στο λιπιδαιμικό τους προφίλ, για την ολική χοληστερόλη, την LDL και των μη-HDL λιποπρωτεϊνών, ενώ όμως υπέρβαρες γυναίκες που λάμβαναν στατίνες είχαν σημαντική αύξηση των TG (67). Αντίθετα, μελέτη με 52 δραστήριους ηλικιωμένους, διάρκειας 14 εβδομάδων, με δόση 630,9mg έναντι αποχής, δεν εντόπισε σημαντικό όφελος σε δείκτες κινδύνου για CVD (68). Ομοίως μελέτη που συνέκρινε χαμηλή (100mg) με υψηλότερη δόση κατεχινών (400mg) σε 51 υγιείς ενήλικες, επίσης δεν εντόπισε όφελος σε παρέμβαση 9 εβδομάδων (69).

Ανθοκυανιδίνες

Πρόκειται για συμπυκνωμένες τανίνες, που εντοπίζονται σε πηγές όπως φρούτα, λουλούδια και ξηρούς καρπούς. Οι προανθοκυανιδίνες και οι ανθοκυανίνες αποτελούν ενδιάμεσα της βιοσύνθεσης των ανθοκυανιδινών. Πιο συχνά, σε τρόφιμα, απαντάται η προανθοκυανιδίνη, που φέρει την μεγαλύτερη βιοδραστικότητα. Ολιγομερή προανθοκυανιδινών, παρουσιάζουν διευρυμένο βιοδραστικό χαρακτήρα, έχοντας μεταξύ άλλων αντιοξειδωτικές, ανοσορυθμιστικές και αγγειοδιασταλτικές δράσεις, άρα και αντιθρομβωτική ικανότητα (70)

Σε επίπεδο μηχανισμού, οι προανθοκυανιδίνες έχουν την δυνατότητα να προσδένονται και να αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες. Συχνά, προσδένονται σε υπερδιεγερμένα ένζυμα επηρεάζοντας την δραστηριότητα τους, όπως ένζυμα σε

συνθήκες φλεγμονής. Θεωρείται πως μπορεί να δράσει ως αναστολέας πρωτεασών (70).

Οι ιδιότητες που περιγράφηκαν για τις προανθοκυανιδίνες, έχουν μελετηθεί κυρίως *in vivo* και *in vitro*, με την χρήση εκχυλισμάτων από φρούτα που αποτελούν πλούσιες πηγές τους. Από την πλευρά της αντιοξειδωτικής τους δράσης, κάποια μονοπάτια τους είναι μέσω εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών και με την απενεργοποίηση του NF-κΒ και MAPK στα επιθηλιακά κύτταρα των οφθαλμών, που υποστηρίζουν την πρόληψη του καταρράκτη. Η ανοσορυθμιστική δράση των προανθοκυανιδινών υποστηρίζεται από μελέτες σε τρωκτικά, όπου η ρυθμιστική τους επίδραση στον NF-κΒ στον ιππόκαμπο, επέφερε μείωση της υπερέκφρασης των COX-2 και του iNOS επαγόμενη από βακτηριακό λιποπολυσακχαρίτη (LPS) (70). Μία σημαντική κλινική μελέτη σε ανθρώπους, εξέτασε την επίδραση εκχυλίσματος σταφυλίου σε 53 υγιείς εθελοντές για 12 εβδομάδες. Δομήθηκαν οι ομάδες παρέμβασης με 200mg και 400mg εκχυλίσματος χυμού σταφυλίου, με υπολογισμένη την περιεκτικότητα τους σε προανθοκυανιδίνες, και η ομάδα ελέγχου που έλαβε εικονικό σκεύασμα. Διαπιστώθηκε ότι οι ομάδες παρέμβασης μείωσαν τα επίπεδα οξειδωμένης LDL, παρατήρηση που συνδέεται με μειωμένο κίνδυνο για CVD (71).

1.6.2 Μη Φλαβονοειδή

Στιλβένια

Ο βασικός εκπρόσωπος των στιλβένιων είναι η ρεσβερατρόλη, παρότι εμφανίζεται σε μικρές ποσότητες στο κόκκινο κρασί, αποτελεί ουσία με ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον για τον ρόλο της στα εντοπισμένα οφέλη που παρέχει το κόκκινο κρασί στην υγεία. Η ρεσβερατρόλη εντοπίζεται κυρίως στον φλοιό του σταφυλίου με αποτέλεσμα να απαντάται κατά βάση στο κόκκινο κρασί.

Η ρεσβερατρόλη αποτελεί ένα από τα πιο ερευνημένα φυτοχημικά, ως επακόλουθο της σύνδεσής του με το κόκκινο κρασί και την προστασία από CVD. Το συγκεκριμένο φυτοχημικό φαίνεται πως ωφελεί κατά των CVD μέσω της προστασίας

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

της LDL από οξείδωση, της παρεμπόδισης της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, και της επαγωγής της αγγειοδιαστολής (72).

Η ισχυρή αντιφλεγμονώδης δράση της ρεσβερατρόλης συνδέεται με πολλούς μηχανισμούς, με χαρακτηριστικότερες περιπτώσεις, την αναστολή της iNOS, την μείωση του ICAM-1 και του mRNA της IL-1β, καθώς και των TNF-α και IL-6 ως αποτέλεσμα της μειωμένης δράσης του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ. Μηχανιστικά, μεγάλο μέρος των παραπάνω επιδράσεων είναι αποτέλεσμα της απενεργοποίησης μεταγραφικών παραγόντων της φλεγμονώδους απόκρισης, που είναι το Janus Κινάση 1 (JAK1), η ρυθμιζόμενη από εξωκυτταρικά μηνύματα πρωτεϊνική κινάση (ERK) 1/2, η Κινάση του αμινοτελικού άκρου του c-Jun (JNK), και ο Μεταγωγέας σήματος και ενεργοποιητής μεταγραφής (STAT) -6. Ενώ, ακόμα, φαίνεται πως παρεμβαίνει στην λειτουργία του έμφυτου ανοσοποιητικού και της φλεγμονής, παρεμποδίζοντας την ενεργοποίηση των Toll- like υποδοχέων- 4 (TLR-4), καθώς και καταστέλλοντας την δράση του LPS που αποτελεί σημαντικό σηματοδότη για την εκκίνηση της φλεγμονώδους απόκρισης (73). Παράλληλα, η ρεσβερατρόλη έχει βρεθεί πως δρά ως αναστολέας του COX-2, με αποτέλεσμα να περιορίζεται η μετατροπή άραχιδονικού σε PGE2, άρα επιφέρει μείωση της υπάρχουσας φλεγμονής.

Ερευνητικά δεδομένα συνδέουν την ρεσβερατρόλη με δράσεις κατά δεικτών κινδύνου για CVD. Από τις περιορισμένες μελέτες σε ανθρώπους, μελέτη με 40 μετά-εμφραγματίες εθελοντές, διενήργησε διπλά τυφλή, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη κλινική μελέτη, διάρκειας 3 μηνών, παρέχοντας κάψουλα με 10mg ρεσβερατρόλη ημερησίως. Μετά το πέρας της παρέμβασης παρατηρήθηκε έναντι της έναρξης, πως η ομάδα ρεσβερατρόλης είχε αύξηση της αγγειοδιαστολής με τη ροή της βραχιόνιας αρτηρίας (FMD), εκφράζοντας την ενδοθηλιακή λειτουργικότητα, ενώ έναντι της ομάδας ελέγχου οι εθελοντές είχαν αύξηση στην ικανότητα διαστολής της αριστερής κοιλίας της καρδιάς. Σε βιοχημικούς δείκτες, βρέθηκε μείωση του ποσοστού επαγόμενης από το κολλαγόνο συσσώρευσης αιμοπεταλίων και μείωση της LDL (74).

Μετα-ανάλυση 282 συμμετεχόντων δεν επιβεβαιώνει κάποιο όφελος της συμπληρωματικής χορήγησης ρεσβερατρόλης στο λιπιδαιμικό προφίλ (75). Αντίστοιχα ως προς την CRP, μετα-ανάλυση εντόπισε σημαντικό όφελος σε δείγμα 613 συμμετεχόντων, όμως με ιδιαίτερα υψηλή ημερήσια δόση για διάρκεια τουλάχιστον 10 εβδομάδων, ενώ δεν εντόπισε όφελος για την υψηλής ευαισθησίας CRP (76).

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

Φαινολικά οξέα

Κλείνοντας, όσον αφορά τα φαινολικά οξέα του κρασιού, το υδρόξυκινναμικά οξέα, με βασικό εκπρόσωπο το καφεϊκό οξύ, και το υδρόξυβενζοϊκά οξέα, με το p-υδρόξυβενζοϊκό, το βανιλικό και το γαλλικό οξύ μεταξύ άλλων. Τα υδροξυκινναμινικά οξέα κυρίως απαντώνται στον καφέ, σε φρούτα και λαχανικά, ενώ κάποιες ποσότητες εντοπίζονται και στο κρασί όπως αναφέρθηκε. Αποτελούν απλές φαινολικές ενώσεις με περιορισμένα ερευνητικά δεδομένα όσον αφορά την επίδραση τους στην ανθρώπινη υγεία, καθώς πρόκειται για ουσίες με μικρή απορρόφηση, και ως εκ τούτου αναμενόταν περιορισμένη επίδραση έναντι άλλων ενώσεων. Παρόλα αυτά, πλέον προσελκύουν το ερευνητικό ενδιαφέρον, καθώς παρατηρήθηκε πως με την συμβολή μεταβολικών διεργασιών του μικροβιώματος, υποπροϊόντα του μεταβολισμού τους διαπερνούν τον εντερικό φραγμό (77).

Με τα περιορισμένα δεδομένα που εντοπίζονται, εστιάζοντας στην αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση των υδροξυκινναμινικών οξέων, και ειδικότερα του καφεϊκού οξέος που εντοπίζεται στο κρασί, έχουν απομονωθεί κάποιοι αντιφλεγμονώδεις μηχανισμοί δράσης. Μελέτη που εξέτασε την επίδραση της συμπληρωματικής χρήσης καφεϊκού οξέος σε ποντίκια που τους είχε προκληθεί ηπατοτοξικότητα από υψηλά επίπεδα φθορίου στον ορό του αίματος, εντόπισε ισχυρό αντιοξειδωτικό όφελος, και κατά προέκταση ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση του συμπληρώματος, καθώς και παρεμπόδιση της κυτταρικής απόπτωσης. Συγκεκριμένα, ισχυρές ενδείξεις δικαιολογούν αυτά τα οφέλη, μέσω της ρύθμισης της έκφρασης των NOX-4, p38aMAPK, Hsp60 και Hsp27 (77).

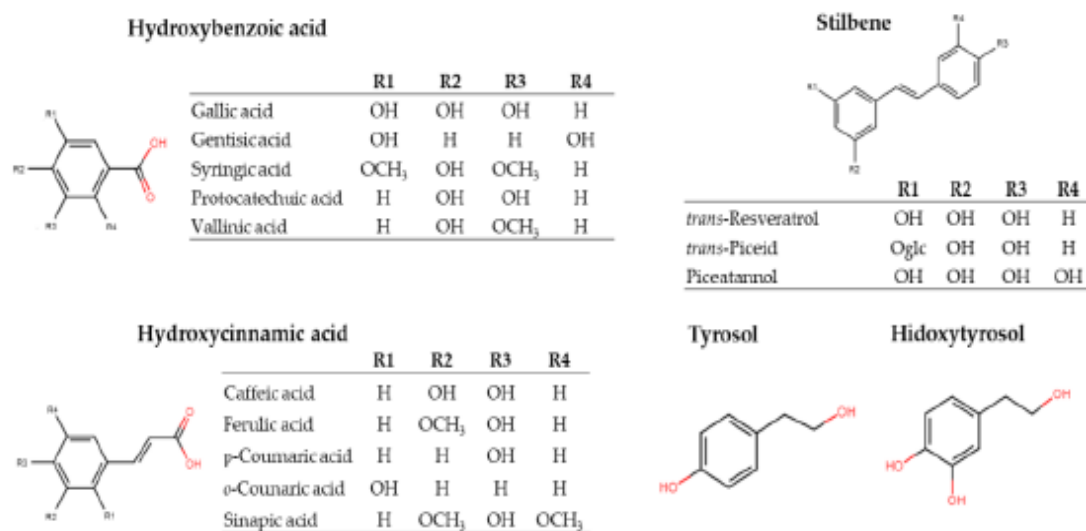
Το NOX-4 γονίδιο εκφράζει το ένζυμο οξειδάση του NADPH, ένα ένζυμο που απελευθερώνει ένα ηλεκτρόνιο από μόρια NADPH οδηγώντας στην παραγωγή ROS, O₂⁻ και H₂O₂. Το NOX-4 εντοπίζεται κυρίως στα νεφρά, καθώς και σε ενδοθηλιακά κύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα, αιμοποιητικά αρχέγονα κύτταρα, κερατινοκύτταρα, ινοβλάστες, οστεοκλάστες και νευρώνες, ενώ άλλες ισομορφές του εντοπίζονται και σε άλλους ιστούς (78,79).

Η p38a Κινάση ενεργοποιούμενη από μιτογόνα (p38aMAPK) αποτελεί επίσης γονίδιο με ισομορφές στον οργανισμό, το οποίο επάγεται από την φλεγμονή, αλλά και την επάγει με την βιοσύνθεση των κυτταροκινών IL-1β και TNF-α (80). Οι Πρωτεΐνες θερμικού σοκ 60 (Hsp60) και Hsp27 αποτελούν «σαπερονίνες», δηλαδή συνοδά μόρια για την κατάλληλη αναδίπλωση πρωτεϊνών, παράλληλα όμως κατέχουν και άλλους

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

βιοδραστικός ρόλους. Συγκεκριμένα, η Hsp60, όπως παρατηρήθηκε σε καρδιομυοκύτταρα, αποτελεί μόριο ενεργοποιητή των TLR-4 και τον MyD88, οδηγώντας στην έκφραση των υποδοχέων TLR-2 και 4, μέσα από το βιοχημικό μονοπάτι TLR4-MyD88-JNK/NF-κB, ενώ επάγει την βιοσύνθεση των κυτταροκινών TNF-α και IL-6, μέσω του μονοπατιού TLR4-MyD88-p38/NF-κB (81). Όσον αφορά την Hsp27, το καφεϊκό οξύ επάγει την έκφραση της, με το συγκεκριμένο μόριο να ενεργοποιεί αντιφλεγμονώδη βιοχημικά μονοπάτια, παρεμβαίνοντας στην εκκίνηση της φλεγμονής που προκαλείται από το LPS, καθώς στα υψηλά επίπεδα του Hsp27, μειωνόταν η ενεργοποίηση των μονοπατιών του NF-κB και του JNK (82).

Περνώντας στα υδροξυβενζοϊκά οξέα του κρασιού, το γαλλικό οξύ κατέχει πολυδιάστατη αντιφλεγμονώδη δράση, ρυθμίζοντας την έκκριση Ca^{2+} και της cAMP, με αποτέλεσμα να καταστέλλει τα επίπεδα ισταμίνης. Όπως θα αναφερθεί και στην συνέχεια, η ισταμίνη αποτελεί βασικό μεσολαβητή της φλεγμονής που επάγει την ενεργοποίηση του NF-κB, της MAPK και της MyD88. Μέσα από μηχανισμούς, που πολλοί εξ αυτών ακόμα βρίσκονται υπό διερεύνηση, το γαλλικό οξύ δρα ευεργετικά σε νοσήματα με βάση την φλεγμονή, όπως η γαστρεντερίτιδα, το γαστρικό έλκος με μείωση των επιπέδων των κυτταροκινών IL-1β/6 και TNF-α, την παχυσαρκία με αναστολή της δράσης μεσολαβητών της φλεγμονής, σε νευροεκφυλιστικά νοσήματα (πχ. Αλτσχάιμερ), καθώς και σε συγκεκριμένου τύπου καρκίνου, πιθανώς μέσω αναστολής των μονοπατιών NF-κB και MAPK (83).



Εικόνα 8. Δομές Μη φλαβονοειδών του κρασιού (59).

Καταληκτικά, συστατικά του κρασιού έχει φανεί πως σε μέτρια συστηματική κατανάλωση μπορούν να προσφέρουν πολυδιάστατα στην ανθρώπινη υγεία, και ειδικότερα σε επίπεδο καρδιαγγειακής υγείας. Από τα συστατικά του κρασιού με βιοδραστική αξία παρουσιάστηκε η αιθανόλη, καθώς και μικρο-συστατικά που περιέχει, και κυρίως τις πολυφαινόλες, χωρίς όμως να είναι απολύτως σαφής η διάκριση του οφέλους που παρέχει η κάθε πλευρά. Από όσο γίνεται κατανοητό, η αιθανόλη συνδέεται ισχυρότερα με δράση στην ινωδόλυση και το λιπιδαιμικό προφίλ και ειδικότερα στην αύξηση της HDL, ενώ τα μικρο-συστατικά του κρασιού παρουσιάζουν θετικές επιδράσεις σε πολλαπλά μονοπάτια που αφορούν συστήματα φλεγμονής και αιμόστασης (18,31,32).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.

Φλεγμονή στα Καρδιαγγειακά νοσήματα και ο ρόλος του PAF

2.1 Φλεγμονή

Η φλεγμονή αποτελεί φυσιολογική απόκριση του οργανισμού σε κάποιο μόριο που αξιολογείται ως απειλή ή κάποια ιστική βλάβη και παράγωγα μόρια της, με σκοπό την προστασία του οργανισμού και την επιβίωση του. Οι βασικότεροι συμμετέχοντες σε κυτταρικό επίπεδο στην ανοσολογική απόκριση είναι τα λευκοκύτταρα και τα αιμοφόρα αγγεία. Τα μεν λευκοκύτταρα, με την προσέλευση και ενεργοποίηση τους έχουν την δυνατότητα να φαγοκυτταρώνουν και να καταστρέφουν εισβολείς και νεκρά κύτταρα. Ενώ, τα αιμοφόρα αγγεία, στις συνθήκες βλάβης ή λοίμωξης, αυξάνουν την διαπερατότητα του ενδοθηλίου στα υπό βλάβη σημεία του αυλού, με χαλάρωση των δεσμών των ενδοθηλιακών κυττάρων και ρύθμιση της ροής του αίματος, επιτρέποντας την μεταφορά και είσοδο μορίων για την εκκίνηση της ανοσολογικής απόκρισης. Τα κύρια κύτταρα που συμμετέχουν στην φλεγμονή είναι τα λευκοκύτταρα, τα μαστοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα αιμοπετάλια και τα αγγειακά κύτταρα. Σε φυσιολογική φλεγμονώδη απόκριση, μόρια που σχετίζονται με εισβολείς και νεκρά κύτταρα ενεργοποιούν τα παραπάνω κύτταρα ώστε να εκκρίνουν τους μεσολαβητές της φλεγμονής, που θα ξεκινήσουν την φλεγμονώδη απόκριση, μέσα από διαφορετικά μονοπάτια, επάγοντας έναν καταρράκτη αλληλεπίδρασης χημικών μορίων σε συγκεκριμένες παθοφυσιολογικές επιδράσεις. Στο πλαίσιο των αλληλεπιδράσεων, ενεργοποιούνται μονοπάτια που ενισχύουν την παρουσία και άλλων μεσολαβητών και κυττάρων του ανοσοποιητικού (84)

Κάποιοι από τους σημαντικότερους μεσολαβητές φλεγμονής παρουσιάζονται στον **Πίνακα 1.3**. Μεσολαβητές, όπως ο PAF και οι ROS, υπάγονται στην ομάδα των μεσολαβητών που παράγονται από τα κύτταρα, ενώ υπάρχουν και εκείνοι που βρίσκονται στο πλάσμα, όπου εντοπίζονται σε ανενεργή μορφή και αναμένουν συγκεκριμένο ερέθισμα για την ενεργοποίησή τους. Οι πρώτοι μπορούν είτε να προκύψουν από αναδιαμόρφωση υπαρχόντων μορίων στα κύτταρα, είτε να παραχθούν *de novo* (εξ'υπαρχής), ενώ οι δεύτεροι παράγονται από το ήπαρ. Βασικοί

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

εκπρόσωποι των μεσολαβητών της φλεγμονής που βρίσκονται στο πλάσμα είναι χημικά μόρια που ανήκουν στο πρωτεολυτικό σύστημα συμπληρώματος (πχ. C3a) και στο πρωτεολυτικό σύστημα βραδυκινίνης. Όλοι οι μεσολαβητές φλεγμονής δύναται να επηρεάσουν την διαδικασία αθηρωμάτωσης στο αγγείο, με ενισχυτικό ρόλο στον κίνδυνο για CVD, όπως θα επισημανθεί στη συνέχεια (84).

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, ανάλογα και με την έκταση του κινδύνου, η φλεγμονή θα προκαλέσει προσωρινά πόνο και απώλεια λειτουργικότητας στον φλεγμαίνοντα ιστό. Κατόπιν θα ακολουθήσει η επούλωση της βλάβης με την αντίστοιχη σταδιακή υποχώρηση της φλεγμονώδους απόκρισης, και την πλήρη ή σχεδόν πλήρη αποκατάσταση της λειτουργικότητας του ιστού. Παρόλα αυτά, υπάρχουν συνθήκες όπου το ανοσοποιητικό ενεργοποιείται υπέρμετρα χωρίς να επιτελεί τον σκοπό του, όπως η υπερευαισθησία προς εξωγενή μόρια που δεν είναι απειλητικά. Η λανθασμένη αντίληψη κινδύνου, όπως στην περίπτωση αυτοάνοσων, καθώς και η μη ορθή διαχείριση ενός κινδύνου, έχει σαν αποτέλεσμα το ίδιο το ανοσοποιητικό να προκαλεί την ασθένεια (84).

2.1.1 Τύποι Φλεγμονής

Η φλεγμονή μπορεί να διακριθεί σε δύο κατηγορίες, με βάση τα χαρακτηριστικά που αφορούν στον χρόνο παρουσίας, τα κύτταρα και τα μόρια που εμπλέκονται, καθώς και το είδος της βλάβης που προξενούν στους ιστούς. Η αρχική ανοσολογική αντίδραση με μικρή διάρκεια αλλά ταχεία έναρξη, σε λεπτά ή ώρες, ονομάζεται οξεία φλεγμονή. Στην οξεία φλεγμονή παρατηρείται έντονη παρουσία ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων σε συνδυασμό με οίδημα. Η οξεία φλεγμονή αποτελεί βασική απόκριση του έμφυτου ανοσοποιητικού, ως η πρώτη αντίδραση στην εντοπισμένη απειλή, όπου παρατηρούνται τα βασικά συμπτώματα της φλεγμονής με τον πόνο, το οίδημα, την ερυθρότητα, την μερική απώλεια λειτουργικότητας και ενδεχομένως τον πυρετό. Στην περίπτωση όπου η οξεία φλεγμονή δεν μπορεί να απομακρύνει τον παράγοντα που την ενεργοποιεί, μεταπίπτει σε χρόνια φλεγμονή (84).

Ο τύπος της χρόνιας φλεγμονής ιστοπαθολογικά παρουσιάζει εκτενέστερη ιστική βλάβη και μόνιμη απώλεια λειτουργικότητας μέσα από μηχανισμούς

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

διαμόρφωσης συνδετικού ιστού (ουλώδες) και ίνωσης. Αποτελεί κατά βάση απόκριση του επίκτητου ανοσοποιητικού, που είναι υπεύθυνο να δράσει όταν το έμφυτο δεν έχει καταφέρει να επιλύσει την απειλή, ως δεύτερη γραμμή άμυνας, χωρίς όμως να απενεργοποιείται πλήρως η δράση του έμφυτου ανοσοποιητικού. Στην χρόνια φλεγμονή τα κύτταρα του ανοσοποιητικού που ενεργοποιούνται περισσότερο είναι τα λεμφοκύτταρα και τα μακροφάγα. Ακολούθως, τα μακροφάγα εκκρίνουν μεσολαβητές, όπου κυρίως είναι τα εικοσανοειδή, οι κυτταροκίνες (TNF, IL-1 κ.α.), οι χημειοκίνες και αυξητικοί παράγοντες. Αντίστοιχα, τα λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται από παράγοντες του εισβολέα ή μόρια στο περιβάλλον, καθώς και από αντιγόνα των μακροφάγων για τα T- λεμφοκύτταρα. Υπάρχουν τρεις υποκατηγορίες CD4+ που εκπροσωπούν τα λεμφοκύτταρα στην χρόνια φλεγμονή. Το TH1 λεμφοκύτταρο, που εκκρίνει την IFN-γ, το TH2, που εκκρίνει την IL-2, την IL-5 και την IL-13, και ο τρίτος υποτύπος που είναι η TH17, εκκρίνοντας την IL-17 και άλλες κυτταροκίνες. Στο πολύπλοκο δίκτυο αλληλεπιδράσεων μορίων και κυττάρων του ανοσοποιητικού, που επιστρατεύεται στην φλεγμονή, εξαιρετικά σημαντικό ρόλο φέρουν συγκεκριμένες κυτταροκίνες των οποίων η προέλευση και η δράση επισημαίνεται στον **Πίνακα 1.2**. Άλλα κύτταρα που μπορεί να εμπλακούν στην χρόνια φλεγμονή είναι τα ηωσινόφιλα, τα ουδετερόφιλα και τα μαστοκύτταρα (84,85).

Επιπλέον, υπάρχει και ένας ακόμα τύπος φλεγμονής, που καλείται χρόνια υποβόσκουσα φλεγμονή (low grade inflammation). Ο συγκεκριμένος τύπος φλεγμονής αποτελεί βασικό κομμάτι πολλών χρόνιων διαταραχών όπως το μεταβολικό σύνδρομο, η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος, ισχουλινοαντίσταση και ο ΣΔ II, καθώς και η διαδικασία της αθηρωμάτωσης και σταδιακά η πρόκληση των CVD, όπως θα αναπτυχθεί στην συνέχεια του κεφαλαίου (86). Η υποβόσκουσα φλεγμονή χαρακτηρίζεται από ήπια αλλά χρόνια φλεγμονή, χωρίς να επισημαίνονται συγκεκριμένοι δείκτες και όρια για τον εντοπισμό της. Ερευνητικά προσεγγίζεται με αρκετούς διαφορετικούς βιοδείκτες, όπως η CRP, το ινωδογόνο, λευκοκύτταρα, αιμοπετάλια, προφλεγμονώδη μόρια και γενικότερα δείκτες που συνδέονται με τα CVD. Κάποια από τα αίτια πρόκλησης της είναι το κάπνισμα, το αυξημένο σωματικό λίπος, ενώ δεδομένα το συνδέουν και με διατροφικές συνήθειες, όπως η εκτεταμένη κατανάλωση SFA (87). Αντίθετα, παρουσιάζονται τρόφιμα και συστατικά τους που οδηγούν σε μείωση της φλεγμονής, με αρκετά εξ αυτών να απαντώνται στο πρότυπό της μεσογειακής διατροφής, όπως είναι χαρακτηριστικά και το κρασί (87,88)

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

Πίνακας 1.2. Οι σημαντικότερες κυτταροκίνες της φλεγμονής υπό την διάκριση της χρόνιας και οξείας φλεγμονής. Σημειώνεται πως οι οξείας φλεγμονής κυτταροκίνες μπορεί να εντοπιστούν και σε χρόνια φλεγμονή. *IFN-γ*: Ιντερφερόνη-γ, *IL*: Ιντερλευκίνη, *NK* Λεμφοκύτταρα: Φυσικοί Δολοφόνοι (*Natural Killers*) Λεμφοκύτταρα, *TNF*: Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων (84).

Κυτταροκίνη	Βασική πηγή	Βασική δράση στη Φλεγμονή
Οξεία Φλεγμονή		
TNF	Μακροφάγα, Μαστοκύτταρα, T-Λεμφοκύτταρα	Ενεργοποιεί την έκφραση ενδοθηλιακών μορίων προσκόλλησης και την έκκριση άλλων κυτταροκινών & Έχει Συστημική δράση (πχ. Πυρετός)
IL-1	Μακροφάγα, Ενδοθηλιακά και κάποια Επιθηλιακά κύτταρα	Παρόμοια δράση με τον TNF & ισχυρότερη επίδραση στον πυρετό
IL-6	Μακροφάγα και άλλα κύτταρα	Συστημικές επιδράσεις (Απόκριση οξείας φάσης)
IL-17	T- Λεμφοκύτταρα	Επιστράτευση Ουδετερόφιλων και Μονοκυττάρων
Χημειοκίνες	Μακροφάγα, Ενδοθηλιακά κύτταρα, Μαστοκύτταρα, T-Λεμφοκύτταρα και κάποιοι άλλοι τύποι κυττάρων	Επιστράτευση λευκοκυττάρων στο σημείο της φλεγμονής & Μετανάστευση κυττάρων σε φυσιολογικούς ιστούς
Χρόνια Φλεγμονή		
IL-12	Δενδριτικά κύτταρα, Μακροφάγα	Αυξημένη παραγωγή IFN-γ
IL-17	T- Λεμφοκύτταρα	Επιστράτευση Ουδετερόφιλων και Μονοκυττάρων
IFN-γ	T- Λεμφοκύτταρα & NK Λεμφοκύτταρα	Ενεργοποίηση Μακροφάγων (Αυξημένη ικανότητα θανάτωσης μικροβίων και καρκινικών κυττάρων)

2.2 Περιγραφή της αθηρωμάτωσης στο επίπεδο του αγγείου

Η σχέση της φλεγμονής με την στεφανιαία νόσο ξεκινά με την διαδικασία της αθηρωμάτωσης. Το υγιές ενδοθήλιο έχει ρόλο φραγμού, αλλά και αντιθρομβωτική δράση, καθώς στην επιφάνεια του εντοπίζονται παράγοντες που εμπλέκονται στον καταρράκτη πήξης, κατέχοντας ρυθμιστικό ρόλο. Σημαντικά μόρια που εμπλέκονται είναι η πρωτεΐνη C, που αποτελεί αντιπηκτικό ένζυμο στη δράση του οποίου εμπλέκεται και η βιταμίνη K και προσδένεται στην θρομβίνη, ο ιστικός παράγοντας (TF), που αποτελεί διαμεμβρανικό υπόδοχέα του παράγοντα πήξης VII από το οποίο ξεκινά ο καταρράκτης πήξης, το VWF που αναφέρθηκε καθώς και άλλα μόρια των οποίων η δραστηριότητα επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες όπως το οξειδωτικό

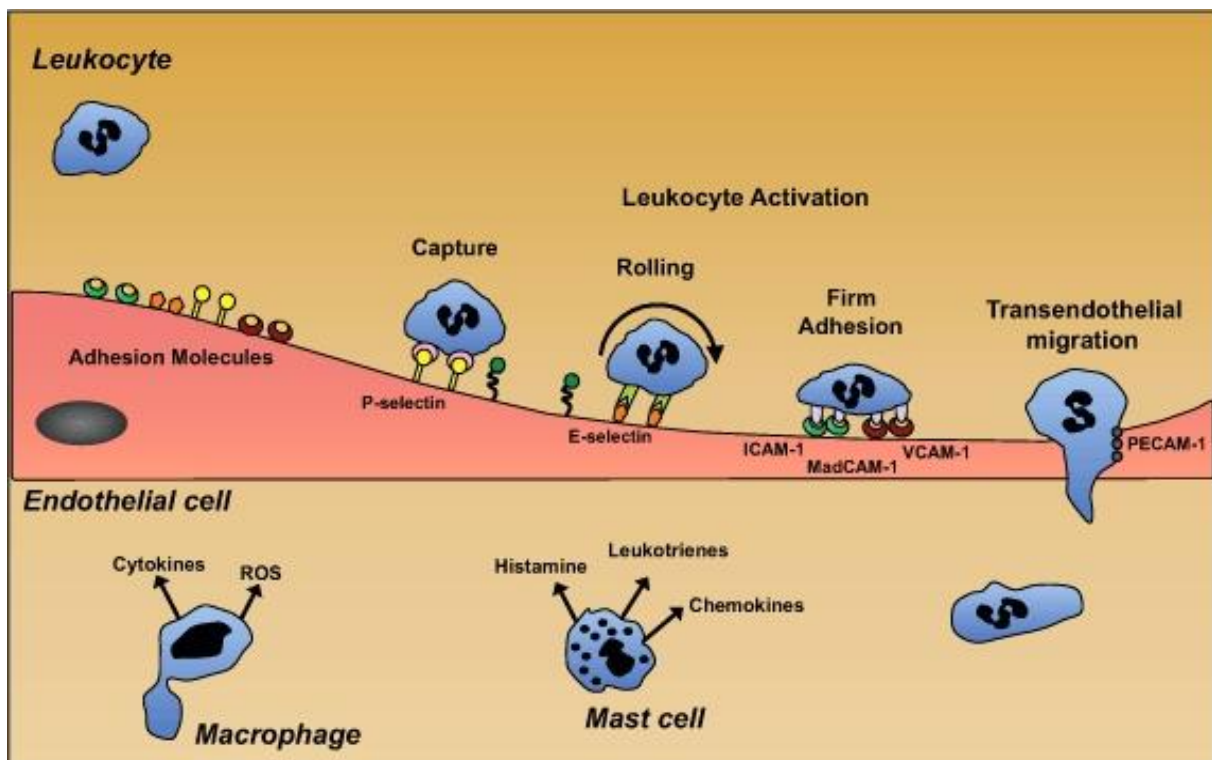
“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

στρες (89). Ένα βασικό μόριο που φυσιολογικά εκκρίνεται από το ενδοθήλιο με σκοπό την αποφυγή της θρόμβωσης είναι το NO που αποτρέπει την προσκόλληση αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων (90).

Υπό φυσιολογικές συνθήκες τα λευκοκύτταρα που βρίσκονται στο πλάσμα δεν έρχονται σε επαφή με το ενδοθήλιο, όμως σε παθολογική κατάσταση λόγω υψηλής ΑΠ αυτό αλλάζει, καθώς πλέον τα λευκοκύτταρα κινούνται πιο κοντά στο ενδοθήλιο και λόγω μεγέθους πιο αργά έναντι των ερυθροκυττάρων. Παράλληλα, όταν τα ενδοθηλιακά κύτταρα βρίσκονται σε βλάβη, εκφράζουν τους υποδοχείς προσκόλλησης των λευκοκυττάρων, τις σελεκτίνες (P- σελεκτίνη, E- Σελεκτίνη και L-Σελεκτίνη) και κατόπιν τις πρωτεογλυκάνες, τους υποδοχείς ιντεγκρινών (ICAM-1) και το Μόριο προσκόλλησης αιμοπεταλίων και ενδοθηλιακών κυττάρων (PECAM- CD31), που θα υποστηρίξουν στην κατάλληλη διαμόρφωση του λευκοκυττάρου ώστε να διαπιδύσει το ενδοθηλιακό τοίχωμα, με τα στάδια διαπίδυσης να περιγράφονται στην **Εικόνα 9** (84). Σε παθοφυσιολογικές συνθήκες, η περίπτωση βλάβης σε κύτταρα του ενδοθηλίου, που συνήθως έρχεται ως αποτέλεσμα υψηλής ΑΠ, υπεργλυκαιμίας ή και του καπνίσματος, αλλά και γενικότερα συνθήκες υψηλού οξειδωτικού στρες, οδηγούν σε χαλάρωση των δεσμών μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων, οπότε σε αυξημένη διαπερατότητα στο ενδοθήλιο. Σε συνθήκες υψηλής διαπερατότητας του ενδοθηλίου επιτρέπεται η διαπίδυση του ενδοθηλιακού φραγμού από τα λευκοκύτταρα (μονοκύτταρα), τα οποία στην συνέχεια θα διαφοροποιηθούν σε μακροφάγα. Επίσης, τα μόρια της LDL μπορούν να διεισδύουν μέσα από το τοίχωμα, να κατακρατούνται και σταδιακά να συσσωρεύονται.

Τα μακροφάγα κάτω από την ενδοθηλιακή κυτταρική στιβάδα, ενεργοποιούνται εκκρίνοντας ROS με αποτέλεσμα την μετατροπή των σωματιδίων της LDL που βρίσκονται στο χώρο, σε oxLDL. Η παρουσία της oxLDL στο ενδοθήλιο επάγει αλλαγές στην λειτουργία των γειτονικών ενδοθηλιακών κυττάρων, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση υποδοχέων προσκόλλησης λευκοκυττάρων, που όπως αναφέρθηκε οδηγεί στην διαπίδυση λευκοκυττάρων από το ενδοθηλιακό τοίχωμα και την κλιμακούμενη αύξηση λευκοκυττάρων υποενδοθηλιακά. Παράλληλα, μόρια LDL συνεχίζουν να βρίσκουν πρόσβαση και να συσσωρεύονται, επίσης, στο υποενδοθηλιακό χώρο, μετατρέπόμενα σταδιακά σε oxLDL. Η oxLDL, ως οξειδωμένο μόριο, στοχοποιείται και φαγοκυτταρώνεται από τα μακροφάγα (91,92).

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”



Εικόνα 9. Παρουσιάζονται τα βήματα της σταδιακής προσκόλλησης και μετανάστευσης των λευκοκυττάρων, από την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων, με την παρουσία μορίων προσκόλλησης λευκοκυττάρων, έως την παρουσία τους στον υποενδοθηλιακό χώρο και την ενεργοποίησή της με την έκκριση μεσολαβητών φλεγμονής (92).

Με την είσοδο των λευκοκυττάρων στον υποενδοθηλιακό χώρο, θα ενεργοποιηθούν, εκκρίνοντας αρκετούς μεσολαβητές της φλεγμονής που επισημαίνονται στον **Πίνακα 1.3**. Επίσης, στο πίνακα περιγράφονται και οι βασικότερες δράσεις τους, οι οποίες επάγουν ποικιλοτρόπως την διαδικασία αθηρωμάτωσης και θρομβογένεσης, όπως η χημειοταξία που περιγράφει την μετανάστευση ενός κυττάρου ως αποτέλεσμα ενός χημικού ερεθίσματος (93). Άλλοι μεσολαβητές όπως τα ROS μπορούν τα ίδια να προκαλέσουν ιστική βλάβη στο ενδοθήλιο, που αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την εκκίνηση και την εξέλιξη της διαδικασίας της αθηρωμάτωσης (84).

Πίνακας 1.3. Παρουσιάζονται οι βασικότεροι μεσολαβητές της φλεγμονής, που προέρχονται από το κύτταρο, η προέλευση τους και οι κυριότερες δράσεις τους (84,94)

Μεσολαβητές φλεγμονής (Κυτταρικής προέλευσης)	Πηγή	Βασικές δράσεις
Ισταμίνη	Μαστοκύτταρα, Βασεόφιλα, Αιμοπετάλια	Αγγειοδιαστολή, Αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα, Ενδοθηλιακή ενεργοποίηση
Σεροτονίνη	Αιμοπετάλια	Αγγειοδιαστολή, Αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα
Προσταγλαδίνες	Μαστοκύτταρα, Λευκοκύτταρα	Αγγειοδιαστολή, πόνος, πυρετός
Λευκοτριένια	Μαστοκύτταρα, Λευκοκύτταρα	Αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα, Χημειοταξία, επάγει Ενεργοποίηση και Προσκόλληση Λευκοκυττάρων
Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF)	Λευκοκύτταρα, Ενδοθηλιακά κύτταρα, Αιμοπετάλια	Αγγειοδιαστολή, Αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα, Προσκόλληση Λευκοκυττάρων, Χημειοταξία, Απώλεια κοκκίων, Οξειδωτική έκρηξη
Δραστικές Μορφές Οξυγόνου (ROS)	Λευκοκύτταρα	Ιστική βλάβη, Εξουδετέρωση μικροβίων
Μονοξείδιο Αζώτου (NO)	Ενδοθήλιο, Μακροφάγα	Χαλάρωση αγγειακών λείων μυών, Εξουδετέρωση μικροβίων
Κυτταροκίνες (IL-1, IL-6, TNF)	Μακροφάγα, Ενδοθηλιακά κύτταρα, Μαστοκύτταρα, Λεμφοκύτταρα	Τοπική ενδοθηλιακή ενεργοποίηση (έκφραση μορίων προσκόλλησης), Οξείας φάσης συστηματική απόκριση σε σοβαρές λοιμώξεις, Σηπτικό σοκ
Χημειοκίνες	Λευκοκύτταρα, Ενεργοποιημένα Μακροφάγα	Χημειοταξία, Ενεργοποίηση λευκοκυττάρων
Πρωτεολυτικό Σύστημα Συμπληρώματος (Αναφυλατοξίνες- C3a, C4a, C5a)	Πλάσμα (Παράγονται από το Ήπαρ)	Χημειοταξία, Απόκοκκωση φαγοκυττάρων, Ενεργοποίηση O ₂ ⁻ , Αύξηση της ενδοθηλιακής διαπερατότητας, Απόκοκκωση Μαστοκυττάρων και Αιμοπεταλίων, Ενισχυμένη έκκριση κυτταροκινών, Επαγωγή σύνθεσης Εικοσανοειδών, Ενεργοποίηση Λευκοκυττάρων, Αγγειοδιαστολή (Ερέθισμα Μαστοκυττάρων), Απευθείας θανάτωση του στόχου (Σύμπλεγμα μεμβρανικής επίθεσης)
Πρωτεΐνες Κινίνης του συστήματος πήξης (Βραδυκίνη)	Πλάσμα (Παράγονται από το Ήπαρ)	Αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα, Σύσπαση λείων μυικών ινών, Αγγειοδιαστολή, Πόνος

Συνεχίζοντας στο επόμενο στάδιο της διαμόρφωσης αθηρωματικής πλάκας, προοδευτικά τα μακροφάγα φαγοκυτταρώνουν μεγάλες ποσότητες οχ-LDL και μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα κάτω από την επιφάνεια του ενδοθηλίου. Η “Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

διαδικασία αυτή ευνοείται υπό συνθήκες υπερχοληστεριναιμίας όπου υπάρχει μεγαλύτερη παροχή LDL στο χώρο. Η κλιμακούμενη αύξηση των αφρωδών κυττάρων διαμορφώνει την «λιπώδη γράμμωση» («fatty streak») του ενδοθηλιακού τοιχώματος. Η επιφάνεια του επιθηλίου στο σημείο της λιπώδους γράμμωσης θα αποτελέσει χώρο όπου επάγεται η διαμόρφωση του θρόμβου. Στο σημείο προσδένονται αιμοπετάλια που ενεργοποιούν την απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων που ενισχύουν την αύξηση και την μετανάστευση γειτονικών λείων μυϊκών ινών. Τα λεία μυοκύτταρα απελευθερώνουν εξωκυτταρικά πρωτεϊνικά μόρια, με κυρίαρχο το κολλαγόνο, που διαμορφώνουν στην περιοχή την ινώδη κάψα, στην οποία στην συνέχεια αποθηκεύονται κρύσταλλοι ασβεστίου, διαμορφώνοντας μία σχετικά σταθερή δομή. Έπειτα, ακολουθεί η διάρρηξη της ινώδους κάψας, με αποτέλεσμα έναρξη της διαδικασίας αιμόστασης και την διαμόρφωση θρόμβου (90).

2.3 Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF)

Η ανακάλυψη του Παράγοντα Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor-PAF) έγινε από τους Benveniste et al., το 1972, σε *in vivo* μελέτη με κουνέλια, όπου έλαβε την ονομασία του λόγω του εντοπισμού του ως ένα αγγειοδραστικό μόριο, το οποίο προκαλούσε συσσώρευση αιμοπεταλίων συνδυαστικά με επαγωγή της έκκρισης ισταμίνης (95). Η εύρεση της δομής του PAF έγινε από τους Demopoulos et al. και είναι από χημικής άποψης ένα αιθερικό φωσφολιπίδιο με βάση τη γλυκερόλη, που φέρει την ονομασία 1-Ο-Αλκυλ-2-Ακετυλ-sn-Γλυκερο-3-Φωσφατιδυλοχολίνη (96).

Μεταγενέστερα, εντοπίστηκε πως αποτελεί έναν χημικό λιποειδικό μεσολαβητή με πολυδιάστατο βιοδραστικό ρόλο, ειδικότερα ως μεσολαβητής της φλεγμονής, ξεπερνώντας τα αρχικά ευρήματα για την συσσώρευση αιμοπεταλίων. Παρά το γεγονός πως εντοπίζεται στο οργανισμό σε εξαιρετικά μικρές ποσότητες, σε συνθήκες αυξημένων επιπέδων κατέχει σημαντικό ρόλο σε φλεγμονώδη νοσήματα, όπως σε ενδοτοξαιμίες, αλλεργίες και στην αθηρωμάτωση (96–98). Ο PAF δεν αποτελεί ένα μοναδικό μόριο που προσδένεται στον υποδοχέα του, έχοντας συγκεκριμένες δράσεις, αλλά υπάρχει παράλληλα μια οικογένεια παρόμοιων λιποειδικών μορίων, τα οποία ονομάζονται ανάλογα του PAF, τα PAF-LL. Αυτά τα μόρια είναι πιθανό να έχουν ακόμα και εξ ολοκλήρου διαφορετική χημική δομή. Η κλασική δομή του PAF που αναφέρθηκε ως 1-Ο-Αλκυλ-2-Ακετυλ-sn-Γλυκερο-3-Φωσφατιδυλοχολίνη, αποτελεί

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

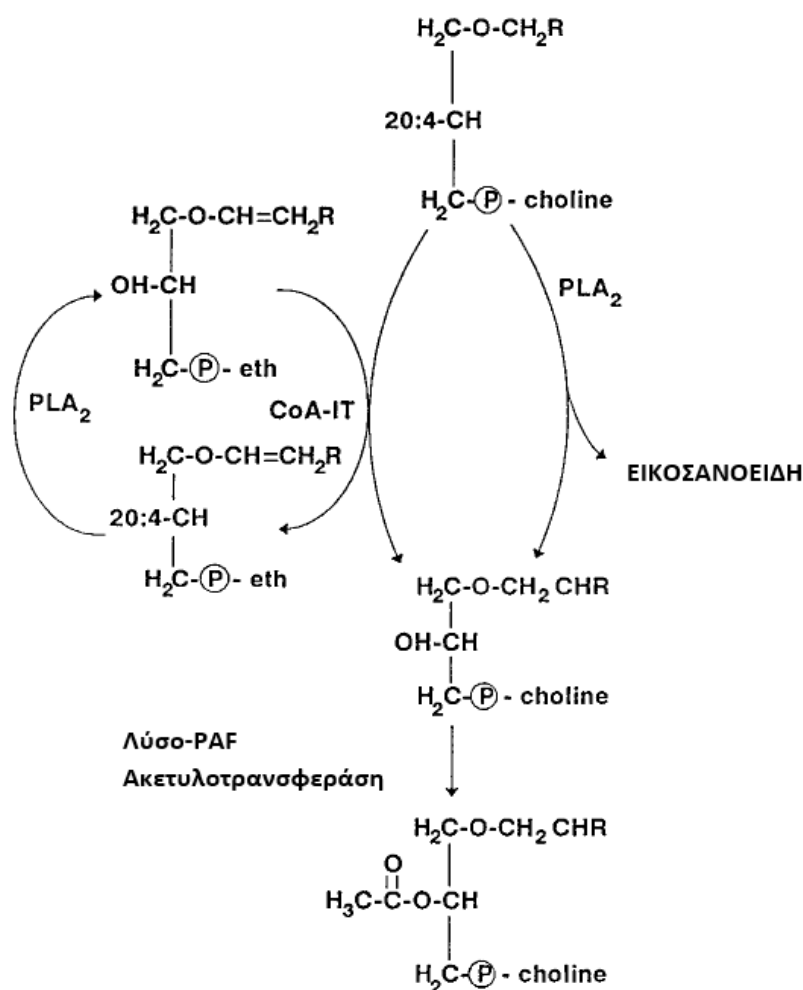
αιθεροφωσφολιπίδιο, με τρεις συνδεδεμένες αλυσίδες πάνω σε μία γλυκερολη, όπου στην πρώτη θέση, το Sn1 αποτελείται από 16-18C, στην sn2 θέση, παρουσιάζεται μια ακετυλομάδα, και στην sn3 θέση μια φωσφατιδυλοχολίνη. Όλα τα μέρη είναι απαραίτητα για την λειτουργικότητα του μορίου (99).

2.3.1 Βιοσύνθεση του PAF

Η βιοσύνθεση του PAF γίνεται μέσα από δύο ενζυμικά μεταβολικά μονοπάτια. Το πρώτο μονοπάτι αποτελεί την πορεία ανασχηματισμού (remodeling pathway) και το δεύτερο μονοπάτι αποτελεί την εξ'υπαρχής πορεία (de novo pathway).

2.3.1.1 Πορεία ανασχηματισμού

Για την εκκίνηση της βιοσύνθεσης του PAF μέσω της πορείας ανασχηματισμού είναι απαραίτητη η διάθεση στις μεμβράνες των κυττάρων της 1-Ο-αλκυλο-2-άραχιδοנוύλο-γλυκερο-φωσφοχολίνης (άλκυλο-PC), που αποτελεί αιθερικό φωσφολιπίδιο, όπου στην τρίτη θέση (sn3) υπάρχει χολίνη. Η διαδικασία σύνθεσης ξεκινά με την ενεργοποίηση της κυτταροπλασματικής Φωσφολιπάσης A2 (cPLA2) η οποία υδρολύει στην αλκυλο-PC το δεσμό στην sn2, ελευθερώνοντας το αραχιδονικό οξύ και οδηγώντας στην παραγωγή του λύσοφωσφολιπιδίου (λυσο-PAF). Η παραγωγή του PAF ολοκληρώνεται με την μεταφορά μίας ακετυλομάδας στη θέση sn2, με την δράση του ενζύμου ακετυλοτρανσφεράση του λύσο-PAF (Lyso- PAF AT) (**Εικόνα 10**) (99,100). Πρέπει να τονιστεί ότι είναι δυνατός ο σχηματισμός διαφορετικών μοριακών ειδών του PAF, αφού μπορούν να συναντηθούν παραλλαγές ως προς το μήκος των ανθρακικών αλυσίδων και του κορεσμού τους (99). Η πορεία ανασχηματισμού θεωρείται ότι ενεργοποιείται σε συνθήκες οξείας και χρόνιας φλεγμονής, σε απόκριση προ-φλεγμονωδών ερεθισμάτων (101).



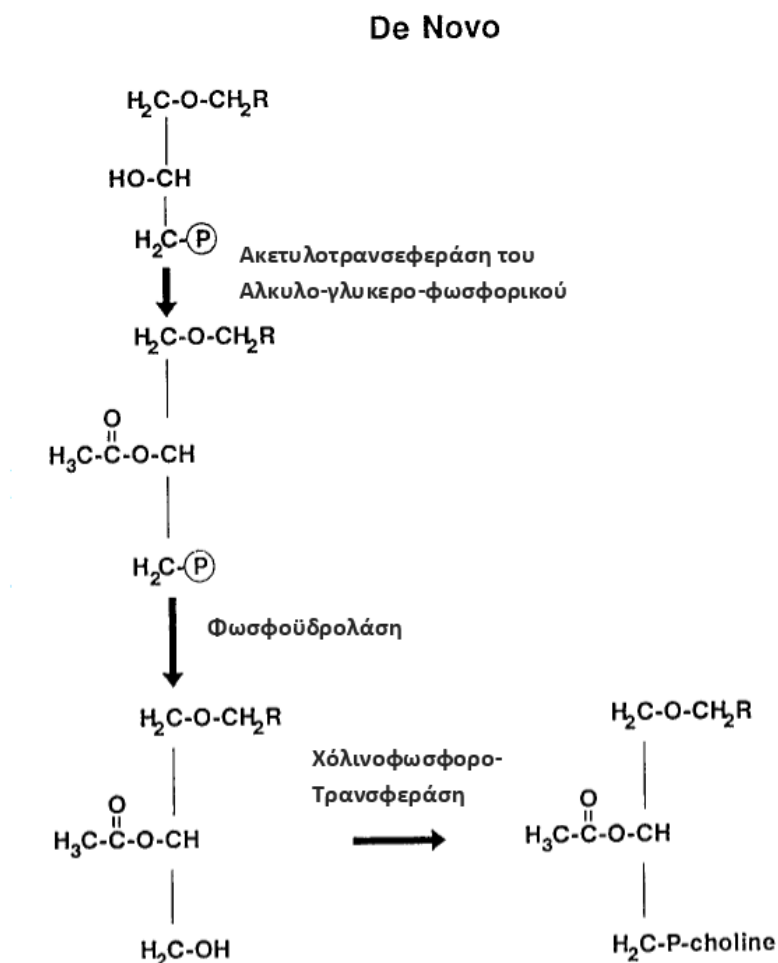
Εικόνα 10. Βιοχημική πορεία βιοσύνθεσης του PAF μέσω ανασχηματισμού (100).

2.3.1.2 De novo πορεία

Η de novo βιοσύνθεση του PAF λαμβάνει χώρα μέσω της κλασικής βιοσύνθεσης των φωσφολιποειδών και την παραγωγή του σε 1-Ο-αλκυλο-sn-γλύκερο-3-φωσφορικού οξέος, δηλαδή ένα αιθερικό φωσφολιπίδιο με βάση τη γλυκερόλη. Το μόριο αυτό θα ακετυλιωθεί από μία ακετυλοτρανσφεράση του αλκυλο-γλυκερο-φωσφορικού οξέος. Στη συνέχεια θα λάβει χώρα μια υδρόλυση από μία φωσφοϋδρολάση του αλκυλ-ακετυλο-γλυκερο-φωσφορικού οξέος, με αποτέλεσμα τη παραγωγή της 1-αλκυλο-2-ακέτυλο-sn-γλυκερόλης (AAG). Τέλος, ο PAF παράγεται με την προσθήκη φωσφοχολίνης στη θέση sn-3, από το ένζυμο PAF-φωσφοχολινο-

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

τρανφεράση (CPT- PAF) (**Εικόνα 11**). Η de novo βιοσύνθεση PAF θεωρείται ότι αποτελεί την βασική πηγή παραγωγής του μεσολαβητή σε ιστούς και αίμα σε μη φλεγμονώδη κατάσταση (99,100).



Εικόνα 11. Βιοχημικό μονοπάτι De Novo Βιοσύνθεσης του PAF (100).

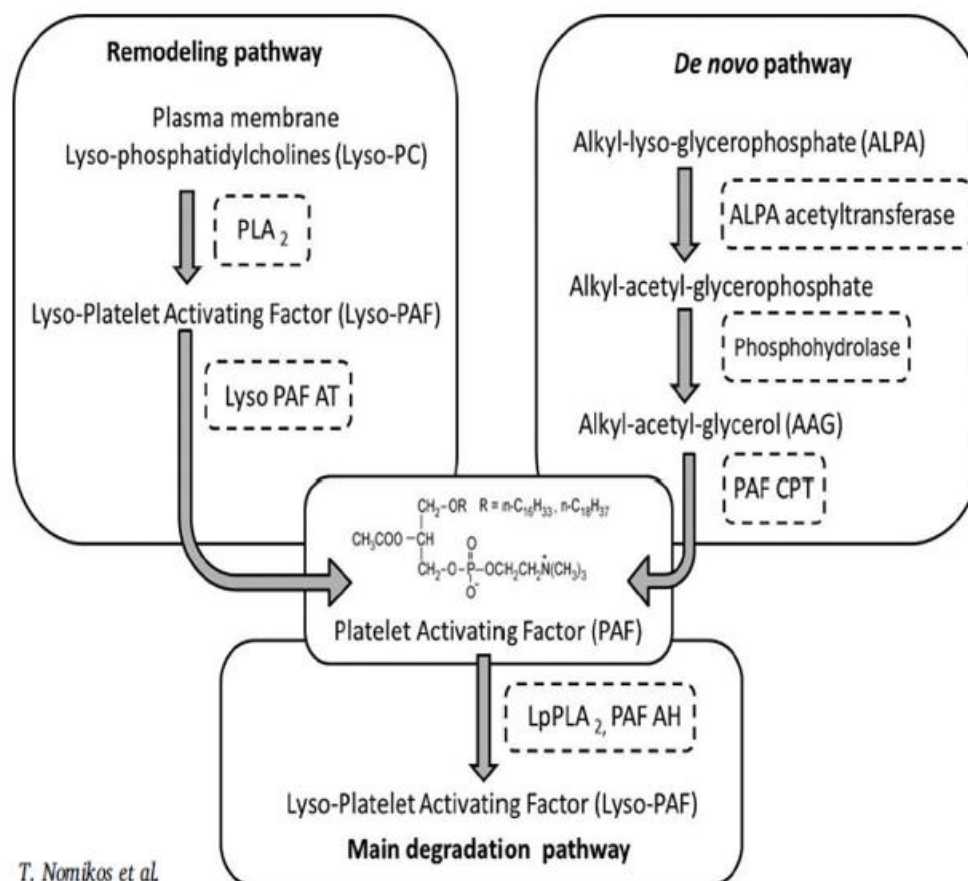
2.3.2 Αποικοδόμηση του PAF

Στην αποικοδόμηση του PAF κυρίαρχο ένζυμο είναι η ακετυλοϋδρολάση του PAF (PAF AH), που ανήκει στην οικογένεια των ενδοκυτταρικών και εξωκυτταρικών φωσφολιπασών A2. Στην ίδια οικογένεια ανήκει και η cPLA2, που αναφέρθηκε στην βιοσύνθεση του PAF μέσω της πορείας ανασχηματισμού, επιτελώντας μάλιστα η PAF AH, την αντίστροφη της αντίδρασης της cPLA2, μετατρέποντας τον PAF σε λύσο-PAF, δηλαδή σε ανενεργή του μορφή. Όπως επισημαίνεται και στην **Εικόνα 13**, η PAF AH αποτελεί βασικό ρυθμιστή των επιπέδων του PAF, έχοντας την δυνατότητα να περιορίσει την ημι-ζωή του σε λεπτά (99,102). Τρεις ισομορφές της έχουν εντοπιστεί

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

στα θηλαστικά, η rPAF-AH, που εντοπίζεται στο πλάσμα, και οι ενδοκυτταρικές PAF AH-II και η PAF AH-Ib. Η ισομορφή στο πλάσμα ονομάζεται φωσφολιπάση A2 συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες (Lipoprotein associated PLA2, LpPLA2) (103).

Άλλα ένζυμα που έχει βρεθεί πως μπορούν να αποικοδομήσουν τον PAF είναι η CoA-εξαρτώμενη τρανσακετυλάση, που απελευθερώνει την ακετυλομάδα στην θέση sn-2, παράγοντας λύσο-PAF. Επίσης, καταλήγοντας στην παραγωγή λύσο-PAF, υπάρχουν δύο ένζυμα που εντοπίζονται στην HDL, η ακυλοτρανσφεράση λεκιθίνης-χοληστερόλης (LCAT) και η εστεράση παραοξονάση (PON)-1 (99).

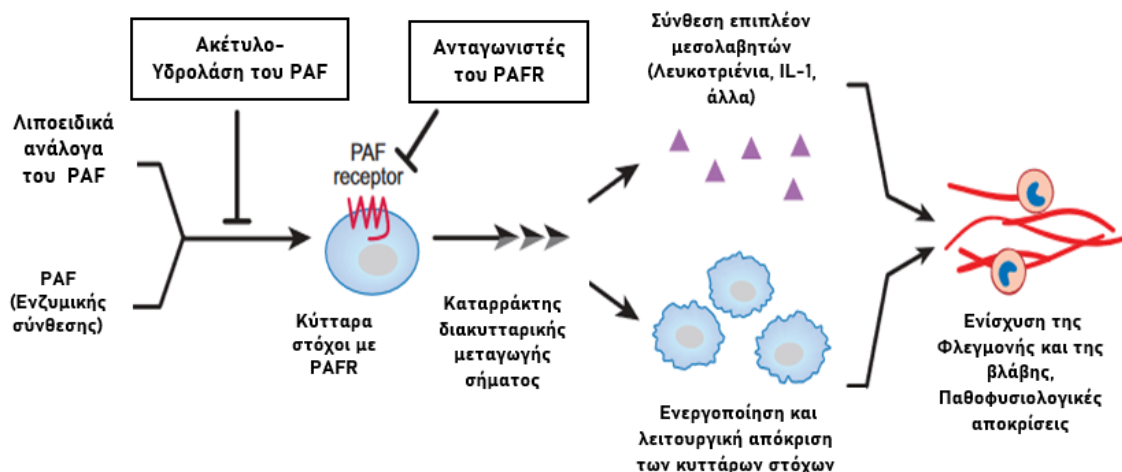


Εικόνα 12. Συνολική παρουσίαση των πορειών βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης του PAF (104).

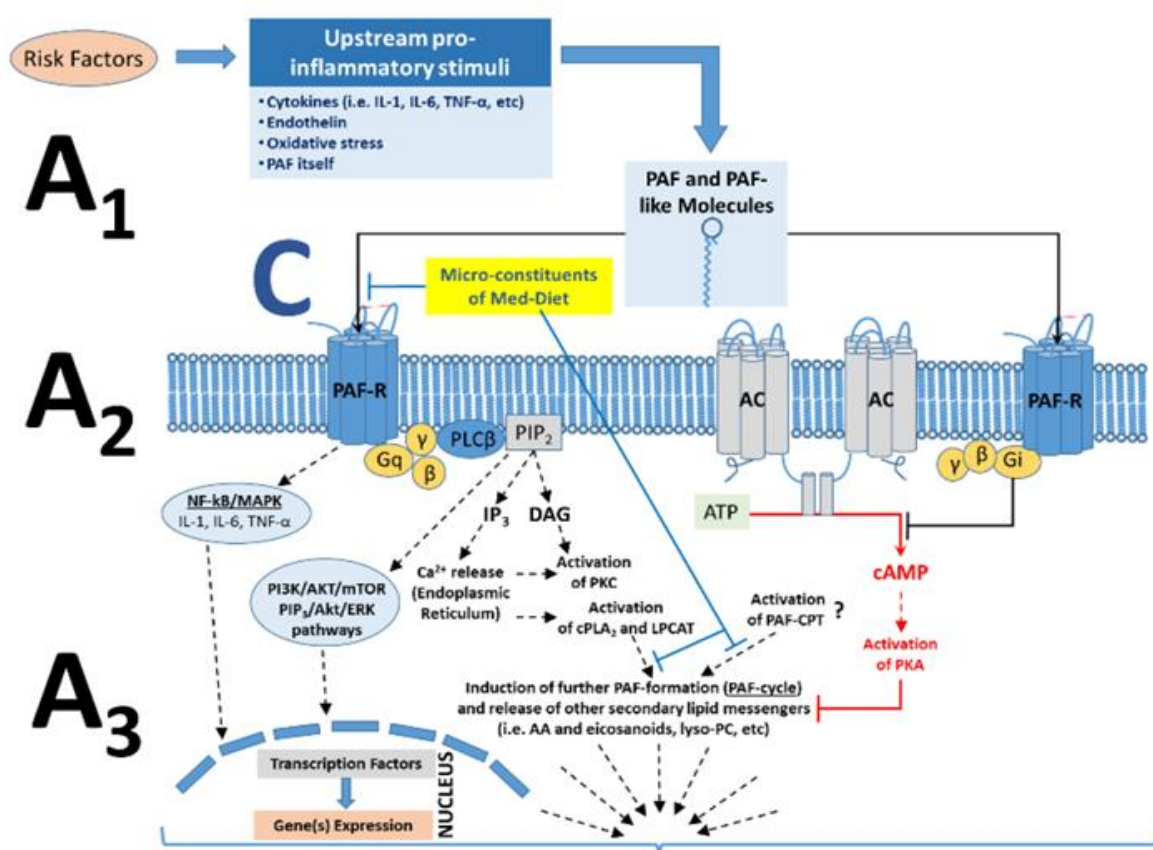
2.3.3 Μεταγωγή σήματος και ρύθμιση του PAF

Ο PAF αποτελεί σηματοδοτικό λιποειδικό μόριο, που από μέρος της βιβλιογραφίας παρομοιάζεται με ορμόνες και κυτταροκίνες. Στην **Εικόνα 13** απεικονίζεται ο καταρράκτης σηματοδότησης του PAF και των αναλόγων του, από την πρόσδεση στον υποδοχέα του σε κύτταρα στόχους έως την επαγωγή της φλεγμονής και τα παθοφυσιολογικά σημεία που κατευθύνει. Ως κύτταρα στόχοι, περιγράφονται όλα τα κύτταρα που έχουν την δυνατότητα να εκφράσουν υποδοχέα του PAF, και το πράττουν υπό συγκεκριμένες συνθήκες, όπως είναι χαρακτηριστικά μεταξύ πολλών κυττάρων, τα αιμοπετάλια και τα μονοκύτταρα (102). Ανάλογα με το κύτταρο στόχο, το μοριακό είδος και την ποσότητα, που βρίσκεται ο PAF ή τα ανάλογα μόρια του, μπορεί να επάγουν την ενεργοποίηση διαφορετικών βιοχημικών μονοπατιών ενδοκυτταρικά και διαφορετικά σήματα για την έκφραση γονιδίων. Η πορείες για την ενδοκυτταρική μεταγωγή σήματος φλεγμονής που πυροδοτεί ο PAF περιγράφεται στο **Εικόνα 14-1** (105).

Αξίζει να αναφερθεί, ότι εκτός από τον PAFR στις πλασματικές μεμβράνες, έχουν εντοπιστεί PAFR ενδοκυτταρικά στον πυρήνα. Φαίνεται πως ο κυτταροπλασματικός PAFR σχετίζεται με τις άμεσες επιδράσεις του PAF, ενώ ο ενδοκυτταρικός μοιάζει να σχετίζεται με δράσεις που απαιτούν εκτενή χρονικά έκθεση, επιδρώντας σε μονοπάτια γονιδιακής έκφρασης (106).



Εικόνα 13. Καταρράκτης σηματοδότησης του PAF. Σε αυτή την πορεία, απαραίτητα ο PAF ή τα λιποειδικά ανάλογα του, θα πρέπει να προστεθεί σε υποδοχέα του, που έχει εκφραστεί στην επιφάνεια κυττάρου στόχου. Κατόπιν, της πρόσδεσης στον υποδοχέα, ξεκινά ο καταρράκτης διακυτταρικής μεταγωγής σήματος από τον οποίο επάγεται η σύνθεση περαιτέρω μεσολαβητών φλεγμονής, ενώ ενεργοποιούνται και άλλα κύτταρα στόχοι, καταλήγοντας στην επαγωγή της φλεγμονής, με επακόλουθο την έκφραση παθοφυσιολογικών εκδηλώσεων στον οργανισμό. Στην αναφερόμενη πορεία σηματοδότησης, μετά την εμφάνιση των PAF, μεσολαβούν αρκετοί ρυθμιστικοί σταθμοί της πορείας σηματοδότησης. Αρχικό ρυθμιστικό σταθμό αποτελεί ο αναστολέας του PAF, που είναι η Ακέτυλούδρολάση του PAF, περιορίζοντας την ημι-ζωή του PAF και των αναλόγων του, σε διάστημα λεπτών. Επίσης, σημαντικό σημείο ρύθμισης αποτελεί η δυνατότητα πρόσδεση του μορίου στον υποδοχέα του, που δύναται να υποστεί διακυτταρική βιοχημική ρύθμιση και απευαισθητοποίηση (102).



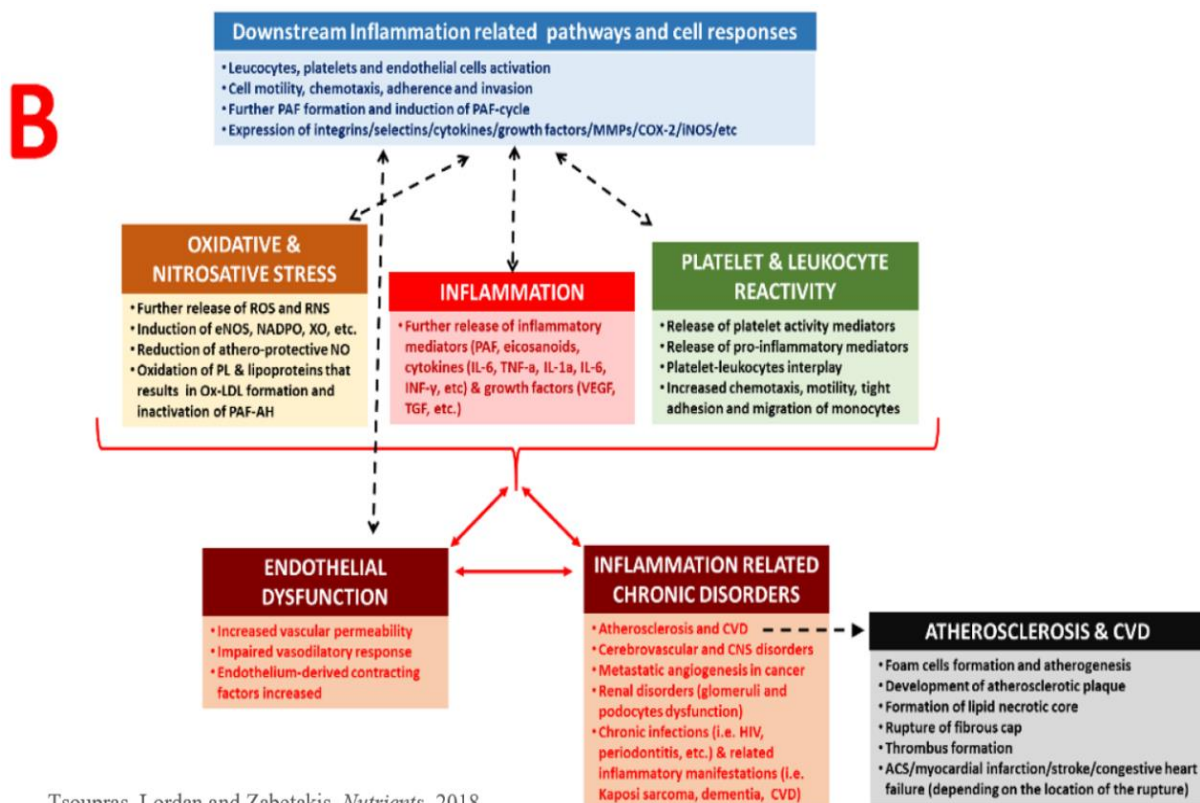
Εικόνα 14-1. Στο διάγραμμα παρουσιάζονται οι καταρράκτες μεταγωγής σήματος φλεγμονής που δημιουργούνται από τον PAF και των αναλόγων του, με την ενεργοποίηση των υποδοχέων του. Στο ανώτερο τμήμα του διαγράμματος περιγράφονται προφλεγμονώδη ερεθίσματα που προκαλούν την αύξηση των επιπέδων PAF, όπως οι κυταροκίνες IL-1 και IL-6, η ενδοθηλίνη, το οξειδωτικό στρες και ο PAF που επάγει τον εαυτό του. Ακολούθως, με την πρόσδεση του PAF σε κάποιον υποδοχέα του (PAFR) επέρχεται ενεργοποίηση του υποδοχέα, πυροδοτώντας έναν καταρράκτη διεργασιών και την μεταγωγή σημάτων έως την τελική κυτταρική απόκριση. Τα μονοπάτια που ενεργοποιούνται, διαφοροποιούνται βάσει του PAF και των διαφόρων αναλόγων του, αλλά και βάσει κυτάρου στόχου. Σε ένα από τα ενδοκυτταρικά μονοπάτια που εντοπίζεται είναι με την ενεργοποίηση της G πρωτεΐνης με την οποία είναι συνδεδεμένος ο PAFR, στην οποία προκαλείται αναστολή της μετατροπής ATP σε cAMP μέσω του διαμεμβρανικού ενζύμου Αδενυλική κυκλάση (AC). Αποτέλεσμα αυτής της δράσης είναι να χάνεται η δυνατότητα αποτροπής της ενεργοποίησης της Πρωτεϊνικής Κινάσης A (PKA), της οποίας ο ρόλος είναι να απενεργοποιεί τον εκ νέου σχηματισμό PAF (κύκλος του PAF) παράλληλα με την επαγωγή και άλλων λιποειδικών δευτερογενών μεσολαβητών, όπως τα Εικοσανοειδή. Σε μία άλλη πορεία, η ενεργοποίηση του PAFR οδηγεί στην αντίστοιχη ενεργοποίηση της μεμβρανικής Φωσφολιπάσης Cβ (PLCβ) από την G πρωτεΐνη, που ακολούθως θα υδρολύσει την 4,5-διφωσφορική φωσφατιδυλο ινοσιτόλη (PIP2) σε Τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP3) και Διακυλογλυκερόλη (DAG). Σε αυτό το σημείο ενεργοποιούνται τρία επιμέρους μονοπάτια. Το πρώτο είναι της DAG που θα ενεργοποιήσει την Πρωτεϊνική Κινάση C (PKC), η οποία έχει συνδεθεί με αλλαγές στον κυτταροσκελετό (107). Έπειτα, παρουσιάζεται το μονοπάτι της IP3 που επάγει την έξοδο ιόντων ασβεστίου από το ενδοπλασματικό δίκτυο, προκαλώντας την ενεργοποίηση της PKC, αλλά και την ενεργοποίηση δύο ενζύμων που επάγουν τον κύκλο του PAF και απελευθέρωση λιποειδικών μεσολαβητών, το cPLA2 και την Ακετυλοτρανσφεράση της Λυσοφωσφατιδυλοχολίνης (LPCAT). Ένα τρίτο μονοπάτι που εντοπίζεται περνά από την PIP2 ασκώντας ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, μέσα από τα μονοπάτια PI3K/AKT/mTOR και PIP3/Akt/Erk, με έκφραση γονιδίων που αφορούν κυρίως σε βασικές κυτταρικές λειτουργίες (109). Τέλος, με την

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

ενεργοποίηση του PAFR μπορεί ακόμα να ξεκινήσει η επαγωγή του MAPK και του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB, για την γονιδιακή έκφραση παραγόντων που εμπλέκονται στην φλεγμονή και την θρομβογένεση, με την έκφραση κυτταροκινών (IL-1, IL-6 και TNF-α), ιντεγκρινών, εικοσανοειδών, σελεκτινών, ROS και άλλων μορίων. Όσον αφορά το μονοπάτι ενεργοποίησης της PAF-CPT, βρίσκεται ακόμα υπό διερεύνηση (105).

Παράλληλα, ερευνητικά δεδομένα συνδέουν συστατικά της Μεσογειακής διατροφής με ρυθμιστικό ρόλο σε διάφορα επίπεδα της σηματοδότησης, όπως είναι η αναστολή είτε του υποδοχέα PAF-R, είτε των μονοπατιών που επάγουν την περεταίρω βιοσύνθεση PAF, προς το κύριο ένζυμο σύνθεσης με αναδιαμόρφωση, το PAF-AT, ή των cPLA2 και LPCAT, ενώ διαφορετικά φαίνεται να παρεμβαίνουν και στην *de novo* βιοσύνθεση αναστέλλοντας την δράση του PAF-CPT (105).

Οι αλλαγές σε κυτταρικό επίπεδο που αναφέρθηκαν οδηγούν σε έναν αντίστοιχο καταρράκτη ενεργοποίησης μονοπατιών και κυττάρων που συνδέονται με την φλεγμονή. Πρόκειται για αλληλοεπαγόμενες παθολογικές εκδηλώσεις, όπως είναι το οξειδωτικό στρες και η φλεγμονή, φτάνοντας σε χρόνιες φλεγμονώδεις διαταραχές. Για το συγκεκριμένο κομμάτι της επίδρασης του PAF, παρατίθεται εκτενέστερη ανάλυση στην **Εικόνα 14-2** (105).



Tsoupras, Lordan and Zabetakis, *Nutrients*, 2018

Εικόνα 14-2. Στο διάγραμμα καταγράφονται τα ανάλογα καθοδικά αποτελέσματα από την ενεργοποίηση των διαφορετικών οδών μεταγωγής σήματος που μπορεί να προκαλέσει ο PAF στα διάφορα κύτταρα στόχους. **(I)** Οι αλλαγές σε κυτταρικό επίπεδο, με επίκεντρο μονοπάτια φλεγμονής, μπορούν να οδηγήσουν σε ενεργοποίηση λευκοκυττάρων, αιμοπεταλίων και ενδοθηλιακών κυττάρων, κυτταρική κινητικότητα, χημειοταξία, προσκόλληση και μετανάστευση, σε ανατροφοδοτούμενη παραγωγή του PAF, καθώς και σε έκφραση μορίων προσκόλλησης, μεσολαβητών φλεγμονής και αυξητικών παραγόντων. Με την σειρά τους οι συγκεκριμένες εκδηλώσεις προκαλούν Οξειδωτικό στρες, Φλεγμονή, Επαναενεργοποίηση Αιμοπεταλίων και Λευκοκυττάρων, και Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, με όλα τα παραπάνω να ενισχύουν με δικούς τους μηχανισμούς, τις κυτταρικές αλλαγές που τα δημιουργήσαν. **(i)** Το **Στρες** προκαλούμενο από ROS και RNS, ανατροφοδοτεί την έξοδο οξειδωτικών μορίων, με μηχανισμούς όπως των eNOS και της Οξειδάσης της ξανθίνης (XO), ενώ μειώνει την έκκριση του αγγειοδιασταλτικού NO στο ενδοθήλιο. Ακόμα, επάγει τα αυξημένα επίπεδα του PAF προκαλώντας οξείδωση σε φωσfolιπίδια και λιποπρωτεΐνες (πχ. LDL), με αποτέλεσμα την απενεργοποίηση του ενζύμου αποικοδόμησης του PAF, PAF AH. **(ii)** Τη **Φλεγμονή**, όπου παρατηρείται περεταίρω έξοδος μεσολαβητών φλεγμονής, όπως κυταροκίνες, εικοσανοειδή και του ίδιου του PAF, ανατροφοδοτώντας τις επιδράσεις του, καθώς και αυξητικών παραγόντων όπως ο VEGF. **(iii)** Την **Επαναενεργοποίηση αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων**, όπου προκαλείται αύξηση των αιμοπεταλιακών και φλεγμονωδών μεσολαβητών, επικοινωνία λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων, αυξημένη χημειοταξία, κινητικότητα, ισχυρή προσκόλληση και μετανάστευση μονοκυττάρων (105).

Ως επακόλουθο των παραπάνω καταστάσεων προκαλείται **(α) Αγγειακή δυσλειτουργία**, που εκφράζεται με αυξημένη ενδοθηλιακή διαπερατότητα, μειωμένη ικανότητα αγγειοδιαστολής και αύξηση παραγόντων που προκαλούν αγγειοσυστολή. Παράλληλα, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία επάγεται και ανατροφοδοτεί τις αρχικές εκδηλώσεις που προκλήθηκαν στα κύτταρα με την μεταγωγή σήματος του PAF. **(β) Φλεγμονώδεις χρόνιες διαταραχές**, όπως νεφρικές διαταραχές, χρόνιες λοιμώξεις, αθηροσκλήρωση και CVD. Εστιάζοντας στις Καρδιαγγειακές διαταραχές, λόγω της χρόνιας φλεγμονής παρατηρείται σχηματισμός αφρωδών κυττάρων και σταδιακά αθηρωμάτωση, ρήξη της ινώδους κάψας και παραγωγή θρόμβου, καταλήγοντας σε επιπλοκές όπως η στεφανιαία νόσος και το αγγειακό εγκεφαλικό (105).

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

2.3.3.1 Ο ρόλος του PAF στην αθηρωμάτωση

Ο PAF, όπως επισημαίνεται και στον **Πίνακα 1.3**, αποτελεί μεσολαβήτη της φλεγμονής που κατά βάση εκκρίνεται από τα αιμοπετάλια, τα λευκοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η δράση του στην διαδικασία της αθηρωμάτωσης είναι πολλαπλή, καθώς πέραν από μεσολαβητής της φλεγμονής, ενεργοποιεί μόρια του συστήματος πήξης και επιδρά σε πολλά κύτταρα και μηχανισμούς που εμπλέκονται στην διαδικασία αθηρωμάτωσης.

Αρχικά, με την ενσωμάτωση του PAF στις μεμβράνες των ενδοθηλιακών κυττάρων ενεργοποιούνται τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα που βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος, τα οποία έχουν τον υποδοχέα του PAF στην μεμβράνη τους (54). Παράλληλα, με την πρόσδεση του στον υποδοχέα του, ο PAF οδηγεί σε αυξημένη διαπερατότητα του ενδοθηλίου και απελευθέρωση ROS/RNS που έχει σαν επακόλουθο την δυνατότητα εισόδου της LDL στον υποενδοθηλιακό χώρο και την οξείδωση της σε oxLDL (108). Όπως σε μεγαλύτερη έκταση θα αναπτυχθεί και στην συνέχεια, στη σχέση του PAF με την oxLDL, παρατηρείται Vice Versa συνθήκη, όπου ο PAF επάγει την παραγωγή της, ενώ η oxLDL οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων του, καθώς και στην παραγωγή οξειδωμένων φωσfolιπιδίων (oxPLs), που έχουν δυνατότητα πρόσδεσης στους υποδοχείς του PAF, ως λιποειδικά μόρια των οποίων η δράση ομοιάζει του PAF, τα PAF-LL (PAF- Like Lipids) (54).

Επίσης, ο PAF επάγει και την έκφραση μορίων προσκόλλησης των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο, με την έκφραση του υποδοχέα της P-Σελεκτίνης (PSGL-1) στην επιφάνεια του μονοκυττάρου η οποία οδηγεί στην πρόσδεση της P- Σελεκτίνης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Παράλληλα, η αυξημένη σύνθεση χημειοταξικών μορίων στα μονοκύτταρα (πχ. MCP-1, IL-8 και TNF-α) μέσω του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ, ξεκινά τη διαδικασία μετανάστευσης των λευκοκυττάρων στον υποενδοθηλιακό χώρο. Αντίστοιχα, τα μονοκύτταρα με τις ανάλογες αλλαγές σε μόρια πρόσδεσης και σε χημειοταξικότητας, μπορεί να προσδεθεί και σε ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, που εκφράζουν την P-Σελεκτίνη (108).

Όσον αφορά τα ουδετερόφιλα, με την πρόσδεση του PAF στον υποδοχέα του, ενεργοποιούνται, μονοπάτια έκφρασης μορίων προσκόλλησης στην επιφάνειά του

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

κυττάρου, οι β2-ιντεγκρίνες, αλλά και σύνθεσης χημειοταξικών μορίων, επιτρέποντας την πρόσδεση τους σε άλλα κύτταρα στόχους, καθώς και την μετανάστευση τους σε άλλους ιστούς. Παράλληλα, απελευθερώνουν ROS, και ενεργοποιείται η διαδικασία αποκοκκιοποίησης των ουδετερόφιλων, όπου απελευθερώνονται μόρια όπως η ελαστάση που προκαλεί λύση του κολλαγόνου στο ενδοθήλιο με αποτέλεσμα την βλάβη και την αυξημένη διαπερατότητα (54).

Στην ίδια κατεύθυνση, ο PAF προκαλεί την ενεργοποίηση και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, καθώς και την έκφραση μορίων προσκόλλησης για την πρόσδεση των ουδετερόφιλων. Ταυτόχρονα, τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια συνθέτουν περεταίρω PAF (108). Ενώ μία ακόμα σημαντική δράση του PAF, που παρατηρείται σε αγγειακό επίπεδο, αφορά στην πρόκληση αγγειοδιαστολής σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης του, ενώ από την άλλη πλευρά, σε σημαντική αύξηση των επιπέδων του προκαλείται αγγειοσύσπαση (109).

Συνοψίζοντας, ο PAF επάγει συνολικά την έκφραση μορίων προσκόλλησης (σελεκτίνες, ICAM κ.α.), μεσολαβητών φλεγμονής (κυτταροκίνες, εικοσανοειδή κ.α) και αυξητικών παραγόντων (πχ. VEGF), μεσολαβώντας μέσα από πολλές δράσεις που αναφέρθηκαν στην αθηρωμάτωση (105). Παράλληλα, διαμορφώνεται ένας φαύλος κύκλος επαγωγής της φλεγμονής και της αθηρωμάτωσης, με μόρια που άμεσα ή έμμεσα αυξήθηκαν στην περιοχή και εμπλέκονται στην διαδικασία αθηρωμάτωσης, να επάγουν την αύξηση των επιπέδων του PAF, συμπεριλαμβανομένων της θρομβίνης, αγγειοδραστικών μεσολαβητών και προφλεγμονωδών κυτταροκινών (54).

2.3.3.2 Ρυθμιστικοί μηχανισμοί

Οι σημαντικότεροι μηχανισμοί που ρυθμίζουν τα επίπεδα του PAF, και των PAF-LL, σχετίζονται με την βιοσύνθεση του, και συγκεκριμένα την δραστικότητα των ενζύμων βιοσύνθεσης του, καθώς αντίστοιχα και με την δραστικότητα του ενζύμου αποικοδόμησης του PAF, την PAF-AH και τις ισομορφές της (101).

Η de novo πορεία βιοσύνθεσης θεωρείται ότι βρίσκεται σε συνεχή δράση χαμηλής παραγωγής και είναι υπεύθυνη για τη παραγωγή των βασικών επιπέδων PAF. Ίσως εμφανίζει αυξημένη δράση σε καταστάσεις χρόνιας φλεγμονής. Αντίθετα, η βιοσύνθεση μέσω της πορείας ανασχηματισμού, εκτιμάται ότι ενεργοποιείται σε

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

συνθήκες οξείας και χρόνιας φλεγμονής από άλλα προφλεγμονώδη μόρια που παράγονται. Ως προς την de novo βιοσύνθεση, η PAF- CPT αποτελεί το ένζυμο κλειδί, που όταν αυξηθεί η δραστηριότητα του, αυξάνονται τα βασικά επίπεδα του PAF στον οργανισμό, καθώς όπως ειπώθηκε, η de novo βιοσύνθεση είναι διαρκώς ενεργοποιημένη (101). Οσον αφορά την πορεία ανασχηματισμού, in vitro μελέτες, παρουσιάζουν πως το ένζυμο κλειδί αυτής της πορείας η PAF-AT μπορεί να υποστεί ρύθμιση μέσω φωσφορυλίωσης και από αποφωσφυρυλίωσης, με την επίδραση αρκετών διαφορετικών κινασών (CPK, η εξαρτώμενη από την cAMP κινάση/PKA και η p38 MAPK), με την φωσφορυλιωμένη μορφή να αποτελεί την ενεργή μορφή του ενζύμου (99).

Σε συνθήκες οξειδωτικού στρες, χρόνιας και οξείας φλεγμονής, παρατηρείται αύξηση των επιπέδων του PAF, η οποία έκτος από τις μεταβολικές πορείες που περιγράφηκαν προηγουμένως, οφείλεται και σε μη ενζυμική οξείδωση, όπου τα ROS και τα RNS επιδρούν σε φωσφολιπίδια των λιποπρωτεϊνών LDL παράγοντας τα oxPLs (PAF-LL), στην oxLDL. Παράλληλα, τα επίπεδα του PAF μπορούν να αυξηθούν και στην περίπτωση της μείωσης του καταβολισμού του (110). Ένας βασικός μηχανισμός αφορά στο γεγονός πως η LpPLA2 εντοπίζεται κατά βάση στις λιποπρωτεΐνες LDL και σε μικρές ποσότητες στις HDL, παρατήρηση που θα σήμαινε πως η υπερχοληστεριναιμία θα συνδεόταν με μειωμένα επίπεδα του PAF, όμως στην oxLDL μειώνεται η δραστηριότητα του ενζύμου οδηγώντας σε αύξηση των oxPLs και του PAF (111).

Ακόμη, ρυθμιστικός στόχος είναι ο υποδοχέας του PAF και η δυνατότητα διαμόρφωσης συμπλόκου του PAF ή τον PAF-LL με τον PAFR. Αρχικά, στην κυτταρική μεμβράνη ο PAFR είναι ένας στον ανθρώπινο οργανισμό, που παράγεται από δύο πιθανά μεταγγραφα. Το μεν πρώτο εντοπίζεται σε περιφερειακά λευκοκύτταρα και σε κύτταρα που παράγονται από τον μυελό των οστών, ενώ το δεύτερο εντοπίζεται σε άλλα κύτταρα όπως της καρδιάς και των νεφρών, αλλά και σε καρκινικά κύτταρα. Η έκφραση τους ρυθμίζεται από δύο ομάδες μεταγραφικών παραγόντων. Τον υποκινητή γονιδίων 1 (Promoter 1) που διαθέτει θέσεις για τους μεταγραφικούς παράγοντες NF-κΒ, τον αυξητικό παράγοντα ανασχηματισμού (TGF)-β και για το Sp (Specificity protein)-1. Ενώ αντίστοιχα, για τον υποκινητή γονιδίων 2 (Promoter 2) οι θέσεις είναι για τους παράγοντες AP (Activating factor)-2, τα στοιχεία απόκρισης στα οιστρογόνα (ERE), τα Sp1, τα στοιχεία αναστολής του TGF-β (TIE) και τα στοιχεία απόκρισης σε

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

ορμόνες. Επίσης, η δράση του υποδοχέα είναι ρυθμιζόμενη από μηχανισμούς φωσφορυλίωσης από ενδοκυτταρικές πρωτεϊνικές κινάσες (99).

Η δέσμευση του PAF και των PAF-LL στον υποδοχέα έχει παρατηρηθεί πως είναι βέλτιστη όταν το μόριο του PAF φέρει στη θέση sn-1 έναν αιθερικό δεσμό και στην sn2 μία βραχεία αλυσίδα ανθράκων (99).

2.3.3.3 Ανταγωνιστές/ Αναστολείς του PAF

Η ανάδειξη αναστολέων του PAF αποτελεί ήδη από δεκαετίες σημείο ερευνητικού ενδιαφέροντος, με απώτερο σκοπό να μπορέσει να αξιοποιηθεί στην αντιμετώπιση παθολογικών καταστάσεων που σχετίζονται με τα αυξημένα επίπεδα του PAF. Οι αναστολείς μπορεί να δρουν είτε άμεσα στον PAFR είτε έμμεσα επεμβαίνοντας στην μεταγωγή σήματος στον υποδοχέα και στη παραγωγή β' μηνυμάτων (99).

Σε φαρμακευτικό επίπεδο, έχουν συντεθεί αναστολείς του PAF των οποίων η δράση τα κατατάσσει στα αντιφλεγμονώδη φάρμακα. Μέχρι σήμερα έχει απομονωθεί ένας ιδιαίτερα μεγάλος αριθμός μορίων με δράση αναστολέα κατά του PAF, με ένα μέρος αυτών να έχει ελεγχθεί και σε ανθρώπους. Οι αναφερόμενοι αναστολείς μπορούν να αναπτυχθούν ως φυσικοί ή συνθετικοί αναστολείς, αλλά και ως ειδικοί ή μη ειδικοί. Οι ειδικοί αναστολείς είναι εκείνοι που ανταγωνίζονται ως υπόστρωμα τον PAF, ανταγωνιστικά ή μη ανταγωνιστικά, ενώ οι μη ειδικοί αναστολείς του PAF είναι εκείνοι που δρουν καθόλα τα στάδια σηματοδότησης (99).

Σε επίπεδο συνθετικών μορίων, έχουν βρεθεί αρκετοί αναστολείς που κρίθηκαν ασφαλείς και ελέγχθηκαν από μελέτες σε ανθρώπους, όμως ελάχιστοι εξ αυτών επέδειξαν αποτελεσματικότητα στα νοσήματα που δοκιμάστηκαν. Ένα επιτυχημένο παράδειγμα αποτελεί η ρουπαταδίνη (Rupafin), όπου η χορήγησή της είναι ευεργετική σε κάποιες αλλεργίες, όπως η αλλεργική ρινίτιδα, δρώντας ως ανταγωνιστής του υποδοχέα του PAF καθώς και ως ανταγωνιστής του υποδοχέα της ισταμίνης. Από μία άλλη οπτική, ήδη υπάρχοντα φάρμακα έχει φανεί σε *in vitro* και *in vivo* μελέτες πως δρουν και ως ανταγωνιστές του PAF (106).

Περνώντας στους φυσικούς αναστολείς που χρησιμοποιούνται για θεραπευτικούς σκοπούς, κάποιοι βασικοί εκπρόσωποι είναι τα γκιγκολίδια

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

(Ginkgolide), που αποτελούν διτερπένια με ανθρακική αλυσίδα C₂₀, τα λιγνάνια και τα νεολιγνάνια, και τα Glitoxins (Eriopolythiodioxo piperazine). Το γκιγκολίδιο B ή αλλιώς BN52021 είναι ο πιο καλά μελετημένος, και εντοπίζεται στο εκχύλισμα του φυτού Ginkgo Biloba, μαζί με άλλα ομόλογα μόρια, τα γκιγκολίδια A, C και J. Αξίζει να αναφερθεί ότι στο εμπορικό σκεύασμα που κυκλοφορεί εντοπίζονται και αρκετές άλλες ενώσεις, όπως φλαβονοειδή. Έναντι των ομολόγων του, το Ginkgolide B αποτελεί τον πιο δραστικό ανταγωνιστή του PAF για την πρόσδεση στους αιμοπεταλιακούς υποδοχείς PAFR. Στα οφέλη του συμπληρώματος, θετικά ευρήματα υπάρχουν για την χορήγηση του σε συμπτώματα Αλτσχάιμερ, στην αγγειακή άνοια και σε άλλες παθήσεις, με τους ερευνητές να καταλήγουν πως δεν είναι βέβαιο ότι τα οφέλη προήλθαν από το Ginkgolide, και όχι λόγω άλλων συστατικών (99,112).

Συμπερασματικά, η πρόσληψη σκευασμάτων που περιέχουν αναστολείς του PAF φαίνεται πως σε αρκετές περιπτώσεις μπορεί να έχει ευεργετική δράση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.

Κρασί, Φλεγμονή & PAF

3.1 Κρασί και φλεγμονή – Μελέτες παρέμβασης

Συστατικά του κρασιού και ειδικότερα μικρο-συστατικά του με βιοδραστική αξία, παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδη δράση μέσα από συγκεκριμένους διερευνώμενους μηχανισμούς, όπως παραθέτουν κυρίως *in vitro* δεδομένα και περιορισμένες κλινικές μελέτες που επισημάνθηκαν στο **Κεφάλαιο 1**. Παρόλα αυτά, θα πρέπει να αποσαφηνιστεί κατά πόσο όντως η συστηματική χαμηλή έως μέτρια κατανάλωση κρασιού ασκεί δράση σε δείκτες φλεγμονής. Κάποιες μελέτες παρέμβασης έχουν αναφερθεί, ενώ σε μεγαλύτερη έκταση, το σύνολο των σχετικών μελετών που εντοπίστηκαν στην βιβλιογραφία παρουσιάζεται στον **Πίνακα 1.4**. Συνοπτικά, τα ευρήματα των μελετών δεν παρουσιάζουν με απόλυτη συνέπεια την αντιφλεγμονώδη επίδραση του κρασιού. Όμως, η πλειοψηφία των μελετών εντοπίζει τουλάχιστον έναν δείκτη φλεγμονής που μεταβάλλεται σημαντικά από την κατανάλωση κρασιού. Η παρατήρηση αφορά υγιή και παθολογικό πληθυσμό, συμπεριλαμβανομένων και ασθενών ή υψηλού κινδύνου ατόμων για CVD.

Το γεγονός πως κάποια ευρήματα εντοπίζονται αντικρουόμενα, πιθανώς να είναι αποτέλεσμα των διαφορετικών μεθοδολογιών της εκάστοτε μελέτης, καθώς και του βιοδείκτη που επέλεξε να εξετάσει η κάθε ερευνητική ομάδα. Παρά τις διαφοροποιήσεις, η πλειοψηφία των μελετών αναδεικνύει όφελος του κρασιού κατά της φλεγμονής και ειδικότερα σε ποσότητες τουλάχιστον 20 γραμμαρίων αιθανόλης ημερησίως, καθώς και παρέμβασης στις 4 εβδομάδες και άνω. Παράλληλα, θετικά ευρήματα παρουσιάζονται και σε μελέτες που αξιολόγησαν την οξεία επίδραση του κρασιού μεταγευματικά, αλλά σε αδρή σύγκριση των ευρημάτων δεν παρουσιάζεται στον ανάλογο βαθμό.

Μία ακόμα ενδιαφέρουσα παρατήρηση που απορρέει από τον σύνολο των μελετών, έγκυται στην χρήση ομάδας θετικού ελέγχου στην αιθανόλη ή θετικού ελέγχου σε μικρο-συστατικά του κρασιού. Η διαμόρφωση αυτών των ομάδων ωφελεί στην παροχή πληροφοριών σχετικά με την πηγή του οφέλους είτε μέσω της αιθανόλης, είτε μέσω μικρο-συστατικών του κρασιού, ή ακόμα και μέσα από συνεργιστική δράση.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

Παρατηρώντας τα σχετικά ευρήματα των μελετών για την δράση αλκοολούχων ποτών απόσταξης σε σύγκριση με τα ευρήματα για το κρασί, υπάρχουν μελέτες που έχουν εντοπίσει όφελος μόνο στο κρασί (113–115), καθώς και μελέτες που εντόπισαν όφελος και για τις δύο ομάδες, όμως το κρασί παρουσίασε ισχυρότερη δράση και σε περισσότερους δείκτες (51,116). Έτσι, χωρίς να μπορούν ακόμα να προκύψουν απόλυτα συμπεράσματα, εκτιμάται πως το κρασί φέρει αντιφλεγμονώδη δράση η οποία είναι αποτέλεσμα κυρίως μικρο-συστατικών του και λιγότερο της αιθανόλης.

Πίνακας 1.4. Μελέτες παρέμβασης για την δράση του κρασιού σε δείκτες φλεγμονής. RCT: Randomized Clinical Trial, Cross over: Διασταυρούμενη μελέτη, ΚΚ: Κόκκινο κρασί, ΛΚ: Λευκό κρασί, Εβ.: Εβδομάδες, WP: Wash out period (Περίοδος έκπλυσης), McDM= McDonalds dinner meal, ΤΛΚ: Τ- Λεμφοκύτταρα, ΜΚ: Μονοκύτταρα, ΑΠ: Αρτηριακή Πίεση, AST: aspartate aminotransferase, ALP: Alkaline phosphatase.

Δείγμα	Σκοπός της μελέτης	Σχεδιασμός	Διάρκεια	Παρέμβαση	Βασικά ευρήματα	Αναφορά
N=48 (28 Άνδρες, 20 Γυναίκες), 43,6± 10,6 ετών, Υγιείς	Η αξιολόγηση της επίδρασης μέτριας κατανάλωσης κόκκινου κρασιού Σικελίας σε δείκτες φλεγμονής που υποδεικνύουν τον κίνδυνο για CVD	Cross- over RCT	4 Εβ. & WP 4 Εβ.	Ομάδες: Αποχής (<250ml/εβ. Κρασί)+ Μεσογειακού τύπου διατροφή (ΜΔ) Ομάδα ΚΚ (250ml/ ημέρα) + ΜΔ	ΚΚ vs Αποχής: ↓ LDL/HDL, Apo A1, Ινωδογόνο, Παράγοντας πήξης VII, t-PA, PAI, TGFβ1, hsCRP, Ab-LDL _{ox} , ↑ HDL-c, TAC (Συνολικής Αντιοξειδωτική Ικανότητα)	(118)
N=35 Γυναίκες, 38± 8,5 ετών, Υγιείς	Εντοπισμός διαφορετικών επιδράσεων του λευκού και κόκκινου κρασιού σε δείκτες φλεγμονής σε γυναίκες	Cross- over RCT	4 Εβ. & WP 4 Εβ.	Ομάδες: ΚΚ (200ml/ημ. = 20γρ. αιθανόλης) ΛΚ (200ml/ημ.= 20γρ. αιθανόλης) Vs Baseline	ΛΚ: ↑ HDL-c, ↓ sICAM-1, MCP-1, IL-6 & hsCRP ΚΚ: ↑ HDL-c, ↓ sVCAM-1, E- Σελεκτίνη, MCP-1, IL-6 & hsCRP	(119)
30 Άνδρες, 34± 9 ετών, Υγιείς	Αξιολόγηση της αντιφλεγμονώδους επίδρασης της μέτριας κατανάλωσης του μέτριου σε φαινολικό φορτίο λευκού αφρώδους οίνου Cava	Cross- over RCT	4 Εβ. & WP 2 εβ.	Ομάδες: Κρασιού Cava 300ml/ ημ.= 30γρ. αιθανόλης) Τζιν 100ml/ ημ. =30γρ. αιθανόλης) Vs Baseline	Τζιν: ↓ VCAM, E- Σελεκτίνη & P- Σελεκτίνη Cava: ↓ VCAM, E- Σελεκτίνη, P- Σελεκτίνη, CRP, 1 (ICAM-1), IL-6, MCP-1, CD40	(113)

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

N= 88 (31 Άνδρες & 57 Γυναίκες), ετών, Υγιείς	Να εξετάσει το πιθανό όφελος της χορήγησης ενός ποτηριού κόκκινο κρασί ημερησίως στην αντιοξειδωτική ικανότητα, το οξειδωτικό στρες και την φλεγμονή	Παράλληλης παρέμβασης (Μελέτη παράλληλη με cross-over RCT)	4 Εβ. & WP 2 εβ.	Ομάδα ελέγχου: Απέχοντες Ομάδα παρέμβασης: ΚΚ (150ml/ ημ.= 15γρ. αιθανόλης)	Δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές [Εξαίρεση η ΚΚ γυναικών: ↓ γ-γλουτάμυλο-τρανσεφεράσης & (+) IL-1R]	(120)
N=80, 34±1 ετών, Υγιείς	Αξιολόγηση της επίδρασης του ΚΚ στα επίπεδα των πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων (EPCs) στην κυκλοφορία και την βιοδιαθεσιμότητα του NO	RCT	3 Εβ.	Ομάδα ελέγχου: Νερό (100ml) Παρέμβασης: ΚΚ (100 ml/ημ.) Μπύρα (250ml/ ημ.) Βότκα (30ml/ ημ.)	ΚΚ : ↑ EPC, βιοδιαθεσιμότητα του NO ↓ Ασύμμετρη διμεθυλοαργινίνη (ADMA)	(114)
N=67 Άνδρες, 60±8 ετών ↑ ρίσκου για CVD	Η αξιολόγηση της ανεξάρτητης επίδρασης του μικρο-συστατικών του ΚΚ στον κίνδυνο για CVD	Cross- over RCT	4 εβ. & WP 2 εβ.	ΚΚ (272 ml/ημ.= 30γρ. αιθανόλης) Κοκκίνο κρασί ελεύθερο αιθανόλης (ΚΕΑ) (272 ml/ημ.- ίδια ποσότητα πολυφαινόλων με ΚΚ) Τζιν : (100ml/ ημ.=30γρ. Αιθανόλης) Vs Baseline	ΚΚ : ↓ E- Σελεκτίνη, ICAM-1, IL-6, MDC, CD40a, CD40L, IL-16, MCP-1, VCAM-1, Mac-1, LFA-1. ↑ IL-10 ΚΕΑ : ↓ E- Σελεκτίνη, ICAM-1, IL-6, CD40a, CD40L, IL-16, MCP-1, LFA-1 VCAM-1, Mac-1 Τζιν : ↓ E- Σελεκτίνη, ICAM-1, IL-6, MDC, CD40a, CD40L, IL-16, MCP-1, VCAM-1. ↑ IL-10, LFA-1	(121)
N=29 (22 Άνδρες & 7 Γυναίκες), 657±7.9 ετών, Ισχαιμικοί Καρδιοπαθείς ή Εμφραγματίες	Η επίδραση του ΚΚ στο λιπιδαιμικό προφίλ, την αντιοξειδωτική ικανότητα και την κατάσταση των μεμβρανών των ερυθροκυττάρων,	RCT	2 Εβ.	Ομάδα ελέγχου: Νερό 250ml/ημ. Ομάδα παρέμβασης: ΚΚ (250ml/ημ.)	ΚΚ : ↓ Ολικής χοληστερόλης, LDL ↑ Αντιοξειδωτική ικανότητα, ρευστότητα μεμβρανών ερυθροκυττάρων, Όγκος οξυγόνου	(122)

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

	νοσηλευομένων ασθενών με CVD					
N=57, Ασθενείς με Σταφανιαία νόσο	Να εξεταστεί η μακροπρόθεσμη επίδραση του κρασιού και των μικρο- συστατικών του στην φλεγμονή για ασθενείς με CVD	RCT	8 Εβ. (μετρήσεις σε 0, 4 και 8 εβδομάδες)	Ομάδα ελέγχου: Νερό (αποχή από αλκοόλ) ΚΚ: 200 ml/ημ. (ή 27γρ. αιθανόλης) Τσίπουρο: 70ml/ημ. (ή 27 γρ, αιθανόλης)	Τσίπουρο: ↑ TNF-α (παράγόμενο από περιφεριακών Μονοπύρηνα κύτταρα) ΚΚ vs Τσίπουρο: ↓ TNF-α	(115)
N=38 Άνδρες, 68.7 ± 5.4 ετών, ↑ Κινδύνου για CVD	Αξιολόγηση της δράσης παλαιωμένου ΛΚ στα EPCs κυκλοφορίας, στην έκφραση μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο, σε κυτταροκίνες και χημειοκίνες για άτομα υψηλού κινδύνου για ΚΑΝ	Cross-over RCT	3 εβ. & WP. 2 εβ.	Ομάδες: ΛΚ (255ml/ημ. = 30γρ. αιθανόλης) Τζιν (92ml/ημ.= 30γρ. αιθανόλης) Vs Baseline (B)	ΛΚ vs B: ↓ VCAM, ICAM, IL-8, IL-18, IFN- γ, ΤΛΚ CD-40 & CD-31, <i>MK</i> Lfa-1, Mac-1, CD-40, VLA-4, CD-31, CD36, CCR2, ΑΠ & ↑ EPCs, HDL Τζιν vs B: ↓ IFN- γ, ΤΛΚ CD-40, <i>MK</i> Lfa-1, Mac-1, CD-40, VLA-4, CD-31 & ↑ Γλυκόζη, ΟΛ. Χοληστερόλη, LDL, Apo B ΛΚ vs Τζιν: ↓ VCAM, MCP-1, IFN-γ, IL-18, CD31, CCR2, CD40, CD36, ΑΠ & ↑ EPCs, Χρόνος Προθρομβίνης, γGT	(51)
N=24 (19 άνδρες & 5 γυναίκες), Έπασχαν από ΣΔ II, 59,3± 1,1 ετών [& Baseline έλεγχος έναντι των ασθενών N=22 (Άνδρες) Υγιείς εθελοντές, 54,1± 1,4 ετών]	Αξιολόγηση της αντιφλεγμονώδους επίδρασης της αιθανόλης μέσω ρύθμισης ενζύμων παραγωγής εξειδικευμένων μεσολαβητών λύσης της φλεγμονής (SPMs), σε συνδυασμό με μετρήσεις και άλλων βιοχημικών δεικτών κινδύνου για CVD.	Cross-over RCT	4 εβ. (Συνολικά 12 εβ.)	Ομάδα ελέγχου: Νερό Ομάδες παρέμβασης (300ml Άνδρες & 230ml Γυναίκες) ΚΚ ΚΚ άνευ αλκοόλης	Δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές (Μελετήθηκαν SPMs τα και οι F2-isoprostanes)	(123)

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

N=24 (19 άνδρες & 5 μετά-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες), Έπασχαν από ΣΔ II, 59,3± 5,6 ετών	Αξιολόγηση επίδρασης αιθανόλης σε δείκτες κινδύνου για CVD σε ασθενείς με ΣΔ II	Cross-over RCT	4 εβ. (Συνολικά 12 εβ.)	Ομάδα ελέγχου: Νερό Ομάδες παρέμβασης (300ml Άνδρες & 230ml Γυναίκες) ΚΚ ΚΚ άνευ αλκοόλης	ΚΚ vs Νερό: ↑ ΑΠ και Καρδιακούς παλμούς (Δεν υπήρξε επίδραση σε δείκτες φλεγμονής)	(124)
N=123 (85 άνδρες & 61 γυναίκες), 49,3±11,2 ετών, Υγιείς	Διερεύνηση της επίδρασης λευκού και κρασιού σε δείκτες αθηροσκλήρωσης	Μακροπρόθεσμη, πολυεδρική, τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή σύγκρισης (Vino Veritas study)	1 έτος (μετρήσεις 6 & 12 μηνών)	ΚΚ ΛΚ <i>*Δόθηκαν μπουκάλια & σύσταση ημερήσιας κατανάλωσης 200ml <70kg & 300ml >70kg για τις γυναίκες και 300ml για τους άνδρες</i>	12 μήνες ΚΚ vs ΛΚ: ↓ Lp-PLA2 ΚΚ vs baseline: ↓ Lp-PLA2, TC ΚΚ & ΛΚ vs baseline: ↓ LDL, ALP, τάση ↓ γλυκόζης ΛΚ vs baseline: ↑ CRP & τάσεις ↓ TC, Lp-PLA2, AST	(125)
N=87 (30 άνδρες & 57 γυναίκες), 50,2±9,6 ετών, Υγιείς	Αξιολόγηση της επίδρασης του ΚΚ στην λεπτίνη και σε αγγειοδραστικούς παράγοντες για τον έλεγχο της επίδρασης της αιθανόλης στην όρεξη	Cross-over RCT	3 εβ. & χωρίς WP (Συνολικά 6 εβ.)	Ομάδα ελέγχου: Αποχή από αλκοόλ Ομάδα παρέμβασης: ΚΚ (1 ποτήρι- 150 ml/ ημ. ή 15γρ, αιθανόλης)	ΚΚ: ↑ Λεπτίνης (Καμία αλλαγή στους δείκτες ICAM-1, VCAM-1, IL-6, TGF-β)	(126)
N= 40 άνδρες, M.O. 37,6 ετών, Υγιείς	Έλεγχος της επίδρασης αλκοολούχων ποτών σε δείκτες κινδύνου CVD	Cross-over RCT	4 εβ. & WP	Ομάδες: ΚΚ (320ml/ημ. = 30γρ. αιθανόλης) Τζιν (100ml/ημ.= 30γρ. αιθανόλης) Vs Baseline	ΚΚ & Τζιν vs baseline: ↓ Ινωδογόνο & IL-1α ΚΚ vs baseline: ↓ υψηλής ευαισθησίας CPR, VCAM, ICAM, LFA-1, Mac-1, VLA-4, MCP-1	(116)
N=112, ΣΔ II, μετάεμφραγματικές ασθενείς	Αξιολόγηση της επίδραση μέτριας κατανάλωσης ΚΚ σε ήχοκαρδιογραφικές παραμέτρους καρδιακής λειτουργίας,	RCT	1 έτος (Έλεγχι στους μήνες 0,1,3,6,9 &12)	Ομάδα ελέγχου: Αποχή από ΚΚ ή αλκοολούχα ποτά Ομάδα παρέμβασης ΚΚ (118ml/ημ.= 11γρ. αιθανόλης) + ΜΔ συστάσεις	ΚΚ vs Απέχοντες: ↓ Ινσουλίνη νηστείας, HOMA-IR, IL-18, IL-6, CRP, Νιτροτυροσίνη, Αναλογία δείκτη μάζας αριστερής κοιλίας (LMV)/ επιφάνεια σώματος περιοχής (BSA), LMV/ υψος (h ²), ο λόγος της ροής της	(127)

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

	φλεγμονώδη μόρια και την νιτροτυροσίνη (δείκτης οξειδωτικού στρες)				πνευμονικής φλέβας (PVFs/PVFD), ο χρόνος χαλάρωσης της αριστερής κοιλίας (RV-RTm)→ Καλύτερος συγχρονισμός του μυοκαρδίου & ↑ HDL	
N=87 (30 άνδρες & 57 γυναίκες), 50,2± 9,6 ετών, υγιείς	Διερεύνηση του οφέλους της κατανάλωσης ΚΚ κατά των CVD μέσω αντιφλεγμονώδους επίδρασης	Cross-over RCT	3 εβ Χωρίς WP (Συνολικά 6 εβ)	ΚΚ (150ml/ ημ ή 15γρ. αιθανόλης) Αποχή από το αλκοόλ	ΚΚ vs Αποχή: ↓ Ινωδογόνο, (Οι άνδρες είχαν τάση ↑ της CRP)	(128)
N= 18, Μ.Ο 46 ετών, υγιείς (καπνιστές)	Έλεγχος υπόθεσης πως το ΚΚ μπορεί να μειώσει υπεροξειδωση λιπιδίων σε υγιείς καπνιστές	RCT	2 εβ	ΚΚ (375 ml/ημ.) ΚΛ (375 ml/ημ.) ΚΕΑ (500 ml/ημ.)- Ομάδα ελέγχου/ πολυφαινολών	ΚΕΑ vs ΛΚ & ΚΚ: ↓ F2-Ισοπρροστάνη πλάσματος & ↑ β-καροτένιο	(129)
N=36 Γυναίκες, 56,5± 4,2 ετών, υγιείς μετά-εμμηνοπαυσιακές	Διερεύνηση της επίδρασης μέτριας πρόσληψης ΚΚ στην έκφραση του ADIPOQ της αδιπονεκτίνης και του μεταβολισμού της γλυκόζης	RCT	6 εβ.	Ομάδες ΛΚ (250ml/ ημ.=25γρ αιθανόλης) ΧΣ: Χυμός Σταφυλίου (250ml)	ΛΚ vs ΧΣ: ↓ Ινσουλίνη νηστείας, HOMA-IR, LDL, TG & ↑ HDL, ADIPOQ/ARBP mRNA (αδιπονεκτίνη), Αδιπονεκτίνη (υψηλού μοριακού βάρους), Αδιπονεκτίνη νηστείας	(130)
N=72, 56,5± 4,2 ετών, υγιείς	Διερεύνηση της επίδρασης διαφορετικών αλκοολούχων ποτών στην αδιπονεκτίνη, εξετάζοντας παράλληλα και τις διαφορές σε κάθε φύλο	Cross- over RCT	3 εβ. WP: 3 εβ	Ομάδα ελέγχου: ΜΕΑ: Μπύρα ελεύθερη αλκοόλης ΚΕΑ Νερό Ομάδες παρέμβασης: Μπύρα ΚΚ Ποτό = γυναίκες 20γρ. αιθανόλης ή άνδρες 30 γρ. αιθανόλης	Γυναίκες: ΚΚ ↑ Αδιπονεκτίνη Άνδρες: Μπύρα & Ποτό ↑ Αδιπονεκτίνη	(131)

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

N=24, 31± 5,9 ετών, Υγιείς	Η επίδραση του ΚΚ μετά από γεύμα ↑ σε λιπαρά και υδατάνθρακες, ως προς τα επίπεδα της oxLDL και την έκφραση 208 γονιδίων οξειδωτικού στρες (HOSp), του Φλεγμονοσώματος (Hip) και μορίων του μεταβολισμού φαρμάκων	Cross- over RCT	Μετάγευματικά (ελεγχοί 0΄ & 3Ω μετά) & WP 2 εβ.	Γεύμα McDonalds (McDM) McDM + 250 ml ΚΚ ↑ σε Ρεσβερατρόλη (McDM+ ΚΚ) ΚΚ ↑ σε Ρεσβερατρόλη 250ml Vs Baseline (B)	oxLDL ↓ : McDM+ ΚΚ vs McDM, B vs McDM HOSp ↓ : McDM+ ΚΚ vs McDM	(132)
N=13 Άνδρες, 59±7 ετών, Ασθενείς CVD	Διερεύνηση επίδρασης ΛΚ και ΚΚ σε δείκτες φλεγμονής ασθενών με CVD	Cross- over RCT	Μετάγευματικά (ελέγχοι 0΄, 1Ω & 6Ω) WP: 3 μήνες (MAP)	Ομάδες: ΚΚ (4 mL/kg ΣΒ= 2-3 ποτήρια) ΚΛ (4 mL/kg ΣΒ= 2-3 ποτήρια) Ομάδα ελέγχου: MAP : Μη Αλκοολούχο ρόφημα/ χυμός βατόμουρο	ΚΚ vs MAP : ↑ IL-6 (Συνδέθηκε με την ανάλογη αύξηση της αιθανόλης), TG & ↓ HDL	(133)

3.2 PAF και Διατροφή

3.2.1 PAF και Μεσογειακή Δίαιτα

Πολλά βιοδραστικά μόρια εντοπίζονται σε τροφές, παρέχοντας ευεργετικές επιδράσεις κατά ασθενειών, με κάποιες ουσίες εξ αυτών να φαίνεται να δρουν σε λιποειδικά μόρια με ρυθμιστικούς ρόλους στον οργανισμό, όπως μεσολαβητές φλεγμονής. Πληθώρα αυτών των ουσιών εντοπίζεται στα τρόφιμα, και ειδικότερα στα τρόφιμα που περιλαμβάνονται στο πρότυπο της Μεσογειακής διατροφής (πχ. πολυφαινόλες) (117). Εστιάζοντας στον PAF, ως ένα λιποειδικό μόριο, μεσολαβητή της φλεγμονής με ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση CVD, ερευνητικά παρατηρείται περιορισμένος αριθμός μελετών που να εξέτασε την μεσολαβούμενη σχέση του, ως θετική επίδραση της Μεσογειακής διατροφής σε χρόνια νοσήματα, όπως τα CVD. Στο πλαίσιο αυτό, η πρόσληψη πολλαπλών συστατικών με ανταγωνιστική δράση προς τον PAF, που μπορεί να παρέχεται μέσω της διατροφής, ενδεχομένως να είναι αποτελεσματική έναντι των CVD.

Συστηματική ανασκόπηση κατέληξε σε 17 μελέτες που παρείχαν δεδομένα σχετικά με την κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν αναστολείς του PAF, όπου οι 12 εξ αυτών ήταν μελέτες παρέμβασης με συγκεκριμένα τρόφιμα. Παρότι παρατηρήθηκε ασυνέπεια στα ευρήματα, προέκυψε πως κυρίως τα όσπρια, τα δημητριακά, τα λαχανικά, το ψάρι και το κρασί, που είναι ευρέως καταναλωνόμενα τρόφιμα της Μεσογειακής διατροφής, παρείχαν ευεργετική δράση όσον αφορά τον μεταβολισμό του PAF (104).

Εστιάζοντας στο κρασί μεταξύ των τροφίμων της Μεσογειακής Διατροφής, εκτενής αριθμός κλινικών μελετών έχει απομονώσει το αντιφλεγμονώδες όφελος που προσφέρει το κρασί, όπως παρουσιάζεται στον **Πίνακα 1.4**. Συγκεντρωτικά, το κρασί παρουσιάζει αντιφλεγμονώδη δράση, ενώ παράλληλα δεδομένα καταδεικνύουν ότι το κρασί φέρει ουσίες που δρουν ανασταλτικά σε σημεία μεταβολισμού του PAF, γεγονός που σημαίνει ότι η αντιφλεγμονώδης δράση του κρασιού θα μπορούσε να προέρχεται από φυσικούς αναστολείς του PAF που περιέχονται στο κρασί.

3.2.2 Αναστολείς του PAF στο κόκκινο κρασί

Όπως έχει αναλυθεί, η μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού έχει τεκμηριωμένα ευεργετικές επιδράσεις κατά των CVD, που φαίνεται ότι μεσολαβούνται από δράσεις κατά των βασικών παραγόντων πρόκλησης τους, μέσω αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών και αντιθρομβωτικών δράσεων (102). Οι συγκεκριμένες δράσεις φαίνεται πως προέρχονται κατά βάση από τα φυτοχημικά τα οποία περιέχει, συμπέρασμα που μπορεί να προκύψει από παρατηρήσεις που επισημάνθηκαν, όπως η παρατήρηση της ενεργοποίησης διαφορετικών μηχανισμών δράσης μεταξύ κρασιού και αλκοολούχων ποτών απόσταξης (55,56). Παράλληλα, ένα από τα κυρίαρχα μόρια που εμπλέκονται στους μηχανισμούς πρόκλησης των CVD, το οξειδωτικό στρες, τη φλεγμονή και τη θρόμβωση είναι ο PAF, με την υπόθεση που προκύπτει να είναι εάν η δράση των φυτοχημικών του κρασιού κατά των CVD, στηρίζεται στην αναστολή αύξησης των επιπέδων του PAF.

Αρχικά, είναι σημαντικό να αποσαφηνιστεί κατά πόσο μικρο-συστατικά από διάφορες ποικιλίες κρασιού φέρουν ανταγωνιστικές δράσεις έναντι του PAF. Μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας επεδίωξε να αξιολογήσει την επίδραση δέκα ποικιλιών κρασιού, ως προς την αντιοξειδωτική, την αντιφλεγμονώδη και αντιθρομβωτική αποτελεσματικότητα τους, *in vitro*, σε δείγματα αίματος υγιών εθελοντών. Οι δέκα ποικιλίες κρασιού, ήταν μοιρασμένες σε λευκά και κόκκινα κρασιά. Από τα δείγματα κρασιού εκτελεστήκαν απομονώσεις των μορίων, από τα οποία διαμορφώθηκαν πέντε ομάδες εκχυλισμάτων για κάθε τύπο κρασιού. Η TL ομάδα περιλαμβάνει το σύνολο των λιπιδίων, η FI ανθοκυανίνες, η FII κατεχίνες, προκυανιδίνες και κερκετίνες και λιγότερο κάποιες άλλες φλαβονόλες, η FIII περιέχει κυρίως φαινολικά οξέα και κερκετίνη, και η FIV όλα τα υπόλοιπα συστατικά που δεν απομονώθηκαν στις προηγούμενες ομάδες (134).

Στα ευρήματα της μελέτης, το περιεχόμενο σε μικρο-συστατικά μεταξύ ποικιλιών κόκκινων και λευκών κρασιών, επιβεβαίωσε την παρουσία σημαντικά υψηλότερης συγκέντρωσης στο κόκκινο κρασί. Οι σημαντικότερες διαφορές εντοπίστηκαν στην ομάδα εκχυλισμάτων FI, που υποδηλώνει τα σημαντικά υψηλότερα ποσοστά του κόκκινου κρασιού σε συνολικές Ανθοκυανίνες. Ενώ, και για τους δύο τύπους κρασιού οι υψηλότερες συγκεντρώσεις ήταν στις ομάδες FII και FIII, οπότε στις υψηλότερες

συγκεντρώσεις βρέθηκαν οι κατεχίνες, οι προκυανιδίνες, τα φαινολικά οξέα και οι φλαβονόλες, με κυρίαρχη την κερκετίνη (quercetin-3-O-glucoside) (134).

Παράλληλα, τα ευρήματα καταδεικνύουν για το κρασί πως ανεξαρτήτως του χρώματος του, φέρει ισχυρή αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη και αντιθρομβωτική δράση. Εστιάζοντας στις παθολογικές καταστάσεις που αποτελούν το οξειδωτικού στρες, η φλεγμονή και η θρόμβωση, οι μηχανισμοί αυτών, είναι σαφές πως επικοινωνούν μεταξύ τους. Έτσι παρατηρώντας ολιστικά την βιοδραστικότητα των εκχυλισμάτων, προέκυψε ότι τα συνολικά πιο δραστήρια μόρια, περιέχονταν στα εκχυλίσματα FII και FIII για το κόκκινο κρασί. Επικεντρώνοντας το ενδιαφέρον στον PAF, φάνηκε πως η FIII ομάδα εκχυλισμάτων, στην οποία εντοπίζονται φαινολικά οξέα και η κερκετίνη, παρουσιάζει αντι-αιμοπεταλιακή δράση, έναντι της συσσώρευσης αιμοπεταλίων που προκαλεί ο PAF, καθώς επίσης, αντίστοιχη επίδραση εντοπίστηκε για την ADP και το Κολλαγόνο. Παράλληλα, οι παρατηρήσεις της μελέτης που έγιναν για την ρύθμιση μηχανισμών των αναφερομένων παθολογικών καταστάσεων από τα διάφορα εκχυλίσματα, δεν επισημαίνουν συγκεκριμένη σύνδεση με το PAF. Όμως, αλλαγές σε παράγοντες που εντοπίστηκαν όπως στα επίπεδα κυτταροκινών, θα μπορούσαν να συνδεθούν με ρυθμιστικές επιδράσεις που αφορούν την παραγωγή του PAF (134).

Σε προηγούμενη κλινική μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας, επιδιώχθηκε η εξέταση της ενδεχόμενης επίδρασης του κόκκινου κρασιού μεταγευματικά, στην δραστικότητα των ενζύμων του μεταβολισμού του PAF, σε συνδυασμό με την προκαλούμενη από τον PAF, συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Η μελέτη ήταν διασταυρούμενη, με 4 ομάδες, τις ομάδες κόκκινου κρασιού (Cabernet Sauvignon), λευκού κρασιού (Robola) και διαλύματος αιθανόλης, καθώς και της ομάδας ελέγχου με το νερό. Έγιναν λήψεις αίματος πριν και μετά το παρεχόμενο γεύμα και την κατανάλωση του ποτού, με το πρωτόκολλο να ολοκληρώνεται από 10 υγιείς άνδρες. Τα ευρήματα της μελέτης κατέδειξαν σημαντική μεταγευματική επίδραση του κρασιού στα επίπεδα του EC_{50} του PAF, που ως δείκτης εξέφραζε την απαιτούμενη ποσότητας του PAF για να επιτευχθεί το 50% της μέγιστης συσσώρευσης αιμοπεταλίων, μετά την κατανάλωση των διαφορετικών ποτών. Συγκεκριμένα, το κόκκινο κρασί στα 150 λεπτά είχε υψηλότερα επίπεδα την EC_{50} (δηλαδή μικρότερη ικανότητα των αιμοπεταλίων να συσσωρεύονται έναντι του PAF) σε σχέση με τις άλλες ομάδες, που εξασθενούσε σταδιακά, όπου στα 210 λεπτά, υπήρχε σημαντική διαφορά μόνο προς την ομάδα

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

ελέγχου, που σταδιακά επίσης χάθηκε. Αντίστοιχη εικόνα αποτυπώθηκε και στην μεταγευματική καμπύλη EC_{50} του PAF, με την ομάδα του κόκκινου κρασιού να παρουσιάζει υψηλότερα επίπεδα από τις ομάδες αιθανόλης και νερού, γεγονός που διαχωρίζει την επίδραση αυτή, από εκείνη της αιθανόλης. Αντίθετα, δεν φάνηκε επίδραση της κατανάλωσης κρασιού για τους παράγοντες του συστήματος πήξης, PAI-I, παράγοντα πήξης VII και το Σύμπλεγμα θρομβίνης- αντιθρομβίνης (TAT). Σημαντικό όφελος του κρασιού εντοπίστηκε στα μεταγευματικά επίπεδα τριγλυκεριδίων, το οποίο φάνηκε να είναι ανεξάρτητο αποτέλεσμα από την αιθανόλη του κρασιού (135).

Επίσης στην ίδια μελέτη εξετάστηκε η επίδραση στα ένζυμα του μεταβολισμού του PAF και συγκεκριμένα στα ένζυμα βιοσύνθεσης της PAF-CPT και της PAF-AT στα λευκοκύτταρα, όπως και για το ένζυμο αποικοδόμησης του, η LpPLA2 στο πλάσμα (ισομορφή της PAF-AH), καθώς και στα επίπεδα της IL-6 ως πρωτεϊνικό δείκτη φλεγμονής. Στα ευρήματα της μελέτης φάνηκε πως μεταγευματικά η δραστηριότητα των ενζύμων βιοσύνθεσης του PAF αυξάνεται, παρατήρηση που μπορεί να συνδεθεί με την εντοπισμένη από παλαιότερες μελέτες, αύξηση της φλεγμονής μεταγευματικά. Εστιάζοντας στην δράση του κρασιού, εντοπίστηκε μείωση της δραστηριότητας των ενζύμων βιοσύνθεσης μεταγευματικά, σε σημαντικά υψηλότερο επίπεδο από την επίδραση της αιθανόλης. Επιπλέον, δεν εντοπίστηκε σημαντική επίδραση στην LpPLA2. Όσον αφορά την IL-6, ως δείκτη φλεγμονής, το κόκκινο κρασί μείωσε σημαντικά τα επίπεδα της στα 180 και 240 λεπτά μεταγευματικά, σε σύγκριση με την ομάδα αιθανόλης (136).

Συμπερασματικά, το κόκκινο κρασί αποτελεί τρόφιμο που φέρει βιοδραστικά μόρια τα οποία παρέχουν αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιθρομβωτικές επιδράσεις, με τον κύριο μηχανισμού του οφέλους να μην είναι ακόμα σαφής. Αντίστοιχα, ο Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων αποτελεί ένα ιδιαίτερα σημαντικό μεσολαβητή φλεγμονής και θρομβογένεσης, με τον συγκεκριμένο μεσολαβητή να εξετάζεται ως ο υποψήφιος βασικός στόχος ενώσεων που εντοπίζονται στο κρασί, δικαιολογώντας τα αναφερόμενα οφέλη του. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει πως συστατικά του κρασιού δρουν ως αναστολείς του PAF, μειώνοντας την δραστηριότητα ενζύμων βιοσύνθεσης του. Οι κλινικές μελέτες της ερευνητικής μας ομάδας που επισημάνθηκαν, επικεντρώθηκαν στην άμεση μεταγευματική απόκριση

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

των δεικτών βιοσύνθεσης του PAF μετά την κατανάλωση κρασιού, σε δείγμα υγιών ανδρών. Έτσι, το ερευνητικό κενό που εντοπίζεται, αφορά στην επίδραση της μακροχρόνιας κατανάλωσης κρασιού, σε μεγαλύτερο δείγμα, με παθολογικούς εθελοντές, πάσχοντες από καρδιαγγειακό νόσημα που σχετίζεται με αύξηση των επιπέδων του PAF.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της μελέτης μας ήταν η διερεύνηση της μακροχρόνιας επίδρασης της μέτριας κατανάλωσης κρασιού σε ένζυμα βιοσύνθεσης του PAF, σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε μονά τυφλή, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη κλινική δοκιμή, διάρκειας οκτώ εβδομάδων. Συγκεκριμένα, επιδιώξαμε να ελέγξουμε την επίδραση μικρο-συστατικών του κρασιού αναστολέων του PAF, ανεξάρτητα από την αιθανόλη, σε στοχευμένα ένζυμα βιοσύνθεσης του PAF (PAF-CPT & PAF-AT), σε πληθυσμό που αναγνωρισμένα φέρει αυξημένα επίπεδα του PAF, σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

5.1 Βιοηθική

Η παρούσα μελέτη διενεργήθηκε βάση των αρχών Βιοηθικής για ανθρώπους και ζώα, όπως ορίζει η Εθνική Επιτροπή Βιοηθικής και η ελληνική νομοθεσία. Τηρήθηκαν όλα τα προαπαιτούμενα της Διακήρυξης του Ελσίνκι (1989), έχοντας προχωρήσει σε ενημέρωση των εθελοντών για τον σκοπό της μελέτης, και έχοντας λάβει εγγράφως την συγκατάθεση τους για να συμμετάσχουν. Παράλληλα, βεβαιώνεται πως δεν υπάρχει προς δήλωση καμία σύγκρουση συμφερόντων για την διεξαγωγή της μελέτης.

5.2 Συλλογή δείγματος

Για την μελέτη απομονώθηκαν 71 άνδρες, πάσχοντες από Στεφανιαία Νόσο, όπου οι 64 συμμετείχαν καταληκτικά, και τυχαιοποιημένα μοιράστηκαν στις τρεις ομάδες παρέμβασης, όπως παρουσιάζεται στην **Εικόνα 16**. Οι εθελοντές συλλέχθηκαν μέσα από τα καρδιολογικά τμήματα των νοσοκομείων, «Τζάνειο», «Η Σωτηρία», «Θριάσιο» και το «Ωνάσειο» Καρδιοχειρουργικό Κέντρο. Κατά τη διάρκεια της συμμετοχής τους στη μελέτη, βρισκόντουσαν υπό την παρακολούθηση καρδιολόγων.

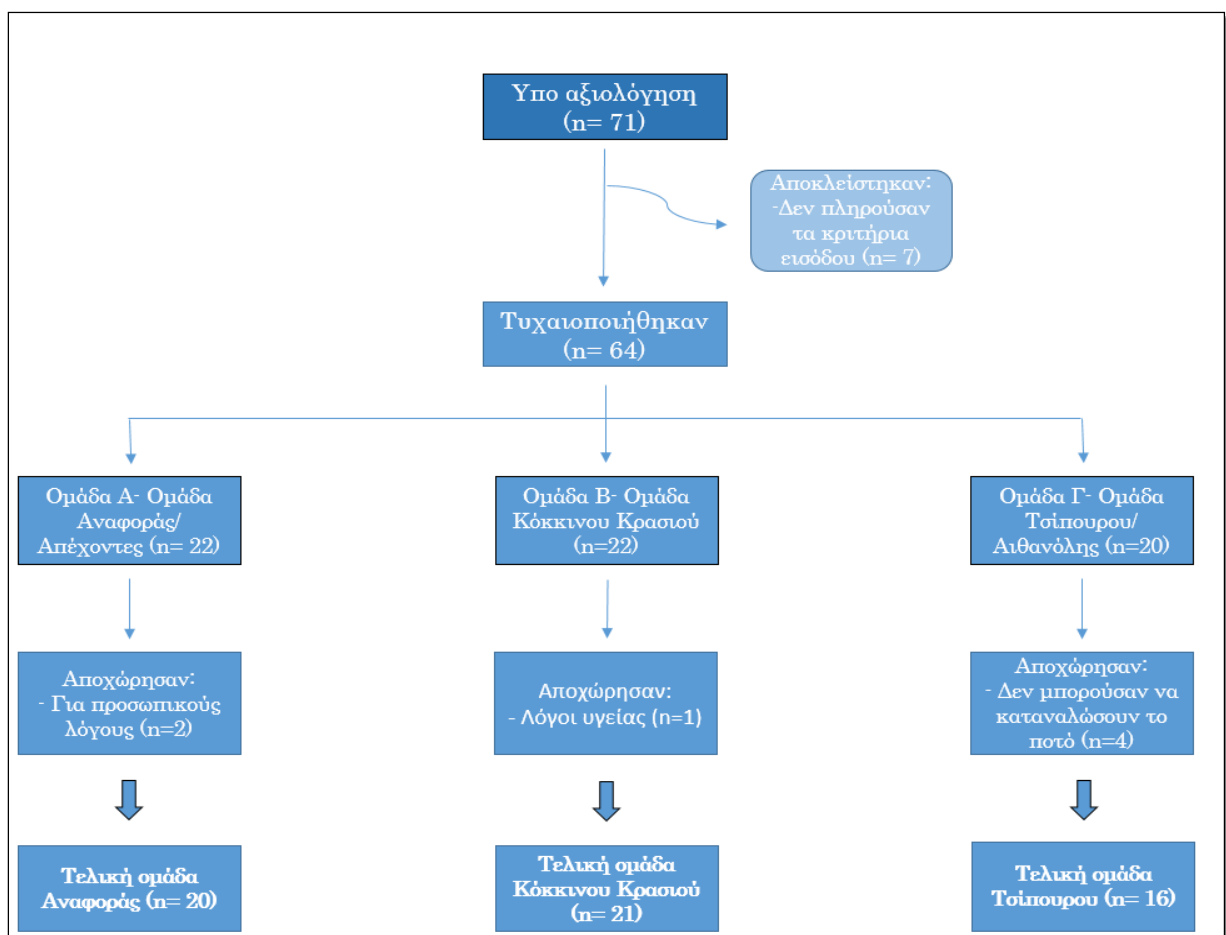
Κριτήρια εισόδου και αποκλεισμού των συμμετεχόντων στην μελέτη:

- Βασικό προαπαιτούμενο ήταν να είναι ασθενείς με διαγνωσμένη στεφανιαία νόσο. Για την διάγνωση απαιτήθηκε στεφανιογραφία Coro, με εντοπισμένη στένωση ανώτερη του 50%. Εναλλακτικά, χωρίς την προσκόμιση της στεφανιογραφίας, απαιτούνταν κλινικά σημεία στηθάγχης ή δύσπνοιας, σε συνδυασμό με θετικά ευρήματα σε υπέρηχο triplex υπό την χρήση δοβουταμίνης (Dobutamine), δυναμικό σπινθηρογράφημα μυοκαρδίου με θάλιο ή τεστ κοπώσεως. Σε διαφορετική περίπτωση, κριτήριο αποτέλεσε το ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

- Η συνήθης κατανάλωση αλκοόλ απαιτούνταν να μην υπερβαίνει τα 10- 28 γραμμάρια αιθανόλης εβδομαδιαία.
- Αποκλείστηκαν όσοι έπασχαν από φλεγμονώδη νοσήματα πέραν της Στεφανιαίας νόσου, όπως γρίπη, ηπατοπάθειες, νεφροπάθειες, πνευμονοπάθειες, καθώς και σε περίπτωση αλκοολισμού.

Ο αριθμός των απαραίτητων για την μελέτη εθελοντών αποφασίστηκε μέσω power analysis που κατέδειξε ως επαρκείς εθελοντές για την εύρεση στατιστικά σημαντικών αποτελεσμάτων, τους >14 εθελοντές ανα σχηματισμένη ομάδα. Οι επιπλέον εθελοντές αποσκοπούσαν σε αύξηση της αξιοπιστίας των ευρημάτων και ενδεχόμενες αποχωρήσεις από την μελέτη μέχρι το τέλος της παρέμβασης.



Εικόνα 16. Διάγραμμα ροής της παρέμβασης.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

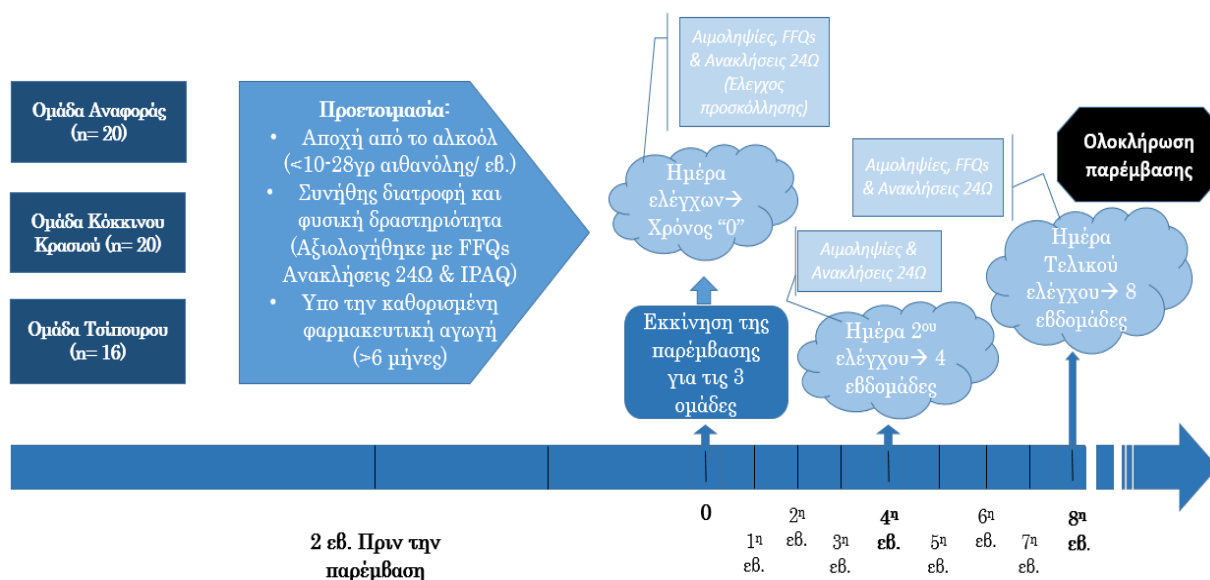
5.3 Σχεδιασμός μελέτης

Η μελέτη ήταν κλινική, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη και μονά τυφλή. Διαμορφώθηκαν τρεις ομάδες σε διάρκεια παρέμβασης 8 εβδομάδων. Οι ομάδες ήταν εκείνη της πλήρους αποχής από το αλκοόλ, ως ομάδα αναφοράς (Ομάδα 0), η ομάδα (Ομάδα 1) που κατανάλωνε 200ml κόκκινο κρασί ποικιλίας Cabernet Sauvignon κτήμα Χατζημιχάλη (13,5% v/v) και η τρίτη ομάδα (Ομάδα 2) που κατανάλωνε 72ml τσίπουρο «Το παρεάκι» της ποτοποιίας Camari (38% v/v), με τις δύο ομάδες να φτάνουν τα 27 γραμμάρια αιθανόλης ημερησίως. Οι εθελοντές ήταν υποχρεωμένοι να καταναλώσουν μόνο τα χορηγούμενα από την μελέτη αλκοολούχα ποτά για τις περιπτώσεις των ομάδων του κρασιού και του τσίπουρου, τα οποία συστήθηκε η κατανάλωση τους μαζί με τα κύρια γεύματα. Η μελέτη ήταν μονά τυφλή από πλευράς των ερευνητών, αφού δεν ήταν γνωστό ποια δείγματα άνηκαν στην εκάστοτε ομάδα.

Για την παρακολούθηση μεταβολών στην συνήθη διατροφή και προσκόλληση στις οδηγίες για πρόσληψη αλκοολούχων ποτών, έμπειρος διαιτολόγος διενήργησε 9 τηλεφωνικές ανακλήσεις 24ώρου, ενώ οι εθελοντές υποβλήθηκαν σε επικυρωμένο Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων (FFQs) στην έναρξη και στο τέλος της παρέμβασης (137). Από τα διατροφικά δεδομένα που συλλέχθηκαν εκτιμήθηκε η προσκόλληση των συμμετεχόντων στην Μεσογειακή διατροφή μέσω του δείκτη προσκόλλησης MedDietScore (138). Επίσης, από τα ληφθέντα δεδομένα εκτιμήθηκε η διατροφική πρόσληψη σε συγκεκριμένες ομάδες τροφίμων, καθώς και σε ενεργειακή πρόσληψη, μακροθρεπτικά και μικροθρεπτικά συστατικά μέσα από το διατροφικό λογισμικό Nutritionist Pro (έκδοσης 2.2, Axxya Systems). Πέραν της διατροφής, αξιολογήθηκε και φυσική δραστηριότητα, μέσω της επικυρωμένης σύντομης εκδοχής του IPAQ (international physical activity questionnaire), υπολογίζοντας τα MET των δραστηριοτήτων και την διάρκεια (λεπτά) ανά εβδομάδα (139). Επίσης, στην διάρκεια των 8 εβδομάδων εκτελέστηκαν τρεις λήψεις δειγμάτων αίματος, στην έναρξης της παρέμβασης με τα δεδομένα του χρόνου «0», στην 4η εβδομάδα και στο τέλος παρέμβασης, στην 8η εβδομάδα.

5.4 Προετοιμασία συμμετεχόντων

Όπως σχηματίζεται και στο διάγραμμα ροής της **Εικόνας 17**, συνολικά η μελέτη ήταν διάρκειας 10 εβδομάδων, εκ των οποίων ο χρόνος παρέμβασης ήταν 8 εβδομάδες, της οποίας προηγήθηκε η περίοδος έκπλυσης (wash out period) 2 εβδομάδων. Στις 2 εβδομάδες οι συμμετέχοντες απέχχαν από το αλκοόλ (10-28γρ αιθανόλης εβδομαδιαίως), ώστε να βρεθούν σε ανάλογη μεταξύ τους κατάσταση. Παράλληλα, αξιολογήθηκαν διατροφικά και ως προς την φυσική τους δραστηριότητα, μέσω FFQs, διατροφικών ανακλήσεων 24 ωρών και ερωτηματολόγια φυσικής δραστηριότητας (σύντομη εκδοχή- IPAQ), ενώ τους ζητήθηκε να κρατήσουν την ρουτίνα διατροφής και άσκησης τους. Ακόμη, όλοι οι συμμετέχοντες απαιτήθηκε να βρίσκονται σε σταθερή φαρμακευτική αγωγή για διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών. Τα φάρμακα που έλαβαν οι συμμετέχοντες καταγραφηκαν και ήταν κατηγορίας αντιυπερτασικών (πχ. Lopressor), αντιθρομβωτικών (πχ. Clopidogrel) και αντιχοληστεριναιμικών (πχ. Rosuvastatin) φαρμάκων.



Εικόνα 17. Διάγραμμα πειραματικού σχεδιασμού.

5.5 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

Τα ανθρωπομετρικά στοιχεία που συλλέχθηκαν ήταν ο Δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ), με τον υπολογισμό του βάρους (kg) προς το ύψος στο τετράγωνο (m²), αφού

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

ελήφθησαν το βάρος που μετρήθηκε με ψηφιακή ζυγαριά ($\pm 0,1\text{ kg}$), και το ύψος με την χρήση αναστημόμετρου σε εκατοστά (εκτιμώμενη απόκλιση $\pm 0,1\text{ εκ.}$) με την τοποθέτηση της κεφαλής στο οριζόντιο επίπεδο Φρανκφούρτης (horizontal Frankfurt plane). Η μέτρηση βάρους και ύψους έγινε χωρίς υποδήματα και με ελαφρύ ρουχισμό. Επίσης μετρήθηκε η περίμετρος μέσης ($\pm 0,1\text{ εκ.}$) στο μέσο μεταξύ του χαμηλότερου πλευρού και της υπερλαγόνιας προεκβολής. Επίσης, μετρήθηκε η ΑΠ, τρεις φορές, στον δεξιό βραχίονα, ενώ ο συμμετέχοντας βρισκόταν σε καθιστή θέση.

5.6 Συλλογή δειγμάτων αίματος και έλεγχοι

Ελήφθησαν δείγματα σε 3 χρόνους (0, 4 και 8 εβδομάδες), μετά από νηστεία 12 ωρών, από τις 8 έως τις 10πμ.. Τα δείγματα αναλύθηκαν αρχικά για βιοχημικούς δείκτες. Όσον αφορά δείκτες γενικών εξετάσεων αίματος, αναλύθηκαν με την χρήση αιματολογικού αναλύτη Mindray BC-3000 (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co.) σε ολικό αίμα με το αντιπηκτικό EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid), ενώ ο ορός και το πλάσμα απομονώθηκαν και καταψύχθηκαν άμεσα ($-80\text{ }^{\circ}\text{C.}$)

Στα βιολογικά δείγματα έχουν επίσης μετρηθεί κλασικοί βιοχημικοί δείκτες και δείκτες φλεγμονής.

5.7 Χειρισμός δειγμάτων και προσδιορισμός ενζυμικής δραστηριότητας

5.7.1 Λήψη ομογενοποιημένων λευκοκυττάρων

Υλικά και αντιδραστήρια

1. Ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (50mM) με pH 7.4 διατηρημένο στους 4 $^{\circ}\text{C.}$
2. Διάλυμα δεξτράνης 2%
3. Ρυθμιστικό διάλυμα λύσης των ερυθροκυττάρων (lysis buffer):
Διαλύονται 8,29 g NH_4Cl , 1,0012 g KHCO_3 και 0,038 g EDTA σε 1 L απιονισμένο νερό
4. Υλικά και εξοπλισμός: Vacutainer με ηπαρίνη, φυγόκεντρος, λουτρό υπερήχων (Sonicator), erppendorfs, αναδευτήρας (vortex), χρονόμετρο, πιπέτες και tips.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

Πειραματική πορεία

Τα λευκοκύτταρα εντοπίζονται ένζυμα βιοσύνθεσης του PAF (PAF-CPT & PAF-AT). Μετά την λήψη αίματος, σε δείγμα 6ml ξεκίνησε η διαδικασία απομόνωσης των λευκοκυττάρων. Αρχικά το δείγμα τοποθετήθηκε σε vacutainer που περιείχε την αντιπηκτική ηπαρίνη. Κατόπιν, το δείγμα πέρασε σε σωλήνα με την παρουσία 2ml διαλύματος δεξτράνης (3%) και ακολούθησε αναμονή 40'. Έπειτα ελήφθη το υπερκείμενο και τοποθετήθηκε σε νέο σωλήνα, για να ακολουθήσει φυγοκέντρηση (500X γρ.) για 10', όπου με την ολοκλήρωση της έγινε η λήψη και απόρριψη του υπερκείμενου. Στο υπόλοιπο διάλυμα προστέθηκαν 6ml Lysis buffer, ώστε να προκληθεί λύση των ερυθρών κυττάρων. Μετά από αναμονή 5', έγινε εκ νέου φυγοκέντρηση για 10' (500X γρ.). Στο τέλος της, και πάλι απορρίφθηκε το υπερκείμενο. Σε αυτή τη φάση προστέθηκε 1ml Tris-HCl (50mM) με pH 7.4, για αναδιάλυση του ιζήματος που διαμορφώθηκε. Ύστερα, υπό χαμηλή θερμοκρασία, το διάλυμα τοποθετήθηκε τέσσερις φορές στο λουτρό υπερήχων Sonicator για 10'', με ενδιάμεσα διαλύματα 30'', ώστε να μην αυξηθεί υπερβολικά η θερμοκρασία. Τέλος, εκτελέστηκε και τρίτη φυγοκέντρηση 10' (500X γρ.) σε χαμηλή θερμοκρασία (4 °C), με το αποδιδόμενο υπερκείμενο να λαμβάνεται και να απόθηκεύεται στους -80°C.

5.7.2 Ποσοτικός προσδιορισμός πρωτεϊνών (PAF-CPT & AT) (140)

Υλικά και αντιδραστήρια

1. Διάλυμα Bradford φύλαξης (stock), που περιείχε 100mg της χρωστικής Coomassie Brilliant Blue G250, διαλυμένης σε 50mL μεθανόλης, στο οποίο τοποθετήθηκαν 100mL διαλύματος H₃PO₄ (85%) και υπέστη αραίωση με νερό ώστε να φτάσει τα 200ml διαλύματος (συγκεντρώσεις 25% μεθανόλη, 42,5% H₃PO₄ και 0,5 mg/mL χρωστική blue G250).
2. Διάλυμα εργασίας Bradford, το διάλυμα φύλαξης διαλύθηκε 1:5 σε νερό.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

3. Διάλυμα αλβουμίνης βοείου ορού (BSA) εργασίας (working) 0,025 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, το πρότυπο διάλυμα BSA 100 $\mu\text{g}/\text{mg}$ με αραιώση 1:4 σε νερό.
4. Απεσταγμένο νερό
5. Υλικά και εξοπλισμός: Φασματοφωτόμετρο Elisa reader Tecan Sunrise Remote F03930, μικροπλάκα 96 πηγαδιών, χρονόμετρο, eppendorfs, αναδευτήρας (vortex), αυτόματη πιπέτα πολλαπλών καναλιών, αυτόματη πιπέτα 10-100 μL και tips.

Πειραματική πορεία

Μετά την λήψη του ομογενοποιημένου λευκοκυττάρων, από το δείγμα απομονώθηκε το πρωτεϊνικό μέρος με τη μέθοδο Bradford (Bradford protein assay), που αποτελεί φασματοσκοπική τεχνική, στην οποία έγινε χρήση της ειδικής χρωστικής Coomassie Brilliant Blue G250. Αρχικά, εκτελέστηκε αραιώση των δειγμάτων ομογενοποιημένων λευκοκυττάρων με απεσταγμένο νερό σε αναλογία 1:20 και τοποθετήθηκαν 50 μL διαλύματος εργασίας Bradford. Τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε μικροπλάκα και μετά από 10' χρόνου επώασης εκτελέστηκε η φασματοφωτομέτρηση σε μήκος κύματος 595nm. Παράλληλα, στην μικροπλάκα μεταφέρθηκαν διαλύματα πρότυπης ποσότητας BSA εργασίας (διαλυμένο σε νερό), ώστε να χρησιμοποιηθούν ως καμπύλη προσδιορισμού πρωτεΐνης.

5.7.3 Προσδιορισμός ενζυμικής δραστηριότητας των PAF-AT & PAF-CPT

Το δείγμα ομογενοποιημένων λευκοκυττάρων τοποθετήθηκε το απαραίτητο υπόστρωμα και διαμορφώθηκε το βέλτιστο περιβάλλον ανάλογα με το ένζυμο που επιδιώχθηκε να αξιολογηθεί. Ακολούθως, η δραστηριότητα μετρήθηκε από την ποσότητα παραγόμενου PAF, σε συνθήκες αρχικής ταχύτητας, δηλαδή σε παραγωγή προϊόντος (PAF) κάτω του 20% για το εκάστοτε ένζυμο. Ο εντοπισμός του παραγόμενου PAF έγινε μέσω της μεθόδου συζευγμένης υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (LC-MS).

5.7.3.1 Διαδικασία προσδιορισμού της δραστηριότητας AT (141)

Υλικά και αντιδραστήρια

1. Ρυθμιστικό διάλυμα: Tris-HCl (50 mM) με pH 7.4 και 5μL CaCl₂ (80mM).. Για το διάλυμα Tris-HCl (50 mM) με pH 7.4, έγινε διάλυση 0,605γρ. tris σε νερό και κατόπιν ρύθμιση του pH με HCl 1 M για να φτάσει στο 7.4 με τον τελικό όγκο να διαμορφώνεται με αραίωση του διαλύματος σε 100ml νερό.
2. Οργανικοί διαλύτες: Χρησιμοποιήθηκαν Χλωροφόρμιο, Μεθανόλη, Οξικό οξύ και Ακετόνη (όλα αναλυτικής καθαρότητας)
3. Απεσταγμένο νερό.
4. Διάλυμα φύλαξης (stock) lyso-PAF 2,5 mg/mL. Παρήχθη με διάλυση 10mg lyso-PAF σε 4mL μεθανόλης.
5. Διάλυμα BSA 10mg/ml, όπου διαλύθηκαν 100mg BSA (ελεύθερο λιπαρών οξέων) διαλύθηκαν σε 10mL Tris-HCl (50 mM) pH 7.4.
6. Διάλυμα εργασίας (working) lyso-PAF και BSA 10mg/ml (800μM). Αναλυτικά, σε κάθε πείραμα εκτελούνταν εξάτμιση διαλύματος lyso-PAF με αέριο άζωτο συνεχούς ροής, και αναδιάλυση του ιζήματος με 10mg/ml BSA. Στο τελικό διάλυμα κάθε σωλήνα υπολογιζόταν πως περιείχε συγκέντρωση 20μM lyso-PAF και 0,25mg/ml BSA, από την προσθήκη 5μL διαλύματος εργασίας.
7. Διάλυμα ακετυλο-CoA 20mM σε Tris-HCl (50 mM) pH 7.4, όπου 25mg ακετυλο-CoA τοποθετήθηκαν σε 1,540 mL τους Tris-HCl.
8. Υλικά και εξοπλισμός: Υδατόλουτρο, αέριο άζωτο, φυγόκεντρος, erppendorfs (5810R), γυάλινοι σωλήνες, αναδευτήρας (vortex), πιπέτες (1-10, 10-100, 100-1000 μL), tips, χρονόμετρο, πουάρ και σιφώνια.

Πειραματική πορεία

Διαμορφώθηκε ένα μίγμα 150μL που περιείχε το ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (50 mM) με pH 7.4 και 5μL CaCl₂, 5μL του lyso-PAF εργασίας, και 2μL διάλυμα ακετυλο-CoA (200mM με Tris-HCl 7.4). Πριν ξεκινήσει η ενζυμική αντίδραση, στο μίγμα έγινε η προσθήκη ποσότητας Tris-HCl (50 mM) με pH 7.4, που η ακριβής του ποσότητα κυμαινόταν βάση της απαιτούμενης ποσότητας δείγματος εθελοντή ώστε να ληφθούν 10μg πρωτεΐνης, φτάνοντας καταληκτικά να προστεθούν 50μL διαλύματος. Έτσι,

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

διαμορφώθηκε το τελικό διάλυμα των 200μL. Το μίγμα πριν την προσθήκη του δείγματος, τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο στους 37 °C, όπου με την προσθήκη του δείγματος παρέμεινε για επώαση στο υδατόλουτρο για 10'. Η διακοπή της ενζυμικής αντίδρασης στα 10' έγινε με την χρήση 1 mL χλωροφόρμιου/μεθανόλης 1:1 (2% οξικό οξύ). Στην συνέχεια για τον διαχωρισμό των λιποειδών του δείγματος έγινε χρήση της μεθόδου Bligh-Dyer με όξινη εκχύλιση (142), τοποθετώντας στο διάλυμα 1mL χλωροφόρμιο/μεθανόλη 1:1 και 0,7mL απεσταγμένο νερό. Ακολούθησε φυγοκέντρηση (2000rpm/min.), όπου διαμορφώθηκαν δύο φάσεις, και παρελήφθη το χλωροφορμιακό μέρος στο οποίο παρουσιάζονται τα λιποειδή μόρια του δείγματος. Τοποθετήθηκε εκ νέου χλωροφόρμιο για «ξέπλυμα» του δείγματος, επαναλήφθηκε η φυγοκέντρηση και ελήφθη εκ νέου το χλωροφορμικό μέρος, που προστέθηκε στην προηγούμενη ληφθείσα ποσότητα. Ακολούθησε η προετοιμασία του δείγματος για να ποσοτικοποιηθεί ο PAF στο LC-MS.

5.7.3.2 Διαδικασία προσδιορισμού της δραστικότητας της CPT (143)

Υλικά και αντιδραστήρια

1. Ρυθμιστικό διάλυμα: Tris-HCl (100 mM) pH 8.0, EDTA (0,5 mM), MgCl₂ (10 mM) και DTT (15mM). Αναλυτική σύσταση διαλύματος περιελάμβανε Tris 1,211γρ., MgCl₂ 0,2033γρ., EDTA 0,0146γρ. και DTT 0,2313γρ., μαζί με απεσταγμένο νερό. Για την διαμόρφωση του διαλύματος με pH 8.0, έγινε ρύθμιση με προσθήκη HCl (1M). Στο τελικό διάλυμα έγινε αραίωση στα 100 ml νερό.
2. Οργανικοί διαλύτες: Χρησιμοποιήθηκαν Χλωροφόρμιο, Μεθανόλη, Οξικό οξύ και Ακετόνη (όλα αναλυτικής καθαρότητας)
3. Απεσταγμένο νερό.
4. Διάλυμα AGG (αλκυλ-ακετυλ-γλυκερόλη) 10mM, με 5mg σε 1324μL EtOH.
5. Διαλύματα CDP-choline. Για συνθήκες φύλαξης (stock) 100mM, διαλυμένο σε απεσταγμένο νερό. Για συνθήκες εργασίας (working) 4mM, αραιωμένο σε Tris-HCl (100 mM) με pH 8.0.
6. BSA 40mg/ml, όπου διαλύθηκαν 200mg BSA (ελεύθερο λιπαρών οξέων) διαλύθηκαν σε 5mL Tris-HCl (50 mM) pH 7.4.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

7. Υλικά και εξοπλισμός: Υδατόλουτρο, φυγόκεντρος, erppendorfs, γυάλινοι σωλήνες, αναδευτήρας (vortex), πιπέτες (1-10, 10-100, 100-1000 μ L), tips, χρονόμετρο, πουάρ και σιφώνια.

Πειραματική πορεία

Αρχικά, ετοιμάστηκε μίγμα με το ρυθμιστικό διάλυμα που περιελάμβανε 123mL διάλυμα Tris-HCl (100 mM) με pH 8.0, 5mL $MgCl_2$, 5mL DTT και 5mL EDTA, καθώς και 5mL BSA 40 mg/mL (σε Tris-HCl 7.4), και 5mL CDP-Χολίνης (4mM) άραιωμένης σε διάλυμα Tris-HCl (100 mM) με pH 8.0. Πριν ξεκινήσει η ενζυμική αντίδραση, στο μίγμα έγινε η προσθήκη ποσότητας Tris-HCl (50 mM) με pH 7.4, που η ποσότητα του κυμαινόταν βάση της απαιτούμενης ποσότητας δείγματος εθελοντή ώστε να ληφθούν 15 μ g πρωτεΐνης, με αποτέλεσμα να προστεθούν 50 μ L διαλύματος στο μίγμα. Παράλληλα, η τελική συμπλήρωση όγκου 200 μ L έγινε με την προσθήκη 2 μ L διαλύματος αλκυλ-ακετυλ-γλυκερόλης (alkyl-acetyl-glycerol, AGG) 10 mM διαλυμένο σε DMSO. Πριν την προσθήκη δείγματος και του AAG, το μίγμα τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο στους 37 °C, όπου παρέμεινε για κάποια λεπτά ώστε να αναπτυχθεί στο διάλυμα η αντίστοιχη θερμοκρασία. Ακολούθως, προστέθηκαν το δείγμα και 30'' μετά η AAG, για να ξεκινήσει η ενζυμική αντίδραση. Στα 5' διακόπηκε η αντίδραση με την χρήση 1 mL χλωροφόρμιου/μεθανόλης 1:1 (2% οξικό οξύ). Ακολουθήθηκε ανάλογο πρωτόκολλο διαφασικών απομόνωσης χλωροφορμικού μέρους όπως για την PAF-AT, και κατόπιν το δείγμα προετοιμάστηκε για το LC-MS.

5.7.4 Ανάλυση των επιπέδων του PAF με τη μέθοδο της συζευγμένης υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (LC-MS)

Υλικά και αντιδραστήρια

1. Διαλύτες για LC-MS με χρωματογραφική καθαρότητα: Μεθανόλη, Αιθανόλη, Ακετονιτρίλιο και Νερό.
2. Πρότυπα διαλύματα PAF (10^{-6} M) σε EtOH για LC-MS.
3. Σύστημα έκλουσης: 2% νερό για LC-MS, 98% MeOH για LC-MS και 1mM οξικό αμμώνιο.

4. Υλικά και εξοπλισμός: LC-MS: Exactive™ Plus Orbitrap Mass Spectrometer (Thermo Fischer Scientific), Χρωματογραφική στήλη Hypersil GOLD™ (σωματιδία 5μm), φιαλίδια (vials) 1,8mL, inserts 200μL, βιδωτά καπάκια με τεφλόν, αναδευτήρας (vortex), υδατόλουτρο, erpendorfs, γυάλινοι σωλήνες, πιπέτες (1-10, 10-100, 100-1000 μL) και tips.

Πειραματική πορεία

Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε με την μέθοδο LC-MS με την συσκευή Exactive™ Plus Orbitrap Mass Spectrometer (Thermo Fischer Scientific) και την χρήση της χρωματογραφικής στήλης Hypersil GOLD™. Για την προετοιμασία των δειγμάτων τα μη πολικά μόρια που ελήφθησαν από το στάδιο των διαφασικών εξατμίστηκαν με αέριο άζωτο συνεχούς χαμηλής ροής. Τα στερεά που έμειναν στον σωλήνα αναδιαλύθηκαν σε 100μL διάλυμα χρωματογραφικής καθαρότητας EtOH, εκ των οποίων τα 40μL για τα δείγματα της AT, και τα 10μL για τα δείγματα της CPT, μεταφέρθηκαν σε νέους σωλήνες. Κατόπιν τα δείγματα εξατμίστηκαν εκ νέου και έγινε ακολούθως αναδιάλυση σε 60μL LC-MS EtOH. Παράλληλα, διαμορφώθηκαν διαλύματα για μέτρηση που περιείχαν 7 διαφορετικές ποσότητες PAF ώστε να διαμορφωθεί μία πρότυπη καμπύλη με εύρος 1,6-24 pmol PAF (0.005, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08, 0.1 και 0.2 $\times 10^{-6}$ M). Επίσης ετοιμάστηκαν διαλύματα με έναν πρότυπό PAF (0.04 $\times 10^{-6}$ M), για να μετρηθούν μαζί με κάθε παρτίδα εθελοντή για λόγους ελέγχου. Όλα τα πρότυπα του PAF εξατμίστηκαν σε αέριο άζωτο και κατόπιν αναδιαλύθηκαν σε 60μL LC-MS EtOH. Έπειτα, δείγματα και πρότυπα PAF μεταφέρθηκαν από τους σωλήνες σε φιαλίδια (vials) του LC-MS, κλείστηκαν ερμητικά και τοποθετήθηκαν για ανάλυση. Στην επεξεργασία των δειγμάτων στο LC-MS έγινε ισοκρατική έκλυση (σύστημα έκλυσης) σε ταχύτητα 0,1ml/λεπτό. Η έκλυση διήρκεσε 10', όπου για την ανίχνευση του PAF χρειάστηκαν 5' έως 6'. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με την χρήση του ειδικού λογισμικού προγράμματος Xcalibur 4.0 (Thermo Fisher). Ο διαναλυτικός συντελεστής διακύμανσης (Inter-assay Coefficient of Variation) ήταν στο <15,9% και ο ενδοαλυτικός συντελεστής διακύμανσης εντός δοκιμών (Intra-assay Coefficient of Variation) ήταν στο <11.8%.

Η δραστηριότητα των δύο ενζύμων βιοσύνθεσης του PAF (PAF-CPT & PAF AT) υπολογίστηκαν από την παρακάτω εξίσωση και εκφράστηκαν ως pmol/min/mg.

Ενζυμική δραστηριότητα

$$= [\text{Ποσότητα PAF (pmol)} \div \text{Ποσότητα πρωτεΐνης (mg)}] \\ \div \text{Χρόνος ενζυμικής αντίδρασης (λεπτά)}$$

Άρα,

$$PAF - AT = (PAF \div 0,010) \div 5$$

$$PAF - CPT = (PAF \div 0,010) \div 10$$

5.8 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση διενεργήθηκε μέσω του λογισμικού στατιστικής SPSS (IBM®). Αρχικά τα δεδομένα εξετάστηκαν για την κανονικότητα της κατανομής τους στους εθελοντές, μέσω του κριτηρίου “Kolmogorov-Smirnov”. Ακολούθως, τα κανονικής κατανομής δεδομένα αποδόθηκαν σε μέσες τιμές με την αντίστοιχη τυπική τους απόκλιση ($\pm$ SD). Αντίστοιχα, τα μη κανονικής κατανομής δεδομένα αποδόθηκαν με την αναφορά του διαμέσου (median) και το εύρος με τις τιμές του κατώτερου και ανώτερου τεταρτημόριου τους (25%-75%). Ανάλογα με την κατανομή τους οι συγκρίσεις των τιμών, μεταξύ των ομάδων έγινε είτε με την χρήση της Ανάλυσης διασποράς μίας κατεύθυνσης (one way Analysis Of Variance- ANOVA), για συγκρίσεις σε δεδομένα κανονικής κατανομής, είτε με το κριτήριο των “Kruskal- Wallis” για συγκρίσεις δεδομένων μη κανονικής κατανομής. Για την περίπτωση πολλαπλών συγκρίσεων έγινε διόρθωση με την δοκιμασία Bonferroni για αύξηση της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων.

Η κατανομή της δραστηριότητας των μελετούμενων ενζύμων που αξιολογήθηκε μέσω ανάλυσης “Kolmogorov-Smirnov”, κατέδειξε ως μη κανονικής κατανομής τα δεδομένα, οπότε χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικά κριτήρια. Για το έλεγχο της επίδρασης μεμονωμένων μεταβλητών στην δραστηριότητα των ενζύμων για όλο τον πληθυσμό, έγινε χρήση του μη παραμετρικού κριτηρίου συσχέτισης, “Spearman’s correlation”. Σε ελέγχους σύγκρισης των τριών ομάδων σε κοινούς χρόνους, τα δεδομένα αξιολογήθηκαν μέσω της ανεξάρτητης δοκιμασίας “Kruskal Wallis”. Αντίστοιχα, χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση με 2-way ANOVA της δοκιμασίας του Friedman κατά βαθμίδα για την επίδραση της χρονικής στιγμής εντός της ίδιας ομάδας. Τέλος, η δοκιμασία Wilcoxon εξαρτημένων δειγμάτων (paired test) για μη παραμετρικά μεγέθη αξιολόγησε τις διαφορές εντός της ομάδας σε διαφορετικές χρονικές στιγμές κατά ζεύγη. Ο έλεγχος σημαντικότητας τέθηκε στο 95% (P -value $<0,05$).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.1 Βασικά ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των εθελοντών

Την μελέτη ολοκλήρωσαν 57 συμμετέχοντες, με τα βασικά χαρακτηριστικά τους να περιγράφονται στον **Πίνακα 6.1**. Αναφορικά, περιλάμβαναν την ηλικία, το βάρος, το δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ), το κάπνισμα και την αρτηριακή πίεση (ΑΠ), που δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των ομάδων ελέγχου και παρέμβασης, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι συγκεκριμένες μεταβλητές δεν επηρέασαν σημαντικά τα ευρήματα της μελέτης, στην έναρξη της. Επίσης, παρατηρείται πως βάση του ΔΜΣ, οι εθελοντές βρισκόντουσαν οριακά μεταξύ την κατηγορίας των υπέρβαρων (25 έως 29,9kg/m²) και παχυσαρκίας Α' (30 έως 34,9 kg/m²) για τις τρεις ομάδες, ενώ βάση του ανωτάτου της SD, ποσοστό των εθελοντών ήταν έως και παχύσαρκοι β' βαθμού (35 έως 39,9kg/m²) στην ομάδα ελέγχου. Όσον αφορά την ΑΠ, η μέση συστολική αρτηριακή πίεση του κατατάσσει στους οριακά υπερτασικούς (130-139mmHg) έως και υπερτασικούς α' σταδίου (140-159mmHg). Στην περίπτωση των κατώτερων επιπέδων της SD συστολικής πίεσης, η ομάδα ελέγχου και αιθανόλης παρουσιάζει εθελοντές στα ιδανικά επίπεδα (<120mmHg), και για την ομάδα του κρασιού κάποιοι βρισκόντουσαν στα υψηλά φυσιολογικά επίπεδα (130- 139mmHg). Αντίθετα στα ανώτερα επίπεδα της SD όλες οι ομάδες φτάνουν τα επίπεδα της υπέρτασης α' σταδίου. Για την διαστολική ΑΠ, τα επίπεδα είναι φυσιολογικά (<80mmHg) και μόνο στις ανώτερες τιμές των SD κρασιού και αιθανόλης παρουσιάζονται τα ανώτερα φυσιολογικά επίπεδα (85-89mmHg).

Πίνακας 6.1. Βασικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στην έναρξη της παρέμβασης.

Χαρακτηριστικό	Ομάδα 0 (Ελέγχου) N=20	Ομάδα 1 (Κρασιού) N=21	Ομάδα 2 (Αιθανόλης) N=16	P-Value
Ηλικία (έτη)	64,0± 10,9	62,0± 12,4	60,8± 11,8	0,687
Συστολική πίεση (mmHg)	131,9± 17,1	141,1± 10,4	136,0± 18,9	0,268
Διαστολική πίεση (mmHg)	72,2± 8,6	78,6± 9,4	75,5± 14,0	0,260
Βάρος (kg)	92,7± 18,1	86,2± 13,4	86,1± 12,2	0,292
ΔΜΣ (kg/m ²)	31,0± 5,2	29,4± 4,1	29,1± 3,7	0,342
Τσιγάρα (αρ./ ημ.)	9,3± 32,0	8,5± 11,0	8,5± 12,5	0,992

Τα δεδομένα παρουσιάζονται στις μέσες τιμές και “±” την τυπική τους απόκλιση (SD). Η στατιστική ανάλυση των συγκρίσεων έγινε μέσω One way ANOVA. ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος. P-value<0,05.

6.2 Βασικά βιοχημικά χαρακτηριστικά των εθελοντών

Ως προς τα βιοχημικά χαρακτηριστικά στην έναρξη της μελέτης, όπως παρουσιάζονται στον **Πίνακά 6.2**, φαίνεται πως οι εθελοντές των τριών ομάδων της μελέτης, δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους. Παρατήρηση που καλύπτει βιοδείκτες μεταβολισμού της γλυκόζης (γλυκόζη και ινσουλίνη νηστείας), το λιπιδαιμικό τους προφίλ (TC, TG, HDL και LDL), ένζυμα ηπατικής λειτουργίας (SGOT/AST, SGPT/ALT και γ-GT), το ουρικό οξύ, τους δείκτες φλεγμονής, αδιπονεκτίνη, P- σελεκτίνη και την υψηλής ευαισθησίας CRP (hsCRP), καθώς και γενικούς αιματολογικούς δείκτες (Αριθμοί λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων).

Σε επίπεδο μεταβολισμού της γλυκόζης, αρχικά παρατηρούνται από τα μέσα επίπεδα γλυκόζης της ομάδας αιθανόλης οριακά φυσιολογικά επίπεδα (<110mg/dL), ενώ στις ομάδες ελέγχου και κρασιού, επίπεδα προδιαβήτη (110- 125mg/dL). Συνυπολογίζοντας τα επίπεδα ινσουλίνης νηστείας, το HOMA-IR βρίσκεται οριακά κοντά (ομάδα αιθανόλης) ή εντός των υψηλών επιπέδων αντίστασης στην ινσουλίνη

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

(ομάδες ελέγχου και κρασιού), όπου αν και ποικίλει μεταξύ πληθυσμών, το όριο εκτιμάται στο έως 2,9 (144). Από τα κατώτερα SD, οι εθελοντές παρουσιάζονται με φυσιολογικό μεταβολισμό γλυκόζης, όντας σε φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης (70-110 mg/dL), ινσουλίνης (<25 mIU/L) και HOMA-IR. Αντίθετα από τα υψηλότερα επίπεδα SD προκύπτει πως σε όλες τις ομάδες υπήρχαν άτομα σε διαβητικά επίπεδα, με γλυκόζη νηστείας ανώτερη των 125mg/dL και υψηλό HOMA-IR.

Ως προς το λιπιδαιμικό προφίλ των εθελοντών ο μέσος όρος είχε φυσιολογικές τιμές TC (<200mg/dL), HDL (>40mg/dL), LDL(<100mg/dL) και TG (<150mg/dL), με εξαίρεση τα TG για την ομάδα αιθανόλης που βρίσκεται σε οριακά υψηλά επίπεδα (150-199mg/dL). Οι συμμετέχοντες που εκπροσωπούνται από τα χαμηλότερα επίπεδα των SD για την HDL βρίσκονται σε χαμηλότερα από τα φυσιολογικά επίπεδα, για όλες τις ομάδες. Στους υπόλοιπους λιπιδαιμικούς δείκτες, οι εθελοντές των υψηλότερων τιμών της SD, παρουσιάζονται με υψηλά TG (200- 499mg/dL) και οριακά φυσιολογική LDL (100- 129mg/dL) για όλες τις ομάδες, ενώ οριακά υψηλή TC (200- 239mg/dL) είχαν εθελοντές μόνο από την ομάδα της αιθανόλης.

Στα ηπατικά ένζυμα, ο μέσος για τους δείκτες SGOT/ AST (<36 U/L) και SGPT/ ALT (7 έως 56 U/L) παρουσιάζεται σε φυσιολογικά επίπεδα, όπως και για την γ-GT (<30 U/L) με εξαίρεση την ομάδα κρασιού. Στην περίπτωση των εθελοντών που βρίσκονται στις υψηλότερες τιμές της SD, η γ-GT είναι αυξημένη σε όλες τις ομάδες. Αντίστοιχα, το ουρικό οξύ στο μέσο βρίσκεται σε φυσιολογικά επίπεδα (3,5- 7,2mg/dL) για τις τρεις ομάδες, όμως για τους εθελοντές στο ανώτερο της SD οι τιμές βρίσκονται σε υψηλά επίπεδα, για τις ομάδες ελέγχου και αιθανόλης.

Στους δείκτες φλεγμονής, για τους εθελοντές στο μέσο των ομάδων τους, εντοπίζονται σε φυσιολογικά της hsCRP (<3,0 mg/dL), ενώ στο ανώτερο SD εντοπίζονται εθελοντές με υψηλά επίπεδα για τις ομάδες ελέγχου και κρασιού.

Επιπλέον επισημαίνονται και δυο αιματολογικοί δείκτες, ο αριθμός λευκοκυττάρων και ο αριθμός αιμοπεταλίων. Ο αριθμός λευκοκυττάρων παρουσιάζεται φυσιολογικός σε όλους τους συμμετέχοντες (4,5-11 10³/μL). Ομοίως, σε φυσιολογικά επίπεδα παρουσιάζονται και τιμές των εθελοντών για τον αριθμό αιμοπεταλίων (150- 450 10³/μL).

Πίνακας 6.2. Βιοχημικοί δείκτες στην εκκίνηση της παρέμβασης.

Βιοχημικοί δείκτες	Ομάδα 0 (Ελέγχου)	Ομάδα 1 (Κρασιού)	Ομάδα 2 (Αιθανόλης)	P-Value
Αρ. Λευκοκυττάρων (10 ³ /μL)	7,27± 1,60	6,83± 2,34	7,05± 2,38	0,806
Αρ. Αιμοπεταλίων (10 ³ /μL)	255,45± 92,68	235,90± 42,76	226,25± 40,51	0,382
Γλυκόζη (mg/dL)	112,9± 27,0	124,9± 41,6	107,7± 24,7	0,258
Τριακυλογλυκερόλες (mg/dL)	132,8± 62,4	130,2± 81,6	157,1± 126,8	0,633
Ολική Χοληστερόλη (mg/dL)	157,9± 39,0	168,1± 31,2	170,0± 36,7	0,538
HDL-c (mg/dL)	43,2± 10,3	46,5± 13,2	46,6± 11,8	0,600
LDL-c (mg/dL)	88,2± 34,7	95,5± 30,7	92,0± 21,8	0,736
Ουρικό οξύ (mg/dL)	6,2± 1,5	5,9± 1,0	6,4± 1,3	0,539
Ινσουλίνη (μIU/mL)	13,2± 9,6	11,3± 7,1	10,3± 5,1	0,496
HOMA-IR	3,9± 3,7	3,7± 4,1	2,8± 1,6	0,406
SGOT/ AST (U/L)	20,3± 4,7	19,6± 7,4	20,2± 5,1	0,917
SGPT/ ALT (U/L)	23,1± 10,6	19,5± 7,4	20,7± 8,2	0,433
γ-GT (U/L)	24,4± 10,3	26,6± 14,7	31,7± 22,8	0,393
hsCRP (mg/L)	1,3 (0,4- 3,4)	1,2 (0,2- 4,3)	1,0 (0,8- 2,2)	0,93
Αδιπονεκτίνη (ng/μL)	4,9 (4,1- 9,0)	4,7 (3,2- 8,1)	5,4 (4,7- 7,3)	0,63
P- Σελεκτίνη (ng/mL)	35.2 (29.6– 41.0)	37.8 (30.0– 41.8)	32.3 (30.4– 35.5)	0,76

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

Τα δεδομένα για τους κανονικής κατανομής δείκτες παρουσιάζονται στις μέσες τιμές και “±” την τυπική τους απόκλιση (SD). Η στατιστική ανάλυση των συγκρίσεων έγινε μέσω One way ANOVA.

Για τους μη κανονικής κατανομής δείκτες, τα δεδομένα παρουσιάζονται με την μορφή διαμέσου (κατώτερο και ανώτερο τεταρτημόριο, 25% & 75%). Η στατιστική ανάλυση τους έγινε με την χρήση του Kruskal Wallis ανεξάρτητου ελέγχου. $P\text{-value} < 0,05$.

HDL: high-density lipoprotein, LDL: low-density lipoprotein, γ -GT: γ -glutamyltransferase, SGOT/AST: Serum glutamic oxaloacetic transaminase/ aspartate aminotransferase, SGPT/ALT: Serum glutamic pyruvic transaminase/ alanine aminotransferase, hsCRP: High-sensitivity C-reactive protein.

6.3 Βασικά διατροφικά χαρακτηριστικά των εθελοντών

Συνεχίζοντας με τα δεδομένα για την αξιολόγηση της διατροφικής πρόσληψης μεταξύ των εθελοντών των τριών ομάδων. Στον **Πίνακα 6.3** παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά της διατροφής των συμμετεχόντων, όπου δεν εντοπίστηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις για τον δείκτη προσκόλλησης στην Μεσογειακή διατροφή, MedDietScore, την ενεργειακή πρόσληψη εκφρασμένη σε προσλαμβανόμενα Kcal, τα βασικά μακροθρεπτικά συστατικά (πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και λιπίδια), καθώς και την επιμέρους κατανάλωση τροφίμων που έχουν συσχετιστεί με οφέλη στην υγεία (φρούτα, λαχανικά, ψάρια/ θαλασσινά, όσπρια και ξηροί καρποί).

Αναλύοντας την κατάσταση των εθελοντών βάση των παρουσιαζόμενο δεδομένων, το MedDietScore αποτελεί δείκτη προσκόλλησης στην ΜΔ, βασισμένο στις ατομικές διατροφικές συνήθειες που αποδίδει ένα σκορ από το 0 έως το 55, όπου όσο αυξάνεται το συνολικό άθροισμα, τόσο αυξημένος εκτιμάται ο βαθμός υιοθέτησης του διατροφικού προτύπου (145). Σε όλες τις ομάδες οι εθελοντές παρουσιάζονται στο ανώτερο μισό της σχετικής κλίμακας. Στην επιμέρους κατανάλωση τροφίμων βάση και των συστάσεων της ΜΔ, στο μέσο κάθε ομάδας παρατηρήθηκε πως στα λαχανικά καλύπτεται η επαρκής κατανάλωση (≥ 2 μερίδες/ ημ.), όπως και για τις μερίδες φρούτων (1-2 μερίδες/ ημ.). Αντίθετα στους συμμετέχοντες των κατώτερων επιπέδων της SD, λαχανικά και φρούτα παρουσιάζονται σε ανεπαρκή επίπεδα πρόσληψης. Όσον αφορά την κατανάλωση ξηρών καρπών, δεν φαίνεται να καλύπτονται οι συστάσεις από το σύνολο των εθελοντών (1-2 μερίδες/ ημ.). Από την άλλη πλευρά, σε

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

εβδομαδιαία βάση, τα όσπρια και η κατηγορία ψαριών/ θαλασσινών παρουσιάζεται πως προσλαμβάνονται επαρκώς από τους εθελοντές (ομοίως ≥ 2 μερίδες/ εβδομάδα). Όμως και στις δύο κατηγορίες τροφίμων, εθελοντές όλων των ομάδων στα κατώτερα επίπεδα της SD, φαίνεται να μην καλύπτουν την απαιτούμενη εβδομαδιαία κατανάλωση (146,147).

Σε επίπεδο μακροθρεπτικών συστατικών, βάση και της μέσης ενεργειακής πρόσληψης, η κατανάλωση λιπιδίων παρουσιάζεται υψηλή για όλους τους εθελοντές (>35%). Όσον αφορά την ποιότητα των λιπιδίων, οι συστάσεις σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα καλύπτονται, ενώ ο μέσος εθελοντής εμφανίζεται να προσλαμβάνει ποσότητες SFA, ανώτερες των συστάσεων σε επίπεδο πρόληψης (<10%) και ακόμα υψηλότερες σε επίπεδο αντιμετώπισης CVD (<7%). Οι συμμετέχοντες με τα χαμηλότερα επίπεδα SFA, καλύπτουν τις συστάσεις για την πρόληψη, αλλά δεν καλύπτουν τις συστάσεις θεραπείας για CVD (148,149).

Πίνακας 6.3. Χαρακτηριστικά της διατροφής των συμμετεχόντων.

Χαρακτηριστικό	Ομάδα 0 (Ελέγχου)	Ομάδα 1 (Κρασιού)	Ομάδα 2 (Αιθανόλης)	P-Value
Ενέργεια (Kcal)	2394,4± 606,5	2462,9± 467,9	2189,3± 522,3	0,31
Πρωτεΐνες (% Kcal)	16,4±2,1	16,0±1,9	15,3±4,1	0,48
Υδατάνθρακες (% Kcal)	34,9±5,6	32,5±5,1	31,4±7,0	0,2
Λιπίδια (% Kcal)	46,9±5,0	47,4±4,9	48,6±6,9	0,68
Μονοακόρεστα Λιπαρά οξέα (% Kcal)	25,5±3,6	26,3±4,0	27,2±5,3	0,51
Κορεσμένα λιπαρά οξέα (% Kcal)	10,9±2,2	11,4±1,2	11,4±1,9	0,64
Λαχανικά (μερ./ημ.)	2,3±0,9	2,3±1,1	2,3±0,8	0,98
Φρούτα (μερ./ημ.)	2,6±1,5	2,0±1,5	1,8±1,2	0,2
Όσπρια (μερ./ημ.)	0,6±0,3	0,7±0,5	0,4±0,2	0,13
Ψάρια/ Θαλασσινά (μερ./ημ.)	1,1±0,9	1,1±0,8	1,0±0,7	0,78
Ξηροί καρποί (μερ./ημ.)	0,07 (0,0- 0,6)	0,07 (0,0- 0,2)	0,07 (0,0- 0,2)	0,54
MedDietScore (0-55)*	35,8±5,9	35,2±3,6	34,7±4,7	0,81

Οι τιμές υπολογίστηκαν από 24ωρες διατροφικές ανακλήσεις.

*Από τα FFQ διαμορφώθηκε ο δείκτης MedDietScore.

Τα δεδομένα για τους κανονικής κατανομής στοιχεία παρουσιάζονται στις μέσες τιμές και “±” την τυπική τους απόκλιση (SD). Η στατιστική ανάλυση των συγκρίσεων έγινε μέσω One way ANOVA. Για τους μη κανονικής κατανομής δείκτες, τα δεδομένα παρουσιάζονται με την μορφή διαμέσου (κατώτερο και ανώτερο τεταρτημόριο, 25% & 75%). Η στατιστική ανάλυση τους έγινε με την χρήση του Kruskal Wallis ανεξάρτητου ελέγχου. P-value<0,05.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

6.4 Ένζυμα του PAF

Περνώντας στα κύρια ευρήματα της μελέτης, όσον αφορά την δραστικότητα των ενζύμων βιοσύνθεσης του PAF, PAF-AT και PAF-CPT, εξετάστηκε η κανονικότητα της κατανομής τους στις τρεις διαφορετικές χρονικές στιγμές, έναρξης (“0”), 4 και 8 εβδομάδες, για κάθε μία από τις τρεις ομάδες της μελέτης. Έτσι, επειδή οι πλειοψηφία τους βρέθηκε ως μη κανονική, επιλέχθηκε η επεξεργασία τους με μη παραμετρικά κριτήρια.

Αρχικά, παρουσιάζονται στον **Πίνακα 6.4** οι απόλυτες τιμές της ενζυμικής δραστικότητας των ενζύμων PAF-AT και PAF-CPT στις τρεις ομάδες της μελέτης. Παρατηρήθηκε πως δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων σε κανένα από τα δύο ένζυμα στην έναρξη της μελέτης, καθιστώντας συγκρίσιμα τα δεδομένα όλων των ομάδων στο τέλος της παρέμβασης.

Πίνακας 6.4. Δραστικότητα των ενζύμων PAF-AT & PAF-CPT για τις τρεις ομάδες στην έναρξη της μελέτης.

Δοκιμές	Ομάδα 0 (Ελέγχου)	Ομάδα 1 (Κρασιού)	Ομάδα 2 (Αιθανόλης)	P-Value
PAF-AT (baseline)	10,2 (4,0- 31,0)	6,5 (4,1- 22,3)	7,7 (4,2- 25,1)	0,869
PAF-CPT (baseline)	12,2 (9,9-14,9)	12,5 (10,9- 15,3)	13,0 (10,6- 15,2)	0,721

Οι συγκρίσεις έγιναν μεταξύ όλων των ομάδων στον ίδιο χρόνο μέσω δοκιμασίας Kruskal Wallis. $P < 0,05$.

Παράλληλα εξετάσαμε και την πιθανή συσχέτιση της ενζυμικής δραστικότητας των PAF-AT και PAF-CPT μεταξύ τους, καθώς και με ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά, δείκτες φλεγμονής και της LpPLA2 (**Πίνακας 6.5**). Σημαντική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των δύο ενζύμων βιοσύνθεσης, όπου η αύξηση του ενός φάνηκε να σχετίζεται με την αύξηση του δεύτερου και vice versa (Συντελεστής συσχέτισης = 0,407, $P = 0,001$). Στους βιοχημικούς δείκτες, εντοπίστηκε μία τάση για την συσχέτιση της αυξημένης δραστηριότητας της PAF-CPT με αυξημένα επίπεδα της

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

LDL (Συντελεστής συσχέτισης= 0,245, P= 0,055), ενώ η PAF-AT βρέθηκε με σημαντική συσχέτιση για τα μειωμένα TG (Συντελεστής συσχέτισης= 0,260, P= 0,041). Αντίθετα, σε ηπατικά ένζυμα βρέθηκε αντίστροφη σχέση, όπου η PAF-AT συσχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα της SGOT/AST (Συντελεστής συσχέτισης= 0,267, P= 0,036) και τάση για αύξηση της SGPT/ALT (Συντελεστής συσχέτισης= 0,231, P= 0,07). Δεν υπήρξαν σημαντικές συσχετίσεις σε άλλους βιοδείκτες, συμπεριλαμβανομένου και του ενζύμου αποικοδόμησης του PAF, την LpPLA2, που δεν συσχετίστηκε με την δραστικότητα των ενζύμων βιοσύνθεσης, PAF-AT (Συντελεστής συσχέτισης=-0,060, P= 0,644) και PAF-CPT (Συντελεστής συσχέτισης = 0,035, P=0,788).

Πίνακας 6.5. Αξιολόγηση της επίδρασης χαρακτηριστικών και βιοχημικών δεικτών στα επίπεδα των PAF-AT & PAF-CPT (%).

Μεταβλητές	PAF-AT		PAF-CPT	
	Correlation Coefficient*	P-value (2-tailed)**	Correlation Coefficient*	P-value (2-tailed)**
PAF-AT	1,000		0,407	0,001
PAF-CPT	0,407	0,001	1,000	
Ηλικία	-0,028	0,826	-0,118	0,361
ΔΜΣ	0,123	0,341	-0,032	0,802
Αριθμός Λευκοκυττάρων	-0,036	0,781	-0,044	0,735
Αριθμός Αιμοπεταλίων	-0,29	0,821	0,033	0,799
Γλυκόζη νηστείας	-0,031	0,810	0,161	0,212
Ολική χοληστερόλη	-0,005	0,970	0,144	0,263
Τριακυλογλυκερόλες	-0,260	0,041	-0,042	0,747
HDL	-0,056	0,665	-0,176	0,170
LDL	0,100	0,441	0,245	0,055
Ουρικό οξύ	-0,023	0,860	-0,128	0,322
Ινσουλίνη νηστείας	0,137	0,291	0,063	0,629
SGOT/AST	0,267	0,036	0,041	0,752
SGPT/ALT	0,231	0,070	0,130	0,313
γ- GT	-0,038	0,767	0,014	0,911
hsCPR	0,003	0,979	0,196	0,127
Αδιπονεκτίνη	0,154	0,236	-0,086	0,509
P-Σελεκτίνη	0,087	0,603	0,041	0,807
LpPLA2	-0,060	0,644	0,035	0,788

Η ανάλυση έγινε με την χρήση του μη παραμετρικού κριτηρίου συσχέτισης του Spearman (Spearman's correlation). P-value<0,05.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

HDL: high-density lipoprotein, LDL: low-density lipoprotein, γ-GT: γ-glutamyltransferase, SGOT/AST: Serum glutamic oxaloacetic-transaminase/ aspartate aminotransferase, SGPT/ALT: Serum glutamic pyruvic transaminase/ alanine aminotransferase, hsCRP: High-sensitivity C-reactive protein, LpPLA2: Lipoprotein-associated phospholipase A2.

Περνώντας στα ευρήματα της παρέμβασης, η δραστικότητα της PAF-AT φαίνεται ότι επηρεάστηκε σημαντικά μεταξύ των τριών ομάδων στις 4 εβδομάδες, με το κρασί να παρουσιάζει την χαμηλότερη τιμή ($P=0,04$). Συγκρίνοντας τους τρεις χρόνους για την ομάδα κρασιού δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά, όμως από την σύγκριση κατά ζεύγη (paired test) των χρονικών στιγμών παρουσιάστηκε σημαντική μείωση μεταξύ των χρόνων «0» και 4 εβδομάδων ($P=0,019$) όπως φαίνεται και στο θηκόγραμμα της **Εικόνας 18**. Ακολουθως τάση σημαντικότητας υπήρξε και στην σύγκριση 4 και 8 εβδομάδων ($P=0,064$), με το όφελος να φθίνει με την πάροδο του χρόνου (**Πίνακας 6.6**).

Αντιστοίχως, η δραστικότητα της PAF-CPT, παρά την εμφανή διαφορά μεταξύ των ομάδων αιθανόλης και κρασιού στις 8 εβδομάδες παρέμβασης, δεν φάνηκε στο σύνολο των τριών ομάδων να υπάρχουν σημαντικές διαφορές ($P=0,117$). Παρόλα αυτά εντοπίστηκε μία τάση μείωσης της δραστικότητας του ενζύμου, στην σύγκριση της 8^{ης} εβδομάδας με τα επίπεδα έναρξης της παρέμβασης για την ομάδα του κρασιού ($P=0,057$) (**Πίνακας 6.6**).

Πίνακας 6.5. Επίδραση της παρέμβασης στις τρεις χρονικές στιγμές (%).

Χρόνοι	Ομάδα 0 (Ελέγχου)	Ομάδα 1 (Κρασιού)	Ομάδα 2 (Αιθανόλης)	*P-trial
PAF-AT 0	100,0	*100,0	100,0	1,0
PAF-AT 4	105,1 (91,0-133,3)	◇,*90,9 (59,1- 104,2)	95,2 (66,5- 159,9)	0,040
PAF-AT 8	97,2 (88,35- 121,5)	◇*95,9 (70,3- 118,9)	106,75 (96,4- 118,2)	0,565
#P-time	0,779	0,270	0,751	
PAF-CPT 0	100,0	◇100,0	100,0	1,000
PAF-CPT 4	102,1 (94,5- 115,5)	99,7 (70,7- 110,55)	97,4 (65,4- 120,6)	0,319
PAF-CPT 8	99,0 (70,8- 109,1)	◇87,0 (67,9- 111,9)	115,6 (84,1- 148,0)	0,117
#P-time	0,444	0,705	0,395	

*P_{trial}: Έλεγχος σύγκρισης των ομάδων στον ίδιο χρόνο μέσω της ανεξάρτητης δοκιμασίας Kruskal Wallis ($p < 0,05$).

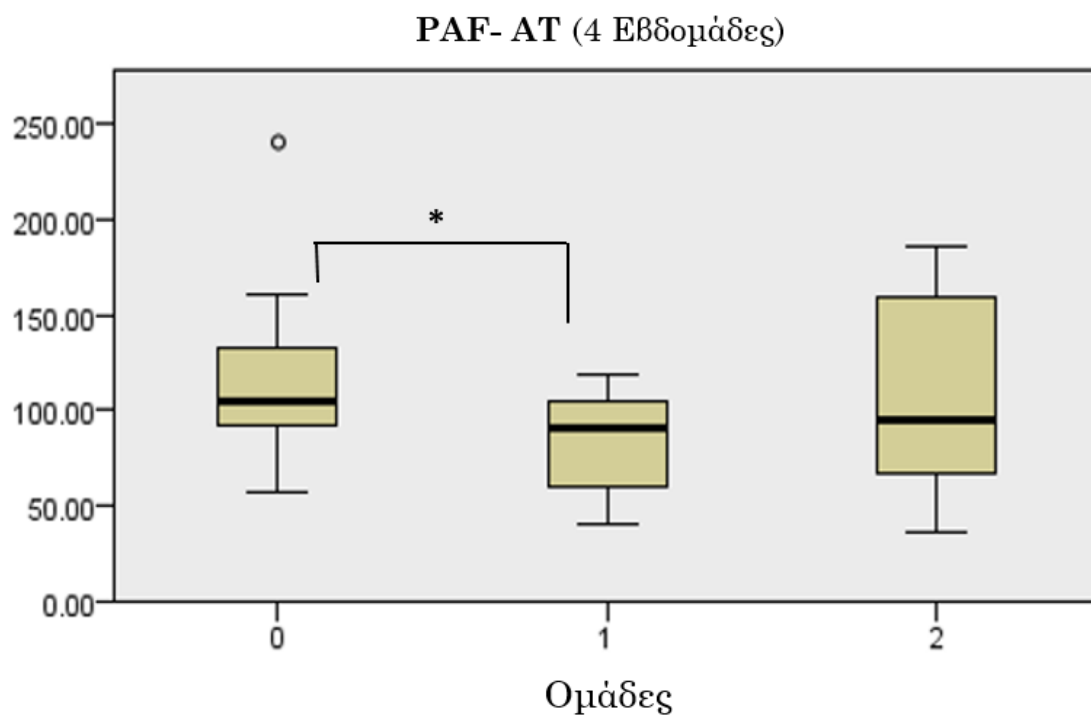
#P_{time}: Ανάλυση με 2-way ANOVA της δοκιμασίας του Friedman κατά βαθμίδα για την επίδραση της χρονικής στιγμής εντός της ίδιας ομάδας ($p < 0,05$).

✱: Συγκρίσεις κατά ζεύγη χρονικών στιγμών μέσω της δοκιμασίας time- paired του Wilcoxon ($p < 0,05$).

◇: Τάσης συσχετίσεις συγκρίσεων κατά ζεύγη χρονικών στιγμών μέσω της δοκιμασίας time- paired του Wilcoxon ($p > 0,1$).

Τα δεδομένα είναι μη παραμετρικά και παρουσιάζονται σε διάμεσο (ανώτερο- κατώτερο τεταρτημόριο 25%- 75%).

PAF-AT: PAF- acetylhydrolase, PAF-CPT: PAF-cholinephosphotransferase..



Εικόνα 18. Θηκόγραμμα σύγκρισης των ομάδων της μελέτης σε συγκεκριμένη χρονική στιγμή (%).
Ανεξάρτητη δοκιμασία κριτηρίου Kruskal Wallis. * P-value <0,05.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα CVDs είναι η βασικότερη αιτία θανάτων σε παγκόσμια κλίμακα, με αποτέλεσμα να αποτελούν ένα από τα κυρίαρχα ζητήματα δημόσιας υγείας, και κατά προέκταση ένα ιδιαίτερα σημαντικό ερευνητικό αντικείμενο (3). Τα CVDs εκπροσωπούν το φάσμα των νοσημάτων που πλήττουν την καρδιά και τα αγγεία, όπως είναι χαρακτηριστικά η στεφανιαία νόσος, όπου στον αυλό των στεφανιαίων αγγείων της καρδιάς έχει σχηματιστεί αθηρωματική πλάκα, με αποτέλεσμα την στένωση και την ισχαιμία προς την καρδιά. Ο σχηματισμός αθηρωματικής πλάκας είναι κυρίαρχο χαρακτηριστικό των CVDs νοσημάτων, της οποίας η διαμόρφωση είναι σταδιακή. Η αθηρωμάτωση αποτελεί την διαδικασία διαμόρφωσης της αθηρωματικής πλάκας και βλάβης των ενδοθηλιακών κυττάρων, που χαρακτηρίζεται από χρόνια φλεγμονή (84). Η πρόκληση της έχει πολυπαραγοντικό υπόβαθρο, με τα αίτια της να χωρίζονται ως τροποποιήσιμα, ως κυρίως αποτέλεσμα του τρόπου ζωής, ή μη τροποποιήσιμα, ως ανεξάρτητα του τρόπου ζωής, όπως η κληρονομικότητα (21).

Η φλεγμονή αποτελεί τον βασικό μηχανισμό έναρξης και εξέλιξης της αθηρωμάτωσης, και ειδικότερα η χρόνια φλεγμονή, όπου παρατηρείται έντονη ενεργοποίηση πρωτεϊνικών και λιποειδικών μεσολαβητών της φλεγμονής, λευκοκυττάρων και μορίων προσκόλλησης. Όσον αφορά τους μεσολαβητές φλεγμονής, αυξάνονται στην περιοχή ως απόκριση κυρίως των ενεργοποιημένων λευκοκυττάρων, μονοκυττάρων, αιμοπεταλίων και ενδοθηλιακών κυττάρων και παρουσιάζουν προεξάρχων ρόλο στην αθηρωματική διαδικασία, επάγοντας περεταίρω την φλεγμονή και οδηγώντας στην θρομβογένεση (84,108). Ένας ιδιαίτερα σημαντικός μεσολαβητής της φλεγμονής που εμπλέκεται στην διαδικασία της αθηρωμάτωσης είναι ο λιποειδικός μεσολαβητής PAF και τα PAF-LL, με τα ανάλογα του να αποτελούν οξειδωμένα φωσφολιπίδια που παράγονται από την oxLDL (54). Η σύνδεση του PAF με τον υποδοχέα του επιφέρει τροποποιήσεις των κυττάρων που έχουν σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση λευκοκυττάρων, αιμοπεταλίων και ενδοθηλιακών κυττάρων, την αύξηση της χημειοταξίας, της προσκόλλησης και της μετανάστευσης λευκοκυττάρων στον υποενδοθηλιακό χώρο, την έκφραση αυξητικών παραγόντων (πχ. VEGF), του iNOS, κυτταροκινών και άλλων μορίων, προάγοντας

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

καταληκτικά την αθηρωματική διαδικασία και την διαμόρφωση θρόμβου (54,84,105,108).

Ο ρόλος του κρασιού έναντι των CVD έχει παρατηρηθεί ήδη από την δεκαετία του 1990, με την ανάδειξη του «Γαλλικού παραδόξου», που υπέδειξε το κρασί στην διατροφή των Γάλλων, ως τον παράγοντα που σχετίζεται με μειωμένο, από τον αναμενόμενο για τις διατροφικές τους συνήθειες, κίνδυνο για την εμφάνιση CVD (6). Μεταγενέστερες επιδημιολογικές και κλινικές μελέτες επιβεβαιώνουν την επίδραση της μέτριας πρόσληψης κρασιού σε δείκτες φλεγμονής και γενικότερα καρδιαγγειακούς βιοδείκτες για CVD, όμως ανάμεσα στην αιθανόλη και τα μικρο-συστατικά του κρασιού, δεν είναι σαφές ποια συστατικά του φέρουν το όφελος (26,33,127,128). Μελέτες με επίκεντρο την κατανάλωση αιθανόλης, δείχνουν πως η χαμηλή έως μέτρια κατανάλωση μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο για κάποια CVD (9), με το όφελος να παρατηρείται κυρίως στο λιπιδαιμικό προφίλ, κατά βάση με την αύξηση της HDL, καθώς και μέσω μείωσης του ινωδογόνου (18,30,31,116). Από την άλλη πλευρά, στα μικρο-συστατικά του κρασιού φαίνεται πως αποδίδεται όφελος κυρίως μέσω δράσεων σε μηχανισμούς φλεγμονής και θρόμβωσης (115,116,129).

Ο ρόλος του PAF στα CVD παρουσιάζεται ιδιαίτερα σημαντικός, και *in vitro* δεδομένα τον καθιστούν στόχο μικρο-συστατικών του κρασιού, παρατήρηση που θα μπορούσε να δικαιολογήσει το σχετικό όφελος που παρουσιάζει το κρασί. Μάλιστα, μελέτες της ερευνητικής μας ομάδας έχουν υποστηρίξει την ανασταλτική επίδραση του κρασιού σε ένζυμα βιοσύνθεσης του PAF μεταγευματικά και *in vitro* (136,150). Η *in vitro* μελέτη είχε δείξει ότι συγκεκριμένα η ρεσβερατρόλη και η κερκετίνη, καθώς και εκχυλίσματα κρασιού σε σύστημα κυττάρων U937, μπορούν να επηρεάσουν την παραγωγή του μεσολαβητή φλεγμονής PAF, μειώνοντας την δραστικότητα των ενζύμων βιοσύνθεσης PAF-AT και PAF-CPT (150).

Στην μελέτη μας, επιδιώχθηκε να εξεταστεί η επίδραση της μακροπρόθεσμης, για 8 εβδομάδες, μέτριας κατανάλωσης κόκκινου κρασιού στην ενζυμική δραστικότητα των ενζύμων βιοσύνθεσης του PAF, την PAF-AT και την PAF-CPT, σε πληθυσμό ασθενών με στεφανιαία νόσο. Η επίδραση του κρασιού εκτιμήθηκε τόσο έναντι ομάδας ελέγχου που απείχε από οποιαδήποτε μορφή αλκοολούχου ποτού (<28γρ. αιθανόλης/εβδομάδα), όσο από ομάδα θετικού ελέγχου στην, που κατανάλωνε ίσες ποσότητες

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

αιθανόλης με την ομάδα κρασιού, υπό την μορφή τσίπουρου. Έτσι, η μελέτη δύναται να προχωρήσει σε συμπεράσματα για την επίδραση του κρασιού στην αναστολή της βιοσύνθεσης του PAF, και ενδεχομένως εάν αυτή η επίδραση είναι αποτέλεσμα της αιθανόλης ή μικρο-συστατικών του κρασιού, ή ακόμα και σε συνεργιστικό όφελος.

Αρχικά, ένα από τα βασικά ευρήματα της μελέτης μας, αποτελεί πως αναδείχθηκε η σημαντική επίδραση του κρασιού προς ένα παράγοντα φλεγμονής, και συγκεκριμένα τον PAF, εύρημα που δείχνει πως το κρασί φέρει σημαντική δράση κατά της φλεγμονής. Παρόλα αυτά, η διαπίστωση ότι η μέτρια μακροπρόθεσμη (>1 εβδομάδα) κατανάλωση κρασιού έχει αντιφλεγμονώδη επίδραση στον οργανισμό δεν επιβεβαιώνεται από το σύνολο των μελετών παρέμβασης που εντοπίζονται στην βιβλιογραφία (**Κεφάλαιο 3, Πίνακας 1.3**).

Τα βασικά αίτια των αντικρουόμενων ευρημάτων φαίνεται πως σχετίζονται με διαφορές στην κατάσταση υγείας των εθελοντών, το μέγεθος του δείγματος, τον χρόνο παρέμβασης, την ποσότητα κρασιού που χορηγήθηκε και τις άλλες ομάδες παρέμβασης ή ελέγχου που επιλέχθηκαν. Μία από τις μελέτες, που αντίθετα με την μελέτη μας, δεν εντόπισε αντιφλεγμονώδη επίδραση του κρασιού ήταν των Karlsen et al. (2007), που εντόπισε όφελος μόνο για τις γυναίκες με αύξηση του ανταγωνιστή του υποδοχέα της IL-1, ενώ δεν βρήκαν όφελος σε κανένα άλλο δείκτη (120). Μεταξύ των δεικτών που δεν βρέθηκε επίδραση είναι και η IL-6, που σε αρκετές αντίστοιχες μελέτες έχει φανεί πως είναι δείκτης που επηρεάζεται από την πρόσληψη κρασιού (118, 121, 129). Στα πιθανά αίτια του ευρήματος, η συγκεκριμένη μελέτη χορήγησε χαμηλή ποσότητα κρασιού, με ένα ποτήρι 150ml ημερησίως (15 γραμμαρίων αιθανόλης) για την περιορισμένη διάρκεια των 3 εβδομάδων, σε υγιή πληθυσμό. Σε δεύτερη μελέτη που επίσης δεν εντοπίστηκε όφελος, ακολουθήθηκε το ίδιο πρωτόκολλο σε ποσότητα κρασιού και διάρκεια, που πιθανώς σχετίζεται με την αδυναμία ανάδειξης του οφέλους (126). Οι αντίστοιχες μελέτες που εντόπισαν σημαντική επίδραση, ήταν διάρκειας 4 εβδομάδων με 30 γραμμάρια αιθανόλης, δηλαδή την διπλάσια ποσότητα (113,116,119,121), ή ακόμα ενός έτους με κατανάλωση μόλις 11 γραμμαρίων αιθανόλης ημερησίως (118ml κόκκινο κρασί) στην περίπτωση μεταεμφραγματικών εθελοντών (127).

Από την ίδια ερευνητική ομάδα, σε μία ακόμα περίπτωση αντίστοιχης μεθοδολογίας, η μελέτη των Retterstol et al. (2005), έφερε τους αντίστοιχους μεθοδολογικούς περιορισμούς, όπου σε δείγμα 87 υγιών συμμετεχόντων, χορήγησε 1 ποτήρι κρασί ημερησίως για διάστημα 3 εβδομάδων (128). Στα ευρήματα αντίθετα με ότι αναμενόταν, βρέθηκε τάση αύξησης της CRP για τους άνδρες. Η CRP αποτελεί δείκτη φλεγμονής που φαίνεται να συνδέεται με τα επίπεδα IL-6, όντας οξείας φάσης πρωτεϊνικοί ενεργοποιητές, παραγόμενοι από το ήπαρ, όπου και οι δύο σε αρκετές μελέτες επηρεάζονται από την πρόσληψη κρασιού. Μέσα από τις μελέτες παρέμβασης που έχουν διενεργηθεί, η CRP φαίνεται πως επηρεάζεται συνδυαστικά από την ποσότητα κρασιού και την διάρκεια κατανάλωσης. Σε μελέτες 4 εβδομάδων με μεγαλύτερες ποσότητες κρασιού εντοπίστηκε σημαντικό όφελος (113,116,118,119), με εξαίρεση μία μελέτη διάρκειας 2 εβδομάδων με εθελοντές που έπασχαν από CVD, όπου χορηγήθηκαν 250ml κρασιού χωρίς να ενοπιστεί όφελος (122). Η μη παρατήρηση οφέλους σε αυτή την περίπτωση, όπου παρουσιάζεται επαρκής η πρόσληψη κρασιού συνδυαστικά με την μελέτη των Retterstol et al., πιθανώς να υποδηλώνεται την ανάγκη της μακροπρόθεσμης έκθεσης πέραν των 3 εβδομάδων στο κρασί. Μάλιστα, ενδέχεται και η χαμηλή κατανάλωση κρασιού για μεγάλο διάστημα να φέρει όφελος, όπως επισημαίνεται από την μελέτη σε εμφραγματίες ασθενείς που επέφερε μείωση και την IL-6, με παρέμβαση με 1 ποτήρι κρασί για ένα έτος (127).

Συγκεκριμένα για την μακροπρόθεσμη επίδραση της μέτριας πρόσληψης κρασιού στην φλεγμονή για πληθυσμό ασθενών με CVD ή υψηλού κινδύνου για CVD, εντοπίστηκαν 5 μελέτες, εκ των οποίων μόνο μία δεν εντόπισε καμία επίδραση σε δείκτες φλεγμονής, αν και παρουσίασε όφελος στην αντιοξειδωτική ικανότητα (51,115,121,122,127). Πρόκειται για την μελέτη των Rifler et al. (2012), που επισημάνθηκε πως δεν μπόρεσε να εντοπίσει όφελος του κρασιού προς την CRP, σε δείγμα 29 μεταεμφραγματικών εθελοντών, όπου χορηγήθηκε επαρκής ποσότητα κρασιού ημερησίως (250ml). Όμως, θα πρέπει να επισημανθεί πως η μελέτη εστίαζε στην αντιοξειδωτική ικανότητα του κρασιού και όχι στην αντιφλεγμονώδη, οπότε εξετάστηκε μόνο η CRP, ενώ η παρέμβαση διήρκεσε μόλις 2 εβδομάδες, με τον χρόνο όπως αναφέρθηκε να φαίνεται πως επηρεάζει την επίδραση του κρασιού στον συγκεκριμένο βιοδείκτη (122). Από την άλλη πλευρά, συνολικά εντοπίζονται 11 μελέτες παρέμβασης με υγιείς και ασθενείς συμμετέχοντες, που παραθέτουν σημαντικά

ευρήματα για την αντιφλεγμονώδη επίδραση του κρασιού (51,113,130,115,116,118,119,121,125,127,129).

Περνώντας σε ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης, φάνηκε πως το κρασί επηρέασε σημαντικά την δραστικότητα της PAF-AT στις 4 εβδομάδες, με την στατιστική ισχύ του οφέλους να χάνεται στις 8 εβδομάδες. Η φθίνουσα πορεία του οφέλους του κρασιού, αποτυπώθηκε και συγκρίνοντας τις χρονικές στιγμές έναντι της έναρξης της παρέμβασης, όπου μόνο στην ομάδα του κρασιού παρατηρήθηκε σημαντική μείωση (9,1%) της PAF-AT στην 4η εβδομάδα, αλλά στην 8η εβδομάδα εντοπίστηκε τάση για μείωση έναντι της έναρξης κατά 4,1% ($P=0,061$). Ενδεχομένως, η απώλεια σημαντικότητας στο τέλος της παρέμβασης να είναι αποτέλεσμα των αποχωρήσεων που υπήρξαν ($n=7$), ειδικότερα στην ομάδα του τσίπουρου ($n=4$).

Όσον αφορά την επίδραση της παρέμβασης στην δραστικότητα της PAF-CPT, δεν εντοπίστηκε για καμία ομάδα στατιστικά σημαντική επίδραση. Παρόλα αυτά, παρατηρήθηκε τάση μείωσης της PAF-CPT για την ομάδα του κρασιού, συγκρίνοντας τα επίπεδα στην έναρξη και το τέλος της παρέμβασης, όπου σημειώθηκε πτώση κατά 13%, στα όρια της στατιστικής σημαντικότητας ($P=0,057$). Στη σύγκριση των τριών ομάδων για την χρονική στιγμή των 8 εβδομάδων, δεν επιβεβαιώθηκαν σημαντικές διαφορές, αλλά εκτιμάται πως και σε αυτή την περίπτωση δεν βρέθηκε στατιστική σημαντικότητα λόγω των αποχωρήσεων ($P=0,117$).

Καθόσων γνωρίζουμε στην βιβλιογραφία δεν εντοπίζεται άλλη μελέτη για την μακροπρόθεσμη μέτρια κατανάλωση κρασιού προς την δραστικότητα των ενζύμων βιοσύνθεσης του PAF, και ειδικότερα σε παθολογικό πληθυσμό, γεγονός που στερεί την δυνατότητα άμεσης σύγκρισης των ευρημάτων. Παρόλα αυτά, τα ευρήματα της μελέτης μας τείνουν να συμφωνούν με εκείνα κλινικής μελέτης της ομάδας μας, που εξέτασε τα μεταγευματική επίδραση του κρασιού στην δραστικότητα των ενζύμων παραγωγής του PAF, με σημαντική επίδραση στην PAF-AT και PAF-CPT (136). Ομοίως, μείωση της δραστικότητας των δύο ενζύμων πάραθέτει και *in vitro* μελέτη της ομάδας, που αναφέρθηκε (150).

Έστω και σε επίπεδο τάσης για την μελέτη μας, τα δύο ένζυμα φαίνεται πως μειώνονται μαζί, υποδηλώνοντας πως το κρασί επηρεάζει μηχανισμούς βιοσύνθεσης

του PAF και για τις δύο πορείες, της de novo βιοσύνθεσης (PAF-CPT) και της πορείας ανασχηματισμού του PAF (PAF-AT). Υπενθυμίζεται πως η πορεία ανασχηματισμού του PAF, με κομβικό ένζυμο την δράση του PAF-AT, έχει παρατηρηθεί πως ενεργοποιείται κατά βάση σε φλεγμονώδεις καταστάσεις. Έτσι, κυρίως εκείνη αναμένεται να βρίσκεται σε αυξημένα επίπεδα σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Άρα πιθανώς, η PAF-AT να αποτελεί και τον βασικό στόχο του κρασιού για την μείωση των επιπέδων του PAF, αφού η de novo οδός, της οποίας κομβικής σημασία ένζυμο αποτελεί η PAF-CPT, βρίσκεται σταθερά ενεργή για την κάλυψη των βασικών επιπέδων του PAF σε υγιή πληθυσμό (151). Όμως σε πληθυσμό που πάσχει από στεφανιαία νόσο είναι πιθανό να υπερλειτουργεί το συγκεκριμένο μονοπάτι. Ένα ενδιαφέρον εύρημα της μελέτης μας που υποστηρίζει αυτή την υπόθεση από κοινού ενεργοποίησης των δύο ενζύμων στην στεφανιαία νόσο, καθώς προκύπτει από τον έλεγχο συσχέτισης της συγκέντρωσης τους, ότι η αύξηση του ενός ενζύμου σχετίζεται με αύξηση και του δεύτερου, με υψηλή γραμμικότητα (Συντελεστής συσχέτισης =0,407) και στατιστική σημαντικότητα ($P=0,001$). Έτσι, συμπεραίνεται πως η πιθανή δράση του κρασιού και στις δύο πιθανές οδούς βιοσύνθεσης, θα επέφερε σημαντική μείωση στα επίπεδα του PAF, με κατεύθυνση την επαναφορά του σε φυσιολογικά επίπεδα.

Από δεδομένα παλαιότερων μελετών, η θέση πως οι ασθενείς με CVD, οδηγούνται σε υψηλά επίπεδα του PAF μέσα κυρίως από την πορεία ανασχηματισμού, αλλά και της de novo βιοσύνθεσης, υποστηρίζεται από μελέτη ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια. Τα ευρήματα της μελέτη έδειξαν πως η PAF-CPT επίσης σχετίζεται με φλεγμονώδεις αποκρίσεις στα λευκοκύτταρα, ενώ μάλιστα η PAF-AT και η PAF-CPT συνδέθηκαν με αυξήσεις στην IL-6 και την CRP (152).

Όπως αναφέρθηκε, η πορεία ανασχηματισμού του PAF ενεργοποιείται σε συνθήκες φλεγμονής, όπου αν και η μελέτη μας, ως κλινική μελέτη, δεν διέθετε δείγμα αντίστοιχο επιδημιολογικής μελέτης, για να δύναται να προχωρήσει σε γενικεύσεις συσχετίσεων, φάνηκε πως η PAF-AT σχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα ενζύμων ηπατική βλάβης. Συγκεκριμένα, πρόκειται για την εύρεση σχέσης της δραστηριότητας του PAF-AT με τις αυξημένες τιμές της SGOT/AST ($P=0,036$) και την τάση για αύξηση της SGPT/ALT ($P=0,07$), που υποδηλώνουν συνθήκη βλάβης στο ήπαρ, άρα και φλεγμονή. Δεδομένα, κυρίως από in vitro και in vivo μελέτες συνηγορούν πως ο PAF αποτελεί ιδιαίτερα σημαντικό μεσολαβητή φλεγμονής σε ηπατικές βλάβες (153). Πρόσθετα, για τον ρόλο του κρασιού, έχει παρατηρηθεί πως η μέτρια κατανάλωση

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

κρασιού (120ml/ ημέρα) σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο για μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος, παρατήρηση που προήλθε από σύγκριση 945 εθελοντών μέτριας κατανάλωσης κρασιού έναντι 7.211 μη καταναλωτών αλκοολούχων ποτών (154).

Σε άλλες παρατηρήσεις που απορρέουν από τα ευρήματα της μελέτης, η προσκόλληση των συμμετεχόντων στην ΜΔ αξιολογήθηκε μέσω του MedDietScore, όπου συγκριτικά με τον Ελληνικό πληθυσμό φαίνεται να υπήρχε ικανοποιητική προσκόλληση, με τιμές που δεν έφταναν χαμηλότερα του 30. Δεδομένα της προοπτικής μελέτης ATTICA study, που παρακολούθησε Ελληνικό πληθυσμό στην δεκαετία 2002 με 2012, παρουσίασε πως σε απόλυτο αριθμό, μόνο 44 από ένα σύνολο 1006 ανδρών εθελοντών (3,78%) είχε προσκόλληση στην ΜΔ ανώτερη του 28 για το MedDietScore. Μάλιστα, από τους 198 άνδρες που ανέπτυξαν CVD στην δεκαετία, μόνο οι 4 (2%) είχαν τιμές ανώτερες του 28 (155). Ενδεχομένως, αυτή η διαφορά να είναι αποτέλεσμα καλύτερης διατροφικής προσέγγισης των ασθενών με CVD, με την πάροδο των ετών.

Περιορισμοί και πλεονεκτήματα της μελέτης

Αρχικά, σε επίπεδο εθελοντών, υπήρξε συμμετοχή μόνο από άνδρες, γεγονός που σημαίνει πως τα ευρήματα μας πιθανώς να μην αντιπροσωπεύουν αντίστοιχες επιδράσεις σε γυναίκες. Παρομοίως, επιλέχθηκαν εθελοντές που έπασχαν από στεφανιαία νόσο, οπότε τα αποτελέσματα δεν μπορούν εκφράσουν άλλες ομάδες του πληθυσμού, όπως είναι ο υγιής πληθυσμός. Ως προς τις συγκεκριμένες αδυναμίες, θα πρέπει να διεξαχθούν μελέτες που να προσανατολίζονται σε αυτούς τους πληθυσμούς. Παράλληλα, η προσκόλληση των εθελοντών στην παρέμβαση εξετάστηκε μόνο μέσω συνεντεύξεων, χωρίς να επιβεβαιώνεται από ανάλογους βιοχημικούς δείκτες για κάθε ομάδα. Όσον αφορά το μέγεθος του δείγματος, χαρακτηρίζεται ικανοποιητικό καλύπτοντας τις απαιτήσεις του power analysis, όμως όπως φάνηκε από τα αποτελέσματα της μελέτης μας, οι αποχωρήσεις, και ειδικότερα στην ομάδα του τσίπουρου, φαίνεται να επηρέασαν τα τελικά ευρήματα.

Στα πλεονεκτήματα της μελέτης μας, αρχικά ως προς τον σχεδιασμό της, ήταν μία μονά τυφλή, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη κλινική παρέμβαση. Αποτελεί την πρώτη κλινική μελέτη παρέμβασης σε ανθρώπους που αξιολόγησε την επίδραση του κρασιού *“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”*

στην δραστικότητα ενζύμων βιοσύνθεσης του PAF, άρα και στην ρύθμιση των επιπέδων του. Επίσης, μελέτησε την επίδραση της μακροπρόθεσμης μέτριας κατανάλωσης κρασιού, παρέχοντας επαρκής ποσότητες όπως φαίνεται από παλαιότερες μελέτες που αξιολόγησαν το κρασί έναντι δεικτών φλεγμονής, ενώ έναντι των ίδων μελετών, ήταν μεγαλύτερης διάρκειας από τις 4 εβδομάδες που προτιμήθηκε από πολλές μελέτες, φτάνοντας τις 8 εβδομάδες παρέμβασης. Πρόσθετα, επιλέχθηκε πληθυσμός πασχόντων από CVD, και συγκεκριμένα από στεφανιαία νόσο, πληθυσμός που δεν έχει μελετηθεί αρκετά για την επίδραση του κρασιού στην φλεγμονή. Ένα ακόμα σημαντικό στοιχείο της μελέτης αποτέλεσε και ο σχηματισμός ομάδας με αλκοολούχο ποτό απόσταξης, ισόποσης αιθανόλης με το κρασί, που δεν περιέχει μικρο-συστατικά του, προσδίδοντας στην συγκεκριμένη ομάδα τον ρόλο της ομάδας θετικού ελέγχου (“θετικό control”) για την αιθανόλη. Κατά προέκταση, η διαμόρφωση των ομάδων επέτρεψε να απομονωθεί ποιές παρατηρούμενες επιδράσεις του κρασιού ήταν αποτέλεσμα των μικρο-συστατικών του, και ποιές της αιθανόλης που περιέχει.

Συνοψίζοντας, από την μελέτη μας παρατηρήθηκε πως η μακροχρόνια μέτρια προς ελαφριά κατανάλωση κρασιού μειώνει τη δραστικότητα των ενζύμων βιοσύνθεσης του μεσολαβητή της φλεγμονής PAF σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Υπό αυτή την παρατήρηση υποδηλώνεται πως η εντοπισμένη αντιφλεγμονώδης και αντιθρομβωτική δράση κρασιού μπορεί να είναι αποτέλεσμα της αναστολής του PAF. Μάλιστα, αδυναμία εύρεσης σημαντικής επίδρασης από την κατανάλωση τσίπουρου στην δραστικότητα των ενζύμων, αλλά επίδρασης μόνο του κρασιού, δείχνει πως το όφελος είναι αποτέλεσμα των μικρο-συστατικών του κρασιού και όχι της αιθανόλης. Σε μελλοντικές έρευνες κρίνεται σκόπιμο να αξιολογηθούν και άλλοι πληθυσμοί πέραν των ασθενών με στεφανιαία νόσο, καθώς και σε γυναίκες, ώστε να κατανοηθεί καλύτερα η ουσιαστική επίδραση του κρασιού στα επίπεδα του PAF μέσω ρύθμισης των ενζύμων βιοσύνθεσης του.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. FAO. Agribusiness Handbook - Grapes Wine. FAO Agribusiness. 2009.
2. Markoski MM, Garavaglia J, Oliveira A, Olivaes J, Marcadenti A. Molecular properties of red wine compounds and cardiometabolic benefits. Nutr Metab Insights. 2016;9.
3. World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs) [Internet]. 2021 [cited 2021 Nov 26]. Available from: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
4. Iranpour A, Nakhaee N. A Review of Alcohol-Related Harms: A Recent Update. Addict Heal. 2019;11.
5. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Amouyel P, Arveiler D, Rajakangas - AM, Pajak A. Myocardial infarction and coronary deaths in the World Health Organization MONICA project: Registration procedures, event rates, and case-fatality rates in 38 populations from 21 countries in four continents. Circulation. 1994;90.
6. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. Lancet. 1992;339.
7. Van Den Brandt PA, Brandts L. Alcohol consumption in later life and reaching longevity: The Netherlands Cohort Study. Age Ageing. 2020;49.
8. Corrao G, Rubbiati L, Bagnardi V, Zambon A, Poikolainen K. Alcohol and coronary heart disease: A meta-analysis. Addiction. 2000;95.
9. 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. European Journal of Epidemiology. 2011.
10. Ikehara S, Iso H, Toyoshima H, Date C, Yamamoto A, Kikuchi S, Kondo T, Watanabe Y, Koizumi A, Wada Y, et al. Alcohol consumption and mortality from stroke and coronary heart disease among Japanese men and women: The Japan collaborative cohort study. Stroke. 2008;39.
11. Fuchs CS, Stampfer MJ, Colditz GA, Giovannucci EL, Manson JE, Kawachi I, Hunter DJ, Hankinson SE, Hennekens CH, Rosner B, et al. Alcohol Consumption and Mortality among Women. N Engl J Med. 1995;332.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

12. Roerecke M, Rehm J. Alcohol consumption, drinking patterns, and ischemic heart disease: A narrative review of meta-analyses and a systematic review and meta-analysis of the impact of heavy drinking occasions on risk for moderate drinkers. *BMC Med.* 2014;12.
13. Jani BD, McQueenie R, Nicholl BI, Field R, Hanlon P, Gallacher KI, Mair FS, Lewsey J. Association between patterns of alcohol consumption (beverage type, frequency and consumption with food) and risk of adverse health outcomes: a prospective cohort study. *BMC Med.* 2021;19.
14. Mukamal KJ, Ascherio A, Mittleman MA, Conigrave KM, Camargo CA, Kawachi I, Stampfer MJ, Willett WC, Rimm EB. Alcohol and risk for ischemic stroke in men: The role of drinking patterns and usual beverage. *Ann Intern Med.* 2005;142.
15. Larsson SC, Wallin A, Wolk A, Markus HS. Differing association of alcohol consumption with different stroke types: A systematic review and meta-analysis. *BMC Med.* 2016;14.
16. Stokes GS. Hypertension and alcohol: Is there a link? *Journal of Chronic Diseases.* 1982.
17. Mikhailidis D, Jenkins WJ, Barradas MA, Jeremy JY, Dandona P. Platelet function defects in chronic alcoholism. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1986;293.
18. Dimmitt SB, Rakic V, Puddey IB, Baker R, Oosttryck R, Adams MJ, Chesterman CN, Burke V, Beilin LJ. The effects of alcohol on coagulation and fibrinolytic factors: A controlled trial. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1998;9.
19. Prasad D, Das B. Physical inactivity : a cardiovascular risk factor. *Indian Journal of Medical Sciences.* 2009.
20. Haast RAM, Gustafson DR, Kiliaan AJ. Sex differences in stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism.* 2012.
21. Francula-Zaninovic S, Nola IA. Management of Measurable Variable Cardiovascular Disease' Risk Factors. *Curr Cardiol Rev.* 2018;14.
22. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, De Bacquer D, Ducimetière P, Jousilahti P, Keil U, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: The SCORE project. *Eur Heart J.* 2003;24.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

23. Terraube V, O'Donnell JS, Jenkins P V. Factor VIII and von Willebrand factor interaction: Biological, clinical and therapeutic importance. Haemophilia. 2010.
24. Andreasen PA, Georg B, Lund LR, Riccio A, Stacey SN. Plasminogen activator inhibitors: hormonally regulated serpins. Molecular and Cellular Endocrinology. 1990.
25. Okafor ON, Gorog DA. Endogenous fibrinolysis: An important mediator of thrombus formation and cardiovascular risk. Journal of the American College of Cardiology. 2015.
26. Janssen I, Landay AL, Ruppert K, Powell LH. Moderate wine consumption is associated with lower hemostatic and inflammatory risk factors over 8 years: The study of women's health across the nation (SWAN). Nutr Aging. 2014;2.
27. Renaud SC, Guéguen R, Conard P, Lanzmann-Petithory D, Orgogozo JM, Henry O. Moderate wine drinkers have lower hypertension-related mortality: A prospective cohort study in French men. Am J Clin Nutr. 2004;80.
28. Snetselaar LG, de Jesus JM, DeSilva DM, Stoody EE. Dietary Guidelines for Americans, 2020–2025. Nutr Today. 2021;56.
29. Nova E, San Mauro-Martín I, Díaz-Prieto LE, Marcos A. Wine and beer within a moderate alcohol intake is associated with higher levels of HDL-c and adiponectin. Nutr Res. 2019;63.
30. Hansen AS, Marckmann P, Dragsted LO, Finné Nielsen IL, Nielsen SE, Grønbæk M. Effect of red wine and red grape extract on blood lipids, haemostatic factors, and other risk factors for cardiovascular disease. Eur J Clin Nutr. 2005;59.
31. Castelli WP, Gordon T, Hjortland MC, Kagan A, Doyle JT, Hames CG, Hulley SB, Zukel WJ. ALCOHOL AND BLOOD LIPIDS. The Cooperative Lipoprotein Phenotyping Study. Lancet. 1977;310.
32. Fragopoulou E, Choleva M, Antonopoulou S, Demopoulos CA. Wine and its metabolic effects. A comprehensive review of clinical trials. Metabolism: Clinical and Experimental. 2018.
33. Gepner Y, Golan R, Harman-Boehm I, Henkin Y, Schwarzfuchs D, Shelef I, Durst R, Kovsan J, Bolotin A, Leitersdorf E, et al. Effects of initiating moderate alcohol intake on cardiometabolic risk in adults with type 2 diabetes: A 2-year

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

- randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 2015;163.
34. Chiva-Blanch G, Urpi-Sarda M, Ros E, Valderas-Martinez P, Casas R, Arranz S, Guillén M, Lamuela-Raventós RM, Llorach R, Andres-Lacueva C, et al. Effects of red wine polyphenols and alcohol on glucose metabolism and the lipid profile: A randomized clinical trial. *Clin Nutr.* 2013;32.
 35. Lachenmeier DW, Rehm J. Is there a relationship between alcohol quality and health? *Alcohol and Alcoholism.* 2013.
 36. Thompson RQ. *Encyclopedia of Analytical Science, Second Edition* (Worsfold, Paul; Tonshend, Alan; Poole, Colin). *J Chem Educ.* 2005;82.
 37. Di Domenico M, Feola A, Ambrosio P, Pinto F, Galasso G, Zarrelli A, Di Fabio G, Porcelli M, Scacco S, Inchingolo F, et al. Antioxidant Effect of Beer Polyphenols and Their Bioavailability in Dental-Derived Stem Cells (D-dSCs) and Human Intestinal Epithelial Lines (Caco-2) Cells. *Stem Cells Int.* 2020;2020.
 38. Butnariu M, Butu A. Qualitative and quantitative chemical composition of wine. *Quality Control in the Beverage Industry: Volume 17: The Science of Beverages.* 2019.
 39. Fernández-Pachón MS, Villaño D, García-Parrilla MC, Troncoso AM. Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta.* 2004.
 40. Σουφλερός ΕΗ. Σύσταση του οίνου. *Οινολογία, επιστήμη και τεχνογνωσία (Τόμος Ι).* Θεσσαλονίκη; 2000.
 41. Thakur M, Singh K, Khedkar R. 11 - Phytochemicals: Extraction process, safety assessment, toxicological evaluations, and regulatory issues. *Functional and Preservative Properties of Phytochemicals.* 2020.
 42. Tsimogiannis D, Oreopoulou V. Classification of Phenolic Compounds in Plants. *Polyphenols in Plants.* 2019.
 43. Forni C, Facchiano F, Bartoli M, Pieretti S, Facchiano A, D’Arcangelo D, Norelli S, Valle G, Nisini R, Beninati S, et al. Beneficial role of phytochemicals on oxidative stress and age-related diseases. *BioMed Research International.* 2019.

44. Ranjan A, Ramachandran S, Gupta N, Kaushik I, Wright S, Srivastava S, Das H, Srivastava S, Prasad S, Srivastava SK. Role of phytochemicals in cancer prevention. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019.
45. Ayaz M, Ullah F, Sadiq A, Ullah F, Ovais M, Ahmed J, Devkota HP. Synergistic interactions of phytochemicals with antimicrobial agents: Potential strategy to counteract drug resistance. *Chemico-Biological Interactions*. 2019.
46. Bayir AG, Kiziltan HS, Kocyigit A. Plant Family, Carvacrol, and Putative Protection in Gastric Cancer. *Dietary Interventions in Gastrointestinal Diseases: Foods, Nutrients, and Dietary Supplements*. 2019.
47. López-Vélez M, Martínez-Martínez F, Del Valle-Ribes C. The Study of Phenolic Compounds as Natural Antioxidants in Wine. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2003;43.
48. Rambaran TF. Nanopolyphenols: a review of their encapsulation and anti-diabetic effects. *SN Applied Sciences*. 2020.
49. Li L, Sun B. Grape and wine polymeric polyphenols: Their importance in enology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019.
50. Sun B, Silva J, Spranger M. Quantification of catechins and proanthocyanidins in several portugesse grapevine varieties and red wines. *Ciência e Técnica Vitivinícola*. 2001;16.
51. Roth I, Casas R, Medina-Remón A, Lamuela-Raventós RM, Estruch R. Consumption of aged white wine modulates cardiovascular risk factors via circulating endothelial progenitor cells and inflammatory biomarkers. *Clin Nutr*. 2019;38.
52. Santos MC, Nunes C, Ferreira AS, Jourdes M, Teissedre PL, Rodrigues A, Amado O, Saraiva JA, Coimbra MA. Comparison of high pressure treatment with conventional red wine aging processes: impact on phenolic composition. *Food Res Int*. 2019;116.
53. Visioli F, Panaite SA, Tomé-Carneiro J. Wine's phenolic compounds and health: A pythagorean view. *Molecules*. 2020.
54. Fragopoulou E, Demopoulos CA, Antonopoulou S. Lipid minor constituents in wines. A biochemical approach in the French paradox. *International Journal of Wine Research*. 2009.

55. Chiva-Blanch G, Urpi-Sarda M, Ros E, Arranz S, Valderas-Martínez P, Casas R, Sacanella E, Llorach R, Lamuela-Raventos RM, Andres-Lacueva C, et al. Dealcoholized red wine decreases systolic and diastolic blood pressure and increases plasma nitric oxide: Short communication. *Circ Res.* 2012;111.
56. McCarter KD, Li C, Jiang Z, Lu W, Smith HC, Xu G, Mayhan WG, Sun H. Effect of Low-Dose Alcohol Consumption on Inflammation Following Transient Focal Cerebral Ischemia in Rats. *Sci Rep.* 2017;7.
57. Justice M, Ferrugia A, Beidler J, Penprase JC, Cintora P, Erwin D, Medrano O, Brasser SM, Hong MY. Effects of moderate ethanol consumption on lipid metabolism and inflammation through regulation of gene expression in rats. *Alcohol Alcohol.* 2019;54.
58. Shukla R, Pandey V, Vadnere GP, Lodhi S. Role of Flavonoids in Management of Inflammatory Disorders. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases.* 2019.
59. Gutiérrez-Escobar R, Aliaño-González MJ, Cantos-Villar E. Wine polyphenol content and its influence on wine quality and properties: A review. *Molecules.* 2021.
60. Hämäläinen M, Nieminen R, Vuorela P, Heinonen M, Moilanen E. Anti-inflammatory effects of flavonoids: Genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein inhibit STAT-1 and NF-κB activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only NF-κB activation along with their inhibitory effect on iNOS expression and NO production in activated macrophages. *Mediators Inflamm.* 2007;2007.
61. Ribeiro D, Freitas M, Tomé SM, Silva AMS, Laufer S, Lima JLFC, Fernandes E. Flavonoids Inhibit COX-1 and COX-2 Enzymes and Cytokine/Chemokine Production in Human Whole Blood. *Inflammation.* 2015;38.
62. García-Mediavilla V, Crespo I, Collado PS, Esteller A, Sánchez-Campos S, Tuñón MJ, González-Gallego J. The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 and reactive C-protein, and down-regulation of the nuclear factor kappaB pathway in Chang Liver cells. *Eur J Pharmacol.* 2007;557.
63. Askari G, Ghiasvand R, Feizi A, Ghanadian SM, Karimian J. The effect of

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

- quercetin supplementation on selected markers of inflammation and oxidative stress. J Res Med Sci. 2012;17.
64. Anand David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. Pharmacognosy Reviews. 2016.
 65. Egert S, Bosy-Westphal A, Seiberl J, Kürbitz C, Settler U, Plachta-Danielzik S, Wagner AE, Frank J, Schrezenmeir J, Rimbach G, et al. Quercetin reduces systolic blood pressure and plasma oxidised low-density lipoprotein concentrations in overweight subjects with a high-cardiovascular disease risk phenotype: A double-blinded, placebo-controlled cross-over study. Br J Nutr. 2009;102.
 66. Hackman RM, Polagruto JA, Zhu QY, Sun B, Fujii H, Keen CL. Flavanols: Digestion, absorption and bioactivity. Phytochemistry Reviews. 2008.
 67. Samavat H, Newman AR, Wang R, Yuan JM, Wu AH, Kurzer MS. Effects of green tea catechin extract on serum lipids in postmenopausal women: A randomized, placebo-controlled clinical trial^{1,2}. Am J Clin Nutr. 2016;104.
 68. Miyazaki R, Kotani K, Ayabe M, Tsuzaki K, Shimada J, Sakane N, Takase H, Ichikawa H, Yonei Y, Ishii K. Minor effects of green tea catechin supplementation on cardiovascular risk markers in active older people: A randomized controlled trial. Geriatr Gerontol Int. 2013;13.
 69. Sone T, Kuriyama S, Nakaya N, Hozawa A, Shimazu T, Nomura K, Rikimaru S, Tsuji I. Randomized controlled trial for an effect of catechin-enriched green tea consumption on adiponectin and cardiovascular disease risk factors. Food Nutr Res. 2011;55.
 70. Rauf A, Imran M, Abu-Izneid T, Ihtisham-Ul-Haq, Patel S, Pan X, Naz S, Sanches Silva A, Saeed F, Rasul Suleria HA. Proanthocyanidins: A comprehensive review. Biomedicine and Pharmacotherapy. 2019.
 71. Sano A, Uchida R, Saito M, Shioya N, Komori Y, Tho Y, Hashizume N. Beneficial effects of grape seed extract on malondialdehyde-modified LDL. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). 2007;53.
 72. King RE, Bomser JA, Min DB. Bioactivity of resveratrol. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2006.
 73. de Sá Coutinho D, Pacheco MT, Frozza RL, Bernardi A. Anti-inflammatory
“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

- effects of resveratrol: Mechanistic insights. International Journal of Molecular Sciences. 2018.
74. Magyar K, Halmosi R, Palfi A, Feher G, Czopf L, Fulop A, Battyany I, Sumegi B, Toth K, Szabados E. Cardioprotection by resveratrol: A human clinical trial in patients with stable coronary artery disease. Clin Hemorheol Microcirc. 2012;50.
 75. Sahebkar A. Effects of resveratrol supplementation on plasma lipids: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Nutr Rev. 2013;71.
 76. Gorabi AM, Aslani S, Imani D, Razi B, Sathyapalan T, Sahebkar A. Effect of resveratrol on C-reactive protein: An updated meta-analysis of randomized controlled trials. Phytotherapy Research. 2021.
 77. Kanagaraj VV, Panneerselvam L, Govindarajan V, Ameeramja J, Perumal E. Caffeic acid, a phyto polyphenol mitigates fluoride induced hepatotoxicity in rats: A possible mechanism. BioFactors. 2015;41.
 78. Yang P, Huang S, Xu A. The Oxidative Burst System in Amphioxus. Amphioxus Immunity: Tracing the Origins of Human Immunity. 2016.
 79. Ma J, Yang L, Ren J, Yang J. Autophagy, oxidative stress, and redox regulation. Autophagy and Cardiometabolic Diseases: From Molecular Mechanisms to Translational Medicine. 2018.
 80. Machado TR, Machado TR, Pascutti PG. The p38 MAPK Inhibitors and Their Role in Inflammatory Diseases. ChemistrySelect. 2021.
 81. Tian J, Guo X, Liu XM, Liu L, Weng QF, Dong SJ, Knowlton AA, Yuan WJ, Lin L. Extracellular HSP60 induces inflammation through activating and up-regulating TLRs in cardiomyocytes. Cardiovasc Res. 2013;98.
 82. Li C, Wu J, Li Y, Xing G. Cytoprotective effect of heat shock protein 27 against lipopolysaccharide-induced apoptosis of renal epithelial HK-2 cells. Cell Physiol Biochem. 2017;41.
 83. Bai J, Zhang Y, Tang C, Hou Y, Ai X, Chen X, Zhang Y, Wang X, Meng X. Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. Biomedicine and Pharmacotherapy. 2021.

84. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins Basic Pathology (10th ed.). General and Oral Pathology for the Dental Hygienist. 2017.
85. Chaplin DD. Overview of the immune response. J Allergy Clin Immunol. 2010;125.
86. Minihane AM, Vinoy S, Russell WR, Baka A, Roche HM, Tuohy KM, Teeling JL, Blaak EE, Fenech M, Vauzour D, et al. Low-grade inflammation, diet composition and health: Current research evidence and its translation. British Journal of Nutrition. 2015.
87. Bonaccio M, Pounis G, Cerletti C, Donati MB, Iacoviello L, de Gaetano G. Mediterranean diet, dietary polyphenols and low grade inflammation: results from the MOLI-SANI study. British Journal of Clinical Pharmacology. 2017.
88. Fragopoulou E, Antonopoulou S. The French paradox three decades later: Role of inflammation and thrombosis. Clinica Chimica Acta. 2020.
89. Van Hinsbergh VWM. Endothelium - Role in regulation of coagulation and inflammation. Seminars in Immunopathology. 2012.
90. Johns P, Johns P. Chapter 10 – Stroke. Clin Neurosci. 2014;
91. Poznyak A V., Nikiforov NG, Markin AM, Kashirskikh DA, Myasoedova VA, Gerasimova E V., Orekhov AN. Overview of OxLDL and Its Impact on Cardiovascular Health: Focus on Atherosclerosis. Frontiers in Pharmacology. 2021.
92. Granger D, Senchenkova E. Chapter 7 Leukocyte – Endothelial Cell Adhesion. Inflammation and the Microcirculation. 2010.
93. McNiven MA, Razidlo GL. Regulation of Cell Migration. Encyclopedia of Cell Biology. 2016.
94. Ansar W, Ghosh S. Inflammation and Inflammatory Diseases, Markers, and Mediators: Role of CRP in Some Inflammatory Diseases. Biology of C Reactive Protein in Health and Disease. 2016.
95. Benveniste J, Henson PM, Cochrane CG. Leukocyte-dependent histamine release from rabbit platelets: The role of IgE, basophils, and a platelet-activating factor. J Exp Med. 1972;136.
96. Demopoulos CA, Pinckard RN, Hanahan DJ. Platelet-activating factor.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

- Evidence for 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine as the active component (a new class of lipid chemical mediators). J Biol Chem. 1979;254.
97. Basran GS, Page CP, Paul W, Morley J. Platelet-activating factor: a possible mediator of the dual response to allergen? Clin Exp Allergy. 1984;14.
 98. Watanabe J, Marathe GK, Neilsen PO, Weyrich AS, Harrison KA, Murphy RC, Zimmerman GA, McIntyre TM. Endotoxins stimulate neutrophil adhesion followed by synthesis and release of platelet-activating factor in microparticles. J Biol Chem. 2003;278.
 99. Antonopoulou S, Nomikos T, Karantonis CH, Fragopoulou E, Demopoulos CA. PAF, a potent lipid mediator. In: Tselepis AD, editor. Bioactive Phospholipids Role in inflammation and Atherosclerosis. Transworld Research Network; 2008. p. 85–134.
 100. Montrucchio G, Alloatti G, Camussi G. Role of platelet-activating factor in cardiovascular pathophysiology. Physiological Reviews. 2000.
 101. Snyder F. Platelet-activating factor and related acetylated lipids as potent biologically active cellular mediators. American Journal of Physiology - Cell Physiology. 1990.
 102. Yost CC, Weyrich AS, Zimmerman GA. The platelet activating factor (PAF) signaling cascade in systemic inflammatory responses. Biochimie. 2010.
 103. Kono N, Arai H. Platelet-activating factor acetylhydrolases: An overview and update. Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids. 2019.
 104. Nomikos T, Fragopoulou E, Antonopoulou S, Panagiotakos DB. Mediterranean diet and platelet-activating factor; a systematic review. Clinical Biochemistry. 2018.
 105. Tsoupras A, Lordan R, Zabetakis I. Inflammation, not cholesterol, is a cause of chronic disease. Nutrients. 2018.
 106. Papakonstantinou VD, Lagopati N, Tsilibary EC, Demopoulos CA, Philippopoulos AI. A Review on Platelet Activating Factor Inhibitors: Could a New Class of Potent Metal-Based Anti-Inflammatory Drugs Induce Anticancer Properties? Bioinorganic Chemistry and Applications. 2017.

107. Bussolino F, Silvagno F, Garbarino G, Costamagna C, Sanavio F, Arese M, Soldi R, Aglietta M, Pescarmona G, Camussi G, et al. Human endothelial cells are targets for platelet-activating factor (PAF). Activation of α and β protein kinase C isozymes in endothelial cells stimulated by PAF. J Biol Chem. 1994;269.
108. Demopoulos CA, Karantonis HC, Antonopoulou S. Platelet activating factor - A molecular link between atherosclerosis theories. European Journal of Lipid Science and Technology. 2003.
109. Juncos LA, Ren Y, Arima S, Ito S. Vasodilator and constrictor actions of platelet-activating factor in the isolated microperfused afferent arteriole of the rabbit kidney: Role of endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide and cyclooxygenase products. J Clin Invest. 1993;91.
110. Karabina SA, Ninio E. Plasma PAF-acetylhydrolase: An unfulfilled promise? Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids. 2006.
111. Tellis CC, Tselepis AD. The role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis may depend on its lipoprotein carrier in plasma. Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids. 2009.
112. Singh P, Singh IN, Mondal SC, Singh L, Garg VK. Platelet-activating factor (PAF)-antagonists of natural origin. Fitoterapia. 2013.
113. Vázquez-Agell M, Sacanella E, Tobias E, Monagas M, Antúnez E, Zamora-Ros R, Andrés-Lacueva C, Lamuela-Raventós RM, Fernández-Solá J, Nicolás JM, et al. Inflammatory markers of atherosclerosis are decreased after moderate consumption of cava (sparkling wine) in men with low cardiovascular risk. J Nutr. 2007;137.
114. Huang PH, Chen YH, Tsai HY, Chen JS, Wu TC, Lin FY, Sata M, Chen JW, Lin SJ. Intake of red wine increases the number and functional capacity of circulating endothelial progenitor cells by enhancing nitric oxide bioavailability. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2010;30.
115. Fragopoulou E, Argyrou C, Detopoulou M, Tsitsou S, Seremeti S, Yannakoulia M, Antonopoulou S, Kolovou G, Kalogeropoulos P. The effect of moderate wine consumption on cytokine secretion by peripheral blood mononuclear cells: A randomized clinical study in coronary heart disease patients. Cytokine.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

2021;146.

116. Estruch R, Sacanella E, Badia E, Antúnez E, Nicolás JM, Fernández-Solá J, Rotilio D, De Gaetano G, Rubin E, Urbano-Márquez A. 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. Nomikos T., Fragopoulou E., Antonopoulou S. Food ingredients and lipid mediators. *Curr Nutr Food Sci*. 2007;3.
118. Avellone G, Di Garbo V, Campisi D, De Simone R, Raneli G, Scaglione R, Licata G. Effects of moderate Sicilian red wine consumption on inflammatory biomarkers of atherosclerosis. *Eur J Clin Nutr*. 2006;60.
119. 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.
120. Karlsen A, Retterstøl L, Laake P, Kjølrsrud-Bøhn S, Sandvik L, Blomhoff R. Effects of a daily intake of one glass of red wine on biomarkers of antioxidant status, oxidative stress and inflammation in healthy adults. *e-SPEN*. 2007;2.
121. Chiva-Blanch G, Urpi-Sarda M, Llorach R, Rotches-Ribalta M, Guilleñ M, Casas R, Arranz S, Valderas-Martinez P, Portoles O, Corella D, et al. Differential effects of polyphenols and alcohol of red wine on the expression of adhesion molecules and inflammatory cytokines related to atherosclerosis: A randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr*. 2012;95.
122. Rifler J-P, Lorcerie F, Durand P, Delmas D, Ragot K, Limagne E, Mazué F, Riedinger J-M, d'Athis P, Hudelot B, et al. A moderate red wine intake improves blood lipid parameters and erythrocytes membrane fluidity in post myocardial infarct patients. *Mol Nutr Food Res*. 2012;56.
123. Barden A, Shinde S, Phillips M, Beilin L, Mas E, Hodgson JM, Puddey I, Mori TA. The effects of alcohol on plasma lipid mediators of inflammation resolution in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids*. 2018;133.
124. Mori TA, Burke V, Zilkens RR, Hodgson JM, Beilin LJ, Puddey IB. The effects
“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των
Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

- of alcohol on ambulatory blood pressure and other cardiovascular risk factors in type 2 diabetes: A randomized intervention. *J Hypertens*. 2016;34.
125. Taborsky M, Ostadal P, Adam T, Moravec O, Gloger V, Schee A, Skala T. Red or white wine consumption effect on atherosclerosis in healthy individuals (In Vino Veritas study). *Bratislava Med J*. 2017;118.
 126. Djurovic S, Berge KE, Birkenes B, Braaten Ø, Retterstøl L. The effect of red wine on plasma leptin levels and vasoactive factors from adipose tissue: A randomized crossover trial. *Alcohol Alcohol*. 2007;42.
 127. Marfella R, Cacciapuoti F, Siniscalchi M, Sasso FC, Marchese F, Cinone F, Musacchio E, Marfella MA, Ruggiero L, Chiorazzo G, et al. Effect of moderate red wine intake on cardiac prognosis after recent acute myocardial infarction of subjects with Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2006;23.
 128. Retterstøl L, Berge KE, Braaten Ø, Eikvar L, Pedersen TR, Sandvik L. A daily glass of red wine: Does it affect markers of inflammation? *Alcohol Alcohol*. 2005;40.
 129. Abu-Amsa Caccetta R, Burke V, Mori TA, Beilin LJ, Puddey IB, Croft KD. Red wine polyphenols, in the absence of alcohol, reduce lipid peroxidative stress in smoking subjects. *Free Radic Biol Med*. 2001;30.
 130. Joosten MM, Beulens JWJ, Kersten S, Hendriks HFJ. Moderate alcohol consumption increases insulin sensitivity and ADIPOQ expression in postmenopausal women: A randomised, crossover trial. *Diabetologia*. 2008;51.
 131. Imhof A, Plamper I, Maier S, Trischler G, Koenig W. Effect of drinking on adiponectin in healthy men and women: A randomized intervention study of water, ethanol, red wine, and beer with or without alcohol. *Diabetes Care*. 2009;32.
 132. Di Renzo L, Marsella LT, Carraro A, Valente R, Gualtieri P, Gratteri S, Tomasi D, Gaiotti F, De Lorenzo A. Changes in LDL Oxidative Status and Oxidative and Inflammatory Gene Expression after Red Wine Intake in Healthy People: A Randomized Trial. *Mediators Inflamm*. 2015;2015.
 133. Williams MJA, Sutherland WHF, Whelan AP, McCormick MP, De Jong SA. Acute effect of drinking red and white wines on circulating levels of inflammation-sensitive molecules in men with coronary artery disease.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

Metabolism. 2004;53.

134. Fragopoulou E, Petsini F, Choleva M, Detopoulou M, S Arvaniti O, Kallinikou E, Sakantani E, Tsolou A, Nomikos T, Samaras Y. Evaluation of Anti-Inflammatory, Anti-Platelet and Anti-Oxidant Activity of Wine Extracts Prepared from Ten Different Grape Varieties. *Molecules*. 2020;25.
135. Xanthopoulou MN, Kalathara K, Melachroinou S, Arampatzi-Menenakou K, Antonopoulou S, Yannakoulia M, Fragopoulou E. Wine consumption reduced postprandial platelet sensitivity against platelet activating factor in healthy men. *Eur J Nutr*. 2017;56.
136. Argyrou C, Vlachogianni I, Stamatakis G, Demopoulos CA, Antonopoulou S, Fragopoulou E. Postprandial effects of wine consumption on Platelet Activating Factor metabolic enzymes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2017;130.
137. Bountziouka V, Bathrellou E, Giotopoulou A, Katsagoni C, Bonou M, Vallianou N, Barbetseas J, Avgerinos PC, Panagiotakos DB. Development, repeatability and validity regarding energy and macronutrient intake of a semi-quantitative food frequency questionnaire: Methodological considerations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012;22.
138. 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 (Baltim)*. 2007;44.
139. Kavouras SA, Maraki MI, Kollia M, Gioxari A, Jansen LT, Sidossis LS. Development, Reliability and validity of a physical activity questionnaire for estimating energy expenditure in Greek adults. *Sci Sport*. 2016;31.
140. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72.
141. Fragopoulou E, Iatrou C, Demopoulos CA. Characterization of acetyl-CoA: Lyso-PAF acetyltransferase of human mesangial cells. *Mediators Inflamm*. 2005;2005.
142. BLIGH EG, DYER WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*. 1959;37.

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

143. Tsoupras AB, Fragopoulou E, Nomikos T, Iatrou C, Antonopoulou S, Demopoulos CA. Characterization of the de novo biosynthetic enzyme of platelet activating factor, DDT-insensitive cholinephosphotransferase, of human mesangial cells. *Mediators Inflamm.* 2007;2007.
144. Vogeser M, König D, Frey I, Predel HG, Parhofer KG, Berg A. Fasting serum insulin and the homeostasis model of insulin resistance (HOMA-IR) in the monitoring of lifestyle interventions in obese persons. *Clin Biochem.* 2007;40.
145. Panagiotakos DB, Miliadis 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;
146. Bach-Faig A, Berry EM, Lairon D, Reguant J, Trichopoulou A, Dernini S, Medina FX, Battino M, Belahsen R, Miranda G, et al. Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutr.* 2011;
147. Serra-Majem L, Tomaino L, Dernini S, Berry EM, Lairon D, de la Cruz JN, Bach-Faig A, Donini LM, Medina FX, Belahsen R, et al. Updating the mediterranean diet pyramid towards sustainability: Focus on environmental concerns. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17.
148. World Health Organizations. Healthy Diet. World Health Organization. 2015.
149. Kromhout D, Geleijnse JM, Menotti A, Jacobs DR. The confusion about dietary fatty acids recommendations for CHD prevention. *British Journal of Nutrition.* 2011.
150. Xanthopoulou MN, Asimakopoulos D, Antonopoulou S, Demopoulos CA, Fragopoulou E. Effect of Robola and Cabernet Sauvignon extracts on platelet activating factor enzymes activity on U937 cells. *Food Chem.* 2014;165.
151. Tsoupras A, Iatrou C, Frangia C, Demopoulos C. The Implication of Platelet Activating Factor in Cancer Growth and Metastasis: Potent Beneficial Role of PAF-Inhibitors and Antioxidants. *Infect Disord - Drug Targets.* 2009;9.
152. Detopoulou P, Nomikos T, Fragopoulou E, Antonopoulou S, Kotroyiannis I, Vassiliadou C, Panagiotakos DB, Chrysoshoou C, Pitsavos C, Stefanadis C. Platelet activating factor (PAF) and activity of its biosynthetic and catabolic enzymes in blood and leukocytes of male patients with newly diagnosed heart

“Επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα ένζυμα μεταβολισμού του Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο”

- failure. Clin Biochem. 2009;42.
153. Karidis NP, Kouraklis G, Theocharis SE. Platelet-activating factor in liver injury: A relational scope. World Journal of Gastroenterology. 2006.
154. Dunn W, Xu R, Schwimmer JB. Modest wine drinking and decreased prevalence of suspected nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2008;47.
155. Critselis E, Kontogianni MD, Georgousopoulou E, Chrysohoou C, Tousoulis D, Pitsavos C, Panagiotakos DB. Comparison of the Mediterranean diet and the Dietary Approach Stop Hypertension in reducing the risk of 10-year fatal and non-fatal CVD events in healthy adults: The ATTICA Study (2002-2012). Public Health Nutr. 2021;24.