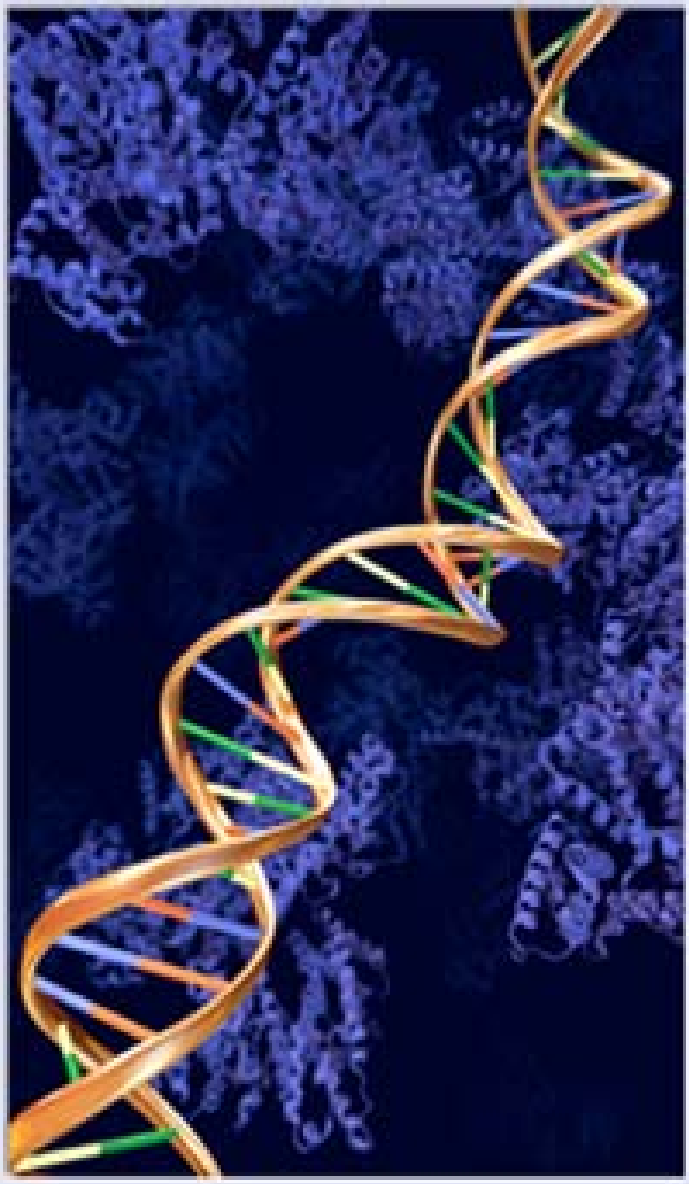
ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΕΛ. ΒΕΝΙΖΕΛΟΥ 70, 176 71 ΑΘΗΝΑ – ΤΗΛ. : 210 9549100, FAX: 210 9577050

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟ



Μανίκα Βασιλική
Α.Μ. 20020

Υπεύθυνος πτυχιακής μελέτης: **Δεδούσης Γ., Επίκουρος Καθηγητής**
Μέλη εξεταστικής επιτροπής: **Γιαννακούλια Μ., Λέκτορας**
Παναγιωτάκος Δ., Λέκτορας

ΑΘΗΝΑ 2005

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περιεχόμενα 1

Ευχαριστίες 3

Περίληψη 4

Μέρος Α' Εισαγωγή 6-55

Κεφάλαιο 1. Στεφανιαία Νόσος 6

Α. Επιδημιολογικά στοιχεία 6

Α.1. Διεθνή στοιχεία 6

Α.2. Στοιχεία από την Ελλάδα 7

Β. Παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση Στεφανιαίας Νόσου 8

Β.1. Εκτίμηση του κινδύνου ανάπτυξης Στεφανιαίας Νόσου 8

Β.2. Παράγοντες κινδύνου 10

Β.2.1. Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου 11

Β.2.2. Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου 13

Κεφάλαιο 2. Παθογένεια της Νόσου 18

Α. Πορεία αθηρωματικής διαδικασίας 19

Β. Έμφραγμα του μυοκαρδίου 25

Γ. Κυτταροκίνες 28

Γ.1. Ιντερλευκίνες 29

Γ.2. Γονίδιο της IL-6 και ο πολυμορφισμός -174G/C 31

Κεφάλαιο 3. Μεσογειακή Διατροφή & Στεφανιαία Νόσος 33

Α. Μεσογειακή Διατροφή – Γενικά Στοιχεία 33

Β. Μεσογειακή Διατροφή – Ομάδες Τροφίμων 35

Γ. Μεσογειακή Διατροφή & Στεφανιαία Νόσος 38

Δ. Αντιοξειδωτικά Συστατικά Διατροφής και Στεφανιαία Νόσος 39

Κεφάλαιο 4. Nutrigenomics/ Nutrigenetics 44

Α. Εισαγωγικά στοιχεία – Ορισμός nutrigenomics & nutrigenetics 44

Β. Nutrigenetics και θρεπτικά συστατικά 47

Β.1. Μακροθρεπτικά συστατικά 47

Β.2. Μικροθρεπτικά συστατικά 48

Γ. Nutrigenetics και νοσήματα 51

Γ.1. Μονογονιδιακά νοσήματα 51

Γ.2. Πολυπαραγοντικά νοσήματα 52

Μέρος Β' Σκοπός 56

Μέρος Γ' Μεθοδολογία 57-73

Α. Δειγματοληψία 57

Α.1. Πληθυσμός της μελέτης 57

Α.2. Διερευνούμενοι παράγοντες 58

Β. Επεξεργασία στοιχείων 60

Β.1. Στοιχεία συνέντευξης 60

Β.2. Καθορισμός γονοτύπου - Διαδικασία 62

Β.3. Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων 73

Μέρος Δ' Αποτελέσματα 74-80

Α. Χαρακτηριστικά δείγματος 74

Β. Αποτελέσματα PCR και πέψης 75

Β.1. Αποτελέσματα PCR 75

Β.2. Αποτελέσματα πέψης 75

Γ. Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης με βάση το γονότυπο 77

Μέρος Ε' Συζήτηση 81-87

Α. Ομάδες πληθυσμού 81

Β. Πολυμορφισμός IL-6 -174G/C 83

Γ. Περιορισμοί της μελέτης 86

Δ. Συμπεράσματα 87

Μέρος ΣΤ' Βιβλιογραφία 88-94

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πρώτα και πάνω από όλα, θέλω να ευχαριστήσω τον υπεύθυνο καθηγητή μου, κ. Δεδούση Γ., που μου έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθώ, έστω και σε εμβρυϊκό στάδιο, με το πεδίο των nutrigenetics. Επίσης, θέλω να ευχαριστήσω θερμά την κάθε μία ξεχωριστά από τις κοπέλες που αποτελούν την ομάδα του στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο και είναι οι εξής (με αλφαβητική σειρά):

- Βίδρα Νικολέτα, Διαιτολόγος, για τη συμπαράσταση, κυρίως την ηθική.
- Κανόνη Σταυρούλα, Διαιτολόγος, για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε στην επεξήγηση του στατιστικού πακέτου SPSS, με το οποίο πραγματοποιήθηκε η στατιστική επεξεργασία των στοιχείων της μελέτης, αλλά και για την βοήθειά της μέσα στο εργαστήριο.
- Λουϊζου Ειρήνη, Μοριακή Βιολόγος, για την βοήθειά της στο εργαστήριο, κυρίως στις στιγμές που γινόταν κάποιο λάθος.
- Σταθοπούλου Μαρία, Διαιτολόγος, για την πολύ καλή παρέα της, τόσο στο εργαστήριο όσο και εκτός αυτού.
- Χουμεριανού Δέσποινα, Μοριακή Βιολόγος, για την υπομονή της κατά τη διάρκεια της «εκπαίδευσής» μου στην μέθοδο της PCR και της πέψης, για τη βοήθεια που μου έδωσε να κατανοήσω κάποιες βασικές αρχές αυτών των μεθόδων στην πράξη και γιατί πάντα μου έβρισκε λύσεις σε προβλήματα που αφορούσαν το εργαστηριακό κομμάτι της πτυχιακής μου μελέτης.

Οφείλω να ευχαριστήσω, ξεχωριστά από τους παραπάνω, την Θεοδωράκη Ειρήνη, Διαιτολόγο και υποψήφια διδάκτωρ του ΕΚΠ, μέρος του διδακτορικού της οποίας αποτελεί αυτή η μελέτη. Μου εμφύσησε την αγάπη της για την έρευνα και με βοήθησε πάρα πολύ σε όλους τους τομείς αυτής της πτυχιακής εργασίας. Θέλω να την ευχαριστήσω για τις ατέλειωτες ώρες συζητήσεων, αντιπαραθέσεων και… φαγητού, ψάχνοντας τις λύσεις σε προβλήματα που προέκυπταν κατά τη διάρκεια της μελέτης. Τη θεωρώ μέντορά μου και καλή μου φίλη.

Τέλος, αφιερώνω αυτή τη δουλειά στην οικογένειά μου, που αξίζει ένα τεράστιο «ευχαριστώ» για την συμπαράσταση που μου έδειξε τους προηγούμενους μήνες, και ιδιαίτερα στον άντρα μου, για τις ατέλειωτες ώρες υπομονής που έκανε.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η παχυσαρκία, το κάπνισμα, ο σακχαρώδης διαβήτης, η υπέρταση και η υπερλιπιδαιμία αποτελούν μερικούς από τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη της στεφανιαίας νόσου. Όταν οι παράγοντες αυτοί αποτελούν χρόνιες καταστάσεις, διεγείρεται η απόκριση οξείας φάσης, που έχει σαν αποτέλεσμα την έκκριση προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, με κυριότερη την ιντερλευκίνη 6 (IL-6). Η χρόνια φλεγμονή ενισχύει την ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας, που είναι υπεύθυνη για τα συμπτώματα της στεφανιαίας νόσου (ασταθής στηθάγχη, έμφραγμα του μυοκαρδίου). Έχει αποδειχθεί ότι πολυμορφισμοί στο γονίδιο της IL-6 παίζουν ρόλο στην έναρξη και την πορεία της αθηρωματικής διαδικασίας. Από την άλλη πλευρά, η πρόσληψη αντιοξειδωτικών ουσιών από τη διατροφή προστατεύει τον οργανισμό από την οξειδωτική βλάβη των ελεύθερων ριζών οξυγόνου, οι οποίες παράγονται από τις προαναφερθείσες φλεγμονώδεις καταστάσεις που παρατηρούνται στη στεφανιαία νόσο.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε ο πολυμορφισμός -174G/C του γονιδίου της IL-6 σε 80 ασθενείς με στεφανιαία νόσο και σε 27 υγιείς μάρτυρες. Διερευνήθηκε η πιθανή διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού στις δυο ομάδες του δείγματος, αλλά και η σχέση του με τους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη της νόσου. Πράγματι, η συχνότητα του G αλληλομόρφου βρέθηκε μεγαλύτερη στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες (p-value=0.05). Δεν φάνηκε όμως να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους γονότυπους και τους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου.

Στη συνέχεια το δείγμα της μελέτης χωρίστηκε τόσο ως προς την παρουσία ή όχι του πολυμορφισμού, όσο και ως προς την παρουσία ή όχι της νόσου. Διερευνήθηκαν οι διαφορές ανάμεσα στις ομάδες για τη συχνότητα εμφάνισης των κλασσικών παραγόντων κινδύνου (τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα Δ.5.), για τα επίπεδα λιπιδίων και γλυκόζης αίματος (πίνακας Δ.6.). Τα αποτελέσματα της ανάλυσης αυτής δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά στην συχνότητα εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη ανάμεσα στις ομάδες ασθενών με στεφανιαία νόσο και γονότυπο GG (15, 29%) και στους μάρτυρες με τον ίδιο γονότυπο (2, 4%) (p=0.03). Στη συνέχεια μελετήθηκε μελετήθηκε η κατανάλωση φρούτων και

λαχανικών και τέλος, η διαφορά στην κατανάλωση φρούτων και λαχανικών πλούσιων σε αντιοξειδωτικά συστατικά, όπως είναι η βιταμίνη C, η βιταμίνη E, το β-καροτένιο και το λυκοπένιο ανάμεσα στις ομάδες του δείγματος, που δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική.

Συμπερασματικά, στον Ελληνικό πληθυσμό το G αλληλόμορφο εμφανίζεται σε μεγαλύτερη συχνότητα στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο και ο γονότυπος GG σχετίζεται με αυξημένη συχνότητα εμφάνισης διαβήτη τύπου II στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο.

***ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1*: ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΣ**

Α. Επιδημιολογικά στοιχεία

Α.1. Διεθνή στοιχεία

Είναι πλέον γνωστό ότι η στεφανιαία νόσος αποτελεί μια από τις κύριες αιτίες θανάτου, τόσο στις αναπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες. Το 1997, ο *Murrary και συν.* παρουσίασαν στοιχεία της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (Π.Ο.Υ.) για το έτος 1990 που δείχνουν ότι οι θάνατοι από καρδιαγγειακή νόσο, παγκοσμίως, ανέρχονται σε 14 εκατομμύρια, επί συνόλου 50 εκατομμυρίων θανάτων. Οι θάνατοι από στεφανιαία νόσο κατείχαν την 5η θέση ανάμεσα στις αιτίες θανάτου παγκοσμίως, μετά από τις παθήσεις του κατώτερου αναπνευστικού, τη διάρροια, τις περιγεννητικές συνθήκες και τη βαριά κατάθλιψη[1]. Η πρόβλεψη δε για το 2020 βασίζεται σε προγνωστικά μοντέλα που εκπονήθηκαν από ομάδες ερευνητών της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας. Με βάση τα μοντέλα αυτά, η καρδιαγγειακή νόσος το 2020, θα ευθύνεται για 25 εκατομμύρια θανάτους επί συνόλου 60 εκατομμυρίων θανάτων παγκοσμίως, ενώ η στεφανιαία νόσος θα αποτελεί την πρώτη αιτία θανάτου. Πιο συγκεκριμένα, στις χώρες «υψηλού» εισοδήματος οι θάνατοι από καρδιαγγειακές νόσους αναμένεται να ανέλθουν σε 6 εκατομμύρια, ενώ στις χώρες «χαμηλού» ή «μέσου» εισοδήματος οι καρδιαγγειακοί θάνατοι αναμένεται να ξεπεράσουν τα 19 εκατομμύρια. Αυτό αποδίδεται στην αλλαγή της ηλικιακής δομής των πληθυσμών «χαμηλού» ή «μέσου» εισοδήματος και στον αυξημένο επιπολασμό των κλασσικών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως το κάπνισμα, η υπερχοληστερολαιμία, η υπέρταση και η παχυσαρκία[1,2].

Πρόσφατα αποτελέσματα από μελέτη της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (MONICA WHO Study) δείχνουν την ετήσια ανδρική θνησιμότητα εξαιτίας της στεφανιαίας νόσου να μεταβάλλεται από πληθυσμό σε πληθυσμό: από 500 ανά 100.000 άτομα στη Φινλανδία, σε 200 ανά 100.000 στις Η.Π.Α., σε 110 ανά 100.000 στην Βρετανία και σε 50 ανά 100.000 στο Πεκίνο[3].

Α.2. Στοιχεία από την Ελλάδα

Στοιχεία της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας για την Ελλάδα που αφορούσαν το έτος 1998, αναφέρουν ότι η στεφανιαία νόσος αποτελεί τη δεύτερη αιτία θανάτου, μετά τις ασθένειες του κυκλοφορικού συστήματος, τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες. Πιο συγκεκριμένα, η θνησιμότητα από στεφανιαία νόσο είναι περίπου 110 θάνατοι ανά 100.000 άτομα. Ο *Moulopoulos και συν.* κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο επιπολασμός των κλασσικών παραγόντων κινδύνου ήταν μεγαλύτερος σε σχέση με τις υπόλοιπες βιομηχανοποιημένες χώρες[4].

Η *Kalandidi και συν.* στις αρχές της δεκαετίας του 1990 σε μελέτη 329 ασθενών με στεφανιαία νόσο και 570 μαρτύρων που νοσηλεύονταν σε νοσοκομεία της περιοχής των Αθηνών, διαπίστωσαν ότι η παχυσαρκία, η υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, τα αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης και η αυξημένη κατανάλωση καφέ αποτελούσαν ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου. Επίσης, δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του στεφανιαίου κινδύνου και των καπνιστικών συνηθειών, της κατανάλωσης αλκοόλ και της σωματικής δραστηριότητας. Τέλος, παρατηρήθηκε αρνητική σχέση μεταξύ του κινδύνου εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου και της απογευματινής ανάπαυσης[5].

Σε άλλη επιδημιολογική μελέτη στα μέσα της δεκαετίας του 1990, η *Trichopoulou και συν.* έδειξαν ότι η μεσογειακή δίαιτα, όπως αυτή προσδιορίζεται στον ελληνικό πληθυσμό, παίζει σημαντικό ρόλο στην μακροβιότητα των Ελλήνων και στη μικρή επίπτωση της στεφανιαίας νόσου, συγκριτικά με άλλες χώρες[6].

Τέλος, στην μελέτη CARDIO2000, μια μελέτη ασθενών –μαρτύρων που έγινε σε δείγμα του ελληνικού πληθυσμού από όλη τη χώρα, ο *Παναγιωτάκος και συν.* διερεύνησαν δημογραφικούς, διατροφικούς, ψυχολογικούς παράγοντες καθώς και τον τρόπο ζωής των ασθενών. Η μελέτη έδειξε ότι μερικοί παράγοντες, όπως το μορφωτικό επίπεδο, η έκθεση σε παθητικό κάπνισμα, η διακοπή του καπνίσματος, η κατάθλιψη και η κατανάλωση αλκοόλ αποτελούν δευτερεύοντες παράγοντες κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου[26].

Β. Παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση Στεφανιαίας Νόσου

Β.1. Εκτίμηση του κινδύνου ανάπτυξης Στεφανιαίας Νόσου

Η στεφανιαία νόσος είναι μια ασθένεια πολυπαραγοντικής αιτιολογίας. Επομένως, είναι σημαντικό να ληφθεί υπόψη στην εκτίμηση του κινδύνου το σύνολο των παραγόντων που προδιαθέτουν στην ανάπτυξή της[7]. Πριν από μερικά χρόνια, οι σχετικές οδηγίες των επιστημονικών εταιρειών εστιάζονταν στην εκτίμηση ενός παράγοντα κινδύνου, αντί να εκτιμάται ο συνολικός κίνδυνος, που προκύπτει από τον συνδυασμό όλων των παραγόντων κινδύνου. Με την εμφάνιση στεφανιαίου επεισοδίου, οι παράγοντες κινδύνου εξακολουθούν να επιβαρύνουν την εξέλιξη της νόσου και την πρόγνωσή της. Μελέτες σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο ή άλλη εκδήλωση της αθηροσκλήρυνσης, όπως π.χ. νόσος των καρωτίδων, καταδεικνύουν τον φανερά αυξημένο κίνδυνο για ένα δεύτερο επεισόδιο στο μέλλον[8,9].

Ο *Labarthe και συν.* αναφέρουν ότι ο προσδιορισμός του κινδύνου σε άτομα χωρίς στεφανιαία νόσο καθορίζεται σε 2 στάδια. Το πρώτο αφορά τον υπολογισμό των παραγόντων κινδύνου εκτός της LDL χοληστερόλης (πίνακας Α.1).

Πίνακας Α.1. Μείζονες παράγοντες κινδύνου (εκτός της LDL χοληστερόλης) που τροποποιούν τους θεραπευτικούς στόχους της LDL χοληστερόλης
❖ Κάπνισμα ❖ Αρτηριακή υπέρταση (ΑΠ>140/ 90mmHg, ή λήψη αντιϋπερτασικών φαρμάκων ❖ Χαμηλή HDL χοληστερόλη (<40 mg/dl). HDL χοληστερόλη >60mg/dl θεωρείται αρνητικός παράγοντας κινδύνου, οπότε αφαιρείται ένας παράγων κινδύνου από το συνολικό άθροισμα ❖ Οικογενειακό ιστορικό πρώιμης στεφανιαίας νόσου (σε 1ου βαθμού συγγενή άνδρα <55 ετών ή γυναίκα <65 ετών) ❖ Ηλικία (άνδρες >45 ετών, γυναίκες >55 ετών) *Ο Σακχαρώδης Διαβήτης θεωρείται ισοδύναμο ύπαρξης στεφανιαίας νόσου.*

Στο δεύτερο στάδιο, για άτομα με περισσότερους από δυο παράγοντες κινδύνου, υπολογίζεται ο 10ετής κίνδυνος από τους πίνακες του Framingham, ώστε να εντοπιστούν τα άτομα με αυξημένο κίνδυνο[3] (πίνακας Α.2). Οι παράγοντες κινδύνου που χρησιμοποιούνται στην κλίμακα αυτή περιλαμβάνουν την ηλικία, την ολική χοληστερόλη, συστολική αρτηριακή πίεση, θεραπεία για υπέρταση και κάπνισμα. Το άθροισμα των βαθμών που λαμβάνονται από κάθε παράγοντα κινδύνου αντιστοιχεί σε ένα επίπεδο κινδύνου εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου για την επόμενη 10ετία.

Πίνακας Α.2. Υπολογισμός του 10ετούς κινδύνου (Framingham Heart Study) για άνδρες και γυναίκες

ΑΝΔΡΕΣ						ΓΥΝΑΙΚΕΣ					
Ηλικία			Βαθμοί			Ηλικία			Βαθμοί		
20-34			-9			20-34			-7		
35-39			-4			35-39			-3		
40-44			0			40-44			0		
45-49			3			45-49			3		
50-54			6			50-54			6		
55-59			8			55-59			8		
60-64			10			60-64			10		
65-69			11			65-69			12		
70-74			12			70-74			14		
75-79			13			75-79			16		
	Ηλικία						Ηλικία				
	20-39	40-49	50-59	60-69	70-79		20-39	40-49	50-59	60-69	70-79
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)						Ολική χοληστερόλη (mg/dl)					
< 160	0	0	0	0	0	< 160	0	0	0	0	0
160-199	4	3	2	1	0	160-199	4	3	2	1	1
200-239	7	5	3	1	0	200-239	8	6	4	2	1
240-279	9	6	4	2	1	240-279	11	8	5	3	2
≥ 280	11	8	5	3	1	≥ 280	13	10	7	4	2
Κάπνισμα						Κάπνισμα					
Όχι	0	0	0	0	0	Όχι	0	0	0	0	0
Ναι	8	5	3	1	1	Ναι	9	7	4	2	1
HDL- χοληστερόλη (mg/dl)						HDL- χοληστερόλη (mg/dl)					
> 60	-1					> 60	-1				
50-59	0					50-59	0				
40-49	1					40-49	1				
< 40	2					< 40	2				
Συστολική πίεση (mmHg)						Συστολική πίεση (mmHg)					
	Χωρίς θεραπεία		Με θεραπεία				Χωρίς θεραπεία		Με θεραπεία		
< 120	0		0			< 120	0		0		
120-129	0		1			120-129	1		3		
130-139	1		2			130-139	2		4		
140-159	1		2			140-159	3		5		
> 160	2		3			> 160	4		6		
Άθροισμα των βαθμών			10ετής κίνδυνος (%)			Άθροισμα των βαθμών			10ετής κίνδυνος (%)		
< 0			< 1			< 9			< 1		
1			1			9			1		
2			1			10			1		
3			1			11			1		
4			1			12			1		
5			2			13			2		
6			2			14			2		
7			3			15			3		
8			4			16			4		
9			5			17			5		
10			6			18			6		
11			8			19			8		
12			10			20			11		
13			12			21			14		
14			16			22			17		
15			20			23			22		
16			25			24			27		
> 17			> 30			> 25			> 30		

Β.2. Παράγοντες κινδύνου

Οι κυριότεροι παράγοντες κινδύνου για την εκδήλωση της στεφανιαίας νόσου μπορούν να διαχωριστούν σε τροποποιήσιμους και μη τροποποιήσιμους[10,11] (πίνακας Α.3). Η παρατεταμένη έκθεση στους παράγοντες κινδύνου οδηγεί στην εκδήλωση των κλινικών επεισοδίων λόγω στενωτικών ή αποφρακτικών αθηρωματικών αλλοιώσεων. Οι καθιερωμένοι παράγοντες κινδύνου ερμηνεύουν περίπου το 50% της μεταβλητότητας της στεφανιαίας νόσου μεταξύ των πληθυσμών. Επιπλέον, οι κλασικοί παράγοντες κινδύνου (κάπνισμα, υπερλιπιδαιμία, υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης) σε συνδυασμό με την καθιστική ζωή και την ανθυγιεινή διατροφή, πιστεύεται ότι μπορούν να εξηγήσουν μέχρι και το 75% των επεισοδίων στεφανιαίας νόσου στα άτομα ενός πληθυσμού. Η απουσία των προαναφερθέντων παραγόντων καθιστά τη νόσο ιδιαίτερα σπάνια αιτία θανάτου[12,13].

Πίνακας Α.3. Παράγοντες κινδύνου εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου

Τροποποιήσιμοι	**Μη τροποποιήσιμοι**
▪ Δυσλιπιδαιμίες ▪ Κάπνισμα ▪ Αρτηριακή υπέρταση ▪ Παχυσαρκία ▪ Καθιστική ζωή ▪ Άγχος ▪ Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	▪ Ηλικία (άνδρες >45 έτη, γυναίκες >55 έτη) ▪ Ανδρικό φύλο ▪ Οικογενειακό ιστορικό πρώιμης στεφανιαίας νόσου (έμφραγμα του μυοκαρδίου ή αιφνίδιος θάνατος σε πρώτου βαθμού συγγενείς)

Οι τέσσερις πιο σημαντικοί τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι όσοι σχετίζονται με τον τρόπο ζωής: κάπνισμα, διατροφή, έλλειψη φυσική δραστηριότητας και άγχος. Ελέγχοντας τους παράγοντες αυτούς μπορούμε να ελέγξουμε έμμεσα και άλλους παράγοντες κινδύνου, όπως τα υψηλά επίπεδα χοληστερόλης, το διαβήτη, την παχυσαρκία και την υπέρταση.

Β.2.1. Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

Ηλικία

Με την αύξηση της ηλικίας αυξάνονται τα ποσοστά θνησιμότητας από τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Η ισχυρότερη ένδειξη μιας σχέσης μεταξύ των υψηλών επιπέδων χοληστερόλης και της στεφανιαίας νόσου βρίσκεται στους μεσήλικες άνω των 40 ετών. Ωστόσο, οι έρευνες σήμερα δείχνουν ότι όσο νεότερο είναι ένα άτομο κατά την αρχική διάγνωση υψηλών επιπέδων χοληστερόλης, τόσο μεγαλύτερη είναι η πιθανότητα εμφάνισης σοβαρών προβλημάτων στην καρδιά και στα αιμοφόρα αγγεία στο μέλλον[14,15] (πίνακας Framingham).

Η συστολική πίεση αυξάνεται επίσης με την ηλικία. Τα περισσότερα άτομα στις ανεπτυγμένες κοινωνίες θα αναπτύξουν υπέρταση κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Περίπου 50% του ενήλικου πληθυσμού των Η.Π.Α. και 80% εκείνων που είναι 50 ετών ή μεγαλύτεροι έχουν πίεση που φθάνει στα ανώτερα φυσιολογικά όρια[16]. Στην αρχική και μέση ενήλικη ηλικία, περισσότεροι άνδρες παρά γυναίκες έχουν υψηλή αρτηριακή πίεση αλλά καθώς αυξάνεται η ηλικία και των δύο, η κατάσταση αναστρέφεται. Μετά την εμμηνόπαυση, περισσότερες γυναίκες έχουν υπέρταση σε σύγκριση με τους συνομήλικούς τους άνδρες.

Φύλο

Οι καρδιαγγειακές παθήσεις αποτελούν την κύρια αιτία θανάτου στους άνδρες. Κατά μέσο όρο, οι άνδρες αναπτύσσουν στεφανιαία νόσο 10 έως 15 έτη νωρίτερα απ' ό,τι οι γυναίκες και ο κίνδυνος θανάτου από καρδιαγγειακά νοσήματα σε νεότερη ηλικία είναι μεγαλύτερος απ' ό,τι για τις γυναίκες. Οι μεσήλικοι άνδρες συγκεκριμένα έχουν υψηλό επιπολασμό των μείζονων παραγόντων κινδύνου για στεφανιαία νόσο και έχουν μεγαλύτερη προδιάθεση για κοιλιακή παχυσαρκία και μεταβολικό σύνδρομο[17].

Οι περισσότερες περιπτώσεις καρδιαγγειακών νοσημάτων στις γυναίκες εμφανίζονται μετά την εμμηνόπαυση και αυτό συμβαίνει συχνότερα σε γυναίκες ηλικίας άνω των 65 ετών. Παρότι για τις γυναίκες το ποσοστό θανάτου από καρδιαγγειακές παθήσεις δεν είναι τόσο υψηλό όσο για τους άνδρες, εξακολουθεί να αποτελεί τον υπ' αριθμό ένα παράγοντα θανάτου και στις γυναίκες. Στο παρελθόν θεωρείτο ότι η διαφορά φύλου στον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου σχετιζόταν με την προστατευτική επίδραση των οιστρογόνων στις γυναίκες.

Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες δευτερογενούς και πρωτογενούς πρόληψης δημιουργούν αμφιβολίες σχετικά με τη χρήση θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης για μείωση του κινδύνου στεφανιαίας νόσου, καθώς η θεραπεία αυτή είχε μικρή μόνο επίδραση στον κίνδυνο καρδιακής προσβολής[17].

Γενετικοί παράγοντες

Η κληρονομικότητα διαδραματίζει ένα σημαντικό ρόλο στον προσδιορισμό του κινδύνου ενός ατόμου για εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων. Για παράδειγμα, το γενετικό υπόβαθρο κλασικών παραγόντων κινδύνου, όπως ο διαβήτης, η υπέρταση και η δυσλιπιδαιμία, έχει αναγνωριστεί. Ορισμένοι πολυμορφισμοί γονιδίων, όπως στο γονίδιο της απολιποπρωτεΐνης Ε, ενδέχεται να αυξήσουν τον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου[18]. Είναι γνωστό ότι το οικογενειακό ιστορικό καρδιαγγειακών νοσημάτων μπορεί να αποτελεί παράγοντα κινδύνου. Μια σουηδική μελέτη διδύμων έδειξε ότι ο κίνδυνος ενός διδύμου να πεθάνει από στεφανιαία νόσο πριν από την ηλικία των 55 ετών, εάν ο άλλος είχε ήδη πεθάνει από αυτή, ήταν πολύ μεγαλύτερος για μονοζυγωτικούς διδύμους (8.1 για τους άνδρες, 15.0 για τις γυναίκες) απ' ό,τι σε διζυγωτικούς διδύμους (3.8 για τους άνδρες, 2.6 για τις γυναίκες) [19].

Β.2.2. Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

Κάπνισμα

Περισσότεροι από μισό εκατομμύριο θάνατοι ετησίως σε ολόκληρη την Ευρωπαϊκή Ένωση οφείλονται στο κάπνισμα[21]. Τα συχνότερα νοσήματα που προκαλούνται από το κάπνισμα είναι ο καρκίνος του πνεύμονα και τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Η σχέση του καπνίσματος με τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι δοσοεξαρτώμενη και παρατηρείται και στους άνδρες και στις γυναίκες. Ο αριθμός των τσιγάρων και τα έτη καπνίσματος σχετίζονται θετικά με την αύξηση του κινδύνου[22].

Δεδομένα μελετών δείχνουν ότι η διακοπή του καπνίσματος μειώνει τον κίνδυνο για καρδιακά επεισόδια και ότι η μείωση του κινδύνου αρχίζει εντός μηνών από τη διακοπή του. Τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες διακοπής του καπνίσματος σε περιβάλλοντα πρωτογενούς πρόληψης έχουν αποκαλύψει ουσιαστικές μειώσεις στον κίνδυνο για καρδιακά επεισόδια στα άτομα που έχουν διακόψει. Το κάπνισμα αποτελεί έναν ισχυρό, ανεξάρτητο, παράγοντα κινδύνου για στεφανιαία νόσο και τα οφέλη που προέρχονται από τη διακοπή του είναι ουσιαστικά[17].

Άγχος

Ένας αυξανόμενος αριθμός επιστημονικών στοιχείων δείχνει μία σχέση μεταξύ περιβαλλοντικών και ψυχοκοινωνικών παραγόντων, όπως ένταση στην εργασία και κοινωνική απομόνωση, και του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Πολύ πιθανό είναι επίσης το άγχος να δρα μέσω υπαρχόντων παραγόντων κινδύνου και δεν θα πρέπει να θεωρείται «ανεξάρτητος» παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα.

Η στρατηγική με την οποία ένα άτομο αντιμετωπίζει το άγχος μπορεί να επηρεάσει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Ως αποτέλεσμα του άγχους ορισμένα άτομα αυξάνουν το κάπνισμα, γίνονται σωματικά αδρανή και αρχίζουν την υπερβολική κατανάλωση φαγητού. Ως εκ τούτου, άλλοι παράγοντες κινδύνου όπως η αρτηριακή πίεση και τα επίπεδα χοληστερόλης μπορούν να επιδεινωθούν (AHA:American Heart Association, 2001). Επιπλέον, το άγχος μπορεί να έχει μία χρόνια επίδραση στην αρτηριακή πίεση[23].

Διατροφή

Η κατανάλωση τροφίμων υψηλής περιεκτικότητας σε κορεσμένα λιπαρά οξέα (SAFA) που βρίσκονται σε προϊόντα ζωικής προέλευσης, είναι υψηλή σε πολλές δυτικές χώρες. Η αυξημένη πρόσληψη κορεσμένου λίπους, σε συνδυασμό με την αυξημένη πρόσληψη trans- λιπαρών οξέων που προκύπτουν από υδρογονωμένα λίπη, αυξάνει τα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL χοληστερόλη) που αποτελούν έναν από τους βασικότερους παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα. Επίσης, η μειωμένη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών έχει αποδειχθεί προδιαθετική για την ανάπτυξη καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η δυνατότητα μείωσης του κινδύνου μέσω της διατροφής είναι σημαντική.

Η σχέση της διατροφής με την καρδιαγγειακή νόσο θα αναπτυχθεί στο κεφάλαιο «*Μεσογειακή Διατροφή και Στεφανιαία Νόσος*».

Σωματική δραστηριότητα

Η μειωμένη σωματική δραστηριότητα είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα. Ο σχετικός κίνδυνος για την υγεία που συνδέεται με την αδράνεια, είναι παρόμοιος σε μέγεθος με επιβεβαιωμένους παράγοντες κινδύνου όπως το κάπνισμα, η υπέρταση και τα υψηλά επίπεδα χοληστερόλης (AHA, Internet site). Επιπλέον, η μειωμένη φυσική δραστηριότητα, λόγω της σχέσης της με την παχυσαρκία και τις σχετικές συνυπάρχουσες νόσους, όπως διαβήτης και υπέρταση, αυξάνει έμμεσα τον κίνδυνο για την υγεία. Επομένως, ένας δραστήριο τρόπος ζωής θα μειώσει άμεσα τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων αλλά και έμμεσα, μέσω της μείωσης της αρτηριακής πίεσης, του βάρους, και άλλων παραγόντων κινδύνου.

Επίπεδα χοληστερόλης

Η χοληστερόλη της διατροφής ευθύνεται σε μεγάλο βαθμό για την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων. Τα αυξημένα επίπεδα λιπιδίων, και κυρίως η LDL χοληστερόλη η οποία οξειδώνεται κατά τη δημιουργία αθηρωματικής πλάκας, προκαλούν διάβρωση της πλάκας με αποτέλεσμα να υπάρχει μεγάλο κίνδυνος κάποιου επεισοδίου. Περισσότερες λεπτομέρειες μπορείτε να βρείτε στο κεφάλαιο «*Παθογένεια της νόσου-Πορεία αθηρωματικής διαδικασίας*».

Υπέρταση

Η υψηλή αρτηριακή πίεση αυξάνει το καρδιακό έργο, προκαλώντας τη διόγκωση και την εξασθένισή της καρδιάς με την πάροδο του χρόνου. Αυξάνει επίσης τον κίνδυνο εγκεφαλικού επεισοδίου, καρδιακής προσβολής, νεφρικής ανεπάρκειας και συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας. Όταν η υψηλή αρτηριακή πίεση συνδυάζεται με υψηλά επίπεδα χοληστερόλης, παχυσαρκία, κάπνισμα ή διαβήτη, ο κίνδυνος καρδιακής προσβολής ή εγκεφαλικού επεισοδίου αυξάνεται σημαντικά. Η υπέρταση είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας, ο οποίος από μόνος του ενεργοποιεί την έναρξη της αθηρωματικής διαδικασίας μέσω της φλεγμονώδους απόκρισης του οργανισμού. Στο κεφάλαιο της «*Αθηροσκλήρωσης*» αναλύεται η παραπάνω διαδικασία.

Μερικά μέτρα που σχετίζονται με αλλαγές στη διατροφή και τον τρόπο ζωής για τη μείωση της αρτηριακής πίεσης και του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων περιλαμβάνουν [The DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) eating plan]:

- Μειωμένη κατανάλωση αλκοόλ
- Απώλεια σωματικού βάρους
- Μειωμένη πρόσληψη νατρίου, υψηλότερες προσλήψεις καλίου
- Αυξημένη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών
- Ενισχυμένο επίπεδο σωματικής δραστηριότητας, μείωση σωματικού βάρους

Υπερβολικό βάρος και παχυσαρκία

Ο κίνδυνος θνησιμότητας από καρδιαγγειακά νοσήματα αυξάνεται όλο και περισσότερο με το υπερβολικό βάρος και την παχυσαρκία. Παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα όπως υπερλιπιδαιμία, διαβήτης, υπέρταση και δυσανεξία στη γλυκόζη τείνουν να συναθροίζονται στον υπέρβαρο και παχύσαρκο ασθενή (Clinical Guidelines NIH, 1998). Στη μελέτη Framingham διαπιστώθηκε ότι κάθε αύξηση κατά 10% του σχετικού βάρους έχει ως αποτέλεσμα μια αύξηση των επιπέδων της χοληστερόλης κατά 0.3 mmol/L. Διατροφικές αλλαγές και μια αύξηση στην σωματική δραστηριότητα είναι αποτελεσματικά μέσα για την επίτευξη ενός φυσιολογικού βάρους και τη μείωση κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων.

Αντίσταση στην ινσουλίνη

Το μεταβολικό σύνδρομο αποτελεί μια συγκέντρωση μεταβολικών ανωμαλιών που προδιαθέτουν τα άτομα στην εμφάνιση και την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης. Αυτές περιλαμβάνουν: κεντρικού τύπου παχυσαρκία, δυσλιπιδαιμία (χαμηλά επίπεδα HDL χοληστερόλης και υψηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων- στην αντίσταση στην ινσουλίνη η δυσλιπιδαιμία δεν αναφέρεται σε υψηλά επίπεδα LDL χοληστερόλης), υπέρταση και αντίσταση στην ινσουλίνη. Πολλά άτομα που έχουν προσβληθεί αναπτύσσουν τελικά σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.

Η θεραπεία του μεταβολικού συνδρόμου θα πρέπει να εστιάζεται αρχικά στη διόρθωση του υπερβολικού βάρους μέσω της διατροφής και της φυσικής άσκησης. Αυτό συχνά οδηγεί σε βελτίωση, ακόμα και πλήρη αποκατάσταση, των συστατικών της διαταραχής[17].

Σακχαρώδης διαβήτης

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, ο επιπολασμός του διαβήτη τύπου 2 αναμένεται να αυξηθεί σημαντικά εντός της επόμενης δεκαετίας (International Task Force for Prevention of CHD). Τόσο ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 όσο και ο τύπου 2 συσχετίζονται με μια έκδηλη αύξηση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Γενικά, η αθηροσκλήρωση και οι επιπλοκές της παρουσιάζονται νωρίτερα και είναι δυο έως τέσσερις φορές πιο συχνές στους διαβητικούς απ' ό,τι στους μη διαβητικούς. Η πρόοδος της αθηροσκλήρωσης είναι ταχύτερη στους διαβητικούς και αποτελεί συχνά την αιτία θανάτου σε αυτήν την ομάδα ασθενών.

Ο αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων λόγω διαβήτη ενδέχεται να είναι το αποτέλεσμα πολλών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των ανωμαλιών στα λιπίδια του πλάσματος, υπέρταση και αντίσταση στην ινσουλίνη (International Task Force for Prevention of CHD). Στην περίπτωση του διαβήτη τύπου 2, αλλαγές στον τρόπο ζωής (π.χ. αύξηση στη σωματική δραστηριότητα) που στοχεύουν στη μείωση του σωματικού βάρους είναι μια αποτελεσματική στρατηγική προς τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων.

Θρομβογενείς παράγοντες κινδύνου

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι υψηλές συγκεντρώσεις ινωδογόνου, του παράγοντα πήξης VIIc και του αναστολέα της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (Platelet Activating Inhibitor,PAI-I) ενός αναστολέα της ινωδόλυσης, σχετίζονται με αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα από τη στεφανιαία νόσο (International Task Force for Prevention of CHD). Ένας συνδυασμός υψηλών επιπέδων ινωδογόνου και LDL χοληστερόλης αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Στρατηγικές για τη μείωση της θρομβογένεσης του αίματος περιλαμβάνουν τη λήψη ασπιρίνης ή την κατανάλωση λιπαρών ψαριών.

Ομοκυστεΐνη

Η ομοκυστεΐνη είναι ένα αμινοξύ που περιέχει θείο, το οποίο είναι ένα ενδιάμεσο προϊόν του μεταβολισμού της μεθειονίνης και της κυστεΐνης. Μεταλλάξεις σε γονίδια που κωδικοποιούν για βασικά ένζυμα του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης, όπως η κυσταθειόνη-β-συνθάση, προκαλούν βαριά υπερομοκυστεϊναιμία. Η συνθήκη αυτή σχετίζεται με έως και δεκαπλάσιες αυξήσεις των επιπέδων της ομοκυστεΐνης στο πλάσμα και με πρόωρη αθηροσκλήρωση, υποτροπιάζουσες θρομβώσεις των στεφανιαίων, εγκεφαλικών ή περιφερικών αρτηριών και φλεβική θρόμβωση. Η πλέον πρόσφατη μετα-ανάλυση 14 προοπτικών μελετών υπολόγισε ότι κάθε 5 mmol/L αύξηση στα επίπεδα της ομοκυστεΐνης αυξάνει τον κίνδυνο για νόσο των στεφανιαίων αρτηριών κατά 20%, τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες[24].

Μια πρόσφατη διπλή, τυφλή, τυχαιοποιημένη μελέτη παρέμβασης, ελεγχόμενη με placebo, αξιολόγησε την επίδραση της μείωσης των επιπέδων ομοκυστεΐνης στο πλάσμα σε σχέση με την επαναστένωση μετά από στεφανιαία αγγειοπλαστική. Η μελέτη αυτή παρέχει ενδείξεις ότι ένας συνδυασμός θεραπείας με φυλλικό οξύ, βιταμίνες B_6 και B_{12} μειώνει σημαντικά το ποσοστό της επαναστένωσης και την επίπτωση των κύριων ανεπιθύμητων καρδιακών συμβάντων[25].

Τα επίπεδα ομοκυστεΐνης παρουσιάζουν μια ισχυρή αντίστροφη συσχέτιση τόσο μέσω της διατροφής όσο και με τα επίπεδα των ίδιων βιταμινών στο πλάσμα (International Task Force for Prevention of CHD).

***ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2:* ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ**

Η αρτηριοσκλήρυνση είναι μια κατάσταση που προσβάλλει τις μεγάλου και μέσου μεγέθους αρτηρίες του ανθρώπου. Χαρακτηρίζεται από περιοχές ινώδους πάχυνσης του τοιχώματος των αρτηριών, όπου εναποτίθενται πλάκες λιπιδίων οι οποίες μπορεί τελικά να ασβεστοποιηθούν. Η αρτηριοσκλήρυνση προκαλεί αρτηριακή ανεπάρκεια των άκρων, διαταραχή της νεφρικής κυκλοφορίας, διατάσεις (ανευρύσματα) και τελικά ρήξη της αορτής ή άλλων μεγάλων αρτηριών και σοβαρές και απειλητικές για τη ζωή παθήσεις της καρδιάς και του εγκεφάλου που οφείλονται στο σχηματισμό ενδαγγειακών θρόμβων στην περιοχή των πλακών[27].

Υπάρχουν δυο κύριες αιτίες για τη δημιουργία θρόμβων στις στεφανιαίες αρτηρίες: η διάρρηξη της πλάκας και η διάβρωση του ενδοθηλίου. Η διάρρηξη της πλάκας, που ανιχνεύεται στο 60-70% των περιπτώσεων[28], είναι επικίνδυνη διότι εκθέτει προθρομβωτικό υλικό από τον πυρήνα της πλάκας (φωσφολιπίδια, παράγοντες ιστού και μόρια συγκόλλησης αιμοπεταλίων) στο αίμα. Η διάρρηξη γίνεται στο σημείο εκείνο όπου το ινώδες κάλυμμα της πλάκας είναι λεπτό και μερικώς κατεστραμμένο (σχήμα 1). Σε αυτές τις περιοχές τα ενεργοποιημένα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος είναι άφθονα[27]. Παράγουν πλήθος φλεγμονωδών μορίων και πρωτεολυτικών ενζύμων που μπορούν να εξασθενήσουν το κάλυμμα και να ενεργοποιήσουν τα κύτταρα του πυρήνα, μετατρέποντας τη σταθερή πλάκα σε μια ευάλωτη, ασταθή δομή που μπορεί να διαβρωθεί, να δημιουργήσει θρόμβο και να εξελιχθεί σε ένα οξύ στεφανιαίο σύνδρομο.

Σχήμα 1. *Διάρρηξη της πλάκας στις στεφανιαίες αρτηρίες, όπου το ινώδες κάλυμμα είναι λεπτό και μερικώς κατεστραμμένο.*

Για να γίνει κατανοητή η παραπάνω πορεία, είναι απαραίτητο να διευκρινίσουμε τα σημεία – κλειδιά που παίζουν ρόλο στην μετατροπή ενός φυσιολογικού αρτηριακού τοιχώματος σε μια διαβρωμένη αθηρωματική πλάκα.

Α. Πορεία αθηρωματικής διαδικασίας

Η φλεγμονή είναι ένας από τους πολλούς παράγοντες που επηρεάζει την ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας. Ποικιλία γενετικών, μεταβολικών και αιμοδυναμικών παραγόντων διαμορφώνουν την αρτηριοσκλήρυνση. Για παράδειγμα, ασθενείς με αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης, εξαιτίας μεταβολικών παθήσεων, αναπτύσσουν πρόωρη αθηροσκλήρωση. Επίσης, οι περισσότερες αθηροσκληρωτικές αλλοιώσεις αναπτύσσονται σε διακλαδώσεις των αρτηριών, αποδεικνύοντας την σημαντικότητα των αιμοδυναμικών δυνάμεων στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης.

Αυξανόμενος αριθμός επιδημιολογικών μελετών δείχνει ότι επίμονη, χαμηλού βαθμού φλεγμονή είναι ένας ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας καρδιακής νόσου[29,30], εγκεφαλικού[31,32], σακχαρώδη διαβήτη[33,34] και θνησιμότητα από όλες τις αιτίες[35,36]. Παράλληλα, δείκτες χρόνιας φλεγμονής, όπως οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες [παράγοντας νέκρωσης των όγκων (Tumor Necrosis Factor, TNF-α) και ιντερλευκίνη-6 (IL-6)] και η πρωτεΐνη οξείας φάσης [C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-reactive protein, CRP)] παίζουν έναν άμεσο ρόλο στην αιτιολογία της αθηροσκλήρωσης και της αντίστασης στην ινσουλίνη[37,38].

Πολλοί από τους δείκτες φλεγμονής που εμφανίζονται αυξημένοι στους ασθενείς που βρίσκονται σε κίνδυνο για εμφάνιση αθηροσκλήρωσης, αποτελούν μέρος της **απόκρισης οξείας φάσης (Acute Phase Response, APR)**. Η APR είναι μια ενδογενής συστηματική φλεγμονώδης απάντηση στη μόλυνση και το τραύμα[39,40]. Παρόλο που η APR είναι μια ευεργετική βραχυχρόνια απόκριση σε καταστάσεις απειλητικές για τη ζωή, εντούτοις μπορεί να βλάψει τον ξενιστή αν είναι χρόνια ενεργή.

Αύξηση των φλεγμονωδών δεικτών σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο δείχνει ότι η APR παίζει ρόλο στην αθηρογένεση[41]. Οι αυξημένοι δείκτες APR σε ασθενείς με αθηροσκλήρωση υποδεικνύουν ότι οι παράγοντες κινδύνου για καρδιακή νόσο, όπως ο διαβήτης, η υπέρταση και η LDL χοληστερόλη, μπορεί να ενεργοποιήσουν την APR. Ένας άλλος καθοριστικός παράγοντας που μπορεί να ενεργοποιήσει την APR είναι το κάπνισμα[42]. Παρόλα αυτά, η ακριβής φύση των τραυματισμών που ενεργοποιούν την APR στην αθηρογένεση δεν είναι σαφής. Ένα άλλο μυστήριο είναι γιατί η APR είναι χρόνια ενεργοποιημένη. Φυσιολογικά, η APR ενεργοποιείται μέσα σε λίγες ώρες από τον τραυματισμό ή τη μόλυνση και η δράση

της τερματίζεται μετά από δυο με τρεις ημέρες. Στους ασθενείς με αθηροσκλήρωση όμως, η APR φαίνεται να είναι ενεργοποιημένη σε χαμηλή ένταση για χρόνια. Για παράδειγμα, αυξημένα επίπεδα CRP για περισσότερα από έξι χρόνια αποτελούν πρόγνωση κινδύνου για αθηροσκλήρωση στο μέλλον[43]. Πιθανά η συνεχής παρουσία των παραγόντων κινδύνου της αθηροσκλήρωσης, όπως είναι η υπέρταση, παίζει ρόλο στην επίμονη ενεργοποίηση της APR.

Η σκλήρυνση των αγγείων αρχίζει αρκετά νωρίς με κάποια εντοπισμένη βλάβη στο ενδοθήλιο[27]. Το ενδοθήλιο είναι ένα λεπτό στρώμα κυττάρων που επικαλύπτουν την εσωτερική επιφάνεια των τοιχωμάτων της καρδιάς, της επιφάνειας δηλαδή που έρχεται σε επαφή με το αίμα μέσα στους καρδιακούς θαλάμους, και των αγγείων. Κάποιες από τις φυσιολογικές λειτουργίες των ενδοθηλιακών κυττάρων είναι:

1. Χρησιμεύουν ως μια φυσική εσωτερική επένδυση της καρδιάς και των αιμοφόρων αγγείων στην οποία τα κύτταρα του αίματος κανονικά δεν προσκολλώνται.
2. Χρησιμεύουν ως φραγμός διαπερατότητας για την ανταλλαγή θρεπτικών συστατικών, τελικών παραπροϊόντων μεταβολισμού και υγρών ανάμεσα στο πλάσμα και το μεσοκυττάριο υγρό· ρυθμίζουν τη μεταφορά των μακρομορίων και άλλων ουσιών.
3. Εκκρίνουν παρακρινείς παράγοντες που επενεργούν σε παρακείμενα κύτταρα λείου μυός των αγγείων· στους παράγοντες αυτούς συμπεριλαμβάνονται αγγειοδιαστολείς: προστακυκλίνη και μονοξείδιο του αζώτου (ενδοθηλιογενής παράγοντας χάλασης, EDRF) και αγγειοσυστολείς: ιδιαίτερα ενδοθηλίνη-1.
4. Παίζουν μεσολαβητικό ρόλο στην αγγειογένεση νέων τριχοειδών.
5. Παίζουν κεντρικό ρόλο στην αναδόμηση των αγγείων ανιχνεύοντας σήματα και απελευθερώνοντας παρακρινείς παράγοντες που επενεργούν σε παρακείμενα κύτταρα στο τοίχωμα των αιμοφόρων αγγείων.
6. Συμβάλλουν στον σχηματισμό και τη διατήρηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας.
7. Παράγουν αυξητικούς παράγοντες σε περιπτώσεις τραυματισμών.
8. Εκκρίνουν ουσίες που ρυθμίζουν τη συσσώρευση αιμοπεταλίων και δρουν ως πηκτικά και αντιπηκτικά του αίματος.

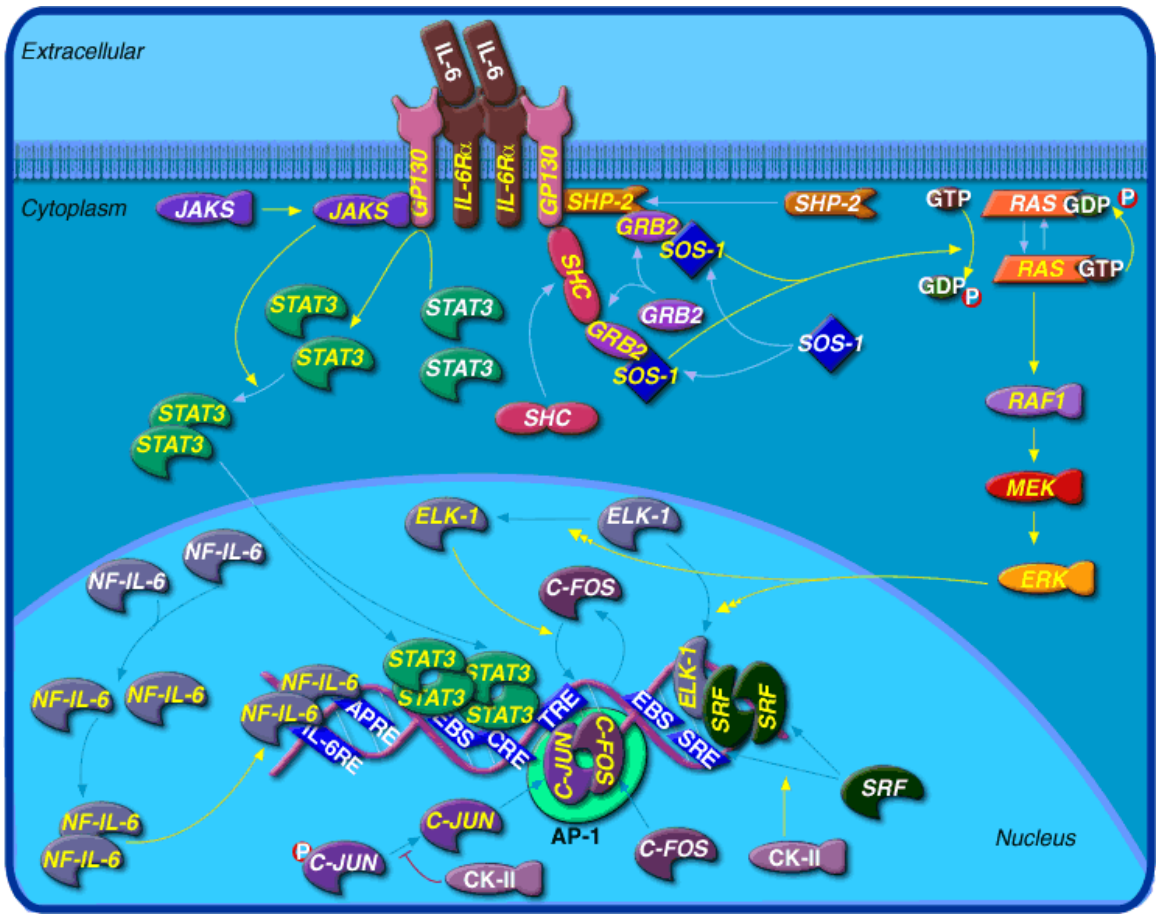
9. Συνθέτουν δραστικές ορμόνες από ανενεργείς προδρομικές ουσίες.
10. Εξάγουν ή αποδομούν ορμόνες και άλλους χημικούς μεσολαβητές.
11. Εκκρίνουν κυτοκίνες κατά τη διάρκεια ανοσοποιητικών αντιδράσεων.
12. Επηρεάζουν τον πολλαπλασιασμό του λείου μυός των αγγείων στην ασθένεια της αθηροσκλήρωσης[44].

Το ενδοθήλιο είναι εκτεθειμένο σε διατμηματικές τάσεις, δηλαδή σε τάση να παρασυρθεί από τη ροή του αίματος ή να παραμορφωθεί. Η βλάβη του ενδοθηλίου οδηγεί στην έκφραση από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των μορίων πρόσφυσης των αγγειακών κυττάρων. Μέσω των μορίων αυτών, τα μονοκύτταρα προσκολλώνται στο ενδοθήλιο και στη συνέχεια, εισέρχονται στην υπενδοθηλιακή περιοχή. Εκεί μετατρέπονται σε λιπιδιοφάγα μακροφάγα[27]. Αυτά τα μακροφάγα απελευθερώνουν κυτοκίνες που ενεργοποιούν την APR (σχήμα 2).

Σχήμα 2. *Πορεία φλεγμονώδους απόκρισης από τον τραυματισμό του ιστού έως την επιδιόρθωσή του. Συστατικά της APR.*

Οι ενεργοποιητές, οι κυριότεροι των οποίων είναι η IL-6, ο TNF-α και η IL-1β, διαδίδονται μέσω του συστήματος των αιμοφόρων αγγείων, προσδένονται σε υποδοχείς στα ενδοθηλιακά κύτταρα και ηπατοκύτταρα, ενώ μεγεθύνουν την τοπική απόκριση σε συστηματική φλεγμονώδη απόκριση. Τα μακροφάγα της αθηρωματικής πλάκας εκκρίνουν IL-6, που μπορεί να συμβάλλει στην συστηματική ενεργοποίηση της APR στην αθηρογένεση[45]. Η IL-6 ενεργοποιεί το ήπαρ, το οποίο απελευθερώνει στην κυκλοφορία μεγάλα ποσά C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP). Τα επίπεδά της αυξάνονται δραματικά μέσα σε ελάχιστο χρόνο, με αποτέλεσμα η CRP να χρησιμοποιείται ευρύτατα στην κλινική πράξη σαν δείκτης εκτίμησης του βαθμού φλεγμονής των ασθενών. Η κυκλοφορούσα CRP δεσμεύεται σε μεμβράνες και πρωτεΐνες που έχουν υποστεί βλάβη, σταθεροποιεί το συμπλήρωμα και βοηθά στην αποσταθεροποίηση της αθηρωματικής πλάκας[46].

Οι ενεργοποιητές της APR εκκινούν μια αλληλουχία ενδοκυτταρικής μεταγωγής του σήματος που δραστηριοποιεί τους τρεις κυριότερους ρυθμιστές της APR (Stat3, NF-κB, C/EBPβ). Η IL-6, ο κυριότερος διεγέρτης των περισσότερων πρωτεϊνών οξείας φάσης, προσδένεται στον υποδοχέα της IL-6, οδηγώντας στην ενεργοποίηση του παράγοντα μεταγραφής Stat3 (σχήμα 3). Οι Stat3, NF-κB και C/EBPβ είναι οι τρεις κυριότεροι μεταγραφικοί παράγοντες οι οποίοι, μόνοι ή σε συνδυασμό με άλλες πρωτεΐνες, ρυθμίζουν την μετάφραση μιας μεγάλης ποικιλίας πρωτεϊνών που εκκρίνονται στην κυκλοφορία (σχήμα 3). Οι πρωτεΐνες οξείας φάσης ορίζονται εκείνες που η συγκέντρωσή τους στον ορό αυξάνεται ή μειώνεται κατά 25% κατά τη φλεγμονή[47]. Η APR ρυθμίζει ένα τεράστιο αριθμό γονιδίων, αλλοιώνοντας την έκφραση πάνω από 900 πρωτεϊνών – ίσως το 7% όλου του γονιδιώματος[48,49].

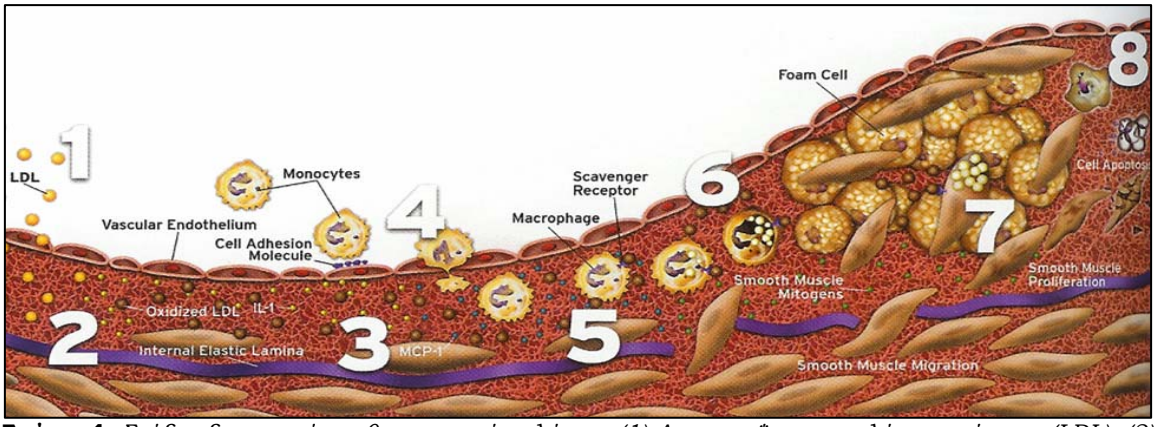


Σχήμα 3. *Πορεία της IL-6: πρόσδεση στον υποδοχέα της στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, ενεργοποίηση ρυθμιστών APR και στη συνέχεια η δημιουργία πρωτεϊνών οξείας φάσης.*

Παράλληλα, τα μονοκύτταρα που έχουν μετατραπεί σε λιπιδιοφάγα μακροφάγα, φαγοκυτταρώνουν χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL) και συγκεκριμένα, την οξειδωμένη μορφή αυτών. Τα μακροφάγα διογκώνονται από την οξειδωμένη LDL και έτσι μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. Τα αφρώδη κύτταρα, κατά μήκος της αρχικής θέσης της ενδοθηλιακής βλάβης, σχηματίζουν μια λιπώδη γράμμωση. Αυτές οι γραμμώσεις είναι χαρακτηριστικές της εξελισσόμενης αρτηριοσκλήρυνσης.

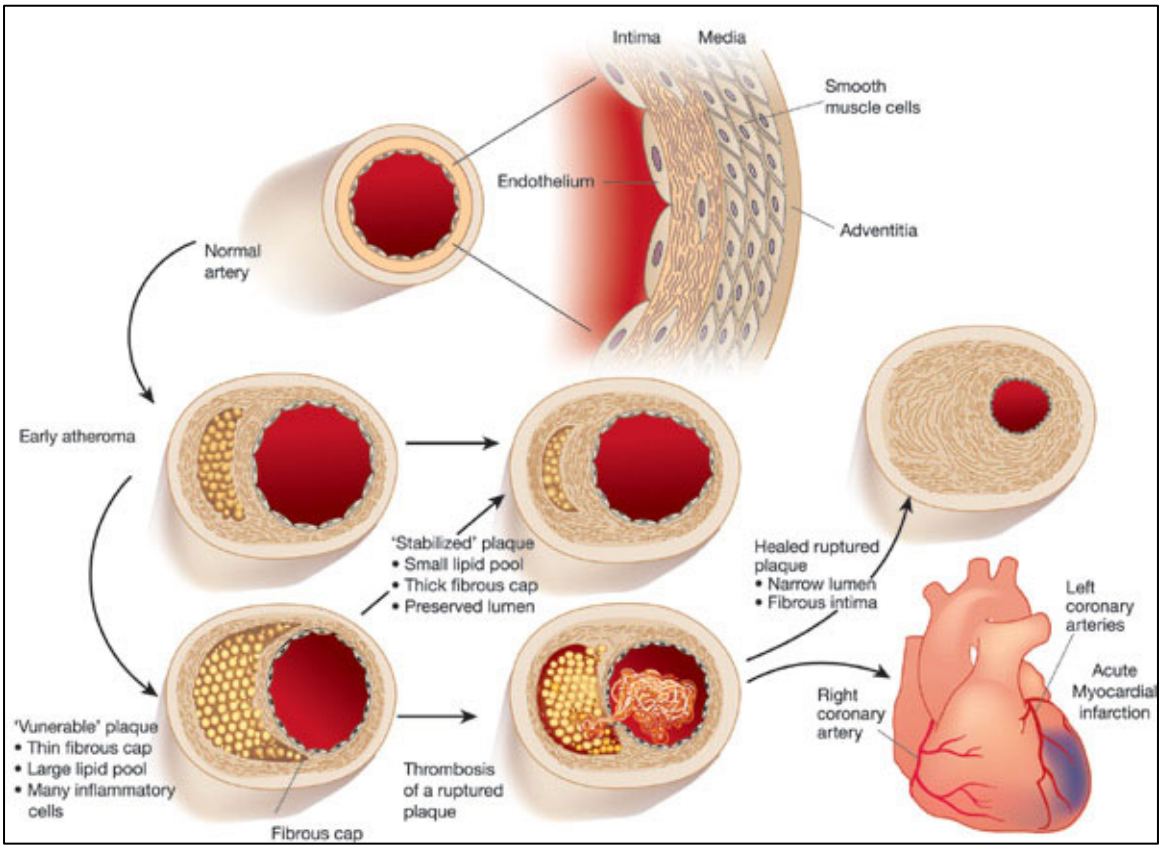
Τα μακροφάγα που έχουν διεγερθεί από την CRP, όπως επίσης από την ιντερφερόνη-γ και άλλες κυτοκίνες, απελευθερώνουν αυξητικούς παράγοντες που διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό και μετανάστευση των λείων μυικών κυττάρων από την περιοχή της αρχικής βλάβης προς τον έσω χιτώνα. Εκεί πολλαπλασιάζονται και εναποθέτουν κολλαγόνο και άλλα μόρια της θεμέλιας ουσίας, συμβάλλοντας στην αύξηση του όγκου της βλάβης. Τα κύτταρα των λείων μυικών ινών προσλαμβάνουν επίσης της οξειδωμένη LDL, με αποτέλεσμα να μετατρέπονται και αυτά σε αφρώδη κύτταρα. Τέλος, στο παραμορφωμένο, πεπαχυσμένο τοίχωμα της αρτηρίας, εναποτίθεται ασβέστιο, σχηματίζοντας μια εύθραυστη πλάκα[27].

Τα λεία μυϊκά κύτταρα σχηματίζουν ένα ινώδες κάλυμμα πάνω σε έναν πυρήνα από μακροφάγα, χοληστερόλη και νεκρωτικά θραύσματα. Η φλεγμονή του ενδοθηλίου οδηγεί τα μακροφάγα και τα λεία μυικά κύτταρα να παράγουν μεταλλοπρωτεϊνάσες της μήτρας, οδηγώντας σε αποσταθεροποίηση της πλάκας, ρήξη της πλάκας και θρόμβωση (σχήμα 4).



Σχήμα 4. *Στάδια δημιουργίας αθηρωματικής πλάκας: (1) Λιπορωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL). (2) Οξειδωμένες LDL στο εσωτερικό του καρδιακού ενδοθηλίου. (3) Προσκόλληση μονοκυττάρων στην επιφάνεια του ενδοθηλίου. (4) Εισαγωγή των μονοκυττάρων στο εσωτερικό του ενδοθηλίου και μετατροπή σε μακροφάγα. (5) Φαγοκυττάρωση οξειδωμένων LDL από τα μακροφάγα. (6) Διόγκωση λιπιδιοφάγων μακροφάγων και (7) μετατροπή τους σε αφρώδη κύτταρα. (8) Δημιουργία αθηροσκληρωτικής πλάκας.*

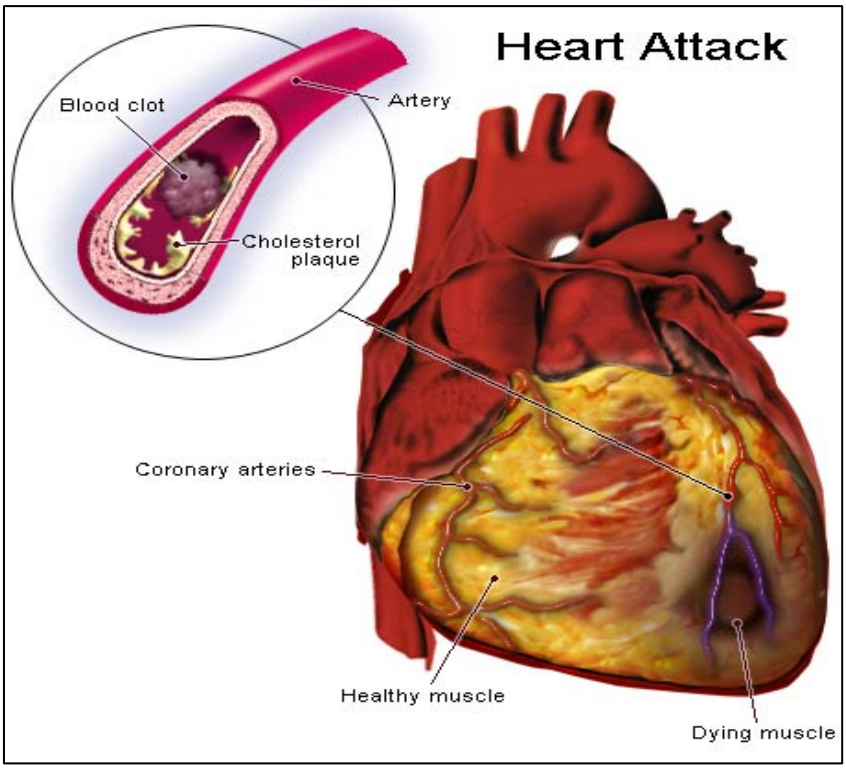
Η αθηρωματική πλάκα που τελικά δημιουργείται απαντάται σε δυο μορφές: σε μια σταθερή και σε μια ασταθή μορφή. Τα δυο αυτά είδη διαφοροποιούνται μορφολογικά και έχουν ιδιαίτερο κλινικό ενδιαφέρον. Η σταθερή πλάκα φράσσει τον αγγειακό αυλό κι ευθύνεται για την αγγειακή στένωση. Η ασταθής μορφή ευθύνεται για τα οξέα στεφανιαία σύνδρομα και τη θρόμβωση (σχήμα 5).



Σχήμα 5. *Η σταθερή πλάκα οδηγεί στην σταθερή στηθάγχη, ενώ η ασταθής οδηγεί στα οξέα στεφανιαία σύνδρομα και το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου.*

Β. Έμφραγμα του μυοκαρδίου

Το έμφραγμα του μυοκαρδίου οφείλεται σε αιφνίδια απόφραξη ενός κλάδου των στεφανιαίων αρτηριών λόγω ρήξης αθηρωματικής πλάκας και δημιουργίας θρόμβου, ο οποίος αποφράσσει πλήρως την υπεύθυνη στεφανιαία αρτηρία με αποτέλεσμα την διακοπή της κυκλοφορίας του αίματος. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την νέκρωση μιας περιοχής του μυοκαρδίου (σχήμα 6).

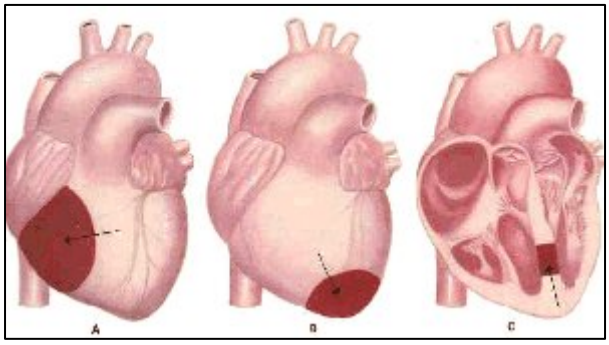


Σχήμα 6. *Η νέκρωση μιας περιοχής του μυοκαρδίου προκαλεί το έμφραγμα.*

Παλαιότερα θεωρείτο ότι η κύρια αιτία της νέκρωσης ήταν η συνεχιζόμενη στένωση της αρτηρίας εξαιτίας της ανάπτυξης των λείων μυϊκών κυττάρων στην πλάκα. Όμως, έρευνες που έχουν βασιστεί στην στεφανιογραφία έχουν καταδείξει κάποιες ύποπτες κακώσεις, οι οποίες δεν προκαλούν αξιοπρόσεκτες στενώσεις[50] και είναι πλέον εμφανές ότι η ενεργοποίηση της πλάκας παρά η στένωση της αρτηρίας επισπεύδει την ισχαιμία και τη νέκρωση. Η σύσπαση της στεφανιαίας αρτηρίας μπορεί να εμπλέκεται μέχρι κάποιο βαθμό, αλλά στις περισσότερες περιπτώσεις η νέκρωση οφείλεται στην δημιουργία ενός αποφρακτικού θρόμβου στην επιφάνεια της πλάκας[51].

Γενικά, το έμφραγμα του μυοκαρδίου χαρακτηρίζεται από έντονο οπισθοστερνικό πόνο. Ο πόνος εισβάλλει αιφνίδια, χωρίς να είναι δυνατό να πιστοποιηθεί η αιτία η οποία τον προκάλεσε. Εντοπίζεται συνηθέστερα πίσω από το στέρνο, στο κάτω τρίτο του, πολλές φορές στη περιοχή του στομάχου. Τότε είναι εύκολη η σύγχυση με μια πάθηση της κοιλιάς. Ο πόνος επεκτείνεται στον ώμο και στην εσωτερική πλευρά του βραχίονα και του αντιβραχιονίου και φθάνει ως τα δάκτυλα του αριστερού άνω άκρου. Λιγότερο συχνά διακλαδίζεται και στους δύο ωμούς, ή μόνο στον δεξιό ώμο, προς τον τράχηλο και τη κάτω γνάθο. Ο άρρωστος τον αισθάνεται συνήθως σαν ένα αφόρητο βάρος ή σαν ένα σφίξιμο ιδιαίτερα οδυνηρό. Μερικές φορές, εξ άλλου, ο πόνος τού εμφράγματος εκδηλώνεται σαν αίσθημα φλογώσεως (κάψιμο). Δύο χαρακτηριστικά του πόνου πρέπει να υπογραμμισθούν: η μεγάλη ένταση, η οποία συχνά ξεπερνά την ήδη φοβερή ένταση του πόνου της στηθάγχης. Η διάρκεια του πόνου μπορεί να είναι μερικές ώρες στις ελαφρές περιπτώσεις και 12 - 24 ώρες, ίσως και παραπάνω, σε περιπτώσεις βαριές. Η μακρά διάρκεια του πόνου προκαλεί συχνά αντανακλαστικά φαινόμενα, όπως είναι κυρίως ο εμετός, οι εφιδρώσεις, ο μετεωρισμός. Υπάρχουν επίσης περιπτώσεις κατά τις όποιες ο πόνος είναι ήπιος και άλλες που ο πόνος λείπει εντελώς.

Το ηλεκτροκαρδιογράφημα μαζί με τα ένζυμα του ορού αποτελούν τις δύο πρώτες παρακλινικές μεθόδους για τη διάγνωση του εμφράγματος. Στις περισσότερες περιπτώσεις αρκεί ένα απλό ηλεκτροκαρδιογράφημα για την διάγνωση του εμφράγματος. Το έμφραγμα μπορεί να είναι είτε στο κατώτερο τοίχωμα της καρδιάς, είτε στο οπίσθιο είτε στο πλάγιο (σχήμα 7).



Σχήμα 7. *Περιοχές εντόπισης του εμφράγματος του μυοκαρδίου.*

Το έμφραγμα του μυοκαρδίου μπορεί να χαρακτηριστεί ως STEMI (ST-Elevation Myocardial Infarction) ή NSTEMI (Non-ST-Elevation Myocardial Infarction), ανάλογα με την εικόνα που θα λάβουμε στο ηλεκτροκαρδιογράφημα. Στην πρώτη περίπτωση αναφερόμαστε στο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, που προκαλεί ανάσπαση του τμήματος ST στο ηλεκτροκαρδιογράφημα (το τμήμα ST αντιστοιχεί στο μεσοδιάστημα από την πλήρη εκπόλωση μέχρι την έναρξη της επαναπόλωσης και μετράται από το τέλος του QRS μέχρι την αρχή του κύματος T), ενώ στη δεύτερη περίπτωση αναφερόμαστε στο έμφραγμα του μυοκαρδίου που δεν προκαλεί ανάσπαση του τμήματος ST και παρατηρείται σε περιπτώσεις οξέος υπενδοκάρδιου εμφράγματος ή σε ισχαιμία του μυοκαρδίου.

Από το μυοκάρδιο που υφίσταται νέκρωση απελευθερώνονται ένζυμα. Έτσι στο περιφερικό αίμα μπορεί να ανεβρεθεί αύξηση των ένζυμων του μυοκαρδίου. Τα ένζυμα που συνήθως χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση είναι η καρδιακή τροπονίνη, κρεατινοφωσφοκινάση (CPK) και ιδιαίτερα το μυοκαρδιακό κλάσμα MB, η οξαλοξεική (SGOT) και γλουταμινική (SGPT) τρανσαμινάση και η γαλακτική δεϋδρογενάση(LDH). Η καρδιακή τροπονίνη και η καρδιακή CPK είναι τα πιο ευαίσθητα και ειδικά ένζυμα για τη διάγνωση του εμφράγματος. Συνήθως αυξάνονται 6-8 ώρες μετά από την έναρξη των συμπτωμάτων[52].

Γ. Κυτταροκίνες

Ο όρος «κυτταροκίνη» ή «κυτοκίνη» έχει ελληνικές ρίζες: κύτταρο- που αναφέρεται στο κύτταρο, και –κίνη που αναφέρεται στην κίνηση. Η πηγή αυτής της λέξης απεικονίζει την αρχική πρόθεση του όρου αυτού να διαχωρίσει αυτή την ομάδα των μορίων που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα από τους αυξητικούς παράγοντες. Παρόλ' αυτά, η πολυπλοκότητα των λειτουργιών αυτών των ενδιάμεσων έχει καταστήσει αυτόν τον διαχωρισμό περιττό. Ένας πιο περιορισμένος ορισμός της «κυτοκίνης» περιλαμβάνει μέλη των παρακάτω κατηγοριών:

1. **Ιντερλευκίνες (interleukins, ILs).**
2. **Ιντερφερόνες (Interferons, IFNs).**
3. Μέλη της οικογένειας του **Παράγοντα Νέκρωσης των Όγκων (Tumor Necrosis Factor, TNF).**
4. **Παράγοντες διεγερτικοί αποικιών (Colony Stimulating Factors, CSFs).**
5. **Χημειοκίνες (chemokines)[54].**

Οι κυτοκίνες είναι μικρού μοριακού βάρους διαλυτές πρωτεΐνες που παράγονται από ποικιλία κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη του ξενιστή και λειτουργούν τόσο στους ειδικούς όσο και στους μη ειδικούς αμυντικούς μηχανισμούς.

Πολλές κυτταροκίνες μπορεί να παράγονται από διάφορα κύτταρα, παρά το γεγονός ότι ένας συγκεκριμένος τύπος κυττάρου μπορεί να αποτελεί την κυριότερη πηγή μιας συγκεκριμένης κυτταροκίνης. Τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα βοηθητικά Τ- λεμφοκύτταρα αποτελούν τις κύριες κατηγορίες κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος που παράγουν κυτταροκίνες, ενώ τα ενδοθηλιακά κύτταρα και οι ινοβλάστες είναι κύτταρα που εκκρίνουν κυτταροκίνες εκτός του ανοσοποιητικού συστήματος.

Ο τρόπος δράσης των κυτταροκινών διακρίνεται σε **αυτοκρινή** (προσδένεται σε υποδοχείς του ίδιου του κυττάρου που την εκκρίνει), σε **παρακρινή** (προσδένεται σε υποδοχείς κυττάρων-στόχων που βρίσκονται κοντά στο κύτταρο που την εκκρίνει), καθώς και σε **ενδοκρινή** (προσδένεται σε υποδοχείς κυττάρων-στόχων που βρίσκονται μακριά από το κύτταρο έκκρισής της).

Γ.1. Ιντερλευκίνες

Ο όρος «ιντερλευκίνη» είχε σκοπό να ομαδοποιήσει μια κατηγορία κυτοκινών που είναι υπεύθυνες για την επικοινωνία μέσω σημάτων μεταξύ των λευκοκυττάρων. Όμως, οι περιορισμοί αυτού του ορισμού έγιναν εμφανείς με την ανακάλυψη ότι ορισμένοι κυτταρικοί τύποι, όπως τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων και τα λεία μυικά κύτταρα, επίσης παράγουν και ανταποκρίνονται σε τέτοια ερεθίσματα. Για την ακρίβεια, τα έως τώρα γνωστά μέλη της ομάδας των ιντερλευκινών (IL-1 ως IL-26) περιλαμβάνουν ένα φάσμα ενεργειών, όπως είναι η ενεργοποίηση κυττάρων, διαφοροποίηση, χημειοτακτισμός και εξάπλωση σε ένα μεγάλο αριθμό κυτταρικών τύπων.

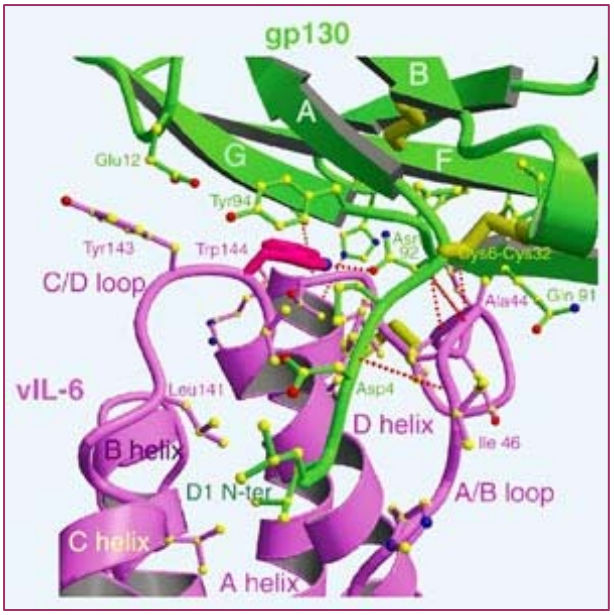
Οι ιντερλευκίνες είναι κυτταροκίνες που εκκρίνονται από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και άλλα κύτταρα στην απόκριση οξείας φάσης και προκαλούν συστηματικές αποκρίσεις στη φλεγμονή[54]. Η IL-6, την οποία θα μελετήσουμε σε αυτή την εργασία, είναι μια πλειοτροπική κυτταροκίνη (εμφανίζει διαφορετικές βιολογικές δράσεις σε διαφορετικά κύτταρα και ιστούς). Εμφανίζει μια ποικιλία βιολογικών δραστηριοτήτων, συμπεριλαμβανομένων της ικανότητας να διεγείρει την διαφοροποίηση των Β- κυττάρων[55], ενεργοποιεί τα λεμφοκύτταρα του θύμου αδένα και τα Τ- κύτταρα για διαφοροποίηση[56], ενεργοποιεί τα μακροφάγα[57], διεγείρει το ήπαρ να παράγει πρωτεΐνες οξείας φάσης[58] και ενεργοποιεί τα κύτταρα NK[59]. Εκκρίνεται από πολλούς διαφορετικούς τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των ενεργοποιημένων μακροφάγων και λεμφοκυττάρων[60], ενώ έχει υπολογισθεί ότι το ένα τρίτο (⅓) της συνολικής της συγκέντρωσης στην κυκλοφορία προέρχεται από τον λιπώδη ιστό[61]. Αυτό που την ξεχωρίζει από τις άλλες κυτταροκίνες είναι ότι η IL-6 δρα σε κύτταρα μακριά από την έκκρισή της και για τον λόγο αυτό, καλείται **ενδοκρινής κυτταροκίνη**[62].

Η βιολογική δράση της IL-6 ξεκινά όταν συνδεθεί σε έναν πολύπλοκο υποδοχέα με μεγάλη συγγένεια, ο οποίος αποτελείται από δυο μεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες[63]. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η IL-6 παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην ηπατική σύνθεση της CRP στην απόκριση οξείας φάσης κατά τη διάρκεια μιας φλεγμονής ή ενός τραύματος. Παρόλο που τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος εκκρίνουν και άλλες προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως η IL-1 και ο TNF-α, που επίσης μπορούν να ρυθμίσουν την ηπατική σύνθεση της CRP, ο ρόλος της IL-6 σε αυτή τη διαδικασία είναι πρωτεύων. Οι αποδείξεις για

αυτό πηγάζουν από τα μοντέλα ζώων με το γονίδιο για την IL-6 να δείχνουν μια κανονική APR, ενώ όταν τους λείπει αυτό το γονίδιο, τα υπάρχοντα γονίδια της IL-1 και του TNF-α δεν μπορούν να προκαλέσουν APR[64,65].

Η έκκριση και έκφραση της IL-6 επηρεάζεται από την IL-1 και τον TNF-α[66], αυτές τις δυο κυτοκίνες που εμπλέκονται, μεταξύ άλλων, στην φλεγμονώδη διαδικασία στην αθηρωματική πλάκα και τα οξέα στεφανιαία σύνδρομα[67,68]. Υπάρχουν επίσης μελέτες που αποδεικνύουν ότι η IL-6 με τη σειρά της, ρυθμίζει την απελευθέρωση και δραστηριότητα της IL-1, επηρεάζοντας την απελευθέρωση ανταγωνιστών για τον υποδοχέα της IL-1 (IL-1ra) αλλά και του TNF-α απευθείας[69].

Η IL-6 είναι ένα πολυπετίδιο 185 αμινοξέων, ενώ τα 107 από αυτά έχουν καθοριστεί πλήρως στην τελική δομή της. Η τρισδιάστατη δομή έχει χρησιμοποιηθεί για να σχεδιαστεί ένα μοντέλο της IL-6 που αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα της (IL-6R) και τη γλυκοπρωτεΐνη 130(gp130), δημιουργώντας έναν λειτουργικό εξαμερή πολύπλοκο υποδοχέα της IL-6[70] (σχήμα 8).

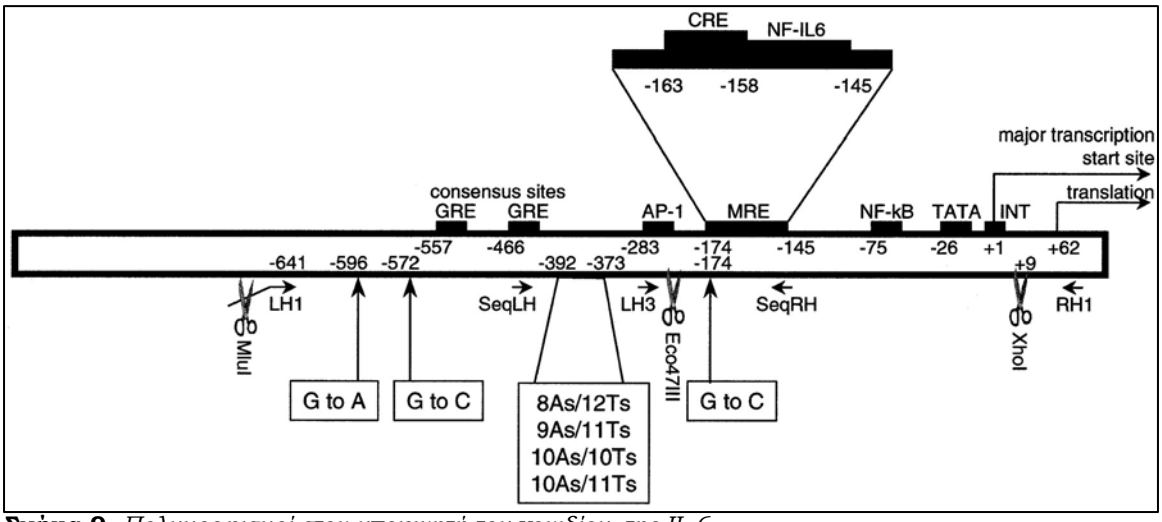


Σχήμα 8. *Δομή του πολυπεπτιδίου της IL-6.*

Διάφορες μελέτες που έχουν γίνει έχουν δείξει ότι αυξημένα επίπεδα IL-6 πλάσματος συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο θνησιμότητας από οποιαδήποτε αιτία στους ηλικιωμένους[71], με αυξημένο κίνδυνο μελλοντικού εμφράγματος του μυοκαρδίου σε φαινομενικά υγιείς άντρες[72], δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και χαρακτηριστικά του συνδρόμου της αντίστασης στην ινσουλίνη(δυσλιπιδαιμία, υπέρταση)[73] ενώ ο Yudkin και συν. έδειξαν ότι η IL-6 είναι ο σύνδεσμος ανάμεσα στην παχυσαρκία, τη φλεγμονή, το άγχος και την καρδιαγγειακή νόσο[74]. Το ψυχολογικό άγχος μπορεί να ανεβάσει τα επίπεδα κυκλοφορούσας IL-6, πιθανά μέσω της επίδρασης των κατεχολαμινών στα επίπεδα της IL-6[75].

Γ.2. Γονίδιο της IL-6 και ο πολυμορφισμός -174G/C

Το γονίδιο της IL-6 είναι εντοπισμένο στο χρωμόσωμα 7p21 και αποτελείται από τέσσερα εσώνια και 5 εξώνια[76]. Έχουν βρεθεί τέσσερις πολυμορφισμοί στην αλληλουχία του υποκινητή του γονιδίου της IL-6 (σχήμα 9): -597G/A, -572G/C, -373AnTn[37] και -174G/C (από τους *Fishman et al.*[77]).



Σχήμα 9. *Πολυμορφισμοί στον υποκινητή του γονιδίου της IL-6.*

Στην εργασία αυτή θα μελετήσουμε τον τελευταίο πολυμορφισμό. Τα αποτελέσματα των ερευνών είναι αντιφατικά όσον αφορά στο ποιο αλληλόμορφο είναι το παθολογικό. Το G αλληλόμορφο εμφανίζει μεγαλύτερη συγγένεια σύνδεσης με λιποπολυσακχαρίτες και την IL-1 στην απόκριση οξείας φάσης, με αποτέλεσμα άτομα με το G αλληλόμορφο να εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα IL-6 πλάσματος σε σχέση με τους φορείς του C αλληλομόρφου[77]. Σε αντίθεση, άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι το C αλληλόμορφο σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούσας IL-6[78,79]ή ακόμα ότι δεν υπάρχει κάποια συσχέτιση αυτού του πολυμορφισμού με τη συγκέντρωση της IL-6 πλάσματος[80,81].

Όσον αφορά στην συσχέτιση του πολυμορφισμού αυτού με παθολογικές καταστάσεις, μελέτες έχουν δείξει ότι το C αλληλόμορφο σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου[82]. Αντίστοιχες μελέτες σε υγιείς άντρες, ηλικίας 50 ως 61 ετών, έχουν δείξει ότι ο πολυμορφισμός αυτός ευθύνεται για εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου μέσω του μηχανισμού της αυξημένης αρτηριακής πίεσης[83]. Μελέτη των *Brull et al.* σε 248 υγιείς ενήλικες, ηλικίας 20 με 28 ετών, έδειξε ότι ο πολυμορφισμός -174G/C συσχετίζεται με δυσλειτουργία του

ενδοθηλίου, κυρίως μέσω της συνεργιστικής δράσης του καπνίσματος, σε άτομα με τον CC γονότυπο[84]. Επίσης, μελέτη των *Kubaszek et al.* σε 124 υγιείς εθελοντές χωρίς διαταραχή γλυκόζης έδειξε ότι ο πολυμορφισμός επηρεάζει την ενεργειακή δαπάνη, τον βασικό μεταβολικό ρυθμό και την ευαισθησία στην ινσουλίνη. Συγκεκριμένα, ασθενείς με τον CC γονότυπο εμφάνιζαν χαμηλότερη ενεργειακή δαπάνη σε σχέση με τα άτομα με γονότυπους CG ή GG, όπως επίσης χαμηλότερος ήταν και ο βασικός μεταβολικός ρυθμός, τόσο σε κατάσταση νηστείας όσο και κατά τη διάρκεια υπερινσουλιναιμίας[85]. Τέλος, μελέτη που έγινε σε 139 ηλικιωμένους άρρενες ασθενείς με ιστορικό κάποιου οξέος στεφανιαίου συνδρόμου (π.χ. ασταθής στηθάγχη, οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου με ανάσπαση του ST διαστήματος και οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου χωρίς ανάσπαση του ST διαστήματος) έδειξε ότι ο πολυμορφισμός -174G/C ευθύνεται για τον αυξημένο κίνδυνο θανάτου που αντιμετωπίζουν οι ασθενείς με το C αλληλόμορφο[86].

Από την άλλη μεριά, ο *Vozarova et al.* μελετώντας τον πολυμορφισμό αυτό σε αμερικανούς και καυκάσιους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και σε πληθυσμό χωρίς διαβήτη, έδειξε ότι ο GG γονότυπος ήταν σημαντικά πιο κοινός στους διαβητικούς ασθενείς[87]. Επίσης, σε έναν μικρό πληθυσμό 32 υγιών ατόμων, εκ των οποίων οι 17 ήταν γυναίκες, οι *Fernàndez-Real et al.* έδειξαν ότι τα άτομα με το G αλληλόμορφο εμφάνιζαν αυξημένα λιπίδια του πλάσματος (υπερλιπιδαιμία)[88].

Σε αντίθεση με τα παραπάνω, μελέτη ασθενών-μαρτύρων των Nauck και συν., σε πληθυσμό 3304 λευκών ασθενών, όπου οι ασθενείς είχαν στεφανιογραφικά αποδεδειγμένα στεφανιαία νόσο και οι υγιείς είχαν αποκλειστεί πάλι με στεφανιογραφία για στεφανιαία νόσο, έδειξε ότι δεν υπάρχει καμία συσχέτιση ανάμεσα στον πολυμορφισμό -174 G/C και τη συγκέντρωση IL-6 πλάσματος, καρδιαγγειακής νόσου και εμφράγματος του μυοκαρδίου[89]. Επίσης, μια πιο πρόσφατη μελέτη σε 1023 άτομα έδειξε ότι ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός δεν σχετίζεται ούτε με έμφραγμα του μυοκαρδίου αλλά ούτε και με άλλους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου των καρδιαγγειακών, όπως είναι Δείκτης Μάζας Σώματος, συστολική και διαστολική πίεση, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη και LDL χοληστερόλη, διαβήτης και επίπεδα κυκλοφορούσας IL-6[90].

***ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3*: ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ & ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΣ**

Α. Μεσογειακή Διατροφή – Γενικά στοιχεία

Η Μεσογειακή Διατροφή αντικατοπτρίζει τις τυπικές διατροφικές συνήθειες των κατοίκων της Μεσογείου. Βασίζεται στην απλή παρασκευή εύγευστων πιάτων χάρη στην ευρεία γκάμα προϊόντων που παράγονται σε αυτές τις χώρες. Χαρακτηρίζεται από τις διατροφικές συνήθειες που βρέθηκε ότι είχαν οι κάτοικοι της Κρήτης και της Νότιας Ιταλίας στις αρχές της δεκαετίας του 1960. Οι διάφορες διατροφικές συνήθειες που εμφανίζονται στην περιοχή της Μεσογείου έχουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά, με κυριότερο το γεγονός ότι το ελαιόλαδο καταλαμβάνει κεντρική θέση σε όλες τους. Το ελαιόλαδο είναι σημαντικό όχι μόνο επειδή έχει αρκετές ευεργετικές ιδιότητες, αλλά και γιατί επιτρέπει την κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων λαχανικών με τη μορφή της σαλάτας και εξίσου μεγάλες ποσότητες από όσπρια με τη μορφή μαγειρευμένου φαγητού. Έτσι, θα μπορούσε να οριστεί, όχι όμως με απόλυτη ακρίβεια, ότι η μεσογειακή δίαιτα είναι το πρότυπο διατροφής που συναντάει κανείς στις ελαιοπαραγωγικές περιοχές της μεσογειακής λεκάνης στα τέλη της δεκαετίας του '50 και αρχές της δεκαετίας του '60.

Για να γίνει κατανοητή η φιλοσοφία της μεσογειακής διατροφής, οι διατροφικές της οδηγίες απεικονίζονται με τη μορφή τριγώνου ή πυραμίδας, η βάση της οποίας αναφέρεται σε τρόφιμα που θα πρέπει να καταναλώνονται πολύ συχνά και η κορυφή σε τρόφιμα που θα πρέπει να καταναλώνονται σπάνια, με τα υπόλοιπα τρόφιμα να καταλαμβάνουν τις ενδιάμεσες θέσεις. Στην πυραμίδα δίνονται συχνότητες κατανάλωσης και όχι ακριβείς ποσότητες σε γραμμάρια, γιατί οι περισσότεροι καταναλωτές σκέπτονται με αυτόν τον τρόπο όταν πρόκειται για τα τρόφιμα που καταναλώνουν[2]. Η αναφορά σε συχνότητες κατανάλωσης, όμως, υπονοεί την ύπαρξη μιας πρότυπης μικρομερίδας, πολλαπλάσια της οποίας θα πρέπει να καταναλώνονται. Σε πολύ αδρή προσέγγιση, μια μικρομερίδα είναι περίπου το μισό της μερίδας, όπως αυτή καθορίζεται από τις Ελληνικές αγορανομικές διατάξεις, δηλαδή περίπου το μισό μιας μερίδας εστιατορίου. Στην επόμενη σελίδα απεικονίζεται η πυραμίδα της Μεσογειακής Διατροφής (σχήμα 10), η οποία αναλύεται στη συνέχεια.

Σχήμα 10. *Παραδοσιακή Μεσογειακή Διατροφή*

Β. Μεσογειακή Διατροφή – Ομάδες τροφίμων

Το 1999 δημοσιεύθηκαν από το Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας, σε συνεργασία με το Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, «Διατροφικές οδηγίες για ενήλικες στην Ελλάδα», οι οποίες αναλύουν την Μεσογειακή Πυραμίδα στις ανάγκες του Ελληνικού Πληθυσμού[90]. Με βάση αυτές τις κατευθυντήριες οδηγίες, υπάρχουν οι παρκάτω ομάδες τροφίμων:

Δημητριακά

Καθημερινά, θα πρέπει να καταναλώνονται, κατά μέσο όρο, 8 μικρομερίδες δημητριακών ή προϊόντων τους, συμπεριλαμβανομένου του ψωμιού, κατά προτίμηση ολικής άλεσης. Θυμίζουμε ότι μια μικρομερίδα αυτής της ομάδας είναι μια φέτα ψωμιού (25 g). Τα αδρά επεξεργασμένα δημητριακά αποτελούν καλή πηγή διαιτητικών ινών, δηλαδή μη αμυλούχων πολυσακχαριτών. Οι διαιτητικές ίνες είναι απαραίτητες για την καλή λειτουργία του εντέρου και ορισμένοι τύποι, όπως οι διαλυτές ίνες, μπορεί να συμβάλλουν τόσο στη διατήρηση των επιπέδων σακχάρου στα επιθυμητά όρια όσο και στη διατήρηση της χοληστερόλης σε χαμηλά επίπεδα.

Πατάτες

Διατροφικά οι πατάτες μοιάζουν περισσότερο με τα δημητριακά, κυρίως τα επεξεργασμένα και όχι με τα λαχανικά. Όπως και το λευκό ψωμί, οι πατάτες έχουν υψηλό γλυκαιμικό δείκτη και οι σύγχρονες διατροφικές οδηγίες υπαγορεύουν την αποφυγή κατανάλωσης περισσότερων από 3 μικρομερίδες την εβδομάδα.

Ζάχαρη και σχετικά προϊόντα

Η ζάχαρη βρίσκεται σε αφθονία στα γλυκίσματα. Επίσης, υπάρχει ή προστίθεται σε ποτά, όπως ο καφές, το τσάι, οι χυμοί των φρούτων και τα αναψυκτικά. Απλά σάκχαρα (γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη) υπάρχουν σε πολλά φρούτα. Οι γλυκαιμικές επιδράσεις των απλών σακχάρων είναι συγκρίσιμες, αν όχι μικρότερες, αυτών του αμύλου των μαγειρευμένων φαγητών. Όσον αφορά τη χρήση υποκαταστάτων, όπως η ζαχαρίνη και η ασπαρτάμη, δεν έχουν τεκμηριωθεί κίνδυνοι για τους ανθρώπους, αλλά συνίσταται η υπερβολική κατανάλωσή τους. Αν

και πολλά Ελληνικά γλυκίσματα περιέχουν ελαιόλαδο, διάφορους ξηρούς καρπούς, φρούτα και αλεύρι και όχι κρέμα γάλακτος ή βούτυρο, η μέση ημερήσια πρόσληψη δεν πρέπει να ξεπερνά τις τρεις μικρομερίδες την εβδομάδα.

Λαχανικά και Φρούτα

Συνίσταται η κατανάλωση περίπου 6 μικρομερίδων λαχανικών και 3 μικρομερίδων φρούτων καθημερινά, κατά μέσο όρο. Δεν υπάρχει κίνδυνος από την υπερβολική κατανάλωση των φρούτων και λαχανικών, αρκεί η ενεργειακή πρόσληψη να μην υπερβαίνει την κατανάλωση ενέργειας. Τα λαχανικά και τα φρούτα παρέχουν σημαντικές ποσότητες διαιτητικών ινών, πολλά μικροθρεπτικά συστατικά (κάλιο, ασβέστιο, βιταμίνη C, βιταμίνη E, καροτενοειδή, φυλλικό οξύ, βιταμίνες B), όπως και άλλα συστατικά με αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Τα χόρτα, τα οποία κατατάσσονται στα λαχανικά και αποτελούν μέρος της παραδοσιακής διατροφής του Έλληνα, παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς αποτελούν πλούσια πηγή αντιοξειδωτικών ουσιών.

Όσπρια

Τα όσπρια διαθέτουν μερικά από τα υγιεινή χαρακτηριστικά των λαχανικών και, επιπλέον, παρέχουν πρωτεΐνες σχετικά μέτριας βιολογικής αξίας. Συνίσταται η κατανάλωση, κατά μέσο όρο, τριών ή τεσσάρων μικρομερίδων την εβδομάδα.

Κρέας και αυγά

Η κατανάλωση πουλερικών, αυγών και κόκκινου κρέατος διαφοροποιείται στην Μεσογειακή Πυραμίδα. Όσον αφορά τα πουλερικά η κατανάλωση συνίσταται, κατά μέσο όρο, σε τέσσερις μικρομερίδες την εβδομάδα, ενώ τα αυγά, συμπεριλαμβανομένων και αυτών που χρησιμοποιούνται στη μαγειρική και τη ζαχαροπλαστική, δεν θα πρέπει να ξεπερνούν τα τέσσερα την εβδομάδα. Το κόκκινο κρέας περιορίζεται στις τέσσερις μικρομερίδες το μήνα.

Ψάρια και θαλασσινά

Τα ψάρια και τα θαλασσινά θα μπορούσαν να υποκαταστήσουν το κρέας και τα αυγά, αλλά γαστρονομικοί, πρακτικοί και οικονομικοί περιορισμοί

υπαγορεύουν τη σύσταση για μία περίπου μικρομερίδα την ημέρα, δηλαδή τρεις μερίδες την εβδομάδα.

Γαλακτοκομικά και προϊόντα τους

Τα γαλακτοκομικά, και κυρίως αυτά που είναι χαμηλά σε λιπαρά, είναι πολύ καλές πηγές ασβεστίου και πρωτεϊνών υψηλής βιολογικής αξίας. Η κατανάλωσή τους συνίσταται σε 2 μικρομερίδες την ημέρα.

Μυρωδικά

Η ρίγανη, ο βασιλικός, το θυμάρι και άλλα μυρωδικά που φύονται στην Ελλάδα αποτελούν εξαιρετική πηγή αντιοξειδωτικών ουσιών και συνιστούν ένα εύγευστο υποκατάστατο του αλατιού στην προετοιμασία των φαγητών.

Ελαιόλαδο

Το ελαιόλαδο θα πρέπει να αποτελεί το κύριο προστιθέμενο λιπίδιο στη διατροφή, χρησιμοποιούμενο τόσο σε σαλάτες, όσο και σε μαγειρεμένα ή τηγανιτά τρόφιμα.

Νερό

Το αίσθημα της δίψας ρυθμίζει επαρκώς την πρόσληψη νερού, με εξαίρεση ηλικιωμένα άτομα και ορισμένες παθολογικές καταστάσεις. Σε γενικές γραμμές, η σύσταση για την κατανάλωση νερού είναι περίπου 1 ml/kcal.

Αλκοόλ

Η κατανάλωση οινοπνευματωδών ποτών, σε ποσότητα που αντιστοιχεί σε 30 g αιθυλικής αλκοόλης την ημέρα για τους άνδρες και 15 g αιθυλικής αλκοόλης για τις γυναίκες, εφόσον δεν συντρέχει κάποιος ιατρικός λόγος που να μην το επιτρέπει, έχει ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η κατανάλωση κρασιού, κυρίως κόκκινου, κατά τη διάρκεια των γευμάτων είναι περισσότερο ωφέλιμη από την κατανάλωση αποσταγμάτων, ηδυπότων ή μπύρας εκτός γευμάτων.

Γ. Μεσογειακή Διατροφή & Στεφανιαία Νόσος

Η υιοθέτηση ενός διατροφικού μοντέλου σύμφωνου με το Μεσογειακό πρότυπο διατροφής φαίνεται να είναι ένας από τους τρόπους πρόληψης της στεφανιαίας νόσου. Ήδη σε παλαιότερες μελέτης, όπως η μελέτη των Επτά Χωρών και αυτή της Τριχοπούλου και συν., έχει αναδειχθεί η προστατευτική δράση της Μεσογειακής Διατροφής όσον αφορά στην ολική θνητότητα και τη θνητότητα από στεφανιαία νόσο ή κακοήθη νοσήματα[92,93]. Παρόμοια ήταν τα ευρήματα της μεγάλης Ολλανδικής μελέτης HALE , με ελάττωση της ολικής θνητότητας και της οφειλόμενης σε καρδιαγγειακά συμβάντα και κακοήθειες, σε πληθυσμό ηλικίας 70-90 ετών[94].

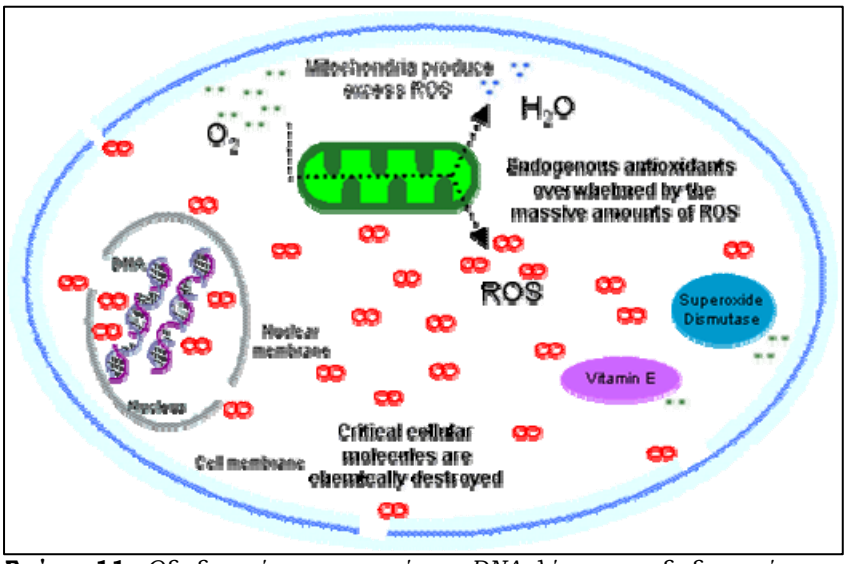
Στον Ελλαδικό χώρο, η μελέτη ATTICA έδειξε ότι η προσήλωση σε Μεσογειακού τύπου δίαιτα ελαττώνει το στεφανιαίο κίνδυνο τόσο σε νορμοτασικούς όσο και σε υπερτασικούς ασθενείς, ενώ στη μελέτη CARDIO 2000, και οι πάσχοντες από υπερχοληστερολαιμία φάνηκε να έχουν πρόσθετο όφελος από το συνδυασμό Μεσογειακής Διατροφής με τη χρήση στατίνης (και μάλιστα ανεξάρτητο από τη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης και την τροποποίηση των λοιπών παραγόντων κινδύνου)[95,96]. Στη μελέτη, τέλος, της Lyon , μια από τις λίγες μελέτες διατροφικής παρέμβασης, η υιοθέτηση δίαιτας παραπλήσιας με το Μεσογειακό πρότυπο φάνηκε να ασκεί προστατευτική δράση σε ασθενείς που είχαν ήδη υποστεί ένα πρώτο έμφραγμα του μυοκαρδίου[97].

Όπως διαπιστώνεται από την πυραμίδα, η Μεσογειακή Διατροφή είναι μια δίαιτα πλούσια σε φρούτα, λαχανικά, όσπρια, δημητριακά, ψάρι και γαλακτοκομικά προϊόντα με χαμηλά λιπαρά. Ο λόγος μονοακόρεστων προς κορεσμένα λίπη διατηρείται υψηλός (περίπου 2), με τα κορεσμένα λίπη να αποτελούν μόνο το 7-8% των συνολικά προσλαμβανόμενων θερμίδων. Πρόκειται, λοιπόν, για ένα μοντέλο διατροφής πλούσιο σε βιταμίνες (B, C, E), αντιοξειδωτικά, πολυφαινόλες, φυτικές ίνες, ω-3 λιπαρά οξέα, που έχει συσχετισθεί με βελτίωση της αντίστασης στην ινσουλίνη (και άρα καλύτερο γλυκαιμικό έλεγχο), βελτίωση της λειτουργικότητας του ενδοθηλίου των αγγείων, βελτιστοποίηση των μηχανισμών πήξης-ινωδόλυσης, καθώς και με σημαντική αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση[98-102].

Δ. Αντιοξειδωτικά Συστατικά Διατροφής και Στεφανιαία Νόσος

Διάφορες παθοφυσιολογικές καταστάσεις που σχετίζονται με την καρδιαγγειακή νόσο, όπως η υπερχοληστερολαιμία, η υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, το κάπνισμα, η παχυσαρκία και η ηλικία έχουν σαν αποτέλεσμα την παραγωγή ενεργών ενδιαμέσων οξυγόνου και ελευθέρων ριζών[103-107]. Οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν φορτισμένα άτομα ή μόρια, τα οποία είναι ιδιαίτερα επιβλαβή για τα κύτταρα. Έτσι, όταν μία ελεύθερη ρίζα προσβάλλει ένα κύτταρο, είναι δυνατό να προκαλέσει ανεπανόρθωτη βλάβη. Στο σώμα μας υπάρχουν ελεύθερες ρίζες, οι οποίες υπό φυσιολογικές συνθήκες εξουδετερώνονται από τους αμυντικούς μας μηχανισμούς. Σε περίπτωση όμως που αυξηθούν μέσα στον οργανισμό, λόγω υπερβολικής έκθεσης σε κάποιον ή κάποιους από τους παράγοντες που αναφέρθηκαν, τότε οι άμυνες του οργανισμού εξαντλούνται και οι ρίζες αυτές καταστρέφουν τα κύτταρα ή προκαλούν επικίνδυνες μεταλλάξεις. Σε αυτές τις περιπτώσεις έχουμε τη δημιουργία του λεγόμενου οξειδωτικού στρες, οπότε οι οξειδωτικοί μηχανισμοί υπερτερούν των αντίστοιχων αντιοξειδωτικών (σχήμα 11).

Στην παρούσα μελέτη θα εξετάσουμε μερικά αντιοξειδωτικά συστατικά της διατροφής, όπως είναι η βιταμίνη C, η βιταμίνη E και τα καροτενοειδή (β-καροτένιο και λυκοπένιο) που υπάρχουν στα φρούτα και τα λαχανικά (βλ. πίνακες Α.4 και Α.5 για τις περιεκτικότητες φρούτων και λαχανικών σε αντιοξειδωτικά).



Σχήμα 11. *Οξειδωτική καταστροφή του DNA λόγω του οξειδωτικού στρες που προκαλείται από τη συσσώρευση ελεύθερων ριζών.*

♌Βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ)

Το ασκορβικό οξύ είναι μια λακτόζη με 6 άτομα άνθρακα, το οποίο δεν μπορεί να συντεθεί από τον άνθρωπο. Δρα ως δότης ηλεκτρονίων και πιθανόν όλες οι βιοχημικές και μοριακές λειτουργίες του να οφείλονται σε αυτήν του την ιδιότητα.

Η βιταμίνη C βρίσκεται σε πολλά φρούτα, κυρίως εσπεριδοειδή, και λαχανικά, όπως είναι το μπρόκολο, οι κόκκινες και πράσινες πιπεριές, το κουνουπίδι, το σπανάκι, οι τομάτες, τα λαχανάκια Βρυξελλών και τα σπαράγγια. Από τις παραπάνω πηγές, η πιο σημαντική είναι τα εσπεριδοειδή.

Ο λειτουργικός ρόλος της βιταμίνης C στο ανθρώπινο σώμα είναι σύνθετος και περιλαμβάνει τα παρακάτω:

1. Σύνθεση κολλαγόνου
2. Σύνθεση καρνιτίνης
3. Σύνθεση και καταβολισμός τυροσίνης
4. Σύνθεση νευροδιαβιβαστών
5. Αντιοξειδωτική δράση

Στην πτυχιακή αυτή μελέτη, θα εξετάσουμε τον τελευταίο ρόλο της βιταμίνης C. δρα ως αναγωγικός παράγοντας στα υδατικά διαλύματα, όπως είναι το αίμα και το εσωτερικό των κυττάρων. Μέσω της αντιοξειδωτικής του δράσης το ασκορβικό οξύ αναγεννά τη βιταμίνη E, όπως και τις πολυάριθμες ελεύθερες ρίζες. Κάποιες από τις κυριότερες ρίζες που καταστρέφει το ασκορβικό οξύ δωρίζοντάς τους πρωτόνια είναι η ρίζα του υδροξυλίου, του υδροπεροξυλίου, του υπεροξειδίου, του αλκοξυλίου και του περοξυλίου.

Οι ελεύθερες ρίζες επιτίθενται και καταστρέφουν τα νουκλεϊκά οξέα του DNA. Αυτές οι βλάβες στο μόριο του DNA επιδιορθώνονται, εν μέρει, από τα κατάλληλα ένζυμα. Η βιταμίνη C, μέσω της αντιοξειδωτικής της δράσης, προστατεύει το DNA από την οξειδωτική καταστροφή του[108].

Βιταμίνη Ε (α-τοκοφερόλη)

Η βιταμίνη Ε είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη. Η ονομασία αυτή αποτελεί ένα γενικό όρο που χρησιμοποιείται για να περιγράψει όλες τις ενώσεις που προέρχονται από τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες και έχουν τη βιολογική δράση της α-τοκοφερόλης[109].

Η βιταμίνη Ε είναι ευρέως διαδεδομένη στα τρόφιμα. Πλούσιες πηγές της βιταμίνης αυτής αποτελούν οι σαλάτες, τα έλαια, τα σιτηρά, οι μαργαρίνες, οι ξηροί καρποί και τα προϊόντα από επεξεργασία της τομάτας. Καλές πηγές αποτελούν τα σπαράγγια, το αβοκάντο, το μοσχάρι, το βούτυρο, τα αυγά, τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, η τομάτα, τα θαλασσινά και τα βατόμουρα[108].

Η βιταμίνη Ε είναι αντιοξειδωτικό που προστατεύει τις μεμβράνες και άλλες σημαντικές δομές των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων από τις ελεύθερες ρίζες και τα προϊόντα της οξείδωσης. Δρα σε συνεργασία με τη βιταμίνη C και άλλα ένζυμα (υπεροξειδική δισμουτάση και καταλάση).

Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή, όπως είναι το β-καροτένιο και το λυκοπένιο, αποτελούν μορφές της προβιταμίνης Α, ενός από τα δυο συστατικά της βιταμίνης Α στις τροφές (το άλλο είναι η ρετινόλη). Φαίνεται ότι λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά μόρια, επειδή μπορούν να αντιδράσουν και να αδρανοποιήσουν αντιδράσεις ελεύθερων ριζών, οι οποίες λαμβάνουν χώρα στις λιπιδικές μεμβράνες ή σε τμήματα αυτών.

Αδρανοποίηση είναι μια διαδικασία κατά την οποία ηλεκτρονικά διεγερμένα μόρια, όπως είναι το μονοατομικό μοριακό οξυγόνο, αποδιεγείρονται. Το μονοατομικό οξυγόνο προέρχεται από την υπεροξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών και αντιδρά με οργανικά μόρια, όπως πρωτεΐνες, λιπίδια και δν και έτσι μπορεί να καταστρέψει κυτταρικά συστατικά. Τα καροτενοειδή μπορούν να αντιδράσουν με το μονοατομικό οξυγόνο και οι συζυγείς διπλοί δεσμοί των καροτενοειδών επιτρέπουν την αδρανοποίηση. Στη συνέχεια, τα καροτενοειδή απελευθερώνουν ενέργεια με τη μορφή θερμότητας[108].

Επιπρόσθετα με την αδρανοποίηση του μονοατομικού οξυγόνου, τα καροτενοειδή έχουν την ικανότητα να αντιδρούν απευθείας με τις ρίζες περοξυλίου, οι οποίες εμπλέκονται στην υπεροξείδωση των λιπιδίων. Εξαιτίας της

ικανότητας των καροτενοειδών να αντιδρούν με ελεύθερες ρίζες και να αδρανοποιούν το μονοατομικό οξυγόνο, θεωρείται ότι προστατεύουν από διάφορες ασθένειες, όπως είναι ο καρκίνος και τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Θεωρείται ότι αποτρέπουν την οξείδωση της LDL χοληστερόλης και άλλων λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών και αποτρέπουν ή καθυστερούν τη δημιουργία αθηροσκλήρωσης[108] (βλ. *«Κεφάλαιο 2: Παθογένεια της νόσου»*).

α. β-καροτένιο

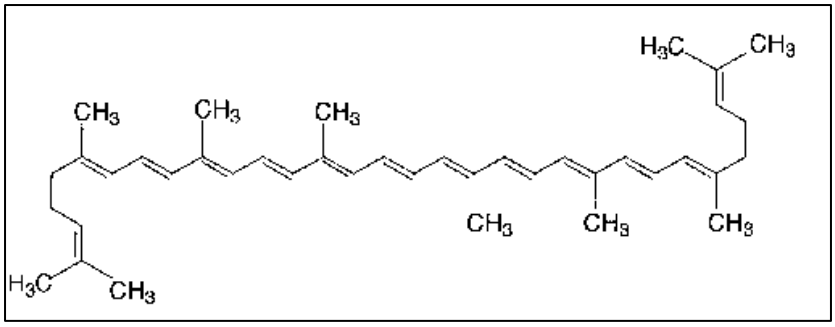
Το β-καροτένιο ενώνεται με τα λεμφοκύτταρα του ανθρώπινου αίματος και αδρανοποιεί το μονοατομικό οξυγόνο, *in* vitro. Θεωρείται ότι δρα στο εσωτερικό των μεμβρανών, όταν η α-τοκοφερόλη δρα πάνω ή στην επιφάνεια της μεμβράνης[108].

Απαντάται στα φρούτα, κυρίως τα εσπεριδοειδή (πορτοκάλια, μανταρίνια, κίτρα) και τα λαχανικά, ιδιαίτερα τα κίτρινα και πορτοκαλί (καρότα, λεμόνια).

β. Λυκοπένιο

Το λυκοπένιο (σχήμα 12) εμφανίζεται να έχει πάντα την πιο αποτελεσματική δράση από όλα τα υπόλοιπα καροτενοειδή. Είναι ευρέως κατανεμημένο στο ανθρώπινο σώμα και αποτελεί ένα από τα κύρια καροτενοειδή που απαντώνται στον ανθρώπινο ορό (περίπου 21-43% των ολικών καροτενοειδών), με επίπεδα συγκέντρωσης στο πλάσμα περίπου 0.22-1.06 nmol/ml[109,110]. Οι Agarwal και Rao[111] διερεύνησαν την επίδραση της χορήγησης συμπληρωμάτων λυκοπενίου στην οξείδωση της LDL χοληστερόλης σε 19 υγιείς εθελοντές. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χορήγηση λυκοπενίου μείωσε αισθητά την υπεροξείδωση των λιπιδίων στον ορό και την οξείδωση της LDL χοληστερόλης.

Μια άλλη μικρή μελέτη, έδειξε ότι το λυκοπένιο έχει υποχοληστερολαιμική επίδραση, τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*[112].



Σχήμα 12. *Δομή του λυκοπενίου.*

Πίνακας Α.4. Περιεκτικότητα αντιοξειδωτικών στα φρούτα (σύνθεση ανά 100 g)

ΦΡΟΥΤΑ	ΒΙΤ. C (mg)	ΒΙΤ. Ε (mg)	Β-καροτένιο (μg)	Λυκοπένιο (mg)
Αβοκάντο	6	3	16	-
Ακτινίδιο	59	0	37	-
Αχλάδι	6	0	19	-
Βερίκοκα	6	0	405	0.01-0.05
Καρπούζι	8	0	230	2.3-7.2
Κεράσια	11	0	25	-
Μανταρίνια	54	0	75	-
Μήλο	6	1	18	-
Μπανάνα	11	0	21	-
Πεπόνι	9	0	48	-
Πορτοκάλι	54	0	28	-
Ροδάκινα	31	0	58	-
Σταφύλια	3	0	17	-
Σύκα	2	0	150	-
Φράουλες	77	0	8	-

Πηγές: *1.Τριχοπούλου, Γεωργά (2004) Πίνακες Σύνθεσης Τροφίμων και Ελληνικών Φαγητών, 3η έκδοση, Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε. (Βιτ. C, βιτ. Ε και β-καροτένιο)*
2.Omoni, Aluko (2005) The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review, Trends in Food Science & Technology 16:344-350

Πίνακας Α.5. Περιεκτικότητα αντιοξειδωτικών στα λαχανικά (σύνθεση ανά 100 g)

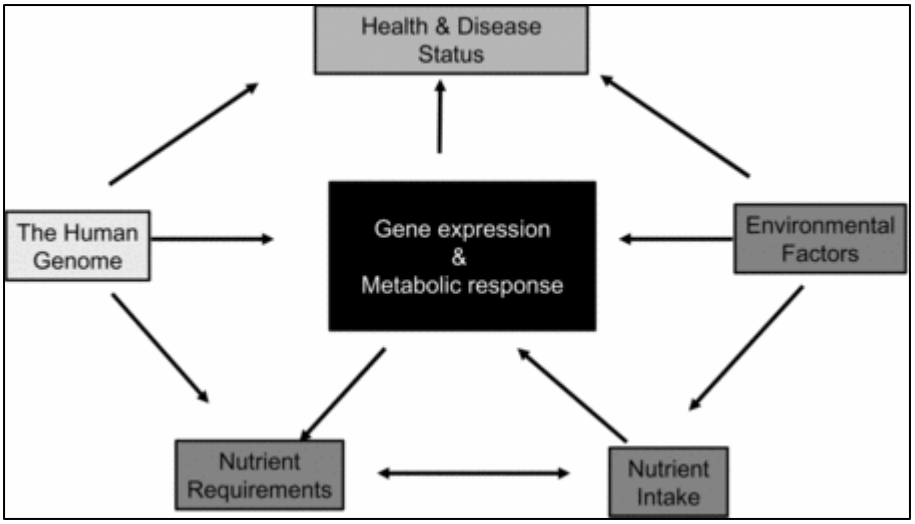
ΛΑΧΑΝΙΚΑ	ΒΙΤ. C (mg)	ΒΙΤ. Ε (mg)	Β-καροτένιο (μg)	Λυκοπένιο (mg)
Αγγούρι	2	0,07	60	
Καρότα	6	0,56	8115	0.65-0.78
Κολοκυθάκια	21	0	610	
Κουνουπίδι	43	0,22	50	
Κρεμμύδι	5	0,31	10	
Λάχανο	49	0,2	385	
Μαρούλι	5	0,57	355	
Παντζάρια	5	0	20	
Πιπεριά	120	0,8	265	
Σπανάκι	26	1,71	3535	
Τομάτα	17	1,22	640	0.72-20

Πηγές: *1.Τριχοπούλου, Γεωργά (2004) Πίνακες Σύνθεσης Τροφίμων και Ελληνικών Φαγητών, 3η έκδοση, Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε. (Βιτ. C, βιτ. Ε και β-καροτένιο)*
2.Omoni, Aluko (2005) The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review, Trends in Food Science & Technology 16:344-350

***ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4*: Nutrigenomics/ Nutrigenetics**

Α. Εισαγωγικά στοιχεία – Ορισμός nutrigenomics & nutrigenetics

Η αποκωδικοποίηση του ανθρώπινου γονιδιώματος το 2002, οδήγησε σε μία αφθονία πληροφοριών προς την επιστημονική κοινότητα αλλά και στη διεύρυνση των γνώσεων και της κατανόησής μας σε αυτόν τον τομέα[113,114]. Η αλληλεπίδραση εξωγενών και ενδογενών παραγόντων φαίνεται να καθορίζει σε μεγάλο βαθμό τις πιθανότητες εμφάνισης πολυπαραγοντικών νοσημάτων (όπως είναι τα καρδιαγγειακά νοσήματα). Ένας από τους πιο σημαντικούς εξωγενείς παράγοντες θεωρείται η διατροφή, αφού η επιρροή της ασκείται σε καθημερινή βάση, από την αρχή της σύλληψης έως το θάνατο[115]. Αυτό μπορεί να γίνει περισσότερο κατανοητό όταν αναλογιστούμε ότι η λειτουργία όλων των έμβιων όντων εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών ουσιών στο περιβάλλον τους. Επομένως, τα θρεπτικά συστατικά επιδρούν με τέτοιο τρόπο ώστε να επηρεάζουν την ανάπτυξη ενός συγκεκριμένου φαινότυπου. Ισχύει όμως και το αντίστροφο, ότι η απόκριση ενός οργανισμού σε ένα θρεπτικό συστατικό εξαρτάται από το γονότυπο του ατόμου.



Σχήμα 13. *Αλληλεπίδραση εξωγενών και ενδογενών παραγόντων στην έκφραση των γονιδίων ενός οργανισμού.*

Είναι πλέον γνωστό ότι σε μια διαιτητική αγωγή δεν ανταποκρίνονται όλα τα άτομα με τον ίδιο τρόπο. Κατά συνέπεια, η διατροφική παρέμβαση για κάθε οργανισμό διαφοροποιείται και μπορεί να είναι καθόλου, λίγο ή πολύ αποτελεσματική. Η διερεύνηση, λοιπόν, της σχέσης μεταξύ γονιδίων και διατροφής μπορεί να βοηθήσει στην σύνταξη κατάλληλων διαιτητικών συστάσεων ανάλογα με τον γονότυπο του ατόμου και θα συνεισφέρει στην πρόληψη, τόσο σε πρωτογενές, όσο και σε δευτερογενές επίπεδο, νοσημάτων πολυπαραγοντικής αιτιολογίας όπως τα καρδιαγγειακά[116]. Σκοπός αυτού του πεδίου είναι η κατανόηση του πώς η διατροφή επηρεάζει μεταβολικά μονοπάτια και τον ομοιοστατικό έλεγχο, πώς αυτή η ρύθμιση διαφοροποιείται κατά τη διάρκεια της πρώιμης φάσης μιας ασθένειας που σχετίζεται με τη διατροφή και μέχρι ποιο βαθμό η γενετική σύνθεση συμβάλλει σε μια τέτοια ασθένεια[115].

Η θεμελιώδης βάση αυτού του νέου κλάδου της γενετικής έρευνας μπορεί να συνοψιστεί στις παρακάτω πέντε αρχές[117]:

1. Κοινά διαιτητικά συστατικά δρουν στο ανθρώπινο γονιδίωμα, είτε άμεσα είτε έμμεσα, για να διαφοροποιήσουν την έκφραση ή τη δομή των γονιδίων.
2. Υπό ορισμένες συνθήκες και σε μερικά άτομα, η δίαιτα μπορεί να είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για έναν αριθμό ασθενειών (βλ. ενότητα *Γ1. Μονογονιδιακά νοσήματα*).
3. Μερικά από τα γονίδια που ρυθμίζονται από τη διατροφή (και τα φυσιολογικά τους αλληλόμορφα) είναι πιθανό να παίζουν κάποιο ρόλο στην έναρξη, επίπτωση, πρόοδο ή/και στη σοβαρότητα χρόνιων νοσημάτων.
4. Ο βαθμός στον οποίο η διατροφή επηρεάζει την ισορροπία μεταξύ υγείας και ασθένειας μπορεί να εξαρτάται από το γενετικό υπόβαθρο του ατόμου.
5. Η διαιτητική παρέμβαση που στηρίζεται στην γνώση των διατροφικών αναγκών, της διατροφικής κατάστασης και του γονότυπου (π.χ. individualized nutrition) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να εμποδίσει, να ανακουφίσει ή να θεραπεύσει χρόνια νοσήματα.

Για να περιγράψουμε αυτό το ερευνητικό πεδίο, δυο είναι οι όροι που συνήθως χρησιμοποιούνται: «nutrigenomics» και «nutrigenetics»[118]. Τα nutrigenetics εξετάζουν το αποτέλεσμα της γενετικής διαφοροποίησης στην αλληλεπίδραση μεταξύ της διατροφής και της ασθένειας. Αυτό συμπεριλαμβάνει την αναγνώριση και τον χαρακτηρισμό των διαφορετικών γονιδίων που σχετίζονται,

ή είναι υπεύθυνα, για την διαφορετική αντίδραση στα θρεπτικά συστατικά. Ο σκοπός των nutrigenetics είναι να παράγουν συστάσεις λαμβάνοντας υπόψη τους κίνδυνους και τα πλεονεκτήματα ειδικών διαιτών ή διαιτητικών συστατικών για το άτομο. Ένας άλλος όρος που χρησιμοποιείται σε αυτήν την περίπτωση είναι «εξατομικευμένη διατροφή» (individualized nutrition) ή «προσωποποιημένη διατροφή» (personalized nutrition).

Από την άλλη πλευρά, τα nutrigenomics εστιάζουν στην επίδραση των θρεπτικών συστατικών στο γονιδίωμα, στη πρωτεϊνοσύνθεση και το μεταβολισμό[5]. Τα nutrigenomics προσπαθούν να κάνουν τους επιστήμονες υγείας να κατανοήσουν τον τρόπο με τον οποίο η διατροφή επηρεάζει την ισορροπία μεταξύ υγείας και ασθένειας διαφοροποιώντας την έκφραση ή/ και δομή της γενετικής σύνθεσης ενός ατόμου[117].

Μετά την ανάλυση των δυο ορισμών, γίνεται φανερό ότι η μελέτη αυτή αφορά τα nutrigenetics και την στεφανιαία νόσο.

B. Nutrigenetics και θρεπτικά συστατικά

B.1. Μακροθρεπτικά συστατικά

Έλεγχος της έκφρασης των γονιδίων από αμινοξέα

Τα αμινοξέα μπορούν να παίξουν ρόλο στα διατροφικά σήματα για την ρύθμιση της έκφρασης ορισμένων γονιδίων. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι τα κύτταρα μπορούν να ανιχνεύουν διαφοροποιήσεις στα επίπεδα των αμινοξέων και να αποκρίνονται με μηχανισμούς όπως έλεγχος της μεταγραφής, σταθεροποίηση του mRNA όπως επίσης και με ρύθμιση της έναρξης της μετάφρασης[119]. Ο *Varga και συν.* έχουν δείξει στα ανθρώπινα κύτταρα ότι το αμινοξύ L-τρυπτοφάνη σε συγκεντρώσεις άνω των φυσιολογικών είναι ένας ισχυρός υποκινητής της γονιδιακής έκφρασης της κολλαγενάσης σε μεταγραφικό επίπεδο[120].

Πάντως, οι μοριακοί μηχανισμοί και τα ενδιάμεσα μόρια που παίρνουν μέρος στον έλεγχο της έκφρασης των γονιδίων από τα αμινοξέα δεν έχουν γίνει ακόμα πλήρως κατανοητοί.

Έλεγχος της έκφρασης των γονιδίων από λιπαρά οξέα

Τα λιπαρά οξέα μπλέκονται στον συντονισμό των βιολογικών διαδικασιών μέσω της ρύθμισης της έκφρασης των γονιδίων. Σε απάντηση στην διαφοροποίηση της συγκέντρωσής τους, το γονίδιο του ενεργοποιημένου υποδοχέα πολλαπλασιασμού των υπεροξειδιοσωμάτων (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor, PPAR) αποτελεί μεταγραφικό παράγοντα για πολλά γονίδια, των οποίων τα προϊόντα εμπλέκονται στον αναβολισμό των λιπιδίων. Το γονίδιο εκφράζεται σε αφθονία στο λιπώδη ιστό και έχει κεντρικό ρόλο σε διαδικασίες όπως η λιπογένεση και η ευαισθησία στην ινσουλίνη[121].

Έλεγχος της έκφρασης των γονιδίων από υδατάνθρακες

Το πιο γνωστό παράδειγμα σε αυτήν την κατηγορία είναι η υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης, η οποία επηρεάζει την μεταγραφή πολλών γονιδίων της γλυκολυτικής πορείας και της λιπογένεσης. Συγκεκριμένα, η γλυκόζη φαίνεται να διεγείρει τις διαδικασίες της δικής της αξιοποίησης και να εμποδίζει την χρησιμοποίηση άλλων πηγών υδατανθράκων[122]. Στα θηλαστικά, η επίδραση της διαιτητικής γλυκόζης στην έκφραση των γονιδίων είναι δύσκολη στην μελέτη διότι

περιλαμβάνει ορμόνες όπως η ινσουλίνη και η γλυκαγόνη, των οποίων η έκκριση εξαρτάται από την συγκέντρωση της γλυκόζης.

Σε πολλές μελέτες, η υψηλή συγκέντρωση της γλυκόζης αυξάνει την μεταγραφή των ενζύμων-στόχων. Παρόλα αυτά, στα ηπατοκύτταρα και τα λιποκύτταρα, η διέγερση της γονιδιακής έκφρασης ήταν, εν μέρει, εξαρτώμενη από την ινσουλίνη[123].

Β.2. Μικροθρεπτικά συστατικά

Καροτενοειδή και βιταμίνη Α

Τα καροτενοειδή, που είναι πρόδρομα της βιταμίνης Α, έχουν αντιοξειδωτικές ικανότητες μέσω δέσμευσης ελεύθερων ριζών ή O_2 και επομένως μειώνουν την οξειδωτική καταστροφή του DNA. Στους ανθρώπους, ο προστατευτικός ρόλος των καροτενοειδών στο κυτταρικό επίπεδο της οξειδωτικής καταστροφής του DNA έχει εξακριβωθεί και οι συγκεντρώσεις καροτενοειδών στο πλάσμα έχουν συσχετισθεί αρνητικά με την οξειδωτική βλάβη στα λεμφοκύτταρα[124-126]. Παρόλο, όμως, που η επίδραση των καροτενοειδών στο DNA έχει αποδειχθεί, το πραγματικό όφελος από τη λήψη συμπληρωμάτων καροτενοειδών είναι ακόμα αμφισβητήσιμο.

Ο βιολογικός ρόλος της ενεργής μορφής της βιταμίνης Α, της ρετινόλης, έχει μελετηθεί καλύτερα. Γνωρίζοντας την επίδραση της ρετινόλης στην έκφραση των γονιδίων, η λίστα με τα γνωστά γονίδια που λαμβάνουν μέρος μεγαλώνει ταχύτατα. Ανάμεσα στα εμπλεκόμενα γονίδια είναι αυτά που παίρνουν μέρος άμεσα στον μεταβολισμό της ρετινόλης, όπως η CRBP (cellular retinol-binding protein), πρωτο-ογκογονίδια, και παράγοντες ανάπτυξης, όπως η IL-6[127].

Σύμπλεγμα βιταμινών Β και Φυλλικό οξύ

Το σύμπλεγμα των βιταμινών Β και του φυλλικού οξέος και η επιρροή τους στο γονότυπο είναι ένα από τα πλέον ερευνούμενα πεδία των nutrigenomics. Για να γίνει κατανοητή η μεγάλη έκταση της σχέσης του φυλλικού οξέος με την ανάπτυξη ορισμένων παθολογικών καταστάσεων, όπως είναι η έλλειψη νευρικού σωλήνα (στα έμβρυα), η στεφανιαία νόσος και ο καρκίνος του εντέρου, είναι πολύ σημαντικό να κατανοήσουμε τον φυσιολογικό ρόλο του φυλλικού οξέος στην

ακεραιότητα του DNA, όπως επίσης και στην επίδραση της γενετικής διαφοροποίησης στα συστατικά του φυλλικού οξέος.

Το φυλλικό οξύ είναι απαραίτητο συνένζυμο στην βιοσύνθεση του θυμιδιλικού οξέος, που αποτελεί δομικό νουκλεοτίδιο του DNA (συγκεκριμένα, το τετραϋδροφυλλικό οξύ). Σε περίπτωση ανεπάρκειάς του, η ουρακίλη ενσωματώνεται στο DNA αντί για τη θυμίνη (πυριμιδινικές βάσεις). Έχει αποδειχθεί ότι υπερβολική ενσωμάτωση της ουρακίλης στο DNA μπορεί να προκαλέσει διαχωρισμό του DNA και των χρωμοσωμάτων.

Η βιταμίνη B_{12} και το φυλλικό οξύ είναι επίσης απαραίτητα στην σύνθεση της μεθειονίνης, ενός αμινοξέος που παίζει σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης και ως εκ τούτου, στην διατήρηση της δομής του DNA[128].

Ενώ τα επίπεδα της ημερήσιας πρόσληψης των βιταμινών αυτών που είναι απαραίτητα για την πρόληψη της αναιμίας είναι καθορισμένα, η αποδοτικότητα των συγκεντρώσεων που ελαχιστοποιούν την καταστροφή του χρωμοσώματος δεν είναι γνωστή[129].

Βιταμίνη C

Έχει αποδειχθεί, *in vitro*,ότι η βιταμίνη C έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και μειώνει το επίπεδο της οξειδωτικής καταστροφής του DNA[20]. *In vivo,* τα ενδοκυτταρικά και εξωκυτταρικά επίπεδα του ασκορβικού οξέος αντιστοιχούν σε αυτά που δείχνουν μια αντιοξειδωτική δράση *in vitro*[130]. Παρόλα αυτά, δεν έχει ακόμα καθοριστεί αν η κατανάλωση συμπληρωμάτων ασκορβικού μπορεί να είναι ωφέλιμη σε σχέση με την γονιδιακή σταθερότητα. Ως εκ τούτου, η κατανάλωση συμπλρωμάτων ασκορβικού δεν φαίνεται να δικαιολογείται[131,132]. Από την άλλη πλευρά, δεν υπάρχει καμία ένδειξη ότι η χορήγηση συμπληρωμάτων αυτής της βιταμίνης μπορεί να είναι επιζήμια.

Επιπλέον, η βιταμίνη C ρυθμίζει την έκφραση αρκετών γονιδίων[133].

Βιταμίνη D

Η βιταμίνη D, και ειδικότερα η καλσιτριόλη, η ενεργή μορφή αυτής, έχει αντιοξειδωτικές ικανότητες και σταθεροποιεί τη δομή του χρωμοσώματος. Επίσης, έχει συσχετισθεί με την ανάπτυξη και την ενδυνάμωση του ανθρώπινου σκελετού. Αλληλεπιδρά με τους υποδοχείς των μεμβρανών αλλά και με τους πρωτεϊνικούς

υποδοχείς των πυρήνων των κυττάρων, οι οποίοι καλούνται VDR (vitamin D receptor), έτσι ώστε να επηρεάσει τη μεταγραφή των γονιδίων, όπως την εναρκτήρια περιοχή του γονιδίου της οστεοκαλσίνης. Πυρηνικοί υποδοχείς της βιταμίνης D έχουν βρεθεί σε περισσότερα από 30 όργανα, όπως οστά, έντερο, πνεύμονες, δέρμα, μύες κα[134].

Βιταμίνη Ε

Ο όρος βιταμίνη Ε περιλαμβάνει οκτώ διαφορετικά μόρια (βιταμερή), τα οποία συντίθενται στα φυτά. Αυτά τα μόρια χωρίζονται σε δυο κατηγορίες, τις τοκοφερόλες και τις τοκοτριενόλες ή τριενόλες. Οι τοκοφερόλες έχουν κορεσένες πλευρικές αλυσίδες και διακρίνονται σε α-, β-, γ- και δ-, ενώ οι τοκοτριενόλες έχουν ακόρεστες πλευρικές αλυσίδες και διακρίνονται επίσης σε α-, β-, γ- και δ-.

Η πρωταρχική λειτουργία της βιταμίνης Ε είναι η προστασία της ακεραιότητας των κυτταρικών και ενδοκυτταρικών σχηματισμών και η προφύλαξη από την καταστροφή συγκεκριμένων ενζύμων και ενδοκυτταρικών συστατικών. Ο μηχανισμός με τον οποίο προστατεύει τις μεμβράνες είναι με το να εμποδίζει την οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων, τα οποία υπάρχουν στις κυτταρικές μεμβράνες. Η βιταμίνη αυτή δρα αντιοξειδωτικά ενάντια στις ελεύθερες ρίζες των λιπαρών οξέων, αποτρέπει την οξείδωση της βιταμίνης Α, της βιταμίνης C, των ενζύμων με θείο και το ATP. Από τα παραπάνω φαίνεται η σημαντική αντιοξειδωτική δράση της βιταμίνης Ε. Επίσης, μπορεί να συμβάλλει στην πρόληψη της στεφανιαίας νόσου, στην ακεραιότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, είναι προστάτης του πνευμονικού ιστού από τη μόλυνση της ατμόσφαιρας, είναι αντικαταστάτης του σεληνίου, ρυθμίζει τη δράση των ενζύμων, της πρωτεϊνικής κινάσης και συμμετέχει στον κανονικό πολλαπλασιασμό των κυττάρων[134].

Η βιταμίνη Ε έχει βρεθεί ότι αναστέλλει την έκκριση της ιντερλευκίνης-1 από τα μονοκύτταρα, την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και ενέχεται στην έκκριση της PGI_2. Οι ενέργειες αυτές ευθύνονται περισσότερο για την αντιαθηρογόνο επίδραση της βιταμίνης Ε παρά η αντιοξειδωτική της ικανότητα [*Elinder and Walldius, 1994*], για την εκδήλωση της οποίας θα πρέπει να υπάρχει ουδός αναφερόμενος στα επίπεδα της βιταμίνης Ε στο πλάσμα [*Feussner, 1994*].

Γ. Nutrigenetics και νοσήματα

Γ.1. Μονογονιδιακά νοσήματα

Τα πρώτα επιτεύγματα στην γενετική έρευνα αφορούσαν την αναγνώριση μονογονιδιακών νοσημάτων, νοσημάτων δηλαδή που οφείλονται σε μετάλλαξη ενός μόνο γονιδίου. Το πρώτο παράδειγμα είναι η ανακάλυψη της γαλακτοζαιμίας από τον *F. Goppart* το 1917. Η γαλακτοζαιμία οφείλεται στην έλλειψη του ενζύμου ουριδυλο-τρανσφεράση της 1-φωσφο-γαλακτόζης και προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης της γαλακτόζης στο αίμα, με αποτέλεσμα να εμφανίζονται διάφορες διαταραχές, συμπεριλαμβανομένης και της πνευματικής καθυστέρησης. Η διαταραχή εμφανίζεται συνήθως στα βρέφη και με κατάλληλη διαιτητική παρέμβαση (διατροφή χωρίς λακτόζη ή γαλακτόζη) υποχωρεί στην εφηβεία.

Η φαινυλκετονουρία, που ανακαλύφθηκε το 1934 από τον *Asbjorn Folling,* είναι ένα άλλο παράδειγμα μονογονιδιακού νοσήματος όπου η διατροφή και το γενετικό υπόβαθρο του ατόμου αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Οφείλεται σε διαταραχή στο μεταβολισμό της φαινυλαλανίνης, λόγω μειωμένων επιπέδων του ενζύμου 4-μονοξυγονάση της φαινυλαλανίνης, με αποτέλεσμα να αυξάνονται τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης στο αίμα. Στην περίπτωση αυτή, αν δεν ρυθμιστεί κατάλληλα η διατροφή, μπορούν να προκληθούν σημαντικά προβλήματα, όπως βαριά νοητική υστέρηση, σπασμοί, δερματικά εκζέματα, αποχρωματισμός δέρματος, μαλλιών και ματιών, καθώς και αυτισμός[115].

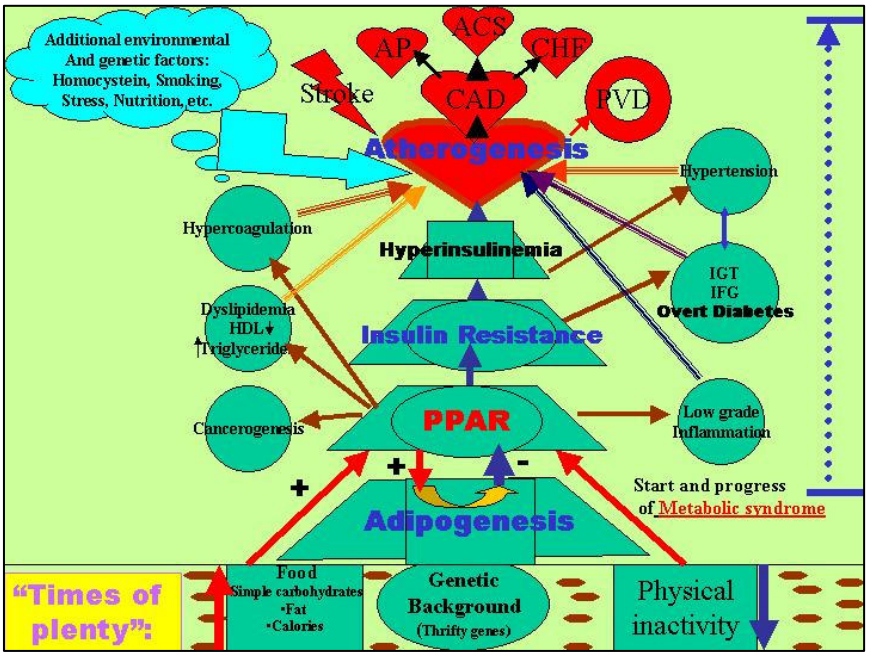
Από τα παραπάνω παραδείγματα μονογονιδιακών νοσημάτων διαπιστώνουμε την ευκολία αντιμετώπισής τους όταν απομακρυνθεί από τη διατροφή το συστατικό εκείνο που προκαλεί την εκάστοτε διαταραχή. Οι δυσκολίες όμως γίνονται έντονες όταν έχουμε να κάνουμε με πολυπαραγοντικά νοσήματα, όπου είναι συχνά ασαφές ποιο συστατικό της διατροφής ή ποιος συνδυασμός συστατικών και άλλων παραγόντων κινδύνου επηρεάζουν την ανάπτυξη, εξέλιξη και πορεία μιας νόσου.

Γ.2. Πολυπαραγοντικά νοσήματα

Η διατροφή είναι ένας περιβαλλοντικός παράγοντας-κλειδί που εμπλέκεται στην παθογένεια και την πρόοδο κλασσικών νοσημάτων που σχετίζονται με τη διατροφή. Πιστεύεται ότι είναι ανάμεσα στους πιο σημαντικούς διαμορφωτές παραγόντων κινδύνου για αρκετές σοβαρές ασθένειες με πολυπαραγοντική παθογένεια. Λόγω της πολυπλοκότητας αυτών των νοσημάτων είναι αδύνατο να ερευνηθούν όλοι οι πιθανοί παράγοντες που λαμβάνουν μέρος[135].

Παραδείγματα πολυπαραγοντικών νοσημάτων που σχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με τη διατροφή είναι ο καρκίνος, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, το μεταβολικό σύνδρομο και τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Στην συγκεκριμένη μελέτη, θα ασχοληθούμε με τα καρδιαγγειακά νοσήματα (κυρίως τη στεφανιαία νόσο) και με τον τρόπο που η διατροφή επηρεάζει την παθογένεια, επίπτωση, πρόοδο ή/ και βελτίωση της ασθένειας.

Η καρδιαγγειακή νόσος μπορεί να χαρακτηριστεί σαν πλήθος πολυπαραγοντικών καταστάσεων που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση, την υπέρταση και τη θρόμβωση (σχήμα 14). Όλες αυτές οι παθολογικές καταστάσεις θεωρούνται ότι επηρεάζονται τόσο από γενετικούς παράγοντες όσο και από το περιβάλλον. Η ισχυρή σχέση μεταξύ της σύστασης της δίαιτας και του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων έχει αποδειχθεί σε διάφορες μελέτες[26-28].



Σχήμα 14. *Πολυπαραγοντικό μοντέλο αθηρογένεσης.*

Γονίδια που κωδικοποιούν παράγοντες που παίρνουν μέρος στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης

Η αθηροσκλήρωση αποτελεί, χωρίς αμφιβολία, το στοιχείο-κλειδί στην παθογένεια των καρδιαγγειακών. Γενικά, η αθηροσκλήρωση μπορεί να θεωρηθεί ένας πολύπλοκος συνδυασμός μεταφοράς λιπιδίων και διαταραχής του μεταβολισμού με χρόνια φλεγμονή[27,29]. Σε αντίθεση με άλλες πολυπαραγοντικές καταστάσεις, ειδικά με τον καρκίνο, ο κίνδυνος για αθηροσκλήρωση μπορεί να ανιχνευθεί σε προκλινικά στάδια με απλή ποσοτική αξιολόγηση του λιπιδαιμικού προφίλ. Μόνιμα αυξημένα επίπεδα πλάσματος ολικής χοληστερόλης, LDL χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων προδιαθέτουν την ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας, ενώ αυξημένα επίπεδα HDL χοληστερόλης φαίνονται να ασκούν προστατευτική δράση. Η διαθεσιμότητα αυτών των αξιόπιστων ποσοτικών κριτηρίων επιτρέπουν την ανακάλυψη ισχυρής σχέσης ανάμεσα σε διατροφικούς παράγοντες, ιδιαίτερα στην κατανάλωση κορεσμένου λίπους, και στον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων[136-138].

Η χρήση του διαιτητικού λίπους για τις βιολογικές του λειτουργίες μέσα στον οργανισμό θα ήταν αδύνατη χωρίς ένα ιδιαίτερα περίπλοκο σύστημα μεταφοράς και μεταβολισμού των λιπιδίων. Πολλά από τα συστατικά αυτού του συστήματος είναι ιδιαίτερα πολυμορφικά. Ο ρόλος των πολυμορφισμών των γονιδίων που επηρεάζουν τη μεταφορά και τον μεταβολισμό των λιπιδίων έχει μελετηθεί σε πολλές μελέτες. Τα γονίδια αυτά χωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες[135]:

1. Γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες μεταφοράς λιπιδίων.
2. Γονίδια που κωδικοποιούν υποδοχείς λιποπρωτεϊνών.
3. Γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα επεξεργασίας λιπιδίων/ λιποπρωτεϊνών.
4. Γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες σχετικές με τη φλεγμονή.

Γονίδια που κωδικοποιούν παράγοντες που παίρνουν μέρος στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης

Η αρτηριακή υπέρταση αποτελεί ένα σημαντικό παθολογικό συστατικό των καρδιαγγειακών. Έχει κατανοηθεί πλήρως, πλέον, ότι μεγάλος αριθμός γενετικών παραγόντων που παίρνουν μέρος στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης μπορεί να είναι υπεύθυνοι για την αύξηση της αρτηριακής πίεσης, που χαρακτηρίζει την

πρωτοπαθή υπέρταση. Έχει φανεί ότι η επιρροή διατροφικών παραγόντων που μεταβάλλουν την ενεργειακή ομοιόσταση προδιαθέτουν την αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Όντως, είναι ευρέως γνωστό ότι μια απώλεια βάρους σε έναν υπέρβαρο υπερτασικό συνήθως οδηγεί σε ταυτόχρονη μείωση της πίεσης[135]. Από την άλλη πλευρά όμως, είναι δύσκολο να πούμε ότι έχουν καθοριστεί οι διατροφικοί παράγοντες κινδύνου που οδηγούν στην υπέρταση. Το χλωριούχο νάτριο αποτελεί τη μόνη εξαίρεση, παρόλο που δεν ανταποκρίνονται όλα τα άτομα με τον ίδιο τρόπο στην αύξηση ή μείωση της κατανάλωσης αλατιού. Αυτό ίσως υποδηλώνει πιθανή γενετική προδιάθεση.

Πολυμορφισμοί γονιδίων που εμπλέκονται στην ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης έχουν αναλυθεί σε μια εκτεταμένη ανασκόπηση από τον *Luft*[135].

Γονίδια που κωδικοποιούν παράγοντες της ομοιόστασης

Η θρόμβωση των αρτηριών που επηρεάζεται από την αθηροσκλήρωση αποτελεί τον κύριο μηχανισμό που οδηγεί σε οξέα στεφανιαία και αγγειοεγκεφαλικά σύνδρομα. Εδώ παίρνουν μέρος τόσο περιβαλλοντικοί όσο και γενετικοί παράγοντες. Υποψιαζόμαστε ότι η διατροφή, και ιδιαίτερα η υπερβολική κατανάλωση λίπους, μπορεί να ενεργοποιήσει μεταγευματική υπερπηκτική κατάσταση.

Πολλές ομάδες γονιδίων είναι σημαντικές στην ρύθμιση της ομοιόστασης. Οι πολυμορφισμοί των γονιδίων αυτών έχουν αναφερθεί σε δυο πρόσφατες ανασκοπήσεις[135].

Γονίδια που κωδικοποιούν παράγοντες που ελέγχουν τον μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης

Η υπερομοκυστεϊναιμία θεωρείται πλέον ένας ανεξάρτητος παράγοντας στην ανάπτυξη αγγειοεγκεφαλικών νοσημάτων και στεφανιαίας νόσου, όπως επίσης και στην ανάπτυξη φλεβικής θρόμβωσης. Τόσο τα πολυμορφικά αλληλόμορφα των ενζύμων που συμμετέχουν στον μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης όσο και τα επίπεδα των συμπαραγόντων των ενζύμων αυτών (που είναι βιταμίνες που προέρχονται από τη διατροφή) επηρεάζουν τα επίπεδα ομοκυστεΐνης του ορού, προσφέροντας με αυτόν τον τρόπο ένα καλό παράδειγμα της αλληλεπίδρασης διατροφικών παραγόντων και γενετικού υπόβαθρου.

Η υπερομοκυστεϊναιμία μπορεί να προκληθεί από την έλλειψη του φυλλικού οξέος και της βιταμίνης Β12, συστατικά απαραίτητα για την σύνθεση της μεθειονίνης, ενός αμινοξέος που παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης (βλ. *Β2. Σύμπλεγμα βιταμινών Β και Φυλλικό οξύ*). Η σπουδαιότητα αυτού του μεταβολικού συστήματος δεν περιορίζεται μόνο στην συσχέτισή του με τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η παραγωγή της μεθειονίνης το συνδέει επίσης με τη μεθυλίωση του DNA και την πρωτεϊνοσύνθεση. Επιπλέον, παρέχει συμμετοχή στις διαδικασίες αύξησης, επιδιόρθωσης ιστών και στην ανάπτυξη νεοπλασιών. Πολυμορφικά γονίδια κωδικοποιούν πολλά ένζυμα που εμπλέκονται στον μεταβολισμό του φυλλικού οξέος και στον κύκλο της ομοκυστεΐνης. Το πιο σημαντικό από αυτά είναι η μεθυλενοτετραϋδροφυλλική ρεδουκτάση (MTHFR) που θεωρείται ένα ένζυμο-κλειδί στο μεταβολικό μονοπάτι[135].

Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης είναι να διερευνηθεί η σχέση του πολυμορφισμού -174G/C στην αλληλουχία του υποκινητή του γονιδίου της IL-6 με διάφορους παράγοντες που προάγουν τη φλεγμονή, καθώς και με προστατευτικούς παράγοντες της διατροφής σε Έλληνες ασθενείς με πρώτη εκδήλωση της στεφανιαίας νόσου (πρώτο έμφραγμα του μυοκαρδίου ή πρώτη – στεφανιογραφικά- αποδεδειγμένη στένωση αγγείων). Για το σκοπό αυτό επιλέχθηκαν ασθενείς που νοσηλεύτηκαν στο Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο από τον Ιανουάριο έως και τον Σεπτέμβριο του 2005.

Ο πολυμορφισμός αυτός δεν έχει μελετηθεί ξανά σε Έλληνες ασθενείς με πρώτη εκδήλωση στεφανιαίας νόσου και εξαιτίας των αντιφατικών συμπερασμάτων που προκύπτουν από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση, θεωρήθηκε ένας ενδιαφέρων πολυμορφισμός προς μελέτη.

Α. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Α.1. Πληθυσμός της μελέτης

Οι ασθενείς που πήραν μέρος στη μελέτη νοσηλεύθηκαν στην Α' Καρδιολογική Κλινική ή τη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (και ανήκαν στην Α' Καρδιολογική Κλινική) του Ωνάσειου Καρδιοχειρουργικού Κέντρου. Το σύνολο των ασθενών και των μαρτύρων ήταν 107, εκ των οποίων οι 92 (86%) ήταν άνδρες, ηλικίας 59 ± 10 ετών, και οι 15 (14%) ήταν γυναίκες, ηλικίας 68 ± 12 ετών. Η επιλογή των ασθενών έγινε με βασική προϋπόθεση τον πρώτο στεφανιογραφικό έλεγχο (εντός του τελευταίου μήνα), τόσο για τους ασθενείς όσο και για τους μάρτυρες. Το διάστημα του ενός μήνα επιλέχθηκε για να γίνει πιο εύκολη η ανάκληση από τα άτομα της μελέτης των συνηθειών που είχαν πριν την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου. Τα επιπλέον κριτήρια που απαιτούνταν για την κάθε ομάδα των συμμετεχόντων αναφέρονται παρακάτω.

Για τους ασθενείς με στεφανιαία νόσο:

- Το αποτέλεσμα του στεφανιογραφικού ελέγχου έπρεπε να υποδηλώνει στένωση >50% σε κάποιο/α από τα στεφανιαία αγγεία.
- Πρώτο έμφραγμα του μυοκαρδίου, είτε με ανάσπαση του τμήματος ST είτε χωρίς ανάσπαση του τμήματος ST.
- Ηλικία μεγαλύτερη των 40 ετών.

Για τους μάρτυρες:

- Ο στεφανιογραφικός έλεγχος γινόταν για διερεύνηση κάποιας πιθανής στένωσης στα στεφανιαία αγγεία λόγω παθολογικών ενδείξεων από άλλες καρδιολογικές εξετάσεις (π.χ. σπινθηρογράφημα με θάλλιο, τεστ κοπώσεως κτλ).
- Το αποτέλεσμα του στεφανιογραφικού ελέγχου έπρεπε να υποδηλώνει μη αιμοδυναμικά σημαντικές στενώσεις ή στενώσεις <30% σε κάποιο/α από τα στεφανιαία αγγεία.
- Ηλικία μεγαλύτερη των 40 ετών.

Κριτήρια αποκλεισμού ασθενών από τη μελέτη:

- Όταν το αποτέλεσμα του στεφανιογραφικού ελέγχου υποδηλώνει στένωση 30-50%.
- Ηλικία μικρότερη των 40 ετών.

Α.2. Διερευνούμενοι παράγοντες

Τα στοιχεία που λήφθηκαν από τους συμμετέχοντες είναι τα παρακάτω:

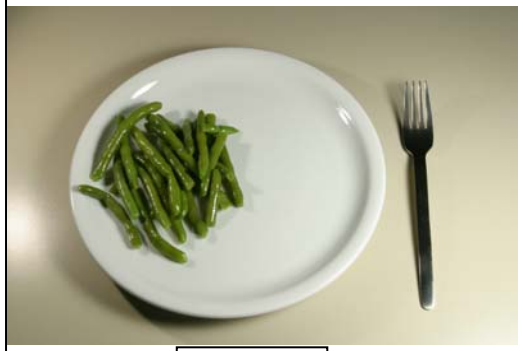
1. Ατομικά χαρακτηριστικά, όπως φύλο, ηλικία, καταγωγή.
2. Κοινωνικά χαρακτηριστικά, όπως μορφωτικό επίπεδο, επαγγελματική κατάσταση, κάπνισμα.
3. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, όπως βάρος, ύψος, Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ), περιφέρεια μέσης και γοφών.
4. Οικογενειακό και ατομικό ιατρικό ιστορικό.
5. Ατομικό φαρμακευτικό ιστορικό.
6. Ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας (από το εργαστήριο Διατροφής & Κλινικής Διαιτολογίας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου).
7. Ερωτηματολόγιο Αυτοεκτιμήσεως (από Α. Λιάκο και C.D. Spielberger, STAI-Gr. X-1)
8. Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων (σχεδιασμένο για τον ελληνικό πληθυσμό από την Ε. Θεοδωράκη και Μ. Γιαννακούλια).
9. Τέλος, λήφθηκαν περίπου 3ml αίματος από τους συμμετέχοντες για την εργαστηριακή ανάλυση και τον καθορισμό του γονότυπου (ύστερα από ενυπόγραφη συγκατάθεσή τους).

Τα στοιχεία αυτά λήφθηκαν μέσω συνέντευξης στις περισσότερες των περιπτώσεων, εκτός από το ερωτηματολόγιο αυτοεκτίμησης και το ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων που το συμπλήρωναν οι ασθενείς μόνοι τους.

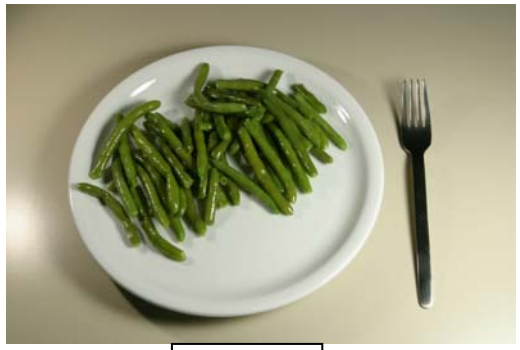
Εξαιτίας της καινοτομίας του σχεδιασμού του Ερωτηματολογίου Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων για τον ελληνικό πληθυσμό, θεωρώ απαραίτητη την διευκρίνιση της φιλοσοφίας του. Οι ερωτήσεις αφορούν 161 τρόφιμα που καταναλώνονται από τον ελληνικό πληθυσμό, καθώς και η συχνότητα κατανάλωσής τους με τις ακόλουθες κατηγορίες: ποτέ, σπάνια, 1-3 φορές το μήνα, 1-2 φορές την εβδομάδα, 3-4 φορές την εβδομάδα, 5-6 φορές την εβδομάδα και καθημερινά. Επίσης, τα περισσότερα τρόφιμα εμφανίζονται σε φωτογραφίες για να προσδιοριστεί η μερίδα που καταναλώνεται από τον συμμετέχοντα ενώ, τέλος, διευκρινίζονται τα εποχιακά τρόφιμα. Ένα παράδειγμα του ερωτηματολογίου παρουσιάζεται στην επόμενη σελίδα.

***ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ* (με φωτογραφία)**

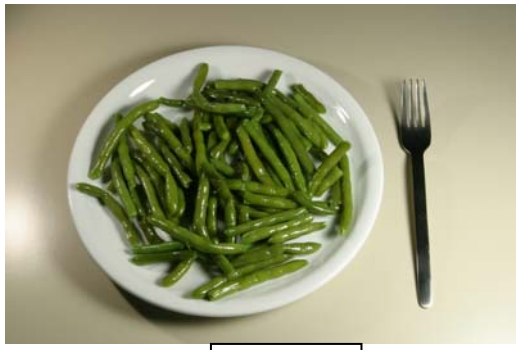
Σε κάποιες περιπτώσεις υπάρχουν φωτογραφίες μερίδων και ζητείται να προσδιοριστεί η ποσότητα σύμφωνα με τις μερίδες που



Α



Β



Γ

Κατά τη διάρκεια των <u>τελευταίων 12 μηνών</u> πόσο συχνά καταναλώνατε:		**Πόσους μήνες το χρόνο συνηθίζετε να καταναλώνετε**	**ποτέ**	**σπάνια**	**1-3 φορές το μήνα**	**1-2 φορές την εβδομάδ**	**3-4 φορές την εβδομάδα**	**5-6 φορές την εβδομάδα**	**καθημερινά**	**φορές την ημέρα**	**ΜΕΡΙΔΑ**
32	Φασολάκια/ μπάμιες	3				✓				____	**Γ**

Στην περίπτωση αυτή αν υποθέσουμε ότι καταναλώνετε φασολάκια 2 φορές την εβδομάδα συμπληρώνετε τη στήλη «1-2 φορές την εβδομάδα» με «Χ» και σημειώνετε «Α», «Β» ή «Γ» στη στήλη «*ΜΕΡΙΔΑ*» ανάλογα με το ποια φωτογραφία αντιστοιχεί στη μερίδα που συνήθως καταναλώνετε. Αν καταναλώνετε ποσότητα μεγαλύτερη από τη μερίδα «Γ» που φαίνεται στη φωτογραφία, χρησιμοποιείστε πολλαπλάσια των μερίδων που φαίνονται στις φωτογραφίες ή **συνδυασμό μεταξύ των φωτογραφιών**. Στη δεύτερη στήλη συμπληρώνετε για πόσους μήνες το χρόνο καταναλώνετε το αντίστοιχο τρόφιμο. Η στήλη αυτή υπάρχει μόνο στις περιπτώσεις που η κατανάλωση του τροφίμου μπορεί να αλλάζει ανάλογα με την εποχή.

ΠΡΟΣΟΧΗ στις περιπτώσεις που όταν καταναλώνετε ένα τρόφιμο συνηθίζετε να το καταναλώνετε τόσο στο μεσημεριανό όσο και στο βραδινό φαγητό (π.χ. όσπρια), μη ξεχνάτε να συμπληρώνετε διπλάσια συχνότητα κατανάλωσης ή διπλάσια μερίδα.

Σχήμα 15. *Παράδειγμα ερωτήσεων συμπλήρωσης του Ερωτηματολογίου Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων*

Β. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ

Β.1. Στοιχεία συνέντευξης

Κοινωνικά χαρακτηριστικά

Το μορφωτικό επίπεδο του πληθυσμού διακρίθηκε στις εξής κατηγορίες:

- Υποχρεωτική εκπαίδευση: θεωρήθηκε η εκπαίδευση που διήρκησε από 0 έως 9 χρόνια.
- Βασική εκπαίδευση: θεωρήθηκε η εκπαίδευση που διήρκησε από 9 έως 14 χρόνια.
- Πανεπιστήμιο.

Ατομικό ιατρικό και φαρμακευτικό ιστορικό

Από τα στοιχεία που συλλέχθηκαν καθορίστηκαν οι παράγοντες κινδύνου για τη στεφανιαία νόσο, τόσο για τους ασθενείς όσο και για τους μάρτυρες. Τα κριτήρια για τον καθορισμό αυτό είναι τα παρακάτω:

- Υπερχοληστερολαιμία: Αν τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης στο πλάσμα είναι >220 mg/dl ή αν είναι >200 mg/dl μαζί με άλλους 2 παράγοντες κινδύνου ή αν ακολουθείται σχετική θεραπευτική αγωγή (κριτήρια μελέτης CARDIO2000).
- Σακχαρώδης Διαβήτης: Αν τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας στο αίμα είναι >126 mg/dl ή >200 mg/dl σε τυχαία μέτρηση ή αν ακολουθείται σχετική θεραπευτική αγωγή ή ειδική δίαιτα (ADA).
- Υπέρταση: Αν η αρτηριακή πίεση είναι > 140/90 mmHg ή αν ακολουθείται αντιϋπερτασική αγωγή (Framingham).

Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης τροφίμων

Από το ερωτηματολόγιο αυτό, χρησιμοποιήθηκαν μόνο τα στοιχεία που αφορούσαν την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών. Αφού μελετήθηκε η συνολική κατανάλωση (σε μερίδες ανά ημέρα), τα φρούτα και τα λαχανικά κατηγοριοποιήθηκαν ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε βιταμίνη C, βιταμίνη E, β-καροτένιο και λυκοπένιο ανά 100 g προϊόντος (βλ. πίνακες Α.4 και Α.5, σελ. 39). Για το σκοπό αυτό, έγιναν οι εξής παραδοχές:

- Καλές πηγές βιταμίνης C θεωρήθηκαν τα τρόφιμα που περιέχουν >15mg/100g προϊόντος (ακτινίδια, μανταρίνια, πορτοκάλια, φράουλες, ροδάκινα, κολοκυθάκια, πιπεριές, ντομάτα, κουνουπίδι και λάχανο).
- Καλές πηγές βιταμίνης E θεωρήθηκαν τα τρόφιμα που περιέχουν >0.5mg/100g προϊόντος (μήλα, αβοκάντο, καρότα, μαρούλι, πιπεριά, σπανάκι, ντομάτα).
- Καλές πηγές β-καροτενίου θεωρήθηκαν τα τρόφιμα που περιέχουν >200μg/100g προϊόντος (βερίκοκα, καρπούζι, καρότα, κολοκυθάκια, λάχανο, μαρούλι, πιπεριά, σπανάκι, ντομάτα).
- Καλές πηγές λυκοπενίου θεωρήθηκαν τα τρόφιμα που περιέχουν >0.5mg/100g προϊόντος (καρπούζι, καρότα, ντομάτα).

Επίσης, στις περιπτώσεις που οι συμμετέχοντες σημείωναν εποχιακή κατανάλωση κάποιων φρούτων και λαχανικών, αυτή θεωρήθηκε ως εξής:

- 6 μήνες: μήλα, πορτοκάλια, αχλάδια και όλα τα λαχανικά (εκτός από το λάχανο).
- 4 μήνες: ακτινίδια, μανταρίνια, λάχανο.
- 3 μήνες: βερίκοκα, ροδάκινα, καρπούζι, πεπόνι.
- 2 μήνες: φράουλες, σύκα, κεράσια, σταφύλια, αβοκάντο.
- Η εποχιακή κατανάλωση της μπανάνας θεωρήθηκαν οι 12 μήνες.

Β.2. Καθορισμός γονοτύπου - Διαδικασία

✍ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ DNA

Η απομόνωση του DNA έγινε από λευκοκύτταρα ολικού αίματος με το Nucleospin Blood Kit. Τα βήματα της μεθόδου είναι τα ακόλουθα:

1. Μεταφορά 2ml αίματος σε falcons 15 ml
2. Προσθήκη 150ml πρωτεϊνάσης με πιπέτα 200μl
3. Προσθήκη 2ml BQ1 με σύριγγα
4. Vortex στις 3000 rpm για 4min
5. Τοποθέτηση των falcons σε υδατόλουτρο 56°C για 15 min
6. Vortex στις 3000 rpm για 4 min
7. Προσθήκη 2ml αιθανόλης με σύριγγα
8. Vortex στις 3000rpm για 4min
9. Πρώτη μεταφορά αίματος από τα falcons στα Nucleospin Blood Columns
10. Φυγοκέντρηση στις 4000rpm για 5min
11. Μεταφορά υπόλοιπου αίματος από τα falcons στα Nucleospin Blood Columns
12. Φυγοκέντρηση στις 4000rpm για 7min
13. Πετάμε το υποκείμενο αίμα
14. Προσθήκη 2ml BQ2 με σύριγγα
15. Φυγοκέντρηση στις 4000rpm για 5min
16. Προσθήκη 2ml BQ2 με σύριγγα
17. Φυγοκέντρηση στις 4000rpm για 15min
18. Μεταφορά φίλτρου σε νέα Nucleospin Blood Columns
19. Προσθήκη 200μl BE, με πιπέτα 200μl, το οποίο έχουμε προθερμάνει στο υδατόλουτρο στους 70°C
20. Τα αφήνουμε σε ηρεμία για 2min
21. Φυγοκέντρηση στις 4000rpm για 2min
22. Πέταγμα του φίλτρου
23. Μεταφορά του DNA με πιπέτα 200μl σε tubes

✍ ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ (POLYMERASE CHAIN REACTION, PCR)

Μετά την απομόνωση ακολούθησε εφαρμογή της μεθόδου PCR, η οποία χρησιμεύει στην εκλεκτική αντιγραφή κατά εκατομμύρια φορές ειδικών τμημάτων DNA. Η μέθοδος είναι εξαιρετικά ευαίσθητη και επιτρέπει τη γρήγορη ανάλυση περιοχών του DNA που περιέχονται σε ένα πολύ μικρό δείγμα. Πρόκειται για μία αντίδραση πολυμερισμού, η οποία μιμείται in vitro τον τρόπο με τον οποίο τα ένζυμα του πυρήνα (DNA πολυμεράσες) αντιγράφουν το DNA του κυττάρου. Η εφαρμογή της μεθόδου προϋποθέτει να είναι γνωστή η νουκλεοτιδική αλληλουχία που πρόκειται να πολλαπλασιαστεί. Η αλληλουχία αυτή χρησιμοποιείται για το σχεδιασμό δύο συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων, ενός συμπληρωματικού προς το 3΄άκρο της μιας αλυσίδας του DNA και ενός συμπληρωματικού προς το 3΄άκρο της άλλης αλυσίδας. Τα ολιγονουκλεοτίδια αυτά μήκους 20-30 βάσεων χρησιμοποιούνται ως πρωταρχικά τμήματα (εκκινητές-primers) για in vitro σύνθεση DNA και οριοθετούν τα άκρα του τελικού προϊόντος. Παρουσία περίσσειας των τεσσάρων τριφωσφορικών δεοξυριβονουκλεοτιδίων (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), ιόντων μαγνησίου και της κατάλληλης DNA πολυμεράσης επιτυγχάνεται η αντίδραση πολυμερισμού. Το ένζυμο που χρησιμοποιείται για τον πολυμερισμό είναι η Taq πολυμεράση, η οποία απομονώνεται από το θερμόφιλο βακτήριο Thermus aquaticus και είναι ανθεκτική στις υψηλές θερμοκρασίες. Η πολυμεράση αυτή παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ενεργότητα πολυμερισμού στους 72°C, ενώ παραμένει ενεργή σε θερμοκρασία μέχρι 95°C.

Η τεχνική της PCR περιλαμβάνει την κυκλική επανάληψη τριών αντιδράσεων:

1. Αποδιάταξη (template denaturation). Το δίκλωνο DNA αποδιατάσσεται σε μονόκλωνες αλυσίδες σε υψηλή θερμοκρασία (94-96°C).

2. Σύνδεση εκκινητών (primer annealing). Οι δύο εκκινητές συνδέονται με τις συμπληρωματικές προς αυτούς αλληλουχίες που βρίσκονται στις δύο αλυσίδες του DNA. Η σύνδεση αυτή πραγματοποιείται σε θερμοκρασία που εξαρτάται αποκλειστικά από την αλληλουχία των εκκινητών.

3. Επιμήκυνση (primer extension). Στο στάδιο αυτό γίνεται σύνθεση DNA με επιμήκυνση των εκκινητών κατά την 5΄-3΄κατεύθυνση, χρησιμοποιώντας τα νουκλεοτίδια που βρίσκονται στο διάλυμα και έχοντας ως καλούπι τις μονόκλωνες

αλυσίδες του DNA. Η αντίδραση πολυμερισμού καταλύεται από την Taq DNA πολυμεράση και πραγματοποιείται σε θερμοκρασία 72°C.

Οι νεοσυντιθέμενες αλυσίδες αποδιατάσσονται ξανά και οι μονόκλωνες αλυσίδες επανυβριδίζονται με τους εκκινητές και ο κύκλος αυτός επαναλαμβάνεται 25-35 φορές.

Το κύριο προϊόν της εκθετικής αυτής αντίδρασης είναι ένα δίκλωνο τμήμα DNA του οποίου τα άκρα ορίζονται από τα 5΄άκρα των εκκινητών και έχει μήκος ίσο με την απόσταση των εκκινητών. Για παράδειγμα 30 κύκλοι PCR δίνουν πολλαπλασιασμό της τάξης του εκατομμυρίου. Το προϊόν της PCR χρησιμοποιείται στη συνέχεια για τη μελέτη του τμήματος DNA που πολλαπλασιάστηκε.

Για την εφαρμογή της μεθόδου PCR χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα αντιδραστήρια:

❒ Εκκινητές

Οι αλληλουχίες των εκκινητών είναι οι ακόλουθες:

Αριστερός εκκινητής (Left Primer): **5'-TGA CTT CAG CTT TAC TCT TGT-3'**

Δεξιός εκκινητής (Right Primer): **5'-CTG ATT GGA AAC CTT AAT AAG-3'**

Οι συγκεντρώσεις των εκκινητών ήταν 12.5 pmol/μL. Τα διαλύματα των εκκινητών διατηρούνται σε θερμοκρασία -20°C.

❒ Taq πολυμεράση

Χρησιμοποιήθηκε η Taq πολυμεράση (Bioron) και είχε συγκέντρωση 5 U/ μl. Το αντιδραστήριο διατηρείται σε θερμοκρασία –20°C.

❒ PCR Buffer- $MgCL_2$ free

Η συγκέντρωσή του ήταν 10X και περιείχε: 670 mM Tris-HCL (pH 8,8), 160 mM $(NH_4)_2SO_4$, 0.1% Tween-20. Το αντιδραστήριο διατηρείται σε θερμοκρασία –20°C.

❒ Διάλυμα $MgCL_2$

Η συγκέντρωσή του ήταν 100 mM. Το αντιδραστήριο διατηρείται σε θερμοκρασία –20°C.

❒ Μίγμα Ολιγονουκλεοτιδίων (dNTP's)

Τα τέσσερα ολιγονουκλεοτίδια είχαν συγκέντρωση 100 mM το καθένα. Αναμίχθηκαν και μεταφέρθηκαν σε eppendorf. Το αντιδραστήριο διατηρείται σε θερμοκρασία –20°C.

❒ Απεσταγμένο και Αποστειρωμένο νερό

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την πραγματοποίηση της PCR είναι η ακόλουθη:

1. Αρχικά παρασκευάζεται το μίγμα των αντιδραστηρίων της PCR. Οι ποσότητες των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν φαίνονται στον πίνακα Γ.1. Τα αντιδραστήρια διατηρούνται σε πάγο σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Η ποσότητα από το κάθε αντιδραστήριο πολλαπλασιάζεται με τον αριθμό των δειγμάτων στα οποία θα γίνει PCR, συν 1 δείγμα για τυχόν απώλειες. Αφού παρασκευαστεί το μίγμα, αναδεύεται σε vortex και διατηρείται σε πάγο.

Πίνακας Γ.1. Μίγμα PCR για τον πολυμορφισμό IL-6 (-174 G/C)

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	**ΟΓΚΟΣ (μL)**
Taq πολυμεράση (5U/μL)	0.20
PCR Buffer- $MgCL_2$ free (10x)	1.25
$MgCI_2$ (100 mM)	0.25
dNTP's (100mM)	0.10
Primer L (12.5 pmol/μL)	0.40
Primer R (12.5 pmol/μL)	0.40
H_2O	9.50

2. Το μίγμα χωρίζεται σε αποστειρωμένα eppendorf των 0,2 ml όσα και τα δείγματα. Σε κάθε eppendorf τοποθετούνται 12,1 μl από το μίγμα με πιπέτα και με το ίδιο αποστειρωμένο tip για να μειωθούν οι απώλειες. Τα eppendorf με το μίγμα διατηρούνται στον πάγο.
3. Σε κάθε eppendorf προστίθενται 0,4 μl DNA από τα δείγματα. Ο συνολικός όγκος του μίγματος για την PCR είναι 12,5 μl.
4. Τα eppendorf τοποθετούνται στην φυγόκεντρο (έως 8000 rpm για λίγα δευτερόλεπτα – short spin) ώστε να αναμιχθεί το μίγμα με το DNA και να μην υπάρχουν φυσαλίδες.
5. Τα eppendorf μεταφέρονται σε θερμικό κυκλοποιητή (μηχάνημα PCR) και ακολουθείται το ακόλουθο πρόγραμμα[17 κυτταροκινών]:

   Βήμα 1ο: 94ºC για 10 min

   Βήμα 2ο: 94ºC για 1 min

   Βήμα 3ο: 55 ºC για 1 min: τα βήματα 2,3,4 x 35 φορές

   Βήμα 4ο: 72ºC για 1 min

   Βήμα 5ο: 72ºC για 10 min

   Βήμα 6ο: Αποθήκευση στους 4ºC

Έλεγχος επιτυχίας PCR

Ο έλεγχος της επιτυχίας της PCR γίνεται με ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της σε πήκτωμα αγαρόζης 1%. Η ηλεκτροφορητική κινητικότητα του DNA στηρίζεται στο γεγονός ότι σε ουδέτερο pH το DNA είναι αρνητικά φορτισμένο. Επομένως αν τοποθετηθούν τμήματα DNA στην κάθοδο (-), θα μετακινηθούν προς την άνοδο (+). Η ηλεκτροφορητική κινητικότητα του DNA κατά μήκος των πηκτωμάτων εξαρτάται κυρίως από το μοριακό μέγεθος του DNA και τη συγκέντρωση της αγαρόζης. Η ταχύτητα μετακίνησης του DNA είναι αντιστρόφως ανάλογη του μεγέθους των κλασμάτων DNA που ηλεκτροφορούνται και αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης του πηκτώματος. Σημειώνεται τέλος, ότι χρησιμοποιώντας πηκτώματα διαφορετικών συγκεντρώσεων μπορούμε να διαχωρίσουμε ένα μεγάλο εύρος μεγεθών DNA. Με συγκέντρωση 1% γίνεται διαχωρισμός γραμμικών τμημάτων DNA μήκους 0.1-3 Kb.

➢ *ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΠΗΚΤΩΜΑΤΟΣ ΑΓΑΡΟΖΗΣ 1%*

- Ζυγίζονται 0,5 gr αγαρόζης και τοποθετούνται σε κωνική φιάλη.
- Προσθήκη 50 ml διαλύματος TBE 0,5X (Tris Borate Acid).
- Ταχεία θέρμανση μερικών λεπτών σε φούρνο μικροκυμάτων μέχρι να διαλυθεί πλήρως η αγαρόζη.
- Αφού κρυώσει το διάλυμα προστίθενται 2μl διαλύματος βρωμιούχου αιθιδίου 10 mg/ml (EtBr) και αναδεύεται το διάλυμα.

Το βρωμιούχο αιθίδιο είναι μια φθορίζουσα χρωστική. Το μόριο του περιλαμβάνει έναν οριζόντιο δακτύλιο που έχει την ιδιότητα να παρεμβάλλεται μεταξύ των βάσεων του DNA, με αποτέλεσμα το DNA να φθορίζει όταν εκτεθεί σε υπεριώδη ακτινοβολία μήκους κύματος 302-366 nm. Το αντιδραστήριο αυτό είναι καρκινογόνο και η χρήση του απαιτεί μεγάλη προσοχή.

- Το διάλυμα χύνεται στο εκμαγείο της ηλεκτροφορητικής συσκευής, αφού πρώτα έχουν τοποθετηθεί σε αυτό «χτένες» ώστε να δημιουργηθούν «πηγάδια» καθώς πήζει το πήκτωμα της αγαρόζης.
- Το διάλυμα αφήνεται να πήξει (~20 min).
- Αφού δημιουργηθεί το πήκτωμα αγαρόζης, αφαιρούνται οι «χτένες» από αυτό και προστίθεται στο δοχείο της ηλεκτροφόρησης ρυθμιστικό διάλυμα TBE 0,5X

μέχρι την ένδειξη της ηλεκτροφορητικής συσκευής (fill line), ώστε να καλύπτεται πλήρως το πήκτωμα.

➢ *ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ*

- Σε parafilm τοποθετούνται 2 μl χρωστικής κυανούν της ξυλόλης.
- Μεταφέρονται 4 μl του προϊόντος PCR από κάθε δείγμα και τοποθετείται 5 μl «μάρτυρα» (DNA ladder 100bp). Το υπόλοιπο προϊόν της PCR διατηρείται στους 4 ^{o}C, ενώ ο μάρτυρας διατηρείται στους -20 ^{o}C
- Αναμιγνύεται η χρωστική με το προϊόν της PCR και το μάρτυρα.
- Στη συνέχεια, μεταφέρεται κάθε δείγμα με τη χρωστική σε ένα από τα «πηγάδια» του πηκτώματος, ενώ σε ένα από τα πηγάδια μεταφέρεται ο «μάρτυρας».

➢ *ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΤΟΥ ΠΗΚΤΩΜΑΤΟΣ*

- Η ηλεκτροφόρηση γίνεται στα 120 V για περίπου 20 λεπτά.
- Μετά το τέλος της ηλεκτροφόρησης, το πήκτωμα παρατηρείται στο υπεριώδες. Σε κάθε δείγμα φαίνεται μια ζώνη DNA, η οποία αντιπροσωπεύει το κομμάτι του DNA που πολλαπλασιάστηκε από την PCR. Το μήκος του κομματιού ελέγχεται σε σύγκριση με τον «μάρτυρα»
- Για τον συγκεκριμένο πολυμορφισμό, το μήκος του κομματιού (PCR product) είναι 198bp (=base pairs, ζεύγη βάσεων).

✍ ΠΕΨΗ ΜΕ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΗ ΕΝΔΟΝΟΥΚΛΕΑΣΗ

Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες είναι ένζυμα που παράγονται από βακτήρια. Λέγονται ενδονουκλεάσες γιατί κόβουν το DNA στο εσωτερικό του μορίου και όχι στα άκρα, ενώ λέγονται περιοριστικές επειδή η δραστικότητά τους περιορίζεται σε ''ξένο'' DNA. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες αναγνωρίζουν ειδικές δίκλωνες αλληλουχίες DNA και κόβουν το μόριο μέσα ή κοντά στην αλληλουχία αναγνώρισης. Οι αλληλουχίες αναγνώρισης έχουν συνήθως μήκος 4-8 νουκλεοτίδια και συχνά είναι παλίνδρομες («διαβάζονται» το ίδιο και από τις δύο κατευθύνσεις 5'-3' και 3'-5' του DNA).

Τα τμήματα DNA που παράγονται από την πέψη με μια περιοριστική ενδονουκλεάση έχουν πάντα τα ίδια άκρα, είτε αυτά είναι προεξέχοντα (sticky ends), είτε όχι (blunt ends). Η συχνότητα και η θέση ανεύρεσης των αλληλουχιών αναγνώρισης οποιασδήποτε περιοριστικής ενδονουκλεάσης μέσα σε ένα μόριο DNA, εξαρτάται από την ακριβή αλληλουχία του δείγματος που εξετάζεται. Οι ιδιότητες των περιοριστικών ενδονουκλεασών μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την χαρτογράφηση ενός συγκεκριμένου μορίου DNA με βάση τον εντοπισμό των θέσεων αναγνώρισης, αλλά και στην διαδικασία σύνδεσης τμημάτων DNA που περιέχουν τα ίδια προεξέχοντα άκρα ακόμη και αν αυτά προέρχονται από διαφορετικά δείγματα.

Τα περιοριστικά ένζυμα ποικίλουν ως προς τις συνθήκες άριστης δράσης τους. Οι παραλλαγές αυτές αναφέρονται στη θερμοκρασία επώασης και στη σύσταση του διαλύματος επώασης. Η επιλογή της κατάλληλης θερμοκρασίας είναι αυστηρή, ενώ οι διαφορές στη σύσταση των διαλυμάτων επώασης είναι μικρές. Τα ρυθμιστικά διαλύματα μέσα στα οποία γίνεται η αντίδραση της επώασης περιέχουν συνήθως Mg^{+2} που λειτουργεί ως συμπαράγοντας του ενζύμου, καθώς και Na^{+}. Τα συστατικά των διαλυμάτων επώασης πρέπει να είναι καθαρά και απαλλαγμένα από νουκλεάσες. Οι σουλφιδριλικοί παράγοντες (β-μερκαπτοαιθανόλη, DTT κ.ά.) που προστίθενται αποσκοπούν στην αναστολή των νουκλεασών που ενδεχομένως συνυπάρχουν. Η προσθήκη BSA (αλβουμίνη ορού βοός) στην αντίδραση επώασης προφυλάσσει το ένζυμο από πρωτεάσες και άλλους παράγοντες, ωστόσο η προσθήκη ή όχι BSA καθορίζεται από το ένζυμο. Το DNA που χρησιμοποιείται πρέπει να είναι απαλλαγμένο από προσμίξεις (όπως EDTA, SDS, φαινόλη, βρωμιούχο αιθίδιο) που μπορεί να παρεμποδίζουν τη δραστικότητα του ενζύμου.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το ένζυμο LweI που έχει χρησιμοποιηθεί ξανά και η αλληλουχία αναγνώρισής του είναι γνωστή[10 κυτταροκινών]. Επίσης, χρησιμοποιήθηκε το ρυθμιστικό διάλυμα (buffer solution) Y^+Tango και απεσταγμένο νερό.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την πραγματοποίηση της πέψης έχει ως εξής:

1. Αρχικά παρασκευάζεται το μίγμα αντιδραστηρίων της πέψης. Οι ποσότητες των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν φαίνονται στον πίνακα Γ.2. Τα αντιδραστήρια διατηρούνται σε πάγο σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Η ποσότητα από το κάθε αντιδραστήριο πολλαπλασιάζεται με τον αριθμό των δειγμάτων στα οποία θα γίνει πέψη, συν 2 δείγματα για τυχόν απώλειες. Αφού παρασκευαστεί το μίγμα αναδεύεται σε vortex και διατηρείται σε πάγο.

Πίνακας Γ.2. Μίγμα αντιδραστηρίων για την πέψη

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	**ΟΓΚΟΣ (μL)**
Ένζυμο LweI (4 units)	0.25
Buffer Y^+Tango (10X)	1
H_2O	3.75

2. Το μίγμα χωρίζεται σε μη αποστειρωμένα eppendorf του 1,5 ml όσα και τα δείγματα. Σε κάθε eppendorf μεταφέρονται 5 μl από το μίγμα με πιπέτα και το ίδιο tip για να μειωθούν οι απώλειες. Τα eppendorf με το μίγμα της πέψης διατηρούνται σε πάγο.
3. Στα eppendorf προστίθενται 5 μl από το προϊόν της PCR κάθε δείγματος. Ο συνολικός όγκος μίγματος για την πέψη είναι 10 μl.
4. Τα eppendorf τοποθετούνται σε εκκολαπτικό θάλαμο στους 37 oC για 12 ώρες.

Έλεγχος του προϊόντος της πέψης

Ο έλεγχος του προϊόντος της πέψης γίνεται με ηλεκτροφόρησή του σε πήκτωμα αγαρόζης 2%.

➢ *ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΠΗΚΤΩΜΑΤΟΣ ΑΓΑΡΟΖΗΣ 2%*

Ακολουθείται ακριβώς η ίδια διαδικασία με την προετοιμασία πηκτώματος αγαρόζης 2% για τον έλεγχο επιτυχίας της PCR, όπως αυτή περιγράφεται στην αντίστοιχη ενότητα. Οι μόνες διαφοροποιήσεις είναι:

- Ζυγίζεται 1 gr αγαρόζης και τοποθετούνται στην κωνική φιάλη.
- Το διάλυμα αφήνεται να πήξει για ~20 min.

➢ *ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ*

- Αφού αποσυρθούν τα eppendorf με το προϊόν της πέψης από τους 37 ^{o}C μετά το πέρας των 12 ωρών, προστίθενται στο καθένα 5 μl χρωστικής κυανούν της ξυλόλης. Σε καθαρό eppendorf τοποθετείται 1 μl μάρτυρα (DNA ladder 100bp) και 5 μl χρωστικής.
- Ακολουθεί φυγοκέντρηση (short spin) για την ανάμιξη του προϊόντος της πέψης με τη χρωστική και του μάρτυρα με την χρωστική.
- Στη συνέχεια, μεταφέρεται κάθε δείγμα με τη χρωστική σε ένα από τα «πηγάδια» του πηκτώματος, ενώ σε ένα από τα πηγάδια μεταφέρεται ο «μάρτυρας».

➢ *ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΤΟΥ ΠΗΚΤΩΜΑΤΟΣ*

- Η ηλεκτροφόρηση γίνεται στα 120 V για περίπου 40 λεπτά.
- Μετά το τέλος της ηλεκτροφόρησης, το πήκτωμα παρατηρείται στο υπεριώδες. Σε κάθε δείγμα φαίνονται ζώνες ανάλογα με την ύπαρξη ή όχι του πολυμορφισμού στο ένα ή και στα δύο αλληλόμορφα. Τα κομμάτια DNA που αντιστοιχούν στις ζώνες συγκρίνονται με τον «μάρτυρα» και γίνεται διάγνωση του γονότυπου για τον συγκεκριμένο πολυμορφισμό σε κάθε δείγμα.

  Ειδικότερα, για τον γονότυπο CC θα παρατηρηθεί προϊόν 198bp, για τον GG θα είναι 140, 58bp και τέλος, για τον GC θα είναι 198, 140, 58bp.

ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

➢ *Tris Borate Acid 5x (TBE 5x)*

- 54gr Tris Base.
- 27,5gr Boric Acid.
- 20ml EDTA 0,5M.
- Προσθήκη ~800ml απεσταγμένου νερού.
- Ανάδευση.
- Έλεγχος και ρύθμιση pH στο 8,3.
- Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι Vτελ=1lt.

➢ *Tris Borate Acid 1x (TBE 1x)*

- 200ml TBE 5x.
- Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι Vτελ=1lt.
- Ανάδευση.

➢ *EDTA 0,5M*

- 186,1gr EDTA2H_2O.
- Προσθήκη ~700ml απεσταγμένου νερού.
- Ρύθμιση pH με προσθήκη NaOH (pellets) υπό ανάδευση στο 8.
- Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι Vτελ=1lt.

➢ *Βρωμιούχο αιθίδιο (10mg/ml)*

- 10mg EtBr.
- 1ml αποστειρωμένο νερό.
- Ανάδευση σε Vortex.
- Φύλαξη στους 4°C.

➢ *Tris-EDTA (TE)*

- 0,61gr Tris Base 10Mm.
- 1ml EDTA 0,05M.
- Προσθήκη ≈ 400ml απεσταγμένο νερό.
- Ανάδευση.
- Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι Vτελ=500ml.
- Έλεγχος και ρύθμιση pH στο 7,4.
- Αποστείρωση.

✍ **ΥΛΙΚΑ**

Πλαστικά- Γυαλικά

Τα πλαστικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι: πλαστικά σωληνάκια Falcon των 15ml, πλαστικές πιπέτες μιας χρήσης των 5 ml, ακροφύσια (Greiner) των 2 μl, 100μl, 1000μl, σωληνάκια Eppendorf των 1,5 ml,0,5 ml και 0,2 ml.

Τα γυαλικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι: ποτήρια ζέσεως, κωνική φιάλη των 200 ml ογκομετρικοί κύλινδροι 25ml, 50ml, 100ml, 500ml, μπουκάλια Boro των 50ml, 100ml, 500ml, 1000ml.

Μηχανήματα

Τα μηχανήματα που χρησιμοποιήθηκαν είναι: φυγόκεντρος Eppendorf centrifuge 5810R, υδατόλουτρο Memert, roller (Stuart Scientific Rollers SRTI), μηχάνημα PCR Primus 96 plus-NWGAGBIOTECH, αναδευτήρας Nuova-stir plate, vortex IKA minishaker MSI, pHμετρο microprocessor pHmeter, WTW pH 537, ζυγαριά ακριβείας Gibertini , συσκευή ηλεκτροφόρησης, αυτόματες πιπέτες Gilson 2μl, 20μl, 100μl, 200μl, 1000μl, τροφοδοτικό ηλεκτροφόρησης, θάλαμος UV.

Β.3. Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πακέτο SPSS 11.5 για Windows. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται στους πίνακες των αποτελεσμάτων σαν μέσες τιμές ± μια τυπική απόκλιση, ενώ οι κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται σαν απόλυτες τιμές (ποσοστό % επί του συνόλου του δείγματος).

Ο έλεγχος για διαφορές στις μέσες τιμές ή στον επιπολασμό παραγόντων κινδύνου για στεφανιαία νόσο μεταξύ των 4 φαινοτύπων έγινε με την ανάλυση διακύμανσης ANOVA.

Όλοι οι στατιστικοί έλεγχοι ήταν αμφίπλευροι και επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το 5%.

Α. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Η μελέτη αυτή περιέλαβε 80 ασθενείς με στεφανιαία νόσο και 27 υγιείς μάρτυρες. Από τα 107 άτομα που πήραν μέρος οι 92 (86%) ήταν άνδρες, ηλικίας 59 ± 10 ετών, και οι 15 (14%) ήταν γυναίκες, ηλικίας 68 ± 12 ετών. Στον πίνακα Δ.1. παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά του πληθυσμού, ο οποίος έχει κατηγοριοποιηθεί με βάση το φύλο. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες (ασθενείς-μάρτυρες) στην ηλικία (p=0.96), την εκπαίδευση (p=0.64), την υπερχοληστερολαιμία (p=0.57), τον Δείκτη Μάζας Σώματος (p=0.54), το οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου (p=0.29) και την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών (p=0.75 και p=0.90 αντίστοιχα).

Πίνακας Δ.1. Χαρακτηριστικά του πληθυσμού, ανά φύλο.

Χαρακτηριστικά	**Ασθενείς με ΣΝ (coronary patients)**		**Μάρτυρες (controls)**		**P-value**
	Άνδρες	**Γυναίκες**	**Άνδρες**	**Γυναίκες**	
Αριθμός συμμετεχόντων (N, %)	75 (94%)	5 (6%)	17 (63%)	10 (37%)	***<0.01***
Ηλικία (έτη)	59.1 ± 9	73 ± 12	57.6 ± 11	64.7 ± 12	0.96
Εκπαίδευση (N, %)					0.64
Υποχρεωτική (0-9 ετών εκπαίδευσης)	37 (49%)	3 (4%)	6 (24%)	5 (20%)	
Βασική (10-14 ετών εκπαίδευσης)	14 (19%)	1 (1%)	2 (8%)	3 (12%)	
Πανεπιστήμιο	19 (25%)	1 (1%)	8 (32%)	1 (4%)	
Κάπνισμα (N, %)	35 (45%)	3 (4%)	7 (28%)	1 (4%)	***0.03***
Υπέρταση (N, %)	44 (56%)	5 (6.4%)	6 (24%)	3 (12%)	***0.01***
Υπερχοληστερολαιμία (N, %)	42 (54%)	3 (4%)	11 (44%)	5 (20%)	0.57
Σακχαρώδης Διαβήτης (N, %)	26 (33%)	1 (1%)	1 (4%)	1 (4%)	***0.01***
ΔΜΣ (N, %)					0.54
18.5<ΔΜΣ<25	15 (24%)	2 (3%)	2 (9%)	2 (9%)	
25<ΔΜΣ<30	29 (47%)	1 (1%)	7 (32%)	3 (14%)	
ΔΜΣ>30	14 (23%)	0 (0%)	4 (18%)	4 (18%)	
Οικογενειακό ιστορικό ΣΝ (N, %)	18 (25%)	1 (1%)	3 (12%)	1 (4%)	0.29
Κατανάλωση φρούτων (μερίδες/ ημέρα)	2.7 ± 2	3.7 ± 3	2.3 ± 2	3.6 ± 2	0.75
Κατανάλωση λαχανικών (μερίδες/ ημέρα)	3.9 ± 3	3.6 ± 2	3.3 ± 2	5.4 ± 2	0.90

Β. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ PCR και ΠΕΨΗΣ

Β.1. Αποτελέσματα PCR

Η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης πραγματοποιήθηκε για 107 άτομα. Ο έλεγχος για την επιτυχία της PCR έγινε με ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της αντίδρασης σε πήκτωμα αγαρόζης, όπως περιγράφεται στο Μέρος Γ' (σελ. 63).

Το προϊόν της αντίδρασης έδινε ζώνη μεγέθους 198bp, όπως προκύπτει από τη σύγκριση με μάρτυρα γνωστού Μοριακού Βάρους (100bp Ladder).

Β.2. Αποτελέσματα πέψης

Η αλληλουχία αναγνώρισης για το ένζυμο LweI, υπάρχει στο γονίδιο της IL-6 μόνο απουσία του πολυμορφισμού IL-6 -174G/C. Μετά την ηλεκτροφόρηση του πηκτώματος αγαρόζης (*Μέρος Γ' Μεθοδολογία, σελ.68*) έγινε παρατήρησή του στο υπεριώδες.

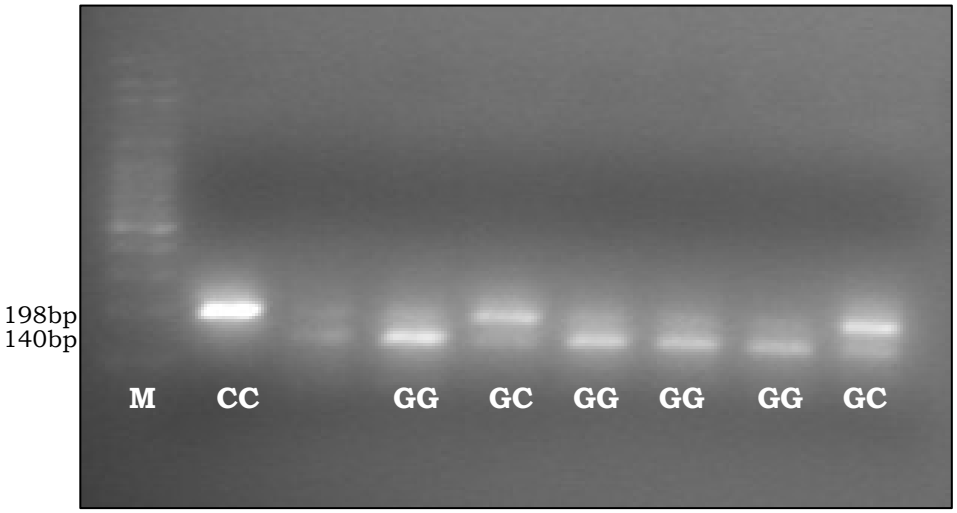
Στα δείγματα DNA που δεν έφεραν τον πολυμορφισμό, το ένζυμο εντόπισε την αλληλουχία αναγνώρισης και στα δύο αλληλόμορφα και προκύπτουν 2 ζώνες, που αντιστοιχούν σε κομμάτια DNA ίσα με 140bp και 58bp. Λόγω του μικρού μεγέθους του τμήματος των 58bp στο πήκτωμα παρατηρούμε μία μόνο ζώνη που αντιστοιχεί σε κομμάτι DNA ίσο με 140bp. Τα άτομα αυτά χαρακτηρίστηκαν GG, δηλαδή ομόζυγα φυσιολογικά.

Στα δείγματα DNA που έφεραν τον πολυμορφισμό μόνο στο ένα αλληλόμορφο, το ένζυμο εντόπισε μία αλληλουχία αναγνώρισης (στο φυσιολογικό αλληλόμορφο) και στο πήκτωμα παρατηρήθηκαν δύο ζώνες, που αντιστοιχούσαν σε κομμάτια DNA ίσα με 198bp και 140bp .Τη ζώνη που αντιστοιχεί στο κομμάτι του DNA ίσο με 58bp, η οποία φυσιολογικά προκύπτει, εξακολουθούμε να μην τη βλέπουμε. Τα άτομα αυτά χαρακτηρίστηκαν GC, δηλαδή ετερόζυγα για τον πολυμορφισμό.

Στα δείγματα DNA που έφεραν τον πολυμορφισμό και στα δύο αλληλόμορφα, το ένζυμο δεν εντόπισε την αλληλουχία αναγνώρισης και στο πήκτωμα παρατηρήθηκε μόνο μια ζώνη που αντιστοιχούσε σε κομμάτι DNA ίσο με 198bp. Τα άτομα αυτά χαρακτηρίστηκαν CC, δηλαδή ομόζυγα για τον πολυμορφισμό.

Από τα 107 δείγματα με επιτυχημένη PCR, επιτυχή πέψη είχαν τα **107** δείγματα. Από αυτά τα 53 (49.5%) ήταν GG, τα 49 (45.7%) ήταν GC και 5 (0.05%) ήταν CC.

Πήκτωμα ελέγχου της πέψης φαίνεται στο σχήμα 16. Με M συμβολίζεται ο μάρτυρας γνωστού μοριακού βάρους (100 bp).



Σχήμα 16. *Δείγμα αποτελεσμάτων πέψης σε πήκτωμα αγαρόζης 2%, όπου φαίνονται και οι τρεις γονότυποι.. M: Ladder 100bp*

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΓΟΝΟΤΥΠΟ

Εξαιτίας της χαμηλής συχνότητας του γονότυπου CC (0.05%), οι ασθενείς ενοποιήθηκαν σε αυτούς που είναι GG-ομοζυγώτες (ο πιο συχνός γονότυπος στο δείγμα των ασθενών) και στους υπόλοιπους (GC/CC). Στον πίνακα Δ.2. παρουσιάζεται η συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού σε άνδρες και γυναίκες του δείγματος. Δεν παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο φύλων (p-value=0.80).

Πίνακας Δ.2. Συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού IL-6 -174G/C στο δείγμα, ανά φύλο.

Γονότυπος	**Φύλο**		**P-value**
	Άνδρες	**Γυναίκες**	
GG (N, %)	45 (43%)	8 (8%)	0.80
GC/CC (N, %)	44 (42%)	7 (7%)	

Βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού ανάμεσα σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο και υγιείς μάρτυρες (p-value=0.05). Ο πίνακας Δ.3. παρουσιάζει την συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού στις δύο ομάδες του δείγματος.

Πίνακας Δ.3. Συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού IL-6 -174G/C στις ομάδες του δείγματος.

Γονότυπος	**Ασθενείς με ΣΝ**	**Μάρτυρες**	**P-value**
GG (N, %)	36 (35%)	17 (16%)	***0.05***
GC/CC (N, %)	43 (41%)	8 (8%)	
G Αλληλόμορφο (N, %)	114 (74%)	41 (26%)	
C Αλληλόμορφο (N, %)	50 (85%)	9 (15%)	

Στον επόμενο πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας όπου μελετήθηκε η σχέση της συχνότητας εμφάνισης του πολυμορφισμού με τους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου.

Πίνακας Δ.4. Παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση στεφανιαίας νόσου σε σχέση με τη συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού IL-6 -174G/C

Παράγοντες κινδύνου	**GG**	**GC/CC**	**P-value**
Αριθμός συμμετεχόντων (N, %)	53 (51%)	51 (49%)	
Κάπνισμα (N, %)	27 (17%)	17 (17%)	0.18
Υπέρταση (N, %)	28 (28%)	28 (28%)	1.00
Υπερχοληστερολαιμία (N, %)	29 (29%)	29 (29%)	1.00
Σακχαρώδης Διαβήτης (N, %)	17 (17%)	12 (12%)	0.30
ΔΜΣ (N, %)			0.63
18.5<ΔΜΣ<25	10 (12%)	11 (13%)	
25<ΔΜΣ<30	19 (23%)	19 (23%)	
ΔΜΣ>30	13 (16%)	9 (11%)	
Οικογενειακό ιστορικό ΣΝ (N, %)	3 (12%)	1 (4%)	0.69

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους γονότυπους και τους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου.

Μετά την παραπάνω επεξεργασία, ο πληθυσμός της μελέτης χωρίστηκε στις εξής ομάδες:

1. Ασθενείς με στεφανιαία νόσο και το γονότυπο GG
2. Ασθενείς με στεφανιαία νόσο και το γονότυπο GC/CC
3. Μάρτυρες (control) με το γονότυπο GG
4. Μάρτυρες (control) με το γονότυπο GC/CC

Σε αυτές τις ομάδες έγινε διερεύνηση των κλασσικών παραγόντων κινδύνου (τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα Δ.5.), επιπέδων λιπιδίων και γλυκόζης αίματος (πίνακας Δ.6.) και κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών γενικά, και στη συνέχεια κατανάλωση φρούτων και λαχανικών πλούσιων σε αντιοξειδωτικά συστατικά, όπως είναι η βιταμίνη C, η βιταμίνη E, το β-καροτένιο και το λυκοπένιο (πίνακας Δ.7.).

Πίνακας Δ.5. Παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση στεφανιαίας νόσου σε σχέση με τις ομάδες του δείγματος.

Χαρακτηριστικά	**Ασθενείς με ΣΝ (coronary patients)**		**Μάρτυρες (controls)**		**P-value**
	GG	**GC/CC**	**GG**	**GC/CC**	
Αριθμός συμμετεχόντων (N, %)	36 (35%)	43 (41%)	17 (16%)	8 (8%)	
Κάπνισμα (N, %)	20 (19%)	7 (7%)	16 (15%)	1 (1%)	0.09
Υπέρταση (N, %)	23 (22%)	5 (5%)	25 (24%)	3 (3%)	0.12
Υπερχοληστερολαιμία (N, %)	20 (19%)	9 (9%)	23 (22%)	6 (6%)	0.50
Σακχαρώδης Διαβήτης (N, %)	15 (14%)	2 (2%)	12 (11%)	0 (0%)	***0.04***
ΔΜΣ (N, %)					0.85
18.5<ΔΜΣ<25	8 (9%)	2 (2%)	9 (11%)	2 (2%)	
25<ΔΜΣ<30	14 (17%)	5 (6%)	15 (18%)	4 (5%)	
ΔΜΣ>30	7 (8.3%)	6 (7%)	7 (8%)	2 (2%)	
Οικογενειακό ιστορικό ΣΝ (N, %)	11 (11%)	3 (3%)	8 (8%)	1 (1%)	0.55

Μόνο στον Σακχαρώδη Διαβήτη από τους παράγοντες κινδύνου φαίνεται να υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στις 4 ομάδες. Για το λόγο αυτό έγινε διερεύνηση ανά 2 ομάδες, όπου βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ύπαρξη σακχαρώδους διαβήτη ανάμεσα στις ομάδες ασθενών με στεφανιαία νόσο και γονότυπο GG (15, 29%) και στους μάρτυρες με τον ίδιο γονότυπο (2, 4%) (p=0.03).

Πίνακας Δ.6. Σύγκριση επιπέδων λιπιδίων και γλυκόζης αίματος ανάμεσα στις ομάδες του δείγματος.

Βιοχημικοί δείκτες (mg/dl)	**Ασθενείς με ΣΝ (coronary patients)**		**Μάρτυρες (controls)**		**P-value**
	GG	**GC/CC**	**GG**	**GC/CC**	
Αριθμός συμμετεχόντων (N, %)	36 (35%)	43 (41%)	17 (16%)	8 (8%)	
Γλυκόζη (νηστείας)	110.9 ± 32	96.2 ± 14	112.8 ± 36	92.5 ± 16	0.34
Ολική χοληστερόλη	202.4 ± 63	201.1 ± 41	199.7 ± 44	198.5 ± 61	0.99
LDL χοληστερόλη	131.4 ± 50	129 ± 29	126.4 ± 39	130.2 ± 51	0.99
HDL χοληστερόλη	46.5 ± 30	49.4 ± 15	40.6 ± 10	37.2 ± 8	0.13
Τριγλυκερίδια	153 ± 158	112.2 ± 33	164.8 ± 79	162.5 ± 61	***0.04***

Στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων αίματος φαίνεται να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες. Στη συνέχεια, έγινε ο έλεγχος Mann-

Whitney ανά 2 ομάδες, τα αποτελέσματα του οποίου έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά στις παρακάτω ομάδες:

- Ασθενείς με στεφανιαία νόσο με το γονότυπο GC/CC και μάρτυρες με το γονότυπο GG (p=0.01).
- Ασθενείς με στεφανιαία νόσο με το γονότυπο GC/CC και μάρτυρες με τον ίδιο γονότυπο (p=0.04). Πρέπει να σημειωθεί εδώ ότι σε αυτή την ομάδα, το σύνολο των ασθενών ήταν πολύ μικρό (19, 17%).

Πίνακας Δ.7. Διατροφικά στοιχεία στις ομάδες του δείγματος

Διατροφικά στοιχεία (μερίδες/ ημέρα)	**Ασθενείς με ΣΝ (coronary patients)**		**Μάρτυρες (controls)**		**P-value**
	GG	**GC/CC**	**GG**	**GC/CC**	
Αριθμός συμμετεχόντων (N, %)	36 (35%)	43 (41%)	17 (16%)	8 (8%)	
Κατανάλωση φρούτων	2.6 ± 2	2 ± 1	3.3 ± 2	3.7 ± 3	0.41
Κατανάλωση λαχανικών	3.2 ± 2	3.5 ± 3	4.8 ± 3	4.4 ± 2	0.14
Βιταμίνη C*	2.7 ± 2	2.5 ± 2	3 ± 2	3.6 ± 1	0.12
Βιταμίνη E*	1.9 ± 2	2.6 ± 3	3 ± 2	2.2 ± 1	0.21
β-καροτένιο*	1.9 ± 1	2.6 ± 3	3.2 ± 2	2.9 ± 1	*0.08*
Λυκοπένιο*	1.2 ± 1	1.4 ± 1	1.6 ± 1	1.8 ± 1	0.41

**Φρούτα και λαχανικά που είναι πλούσια σε αυτά τα συστατικά (βλ. Μέρος Γ' Μεθοδολογία, σελ.59)*

Μετά από την πραγματοποίηση του ελέγχου Mann-Whitney ανά 2 ομάδες για το β-καροτένιο, βρέθηκε ότι η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών πλούσιων σε β-καροτένιο έχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στην ομάδα των ασθενών με γονότυπο GG και στην ομάδα των ασθενών με GC/CC γονότυπο (p=0.02).

Α. ΟΜΑΔΕΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

Η μελέτη αυτή περιελάμβανε δείγμα από Έλληνες ασθενείς που είχαν νοσηλευτεί στην Α' Καρδιολογική Κλινική του Ωνάσειου Καρδιοχειρουργικού Κέντρου την περίοδο από τον Ιανουάριο έως το Σεπτέμβριο του 2005. Στην μελέτη έλαβαν μέρος 80 ασθενείς με στεφανιαία νόσο και 27 υγιείς μάρτυρες. Από το σύνολο των 107 ατόμων, τα 92 (86%) ήταν άνδρες, ηλικίας 59 ± 10 ετών, και τα 15 (14%) ήταν γυναίκες, ηλικίας 68 ± 12 ετών. Στην ομάδα των ασθενών με στεφανιαία νόσο συμπεριλήφθησαν άτομα με πρώτη διάγνωση της νόσου μετά από έλεγχο με στεφανιογραφία ή άτομα που εμφάνισαν πρώτο έμφραγμα μυοκαρδίου (είτε με ανάσπαση του τμήματος ST είτε χωρίς) εντός του τελευταίου μήνα. Στην ομάδα των μαρτύρων συμπεριλήφθησαν άτομα τα οποία μετά από στεφανιογραφικό έλεγχο παρουσίαζαν στενώσεις <30%.

Στις ομάδες αυτές έγινε διερεύνηση των κλασσικών παραγόντων κινδύνου για εμφάνιση στεφανιαίας νόσου, όπως είναι το κάπνισμα, η υπέρταση, η υπερλιπιδαιμία, ο σακχαρώδης διαβήτης, ο δείκτης μάζας σώματος και το οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, ανά φύλο. Τα αποτελέσματα από αυτόν τον έλεγχο έδειξαν ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες του δείγματος για το κάπνισμα ($p=0.03$), την υπέρταση ($p=0.01$) και τον σακχαρώδη διαβήτη ($p=0.01$), με μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης στην ομάδα των ασθενών, και συμφωνούν με άλλες μελέτες που έχουν γίνει στον ελληνικό πληθυσμό[5,26]. Δεν βρέθηκε όμως στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες σε άλλους παράγοντες κινδύνου, όπως είναι η υπερχοληστερολαιμία ($p=0.57$), ο δείκτης μάζας σώματος ($p=0.54$) και το οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου ($p=0.29$), παρόλο που υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν το αντίθετο[7,8].

Επίσης, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες όσον αφορά στο μορφωτικό επίπεδο των συμμετεχόντων ($p=0.64$). Αυτός είναι ένας σχετικά καινούριος παράγοντας που μελετήθηκε στον πληθυσμό της μελέτης CARDIO2000 (*Παναγιωτάκος και συν., 2002*) μαζί με άλλους, δευτερεύοντες, παράγοντες κινδύνου, όπως είναι το παθητικό κάπνισμα, η κατάθλιψη και η κατανάλωση αλκοόλ, και φάνηκε να σχετίζεται στην αιτιολογία της στεφανιαίας νόσου[26].

Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι το μεγαλύτερο μέρος του δείγματος αποτελούνταν από άνδρες (86%), ενώ ο αριθμός τους ήταν πολύ μεγαλύτερος στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο (94%), όπως φαίνεται και από τον πίνακα Δ.1. Το εύρημα αυτό συμφωνεί με την Τρίτη έκδοση του NCEP (2001)[17].

Επιπλέον, παρόλο που δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις ηλικίες των δυο ομάδων, εντούτοις παρατηρούμε από τον πίνακα Δ.1. ότι οι γυναίκες ασθενείς με στεφανιαία νόσο είναι περίπου 10 χρόνια μεγαλύτερες (73 ± 12 έτη) από τους άντρες της ίδιας ομάδας (59.1 ± 9 έτη). Αυτό το αποτέλεσμα δικαιολογείται από το γεγονός ότι οι περισσότερες περιπτώσεις καρδιαγγειακών νοσημάτων στις γυναίκες εμφανίζονται μετά την εμμηνόπαυση, δηλαδή μετά την ηλικία των 65 ετών[17].

Όσον αφορά στην κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες (p=075 και p=090 αντίστοιχα). Λαμβάνοντας όμως υπόψη τη σύσταση της μεσογειακής διατροφής για αυτές τις ομάδες τροφίμων (βλ. *σχήμα 10. Παραδοσιακή Μεσογειακή Πυραμίδα*) που είναι πάνω από 1.5 μερίδα την ημέρα για τα φρούτα και πάνω από 3 μερίδες την ημέρα για τα λαχανικά, παρατηρούμε από τον πίνακα Δ.1. ότι αυτές οι ποσότητες καταναλώνονται τόσο από τους ασθενείς με στεφανιαία νόσο όσο και από τους μάρτυρες.

Β. ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ IL-6 -174G/C

Η IL-6 είναι μια πλειοτροπική κυτοκίνη (εμφανίζει διαφορετικές βιολογικές δράσεις σε διαφορετικά κύτταρα και ιστούς) που εκκρίνεται από πολλούς διαφορετικούς τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των ενεργοποιημένων μακροφάγων και λεμφοκυττάρων, στην απόκριση οξείας φάσης κατά τη διάρκεια μιας φλεγμονής. Μέσω αυτής της διαδικασίας (που έχει περιγραφεί αναλυτικά στο *Μέρος Α', Κεφάλαιο 2: Παθογένεια της νόσου*) διεγείρει την ηπατική σύνθεση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP). Η κυκλοφορούσα CRP δεσμεύεται σε μεμβράνες και πρωτεΐνες που έχουν υποστεί βλάβη και βοηθά στην αποσταθεροποίηση της αθηρωματικής πλάκας[87].

Στην συγκεκριμένη μελέτη διερευνήθηκε ο πολυμορφισμός -174G/C που εντοπίζεται στην αλληλουχία του υποκινητή του γονιδίου της IL-6 σε συνάρτηση με την παρουσία ή όχι στεφανιαίας νόσου.

Μελετώντας προσεκτικά τη βιβλιογραφία, οι ερευνητές καταλήγουν σε αντιφατικά συμπεράσματα όσον αφορά στο ποιο αλληλόμορφο σχετίζεται με παθολογικές καταστάσεις. Υπάρχουν μελέτες που έχουν δείξει ότι το C αλληλόμορφο σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου[82] ενώ σε υγιείς άνδρες ηλικίας 50 έως 61 ετών ευθύνεται για εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου μέσω του μηχανισμού της αυξημένης αρτηριακής πίεσης[83]. Μια άλλη μελέτη σε υγιείς ενήλικες, ηλικίας 20 με 28 ετών, έδειξε ότι ο πολυμορφισμός αυτός (κυρίως ο γονότυπος CC) σχετίζεται με δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, μέσω της συνεργιστικής δράσης του καπνίσματος[84]. Τέλος, μελέτη που έγινε σε 139 ηλικιωμένους άρρενες ασθενείς με ιστορικό κάποιου οξέος στεφανιαίου συνδρόμου (π.χ. ασταθής στηθάγχη, οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου με ανάσπαση του ST διαστήματος και οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου χωρίς ανάσπαση του ST διαστήματος) έδειξε ότι ο πολυμορφισμός -174G/C ευθύνεται για τον αυξημένο κίνδυνο θανάτου που αντιμετωπίζουν οι ασθενείς με το C αλληλόμορφο[86].

Από την άλλη μεριά, ο *Vozarova et al.* μελετώντας τον πολυμορφισμό αυτό σε αμερικανούς και καυκάσιους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και σε πληθυσμό χωρίς διαβήτη, έδειξε ότι ο GG γονότυπος ήταν σημαντικά πιο κοινός στους διαβητικούς ασθενείς[87]. Επίσης, σε έναν μικρό πληθυσμό 32 υγιών ατόμων, εκ των οποίων οι 17 ήταν γυναίκες, οι *Fernàndez-Real et al.* έδειξαν ότι τα άτομα

με το G αλληλόμορφο εμφάνιζαν αυξημένα λιπίδια του πλάσματος (υπερλιπιδαιμία)[88].

Σε αυτή τη μελέτη, ο γονότυπος GG είναι αυτός που εμφανίζεται πιο συχνά ανάμεσα στις δυο ομάδες (49.5%), με τους ετεροζυγώτες για τον πολυμορφισμό να εμφανίζονται σε ποσοστό 45.7%, ενώ οι συμμετέχοντες με τον γονότυπο CC αποτελούσαν μόλις το 0.05% του δείγματος. Από την στατιστική ανάλυση, βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην εμφάνιση των παραπάνω γονοτύπων ανάμεσα στις ομάδες του δείγματος (p=0.05), με το G αλληλόμορφο να εμφανίζεται σαφώς πιο συχνά στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο.

Όταν συγκρίθηκε η συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού IL-6 -174G/C στο σύνολο του δείγματος με τους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση στεφανιαίας νόσου, δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με κάποιον από αυτούς (βλ. *πίνακα Δ.4., σελ. 76*). Στη συνέχεια, οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε υποκατηγορίες:

5. Ασθενείς με στεφανιαία νόσο και το γονότυπο GG
6. Ασθενείς με στεφανιαία νόσο και το γονότυπο GC/CC
7. Μάρτυρες (control) με το γονότυπο GG
8. Μάρτυρες (control) με το γονότυπο GC/CC

Τότε, φάνηκε να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στην εμφάνιση διαβήτη τύπου 2 ανάμεσα στις τέσσερις ομάδες του δείγματος (p=0.04), ενώ περαιτέρω διερεύνηση έδειξε ότι η διαφορά αυτή εντοπίζεται ανάμεσα στην ομάδα των ασθενών με στεφανιαία νόσο και γονότυπο GG (15, 29%) και στους μάρτυρες με τον ίδιο γονότυπο (2, 4%) (p=0.03). Επομένως, φαίνεται ότι η συχνότητα εμφάνισης διαβήτη είναι αυξημένη στους ασθενείς με GG γονότυπο, συμφωνώντας με τα αποτελέσματα του *Vozarova et al.*[72]. Οι υπόλοιποι παράγοντες κινδύνου όμως δεν εμφάνιζαν στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες (βλ. *πίνακα Δ.5., σελ. 77*), γεγονός που έχει αποδειχθεί και σε άλλες μελέτες[274,75].

Επίσης, φάνηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων αίματος. Η διαφορά αυτή, με περαιτέρω διερεύνηση, εντοπίστηκε ανάμεσα στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο και γονότυπο GC/CC και στους μάρτυρες με γονότυπο GG (p=0.01), αλλά και στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο με γονότυπο GC/CC και στους μάρτυρες με τον ίδιο γονότυπο (p=0.04). Στην πρώτη περίπτωση, οι μάρτυρες με γονότυπο GG εμφάνιζαν αυξημένα επίπεδα

τριγλυκεριδίων αίματος και το εύρημα αυτό συμφωνεί με τη μελέτη του *Fernàndez-Real et al.* που έδειξε ότι τα άτομα με το G αλληλόμορφο εμφάνιζαν αυξημένα επίπεδα λιπιδίων[88]. Στη δεύτερη περίπτωση, οι ασθενείς με στεφανιαία νόσο με γονότυπο GC/CC εμφάνιζαν αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων σε σχέση με τους μάρτυρες με τον ίδιο γονότυπο.

Διερευνήθηκε επίσης, η σχέση της συχνότητας εμφάνισης του συγκεκριμένου πολυμορφισμού της IL-6 στους ασθενείς με παρουσία ή όχι στεφανιαίας νόσου, με την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών γενικά, και στη συνέχεια, τα τρόφιμα αυτά κατηγοριοποιήθηκαν με βάση την περιεκτικότητά τους σε αντιοξειδωτικά συστατικά σε 4 κατηγορίες:

- Καλές πηγές βιταμίνης C που θεωρήθηκαν τα τρόφιμα που περιέχουν >15mg/100g προϊόντος.
- Καλές πηγές βιταμίνης E που θεωρήθηκαν τα τρόφιμα που περιέχουν >0.5mg/100g προϊόντος.
- Καλές πηγές β-καροτενίου που θεωρήθηκαν τα τρόφιμα που περιέχουν >200μg/100g προϊόντος.
- Καλές πηγές λυκοπενίου που θεωρήθηκαν τα τρόφιμα που περιέχουν >0.5mg/100g προϊόντος.

Όπως φαίνεται και στον πίνακα Δ.7., σελ. 78, μόνο τα τρόφιμα που είναι καλές πηγές β-καροτενίου εμφανίζουν p-value=0.08, όπου μετά από περαιτέρω διερεύνηση βρέθηκε να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες γονοτύπων (GG και GC/CC) στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο (p=0.02).

Επιλέχθηκαν να μελετηθούν τα συγκεκριμένα μικροθρεπτικά συστατικά, διότι είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικές ουσίες, οι οποίες προστατεύουν τον οργανισμό μας από τις ελεύθερες ρίζες και τα ενεργά ενδιάμεσα οξυγόνου. Οι ελεύθερες ρίζες υπό φυσιολογικές συνθήκες εξουδετερώνονται από τους αμυντικούς μας μηχανισμούς, όταν όμως αυξάνονται πολύ εξαιτίας της έκθεσης του οργανισμού μας σε παθοφυσιολογικές καταστάσεις που σχετίζονται με την καρδιαγγειακή νόσο, όπως είναι η υπερχοληστερολαιμία, η υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, το κάπνισμα και η παχυσαρκία, τότε οι άμυνες του οργανισμού εξαντλούνται και οι ρίζες αυτές καταστρέφουν τα κύτταρα, προκαλούν μεταλλάξεις ή την οξειδωτική καταστροφή του DNA. Οι παραπάνω καταστάσεις αποτελούν παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση στεφανιαίας νόσου και είναι,

επίσης, χρόνιες φλεγμονώδεις καταστάσεις που ενεργοποιούν την απόκριση οξείας φάσης, η οποία με τη σειρά της είναι υπεύθυνη για τη δημιουργία της αθηρωματικής πλάκας στο εσωτερικό των στεφανιαίων αγγείων. Σε αυτή τη διαδικασία παίζει κεντρικό ρόλο η IL-6, όπως περιγράφεται αναλυτικά στο *Μέρος Α', Κεφάλαιο 2: Παθογένεια της νόσου*. Με αυτό τον τρόπο, θέλαμε να διερευνήσουμε τη σχέση που υπάρχει ανάμεσα στην πρόσληψη αντιοξειδωτικών ουσιών από τα φρούτα και λαχανικά στους ασθενείς που παρουσίαζαν τον πολυμορφισμό IL-6 -174G/C στις δυο ομάδες (ασθενείς – μάρτυρες).

Γ. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο κυριότερος περιορισμός αυτής της μελέτης ήταν ο πολύ μικρός αριθμός του δείγματος, όπου η συχνότητα εμφάνισης του γονότυπου CC ήταν σπάνια (0.05%).

Επιπλέον, υπήρχε μεγάλη διαφορά ανάμεσα στα δυο φύλα των συμμετεχόντων, με αποτέλεσμα οι γυναίκες να αποτελούν μόλις το 14% του συνόλου. Τέλος, υπήρχε μεγάλο ηλικιακό εύρος των συμμετεχόντων (ελάχιστη τιμή 40 έτη και ανώτερη τιμή 85 έτη).

Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σε αυτή τη μελέτη, διερευνήθηκε ο πολυμορφισμός -174G/C του υποκινητή στο γονίδιο της IL-6, όπου βρέθηκε ότι ο γονότυπος GG είναι αυτός που εμφανίζεται πιο συχνά ανάμεσα στις ομάδες ασθενών – μαρτύρων του δείγματος και συγκεκριμένα το G αλληλόμορφο εμφανίζεται σαφώς πιο συχνά στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Όσον αφορά τη σχέση ανάμεσα στη συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού αυτού με τους παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου, βρέθηκε ότι η ύπαρξη σακχαρώδους διαβήτη είναι πιο συχνή στους ασθενείς με GG γονότυπο. Οι υπόλοιποι παράγοντες κινδύνου όμως δεν εμφάνιζαν στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες. Επίσης, βρέθηκε ότι οι μάρτυρες με γονότυπο GG εμφάνιζαν αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων αίματος.

Χρειάζεται ακόμα περισσότερη μελέτη του πολυμορφισμού IL-6 -174G/C σε σχέση με τη στεφανιαία νόσο και τους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνισή της προτού να μπορέσουμε να καταλήξουμε σε κάποια συμπεράσματα. Άλλωστε, η διεθνής επιστημονική κοινότητα διχάζεται όσον αφορά στο ποιο αλληλόμορφο είναι υπεύθυνο για διάφορες παθολογικές καταστάσεις. Μελέτη του πολυμορφισμού σε μεγαλύτερο αριθμό ατόμων με ταυτόχρονη διερεύνηση διατροφικών συνηθειών συμπεριλαμβάνοντας όλες τις ομάδες τροφίμων, θα μπορούσε πιθανά να διαφωτίσει τις αλληλεπιδράσεις των συστατικών της διατροφής και του γονοτύπου με την εμφάνιση ή όχι της στεφανιαίας νόσου.

Επιπλέον, επειδή η IL-6 είναι ένα γονίδιο που σχετίζεται με τη δημιουργία της αθηρωματικής πλάκας, όπως και άλλες προ- και αντι- φλεγμονώδεις κυτοκίνες, θα μπορούσε να μελετηθεί ο πολυμορφισμός -174G/C στον ελληνικό πληθυσμό σε συνδυασμό με την υιοθέτηση ή όχι της μεσογειακής διατροφής και πώς αυτά αλληλεπιδρούν στο να εμφανιστεί η όχι στεφανιαία νόσος. Αυτός άλλωστε είναι και ο σκοπός των nutrigenetics.

1. **Murrary CJL, Lopez AD (1997)** Global mortality, disability, and the contribution of the risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet 349:1436-42*
2. **Murrary CJL, Lopez AD (1996)** The global burden of disease in 1990.
3. **Labarthe DR (1998)** Epidemiology and Prevention of cardiovascular Diseases. A global challenge. Maryland. *An Aspen Publications.*
4. **Moulopoulos SD, Adamopoulos PN, Diamantopoulos EI, et al (1987)** Coronary heart disease risk factors in a random sample of Athenian adults. The Athens Study. *Am J Epidemiology 126(5):882-92*
5. **Kalandidi A, Tzonou A, Toupadaki N, et al (1992)** A case-control study of coronary heart disease in Athens, Greece. *Int J Epidemiol 21(6):1074-80*
6. **Trichopoulou A, Lagiou P, Trichopoulos D (2003)** Traditional Greek diet and coronary heart disease. *J Cardiovasc Risk 1(1):9-15*
7. **Kannel WB, McGee DL, Gordon T (1976)** A general cardiovascular risk profile: The Framingham Study. *Am J Cardiol 38:46-51*
8. **Πίτσαβος Χ, Παναγιωτάκος ΔΒ, Χρυσοχόου Χ (2001)** Παράγοντες κινδύνου εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου: επιδημιολογικά στοιχεία από τις μελέτες «CARDIO2000» και «ΑΤΤΙΚΗ». *ΚΑΡΔΙΑ & ΥΓΕΙΑ VI;5:442-456*
9. **Wood D (2001)** Established and emerging cardiovascular risk factors. *Am Heart J 141:49-57*
10. **Τούτουζας ΠΚ.** Καρδιολογία. Έκδοση Γ' Μ.Γ. Παρισιάνου, Αθήνα 276-292
11. **Τούτουζας ΠΚ, Στεφανάδης Χ, Μπουντούλας Χ (2002)** Καρδιακές Παθήσεις. Τόμος 3ος. Έκδοση Μ.Γ. Παρισιάνου, Αθήνα 2028-2040
12. **Beaglehole R (2001)** Global cardiovascular disease prevention: time to get serious. *Lancet 358:661-663*
13. **Dawber TR (1980)** The Framingham Study; The Epidemiology of Atherosclerosis Disease. Cambridge, MA: Harvard University Press
14. **Stamler J et al (2000)** Relationship of Baseline Serum Cholesterol Levels in 3 Large Cohorts of Younger Men to Long-term Coronary, Cardiovascular, and All-Cause mortality and to longevity. *JAMA 284:311*
15. **Law MR, Wald NJ, Thompson SG (1994)** By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? *BMJ 308:367*
16. **Burt VI et al (1995)** Prevalence of hypertension in the US adult population: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey: 1989-1991. *Hypertension 25:305*
17. Τρίτη έκδοση NCEP 2001
18. **Wilson PW et al (1996)** Apolipoprotein E alleles and risk of coronary disease. A meta- analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol 16:1250*
19. **Marenberg ME et al (1994)** Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med 330:1041*
20. **Nicholls P et al (2001)** Screening for familial hypercholesterolaemia. Early identification and treatment of patients is important. *BMJ 322:1062*
21. **Ryan JF (2000)** Tobacco control issues in the European Union. *Eurohealth Vol 6, no 1 Spring*
22. **Doll R, Peto R (1981)** The causes of cancer. *J Natl Cancer Inst 66:1191-1308*
23. **Vrijkotte TGM et al (2000)** Effects of work stress on ambulatory blood pressure, heart rate, and heart rate variability. *Hypertension 35:880-886*
24. **Ueland et al (2000)** The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr 324-32*
25. **Schnyder et al (2001)** Decreased rate of coronary restenosis after lowering of plasma homocysteine levels. *N Engl J Med 345:1593-1600*
26. **Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrisohoou C, et al (2002)** Risk Stratification of coronary heart disease, in Greece: Final results from CARDIO2000 Epidemiological Study. *Prev Med 2002*
27. **McPhee S., Μουτσόπουλος Χ.** Παθολογική Φυσιολογία

28. **Falk E, Shah PK, Fuster V (1995)** Coronary plaque disruption. *Circulation 92: 657-71*
29. **Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, et al. (2000)** Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation 101:1767-1772*
30. **Ridker PM. (2001)** High-sensitivity C-reactive protein: a potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation, 103:1813-8*
31. **Elkind MS, Cheng J, Boden-Albala B, et al. (2002)** Tumor necrosis factor receptor levels are associated with carotid atherosclerosis. *Stroke, 33:31-7*
32. **Rost NS, Wolf PA, Kasc CS, et al. (2001)** Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham study. *Stroke, 32:2575-9*
33. **Pradhan AD, Manson JE, RifaiN, et al. (2001)** C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA 286:327-34*
34. **Schmidt MI, Duncan BB, Sharrett AR, et al. (1999)** Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities Study): a cohort study. *Lancet 353:1649-52*
35. **Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, et al. (1999)** Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med 106:506-12*
36. **Strandberg TE, Tilvis RS. (2000)** C-reactive protein, cardiovascular risk factors, and mortality in a prospective study in the elderly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol 20:1057-60*
37. **Cermak J, Key NS, Bach RR, et al. (1993)** C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor. *Blood 82:513-20*
38. **Robbie L, Libby P. (2001)** Inflammation and atherothrombosis. *Ann NY Acad Sci 947:167-80*
39. **Gabay C, Kushner I (1999)** Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N. Engl. J. Med. 340:448-454*
40. **Uhlan CM, Whitehead AS (1999)** Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur. J. Biochem. 265:501-523*
41. **Rader DJ (2000)** Inflammatory markers of coronary risk. *N. Engl. J. Med. 343:1179-82*
42. **Vallance P, Collier J, Bhagat K. (1997)** Infection, inflammation, and infarction: does acute endothelial dysfunction provide a link? *Lancet, 349:1391-2*
43. **Ridker PM et al. (1997)** Inflammation, aspirin and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. N. Engl. J. Med. 336:973-979
44. **Vander, Sherman, Luciano, Τσακόπουλος (2001)** Φυσιολογία του ανθρώπου, τ.ΙΙ, 552
45. **Lowenstein C, Matsushita K (2004)** The acute phase response and atherosclerosis. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms, vol.1;*
46. **Gonzales MA, Selwyn AP. (2003)** Endothelial function, inflammation, and prognosis in cardiovascular disease. *Am J Med, 115(8A):99S-106S*
47. **Morley JJ, Kushner I (1982)** Serum C-reactive protein levels in disease. *Ann N.Y. Acad. Sci. 389:406-418*
48. **Desiderio S, Yoo JY (2003)** A genome-wide analysis of the acute-phase response and its regulation by Stat3beta. *Ann. N.Y. Acad. Sci. 987:280-284*
49. **Yoo JY, Desiderio S (2003)** Innate and acquired immunity intersect in a global view of the acute-phase response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100:1157-62*
50. **Hackett D, Davvies G, Maseri A (1988)** Pre-existing coronary stenosis in patients with first myocardial infarction are not necessarily severe. *Eur Heart J 9:1317-23*
51. **Davies MG (1996)** Stability and instability: two faces of coronary atherosclerosis: the Paul Dudley White Lecture 1995. *Circulation 94:2013-20*

52. **www.incardiology.gr**
53. **Van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM et al (1994)** Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation 89: 36-44*
54. **Vander, Sherman, Luciano, Τσακόπουλος (2001)** Φυσιολογία του ανθρώπου, τ.ΙΙ, Κεφ. 20
55. **Hirano T, Yakusana K, Harada H, et al (1986).** Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature 324:73-7*
56. **Lots M, Jirik F, Kabouridis R, et al (1988)** BSF-2/IL-6 is costimulant for human thymocytes and T-lymphocytes. *J Exp Med 140:508-13*
57. **Mule JJ, McIntosh JK, Joblons DM, et al (1990)** Antitumor activity of recombinant interleukin-6 in mice. *J Exp Med 171:629-35*
58. **Gauldie JC, Richards C, Harnish D (1987)** Interferons2/ BSF-2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte stimulating factor (HSF) and regulates tha major acute phase protein response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci USA 84:7251-6*
59. **Luger TA, Krutmann J, Krubanner R, et al (1989)** IFN-s2/IL-6 augments the activity of human natural killer cells. *J Immunol 143:1206-10*
60. **Papanicolaou DA, Wilder RL, Manolagas SC, et al.(1998)** The pathophysiologic roles of interleukin-6 in juman disease. *Ann Intern Med.128:127-37*
61. **Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, et al.(1997)** Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab. 82:4196-4200*
62. **Papanicolaou DA, Vgontzas AN.(2000)** Interleukin-6:the endocrine cytokine. *J Clin Endocrinol Metab.85:1331-1332*
63. **Mohamed-Ali V, Pinkney JH, Coppack SW (1998)** Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. *Int J Obesity 22:1145-58*
64. **Fantuzzi G, Zheng H, Faggioni R, et al (1996)** Effect of endotoxin in IL-1b-deficient mice. *J Immunol 157:485-9*
65. **Marino MW, DunnA, Grail D, et al (1997)** Characterization of tumor necrosis factor-a deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA 94:8093-8*
66. **Pang G, Couch L, Batey R, et al (1994)** GM-CSF, IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-8, IL-10, ICAM-1 and VCAM-1 gene expression and cytokine production in human duodenal fibroblasts stimulated with lipopolysaccharide, IL-1a and TNF-a. *Clin Exp Immunol 96:437-43*
67. **Libby P, Sukhova G, Lee RT, et al (1995)** Cytokines regulate vascular functions related to stability of the atherosclerotic plaque. *J Cardiovasc Pharmacol 25:S9-S12*
68. **De Graba TJ (1997)** Expression of inflammatory mediators and adhesion molecules in human atherosclerotic plaque. *Neurology 49: 15-19*
69. **Dan K, Gomi S, inokuchi K, et al (1995)** Effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor on megakaryocytopoiesis: mechanism of reactive thrombocytosis. *Acta Haematol 93:67-72*
70. **Fantuzzi G, Zheng H, Faggioni R, et al (1996)** Effect of endotoxin in IL-1b-deficient mice. *J Immunol 157:485-9*
71. **Somers W, Stahl M, Seehra JS (1997)** A crystal structure of interleukin 6: implications for a novel model of receptor dimerization and signaling. *EMBO J 16:989-97*
72. **Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, et al.(1999)** Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med.106:506-512*
73. **Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, et al.(2000)** Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently

healthy men. *Circulation 101:1767-1772*

74. **Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, et al.(1999)** C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol 19:972-8*
75. **Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, et al. (2000)** Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis148:209-14*
76. **Mohamed-Ali V, Bulmer K, Coppack SW, et al (1998)** b-Adrenergic regulation of proinflammatory cytokines in humans in vivo. *Endocrinology 39:1-4*
77. **Yasukawa K, Hirano T, Watanabe Y, et al. (1987)** Structure and expression of human B cell stimulatory factor-2 (BSF-2/IL-6) gene. *EMBO J, 6:2939-2945*
78. **Fishman D, Faulds G, Jefery R, et al.(1998)** The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemin-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest. 102:1369-76*
79. **Jones KG, Brull DJ, Brown LC, et al.(2001)** Interleukin-6 (IL-6) and the prognosis of abdominal aortic aneurysms. *Circulation, 103:2260-*
80. **Brull DJ, Montgomery HE, Sanders J, et al.(2001)** Interleukin-6 gene -174G>C and -572G>C promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol, 21:1458-63*
81. **Nauck M, Winkelmann BR, Hoffmann MM, et al. (2002)** The interleukin-6 G(-174)C promoter polymorphism in the LURIC cohort: no association with plasma interleukin-6, coronary artery disease, and myocardial infarction. *J Mol Med. 80:507-513*
82. **Rauramaa R, Vaisanen SB, Luong LA, et al. (2000**) Stromelysin-1 and interleukin-6 gene promoter polymorphisms are determinants of asymptomatic carotid artery atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol, 20:2657-62*
83. **Georges JL, Loucaci V, Poirier O, et al. (2001)** Interleukin-6 gene polymorphisms and susceptibility to myocardial infarction: the ECTIM study. Etude Cas-Temoin de l'Infarctus du Myocarde. *J Mol Med, 79:300-5*
84. **Humphries SE, Luong LA, Ogg MS et al. (2001)** The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *Eur Heart J, 22:2243-2252*
85. **Brull DJ, Lesson CPM, Montogomery HE, et al. (2002)** The effect of the interleukin-6-174G>C promoter gene polymorphism on endothelial function in healthy volunteers. *Eur Clin Invest 32(3):153-157*
86. **Kubaszek A, Pihlajamäki J, Punnonen K, et al. (2003**) The C-174G promoter polymorphism of the IL-6 gene affects energy expenditure and insulin sensitivity. *Diabetes, 52:558-561*
87. **Vozarova B, Fernàndez-Real JM, Knowler, et al. (2003)** The interleukin-6 (-174) G/C promoter polymorphism is associated with type-2 diabetes mellitus in Native americans and caucasians. *Hum Genet. 112:409-413*
88. **Fernàndez-Real JM, Broch M, Vendrell J, et al. (2000)** Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab 85:1334-1339*
89. **Nauck M, Winkelmann BR, Hoffmann MM, et al. (2002**) The interleukin-6 G(-174)C promoter polymorphism in the LURIC cohort: no association with plasma interleukin-6, coronary artery disease, and myocardial infarction. *J Mol Med. 80:507-513*
90. **LIeb W, Pavlik R, Erdmann J, et al. (2004)** No association of interleukin-6 gene polymorphism (-174G/C) with myocardial infarction or traditional cardiovascular risk factors. *Inter. J.Card., 97:205-212*
91. **Υπουργείο Υγείας & Πρόνοιας (1999)** Διατροφικές Οδηγίες για ενήλικες στην

Ελλάδα. *Αρχεία Ελληνική Ιατρικής 16 (6): 615-25*

92. **Kafatos A., Diacatou A., Voukiklaris G, et al. (1997)** Heart disease risk-factor status and dietary changes in the Cretan population over the past 30 years: the Seven Countries Study. *Am J Clin Nutr 65:1882-1886*
93. **Trichopoulou A., Costacou T., Bamia C. (2003)** Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *N. Engl J Med 348:2599-608*
94. **Knoops KT, de Groot LC, Kromhout D, et al (2004)** Mediterranean diet, lifestyle factors, and 10-year mortality in elderly European men and women : the HALE project. *JAMA 292:1433-9*
95. **Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysochoou C, et al. (2003**) Status and management of hypertension in Greece ; the role of the adoption of Mediterranean diet: the ATTICA Study. *J Hypertens 21:1483-9*
96. **Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysochoou C, et al. (2002)** The role of traditional Mediterranean type of diet and lifestyle, in the development of acute coronary syndromes: preliminary results from CARDIO2000 Study. *Cenr Eur J Public Health 10:11-5*
97. **De Lorgeril M, Salen P, Martin JL, et al. (1999)** Mediterranean diet, traditional risk factors and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation 99:779-85*
98. **Manna C, D'Angelo S, Migliardi V, et al.(2002)** Protective effect of the phenolic fraction from virgin olive oils against oxidative stress in human cells. *J Agric Fook Chem 50:6521-6*
99. **Sondergaard E, Maller JE, Egstrup K. (2003)** Effect of dietary intervention and lipid-lowering treatment on brachial vasoreactivity in patients with ischemic heart disease and hypercholesterolemia. *Am Heart J 145:E19*
100. **Morrow DA, Ridker PM (2000)** C-reactive, inflammation and coronary risk. *Med Clin North A 84:149-61*
101. **Harper CR, Jacobson TA (2003)** Beyond the Mediterranean diet: the role of omega-3 fatty acids in the prevention of coronary heart disease. *Prev Cardiol 6:136-46*
102. **Trichopoulou A, Vasilopoulou E, Lagiou A (1999)** Mediterranean diet and coronary heart disease: are antioxidants critical? *Nutr Rev 57:253-5*
103. **Schindler T.H., Nitzche E.U., Munzel T., et al.(2003)** Coronary vasoregulation in patients with various risk factors in response to cold pressor testing: Contrasting myocardial blood flow responses to short and long-term vitamin C administration. *J Am Coll Cardiol 42(5): 814-822*
104. **Murphey L.J., Marrow J.D., Sawathiparnich P., et al. (2003)** Acute angiotensin II increases plasma F2-isoprostanes in salt-replete human hypertensives. *Free Rad Biol Med 35(7): 711-718*
105. Piconi L., Quagliaro L., Ceriello A. (2003) Oxidative stress in diabetes. *Clin Chem Lab Med 41(9): 1144-1149*
106. **Egashira K. (2002)** Clinical importance of endothelial function in arteriosclerosis and ischemic heart disease. *Circ J 66: 529-533*
107. **Keaney J.F. Jr., Larson M.G., Vasan R.S., et al. (2003**) Framingham Study. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham study. *Arterioscl Thromb Vasc Biol 23: 434-439*
108. **Συντώσης Λ., Σκενδέρη Κ., Κούτσαρη Χ. (2002)** «Διατροφή και μεταβολισμός», ασκορβικό οξύ, σημειώσεις μαθήματος, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.
109. **Agarwal A & Rao AV (2002)** Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *Can Med Ass J 163:739-44*
110. **Cohen L (2002)** A review of animal model studies of tomato carotenoids, lycopene, and cancer chemoprevention. *Exp Biol Med 227:864-68*
111. **Agarwal A & Rao AV (1998)** Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study. *Lipids 33: 981-4*
112. **Furhman B, Elis A, Aviram M (1997)** Hypocholesterolemic effect of lycopene

and β-carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages. *Biochem and Biophys Res Com 233:658-62*

113. **Collins FS and McKusick VA. (2001)** Implications of the Human Genome Project for medical science. *Jama. 285: 540-4*
114. **Collins FS, Morgan M and Patrinos A. (2003)** The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science 300: 286-90*
115. **Ordovas JM. Mooser V (2004)** Nutrigenomics and nutrigenetics. *Current Opinion in Lipitology 15:101-8*
116. **Paoloni-Giacobino A, Grimble R, Pichard C (2003)** Genetics and nutrition. *Clin Nutr 22(5):429-35*
117. **Kaput J, Rodriguez R (2004)** Nutritional genomics: the next frontier in the postgenomic era. *Physiol Genomics 16: 166-77*
118. **Müller M, Kersten S (2003)** Nutrigenomics: goals and strategies. *Genetics, 4:315-22*
119. **Jefferson LS, Kimball SR (2001)** Amino acid regulation of gene expression. *J Nutr 131:2460-66*
120. **Varga J, Li L, Mauviel A, et al. (1994**) L-tryptophan in supraphysiologic concentrations stimulates collagenase gene expression in human skin fibroblasts. *Lab Invest 70:183-91*
121. **Escher P, Wahli W (2000)** Peroxisome proliferators-activated receptors: insight into multiple cellular functions. *Mutat Res 448:121-38*
122. **Vaulont S, Vasseur-Cognet M, Kahn A. (2000)** Glucose regulation of gene transcription. *J Biol Chem 275:31555-558*
123. **Foufelle F, Ferre P (2002)** New perspectives in the regulation of hepatic glycolytic and lipogenic genes by insulin and glucose: a role for the transcription factor sterol regulatory element binding protein-1c. *Biochem 366:377-91*
124. **Duthie SJ, Ma A, Ross MA, et al. (1996)** Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Cancer Res 56:1291-95*
125. **Collins AR, Olmedilla B, Southon S, et al. (1998)** Serum carotenoids and oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Carcinogenesis 19:2156-62*
126. **Torbergsen AC, Collins AR (2000)** Recovery of human lymphocytes from oxidative DNA damage; the apparent enhancement of DNA repair by carotenoids is probably simply an antioxidant effect. *Eur J Nutr 39:80-85*
127. **Nagpal S, Chandraratna RA (1998)** Vtamin A and regulation of gene expression. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 1:341-46
128. **Δημόπουλος Κ., Αντωνοπούλου Σ.** Βασική Βιοχημεία, Αθήνα 2000, *σελ.326*
129. **Ames BN (1999)** Cancerprevention diet: help from single nucleotide polymorphisms. *Proc Nat Acad Sci USA 96:12216-218*
130. **Halliwell B (2001)** Vitamin C, genomic stability. *Mutat Res 475:29-35*
131. **Halliwell B (1999)** Vitamin C: poison, prophylactic or panacea? *Trends Biochem Sci 24:255-9*
132. **Catani MV, Rossi A, Constanzo A et al (2001)** Induction of gene expression via activator protein-1 in the ascorbate protection against UV-induced damage. *Biochem J 356:77-85*
133. **Συντώσης Λ., Σκενδέρη Κ., Κούτσαρη Χ. (2002)** «Διατροφή και μεταβολισμός», βιταμίνες, σημειώσεις μαθήματος, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.
134. **Loktionov A. (2003)** Common gene polymorhisms and nutrition: emerging links with pathogenesis of multifactorial chronic diseases (Review) *J Nat Biochem 14: 426-51*
135. **Schaefer EJ (2002)** Lipoproteins, nutrition, and heart disease. *Am J Clin Nutr 75:191-212*
136. **Lusis AJ (2000)** Atherosclerosis. *Nature 407:233-41*
137. **Hooper L, Summerbell CD, Higgins JPT, et al (2001)** Dietary fat intake and prevention of cardiovascular disease: systemic review. *Br Med J 322:757-63*

138. **Glass CK, Witztum JL (2001)** Atherosclerosis: The road ahead. *Cell 104:503-16*