

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

*Διερεύνηση της αλληλεπίδρασης του
πολυμορφισμού -1612 5A /6A του γονιδίου της
μεταλλοπρωτεΐνάσης 3 με τη Μεσογειακή Διατροφή
στη Στεφανιαία Νόσο.*

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ANNA ΕΥΛΟΓΗΜΕΝΟΥ

Τριμελής Επιτροπή:

Δεδούσης Γεώργιος

Γιαννακούλια Μαρία

Παναγιωτάκος Δημοσθένης

ΑΘΗΝΑ 2007

Ευχαριστίες:

Ευχαριστώ την οικογένειά μου για την ηθική υποστήριξή της.

Ευχαριστώ τον καθηγητή μου Γεώργιο Δεδούση για την καθοδήγηση και τις συμβουλές του ώστε να φτάσει αυτή η εργασία στο τέλος της.

Ευχαριστώ θερμά την Ειρήνη Θεοδωράκη, το Βασίλη Παπαμίκκο και τη Γίωτα Φίλη που χωρίς τη δική τους συνεργασία και συμβολή αυτή η εργασία δεν θα είχε διεκπεραιωθεί.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	1
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	5
1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	5
1.1 Η επιδημιολογία της στεφανιαίας νόσου στον κόσμο	5
1.2 Διεθνή στοιχεία.....	6
1.3 Ελληνικά στοιχεία.....	8
2. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ	10
2.1 Η φυσιολογία της στεφανιαίας κυκλοφορίας	10
2.2 Στεφανιαία Νόσος.....	11
2.3 Αθηροσκλήρωση, μια φλεγμονώδης νόσος.....	15
2.4 Σταθερότητα της αθηρωματικής πλάκας και φλεγμονώδης αντίδραση	17
2.5 Θρομβογένεση	18
2.6 Ισχαιμία του μυοκαρδίου	18
2.7 Στηθάγχη.....	19
3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ	22
3.1 Κοινωνικοοικονομικοί παράγοντες	22
3.2 Δυσλιπιδαιμία και HDL.....	22
3.3 LDL.....	24
3.4 Κατανάλωση Οινοπνεύματος	26
3.5 Κάπνισμα	26
3.6 Φυσική Δραστηριότητα	27
3.7 Υπέρταση	28
3.8 Παχυσαρκία	29
3.8 Σακχαρώδης Διαβήτης.....	31
3.9 Φλεγμονή και Αθηρωμάτωση.....	31
3.10 Υπερομοκυστεϊναιμία	32
3.11 Αυξημένα Επίπεδα Λιποπρωτεΐνης (α) [Lp(a)]	33
4. ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ	33
4.1 Εισαγωγή	34
4.2 Επίδραση της Μεσογειακής διατροφής στην υπέρταση.....	37

4.3 Επίδραση της Μεσογειακής διατροφής στο λιπιδαιμικό προφίλ.....	38
4.4 Επίδραση Μεσογειακής δίαιτας και Σακχαρώδης Διαβήτη τύπου II.....	40
4.5 Επίδραση της Μεσογειακής διατροφής στην ανάπτυξη της Στεφανιαίας Νόσου	41
4.6 Αξιολόγηση της Μεσογειακής Διατροφής	47
5. ΣΧΕΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ -1612 5A>6A ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΗ 3 ΜΕ ΤΗ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟ	49
5.1 Εισαγωγή	49
5.2 Μεταλλοπρωτεΐνάσες μήτρας.....	49
5.3 Μεταλλοπρωτεΐνάση-3	50
5.4 Στεφανιαία Νόσος.....	52
5.5 Έμφραγμα του Μυοκαρδίου	53
5.6 Αλληλεπίδραση της mmp-3 με το κάπνισμα στο έμφραγμα του μυοκαρδίου	55
5.7 Πιθανή εξήγηση της σχέσης του 5A/6A πολυμορφισμού με τη στεφανιαία στενώση και του εμφράγματος του μυοκαρδίου	56
5.8 Άλλες ασθένειες που σχετίζονται με το 5A αλληλόμορφο	57
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	59
1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	59
2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	60
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	62
3.1. ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΕΤΗΣ	62
3.2. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	63
3.3. ΣΚΟΡ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ	64
3.3.1. Αποτίμηση Μεσογειακού Σκορ	64
3.4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	67
3.5. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ DNA.....	68
3.6. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΑQΜΑΝ.....	69
3.7. ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ	73
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	75
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	80
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	85

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

1.1 Η επιδημιολογία της στεφανιαίας νόσου στον κόσμο

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι η σημαντικότερη αιτία θανάτου στους άνδρες ηλικίας 35-55 χρονών και μια από τις σημαντικότερες αιτίες θανάτου στις γυναίκες στις χώρες δυτικού τύπου. Η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (ΠΟΥ) εκτιμά ότι 16,6 εκατομμύρια άνθρωποι στον κόσμο πεθαίνουν από καρδιαγγειακά ετησίως. Η στεφανιαία νόσος είναι η σοβαρότερη των καρδιαγγειακών νοσημάτων και αποτελεί το κύριο αίτιο θνησιμότητας στην Ευρώπη που ευθύνεται για σχεδόν 2 εκατομμύρια θανάτους ετησίως (1).

Μόλις στο πρώτο μισό του 20^{ου} αιώνα πραγματοποιήθηκαν τα πρώτα σημαντικά βήματα για τον πλήρη ορισμό της στεφανιαίας νόσου και παράλληλα διατυπώθηκαν οι πρώτες υποψίες για την ύπαρξη μεταβλητότητας στη γεωγραφική κατανομή της αλλά και τη σχέση της με διάφορες διατροφικές και κοινωνικές συνήθειες των πληθυσμών. Μετά από το 1950, με τις μελέτες των Επτά Χωρών από τον Keys και τους συνεργάτες του, τη μελέτη του Framingham, καθώς και άλλες παράλληλες μελέτες στην Ιαπωνία, την Κίνα, το San Francisco και την Hawai, υπήρχε ουσιαστική πρόοδος στην αιτιολογική προσέγγιση και στην εκτίμηση της επίπτωσης της νόσου. Επίσης, σημαντική ήταν και η συνεισφορά της μελέτης του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (MONICA study), καθώς και της μελέτης παρέμβασης M.R.F.T.I (Multiple Risk Factors Intervention study) (5, 6, 7, 8).

Έτσι, αρχίζει ουσιαστικά, η ανάπτυξη της αναλυτικής καρδιολογικής επιδημιολογίας με τον καθορισμό διαφόρων παραγόντων κινδύνου, την εκτίμηση των

συναρτήσεων επιβίωσης των πληθυσμών και τη δημιουργία στοχαστικών μοντέλων που συνεκτιμούσαν τους διάφορους παράγοντες που ενέχονταν στην πιθανότητα εκδήλωσης της νόσου στους πληθυσμούς (4).

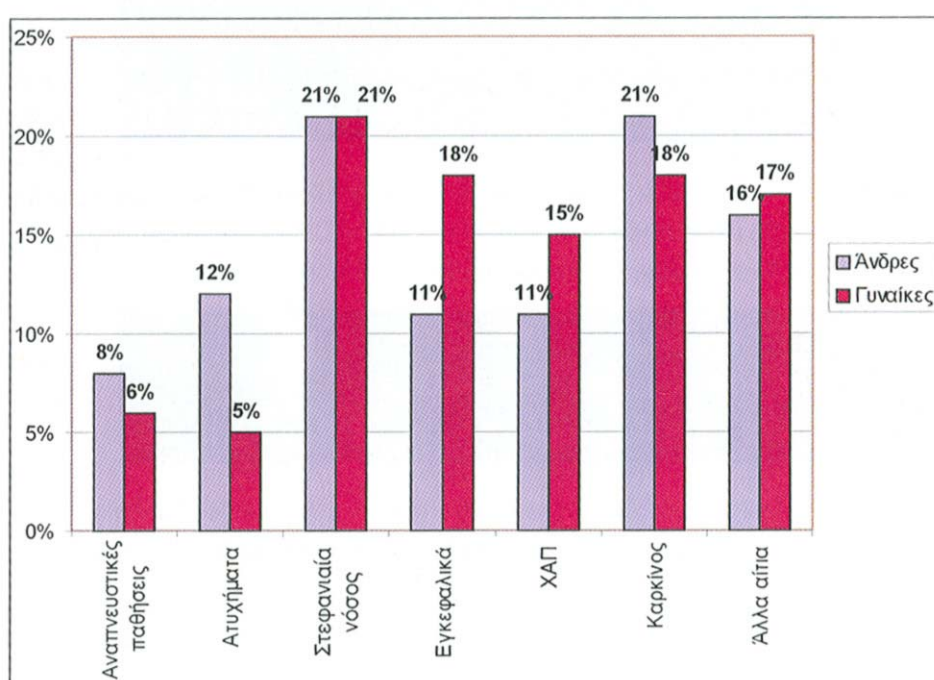
1.2 Διεθνή στοιχεία

Η νοσηρότητα και η θνησιμότητα της στεφανιαίας νόσου διαφέρουν από πληθυσμό σε πληθυσμό. Για παράδειγμα, η στεφανιαία νόσος, το 2001, θανάτωσε 120,000 άτομα στη Μεγάλη Βρετανία και 669,000 στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής. Η μελέτη, Global Burden of Disease, της ΠΟΥ έδειξε ότι στη Δυτική Ευρώπη το 31% των ετών ζωής κατά μέσο όρο που χάνονται ετησίως αποδίδονται στην καρδιαγγειακή νόσο. Η στεφανιαία νόσος είναι υπεύθυνη για το 21% των θανάτων μεσήλικων ανδρών και για το 22% των θανάτων μεσήλικων γυναικών στην Ευρώπη (5).

Συγκεκριμένα στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής είχαμε για το 2004 452,300 θανάτους που οφείλονταν στην στεφανιαία νόσο ενώ 15,800,000 άνθρωποι έχουν ιστορικό από καρδιακή προσβολή ή στηθάγχης ή και τα δύο. Στοιχεία από την American Heart Association για τις ΗΠΑ, δείχνουν ότι η θνησιμότητα στους άσπρους άντρες για το 2000 ανέρχονται στα 194,4 ανά 100,000 άτομα ενώ στους μαύρους άντρες στα 222,2 ανά 100,000 άτομα . Αντίστοιχα αποτελέσματα έχουμε και για τις γυναίκες όπου η θνησιμότητα στις άσπρες γυναίκες ήταν 115,4 ανά 100,000 άτομα και για τις μαύρες γυναίκες 148,6 ανά 100,000 άτομα (3, 4).

Είναι χαρακτηριστικό ότι παρ'όλο που στις ΗΠΑ οι θάνατοι από καρδιαγγειακή νόσο υποδιπλασιάστηκαν κατά τα έτη 1950-1980 όπου και συντελέστηκε σημαντική πληθυσμιακή παρέμβαση, ο επιπολασμός της νόσου αυξήθηκε σημαντικά στο πρώτο μισό της δεκαετίας του 1990 και εκτιμάται ότι το 2010 οι καρδιακοί θάνατοι θα είναι οι συχνότεροι στον πληθυσμό (4).

Στην Ευρώπη όπου το 31% των ετών ζωής χάνονται ετησίως λόγω της καρδιαγγειακής νόσου, το ποσοστό αυτό αυξάνει σε 35% στις χώρες της πρώην Ανατολικής Ευρώπης. Υπολογίζεται ότι το 2020 σε σύγκριση με το 1990 θα υπάρξει μια αύξηση των θανάτων κατά 100% στους άνδρες και κατά 50% στις γυναίκες, με την πλειοψηφία αυτών να προέρχεται από την Ασία, την Αφρική και τη Λατινική Αμερική (4, 10, 11, 12).



Πηγή: Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας

Γράφημα 1.1 Αίτια θανάτου στην Ευρώπη για το έτος 2000.

Στην Κεντρική και στην Ανατολική Ευρώπη η στεφανιαία νόσος είναι η κύρια αιτία θανάτου για τις γυναίκες, κάτω των 65 ετών. Ωστόσο στους άνδρες συμπεριλαμβάνονται και οι χώρες που βρίσκονται Νότια, Βόρεια και Δυτικά της Ευρώπης όπως για παράδειγμα η Φιλανδία, η Ελλάδα και το Ηνωμένο Βασίλειο. Η θνησιμότητα της στεφανιαίας νόσου διαφέρει από πληθυσμό σε πληθυσμό. Για παράδειγμα στη Γεωργία είναι 50% ενώ στη Γαλλία είναι 12% των θανάτων πριν την ηλικία των 65 ετών στις γυναίκες (9).

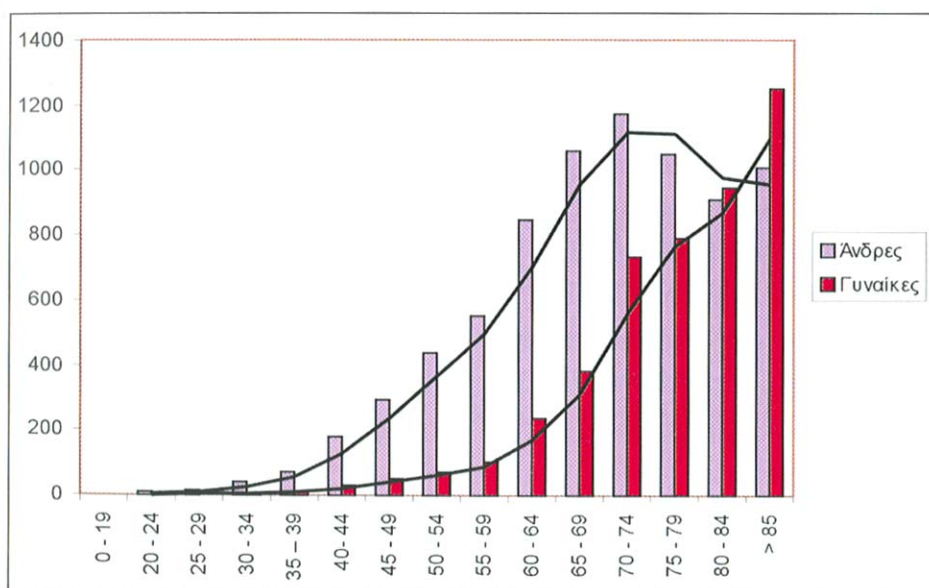
1.3 Ελληνικά στοιχεία

Όσον αφορά την Ελλάδα, σύμφωνα με τα πιο πρόσφατα στοιχεία της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας της Ελλάδας, το 2003 η στεφανιαία νόσος ήταν η τρίτη αιτία θανάτου και ευθυνόταν για το 13,3% του συνόλου των θανάτων, ενώ πρώτη αιτία θανάτου ήταν η νόσος των εγκεφαλικών αγγείων (17,5% του συνόλου των θανάτων) (5).

Η πρώτη καλώς τεκμηριωμένη μελέτη που ασχολήθηκε με τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα καρδιαγγειακών παθήσεων σε παγκόσμιο επίπεδο, ήταν η μελέτη των Επτά Χωρών στις αρχές της δεκαετίας του 1960, όπου συμμετείχε και η Ελλάδα με χωριά από αγροτικές περιοχές της Κρήτης και της Κέρκυρας. Η μελέτη περιλάμβανε μόνο άνδρες 40-59 ετών. Ήταν η πρώτη φορά που παρατηρήθηκε ο χαμηλός επιπολασμός της στεφανιαίας νόσου στον Ελληνικό πληθυσμό, σε σύγκριση με Βόρειο-Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς και Αμερικάνους. Η μελέτη διαπίστωσε αύξηση της επίπτωσης του εμφράγματος του μυοκαρδίου με την πάροδο των ετών και χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι στους άνδρες αυξήθηκε από 195 ανά 100,000 άτομα το 1981 σε 297 ανά 100,000 άτομα το 1988. Όσον αφορά στη θνησιμότητα, στους άνδρες ηλικίας 45-74 σχεδόν διπλασιάστηκε από το 1956 στο 1978. Στη συνέχεια και για μια δεκαετία, ο ρυθμός αύξησης άρχισε να μειώνεται, ενώ μετά το 1990 άρχισε να μειώνεται η θνησιμότητα (5).

Στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ που πραγματοποιήθηκε μεταξύ του Μαΐου του 2001 και του Δεκεμβρίου του 2002 επιλέχθηκαν τυχαία 1514 άνδρες και 1528 γυναίκες, με σκοπό να εκτιμηθούν τα επίπεδα ορισμένων από τους παράγοντες κινδύνου της στεφανιαίας νόσου, στην Ελλάδα. Το συμπέρασμα ήταν ο επιπολασμός των περισσότερων παραγόντων κινδύνου ήταν υψηλός και συνεπώς οι Έλληνες είναι άτομα υψηλού κινδύνου για την ανάπτυξη της στεφανιαίας νόσου. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι το 51% των ανδρών και το 39% των γυναικών δήλωσαν πως ήταν

καπνιστές, το 37% των ανδρών και το 25% των γυναικών ήταν υπέρτασικοί, το 46% των ανδρών και το 40% των γυναικών ήταν υπερχοληστερολαιμικοί κ.α. (5, 13).



Γράφημα 1.3 Θνησιμότητα από στεφανιαία νόσο στον ελληνικό πληθυσμό (Πηγή: W.H.O., www.who.int).

Όπως φαίνεται από τις πιο πάνω μελέτες η στεφανιαία νόσος κατατάσσεται ως μία από τις κυριότερες αιτίες θανάτου στις ΗΠΑ, στην Ευρώπη και στην Ελλάδα. Είναι επίσης η δεύτερη αίτια νοσηρότητας και θανάτου στις ηλικίες >75 ετών, με πρώτη αίτια το καρκίνο. Λόγω του μεγάλου κόστους που επιφέρει η νόσος αυτή στον προϋπολογισμό του κάθε κράτους υπάρχει επιτακτική ανάγκη για τη μείωση του επιπολασμού στον πληθυσμό. Πρώτα όμως πρέπει να μελετήσουμε την παθοφυσιολογία που βρίσκεται πίσω από την καρδιαγγειακή νόσο (5).

2.ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

2.1 Η φυσιολογία της στεφανιαίας κυκλοφορίας

Η καρδιά είναι αερόβιο όργανο το οποίο, για να διατηρήσει την κανονική του λειτουργία, έχει ανάγκη από συνεχή παροχή οξυγόνου. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες η παρεχόμενη ποσότητα οξυγόνου είναι κατά πολύ παραπλήσια με την απαιτούμενη από την καρδιά (μυοκαρδιακή κατανάλωση οξυγόνου [MvO_2]). Οι κυριότεροι παράγοντες που καθορίζουν τη MvO_2 είναι η καρδιακή συχνότητα, η συσταλτικότητα και η τοιχωματική τάση. Η τελευταία, όπως καθορίζεται από το νόμο του Laplace, έχει άμεση σχέση με τη συστολική πίεση και το μέγεθος της καρδιάς. Έτσι, η MvO_2 συμβαδίζει με τις μεταβολές της καρδιακής συχνότητας, της πίεσης του αίματος και του μεγέθους της καρδιάς. Γενικά, η παροχή οξυγόνου σε ένα όργανο μπορεί να αυξηθεί με αύξηση είτε της ροής αίματος είτε της απόσπασης οξυγόνου από το αίμα (14).

Η στεφανιαία ροή αίματος ρυθμίζεται κυρίως με μεταβολές της στεφανιαίας αγγειακής αντίστασης. Αντιδρώντας σε μια μεταβολή της MvO_2 οι στεφανιαίες αρτηρίες μπορούν να διασταλούν ή να συσταλούν προκειμένου να μεταβληθεί κατάλληλα η στεφανιαία ροή. Η ρύθμιση της αντίστασης των αρτηριών συμβαίνει στο επίπεδο των αρτηριδίων και πραγματοποιείται με τη μεσολάβηση διαφόρων παραγόντων. Καθώς μεταβολίζεται η τριφωσφορική αδενοσίνη στη διάρκεια της αυξημένης δραστηριότητας του μυοκαρδίου, απελευθερώνεται αδενοσίνη η οποία δρα ως ισχυρό αγγειοδιασταλτικό. Διαστολή των στεφανιαίων αγγείων είναι επίσης δυνατόν να προκαλέσουν η κατά τον αυξημένο μεταβολισμό του μυοκαρδίου ελάττωση της τάσης του οξυγόνου και η αύξηση της τάσης του διοξειδίου του άνθρακα, καθώς επίσης η οξέωση και η υπερκαλαιμία (14).

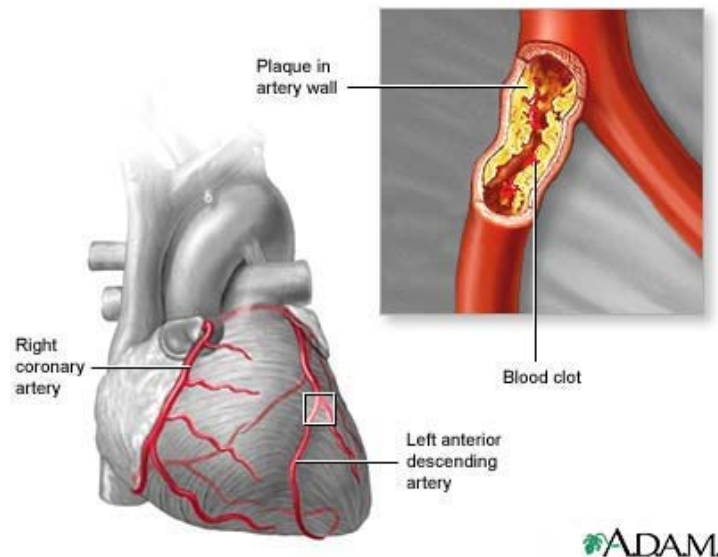
Οι στεφανιαίες αρτηρίες νευρώνονται από το αυτόνομο νευρικό σύστημα, και η ενεργοποίηση των συμπαθητικών ή των παρασυμπαθητικών νευρώνων μεταβάλλει τη στεφανιαία ροή αίματος, προκαλώντας μεταβολές του αγγειακού τόνου. Η ικανότητα των στεφανιαίων αγγείων να μεταβάλλουν την αιματική ροή, μεταβάλλοντας τον αγγειακό τόνο, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ακεραιότητα και φυσιολογική λειτουργία του ενδοθηλίου τους. Το ενδοθήλιο παράγει διάφορες ισχυρές αγγειοδιασταλτικές ουσίες, όπως είναι ο ενδοθηλιακός παράγοντας χάλασης(EDRF, endothelium-derived relaxing factor) και η προστακυκλίνη. Από το ενδοθήλιο παράγονται και αγγειοσυσπαστικοί παράγοντες, με πιο αξιοσημείωτη την ενδοθιλίνη. Η ισορροπία αυτών των αγγειοδιασταλτικών και αγγειοσυσπαστικών παραγόντων μπορεί να έχει μεγάλη σημασία σε καταστάσεις όπως ο σπασμός των στεφανιαίων αγγείων (14).

Εκτός από την επίδραση του στον τόνο των αγγείων, το ενδοθήλιο έχει και μερικές άλλες λειτουργίες με σημαντικές επιδράσεις στην αιματική ροή και στην αιμάτωση των ιστών. Τέτοιες λειτουργίες είναι η διατήρηση μη θρομβωτικής επιφάνειας μέσω αναστολής της δραστηριότητας των αιμοπεταλίων, ο έλεγχος της θρόμβωσης και της ινωδόλυσης και η διαμόρφωση της φλεγμονώδους αντίδρασης των αγγείων. Είναι πιθανόν ότι οι διαταραχές αυτών των φυσιολογικών ιδιοτήτων του ενδοθηλίου να παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της στεφανιαίας αθηροσκλήρυνσης και θρόμβωσης (14).

2.2 Στεφανιαία Νόσος

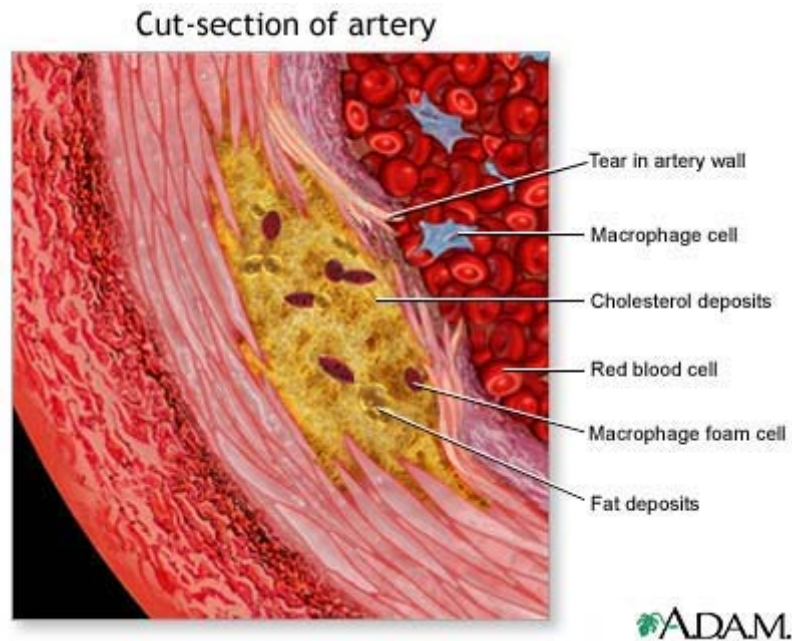
Το μυοκάρδιο δεν εξάγει οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά από το αίμα μέσα στους κόλπους και τις κοιλίες, αλλά για την αιμάτωσή του βασίζεται στην παροχή των στεφανιαίων αρτηριών. Στη στεφανιαία νόσο, μεταβολές σε μια ή περισσότερες από τις στεφανιαίες αρτηρίες προκαλούν ανεπαρκή παροχή αίματος στην καρδιά (ισχαιμία). Αποτέλεσμα αυτής της κατάστασης μπορεί να είναι η βλάβη του μυοκαρδίου στην πάσχουσα περιοχή και, όταν είναι αρκετά σοβαρή, ο θάνατος αυτού του τμήματος της καρδιάς (έμφραγμα του μυοκαρδίου ή καρδιακή προσβολή).

Πολλοί ασθενείς με στεφανιαία νόσο εμφανίζουν επαναλαμβανόμενα παροδικά επεισόδια ανεπαρκούς στεφανιαίας ροής αίματος προτού να πάθουν τελικά ένα έμφραγμα του μυοκαρδίου. Ο θωρακικός πόνος που σχετίζεται με αυτά τα επεισόδια λέγεται στηθάγχη.



Medical Encyclopedia Atherosclerosis

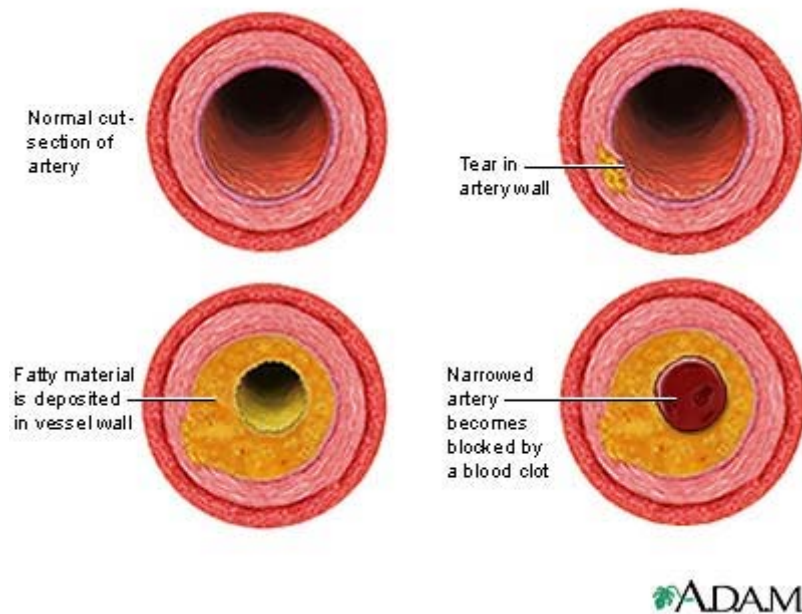
Τα κλινικά σύνδρομα της στεφανιαίας καρδιοπάθειας οφείλονται σε αθηροσκλήρυνση των επικαρδιακών στεφανιαίων αρτηριών. Η εξεργασία αυτή υπάρχει σε όλες σχεδόν τις ηλικίες και στα δύο φύλα, αλλά η έκταση της διαφέρει σε κάθε συγκεκριμένο άτομο και κατά ένα μέρος εξαρτάται από το γενετικό υπόστρωμα, τους παράγοντες κινδύνου και τις τοπικές αιμοδυναμικές συνθήκες. Το εναρκτήριο γεγονός είναι η βλάβη του αγγειακού ενδοθηλίου.



Medical Encyclopedia Atherosclerosis

Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου είναι η πρώτη διαταραχή που μπορεί να μετρηθεί στα αθηροσκληρωτικά αγγεία. Η αλλοίωση αυτή έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση μακροφάγων και λιπιδίων (κυρίως λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας) στη θέση της αγγειακής βλάβης. Οι χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL) οξειδώνονται και προσλαμβάνονται από τα μακροφάγα, δημιουργώντας αφρώδη κύτταρα. Σωροί τέτοιων αφρώδων κυττάρων αποτελούν την πρώτη ορατή αλλοίωση της αθηροσκλήρωσης, τη λιπώδη ράβδωση.

Η απελευθέρωση ενζύμων και τοξικών ουσιών από τα μακροφάγα προκαλεί απόπτωση του ενδοθηλίου, η οποία συνεπάγεται την προσκόλληση αιμοπεταλίων στη θέση της βλάβης. Καθώς η πλάκα ωριμάζει, αυξητικοί παράγοντες, προερχόμενοι από τα αιμοπετάλια και τα μακροφάγα, διεγείρουν τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό λείων μυϊκών κυττάρων και ινοβλαστών, με αποτέλεσμα το σχηματισμό είτε μιας ινώδους αλλοίωσης του έσω χιτώνα είτε μια ινώδους καλύπτρας επάνω από έναν πλούσιο σε λιπίδια πυρήνα. Με την περαιτέρω αύξηση της πλάκας ο αυλός του αγγείου γίνεται στενότερος και η ροή του αίματος στο αγγείο ελαττώνεται.



Medical Encyclopedia Atherosclerosis

Η συσσώρευση λιπιδίων μέσα στα μακροφάγα συνεπάγεται νέκρωση των κυττάρων αυτών, με αποτέλεσμα να μένει ελεύθερη μια δεξαμενή λιπιδίων στον πυρήνα της πλάκας. Τα ενεργοποιούμενα μακροφάγα και μαστοκύτταρα απελευθερώνουν μεταλλοπρωτεΐνες (π.χ κολλαγονάση, πηκτάση), που διασπούν τις πρωτεΐνες της μεσοκυττάριας ουσίας, ενώ T-λεμφοκύτταρα που βρίσκονται στην πλάκα, παράγουν κυτταροκίνες (π.χ ιντερφερόνη-γ), οι οποίες αναστέλλουν το σχηματισμό διαμέσου κολλαγόνου από τα λεία μυϊκά κύτταρα. Έτσι, σχηματίζεται μια ευπρόσβλητη πλάκα με πυρήνα έμφορτο λιπιδίων και με εξασθενημένη ινώδη καλύπτρα. Οι πλάκες αυτού του είδους είναι επιρρεπείς σε σχηματισμό ρωγμών ή σε ρήξη, ιδιαίτερα όταν αυξάνονται οι δυνάμεις διάσχισης(η πίεση μέσα στον αυλό).

Συχνά η ρήξη της πλάκας συμβαίνει στο κυρτό τμήμα της. Η δημιουργία ρωγμής στην περιοχή αυτή συνεπάγεται την αποκάλυψη και επαφή με την κυκλοφορία του κολλαγόνου και των λιπιδίων που έχουν έντονα θρομβογόνους ιδιότητες, με αποτέλεσμα το σχηματισμό θρόμβου μέσα στον αυλό. Τα ενεργοποιούμενα αιμοπετάλια μεσολαβούν στην πρόκληση αγγειοσύσπασης και

περαιτέρω αύξησης του θρόμβου, διακυβεύοντας απότομα τη στεφανιαία ροή αίματος (14).

2.3 Αθηροσκλήρωση, μια φλεγμονώδης νόσος

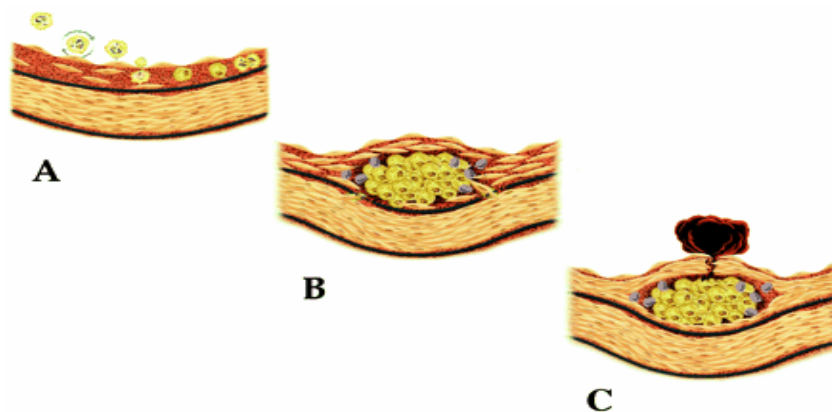
Η αθηροσκλήρωση έχει αναγνωρισθεί στις μέρες μας ως μία χρόνια φλεγμονώδη νόσο των μεγάλων αρτηριών. Όπως έχει αναφερθεί και πιο πάνω, η πρώτη ορατή αλλοίωση της αρτηρίας είναι η λιπώδης ράβδωση. Ιστολογικά, τα αφρώδη κύτταρα της λιπώδης ράβδωσης, τα οποία χαρακτηρίζουν τα πρώτα στάδια της δημιουργίας της πλάκας, προέρχονται από τα μακροφάγα κύτταρα. Με το χρόνο, τα λιπίδια καλύπτονται από ένα ινώδες ιστό ο οποίος προέρχεται κυρίως από τις αγγειακές λείες μυϊκές ίνες του αγγείου (SMCs), δημιουργώντας την ινώδη καλύπτρα. Ένας μεγάλος αριθμός T-λεμφοκυττάρων, περίπου 20%, έχει βρεθεί μέσα στη ινώδη καλύπτρα καθώς επίσης και γύρω από την πλάκα, αποκαλύπτοντας έτσι μια φλεγμονώδη κατάσταση.

Η φλεγμονή, που είναι «ένα σύνθετο σύστημα από αλληλεπιδράσεις ανάμεσα σε πρωτεΐνες και κύτταρα που ανέρχονται σε κάθε ιστό σαν απάντηση μιας τραυματικής, μολυσματικής, τοξικής ή αυτοάνοσης βλάβης», φαίνεται να εμπλέκεται σε όλα τα στάδια της αθηροσκλήρωσης. Εμπλέκεται στο σχηματισμό της λιπώδους ράβδωσης, όταν το ενδοθήλιο ενεργοποιεί τις χημοκίνες, συμπεριλαμβανομένου την MCP-1 (monocyte chemotactic protein) και την ιντερλευκίνη (IL)-8, και μόρια επούλωσης, συμπεριλαμβανομένου της ICAM-1 (intercellular adhesion molecule), VCAM-1 (vascular adhesion molecule), E- και P-selectin, οδηγώντας στην στρατολόγηση και διείσδυση των μονοκυττάρων/λεμφοκυττάρων στο ενδοθήλιο.

Πιο συγκεκριμένα, τα λεμφοκύτταρα διεισδύουν μέσα στην αρτηριακή βλάβη (σχήμα 2.3.1. Α). Πρόσφατες έρευνες έχουν αναγνωρίσει υποψήφια χημειοτακτικά μόρια υπεύθυνα για αυτήν την μετακίνηση. Για παράδειγμα, η MCP-1 (χημειοτακτική μονοκυττάρια πρωτεΐνη-1) φαίνεται υπεύθυνη για την άμεση μετακίνηση των

μονοκύτταρων μέσα στο ενδοθήλιο και το σχηματισμό της βλάβης του ενδοθηλίου. Επίσης μια οικογένεια από T-κύτταρα μπορούν να συμπεριληφθούν στα λεμφοκύτταρα τα οποία βρίσκονται μέσα στη βλάβη του ενδοθηλίου. Όταν εγκατασταθούν στο αρτηριακό τοίχος και μετά, τα κύτταρα του αίματος συμμετέχουν στη δημιουργία της τοπικής φλεγμονής (σχήμα 2.3.1. B). Τα μακροφάγα με τους υποδοχείς εκκαθάρισης τροποποιούν τις λιποπρωτεΐνες, με αποτέλεσμα να μπορούν να τις απορροφήσουν και στη συνέχεια να μετατραπούν σε αφρώδη κύτταρα. Σε συνεργασία με τη MCP-1 , το M-CSF (macrophage colony-stimulating factor) συμβάλλει στη διάκριση των μονοκυττάρων του αίματος εντός των αφρώδη κυττάρων. Παρομοίως, τα T-κύτταρα, που ενεργοποιούνται μέσω σημάτων, διεγείρουν την επεξεργασία φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως είναι η γ -ιντερλευκίνη και η λεμφοτοξίνη (παράγοντας νέκρωσης όγκου[TNF]- β), οι οποίες με τη σειρά τους διεγείρουν τα μακροφάγα, τα ενδοθήλια κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος και τα λεία μυϊκά κύτταρα. Καθώς η διεργασία αυτή συνεχίζεται, τα ενεργά λευκοκύτταρα και τα εσωτερικά αρτηριακά κύτταρα απελευθερώνουν φιμπρογινιδιακούς μεσολαβητές, συμπεριλαμβανομένων και μιας ποικιλίας από πεπτίδια παραγόντων ανάπτυξης. Τα πιο πάνω προάγουν την αντιγραφή των λείων μυϊκών κυττάρων και συμβάλλουν στην επεξεργασία μιας πιο πυκνής εξωκυττάριας θεμελειώδους ουσίας, η οποία προσδίδει μια πιο εξελιγμένη αρτηριακή βλάβη. Τέλος η φλεγμονώδης διαδικασία όχι μόνο προάγει την έναρξη και την εξέλιξη του αθηρώματος, αλλά συμβάλλει αποφασιστικά στην διεργασία της οξείας καθίζησης του θρόμβου του αθηρώματος (σχήμα 2.3.1. C). Οι περισσότεροι θρόμβοι της στεφανιαίας αρτηρίας που, προκαλούν θανατηφόρο οξύ εμφράγμα του μυοκαρδίου, δημιουργούνται μετά από διάρρηξη της αθηρωματικής πλάκας (135).

Σχήμα 2.3.1



2.4 Σταθερότητα της αθηρωματικής πλάκας και φλεγμονώδης αντίδραση

Γενικά μια αθηρωματική πλάκα περιέχει λιπίδια ή νεκρά κύτταρα τα οποία καλύπτονται από μια ινώδης καλύπτρα που αποτελείται από λεία μυϊκά κύτταρα και εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Στη βάση της πλάκας βρίσκονται τα αφρώδη κύτταρα και T-λεμφοκύτταρα. Η αθηρωματική πλάκα χαρακτηρίζεται από 2 φαινότυπους με βάση την αναλογία των συστατικών της: 1)Τη σταθερή πλάκα, η οποία περιέχει ένα μικρό αριθμό λιπιδίων που απομονώνονται από μία παχιά, στο μεγαλύτερο μέρος της, ινώδους καλύπτρα. Η καλύπτρα της σταθερής πλάκας αποτελείται κυρίως από λεία μυϊκά κύτταρα και εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. 2)Την ασταθή πλάκα, που περιέχει μεγάλα μόρια λιπιδίων και καλύπτονται από μία λεπτή ινώδης καλύπτρα και ένα μεγάλο αριθμό φλεγμονωδών κυττάρων. Η σταθερή πλάκα σχετίζεται περισσότερο με το κίνδυνο της στένωσης αγγείων ενώ η ασταθής πλάκα σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης έμφραγμα του μυοκαρδίου μετά από τη ρήξη της (145).

Ο μηχανισμός της ρήξης της ασταθής πλάκας δεν είναι πλήρως κατανοητός. Παρ'όλα αυτά σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζουν να μακροφάγα και τα T-λεμφοκύτταρα. Τα μακροφάγα και τα T-λεμφοκύτταρα μπορούν να προκαλέσουν τη παραγωγή μεταλλοπρωτεϊνών της μήτρας (MMPs) οι οποίες φαίνεται ότι καταστρέφουν τη λεπτή καλύπτρα της πλάκας με αποτέλεσμα τη ρήξη της. Επίσης, διάφορες κυττοκίνες όπως η TNF, η IL-1 και η MG-CSF που βρίσκονται στη βλάβη του αγγειακού επιθηλίου ίσως να διεγείρουν το σχηματισμό των MMPs. Τα T-κύτταρα προσδένονται με τα μακροφάγα μέσω του CD-40 υποδοχέα και προάγουν έτσι το σχηματισμό των MMPs. Ακόμη τα T-λεμφοκύτταρα μπορούν να επηρεάσουν τη σταθερότητα της πλάκας μέσω της απελευθέρωσης του INF- γ , ο οποίος αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων και την παραγωγή των κυττάρων της θεμέλιας ουσίας (145).

2.5 Θρομβογένεση

Η δημιουργία θρόμβου μπορεί να προκαλέσει ένα ήπιο έμφραγμα του μυοκαρδίου ή ένα ξαφνικό θάνατο. Παρόλο που σπάνια δημιουργείται θρόμβωση σε μία στεφανιαία ή μία εγκεφαλική αρτηρία, αυτό επιφέρει καταστροφικά αποτελέσματα. Σε αντίθεση με τις περιφερειακές φλέβες όπου οι θρομβώσεις είναι συχνές. Η θρόμβωση προκαλεί απόφραξη της στεφανιαίας αρτηρίας και συμβαίνει σε ασθενείς με υποβόσκουσα αρτηριοσκληρωτική στεφανιαία νόσο (1).

Η θρόμβωση μπορεί να λάβει χώρα στο σημείο στο οποίο προϋπάρχει αρτηριοσκληρωτική πλάκα ή σε ένα άλλο πιο περιφερειακό σημείο, ύστερα από αποκόλληση και μεταφορά του πύργματος. Ο θρόμβος συνήθως αρχίζει σε ένα σημείο όπου η αθηρωματική πλάκα έχει αναπτυχθεί τόσο πολύ ώστε να έχει διανοιχθεί διά μέσου του εσωτερικού χιτώνα και να έρχεται σε επαφή με το ρέον αίμα. Λόγω του ότι η πλάκα αποτελεί μία μη λεία επιφάνεια για το αίμα, αιμοπετάλια αρχίζουν να προσκολλώνται σε αυτήν, ινωδογόνο εναποτίθεται, και κύτταρα αίματος παγιδεύονται σε αυτό το σημείο δημιουργώντας ένα πύγμα το οποίο αναπτύσσεται μέχρι να αποκλείσει το αγγείο. Σε άλλη περίπτωση, το πύγμα αποσχίζεται από το σημείο αναπτύξεώς του και μεταφέρεται με τη ροή του αίματος σε ένα πιο περιφερικό σημείο της στεφανιαίας αρτηρίας, με αποτέλεσμα τον αποκλεισμό της αρτηρίας σε εκείνο το σημείο (1).

Το αίμα μπορεί να είναι επιδεκτικό στη θρόμβωση όταν υπάρχουν ανωμαλίες στα αιμοπετάλια, στο ινωδολυτικό και στο σύστημα πήξεως του αίματος. Αυξημένα επίπεδα ορισμένων παραγόντων πήξεως θεωρούνται παράγοντες κινδύνου εμφάνισεώς οξέων επεισοδίων (1).

2.6 Ισχαιμία του μυοκαρδίου

Η ισχαιμία του μυοκαρδίου είναι κατάσταση ελαττωμένης αιμάτωσης, κατά την οποία η παροχή οξυγόνου στο μυοκάρδιο δεν επαρκεί για την κάλυψη των μεταβολικών απαιτήσεών του. Αποτέλεσμα αυτής της ανισορροπίας είναι οι εκδηλώσεις της στεφανιαίας νόσου. Η αθηροσκληρυνση αλλοιώνει τη λειτουργία του ενδοθηλίου και μπορεί να μειώσει την ικανότητα του αγγείου να διαστέλλεται. Όταν υπάρχει μόνιμη στένωση μιας στεφανιαίας αρτηρίας, το περιφερικό τμήμα της είναι δυνατόν κατά την ηρεμία να βρίσκεται σε κατάσταση μέγιστης ή σχεδόν μέγιστης διαστολής. Στη διάρκεια περιόδων αυξημένων απαιτήσεων, η ικανότητα της στενωτικής αρτηρίας να διασταλεί περισσότερο θα είναι περιορισμένη, με αποτέλεσμα τη δυσαναλογία παροχής απαιτήσεων και τη συνακόλουθη ισχαιμία. Η οξεία θρόμβωση μιας στεφανιαίας αρτηρίας λόγω ρήξης αθηροσκληρυντικής πλάκας, ο οξύς σπασμός μιας στεφανιαίας αρτηρίας είναι δυνατόν να περιορίσουν τη στεφανιαία ροή αίματος σε τέτοιο βαθμό ώστε να υπάρχει ισχαιμία και κατά την ηρεμία.

Ο θωρακικός πόνος και οι ισχαιμικές ηλεκτροκαρδιογραφικές αλλοιώσεις είναι σχετικά όψιμες εκδηλώσεις της ισχαιμικής αντίδρασης. Όταν η ισχαιμία είναι παροδική, η διάρκεια της δυσλειτουργίας μπορεί να είναι μικρή. Η μεγαλύτερης διάρκειας ισχαιμίας μπορεί να προκαλέσει καταπληξία, αδράνεια ή έμφραγμα μυοκαρδίου. Η καταπληξία είναι παρατεταμένη περίοδος αναστρέψιμης δυσλειτουργίας του μυοκαρδίου μετά από ισχαιμικό επεισόδιο.

Η ισχαιμία συνεπάγεται μεταβολή της μεταφοράς ιόντων και του αυτόνομου τόνου και ανατομική βλάβη του συστήματος αγωγής, με αποτέλεσμα να προκαλεί διάφορες αρρυθμίες και διαταραχές της αγωγιμότητας (14).

2.7 Στηθάγχη

Η στηθάγχη είναι αποτέλεσμα της στένωσης μιας στεφανιαίας αρτηρίας που περιορίζει τη ροή αίματος στην αρτηρία αυτή και εμφανίζεται όταν αυξάνονται οι

μυοκαρδιακές απαιτήσεις σε οξυγόνο λόγω σωματικής ή συναισθηματικής υπερέντασης. Η στηθάγχη περιγράφεται ως σπλαχνική θωρακική δυσφορία που οφείλεται σε παροδική ισχαιμία του μυοκαρδίου. Η δυσφορία μπορεί να συνοδεύεται από δύσπνοια, εφίδρωση, ναυτία ή αίσθημα παλμών.

Υπάρχουν τρεις τύποι στηθάγχης η σταθερή, η ασταθής και η στηθάγχη Prinzmetal όπως μπορείτε να δείτε στον πίνακα 1:

Τύπος	Μορφή	Συνήθης ανωμαλία των στεφανιαίων
Σταθερή	Χρόνιος αμετάβλητος τρόπος πρόκλησης και υποχώρησης. Προκαλείται από σωματική δραστηριότητα ή συναισθηματική επιβάρυνση· διαρκεί 5-10 λεπτά, υποχωρεί με ανάπαυση ή υπογλώσσια νιτρογλυκερίνη	>70% αθηροσκληρυντική στένωση
Ασταθής	Πρόσφατη αύξηση της συχνότητας ή της βαρύτητας της στηθάγχης, ειδικά πόνος σε ηρεμία· στηθάγχη μετά από έμφραγμα μυοκαρδίου. Μπορεί να διαρκεί περισσότερο και να ανταποκρίνεται λιγότερο στην υπογλώσσια νιτρογλυκερίνη	Πλάκα με ρωγμή και θρόμβος αιμοπεταλίων και ινώδους συμβάλλουν στη στένωση
Στηθάγχη Prinzmetal ή παραλλαγή στηθάγχης	Τυπικά μη προβλέψιμος πόνος σε ηρεμία, συχνή εμφάνιση νωρίς το πρωί	Σπασμός σε αγγειογραφικά φυσιολογικό αγγείο ή σε περιοχή μόνιμης αλλά όχι συχνά στενωτικής αλλοίωσης

Πίνακας 1. Τύποι στηθάγχης

3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

3.1 Κοινωνικοοικονομικοί παράγοντες

Η σχέση μεταξύ κοινωνικής θέσης και στεφανιαίας νόσου στο Ηνωμένο Βασίλειο έχει καλά μελετηθεί. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα άτομα που βρίσκονται σε κατώτερη κοινωνική τάξη βρίσκονται σε υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου.

Η Scottish heart health study μελέτησε σε άνδρες και σε γυναίκες τη σχέση μεταξύ των κύριων παραγόντων κινδύνου της στεφανιαίας νόσου και των κοινωνικών παραγόντων. Οι τέσσερις πιο κύριοι παράγοντες κινδύνου της στεφανιαίας νόσου που μελετήθηκαν ήταν το κάπνισμα, τα επίπεδα ολικής-χοληστερόλης ορού, αρτηριακή πίεση και παχυσαρκία. Οι κοινωνικοί παράγοντες που μελετήθηκαν ήταν η κοινωνική τάξη, το επίπεδο μόρφωσης και το επαγγελματικό κύρος.

Τα αποτελέσματα της μελέτης ήταν τα εξής: όλοι οι παράγοντες κινδύνου, εκτός από τα επίπεδα της ολικής-χοληστερόλης ορού στους άνδρες, έδειξαν μεγάλη διαφοροποίηση ανάμεσα στις κοινωνικές τάξεις με τα άτομα που βρίσκονταν στην κατώτερη κοινωνική τάξη να βρίσκονται σε υψηλότερο κίνδυνο (43).

3.2 Δυσλιπιδαιμία και HDL

Αποτελέσματα της SHEP μελέτης επιβεβαιώνουν την παρατήρηση ότι υψηλά επίπεδα χοληστερόλης είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για τα καρδιαγγειακά σε ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες. Επίσης υψηλά επίπεδα χοληστερόλης είναι παράγοντας κινδύνου και για τους μεσήλικες άνδρες με βάση τα δεδομένα από την Framingham study καθώς και άλλες μελέτες.

Οι λιπαρές γραμμώσεις, έχουν σαν χαρακτηριστικό τη συσσώρευση κυττάρων φλεγμονής και χοληστερόλης. Αυτές οι λιπαρές γραμμώσεις εξελίσσονται σε αθηρωσκληρωτικές πλάκες που περιέχουν λιπίδια, λεία μυϊκά κύτταρα και συνδετικό ιστό.

Η SHEP έδειξε ότι αύξηση κατά 40 mg/dL της ολικής-χοληστερόλης επέφερε 20% αύξηση στα καρδιαγγειακά επεισόδια. Επίσης η αύξηση κατά 10% της ολικής-χοληστερόλης (23.6 mg/dL) είχε συσχετιστεί με αύξηση κατά 11% ή 12% των καρδιαγγειακών επεισοδίων. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής συμφωνούν και με άλλες επιδημιολογικές μελέτες σε ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες.

Στοιχεία από επιδημιολογικές και επιστημονικές μελέτες δείχνουν ξεκάθαρα ότι χαμηλά επίπεδα της λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας (HDL) χοληστερόλης προάγει τον κίνδυνο δημιουργίας της αθηροσκλήρωσης και της στεφανιαίας νόσου. Η προστατευτική δράση της αυξημένης HDL-χοληστερόλης οφείλεται, εν μέρει, από τη διαμεσολάβηση ενός συστατικού της, την απολιποπρωτεΐνης A-1 (αποA-1). Μέσω της αποA-1 η HDL μετατρέπει την ελεύθερη χοληστερόλη σε εστέρες χοληστερόλης. Η ελεύθερη χοληστερόλη προέρχεται από την πλασματική μεμβράνη των κυττάρων ή τις επιφάνειες των άλλων λιποπρωτεϊνών. Έτσι η HDL προάγει την καθαρή μεταφορά της χοληστερόλης έξω από τα μη ηπατικά κύτταρα και τις λιποπρωτεΐνες.

Ακόμη ένας μεγάλος αριθμός στοιχείων δείχνουν την αντίστροφη σχέση μεταξύ υψηλών επιπέδων HDL-χοληστερόλης και καρδιαγγειακών. Αναλύσεις από την Framingham Heart Study και Helsinki Heart Study δείχνουν μείωση κατά 3% των θανάτων ή καρδιακών προσβολών με 1% αύξηση της HDL-χοληστερόλης. Ενώ έχει διατυπωθεί η άποψη της ευεργετικής επίδρασης της HDL, η οποία οφείλεται στο γεγονός ότι η HDL παίζει καθοριστικό ρόλο στο μηχανισμό της αναστροφής μεταφοράς χοληστερόλης από τους περιφερικούς ιστούς στο ήπαρ, υπάρχει αυξημένη ενημέρωση γύρω από άλλους προστατευτικούς ρόλους της HDL. Συγκεκριμένα οι

προστατευτικοί ρόλοι οφείλονται στα αντιοξειδωτικά(αναστολή της οξείδωσης της LDL) και αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα της (88-94).

3.3 LDL

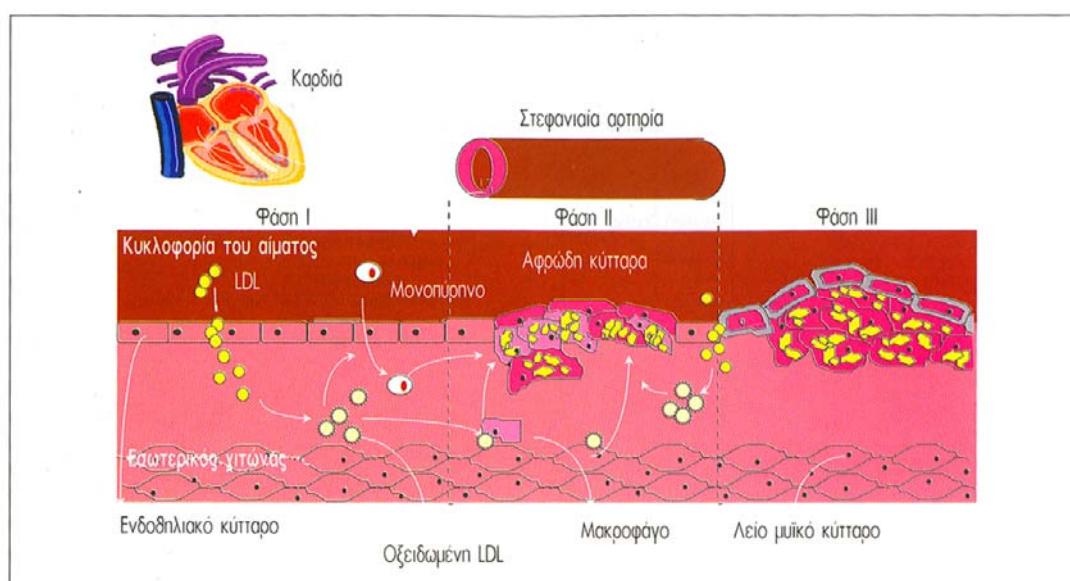
Οι LDL είναι κατ' εξοχήν αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες. Έτσι, η αύξηση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου.

Στο αγγειακό τοίχωμα οι LDL υφίστανται χημική τροποποίηση του μορίου τους και συγκεκριμένα οξείδωση από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου που παράγονται τοπικά. Η ελάχιστα τροποποιημένη LDL στη συνέχεια επάγει την παραγωγή από τα παρακείμενα κύτταρα του τοιχώματος των αγγείων χημειοτακτικών καθώς και αυξητικών παραγόντων, που προάγουν την είσοδο των κυκλοφορούντων μονοπύρηνων στο αγγειακό τοίχωμα και την περαιτέρω διαφοροποίησή τους σε μακροφάγα. Τα μακροφάγα του αγγειακού τοιχώματος επάγουν την οξείδωση των LDL. Η πλήρως οξειδωμένη LDL, εξαιτίας του αυξημένου αρνητικού φορτίου της, αναγνωρίζεται από ειδικούς υποδοχείς εκκαθαριστές των μακροφάγων. Σε αντίθεση με τους φυσιολογικούς LDL υποδοχείς, η δραστηριότητα των εκκαθαριστών υποδοχέων δεν εξαρτάται από την ενδοκυττάρια συγκέντρωση χοληστερόλης. Έτσι, μεγάλες ποσότητες LDL εισέρχονται στα μακροφάγα, που γεμίζουν με λίπος και μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα ο σχηματισμός των οποίων αποτελεί το πρώτο βήμα για τη δημιουργία και της εξέλιξη της αθηρωμάτωσης(εικόνα 3.3.1.).

Η οξειδωμένη LDL έχει άμεση χημειοτακτική δράση και αυξάνει την είσοδο των περιφερικών μονοπύρηνων στο αγγειακό τοίχωμα, ενώ, παράλληλα, διεγείρει τη

σύνδεσή τους με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα μονοκύτταρα που διαπερνούν το ενδοθήλιο παραμένουν στον υποπενδοθηλιακό χώρο, καθόσον η οξειδωμένη LDL εμποδίζει την έξοδό τους από το αγγειακό τοίχωμα. Η οξειδωμένη LDL είναι επίσης κυτταροτοξική για τα κύτταρα του τοιχώματος των αγγείων και προάγει της απελευθέρωση λιπιδίων και λυσοσωματικών ενζύμων στο εξωκυττάριο χώρο του έσω χιτώνα, με αποτέλεσμα την επιτάχυνση της αθηρωματικής διαδικασίας. Επιπρόσθετα, η συσσώρευση οξειδωμένης LDL στα τοιχώματα των αγγείων διαταράσσει τη φυσιολογική λειτουργία του ενδοθηλίου και τη δράση του οξειδίου του αζώτου με αποτέλεσμα συσσώρευση αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων και αγγειοσπασμό.

Επίσης η παρουσία μικρών και πυκνών LDL αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης πρώιμης αθηρωματικής νόσου σε σύγκριση με την παρουσία μεγαλύτερων και πιο ελαφρών σωματιδίων LDL. Αυτό οφείλεται: 1) στην ευκολότερη διείσδυση αυτών των σωματιδίων στο αγγειακό τοίχωμα, 2) στη αυξημένη ευαισθησία τους στην οξείδωση και 3) στο μειωμένο καταβολισμό τους διαμέσου των φυσιολογικών LDL υποδοχέων, που έχει ως αποτέλεσμα της αύξησης του χρόνου ημίσειας ζωής της και την παραμονή τους στο αγγειακό τοίχωμα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. (1)



Εικόνα 3.3.1 Στάδια αθηρογένεσης: Η LDL εισέρχεται στο αρτηριακό τοίχωμα

3.4 Κατανάλωση Οινοπνεύματος

Πολλοί βιολογικοί μηχανισμοί έχουν προσπαθήσει να εξηγήσουν την αρνητική συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης οινοπνεύματος και καρδιαγγειακής νόσου ανάμεσα στον πληθυσμό. Επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι η αυξημένη κατανάλωση οινοπνεύματος (>210γρ/εβδομάδα) συσχετίζεται θετικά με την υπέρταση σε σχέση με την μηδενική κατανάλωση.

Όμως επιδημιολογικά δεδομένα δείχνουν ότι η μέτρια κατανάλωση οινοπνεύματος αυξάνει τα επίπεδα της HDL-χοληστερόλης καθώς μειώνει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και αυξάνει την ινολυτική δραστηριότητα. Αυτοί οι υποθετικοί μηχανισμοί είναι ακόμα πιο σημαντικοί για τους διαβητικούς, όπου η δυσλιπιδαιμία και θρομβογενετικές διαταραχές είναι πιο συχνές από ότι στο γενικό πληθυσμό. Επιπρόσθετα, η υπερινσουλιναμία, που έχει ενοχοποιηθεί ως παράγοντας κίνδυνου για την καρδιαγγειακή νόσο, και μέτρια κατανάλωση οινοπνεύματος έχουν αναφερθεί ότι μειώνουν τα επίπεδα ινσουλίνης, συνεπώς και τον κίνδυνο της καρδιαγγειακής νόσου.

Συμπερασματικά επιδημιολογικές μελέτες υποδεικνύουν ότι μέτρια κατανάλωση οινοπνεύματος μειώνει τον κίνδυνο της καρδιαγγειακής θνησιμότητας σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη όπως επίσης συμβαίνει και στο γενικό πληθυσμό (44-51).

3.5 Κάπνισμα

Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι το κάπνισμα είναι κύριος παράγοντας κινδύνου για την αθηροσκλήρωση και την στεφανιαία νόσο. Ένας από τους

μηχανισμούς για το οποίο μπορεί να εξασκήσει παθολογική επιρροή είναι η αύξηση του οξειδωτικού στρες. Επίσης ο καπνός του τσιγάρου φαίνεται πως καταστρέφει κατευθείαν το αγγειακό ενδοθήλιο και προάγει τη δημιουργία της θρόμβωσης και της αθηρογένεσης.

Paraoxonase (PON) είναι ένα ένζυμο του ορού το οποίο είναι εντελώς συσχετισμένο με την HDL. Μια πρόσφατη υπόθεση εισηγείται ένα αντιοξειδωτικό ρόλο του PON στη προστασία της LDL από την οξειδωτική τροποποίηση. Το κάπνισμα είναι ένας ισχυρός παράγοντας κινδύνου για την καρδιαγγειακή νόσο. Το οξειδωτικό στρες θεωρείται ο κύριος, παθολογικός μηχανισμός του καπνίσματος, προκαλώντας τη σημαντική οξείδωση του PON. Πολλές μελέτες αποδεικνύουν μεγάλη ευαισθησία στην οξείδωση της LDL καθώς επίσης υψηλά επίπεδα οξειδωμένης LDL σε καπνιστές. Επομένως το κάπνισμα εξασθενεί τον αμυντικό μηχανισμό του οργανισμού ενάντια της οξείδωσης.

Το κάπνισμα έχει συσχετιστεί με μείωση της δράσης και της συγκέντρωσης της paraoxonase του ορού, το οποίο επανέρχεται στα φυσιολογικά επίπεδα όταν υπάρξει διακοπή του καπνίσματος. Χαμηλά επίπεδα PON ορού συνδέονται με στεφανιαία νόσο και χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού. Επίσης το παθητικό κάπνισμα αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου (52-55 και 3).

3.6 Φυσική Δραστηριότητα

Επιδημιολογικές μελέτες επισημάνουν τα οφέλη της φυσικής δραστηριότητας στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Παρ' όλα αυτά, περισσότερο από το 60% των ενηλίκων Αμερικάνων δεν ασκούνται τακτικά.

Μερικές μελέτες εισηγούνται ότι μόνο η έντονη άσκηση επιφέρει θετικά αποτελέσματα για τη στεφανιαία νόσο, ενώ άλλες μελέτες προτείνουν μέτριας έντασης άσκηση για τη μείωση της εμφάνισης της στεφανιαίας νόσου. Δύο πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι η ενσωμάτωση μέτριας-έντασης άσκησης στην καθημερινότητα μας επιφέρει πολλά οφέλη όσον αφορά τις καρδιαγγειακές νόσους σε σχέση με έντονα προγράμματα γυμναστικής.

Κλινικές μελέτες δείχνουν ότι η άσκηση μειώνει τη πίεση την αρτηριακή πίεση, το σωματικό βάρος, και βελτιώνουν την σύσταση του σώματος, την ανοχή της γλυκόζης και την ινσουλινική ευαισθησία. Επίσης η άσκηση μειώνει τα επίπεδα λιπιδίων, την θρομβογένεση και αυξάνει τα επίπεδα της HDL-χοληστερόλης.

Συμπερασματικά, η φυσική δραστηριότητα συσχετίζεται με την καρδιαγγειακή νόσο σε σχήμα-L. Ηλικιωμένοι άνδρες πρέπει να καταναλώνουν τουλάχιστον 4200 kJ/εβδομάδα στην άσκηση για να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισης της καρδιαγγειακής νόσου κατά 20% (56-66).

3.7 Υπέρταση

Προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει μια γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συστολικής και της διαστολικής υπέρτασης και του κινδύνου εμφάνισης εμφράγματος. Επίσης με τη θεραπεία της υπέρτασης έχουμε αποτελεσματική και έγκαιρη πρόληψη του εμφράγματος. Η Perindopril Protection Against Recurrent Stroke Study (PROGRESS) έχει δείξει ότι η μείωση της αρτηριακής πίεσης μειώνει τον κίνδυνο του εμφράγματος και άλλα καρδιακά νοσήματα σε ασθενείς με καρδιακό επεισόδιο ή έμφραγμα (67).

Επίσης η μεμονωμένη συστολική υπέρταση θεωρείται σήμερα ως ένας φασικός παράγοντας κινδύνου για την πρόκληση στεφανιαίας νόσου και αγγειακών

επεισοδίων σε ηλικιωμένα άτομα. Τα επιθυμητά επίπεδα αρτηριακής πίεσης είναι <140/90 mmHg ενώ για τους διαβητικούς ασθενείς είναι ακόμα πιο χαμηλά όπως επίσης και σε ασθενείς με νόσο του νεφρικού παρεγχύματος. Στους ασθενείς αυτούς τιμές διαστολικής αρτηριακής πίεσης μικρότερες από 80mmHg είναι απαραίτητες για την επιβράδυνση της εξέλιξης της νεφρικής βλάβης (1).

3.8 Παχυσαρκία

Η παχυσαρκία επηρεάζει την καρδιακή λειτουργία, αυξάνει το κίνδυνο εμφάνισης της στεφανιαίας νόσου και είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την στεφανιαία νόσο. Ο κίνδυνος για ανάπτυξη της στεφανιαίας νόσου συσχετίζεται άμεσα από τους παράγοντες κινδύνου της παχυσαρκίας. Μέτρια απώλεια σωματικού βάρους μπορεί να βελτιώσει την διαστολική πίεση και ταυτόχρονα να επηρεάσει θετικά τους παράγοντες κινδύνου της στεφανιαίας νόσου (ινσουλινοαντίσταση και σακχαρώδη διαβήτης τύπου 2, δυσλιπιδαιμία, υπέρταση και φλεγμονή).

Η ινσουλινική ευαισθησία, και ο μεταβολισμός της γλυκόζης, βελτιώνεται ραγδαία μετά από μια υποθερμιδική δίαιτα πριν ακόμα επιτύχουμε απώλεια σωματικού βάρους και συνεχίζει να βελτιώνεται με τη συνέχιση της απώλειας βάρους. Παχύσαρκοι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 μπορούν να μειώσουν τη συγκέντρωση της γλυκόζης αίματος, της ινσουλίνης και της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης A1c καθώς και τη βελτίωση στον έλεγχο του διαβήτη μετά από απώλεια 5% του σωματικού βάρους σε ένα χρόνο. Ακόμη με την μέτρια απώλεια σωματικού βάρους μπορεί να προληφθεί η ανάπτυξη του διαβήτη σε άτομα που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο εμφάνισης του (στα άτομα που είναι υπέρβαρα ή παχύσαρκα).

Απώλεια βάρους μειώνει την συγκέντρωση της LDL-χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων ορού, αυξάνοντας παράλληλα την συγκέντρωση της HDL-χοληστερόλης ορού. Η διατήρηση >5% της απώλειας σωματικού βάρους είναι

αναγκαία για να συγκρατήσει τα επίπεδα τριγλυκεριδίων χαμηλά ενώ η LDL-χοληστερόλη χρειάζεται τη διατήρηση πάνω από το 10% απώλειας βάρους για να μην επανέλθει στα αρχικά υψηλά επίπεδα.

Η σχέση της υπέρτασης με την παχυσαρκία και μάλιστα την κεντρικού τύπου, έχει καθοριστεί από μεγάλο αριθμό μελετών μέχρι σήμερα και έχει παρατηρηθεί ότι υπέρταση και ΔΜΣ συνδέονται με ευθεία γραμμική συσχέτιση, καθώς μικρή μείωση του περιττού βάρους είναι δυνατόν να μειώσει την αρτηριακή πίεση. Μείωση του σωματικού βάρους με υποθερμιδική δίαιτα μπορεί να προλάβει την ανάπτυξη της υπέρτασης σε υπέρβαρα ή παχύσαρκα άτομα.

Η παχυσαρκία έχει συσχετιστεί με αύξηση των δεικτών φλεγμονή στην κυκλοφορία, συμπεριλαμβανομένης της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) και τις κυτταροκίνες (ιντερλευκίνη-6, ινερλευκίνη-8 και P-selectin). Στοιχεία από μελέτες με διάρκεια 3 μηνών μέχρι 2 χρόνια έχουν δείξει ότι η απώλεια βάρους μειώνει τα επίπεδα της CRP στο πλάσμα. Η μείωση της CRP έχει συσχετιστεί άμεσα με την απώλεια βάρους, τη λιπώδη μάζα και τη μείωση της περιφέρειας μέσης.

Στοιχεία από μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες αποκάλυψαν ότι η παχυσαρκία σχετίζεται με την αύξηση της στεφανιαίας θνησιμότητας. Εκτός αυτού, ο ρυθμός θανάτων από καρδιαγγειακή νόσο έχει συσχετιστεί με το Δείκτη Μάζα Σώματος (ΔΜΣ) σε άνδρες και γυναίκες. Ο κίνδυνος θνησιμότητας της στεφανιαίας νόσου σε έναν παχύσαρκο με ΔΜΣ $>35 \text{ kg/m}^2$ είναι 2 με 3 φορές υψηλότερος σε σχέση με έναν φυσιολογικού βάρους άτομο (ΔΜΣ $18,5\text{-}24,9 \text{ kg/m}^2$), και 30% υψηλότερη θνησιμότητα από καρδιακή νόσο σε κάθε αύξηση 5-μονάδων του ΔΜΣ. Επίσης, η παχυσαρκία στην εφηβεία έχει φανεί να αυξάνει το κίνδυνο της θνησιμότητας από καρδιακή νόσο κατά 130% όταν ενηλικιωθούν (68-86).

3.8 Σακχαρώδης Διαβήτης

Κύρια αιτία θανάτου των διαβητικών ασθενών είναι η στεφανιαία νόσο, και ο κίνδυνος της καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνησιμότητας είναι σημαντικά πιο υψηλός σε διαβητικούς σε σύγκρισή με μη-διαβητικούς. Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι επίσης ισχυρός παράγοντας κινδύνου κυρίως στις γυναίκες και περιορίζει τη σχετική προστασία των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών από τη στεφανιαία νόσο.

Υπερχοληστερολαιμία, υπερινωδογοναιμία, υπέρταση και άλλοι παράγοντες κινδύνου της αθηροσκλήρωσης είναι επίσης σημαντικές για το διαβητικό ασθενή. Ακόμη υπερτριγλυκεριδαμία, χαμηλά επίπεδα της HDL-χοληστερόλης και μικρά, πυκνά LDL σωματίδια είναι χαρακτηριστικά των διαβητικών ασθενών τύπου 2. Μικρά και πυκνά LDL σωματίδια έχουν συσχετιστεί με άλλες μεταβολικές διαταραχές και είναι σημαντικά στη δημιουργία της αθηροσκλήρωσης. Επιπρόσθετα, σημαντικό ρόλο φαίνεται ότι διαδραματίζει και η ίδια η αύξηση των επιπέδων γλυκόζης.

Έτσι, οι πρόσφατες οδηγίες για τη θεραπεία του διαβήτη συνιστούν επιθετική αντιμετώπιση των παραγόντων κινδύνου σε διαβητικούς ασθενείς (87 και 1).

3.9 Φλεγμονή και Αθηρωμάτωση

Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει γνωστό ότι η δραστηριότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων καθώς και των μακροφάγων/μονοκυττάρων παίζουν σημαντικό ρόλο στην αθηροσκλήρωση και στην αρτηριοσκληρωτική πλάκα καθορίζοντας έτσι την ραγδαία εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου.

Μελέτες δείχνουν ότι η φλεγμονή είναι ένας καθοριστικός παράγοντας για την εξέλιξη της αρτηριοσκλήρωσης και της στεφανιαίας νόσου και ότι τα μόρια όπως είναι το CRP (C-reactive protein), neopterin και CAMs (cellular adhesion molecules) δεν είναι μόνο δείκτες φλεγμονής και καρδιαγγειακού κινδύνου αλλά επίσης παίζουν παθογενετικό ρόλο στο αθηρωματική πλάκα και στην ραγδαία εξέλιξη της αγγειακής στένωσης. Επιπλέον, στην Physicians Health Study (PHS), άνδρες οι οποίοι είχαν αυξημένα επίπεδα sICAM-1 φάνηκε πως είχαν αυξημένο κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου και στην Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study, οι συμμετέχοντες που είχαν τις υψηλότερες τιμές στο sICAM-1 είχαν 5 φορές περισσότερο κίνδυνο για αρτηριοσκλήρωση της στεφανιαίας και της καρωτιδιαίας αρτηρίας από εκείνους με τις χαμηλότερες τιμές. Όσον αφορά τη σχέση μεταξύ CRP και στεφανιαίας νόσου, η Global Evaluation of New Events and Restenosis After Stent Implantation (GENERATION) study έδειξε ότι η φλεγμονή που σχετίζεται με την ενδοθηλιακή κυτταρική δραστηριότητα, ως ανταπόκριση των υψηλών επιπέδων CRP και sICAM-1, είναι πιθανόν να ευθύνεται για την δημιουργία της αθηρωματικής πλάκας και της στένωσης της αρτηρίας.

Τα επίπεδα ορού του Neopterin, μόριο που ενεργοποιείται από τα μακροφάγα μετά από διέγερση της ινερφερόνης-γ, είναι υψηλά σε ασθενείς με οξεία στεφανιαία συμπτώματα σε σχέση με ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο και συσχετίζονται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο καθώς επίσης και αυξημένα επίπεδα της MMP-9 (30-36).

3.10 Υπερομοκυστεϊναιμία

Αυξημένα επίπεδα της ομοκυστεϊνης νηστείας ίσως να αποτελούν ανεξάρτητο κίνδυνο για την εμφάνιση πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου, εμφράγματος του μυοκαρδίου, περιφερικής αγγειοπάθειας, αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων, αγγειοπάθειας μετά από μεταμόσχευση καρδιάς, και γενικότερα αύξηση της

καρδιαγγειακής θνησιμότητας. Η αύξηση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης μπορεί να οφείλεται σε διάφορους γενετικούς και διατροφικούς παράγοντες, όπως η έλλειψη του φυλλικού οξέος και η ανεπάρκεια των βιταμινών B12 και B6. Η θεραπεία υποκατάστασης με αυτούς τους παράγοντες μπορεί να μειώσει σημαντικά τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης (1).

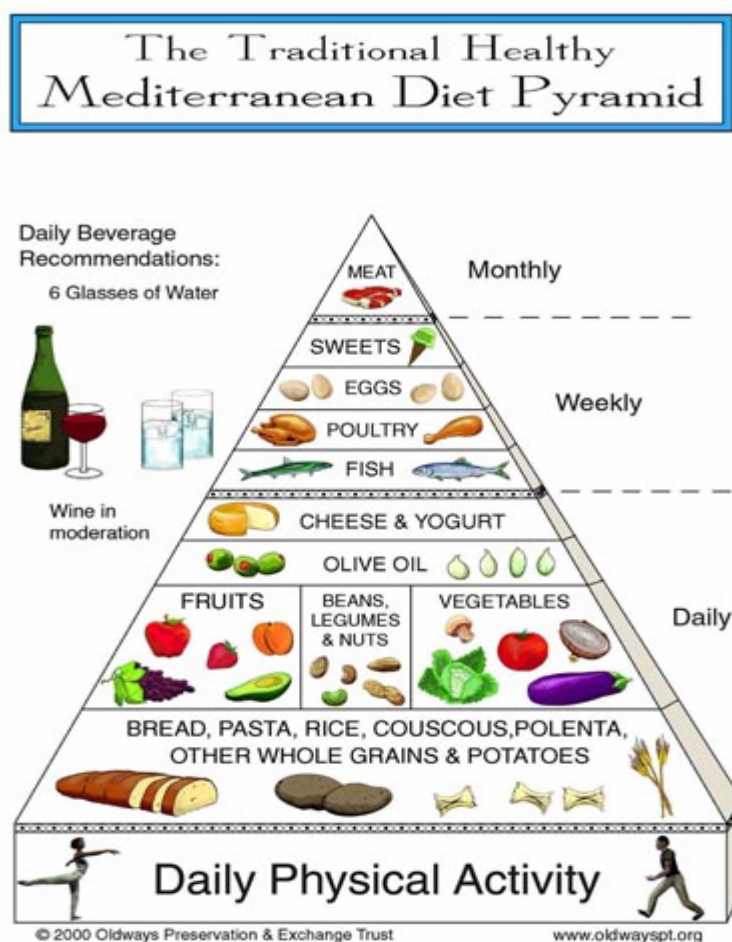
3.11 Αυξημένα Επίπεδα Λιποπρωτεΐνης (α) [Lp(a)]

Αυξημένα επίπεδα της Lp(a) ίσως να αποτελούν παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου επειδή ενισχύουν την αθηρογόνο δράση της υπερχοληστερολαιμίας. Συγκεκριμένα η Lp(a) συνδέεται με το θρόμβο του αίματος και της πρωτεΐνης των κυττάρων επιφάνειας των ενδοθηλιακών κυττάρων και μονοκυττάρων, καθώς αναστέλλει τη δράση του πρόδρομου μορίου της πλασμίνης του ιστού(t-PA), μειώνοντας έτσι τη παραγωγή του πρωτεολυτικού ενζύμου και της θρομβόλυσης με ένζυμα. Για αυτό, ο ρόλος της Lp(a) είναι πιθανά σημαντικός και πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο που δεν εμφανίζουν κανέναν από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου. Έχει βρεθεί ότι σε υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς με αυξημένα επίπεδα Lp(a), η επιθετική μείωση της LDL-χοληστερόλης μπορεί να εξουδετερώσει την αθηρογόνο της Lp(a) (1,134).

4. ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

4.1 Εισαγωγή

Η περίφημη έρευνα των Επτά Χωρών το 1950 από τον Ancel Keys ανέδειξαν την σημασία της μεσογειακής διατροφής παγκοσμίως. Στις αρχές της δεκαετίας του 1960 και ενώ η οικονομική ανάπτυξη της χώρας ήταν περιορισμένη, οι έλληνες είχαν τους χαμηλότερους δείκτες θνησιμότητας, κυρίως του παχέος εντέρου, του προστάτη και του μαστού, και το υψηλότερο προσδόκιμο επιβίωσης στην Ευρώπη. Τι είναι όμως η μεσογειακή διατροφή;(95-100)



Η Μεσογειακή Διατροφή αποτελείται από πολλούς υδατάνθρακες και φυτικές ίνες (δημητριακά, λαχανικά, όσπρια και φρούτα), καθώς και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (ελαιόλαδο) και έχει τα εξής χαρακτηριστικά :

- 1) Υψηλή αναλογία σε μονοακόρεστα προς κορεσμένα λιπαρά οξέα
- 2) Μέτρια κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης (κόκκινου κρασιού)
- 3) Υψηλή κατανάλωση οσπρίων
- 4) Υψηλή κατανάλωση δημητριακών (και ψωμιού)
- 5) Υψηλή κατανάλωση φρούτων
- 6) Υψηλή κατανάλωση λαχανικών
- 7) Χαμηλή κατανάλωση κρέατος και προϊόντων κρέατος
- 8) Μέτρια κατανάλωση γάλακτος και γαλακτοκομικών (101)

Στη βάση της μεσογειακής πυραμίδας είναι τροφές (κυρίως μη επεξεργασμένες), πλούσιες σε υδατάνθρακες και φυτικές ίνες, όπως ψωμί, ζυμαρικά, ρύζι, καλαμπόκι, πλιγούρι, άλλα δημητριακά και πατάτα. Αυτές οι τροφές είναι πλούσιες σε ενέργεια, βιταμίνες, μέταλλα και φυτικές ίνες. Η αυξημένη πρόσληψη φυτικών ινών είναι πολύ ευεργετική για την πρόληψη καρδιαγγειακών ασθενειών και καρκίνου (102,103).

Επίσης στη βάση της μεσογειακής πυραμίδας είναι και η καθημερινή φυσική δραστηριότητα. Η άσκηση παίζει προστατευτικό ρόλο στην καρδιαγγειακή θνησιμότητα και ο οποίος έχει αποδοθεί στον ευεργετικό της ρόλο σε παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου. Τα Centers for Disease Control and Prevention και το American College of Sports Medicine συνιστούν τουλάχιστον 30 λεπτά μέτριας έντασης άσκησης, όλες τις μέρες της εβδομάδας, που οδηγεί σε συνεχή βελτίωση της φυσικής κατάστασης.

Τα φρούτα, τα λαχανικά και τα όσπρια παρέχουν φυτικές ίνες, ουσιώδη μεταλλικά στοιχεία και βιταμίνες συμπεριλαμβανόμενων και των αντιοξειδωτικών βιταμινών. Πολλές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η κατανάλωση αυτών των ουσιών προστατεύουν τόσο από καρκίνο όσο και από καρδιαγγειακά (104,105).

Η πηγή λίπους στη μεσογειακή διατροφή προέρχεται κυρίως από το ελαιόλαδο (μονοακόρεστα λιπαρά οξέα τα οποία αποτελούν το 15-20 % των συνολικών ημερησίων θερμίδων), 10-15% είναι πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, ενώ λιγότερο από 10% των λιπαρών είναι κορεσμένα, με αποτέλεσμα το συνολικό λίπος να ανέρχεται στο 30-40% των συνολικών ημερησίων θερμίδων. Μελέτη έδειξε ότι η υψηλή κατανάλωση ελαιόλαδου στα πλαίσια της μεσογειακής διατροφής δεν συνδέεται με αύξηση βάρους και κατά συνέπεια παχυσαρκίας. Επιπρόσθετα, η κατανάλωση ελαιόλαδου έχει θετικό αντίκτυπο στο λιπιδαιμικό προφίλ του ατόμου και έρευνες το φέρνουν να έχει αντικαρκινική δράση (106,107).

Τα ψάρια και τα πουλερικά συνιστώνται να καταναλώνονται 2 με 4 φορές την εβδομάδα διότι είναι η κύρια πηγή πρωτεϊνών. Είναι πλούσιες σε βιταμίνες Β και σίδηρο. Τα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα που προέρχονται από τα λιπαρά ψάρια (σαρδέλες, γαύρος, σκουμπρί, τσιπούρα, ρέγκα, σολομός) είναι λίπος που φέρεται να είναι ευεργετικό για την καρδιά (108).

Στη μεσογειακή διατροφή, το κόκκινο κρέας βρίσκεται στην κορυφή της πυραμίδας, παρ' ότι είναι εξαιρετική πηγή σιδήρου και πρωτεΐνης υψηλής βιολογικής αξίας. Η μειωμένη κατανάλωση του κόκκινου κρέατος (ελάχιστες φορές το μήνα) οφείλεται στο ότι το κόκκινο κρέας έχει συνδεθεί με τα καρδιαγγειακά νοσήματα, τον καρκίνο του παχέος εντέρου και με την παχυσαρκία και αυτό επειδή εκτός από πρωτεΐνη περιέχει και κορεσμένο λίπος (109-111).

Το κόκκινο κρασί όταν καταναλώνεται με μέτρο (1-2 ποτηράκια την ημέρα) έχει αποδεδειγμένα ευεργετική δράση στο καρδιαγγειακό σύστημα και βοηθά στη διατήρηση της «καλής» χοληστερόλης (HDL) και στην ελαστικότητα του ενδοθηλίου χάρη των φλαβονοειδών ουσιών που περιέχουν (111-113).

4.2 Επίδραση της Μεσογειακής διατροφής στην υπέρταση

Η πηγή λίπους στη μεσογειακή διατροφή προέρχεται κυρίως από το ελαιόλαδο το οποίο περιέχει μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και αποτελούν το 15-20 % των συνολικών ημερησίων θερμίδων. Το ελαιόλαδο φαίνεται ότι μειώνει την αρτηριακή πίεση. Σύμφωνα με τον Ferrara et al, καθημερινές δόσεις φαρμάκων για τη πίεση μειώθηκαν κατά 48% στη διάρκεια μιας δίαιτας πλούσιας σε ελαιόλαδο και κατά 4% κατά τη διάρκεια δίαιτας πλούσιας σε ηλιέλαιο. Τα αποτελέσματα αυτά οφείλονταν στις πολυφαινόλες, οι οποίες αυξάνουν τη συγκέντρωση του νιτρικού οξέος, αυξάνοντας τη διαστολή των αρτηριών, μειώνοντας έτσι την πίεση του αίματος. Μια επιδημιολογική μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Ελλάδα, της Trichopoulou et al, έδειξε ότι η σχέση του ελαιολάδου είναι αντιστρόφως ανάλογη με την αρτηριακή πίεση (115).

Επίσης η Μεσογειακή Δίαιτα προβλέπει στην πρόσληψη φρούτων και λαχανικών σε καθημερινή βάση. Τα φρούτα και τα λαχανικά παρέχουν φυτικές ίνες, ουσιώδη μεταλλικά στοιχεία και βιταμίνες συμπεριλαμβανόμενων και των αντιοξειδωτικών βιταμινών. Ο ενδεχόμενος προστατευτικός παράγοντας των φρούτων και λαχανικών οφείλεται από τη μείωση της αρτηριακής πίεσης και/ή από την αντιοξειδωτική δράση τους. Τα φρούτα και τα λαχανικά είναι πλούσιες πηγές βιταμινών και ανόργανα στοιχεία όπως βιταμίνη C, β-καροτένιο, κάλιο, μαγνήσιο και ασβέστιο καθώς και άλλων θρεπτικών συστατικών όπως το φυλλικό οξύ και διαιτητικές ίνες. Το κάλιο αυξάνει την αποβολή του νατρίου από τα ούρα και την διεγερσιμότητα του νευρικού ιστού, μειώνοντας έτσι την αρτηριακή πίεση. Υψηλά επίπεδα βιταμίνης C στον ορό έχουν συσχετιστεί με τη μείωση των καρδιακών

προσβολών στους υπερτασικούς, και οι διαιτητικές ίνες φαίνεται να μειώνουν την αρτηριακή πίεση. Μαγνήσιο, ασβέστιο και άλλα ανόργανα συστατικά παίζουν προστατευτικό ρόλο κατά της υπέρτασης, ενώ τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές δείχνουν ότι η πρόσληψη φρούτων και λαχανικών μειώνουν σημαντικά τη συστολική και διαστολική πίεση. Συμπερασματικά, οι βιταμίνες και τα χημικά των φρούτων βοηθούν στην πρόληψη και στην ρύθμιση της υπέρτασης, η οποία προλαμβάνει την καρδιακή προσβολή και στεφανιαία νόσο (116-118).

Ακόμη η Μεσογειακή Δίαιτα φαίνεται να συμβάλλει στη μείωση της αρτηριακής πίεσης με τη μέτρια κατανάλωση γαλακτοκομικών, κύρια πηγή ασβεστίου. Η υψηλή πρόσληψη ασβεστίου πιστεύεται ότι μειώνει, ανάμεσα στα άλλα, και το κίνδυνο της υψηλής πίεσης του αίματος. Ωστόσο, το National Council στο Ηνωμένο Βασίλειο, παρ'όλα τα στοιχεία που υπάρχουν για την επίδραση του ασβεστίου στη πίεση του αίματος, λέει πως η υπόθεση δε έχει πλήρως αποδεικτική (114).

4.3 Επίδραση της Μεσογειακής διατροφής στο λιπιδαιμικό προφίλ

Η επίδραση της Μεσογειακής Διατροφής στο λιπιδαιμικό προφίλ οφείλεται κυρίως στην υψηλή αναλογία των μονοακόρεστων προς κορεσμένων λιπαρών οξέων καθώς και την υψηλή πρόσληψη διαιτητικών ινών. Κύρια πηγή των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων είναι το ελαιόλαδο ενώ πηγή των κορεσμένων λιπαρών οξέων είναι τα ζωικά προϊόντα.

Σε μελέτη που σύγκρινε τις επιδράσεις των κορεσμένων, μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων παρατηρήθηκε ότι τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα μείωναν τα επίπεδα της LDL-χοληστερόλης κατά 17,9% και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα κατά 12%, σε σχέση με τα κορεσμένα λιπαρά οξέα. Σε μια άλλη μελέτη παρέμβασης με ιστορικό στην στεφανιαία νόσο έδειξε ότι μια δίαιτα πλούσια σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα μείωσε την ολική χοληστερόλη ορού και την LDL-

χοληστερόλη και έτσι βελτίωσε το λιπιδαιμικό προφίλ των εθελοντών. Ακόμη η υψηλή πρόσληψη διαιτητικών ινών η οποία προέρχεται από τα φρούτα, τα λαχανικά και τα όσπρια φαίνεται να συμβάλει στη μείωση της ολικής χοληστερόλης ορού (114).

Η πρόσληψη κόκκινου κρέατος οδηγεί στην αθηροσκλήρωση κυρίως λόγω της αυξημένης σύστασης του σε χοληστερόλη και κορεσμένων λιπαρών οξέων, προκαλώντας αύξηση των επιπέδων χοληστερόλης στο αίμα, γνωστός παράγοντας κινδύνου για τα καρδιαγγειακά και την αθηροσκλήρωση. Επίσης από τα δεδομένα της CARDIA Study έδειξαν ότι τα άτομα που κατανάλωναν κόκκινο κρέας και κοτόπουλο λιγότερο από μία φορά την εβδομάδα εμφάνιζαν χαμηλότερη ολική χοληστερόλη του ορού, LDL-χοληστερόλη και τριγλυκερίδια από τα άτομα που κατανάλωναν περισσότερο κόκκινο κρέας και κοτόπουλο από μία φορά την εβδομάδα. Ωστόσο, όταν προστέθηκε βοδινό σε μια δίαιτα χορτοφάγου, τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης ορού αυξήθηκαν (114).

Στις Μεσογειακές χώρες το κρασί καταναλώνεται, σε μέτρια ποσότητα, μαζί με το φαί. Το κόκκινο κρασί περιέχει ένα αντιμυκητικό παράγοντα, που προέρχεται από το φλοιό των σταφυλιών, ο οποίος φαίνεται ότι αυξάνει την HDL-χοληστερόλη και εμποδίζει την οξείδωση της LDL-χοληστερόλης (114).

Συμπερασματικά, η Μεσογειακή Διατροφή με την αυξημένη κατανάλωση ελαιολάδου και τη μειωμένη πρόσληψη κόκκινου κρέατος (μια φορά το μήνα) μειώνει τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων και LDL στον ορό. Επίσης με τη μέτρια κατανάλωση οινοπνεύματος και κυρίως κόκκινο κρασί αυξάνει την HDL-χοληστερόλη και εμποδίζει την οξείδωση της LDL-χοληστερόλης.

4.4 Επίδραση Μεσογειακής δίαιτας και Σακχαρώδης Διαβήτη τύπου II

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 χαρακτηρίζεται από διαταραχή του μεταβολισμού των λιπιδίων, αύξηση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων καθώς και αύξηση της θρόμβωσης, δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και αύξηση του κινδύνου καρδιακής αρρυθμίας, τα οποία αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης εμφράγματος και θνησιμότητας.

Τα ψάρια, κύρια πηγή των ω-3 λιπαρών οξέων, πρέπει να καταναλώνονται δύο φορές την εβδομάδα με βάση τη Μεσογειακή Διατροφή. Τα ω-3 λιπαρά οξέα μειώνουν τον κίνδυνο ανάμεσα στους διαβητικούς με πολλούς μηχανισμούς. Όπως να μειώνουν τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στο αίμα, να αναστέλλουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και να μειώνουν τις αρρυθμίες. Επιπρόσθετα, το ιχθυέλαιο είναι δυνατόν να βελτιώνει τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, που αποτελεί αρχική ένδειξη της αθηροσκλήρωσης, κυρίως στους διαβητικούς ασθενείς (125).

Κύριο χαρακτηριστικό της Μεσογειακής Διατροφής είναι η μέτρια κατανάλωση οινοπνεύματος, και κυρίως κόκκινου κρασιού, το οποίο φαίνεται να έχει ευεργετικά αποτελέσματα στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Οι γυναίκες με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 βρίσκονται σε υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών προβλημάτων. Τα ευρήματα μιας επιδημιολογικής μελέτης υποστηρίζουν ότι μια μέτρια κατανάλωση οινοπνεύματος μειώνει στο μισό τον κίνδυνο. Τα ευεργετικά αποτελέσματα μπορούν να εξηγηθούν με μερικούς βιολογικούς μηχανισμούς. Η επίδραση στο λιπιδαιμικό προφίλ φαίνεται να είναι ο κύριος μηχανισμός. Παρόλο που υψηλή πρόσληψη του οινοπνεύματος αυξάνει τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στο αίμα, το οινόπνευμα σχετίζεται θετικά με υψηλά επίπεδα HDL-χοληστερόλης, συμπεριλαμβανομένης της HDL₂ και HDL₃. Επίσης το οινόπνευμα μειώνει την θρομβωτικότητα. Ακόμη η κατανάλωση οινοπνεύματος (<2

ποτήρια/ημέρα) έχει συσχετιστεί με μειωμένη πίεση του αίματος, τουλάχιστον στις γυναίκες. Στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 τα επίπεδα της ινσουλίνης είναι αυξημένα όμως με την μέτρια κατανάλωση οινοπνεύματος μπορούν να μειωθούν (127).

4.5 Επίδραση της Μεσογειακής διατροφής στην ανάπτυξη της Στεφανιαίας Νόσου

Η περίφημη έρευνα των Επτά Χωρών το 1950 από τον Ancel Keys ανέδειξαν την σημασία της μεσογειακής διατροφής παγκοσμίως. Η έρευνα έδειξε ότι η Μεσογειακή Δίαιτα σχετίζεται με τη μείωση των επιπέδων θνησιμότητας για τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Η παρατήρηση αυτή φάνηκε να οφείλεται λόγω της αυξημένης κατανάλωσης ελαιολάδου, φρούτων, λαχανικών και ψαριών καθώς και τη ταυτόχρονη μειωμένη κατανάλωση κόκκινου κρέατος.

Το ελαιόλαδο έχει θετικές επιδράσεις έναντι της οξείδωσης της LDL-χοληστερόλης. Στην Jerusalem Study παρατηρήθηκε ότι δίαιτες πλούσιες σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα αυξάνουν την οξείδωση της LDL σε σχέση με δίαιτες πλούσιες σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα. Το συμπέρασμα της μελέτης αυτής είναι ότι να μονοακόρεστα λιπαρά οξέα έχουν προστατευτικό ρόλο στην οξείδωση της LDL-χοληστερόλης. Επίσης ένας άλλος παράγοντας που επηρεάζει την οξείδωση της LDL είναι η παρουσία αντιοξειδωτικών στο ελαιόλαδο όπως η βιταμίνη E και οι πολυφαινόλες. Η παρουσία αυξημένων μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, τα οποία αντιστέκονται στην οξείδωση, αλλά επίσης και την αυξημένη ποσότητα βιταμίνης E και πολυφαινόλες, όπως φλαβονοειδή, τα οποία μειώνουν ακόμα περισσότερο την ευαισθησία της LDL στην οξείδωση, μειώνουν το κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών (114).

Ακόμη το ελαιόλαδο έχει αντιθρομβωτικές ικανότητες. Έρευνα έχει δείξει ότι δίαιτα πλούσια σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα που προέρχονταν από ελαιόλαδο

μείωσε τα επίπεδα του παράγοντα VII στο πλάσμα, ειδικά όταν ακολουθούσε κατανάλωση κρέατος, και έτσι υποστηρίζεται ότι μειώνει την δημιουργία θρόμβου. Μια άλλη μελέτη σύγκρινε τα αποτελέσματα, μιας δίαιτας πλούσιας σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα με μιας δίαιτας χαμηλή σε λίπος, των επιπέδων του PAI-1 (activating inhibitor-1). Το PAI-1 απενεργοποιεί τη λειτουργία του ενδογενούς ενεργοποιητή του πρόδρομου της πλασμίνης (endogenous plasminogen activator) του ιστού, το οποίο οδηγεί στην κατάρρευση του θρόμβου, με αποτέλεσμα το PAI-1 να αυξάνει τον κίνδυνο δημιουργίας θρόμβου. Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι το ελαϊκό οξύ μειώνει τα επίπεδα του παράγοντα VII και PAI-1 σε σχέση με το παλμιτικό οξύ (114).

Τα φρούτα και τα λαχανικά περιέχουν πληθώρα θρεπτικών συστατικών όπως κάλιο, φυλλικό οξύ, βιταμίνη C, β-καροτένιο και διαιτητικές ίνες. Το κάλιο αναστέλλει τη συσώρευση των αιμοπεταλίων και της αρτηριακής θρομβογένεσης. Ενώ υψηλά επίπεδα φυλλικού οξέος ίσως να μειώνουν τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης. Υψηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης ίσως να αποτελούν ανεξάρτητο κίνδυνο για την εμφάνιση πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου, εμφράγματος του μυοκαρδίου, περιφερικής αγγειοπάθειας, αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων, αγγειοπάθειας μετά από μεταμόσχευση καρδιάς, και γενικότερα αύξηση της καρδιαγγειακής θνησιμότητας. Αντιοξειδωτικά όπως η βιταμίνη C και β-καροτένιο μπορούν να μειώσουν την οξείδωση της LDL-χοληστερόλης, προλαμβάνοντας την δημιουργία και την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης. Παρ'όλα αυτά, μια μελέτη που έγινε στους ηλικιωμένους έδειξε ότι τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών στο πλάσμα δεν είχαν συσχετιστεί πολύ με την αθηροσκλήρωση της καρωτίδας έξω από το κρανίο. Ακόμη, κλινικές δοκιμές η πρόσληψη βιταμίνης A, C και E, καροτένια και β-καροτένιο απότυχαν να δείξουν θετικό αποτέλεσμα στην καρδιακή προσβολή ή στη θνησιμότητα. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός το σύνολο των φυτοχημικών που εμπεριέχονται στα φρούτα και στα λαχανικά έχουν μεγαλύτερο ευεργετικό αποτέλεσμα από ότι μια αντιοξειδωτική ουσία μόνη της. Πράγματι, μία μελέτη έχει αποδείξει ότι σχεδόν όλη η αντιοξειδωτική δραστηριότητα ενός φρέσκου μήλου πάνω σε κύτταρα προερχόταν από την ανάμειξη των φυτοχημικών αντί από την βιταμίνη C από μόνη της (116-120,122).

Έχει καλά καθιερωθεί ότι μία δίαιτα που είναι πλούσια σε φρούτα και λαχανικά σχετίζεται με χαμηλά επίπεδα καπνίσματος, υψηλότερα επίπεδα φυσικής άσκησης, καλύτερη διαχείριση της υγείας και σχετικά μικρότερη πρόσληψη χοληστερόλης, κορεσμένων λιπαρών οξέων και νατρίου (121).

Λιπαρά ψάρια, όπως ο σολομός, ο τόνος και το ιχθυέλαιο είναι πηγές πλούσιες σε ω-3 λιπαρά οξέα, όπως το εικοσαπενταενικό οξύ και το εικοσιδυοεξαενικό οξύ. Εκτός του ότι είναι αντι-αρρυθμιακά, τα ω-3 λιπαρά οξέα είναι αντι-θρομβωτικά και αντι-φλεγμονώδη. Σε αντίθεση με τα ω-6 λιπαρά οξέα τα οποία βρίσκονται στους περισσότερους σπόρους, στα φυτικά λάδια, και στο κρέας, είναι προθρομβωτικά και προ-φλεγμονώδη. Τα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα χρησιμοποιούνται επίσης στη θεραπεία της δυσλιπιδαιμίας, της υπέρτασης και της ρευματοειδής αρθρίτιδας. Δεδομένου ότι η περιεκτικότητα των ω-3 λιπαρών οξέων διαφέρει ανάμεσα στα διάφορα είδη ψαριών θα περιμέναμε να είχαμε μεγαλύτερα πλεονεκτήματα τρώγοντας λιπαρά ψάρια. Παρ'όλα αυτά, μία μελέτη έδειξε ότι άπαχα ψάρια, τα οποία περιέχουν μικρές ποσότητες ω-3 λιπαρών οξέων, έχουν επίσης αντίστροφη σχέση με την καρδιαγγειακή θνησιμότητα. Γεγονός, που ίσως είναι αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης μεταξύ ω-3 λιπαρών οξέων και κάποιων άγνωστων συστατικών που βρίσκονται στα ψάρια (123, 124).

Ακόμη μια μετα-ανάλυση η οποία διεξήχθη για να εξετάσει τη σχέση μεταξύ πρόσληψης ψαριών και καρδιαγγειακής θνησιμότητας έδειξε αρνητική σχέση. Τα αποτελέσματά της έρευνας υποστηρίζουν ότι η κατανάλωση μιας μερίδας ψαριού την εβδομάδα μπορεί να μειώσει σημαντικά τη καρδιαγγειακή θνησιμότητα κατά 15%. Αύξηση της κατανάλωσης ψαριού κατά 20 γρ/ημέρα μπορεί να μειώσει την στεφανιαία θνησιμότητα κατά 7% (124).

Επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι τα άτομα που καταναλώνουν δίαιτες πλούσιες σε ψάρια έχουν καλύτερη καρδιαγγειακή υγεία από τα άτομα που

καταναλώνουν κρέας και άλλα ζωικά προϊόντα πλούσια σε κορεσμένα λιπαρά οξέα (114).

Σε πολλές επιδημιολογικές μελέτες όπως η Seven Countries Study, η CARDIA Study και Seventh-Day Adventists έδειξαν θετική συσχέτιση μεταξύ του κόκκινου κρέατος και της στεφανιαίας νόσου. Στην Seventh-Day Adventists η ομάδα που κατανάλωνε καθημερινά κόκκινο κρέας είχε 60% περισσότερη πιθανότητα να πεθάνουν από καρδιαγγειακή νόσο σε σχέση με την ομάδα που κατανάλωνε κόκκινο κρέας λιγότερο από μια φορά την εβδομάδα. Ενώ στη CARDIA Study έδειξε ότι τα άτομα που κατανάλωναν κόκκινο κρέας και κοτόπουλο λιγότερο από μία φορά την εβδομάδα προσλάμβαναν περισσότερους υδατάνθρακες, άμυλο, φυτικές ίνες, βιταμίνες Α και C, και ασβέστιο, λιγότερο θερμίδες, λίπος και πρωτεΐνες σε σχέση με τα άτομα που τα κατανάλωναν πιο συχνά (114).

Επίσης έχει παρατηρηθεί η σχέση μεταξύ των αποθηκών σιδήρου στο σώμα, κατανάλωση διαιτητικού αιμικού σιδήρου και αύξηση των καρδιαγγειακών ασθενειών. Η σχέση αυτή δεν παρατηρήθηκε με την κατανάλωση του μη-αιμικού σιδήρου. Παρ' όλα αυτά, επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν τη θετική συσχέτιση της κατανάλωσης σιδήρου με τον κίνδυνο εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου (114).

Είναι πολύ γνωστό ότι το κόκκινο κρέας, εκτός του ότι είναι κύρια πηγή του αιμικού σιδήρου, είναι και κύρια διαιτητική πηγή της μεθειονίνης, η οποία είναι πρόδρομη ένωση της ομοκυστεΐνης. Η ομοκυστεΐνης προέρχεται κατευθείαν από την amino acid methionine, η οποία βρίσκεται κυρίως στη ζωική πρωτεΐνη παρά στη φυτική πρωτεΐνη, και μπορεί να μετατραπεί ξανά σε μεθειονίνη με τη βοήθεια του φυλλικού οξέος και της βιταμίνης B12. Επομένως, αύξηση της πρόσληψης κόκκινου κρέατος μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης, όχι μόνο μέσω της αύξησης της μεθειονίνης, αλλά από τη μείωση της πρόσληψης φυλλικού οξέος και βιταμίνης B6 σαν αποτέλεσμα της μείωσης της πρόσληψης λαχανικών και δημητριακών (114).

Η διαιτητική σύσταση των γαλακτοκομικών είναι 2 με 3 μερίδες την ημέρα, κυρίως λόγω του ότι είναι κύριες πηγές ασβεστίου και πρωτεΐνης υψηλής βιολογικής αξίας. Όμως, το λίπος που βρίσκεται στα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι πλούσιο σε κορεσμένα λιπαρά οξέα, τα οποία είναι υπεύθυνα για την αύξηση του κινδύνου της στεφανιαίας νόσου και άλλα καρδιαγγειακά νοσήματα. Συνεπώς, η σχετικά χαμηλή κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων ανάμεσα στο Μεσογειακό πληθυσμό ήταν αναμφίβολα συμβολή στην υγεία τους (114).

Στη μελέτη των Επτά Χωρών, είχε παρατηρηθεί ότι στη Φιλανδία, η οποία είχε το μεγαλύτερο ποσοστό καρδιαγγειακών θανάτων, είχε πολύ υψηλή πρόσληψη στο γάλα και στο βούτυρο. Παρ'όλα αυτά, η Γαλλία που είχε την ίδια κατανάλωση διαιτητικής χοληστερόλης και κορεσμένου λίπους με της Φιλανδίας, είχε διαφορετικό ποσοστό των καρδιαγγειακών θανάτων. Αυτό το παράδοξο μπορεί να εξηγηθεί ως εξής. Στις χώρες που εκτός από την υψηλή κατανάλωση διαιτητικής χοληστερόλης και κορεσμένων λιπαρών οξέων (όπως είναι η Γαλλία) καταναλώνουν περισσότερα φυτικά φαγητά, συμπεριλαμβανομένου και του μικρού αριθμού από φυτικό λάδι, και περισσότερα λαχανικά και έχουν λιγότερους θανάτους από καρδιαγγειακά σε σχέση με τις υπόλοιπες χώρες. Όμως, το γάλα και το φυσικό λίπος του γάλακτος έχουν συσχετιστεί με αύξηση της καρδιαγγειακής θνησιμότητας, πιθανόν λόγω των επιδράσεων τους στην θρομβογένεση καθώς και στην αθηροσκλήρωση (132).

Μια άλλη επιδημιολογική μελέτη, η οποία μελέτησε τη σχέση μεταξύ της πρόσληψης γάλακτος και της καρδιαγγειακής θνησιμότητας στους άνδρες ηλικίας 35-64 χρονών, δεν βρήκε στοιχεία που να αποδεικνύουν ότι οι άνδρες που καταναλώναν γάλα κάθε ημέρα, και σε μερικές περιπτώσεις το γάλα αυτό ήταν πλήρες, κινδύνευαν από αύξηση της θνησιμότητας των καρδιαγγειακών νοσημάτων (133).

Στις Μεσογειακές χώρες το κρασί καταναλώνεται, σε μέτρια ποσότητα, μαζί με το φαί. Το κόκκινο κρασί περιέχει ένα αντιμυκητικό παράγοντα, που προέρχεται από το φλοιό των σταφυλιών, ο οποίος φαίνεται ότι αυξάνει την HDL-χοληστερόλη και εμποδίζει την οξείδωση της LDL-χοληστερόλης. Μέτρια πρόσληψη

οινοπνεύματος φαίνεται να έχει ευεργετική δράση στο καρδιαγγειακό σύστημα (114, 1).

Τα αποτελέσματα μιας επιδημιολογικής μελέτης έδειξαν την προστατευτική δράση της μέτριας κατανάλωσης οινοπνεύματος στον κίνδυνο του ισχαιμικού εμφράγματος σε ένα ηλικιωμένο, πολυεθνικό πληθυσμό. Μέτρια κατανάλωση οινοπνεύματος, ≤ 2 κεσεδάκια της μπίρας ή ποτήρια κρασί, μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης ισχαιμικού εμφράγματος κατά 50%. Η US Nurses' Health Study έδειξε την προστατευτική δράση της μέτριας κατανάλωσης οινοπνεύματος στο ισχαιμικό έμφραγμα στις γυναίκες. Στην Framingham Heart Study η προστατευτική δράση του φάνηκε μόνο στις ηλικίες μεταξύ 60 και 69 (126).

Μία άλλη επιδημιολογική μελέτη έχει δείξει ότι η μέτρια κατανάλωση οινοπνεύματος προστατεύει την εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου με τη μείωση της ανάπτυξης της αθηροσκλήρωσης, και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση του κινδύνου των θανάτων από καρδιαγγειακά. Τα ευρήματα της μελέτης αυτής, δείχνουν ότι η κατανάλωση οινοπνεύματος σχετίζεται με λιγότερα κλινικά συμπτώματα (όπως στένωση της αρτηρίας του μυοκαρδίου) και στα δύο φύλα και σε όλες τις ηλικίες. Συμπερασματικά αυτή η μελέτη έδειξε ότι η μέτρια κατανάλωση οινοπνεύματος ήταν ανεξάρτητος παράγοντας και συσχετιζόταν με μείωση της θνησιμότητας από καρδιαγγειακά (128).

Πειραματικά στοιχεία μιας μελέτης έχουν δείξει ότι οι πολυφαινόλες του κόκκινου κρασιού μπορούν να εμποδίσουν την οξείδωση της LDL, την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και την έκφραση των προθρομβωτικών και προαθηροσκληρωτικών μορίων όπως είναι την χημειοτακτική μονοκυττάρια πρωτεΐνη-1 (monocyte chemoattractant protein-1), ο αυξητικός παράγοντας (tissue factor) και ο παράγοντας ανάπτυξης του αγγειακού ενδοθηλίου (vascular endothelial growth factor). Η μελέτη αυτή παρέχει στοιχεία για ένα επιπρόσθετο μηχανισμό ο οποίος δείχνει ότι οι πολυφαινόλες του κόκκινου κρασιού (RWPCs) προλαμβάνουν την ενεργοποίηση της μεταλλοπρωτεϊνάσης-2 της μήτρας (MMP-2), το οποίο είναι

από τις κύριες μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) οι οποίες βρίσκονται στο αγγειακό τοίχωμα και οι οποίες συμβάλλουν στην καταστροφή των ιστών βάσης επιθηλιακού ιστού (129).

4.6 Αξιολόγηση της Μεσογειακής Διατροφής

4.6.1 Αξιολόγηση δεδομένων που προκύπτουν από ποιοτικές μεθόδους

Συλλέγοντας δεδομένα με τη βοήθεια ποιοτικών μεθόδων, στις οποίες συγκαταλέγονται το διαιτολογικό ιστορικό και το ερωτηματολόγιο συχνότητας τροφίμων, μπορούν να προκύψουν συμπεράσματα για τη συνολική ποιότητα της διατροφής. Για την αξιολόγηση της ποιότητας της διατροφής το ενδιαφέρον επικεντρώνεται σε ορισμένες παραμέτρους της (όπως ομάδες τροφίμων), που θεωρούνται σημαντικές για την προαγωγή της υγείας και την πρόληψη ασθενειών. Μάλιστα, μπορούν να γίνουν συσχετίσεις μεταξύ της ποιότητας της διατροφής, όπως αυτή εκφράζεται ποσοτικά με τη βοήθεια «βαθμολογιών τροφίμων» και της επίπτωσης διαφόρων χρόνιων νοσημάτων. Επιπρόσθετα τα ποιοτικά δεδομένα μπορούν να συγκριθούν με διατροφικά μοντέλα, όπως διατροφικές πυραμίδες, και να αποτελέσουν κατ' αυτό τον τρόπο ένα μέτρο αξιολόγησης της πρόσληψης τροφής (131).

4.6.2 Χρήση διατροφικών πυραμίδων για την αξιολόγηση της ποιότητας της διατροφής

Από τα ερωτηματολόγια κατανάλωσης τροφίμων μπορεί να υπολογιστεί η «βαθμολογιών τροφίμων» (food score). Συγκεκριμένα, ανάλογα με τα στοιχεία που προκύπτουν από το ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων,

υπολογίζεται η βαθμολογία (score) για το κάθε τρόφιμο ή κατηγορία τροφίμου του ατόμου ή της ομάδας. Η βαθμολογία αυτή στη συνέχεια συγκρίνεται με ένα βαθμό αναφοράς που είναι ο βέλτιστος αριθμός μερίδων ή ισοδυνάμων που θα πρέπει να καταναλώνεται ημερησίως. Οι αριθμοί των μερίδων που χρησιμοποιούνται ως τιμές αναφοράς για τη βέλτιστη κατανάλωση τροφίμων δίνονται από τους σχετικούς διεθνείς οργανισμούς. Οι βαθμολογίες που προκύπτουν από αυτό το σύστημα μπορούν στη συνέχεια να εξεταστούν σε σχέση με την εθνικότητα, διάφορες κοινωνικοοικονομικές επιδράσεις καθώς και με την εποχή, τη γεωγραφική κατανομή κτλ (131).

4.6.3 Μεσογειακό-score

Στην έρευνα μας χρησιμοποιήσαμε το Μεσογειακό Διατροφικό Σκορ (Panagiotakos et al 2007) το οποίο βαθμολογεί την εβδομαδιαία κατανάλωση 9 ομάδων τροφίμων. Πιο εκτενής αναφορά του Μεσογειακού διατροφικό-score θα γίνει στη μεθοδολογία της έρευνας.

5. ΣΧΕΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ -1612 5Α>6Α ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΗ 3 ΜΕ ΤΗ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟ

5.1 Εισαγωγή

Το έμφραγμα του μυοκαρδίου είναι μια πολύπλοκη διαταραχή που προκύπτει από το συνδυασμό πολλαπλών περιβαλλοντικών και γενετικών παραγόντων. Δεδομένου ότι το έμφραγμα του μυοκαρδίου είναι η κύρια αιτία θανάτου στο Δυτικό κόσμο, η πρόληψη του είναι προτεραιότητα της δημόσιας υγείας. Μία προσέγγιση στη πρόληψη της εμφάνισης του εμφράγματος του μυοκαρδίου είναι η χρήση των γενετικών ερευνών στην αναγνώριση της ευαισθησίας της νόσου από γονίδια και την κατανόηση αιτιολογικών μονοπατιών που θα μας υποδείξουν καινούργιους στόχους για παρέμβαση. Έρευνες έχουν ήδη αναγνωρίσει διάφορα υποψήφια γονίδια τα οποία προδιαθέτουν τη στένωση της στεφανιαίας αρτηρίας, όπως τη πρωτεΐνη μεταφορέα εστέρων χοληστερόλης (CETP), και την εμφάνιση του εμφράγματος του μυοκαρδίου, όπως τη serpine-1 (PAL-1), connexin-37 και τη stromelysin-1 (147).

5.2 Μεταλλοπρωτεϊνάσες μήτρας

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες της μήτρας (MMPs) ανήκουν στην οικογένεια των ενδοπεπτιδασών, στις οποίες ανήκουν πάνω από 20 ένζυμα, και δρουν πάνω στην κυτταρική επιφάνεια. Οι MMPs καταστρέφουν πρωτεΐνες θεμέλιας ουσίας, θρομβωτικούς παράγοντες, λιποπρωτεΐνες, αυξητικούς παράγοντες και χημειοτακτικά και προσκολλητικά μόρια (137).

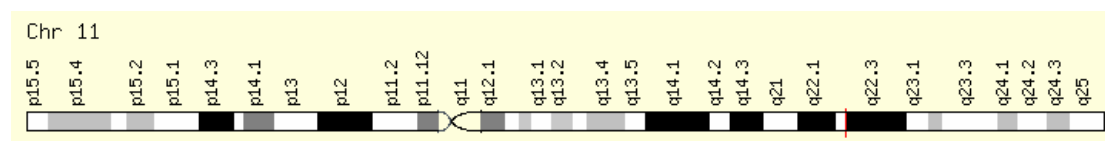
Η ρύθμισή της μεταγραφής των MMPs γίνεται από τον υποκινητή του γονιδίου. Ο υποκινητής ανταποκρίνεται σε ποικίλους αυξητικούς παράγοντες και κυτοκίνες. Ένας ανασταλτικός παράγοντας των MMPs είναι ο TIMPs (tissue inhibitors of MMPs). Οι αλλαγές στην έκφραση των MMPs στον αρτηριακό και στον καρδιακό ιστό εμπλέκουν τις MMPs στην παθογένεια διάφορων καρδιαγγειακών καταστάσεων συμπεριλαμβανομένης της αθηροσκλήρωσης και της καρδιακής ανεπάρκειας (136, 140).

Επαναλαμβανόμενες μεταλλάξεις στην αλληλουχία του DNA έχουν αναγνωριστεί στα διάφορα γονίδια των MMPs. Υπάρχουν πολλά στοιχεία τα οποία αποδεικνύουν ότι ορισμένα γονότυπα των MMPs προδιαθέτουν τη δημιουργία μιας παθογόνους καρδιαγγειακής κατάστασης. Συγκεκριμένα ο υποκινητής της mmp-3 (ή stromelysin) στη θέση -1612 αποδίδει τον 5 A/6 A πολυμορφισμό επηρεάζοντας την έκφραση της mmp-3. Αυτός ο πολυμορφισμός συσχετίστηκε με τη δημιουργία της αθηροσκλήρωσης (136 και 140).

5.3 Μεταλλοπρωτεΐνάση-3

Το γονίδιο που κωδικοποιεί την mmp-3 βρίσκεται στο μεγάλο άκρο του χρωμοσώματος 11 στις περιοχές 11q22.2–22.3 (σχήμα 5.3.1.). Ο υποκινητής του γονιδίου ρυθμίζει την έκφραση της στρομελυσίνης μέσω διάφορων ρυθμιστικών στοιχείων που εντοπίζονται σε αυτόν. Ο υποκινητής του γονιδίου ανταποκρίνεται σε διάφορα ερεθίσματα όπως τις κυτοκίνες και τους αυξητικούς παράγοντες (137, 138).

Σχήμα 5.3.1



Σημαντικός μεταγραφικός παράγοντας στη ρύθμιση της μεταγραφής της *mmp-3* είναι ο AP-1. Ο AP-1 προσδένεται 64-70bp 5' ως προς τη θέση έναρξης μετά από ανταπόκριση των κυτοκινών και των αυξητικών παραγόντων. Άλλα ρυθμιστικά στοιχεία που αναγνωρίστηκαν στον υποκινητή της *mmp-3* είναι ο μεταγραφικός παράγοντας Ets που προσδένεται 200-217bp 5' ως προς τη θέση έναρξης και ένας παράγοντας που ανταποκρίνεται από την ιντερλευκίνη-1 και προσδένεται μεταξύ 1595-1614bp (140).

Ο πολυμορφισμός 5A/6A βρίσκεται 1612bp 5' ως προς τη θέση έναρξης (σχήμα 5.3.2.). Σε μελέτες που έγιναν *in vitro* έδειξαν ότι το 5A αλληλόμορφο προκαλεί διπλάσια ενεργοποίηση του υποκινητή σε σχέση με το 6A-αλληλόμορφο. Η διαφορά αυτή έχει παρατηρηθεί σε διάφορους τύπους κυττάρων συμπεριλαμβανομένου των μακροφάγων, λείων μυϊκών κυττάρων και κύτταρα του συνδετικού ιστού. Σε συμφωνία με τα πιο πάνω είναι και οι έρευνες που μελέτησαν τα επίπεδα της *mmp-3* σε ιστούς, *in vivo*, όπως του αρτηριακού ιστού από άτομα με διαφορετικό γονότυπο για τον 5A/6A πολυμορφισμό. Οι μελέτες αυτές έδειξαν ότι τα άτομα με τους ομόζυγους των 5A-αλληλομόρφων είχαν υψηλότερα επίπεδα της *mmp-3*, οι ετεροζυγότες είχαν ενδιάμεσα επίπεδα και οι ομόζυγοι των 6A-αλληλομόρφων είχαν τα χαμηλότερα επίπεδα (139 και 140).

Σχήμα 5.3.2.

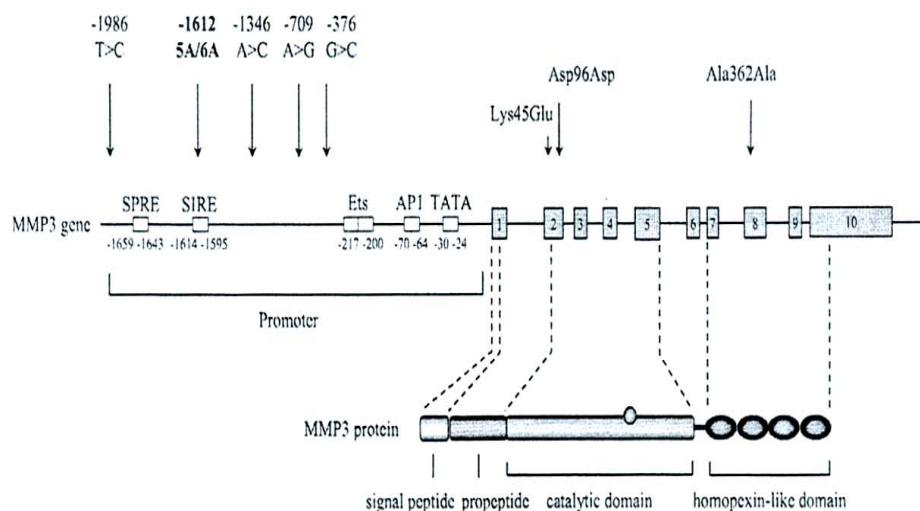


Fig. 1. MMP3 gene polymorphisms. Open boxes denote *cis*-elements: SPRE, stromelysin platelet derived growth factor responsive element; SIRE, stromelysin interleukin-1 responsive element; Ets, transcription factor Ets binding site; AP1, transcription factor AP1 binding site; TATA, TATA box. Closed boxes denote exons.

Έρευνες έχουν δείξει ότι υπάρχουν τουλάχιστον δύο πυρηνικές πρωτεΐνες που προσδένουν πιο ισχυρά στο 6A αλληλόμορφο από ότι στο 5A αλληλόμορφο. Μία από τις πυρηνικές πρωτεΐνες που μπορούν να προσδεθούν στην περιοχή του υποκινητή της *mmp-3* είναι ο μεταγραφικός παράγοντας ZBP89. Μια άλλη πυρηνική πρωτεΐνη που προσδένεται σε αυτήν την περιοχή είναι η NFκB. Η NFκB αποτελείται από δύο υποομάδες την p65 και την p50. Τα ομοδυμερές p65/p65 και p65/p50 προσδένονται εξίσου αποτελεσματικά στο 5A και 6A αλληλόμορφο. Έχει φανεί ότι το p50/p50 ομοδυμερές αναστέλλει τη μεταγραφή μερικών γονιδίων με αποτέλεσμα ο υποκινητής του 5A αλληλομόρφου να είναι πιο ενεργός. Αυτό συμβαίνει γιατί το p50/p50 ομοδυμερές προσδένεται λιγότερο αποτελεσματικά στο 5A αλληλόμορφο από ότι στο 6A αλληλόμορφο (138).

5.4 Στεφανιαία Νόσος

Μελέτη έχει δείξει ότι άτομα με το γονότυπο 6A/6A ή 5A/6A είχαν υψηλότερη ανάπτυξη της αθηρωματικής λιπώδους πλάκας σε σχέση με τα άτομα με

το γονότυπο 5A/5A. Η μελέτη είχε διάρκεια 2-3 χρόνια και η μέτρηση της αθηρωματικής λιπώδους πλάκας έγινε με τη βοήθεια της αγγειογραφίας. Σε συμφωνία με την πιο πάνω μελέτη ήταν και διάφορες άλλες επιδημιολογικές μελέτες με ασθενείς με αθηροσκλήρωση, βάση στεφανιογραφίας. Οι ασθενείς με το 6A/6A γονότυπο είχαν πιο στενές στεφανιαίες αρτηρίες από τα άτομα με τον γονότυπο 5A/5A ή 5A/6A (140).

Μελέτη με δείγμα 1240 Καυκασιανούς από τους οποίους 943 άτομα είχαν >50% στένωση στεφανιαίας αρτηρίας, με τη βοήθεια αγγειογραφίας, και 297 άτομα είχαν <50% στένωση στεφανιαίας αρτηρίας. Τα άτομα χωρίς ιστορικό με έμφραγμα του μυοκαρδίου και με >50% στένωση στεφανιαίας αρτηρίας είχαν μεγαλύτερη συχνότητα του 6A/6A γονότυπου(28,5%) σε σχέση με τα άτομα με ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου(21,4%) (143).

5.5 Έμφραγμα του Μυοκαρδίου

Το κύριο στοιχείο της παθογένειας του εμφράγματος του μυοκαρδίου είναι η ρήξη της αθηροσκληρωτικής πλάκας παρά η σταδιακή ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης των στεφανιαίων αρτηριών. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει τη σχέση μεταξύ της αυξημένης έκφρασης της mmp-3 και της ρήξης της αθηροσκληρωτικής πλάκας (140, 141).

Έρευνα που διεξήχθη στο Τόκιο μελέτησε τη σχέση μεταξύ της mmp-3 και του εμφράγματος του μυοκαρδίου. Η μελέτη σύγκρινε δύο ομάδες(στην πρώτη ομάδα είχε 164 ασθενής και η δεύτερη ομάδα είχε 302 ασθενής) σε σχέση με την ομάδα ελέγχου(335 άτομα). Οι ασθενείς των πρώτων δύο ομάδων είχαν υποστεί έμφραγμα του μυοκαρδίου ενώ στην ομάδα ελέγχου είχαν λιγότερο από ένα παράγοντα κινδύνου και δεν είχαν ιστορικό από θωρακικό πόνο. Η μελέτη έδειξε ότι το 5A αλληλόμορφο ήταν πιο συχνό στους ασθενείς που είχαν υποστεί έμφραγμα του

μυοκαρδίου σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Στην ομάδα ελέγχου, το ποσοστό των ατόμων που είχαν το 5A/6A και 5A/5A αλληλόμορφο ήταν 23,3% ενώ στην πρώτη ομάδα ήταν 32,9% και στην δεύτερη ομάδα ήταν 31,2% (141).

Το 1998 στην Ιαπωνία διεξήχθη μια επιδημιολογική μελέτη που ήθελε να αποδείξει ότι η mmp-3, και συγκεκριμένα ο πολυμορφισμός 5A/6A, είναι ανεξάρτητος παράγοντας εμφάνισης του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου. Το δείγμα της μελέτης αυτής αποτελείτο από 330 ασθενείς που εμφάνισαν οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και την ομάδα ελέγχου που αποτελείτο από 330 άτομα. Η διάγνωση του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου έγινε βάση των κριτηρίων του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας και επιβεβαιώθηκαν από στεφανιαία αγγειογραφία και αριστερή κοιλιακιογραφία. Η εμφάνιση του 5A/5A και 5A/6A πολυμορφισμού ήταν 48,8% στους ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου σε σχέση με το 32,7% της ομάδας ελέγχου. Τα αποτελέσματα της μελέτης είχαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού με το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου καθώς επίσης ότι ο πολυμορφισμός αυτός είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου (142).

Μια άλλη μελέτη που διεξήχθη στη Στοκχόλμη μεταξύ 1996 με 2000, με δείγμα 674 ατόμων, έδειξε ότι η συγκέντρωση του mmp-3 επηρεάζεται από τον πολυμορφισμό -1612 5A/6A της mmp-3 και σχετίζεται θετικά με το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Επίσης έδειξε ότι η συγκέντρωση στον ορό της mmp-3 είναι διπλάσια στους άντρες από ότι στις γυναίκες, ανεξάρτητα από τον πολυμορφισμό -1612 5A/6A(σχήμα 3) (137).

Σε μια άλλη μελέτη μελετηθήκαν 71 υποψήφιοι πολυμορφισμοί που συσχετίζονταν με την εμφάνιση του εμφράγματος του μυοκαρδίου. Το δείγμα αποτελείτο από 2819 Ιάπωνες οι οποίοι είχαν υποστεί έμφραγμα του μυοκαρδίου, με στεφανιαία αγγειογραφία, και 22842 Ιάπωνες που δεν εμφάνισαν καρδιαγγειακή νόσο κατά τη διάρκεια 8 χρόνων. Ο πολυμορφισμός -1171 5A/6A συσχετίστηκε με σημαντικό κίνδυνο εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου στις γυναίκες($P<0,01$) (144).

Όμως υπάρχουν και μελέτες που δεν κατάφεραν να αποδείξουν τη σχέση μεταξύ του 5A/6A πολυμορφισμού του γονιδίου της mmp-3 και της εμφάνισης του εμφράγματος του μυοκαρδίου. Συγκεκριμένα διεξήχθη μια επιδημιολογική μελέτη στο Ηνωμένο Βασίλειο με σκοπό να δείξει τη σχέση μεταξύ 35 υποψηφίων γονιδίων και της εμφάνισης του εμφράγματος του μυοκαρδίου. Το δείγμα της μελέτης αυτής αποτελείτο από 549 Καυκασιανούς ασθενείς ηλικίας <75 ετών. Και την ομάδα ελέγχου που αποτελείτο από 505 Καυκασιανούς οι οποίοι ήταν υγιείς. Η διάγνωση του εμφράγματος του μυοκαρδίου έγινε βάση των κριτηρίων του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας. Η έρευνα αυτή δεν έδειξε σχέση μεταξύ του 5A/6A πολυμορφισμού και της εμφάνισης του εμφράγματος του μυοκαρδίου αφού τα αποτελέσματα δεν ήταν στατιστικά σημαντικά, P-value=0.723 (147).

5.6 Αλληλεπίδραση της mmp-3 με το κάπνισμα στο έμφραγμα του μυοκαρδίου

Έρευνες οι οποίες μελέτησαν γονίδια έδειξαν ότι ο πολυμορφισμός 5A/6A της mmp-3 και το κάπνισμα έχουν συνεργιστικά αποτελέσματα για την εμφάνιση πρώιμου εμφράγματος του μυοκαρδίου. Ίσως μέσω κάποιων φλεγμονωδών μηχανισμών το κάπνισμα συμβάλλει στην αύξηση της εμφάνισης του εμφράγματος του μυοκαρδίου (138).

Μια έρευνα μελέτησε 170 ασθενείς Κινέζους που είχαν υποστεί έμφραγμα του μυοκαρδίου πριν την ηλικία των 45 ετών και είχαν επιβιώσει. Μετά από 4,43 χρόνια έγινε το follow-up σε 162 ασθενείς. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής ήταν ότι οι ασθενείς που είχαν το 5A αλληλόμορφο και είχαν σταματήσει αποτελεσματικά το κάπνισμα είχαν 1,5 φορές περισσότερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών επεισοδίων σε σχέση με τους ασθενείς με το 6A/6A γονότυπο. Επίσης οι ασθενείς που συνέχιζαν να καπνίζουν και είχαν το 6A/6A γονότυπο είχαν 2 φορές περισσότερο

κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών επεισοδίων σε σχέση με τους ασθενείς που σταμάτησαν το κάπνισμα και είχαν τον ίδιο γονότυπο. Παρ'όλα αυτά οι ασθενείς που είχαν το 5A αλληλόμορφο και συνέχιζαν να καπνίζουν είχαν 6,75 φορές περισσότερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών επεισοδίων (139).

Επίσης από την πιο πάνω ερεύνα φαίνεται ότι ο κίνδυνος εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου μειώνεται αισθητά μετά από τη διακοπή του καπνίσματος, ακόμα και σε άτομα που μεταφέρουν το αλληλόμορφο υψηλού κινδύνου (5A) (139).

5.7 Πιθανή εξήγηση της σχέσης του 5A/6A πολυμορφισμού με τη στεφανιαία στένωση και του εμφράγματος του μυοκαρδίου

Τα περισσότερα συστατικά της αθηρωματικής βλάβης είναι πρωτεΐνες θεμέλιας ουσίας (κολλαγόνο, ελαστίνη, πρωτεογλυκάνες,), λεία μυϊκά κύτταρα, μακροφάγα και λιπίδια. Ωστόσο, η αναλογία των πιο πάνω συστατικών διαφέρουν ανάμεσα στις διάφορες πλάκες. Υπάρχουν 2 τύποι πλακών και είναι: 1) οι πλάκες που είναι πλούσιες σε λιπίδια και μακροφάγα, οι λιπώδης πλάκες και 2) οι πλάκες που είναι πλούσιες σε πρωτεΐνες θεμέλιας ουσίας και λεία μυϊκά κύτταρα, οι fibrotic πλάκες. Οι λιπώδης πλάκες είναι επιρρεπείς στη ρήξη, προκαλώντας έμφραγμα του μυοκαρδίου. Σε αντίθεση με τις fibrotic πλάκες που συνήθως είναι πιο σταθερές αλλά πιο μεγάλες στο μέγεθος. Αν και οι ασθενείς μπορεί να έχουν και τους 2 τύπους των πλακών, μια αυτοψία έδειξε ότι 15% των ασθενών είχαν fibrotic πλάκες, 13% είχαν λιπώδης πλάκες και 72% είχαν και τους 2 τύπους των πλακών (140).

Η mmp-3 θεωρείται ότι έχει σημαντικό ρόλο στη αποικοδόμηση των πρωτεϊνών θεμέλιας ουσίας στην αθηρωματική βλάβη. Η έκφραση της mmp-3 στον αρτηριακό ιστό είναι υψηλότερη στα άτομα με το 5A αλληλόμορφο από ότι στα άτομα με το 6A/6A γονότυπο. Μια πιθανή εξήγηση των αποτελεσμάτων που δείχνουν

ότι τα άτομα με το 6A/6A γονότυπο σχετίζονται με αυξημένη δημιουργία στεφανιαίας στένωσης ενώ τα άτομα με το 5A αλληλόμορφο σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου είναι η εξής: τα άτομα με το 6A/6A γονότυπο έχουν μικρότερη έκφραση της mmp-3 έχοντας τη προδιάθεση για δημιουργία αθηρωματικής πλάκας πλούσιας σε πρωτεΐνες θεμέλιας ουσίας και γι' αυτό το λόγο είναι πιο μεγάλη στο μέγεθος και πιο σταθερή. Τα άτομα με το 5A αλληλόμορφο έχουν μεγαλύτερη έκφραση της mmp-3 και έχουν τη προδιάθεση για δημιουργία αθηρωματικής πλάκας με λιγότερες πρωτεΐνες θεμέλιας ουσίας κάνοντας την μικρότερη αλλά πιο επιρρεπής στη ρήξη (140).

5.8 Άλλες ασθένειες που σχετίζονται με το 5A αλληλόμορφο

Στεφανιαία αρτηριακή ασβεστοποίηση: Αρτηριακές ασβεστοποιήσεις αυξάνουν το ρίσκο των καρδιαγγειακών συμβάντων. Σε αυτοψίες που έγιναν σε άντρες βρήκαν ότι στα άτομα με το 5A αλληλόμορφο είχαν περισσότερη ασβεστοποίηση των αθηρωματικών βλαβών από ότι στα άτομα με 6A/6A γονότυπο (140).

Αθηροσκλήρωση και αρτηριακή πίεση: Η αθηροσκλήρωση, που αυξάνεται κατά την πάροδο των χρόνων, είναι ένα μεγάλο πρόβλημα της αρτηριακής πίεσης και κύριος μηχανισμός της συστολικής υπέρτασης. Οι αρτηρίες που έχουν υποστεί αθηροσκλήρωση επιδρούν με δομικές πρωτεΐνες (ελαστίνες και κολλαγόνα) και με λείο μυϊκό τόνο. Μια μελέτη που είχε γίνει σε ηλικιωμένα άτομα (>61 ετών), η αθηροσκλήρωση της αορτής ήταν υψηλότερη στα άτομα με τους ομόζυγους του 5A αλληλόμορφο και του 6A αλληλόμορφο σε σχέση με τους ετερόζυγους. Αυτή η συσχέτιση δεν βρέθηκε σε νεαρά άτομα (140).

Στένωση μετά από στεφανιαία αγγειοπλαστική: Η στένωση σε άτομα με στεφανιαία αγγειοπλαστική εμφανίζεται στο 30% των ασθενών. Υπάρχουν στοιχεία που υποστηρίζουν ότι η αρτηριακή ανακατασκευή είναι η κύρια αιτία τη στένωσης

μετά από τοποθέτηση του μπαλονάκι. Έρευνα έδειξε ότι ασθενείς με 6A/6A γονότυπο είχαν 50% περισσότερη αύξηση της διαμέτρου μετά από 6 μήνες μετά την αγγειοπλαστική σε σχέση με ασθενής με το 5A αλληλόμορφο (140).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Θέμα: Διερεύνηση της αλληλεπίδρασης του πολυμορφισμού -1612 5A /6A του γονιδίου της μεταλλοπρωτεΐνάσης 3 με τη Μεσογειακή Διατροφή στη στεφανιαία νόσο. Μέθοδος: Μια ομάδα ασθενών με στεφανιαία νόσο με αριθμό δειγμάτων 137 συγκρίθηκε με μια ομάδα ελέγχου με αριθμό δειγμάτων 107 χωρίς στεφανιαία νόσο και αναλύθηκε η Μεσογειακή Διατροφή και το γονίδιο της mmp-3 σε σχέση με τη στεφανιαία νόσο. Η μέθοδος αποτίμησης της συμμόρφωσης των συμμετεχόντων στο πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής το οποίο χρησιμοποιήθηκε στην έρευνα είναι το *‘Σκορ Μεσογειακής Διατροφής’*, το οποίο αναπτύχθηκε από τους Panagiotakos et al. Ο προσδιορισμός των γονοτύπων για τον πολυμορφισμό-1612 5A>6A της MMP3 που μελετήθηκε έγινε με τη μέθοδο Taqman. Συμπεράσματα : Η έρευνα δε βρήκε συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού 5A/6A του γονιδίου της μεταλλοπρωτεΐνάσης 3 στην εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου ενώ με μικρή στατιστική συσχέτιση βρέθηκαν διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες όσον αφορά τη συμμόρφωση τους στη Μεσογειακή Διατροφή.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (ΠΟΥ) εκτιμά ότι 16,6 εκατομμύρια άνθρωποι στον κόσμο πεθαίνουν από καρδιαγγειακά ετησίως καθώς η στεφανιαία νόσος αποτελεί τη σοβαρότερη των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η νοσηρότητα και η θνησιμότητα της στεφανιαίας νόσου διαφέρουν από πληθυσμό σε πληθυσμό. Συγκεκριμένα στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής είχαμε για το 2004 452,300 θανάτους που οφείλονταν στην στεφανιαία νόσο ενώ στην Ευρώπη το 31% των ετών ζωής χάνονται ετησίως λόγω της καρδιαγγειακής νόσου. Όσον αφορά την Ελλάδα, σύμφωνα με τα πιο πρόσφατα στοιχεία της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας της Ελλάδας, το 2003 η στεφανιαία νόσος ήταν η τρίτη αιτία θανάτου και ευθυνόταν για το 13,3% του συνόλου των θανάτων (1, 3, 4, 9, 10).

Η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας και η δημιουργία θρόμβωσης έχει αναγνωριστεί καλά ως ένας κύριος παράγοντας κινδύνου στην παθογένεια της στεφανιαίας νόσου. Υψηλά επίπεδα δραστηρότητας των μεταλλοπρωτεϊνών μήτρας αναγνωρίστηκαν σαν ένας πιθανός μηχανισμός για την καταστροφή της αρτηριακής πλάκας με επακόλουθο την ρήξη της. Η στρομελίσιν-1, ή αλλιώς mmp-3, φαίνεται να παίζει ένα σημαντικό ρόλο στη φυσιολογία και στα παθογενετικά γεγονότα που σχετίζονται με την ρήξη της αθηρωματικής πλάκας. Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν *in vitro* έχουν απόδειξη ότι το 5A αλληλόμορφο προκαλεί διπλάσια ενεργοποίηση του υποκινητή του γονιδίου της mmp-3 σε σχέση με το 6A-αλληλόμορφο. Επίσης πολλές μελέτες έχουν αναγνωρίσει ότι ο 5A /6A πολυμορφισμός του mmp-3 γονιδίου παίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων (139, 140, 141).

Σε αντίθεση με το 5A /6A πολυμορφισμό του mmp-3 γονιδίου η Μεσογειακή Διατροφή εδώ και πολλά χρόνια σχετίζεται με αύξηση της ποιότητας της υγείας και της εκτεταμένης μακροζωίας. Αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά από τη μελέτη των

Επτά Χωρών, η οποία έδειξε ότι μεσογειακή διαίτα σχετίζεται με μείωση των επιπέδων θνησιμότητας για τα καρδιαγγειακά, καρκίνο και άλλων ασθενειών. Η Μεσογειακή διαίτα χαρακτηρίζεται από χαμηλή σε κορεσμένα λιπαρά οξέα και υψηλή σε μονοακόρεστα, υψηλή σε αντιοξειδωτικά κυρίως της βιταμίνης C και E, και υψηλή σε διαιτητικές ίνες. Μελέτες που διεξήχθησαν στη Ανατολική Φιλανδία και στην Νότια Ιταλία έχουν δείξει ότι οι παράγοντες κινδύνου της στεφανιαίας νόσου είναι μειωμένοι όταν ακολουθούν μια μεσογειακή διατροφή. Τέλος επιδημιολογικές μελέτες και μελέτες παρέμβασης υποστηρίζουν ότι η Μεσογειακή διαίτα μειώνει το κίνδυνο εμφάνισης της στεφανιαίας νόσου (95, 96, 100, 114).

Σκοπός της έρευνας αυτής είναι η διερεύνηση της αλληλεπίδρασης του -1171 5A /6A πολυμορφισμού του γονιδίου της μεταλλοπρωτεΐνης 3 με τη Μεσογειακή Διατροφή στη στεφανιαία νόσο.

3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.1. ΔΕΙΓΜΑ ΜΕΛΕΤΗΣ

Το δείγμα αποτελούν δύο ομάδες ασθενών και η ομάδα ελέγχου. Τα χαρακτηριστικά των ομάδων φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΟΜΑΔΕΣ
1^η ΟΜΑΔΑ	
Γενικά χαρακτηριστικά	Ασθενείς με Στεφανιαία Νόσο που δεν έχουν υποστεί στο παρελθόν έμφραγμα μυοκαρδίου
Κριτήριο επιλογής	• Στένωση $\geq 50\%$ σε ένα ή περισσότερα στεφανιαία αγγεία που προσδιορίζεται με στεφανιογραφικό έλεγχο • 1^η διάγνωση εντός του τελευταίου μήνα
2^η ΟΜΑΔΑ	
Γενικά χαρακτηριστικά	Ασθενείς που έχουν υποστεί έμφραγμα μυοκαρδίου ή ασταθή στηθάγχη ως πρώτη εκδήλωση στεφανιαίας νόσου
Κριτήριο επιλογής	• 1^ο επεισόδιο εντός του τελευταίου μήνα
ΟΜΑΔΑ ΕΛΕΓΧΟΥ	

Γενικά χαρακτηριστικά	Υγιή άτομα αντίστοιχου φύλου και ηλικιακής ομάδας
Κριτήριο επιλογής	• στένωση των στεφανιαίων αγγείων $\leq 30\%$ μετά από στεφανιογραφικό έλεγχο ή αρνητική δοκιμασία κόπωσης • Κατανομή φύλου και ηλικιών αντίστοιχη με των ασθενών της μελέτης

Ο χρονικός περιορισμός σε σχέση με τη διάγνωση της νόσου και την επίπτωση του εμφράγματος καθιστά δυνατή την αξιολόγηση των συνηθειών του τρόπου ζωής πριν από την αλλαγή που πιθανά προκύπτει όταν η νόσος καθίσταται γνωστή.

Η συλλογή του δείγματος γίνεται από τα παρακάτω νοσηλευτικά ιδρύματα:

- Ωνάσειο Καρδιοχειρουργικό Κέντρο
- ΓΝΑ Αλεξάνδρα
- ΓΝΑ Σωτηρία

Όλοι οι ασθενείς αφού ενημερωθούν για τους σκοπούς της μελέτης δίνουν ενυπόγραφη συγκατάθεσή για τη συμμετοχή τους.

3.2. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

- ο **Ιατρικό ιστορικό**: λαμβάνεται από τους συμμετέχοντες αναλυτικό ιατρικό ιστορικό και γίνεται αναλυτική καταγραφή της φαρμακευτικής αγωγής πριν και κατά τη διάρκεια της νοσηλείας, καθώς και το πόρισμα της στεφανιογραφίας εφόσον είναι διαθέσιμο.
- ο **Οικογενειακό ιστορικό**: λαμβάνεται αναλυτικό οικογενειακό ιστορικό για την στεφανιαία νόσο αλλά και για όλους τους παράγοντες κινδύνου.
- ο **Εργαστηριακές αναλύσεις**: περιλαμβάνουν πλήρη εξέταση αίματος καθώς και εκτίμηση βιοχημικών δεικτών (γλυκόζη, ολική χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, ουρία, ουρικό οξύ, χρόνων πήξης, ενζύμων). Οι αναλύσεις γίνονται από τα συνεργαζόμενα νοσοκομεία. Για την ομάδα των εμφραγματιών ζητούνται από τους ασθενείς εξετάσεις που πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους, εφόσον είναι διαθέσιμες.

- ο **Δημογραφικά στοιχεία:** ερωτηματολόγιο που αφορά σε δημογραφικούς παράγοντες (καταγωγή, ημερομηνία γέννησης, επίπεδο εκπαίδευσης, κάπνισμα, ετήσιο οικογενειακό εισόδημα) συμπληρώνεται από όλους τους συμμετέχοντες
- ο **Φυσική δραστηριότητα:** Σταθμισμένο ερωτηματολόγιο χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας. Αξιολογείται η δραστηριότητα στην εργασία, στο σπίτι και στον ελεύθερο χρόνο.
- ο **Στρες:** το ερωτηματολόγιο STAI-Gr.X-1 χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση των επιπέδων άγχους.
- ο **Ανθρωπομετρικά δεδομένα:**
 - Βάρος: μετράται πρωί με ελαφρά ρούχα με τη χρήση ζυγού ακριβείας.
 - Ύψος: μετράται με τη χρήση ορθογώνιου τριγώνου και μεζούρας που τοποθετείται στον τοίχο. Η μέτρηση γίνεται χωρίς παπούτσια, κατά την εκπνοή, με το κεφάλι να κοιτά ευθεία μπροστά.
 - Περιφέρεια μέσης: μετράται κατά την εκπνοή στο μέσο της απόστασης μεταξύ υπερλαγόνιας ακρολοφίας και τελευταίας πλευράς.
 - Περιφέρεια γλουτών: μετράται στο σημείο των γλουτών με την μεγαλύτερη περιφέρεια.
- ο **Διατροφική αξιολόγηση:** Η εκτίμηση της διατροφικής πρόσληψης γίνεται με τη χρήση Ερωτηματολογίου Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων, το οποίο συντάχθηκε για τους σκοπούς της παρούσας μελέτης σύμφωνα με αντίστοιχα ερωτηματολόγια που υπάρχουν στη διεθνή βιβλιογραφία. Συγκεκριμένα, αξιολογείται η συχνότητα και η ποσότητα κατανάλωσης 172 τροφίμων και ποτών κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους.

3.3. ΣΚΟΡ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

3.3.1. Αποτίμηση Μεσογειακού Σκορ

Η μέθοδος αποτίμησης της συμμόρφωσης των συμμετεχόντων στο πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής το οποίο χρησιμοποιήθηκε στην έρευνα είναι το **‘Σκορ Μεσογειακής Διατροφής’**, το οποίο αναπτύχθηκε από τους Panagiotakos et al. και χρησιμοποιήθηκε κατά τη διεξαγωγή της έρευνας ΑΤΤΙΚΗ.

Σύμφωνα με τις Μεσογειακές διαιτητικές συνήθειες, το σκορ συμπεριλαμβάνει την εβδομαδιαία κατανάλωση των ακόλουθων 9 ομάδων τροφίμων: μη επεξεργασμένα δημητριακά (ολικής αλέσεως ψωμί και ζυμαρικά, καστανό ρύζι, κτλ), φρούτα, λαχανικά, όσπρια, πατάτες, ψάρια, κρέας και προϊόντα κρέατος, πουλερικά, πλήρη γαλακτοκομικά προϊόντα (τυρί, γιαούρτι, γάλα), καθώς και ελαιόλαδο και αλκοόλ. Έπειτα, με βάση την προτεινόμενη πρόσληψη χρησιμοποιήθηκαν από τους ερευνητές μονοτονικές συναρτήσεις (εκτός από το αλκοόλ) έτσι ώστε να μπορεί να αξιολογηθεί η συχνότητα κατανάλωσης των τροφίμων αυτών.

Συγκεκριμένα, για κάθε ομάδα τροφίμων δίνεται ένας βαθμός (από 0 έως 5 ή αντίστροφα) σύμφωνα με τη θέση τους στη Μεσογειακή διατροφική πυραμίδα. Για την κατανάλωση τροφίμων που θεωρούνται ‘κοντά’ στο μεσογειακό πρότυπο (π.χ. αυτά που συστήνονται καθημερινά ή σε ποσότητες μεγαλύτερες των τριών μερίδων την εβδομάδα) δίνεται σκορ μεταξύ 1 και 5 για σπάνια έως καθημερινή κατανάλωση, ενώ 0 για απουσία κατανάλωσης. Οι πατάτες, αν και δεν βρίσκονται στη βάση της πυραμίδας, συμπεριλήφθηκαν σε αυτή την ομάδα τροφίμων, καθώς αποτελούν καλή πηγή βιταμινών C, B1, B2, νιασίνης, υδατανθράκων, ινών, καλίου και μαγνησίου, συστατικά τα οποία έχουν συσχετιστεί με καρδιαγγειακούς δείκτες κινδύνου. Παρόλα αυτά πρέπει να λαμβάνεται υπ’όψη ότι η κατανάλωση πατατών έχει συσχετιστεί με τον σακχαρώδη διαβήτη λόγω του υψηλού γλυκαιμικού τους δείκτη.

Από την άλλη, για την κατανάλωση φαγητών που θεωρούνται ‘μακριά’ από τα πρότυπα της Μεσογειακής διατροφής (σπάνια ή μηνιαία κατανάλωση, π.χ. κόκκινο κρέας) τα σκορ δίνονται με αντίστροφη διαβάθμιση (από 5 όταν αναφέρεται μηδενική κατανάλωση έως 0 όταν η κατανάλωση είναι καθημερινή). Ειδικά για το αλκοόλ, δεν χρησιμοποιήθηκε μονοτονική συνάρτηση, αλλά αποδίδεται το σκορ 5 για κατανάλωση μικρότερη των 300ml ανά ημέρα, σκορ 0 για μηδενική κατανάλωση ή μεγαλύτερη των 700ml ανά ημέρα, και σκορ από 4 έως 1 για κατανάλωση 600-700, 500-600, 400-500 και 300-400 ml ανά ημέρα. Έτσι το σκορ έχει εύρος από 0 έως 55.

Υψηλότερες τιμές του σκορ υποδεικνύουν μεγαλύτερη συμμόρφωση στο Μεσογειακό πρότυπο. Ο πίνακας 8.1. παρουσιάζει το σύστημα βαθμολόγησης σύμφωνα με το Μεσογειακό Διατροφικό Σκορ.

	Συχνότητα κατανάλωσης (μερίδες/εβδομάδα)					
Μη επεξεργασμένα Δημητριακά	ΠΟΤΕ 0	1 – 6 1	7-12 2	13-18 3	19-31 4	>32 5
Πατάτες	ΠΟΤΕ 0	1 – 4 1	5 – 8 2	9 - 12 3	13 – 18 4	>18 5
Φρούτα	ΠΟΤΕ 0	1 – 4 1	5 – 8 2	9 – 15 3	16-21 4	>22 5
Λαχανικά	ΠΟΤΕ 0	1-6 1	7 – 12 2	13 – 20 3	21 – 32 4	>3 5
Όσπρια	ΠΟΤΕ 0	<1 1	1 – 2 2	3 – 4 3	5 – 6 4	>6 5
Ψάρια	ΠΟΤΕ 0	<1 1	1 – 2 2	3 – 4 3	5 – 6 4	>6 5
Κόκκινο κρέας και προϊόντα του	≤1 5	2 – 3 4	4 – 5 3	6 – 7 2	8 – 10 1	>10 0
Πουλερικά	≤3 5	4 – 5 4	5 – 6 3	7 – 8 2	9 – 10 1	>10 0
Πλήρη γαλακτοκομικά	<10 5	11 – 15 4	16 – 20 3	21 – 28 2	29 – 30 1	>30 0
Ελαιόλαδο στο μαγείρεμα (φορές/εβδομάδα)	ΠΟΤΕ 0	ΣΠΑΝΙΑ 1	<1 2	1 – 3 3	3 – 5 4	ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΑ 5
Αλκοολούχα ροφήματα (ml/ημέρα, 100ml=12gr αιθανόλης)	<300 5	300 4	400 3	500 2	600 1	>700 ή 0 0

Πίνακας 8.2. Το Μεσογειακό Διατροφικό Σκορ

Το Μεσογειακό Διατροφικό Σκορ έχει ορισμένους περιορισμούς. Κατ'αρχάς βασίζεται σε συγχρονική έρευνα και όχι σε μία προοπτική μελέτη, γεγονός που ίσως

οδηγεί σε λανθασμένη ταξινόμηση που επηρεάζει την ευαισθησία του. Επιπλέον, τα συστατικά του έχουν ισότιμη βαρύτητα και βαθμολογούνται με παρόμοιο τρόπο από 1 έως 5, κάτι το οποίο ίσως να μην είναι ακριβές, καθώς δεν έχουν όλα τα τρόφιμα ή ομάδες τροφίμων την ίδια επίδραση στα μελετούμενα αποτελέσματα υγείας. Η αδυναμία να ληφθεί υπ' όψη το ποσό της συνολικής προσλαμβανόμενης ενέργειας αποτελεί έναν ακόμα περιορισμό. Τέλος, η θετική και αρνητική προγνωστική αξία του σκορ υπολογίστηκαν με βάση το σκορ Framingham, που ενδεχομένως δεν είναι κατάλληλο για πληθυσμούς εκτός των Βόρειων Αμερικανών. Το Μεσογειακό Διατροφικό Σκορ ίσως χρειάζεται κάποιες βελτιώσεις για να αυξηθεί η ακρίβειά του, όμως η εφαρμογή του μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο εργαλείο για την πρωτοβάθμια πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων (147).

3.4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος±τυπική απόκλιση, ενώ οι κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτες και σχετικές συχνότητες. Η ανάλυση Student's *t* χρησιμοποιήθηκε για να αξιολογηθούν οι συσχετίσεις μεταξύ κατηγορικών και συνεχών μεταβλητών, ενώ ο έλεγχος χ^2 χρησιμοποιήθηκε για να αξιολογηθούν οι συσχετίσεις μεταξύ κατηγορικών μεταβλητών.

Η κατανομή του πολυμορφισμού στο δείγμα συγκρίθηκε με την αναμενόμενη κατανομή που προκύπτει από την ισορροπία Hardy-Weinberg.

Ανάλυση λογαριθμιστικής παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκε για να υπολογιστεί ο σχετικός κίνδυνος εμφάνισης οξέος στεφανιαίου επεισοδίου, καθώς και το αντίστοιχο διάστημα εμπιστοσύνης, λαμβάνοντας υπ' όψιν πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες.

Όλοι οι έλεγχοι πραγματοποιήθηκαν σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $>0,05$ με το στατιστικό πακέτο SPSS 10.0.

3.5. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ DNA

Η απομόνωση DNA έγινε από λευκοκύτταρα ολικού αίματος (3 ml) που έχει τοποθετηθεί σε σωληνάριο με αντιπηκτικό Na_2EDTA , με τη μέθοδο NaCl . Τα βήματα της μεθόδου περιγράφονται παρακάτω:

ΗΜΕΡΑ 1^η

1. Απομάκρυνση πλάσματος με πλαστική πιπέτα Pasteur μετά από φυγοκέντρηση (10min, 3000rpm).
2. Μεταφορά 3ml κυττάρων αίματος σε σωληνάριο πολυπροπυλενίου (Falcon) 15ml.
3. Προσθήκη διαλύματος Lysis I (αραιωμένο 1x) μέχρι τελικό όγκο 15ml.
4. Ισχυρή ανακίνηση και επώαση σε πάγο για 20min (ανακίνηση και κατά τη διάρκεια των 20min).
5. Φυγοκέντρηση (10min, 2000rpm, 20°C).
6. Απομάκρυνση υπερκείμενου.
7. Προσθήκη 10-12ml Lysis I (αραιωμένο 1x) και ισχυρή ανακίνηση για διάλυση ιζήματος.
8. Φυγοκέντρηση (10min, 2500rpm, 20°C).
9. Απομάκρυνση υπερκείμενου.
10. Προσθήκη 1.5ml διαλύματος LysisII και ισχυρή ανακίνηση.
11. Προσθήκη 25μl πρωτεΐνης K (20mg/ml).
12. Προσθήκη 75μl SDS 20% και ήπια ανάδευση.
13. Επώαση στους 56°C σε υδατόλουτρο για 12 ώρες.

ΗΜΕΡΑ 2^η

1. Προσθήκη 0,5ml NaCl 6M και ισχυρή ανακίνηση για 15-20sec.
2. Φυγοκέντρηση (10min, 3000rpm, 20°C). Με την φυγοκέντρηση, παρουσία της μεγάλης συγκέντρωσης αλάτος που αποδιατάσσει τις πρωτεΐνες, γίνεται κατακρήμνιση των πρωτεϊνών. Το DNA είναι διαλυτό σε διαλύματα αλάτων.
3. Ισχυρή ανακίνηση για διάλυση του ιζήματος και φυγοκέντρηση (10min, 3000rpm, 20°C).

4. Μεταφορά υπερκείμενου σε σωλήνα Falcon 50ml που περιέχει 12-15ml αιθανόλης 96% και ήπια ανάδευση. Σε αυτή τη φάση γίνεται ορατό το DNA. Συγκέντρωση DNA σε κουβάρι σε roller bench.
7. Απομάκρυνση DNA από το διάλυμα με πιπέτα με κίτρινο tip σε eppendorf 1.5ml στο οποίο έχουμε προηγουμένως τοποθετήσει 1ml αιθανόλης 70%.
8. Προσθήκη 4-5 σταγόνων οξικού αμμωνίου 10M.
9. Φυγοκέντρωση (15min, 14000g, 20°C) .
10. Έδειασμα υπερκείμενου και στέγνωμα για 20-30min έως ότου δεν υπάρχουν υπολείμματα αιθανόλης.
11. Προσθήκη 0,5ml διαλύματος TE.
12. Διαλυτοποίηση DNA με παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 1 εβδομάδα.

3.6. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ TAQMAN

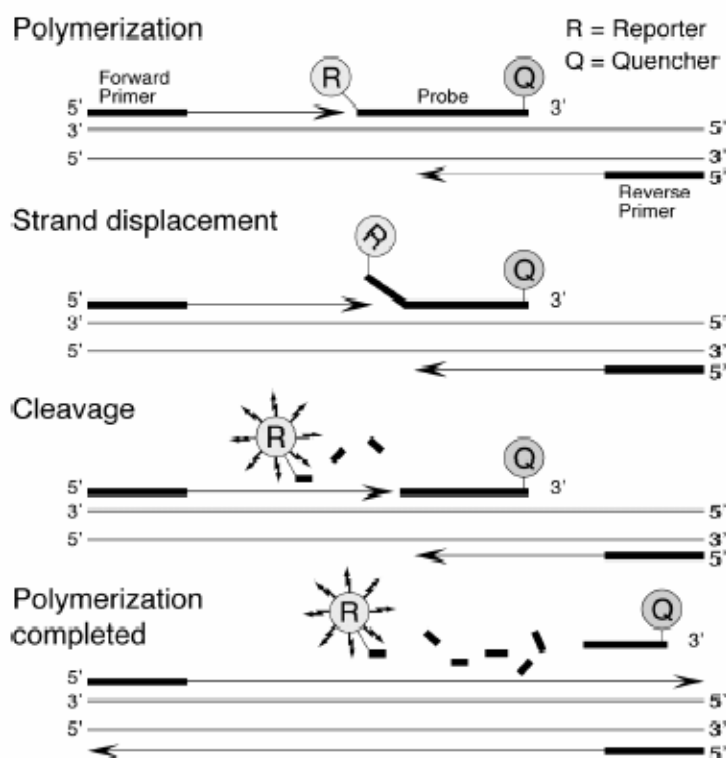
Ο προσδιορισμός των γονοτύπων για τον πολυμορφισμό-1162 5A>6A της MMP3 που μελετήθηκε έγινε με τη μέθοδο Taqman σε συνεργασία με το εργαστήριο Αιματολογίας του Πανεπιστημίου του Leiden (Ολλανδία).

Η μέθοδος Taqman αποτελεί εξέλιξη της κλασικής μεθόδου ανίχνευσης πολυμορφισμών με αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης και πέψη με περιοριστική ενδονουκlease. Με τη μέθοδο Taqman μπορούν να προσδιοριστούν γνωστές μεταλλάξεις ή πολυμορφισμοί σε μια αλληλουχία, ακόμη κι αν πρόκειται για αλλαγή μιας μόνο βάσης.

Χρησιμοποιούνται δύο ανιχνευτές υβριδισμού συμπληρωματικοί ως προς την αλληλουχία-στόχο, για παρουσία και απουσία του πολυμορφισμού. Οι ανιχνευτές φέρουν χρωστική φθορισμού είτε 6-κάρβοξυ φλουορεσκίνη (FAM), είτε τη χρωστική VIC. Ο κάθε ανιχνευτής φέρει στο 5' άκρο του την χρωστική φθορισμού, ενώ στο 3' άκρο του φέρει μια άλλη χρωστική η τετραμέθυλορδοαμίνη (TAMRA) που ονομάζεται παρεμποδιστής (quencher). Εξαιτίας της παρουσίας του παρεμποδιστή η χρωστική στο 5' άκρο δε δίνει σήμα φθορισμού. Πέρα από τους ανιχνευτές, χρησιμοποιούνται και εκκινητές όπως γίνεται στην κλασική PCR.

Η αντίδραση γίνεται σε θερμικό κυκλοποιητή, με βήματα αντίστοιχα αυτών της συμβατικής PCR. Κατά το στάδιο της υβριδοποίησης των εκκινητών (annealing), υβριδοποιούνται και οι ανιχνευτές. Στη συνέχεια, κατά το στάδιο της επιμήκυνσης (extension) η πολυμεράση υδρολύει τους υβριδοποιημένους ανιχνευτές, οπότε ο παρεμποδιστής απομακρύνεται από τη χρωστική, κι έτσι η τελευταία εκπέμπει σήμα φθορισμού (εικόνα 3.6.1). Το σήμα αυτό αυξάνεται σε κάθε κύκλο, καθώς αυξάνεται ποσοτικά το προϊόν της αντίδρασης, και στο τέλος μετράται από ειδικό μηχανήμα.

Η αντίδραση πραγματοποιείται σε πλάκα 96 ή 384 θέσεων επιτρέποντας την ταυτόχρονη ανάλυση πολλών δειγμάτων. Στο τέλος της αντίδρασης δέσμη laser συλλέγει από κάθε κελί το φθορίζον σήμα (που αποτελεί συνδυασμό των εκπομπών από κάθε μια χρωστική FAM και VIC) και με τη βοήθεια ειδικών αλγορίθμων μετράται η συμμετοχή κάθε χρωστικής φθορισμού στο συνολικό σήμα που λαμβάνεται. Τελικά, δημιουργείται από το μηχανήμα ένα διάγραμμα στο οποίο φαίνεται το σήμα φθορισμού που λήφθηκε από κάθε κελί της πλάκας. Αυξημένη εκπομπή χρωστικής FAM ή VIC υποδηλώνει ομοζυγωτία για το συγκεκριμένο αλληλόμορφο για το οποίο ο ανιχνευτής φέρει την αντίστοιχη χρωστική, ενώ ισόποση εκπομπή και από τις δύο χρωστικές υποδηλώνει ετεροζυγωτία.

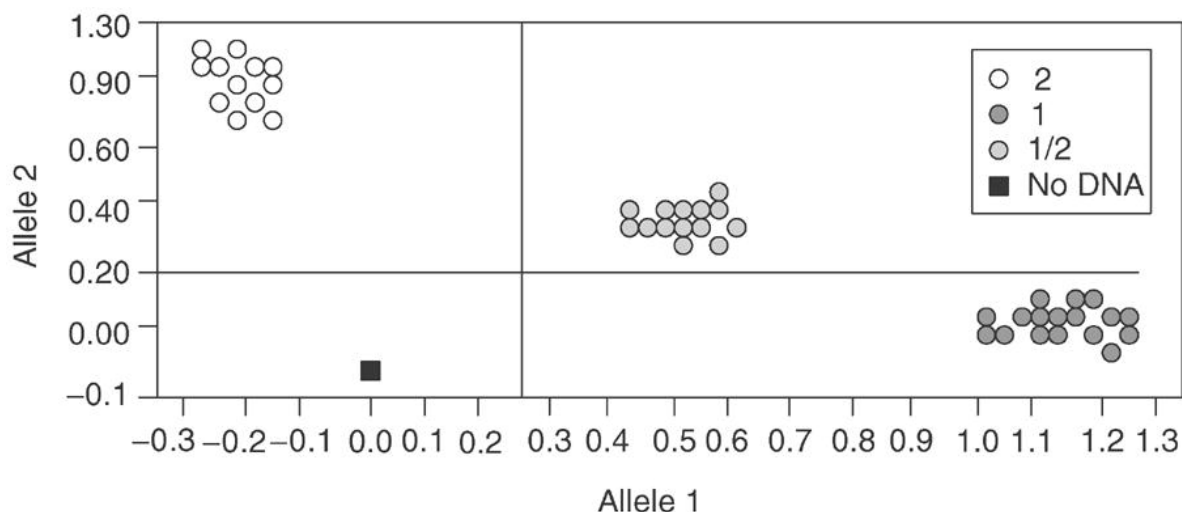


Εικόνα 3.6.1.: Στην εικόνα φαίνεται η αρχή της μεθόδου Taqman. Όταν ο ανιχνευτής υβριδισμού (probe) δεν έχει υβριδοποιηθεί ακόμη στη συμπληρωματική του αλληλουχία ο παρεμποδιστής (quencher) εμποδίζει την εκπομπή σήματος φθορισμού από τη χρωστική φθορισμού (reporter). Όταν η πολυμεράση υδρολύσει τους υβριδοποιημένους ανιχνευτές εκπέμπεται σήμα φθορισμού.

Στην αντίδραση πέρα από τα δείγματα συμπεριλαμβάνονται και 3 διαφορετικοί μάρτυρες:

1. ένα κελί στο οποίο περιέχεται μίγμα των αντιδραστηρίων χωρίς όμως DNA. Από το κελί αυτό η εκπομπή φθορισμού οφείλεται σε ανιχνευτές που είναι ενωμένοι με παρεμποδιστή.
2. ένα κελί στο οποίο τοποθετείται δείγμα ομόζυγο για το ένα αλληλόμορφο. Το σήμα φθορισμού αντιπροσωπεύει την χρωστική που είναι συνδεδεμένη με το αντίστοιχο αλληλόμορφο.
3. ένα κελί στο οποίο τοποθετείται δείγμα ομόζυγο για το άλλο αλληλόμορφο. Το σήμα φθορισμού αντιπροσωπεύει την χρωστική που είναι συνδεδεμένη με το αλληλόμορφο αυτό.

Η εικόνα που λαμβάνεται τελικά από το μηχάνημα και με την οποία γίνεται ο προσδιορισμός των γονοτύπων φαίνεται παρακάτω (εικόνα 3.6.2).



Εικόνα 3.6.2.: Στην εικόνα φαίνεται το διάγραμμα με το οποίο γίνεται ο προσδιορισμός των γονοτύπων. Στον κάθετο άξονα φαίνονται τα δείγματα τα ομόζυγα για ένα υποθετικό αλληλόμορφο 2 (allele 2), ενώ στον οριζόντιο άξονα τα δείγματα τα ομόζυγα για ένα υποθετικό αλληλόμορφο 1 (allele 1). Ενδιάμεσα βλέπουμε τα ετερόζυγα άτομα. Το μαύρο

τετράγωνο στην αρχή των αξόνων αντιστοιχεί στο κελί στο οποίο δεν έχουμε τοποθετήσει DNA.

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την προετοιμασία των δειγμάτων έχει ως εξής:

1. Τοποθετούνται 10 μ l DNA συγκέντρωσης 5-20 μ l στα κελιά της πλάκας. Αφήνεται να στεγνώσει.
2. Παρασκευάζεται το μίγμα των αντιδραστηρίων της PCR. Οι ποσότητες των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν φαίνονται στον πίνακα 2.1. 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.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΜΙΓΜΑ ΓΙΑ PCR

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ	ΟΓΚΟΣ (μ l)
Hot start Taq ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ (5U/ μ l)	0.05
PCR BUFFER (10X)	1.1
MgCl ₂ (50mM)	0.65
dNTP's	0.45
ΔΕΞΙΟΣ ΕΚΚΙΝΗΤΗΣ (100mM)	0.0325
ΑΡΙΣΤΕΡΟΣ ΕΚΚΙΝΗΤΗΣ (100mM)	0.0325
VAM (100mM)	0.0325
FIC (100mM)	0.0325
ΝΕΡΟ ΑΠΕΣΤΑΓΜΕΝΟ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΜΕΝΟ	7.12

2. 5 μ l μίγματος τοποθετούνται σε κάθε κελί της πλάκας.
3. Η πλάκα μεταφέρεται σε θερμικό κυκλοποιητή (μηχάνημα PCR) και ακολουθείται το ακόλουθο πρόγραμμα:

ΒΗΜΑ 1^ο: 37°C για 10 min

ΒΗΜΑ 2^ο: 95°C για 10 min

ΒΗΜΑ 3^ο: 95°C για 15 seconds

ΒΗΜΑ 4^ο: 60°C για 1 min

ΒΗΜΑ 5^ο: (Βήμα 3^ο και Βήμα 4^ο) x 49

ΒΗΜΑ 7^ο: 25°C αποθήκευση

Μετά το τέλος της αντίδρασης η πλάκα μεταφέρεται στο μηχάνημα στο οποίο θα γίνει η ταυτοποίηση των γονοτύπων με τη χρήση ειδικού λογισμικού. Το μηχάνημα που χρησιμοποιήθηκε είναι το (ABI PRISM 7700). Τελικά σε αρχείο excel λαμβάνεται λίστα με τον αριθμό των κελιών και τον γονότυπο που αντιστοιχεί σε κάθε κελί.

3.7. ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

➤ Lysis I (20x)

- ο 82,9gr NH₄CL (3,1M).
- ο 10,01gr KHCO₃ (200mM).
- ο 20ml EDTA (0,5M).
- ο Ανάδευση.
- ο Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι Vτελ=500ml.
- ο Έλεγχος και ρύθμιση pH στο 7,4.
- ο Αποστείρωση.

➤ Lysis I (1x)

- ο 25ml Lysis I 20x.
- ο Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι Vτελ=500ml.
- ο Ανάδευση.

➤ Lysis II

- ο 0,61gr TrisHCL (10mM).
- ο 11,69gr NaCL (400mM).
- ο 2ml EDTA (0,5M).
- ο Ανάδευση.
- ο Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι Vτελ=500ml.
- ο Έλεγχος και ρύθμιση pH στο 8,4.
- ο Αποστείρωση.

➤ Πρωτεΐνάση K (20mg/ml)

- ο 100mg πρωτεΐνάση K.

- ο 5ml αποστειρωμένο νερό.
- ο Ανάδευση σε Vortex.
- ο Κατανομή σε eppendorfs των 1,5ml.
- ο Αποθήκευση στους -20 °C.
- ο Ανάδευση.

➤ **SDS 20%**

- ο 20gr SDS.
- ο 60ml απεσταγμένο νερό.
- ο Ανάδευση.

➤ **Tris-EDTA (TE)**

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

➤ **Οξικό αμμώνιο 10M**

- ο 77gr CH₃COONH₄ .
- ο Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι τελικού όγκου 100ml.
- ο Ανάδευση.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Το δείγμα μας αποτελείτο από την ομάδα των ασθενών εκείνων που είχαν υποστεί έμφραγμα μυοκαρδίου ή ασταθή στηθάγχη ως πρώτη εκδήλωση της στεφανιαίας νόσου εντός του τελευταίου μήνα και την ομάδα ελέγχου.

Στον πίνακα 4.1. παρουσιάζονται συγκεντρωτικά οι αντίστοιχες συχνότητες των αλληλομόρφων και των γονότυπων της κάθε ομάδας. Τα αποτελέσματα για τη συχνότητα των γονότυπων προέκυψαν από 187 άτομα. Από τους 80 μάρτυρες, προέκυψαν 20 ομόζυγοι ως προς το 5A αλληλόμορφο (γονότυπος 5A5A), 40 ετερόζυγοι (γονότυπος 5A6A) και 20 ομόζυγοι ως προς το 6A αλληλόμορφο (γονότυπος 6A6A). Στους ασθενείς, 107 συνολικά, προέκυψαν 30 ομόζυγοι ως προς το 5A αλληλόμορφο (γονότυπος 5A5A), 52 ετερόζυγοι (γονότυπος 5A6A) και 25 ομόζυγοι ως προς το 6A αλληλόμορφο (γονότυπος 6A6A).

	ΜΑΡΤΥΡΕΣ (%) N= 80	ΑΣΘΕΝΕΙΣ(%) N= 107
5A αλληλόμορφο	50	52.3
6A αλληλόμορφο	50	47.7
Γονότυπος 5A5A	25	28
Γονότυπος 5A6A	50	48.6
Γονότυπος 6A6A	25	23.4
P-value	0.893	

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.1. Συχνότητες αλληλομόρφων και γονότυπων στον πληθυσμό

Η κατανομή του πολυμορφισμού στο δείγμα συγκρίθηκε με την αναμενόμενη κατανομή που προκύπτει από την ισορροπία Hardy-Weinberg και τα αποτελέσματα έδωσαν για το σύνολο του δείγματος $p\text{-value} = 0,98$, για τους μάρτυρες $p\text{-value} = 1$ και για τους ασθενείς $p\text{-value} = 0,96$. Προκύπτει ότι οι συχνότητες των γονότυπων βρίσκονται σε ισορροπία Hardy-Weinberg.

Τα αποτελέσματα των χαρακτηριστικών του δείγματος προέκυψαν από 244 άτομα. Τα χαρακτηριστικά του δείγματος παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.2. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται στον πίνακα ως μέσες τιμές $\pm$ τυπικές αποκλίσεις. Παρουσιάζονται τα εξής χαρακτηριστικά : ηλικία, δείκτης μάζας σώματος (BMI), πηλίκο περιφέρειας μέσης / περιφέρεια ισχίου (Waist to hip ratio), ολική χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, επίπεδα γλυκόζης νηστείας, έτη εκπαίδευσης, επίπεδα τριγλυκεριδίων και βαθμολογία στο σκορ μεσογειακής διατροφής (Medscore). Οι κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως σχετικές συχνότητες. Παρουσιάζονται τα εξής χαρακτηριστικά : φύλο, οικογενειακό ιστορικό οξέος εμφράγματος, παρουσία υπερχοληστερολαιμίας, υπέρτασης και πανεπιστημιακή εκπαίδευση.

Χαρακτηριστικά	Μάρτυρες N= 107	Ασθενείς N= 137	P- value
Φύλο (%)			<0.001
Άντρες	59.7	80.5	
Γυναίκες	40.3	19.5	
Οικογενειακό Ιστορικό	17.8	27.2	0.099
Κάπνισμα (%)	56.3	79.7	<0.001
Υπέρταση (%)	57	62.2	0.446
BMI (kg/m)	28,757 $\pm$ 4.277	27,501 $\pm$ 4,510	0.026
Waist to hip ratio	0.9255 $\pm$ 0.09272	0.9560 $\pm$ 0.1021	0.026
Υπερχοληστερολαιμία (%)	68,4	73,6	0,409
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	199,85 $\pm$ 42,66	196,67 $\pm$ 47,05	0,625
LDL χοληστερόλη (mg/dl)	129.62 $\pm$ 36.85	132.94 $\pm$ 43.92	0.587
HDL χοληστερόλη (mg/dl)	48.89 $\pm$ 12.75	47.22 $\pm$ 18.62	0.469
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	129.80 $\pm$ 69.06	136.28 $\pm$ 69.65	0.528
Γλυκόζη νηστείας (mg/dl)	103,2 $\pm$ 30,09	111,17 $\pm$ 38,22	0,060
Έτη εκπαίδευσής	12,03 $\pm$ 4,91	11,07 $\pm$ 4,67	0,131
Πανεπιστημιακή Εκπαίδευση (%)	62.1	20	<0.001
Medscore	29,82 $\pm$ 4,42	28,89 $\pm$ 4,45	0.105

Πίνακας 4.2. Χαρακτηριστικά του δείγματος

Ακόμη πέραν του υπολογισμού του μέσου όρου του μεσογειακού σκορ της κάθε ομάδας, τόσο οι μάρτυρες όσο και οι ασθενείς χωρίστηκαν σε τριτημόρια από το χαμηλότερο στο υψηλότερο σκορ. Τα αποτελέσματα του διαχωρισμού παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα :

	Μέσος $\pm$ τυπική απόκλιση	Μάρτυρες (%)	Ασθενείς (%)
Q1	24,57 $\pm$ 2,36	29.9	36.5
Q2	29,33 $\pm$ 1,04	32.7	39.4
Q3	34,58 $\pm$ 2,37	37.4	24.1
P-value	0.079		

Πίνακας 4.3. Διαχωρισμός του δείγματος σε τριτημόρια σύμφωνα με τα επίπεδα του μεσογειακού διατροφικού σκορ

Για τον έλεγχο ύπαρξης συσχετίσεων μεταξύ των παραπάνω μεταβλητών και της εμφάνισης εμφράγματος του μυοκαρδίου ελέγχουμε την υπόθεση :

H_0 : Η χ μεταβλητή και η εμφάνιση εμφράγματος του μυοκαρδίου είναι ανεξάρτητες.

H_1 : Η χ μεταβλητή και η εμφάνιση εμφράγματος δεν είναι ανεξάρτητες

Για $p < 0,05$ απορρίπτουμε τη μηδενική υπόθεση ενώ για $p > 0,05$ δεχόμαστε την H_0 και καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι οι μεταβλητές είναι ανεξάρτητες.

Ο έλεγχος των συσχετίσεων για τις κατηγορικές μεταβλητές πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο χ^2 του Pearson. Σύμφωνα με το κριτήριο $p < 0,05$ παρατηρούμε ότι συσχετίσεις με την εμφάνιση εμφράγματος του μυοκαρδίου παρατηρούνται για τις μεταβλητές φύλο, κάπνισμα και πανεπιστημιακή εκπαίδευση. Για τις μεταβλητές ηλικία, οικογενειακό ιστορικό, υπέρταση και υπερχοληστερολαιμία δεν προκύπτει κάποια συσχέτιση.

Ο έλεγχος των συσχετίσεων μεταξύ συνεχών και κατηγορικής μεταβλητής (εμφάνιση εμφράγματος) πραγματοποιήθηκε με τον έλεγχο T – test του Student. Αντίστοιχα με τις κατηγορικές μεταβλητές, και για τις συνεχείς για $p < 0,05$ απορρίπτεται η H_0 . Όσον αφορά τις συνεχείς μεταβλητές, στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις εμφανίζονται για τις μεταβλητές δείκτης μάζας σώματος και λόγος περιφέρειας μέσης/ περιφέρεια ισχίου. Ο διαχωρισμός των ατόμων σε ομάδες ανάλογα με το μεσογειακό σκορ, παρουσιάζει μία σαφή διαφοροποίηση μεταξύ των ομάδων. Δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση στο απαιτούμενο επίπεδο, αλλά η τιμή p-value πλησιάζει το αποδεκτό επίπεδο σημαντικότητας (p-value=0,079). Όσον αφορά τη γλυκόζη νηστείας, παρατηρείται διαφορά 8,15 mg/dl μεταξύ των μέσων όρων των δύο ομάδων, αν και δεν προκύπτει στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Ο διαχωρισμός των ατόμων σε ομάδες ανάλογα με το μεσογειακό σκορ, παρουσιάζει μία σαφή διαφοροποίηση μεταξύ των ομάδων. Παρόλο που δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση στο απαιτούμενο επίπεδο, παρ'όλα αυτά η τιμή p-value πλησιάζει το αποδεκτό επίπεδο σημαντικότητας (p-value=0,079). Για τις υπόλοιπες συνεχείς μεταβλητές δεν προκύπτουν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις.

Τα αποτελέσματα της λογαριθμιστικής παλινδρόμησης παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα :

	P-value	Odds ratio	95% CI
MMP3	0.197	1.532	0.897-2.368
Αλληλεπίδραση medscore – MMP3	0.257	1.094	0.937-1.278

Πίνακας 4.4. Αποτελέσματα παλινδρόμησης

Λαμβάνοντας υπ'όψη ως πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες τις μεταβλητές φύλο, ηλικία, υπερχοληστερολαιμία, υπέρταση, οικογενειακό ιστορικό και κάπνισμα, προκύπτουν τα παρακάτω:

Δεν εμφανίζεται συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού της mmp-3 και της εμφάνισης οξέος στεφανιαίου συνδρόμου. Επίσης η αλληλεπίδραση του πολυμορφισμού και του μεσογειακού σκορ δεν φαίνεται να σχετίζεται με την εμφάνιση εμφράγματος του μυοκαρδίου ($p\text{-value}>0.05$).

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας και η δημιουργία θρόμβωσης έχει αναγνωριστεί καλά ως ένας κύριος παράγοντας κινδύνου στην παθογένεια της στεφανιαίας νόσου. Υψηλά επίπεδα δραστικότητας των μεταλλοπρωτεϊνών μήτρας αναγνωρίστηκαν σαν ένας πιθανός μηχανισμός για την καταστροφή της αρτηριακής πλάκας με επακόλουθο την ρήξη της. Η στρομελίσιν-1, ή αλλιώς mmp-3, φαίνεται να παίζει ένα σημαντικό ρόλο στη φυσιολογία και στα παθογενετικά γεγονότα που σχετίζονται με την ρήξη της αθηρωματικής πλάκας. Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν *in vitro* έχουν απόδειξη ότι το 5A αλληλόμορφο προκαλεί διπλάσια ενεργοποίηση του υποκινητή του γονιδίου της mmp-3 σε σχέση με το 6A-αλληλόμορφο. Επίσης πολλές μελέτες έχουν αναγνωρίσει ότι ο 5A/6A πολυμορφισμός του mmp-3 γονιδίου παίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων (139, 140, 141).

Στην παρούσα μελέτη η διαφορά της συχνότητας του 5A/6A πολυμορφισμού ανάμεσα στην ομάδα των ασθενών και στην ομάδα ελέγχου δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($P\text{-value}=0,893$), παρά το γεγονός ότι παρατηρήθηκε μεγαλύτερη συχνότητα του 5A αλληλόμορφου στην ομάδα των ασθενών. Λαμβάνοντας υπ'όψη πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες, επίσης δεν εμφανίζεται κάποια συσχέτιση. Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης δείχνουν να είναι σύμφωνα με ένα μικρό αριθμό ερευνών οι οποίες δεν βρήκαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του mmp-3 5A/6A πολυμορφισμού και των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Συγκεκριμένα στην επιδημιολογική μελέτη των Tobin et al. με δείγμα 549 Καυκασιανούς, κάτοικοι του Ηνωμένου Βασιλείου, δεν έδειξε σχέση μεταξύ του 5A/6A πολυμορφισμού και της εμφάνισης του εμφράγματος του μυοκαρδίου, ($P\text{-value}=0,723$). Τα αποτελέσματα αυτά ίσως μπορούν να εξηγηθούν εν μέρει από το μικρό αριθμό του δείγματος μας και στις διαφορές που υπάρχουν μεταξύ των πληθυσμών που μελετήθηκαν. Συγκεκριμένα, οι συχνότητα των αλληλόμορφων είναι γνωστό ότι διαφέρουν κατά πολύ μεταξύ των Ιαπώνων και της Καυκάσιας φυλής (147).

Η αλληλεπίδραση μεταξύ του πολυμορφισμού και της βαθμολογίας στο μεσογειακό σκορ δεν προκύπτει να σχετίζεται με την εμφάνιση οξέος στεφανιαίου συνδρόμου. Μέχρι στιγμής δεν υπάρχουν μελέτες που να διερεύνουν την αλληλεπίδραση του πολυμορφισμού -1612 5A/6A του γονιδίου της mmp-3 με τη Μεσογειακή Διατροφή στη στεφανιαία νόσο. Η απουσία της συσχέτισης στην παρούσα μελέτη είναι πιθανό να οφείλεται στο μικρό μέγεθος του δείγματος, ή ενδεχομένως απαιτείται επιλογή συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών για τη μελέτη της αλληλεπίδρασης.

Η Μεσογειακή Διατροφή εδώ και πολλά χρόνια σχετίζεται με αύξηση της ποιότητας της υγείας και της εκτεταμένης μακροζωίας. Αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά από τη μελέτη των Επτά Χωρών, η οποία έδειξε ότι μεσογειακή διατροφή σχετίζεται με μείωση των επιπέδων θνησιμότητας για τα καρδιαγγειακά, το καρκίνο και άλλων ασθενειών. Η Lyon Heart Study συμπέρανε ότι τα άτομα που ακολουθούσαν μεσογειακού τύπου διατροφή είχαν μείωση του κινδύνου ανάπτυξης οξέος στεφανιαίου επεισοδίου και 50-70 % μικρότερο κίνδυνο νέου στεφανιαίου επεισοδίου. Αυτά τα αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με την ιταλική μελέτη των Εννέα κοινοτήτων, τη Φινλανδική και ομάδων στη Σκωτία καθώς και τη CARDIO2000 (4, 5, 96).

Στην παρούσα μελέτη ο διαχωρισμός των ατόμων σε τρεις ομάδες ανάλογα με το μεσογειακό σκορ, παρουσιάζει μία διαφοροποίηση μεταξύ των ομάδων, χωρίς όμως να παρατηρείται στατιστικά σημαντική συσχέτιση στο απαιτούμενο επίπεδο σημαντικότητας ($p\text{-value}=0,079$). Μόνο το 24,1% της ομάδα των ασθενών είχαν βαθμολογηθεί με το υψηλότερο μεσογειακό σκορ σε σχέση με το 37,4% της ομάδας ελέγχου. Λαμβάνοντας υπ' όψη πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες, δεν εμφανίζεται κάποια συσχέτιση. Η απουσία της συσχέτισης στην παρούσα μελέτη είναι πιθανό να οφείλεται και πάλι στο μικρό μέγεθος του δείγματος. Επίσης ίσως να οφείλεται στο γεγονός ότι οι ασθενείς συμπλήρωσαν το ερωτηματολόγιο συχνότητας τροφίμων αφού είχαν υποστεί έμφραγμα του μυοκαρδίου σε διάστημα λιγότερο του ενός μηνός. Επηρεασμένοι από το ψυχολογικό στρες ίσως να οδηγήθηκαν στην απόκρυψη

κάποιων ‘κακών’ διατροφικών συνηθειών. Ακόμη επειδή το χρονικό διάστημα διερεύνησης της ανακαλούμενης πληροφορίας είναι μεγάλο, ο κίνδυνος του σφάλματος ανάκλησης για τη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου συχνότητας τροφίμων είναι πιθανός.

Στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις παρατηρούνται μεταξύ της εμφάνισης οξέος εμφράγματος και των παρακάτω μεταβλητών : Φύλο, κάπνισμα, δείκτης μάζας σώματος, λόγος περιφέρειας μέσης/ περιφέρεια ισχίου και πανεπιστημιακή εκπαίδευση.

Το κάπνισμα είναι ένας από τους κύριους παράγοντες για την εμφάνιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων σύμφωνα με πολλά ερευνητικά στοιχεία. Ο καπνός του τσιγάρου φαίνεται να καταστρέφει κατευθείαν το αγγειακό ενδοθήλιο και να προάγει τη δημιουργία της θρόμβωσης και της αθηρογένεσης. Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι το κάπνισμα σχετίζεται με την εμφάνιση οξέος στεφανιαίου συνδρόμου. Στην ομάδα ελέγχου το 56,3% ήταν καπνιστές ενώ στην ομάδα ασθενών το 79,7%, ($p\text{-value}<0.01$) (52, 54, 139).

Η παχυσαρκία σχετίζεται θετικά με πολλούς από τους παράγοντες κινδύνου της στεφανιαίας νόσου όπως είναι η υπέρταση, η ινσουλινοαντίσταση και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, η δυσλιπιδαιμία με υψηλά επίπεδα της LDL και χαμηλά επίπεδα της HDL και η φλεγμονή. Έτσι η παχυσαρκία θεωρείται από μόνη της ως ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου (71,72,73,74). Παρ’ όλα αυτά στην παρούσα έρευνα ο υψηλός δείκτης μάζας σώματος σχετίζεται αρνητικά με την εμφάνιση εμφράγματος του μυοκαρδίου, ($p\text{-value}=0,026$). Τα ευρήματα αυτά ίσως να οφείλονται στο γεγονός ότι η παχυσαρκία είναι ένας από τους πιο γνωστούς παράγοντες κινδύνου καθώς και ο πιο εμφανής με αποτέλεσμα να

οδήγησε τα άτομα ελέγχου στα νοσοκομεία (από όπου έγινε η συλλογή του δείγματος) για προσυμπτωματικό έλεγχο.

Στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση παρουσιάζεται επίσης μεταξύ της εμφάνισης οξέος εμφράγματος και του λόγου περιφέρειας μέσης/ περιφέρεια ισχίου, ($p\text{-value}=0,026$). Η συσχέτιση αυτή επιβεβαιώνει την υπόθεση ότι η κεντρικού τύπου παχυσαρκία (αύξηση του ενδοκοιλιακού λίπους) είναι πιο επικίνδυνη για την εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου και άλλων χρόνιων νοσημάτων. Έχει βρεθεί ότι άτομα με αυξημένο ενδοκοιλιακό λίπος παρουσιάζουν συχνότερα υπερλιπιδαιμία, υπέρταση, παθολογική ανοχή στη γλυκόζη και υπερινσουλιναίμία. Το γεγονός αυτό αφορά όχι μόνο τους παχύσαρκους αλλά και μη παχύσαρκα άτομα, υπόθεση η οποία ενισχύεται και από την παρούσα έρευνα με το γεγονός ότι η ομάδα ελέγχου παρουσιάζει χαμηλότερες τιμές του λόγου παρά τις υψηλότερες τιμές δείκτη μάζας σώματος.

Στατιστικά σημαντική ήταν και η σχέση της ανώτατης εκπαίδευσης ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου και των ασθενών όπου το 62,1% της πρώτης ομάδα είχαν πτυχίο από πανεπιστήμιο ενώ στην ομάδα των ασθενών είχε μόνο το 20%, ($p\text{-value}<0.01$). Η ανώτατη εκπαίδευση είναι ένας κοινωνικοοικονομικός παράγοντας που δείχνει ότι τα άτομα που βρίσκονται σε υψηλή κοινωνική τάξη παρουσιάζουν καλύτερη υγεία και καλύτερη διατροφική κατάσταση από τα άτομα που βρίσκονται σε κατώτερες κοινωνικές τάξεις (Scottish heart health study). Η συσχέτιση αυτή αποτελεί ιδιαίτερα ενδιαφέρον εύρημα, καθώς παρουσιάζει την αναγκαιότητα ενημέρωσης και εκπαίδευσης των χαμηλότερα κοινωνικών τάξεων μέσω εκπαιδευτικών προγραμμάτων στα σχολεία με σκοπό τη μείωση του επιπολασμού της στεφανιαίας νόσου στο πληθυσμό αυτό (43).

Για τις μεταβλητές όπως η ηλικία, η ολική χοληστερόλη, η LDL, η HDL, τα έτη εκπαίδευσης, τα τριγλυκερίδια, η υπερχοληστερολαιμία, η υπέρταση και το

ιστορικό εμφράγματος δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις όσον αφορά την εμφάνιση οξέος στεφανιαίου συνδρόμου, ($P\text{-value}>0,05$). Αυτό ίσως να οφείλεται λόγω του μικρού αριθμού των δειγμάτων της έρευνας και σφάλμα στη κατανομή φύλου αντίστοιχη με των ασθενών της μελέτης αφού το ποσοστό των γυναικών στην ομάδα ελέγχου είναι πολύ πιο μεγάλο από ότι στην ομάδα των ασθενών. Ίσως πάλι να οφείλεται στη λανθασμένη επιλογή της ομάδας ελέγχου. Η λήψη του δείγματος ελέγχου από το ίδιο περιβάλλον με αυτό των ασθενών, οδηγεί και στην παρόμοια συχνότητα παραγόντων κινδύνου, οι οποίοι οδηγούν τα άτομα στον προσυμπτωματικό έλεγχο. Παρ'όλα αυτά οι επιδράσεις των πιο πάνω μεταβλητών έχουν καλά μελετηθεί από επιδημιολογικές μελέτες οι οποίες έδειξαν συσχέτιση με την εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου (1,67,88,89,90). Η αύξηση των επιπέδων γλυκόζης νηστείας φαίνεται να σχετίζεται θετικά με την εμφάνιση εμφράγματος, σε επίπεδο σημαντικότητας που πλησιάζει τα αποδεκτά όρια ($p\text{-value}=0,06$).

Περαιτέρω έρευνες ασθενών-μαρτύρων, στην Καυκάσια φυλή είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθούν, ώστε να επιβεβαιωθεί ο ρόλος του 5A/6A πολυμορφισμού ως παράγοντας κινδύνου έναντι της εμφάνισης οξέος στεφανιαίου συνδρόμου. Ο λόγος είναι ότι οι περισσότερες έρευνες έχουν διεξαχθεί σε Ιάπωνες όπου και παρατηρήθηκε διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης του πολυμορφισμού σε σχέση με την Καυκάσια φυλή. Επίσης το δείγμα των ερευνών πρέπει να είναι μεγαλύτερο από την παρούσα έρευνα έτσι ώστε να μπορέσει να δώσει στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα. Καθώς πρέπει να γίνει και καλύτερη εξομοίωση των δύο ομάδων ως προς κάποιους γνωστούς συγχυτικούς παράγοντες (π.χ. φύλο, ηλικία).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) Ζαμπέλας Α. Κλινική διαιτολογία και διατροφή με στοιχεία παθολογίας. Τόμος 1. Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης. 2007.
- (2) Who 2002 Report-Preventing, Promoting Healthy Life.2002.
- (3) American Heart Association. International Cardiovascular Disease Statistics. www.amhrt.org
- (4) Πίτσαβος Χ, Παναγιωτάκος Δ.Β, Σταφανάδης Χ.Ι. Η Επιδημιολογία της Στεφανιαίας Νόσου στην Ελλάδα. Αθήνα 2004
- (5) Πίτσαβος Χ, Σταφανάδης Χ.Ι. Επιδημιολογικά Χαρακτηριστικά Ασθενών με Οξύ Στεφανιαίο Σύνδρομο. Στοιχεία από τη μελέτη Greek Acute Coronary Syndrome(GREECS). Αθήνα 2006
- (6) Labarthe D. R. Epidemiology and Prevention of cardiovascular Diseases. A global challenge. Maryland. An Aspen Publications, 1998.
- (7) Keys A. Coronary heart disease in seven countries. Circulation 1970, 41: Suppl 4: 1-211.
- (8) Kannel W.B., McGee D.L., Gordon T. A general cardiovascular risk profile: The Framingham Study. Am J Cardiol 1976, 38: 46-51.
- (9) European cardiovascular disease statistics website: www.heartstats.org
- (10) Word Health Statistics Annual – Electronic website: www.who.int
- (11) Murrarv CJL, Lopez AD. The global burden of disease in 1900. In: Murrarv CJL, Lopez AD, Harvard School of Public Health, Word Health Organizations, Word Bamk, editors. The global Burden of Disease: A Comprehensive Assessment of Mortality and Disability from Disease, Injuries and Risk Factors in 1900 and Projected to 2020. Cambridge, MA: Harvard School of Public Health,1996: 247-93
- (12) Murrarv CJL, Lopez AD. Global mortality, disability and the contribution of the risk factors: Global Burden of Disease Study. Lancet 1997; 349:1436-42
- (13) Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysoshoou C and Stefanidis C. Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study. BMC Public Health 2003, 3:32

- (14) Ανδρεόλι Θ.Ε. Βασική Παθολογία. 5^η έκδοση. Α΄ Τομος.2003 Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας
- (15) Vander, M.D, Sherman, Ph.D, Luciano, Ph.D, M. Τσακόπουλος. Φυσιολογία του ανθρώπου. Μηχανισμοί της Λειτουργίας του Οργανισμού II. 8^η έκδοση.Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδη Π.Χ. Πασχαλίδης 2001
- (16) Glass CK and Witztum JL. Atherosclerosis the road ahead. *Cell* 104: 503–516, 2001.
- (17) Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 352: 1685–1695, 2005.
- (18) Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 420: 868–874, 2002.
- (19) Fuster V, Fayad ZA, and Badimon JJ. Acute coronary syndromes: biology. *Lancet* 353 *Suppl* 2: SII5–9, 1999.
- (20) Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 407: 233–241, 2000.
- (21) Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 340: 115–126, 1999.
- (22) Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, and Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: a report from the committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 92: 1355–1374, 1995.
- (23) Hansson GK, Libby P, Schonbeck U, and Yan ZQ. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res* 91: 281–291, 2002.
- (24) Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, and Hansson G. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis* 6: 131–138, 1986.
- (25) Davies MJ. A macro and micro view of coronary vascular insult in ischemic heart disease. *Circulation* 82: II38–46, 1990.
- (26) Kolodgie FD, Narula J, Burke AP, Haider N, Farb A, Hui-Liang Y, Smialek J, and Virmani R. Localization of apoptotic macrophages at the site of plaque rupture in sudden coronary death. *Am J Pathol* 157: 1259–1268, 2000.
- (27) Van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM, and Das PK. 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, 1994.
- (28) Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature* 420: 846–852, 2002.
 - (29) Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 352: 1685–1695, 2005.
 - (30) Yeh ET, Anderson HV, Pasceri V, et al. C-reactive protein: linking inflammation to cardiovascular complications. *Circulation*. 2001; 104: 974–975.
 - (31) Burke AP, Tracy RP, Kolodgie F, et al. Elevated C-reactive protein values and atherosclerosis in sudden coronary death: association with different pathologies. *Circulation*. 2002; 105: 2019–2023.
 - (32) Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, et al. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet*. 1998; 351: 88–92.
 - (33) Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, et al. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation*. 1997; 96: 4219–4225.
 - (34) Pradhan AD, Rifai N, Ridker PM. Soluble intercellular adhesion molecule-1, soluble vascular adhesion molecule-1, and the development of symptomatic peripheral arterial disease in men. *Circulation*. 2002; 106: 820–825.
 - (35) Zairis MN, Ambrose JA, Manousakis SJ, et al. The impact of plasma levels of C-reactive protein, lipoprotein (a) and homocysteine on the long-term prognosis after successful coronary stenting: the Global Evaluation of New Events and Restenosis After Stent Implantation Study. *J Am Coll Cardiol*. 2002; 40: 1375–1382.
 - (36) Emmanouil Zouridakis, MD^{*}; Pablo Avanzas, MD^{*}; Ramón Arroyo-Espliguero, MD^{*}; Salim Fredericks, PhD; Juan Carlos Kaski, et al. Markers of Inflammation and Rapid Coronary Artery Disease Progression in Patients With Stable Angina Pectoris. 2004.

- (37) Huber C, Batchelor JR, Fuchs D, et al. Immune response-associated production of neopterin: release from macrophages primarily under control of interferon-gamma. *J Exp Med*. 1984; 160: 310–316.
- (38) Garcia-Moll X, Coccolo F, Cole D, et al. Serum neopterin and complex stenosis morphology in patients with unstable angina. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 35: 956–962.
- (39) Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, Cosín-Sales J, et al. Markers of inflammation and multiple complex stenoses (pancoronary plaque vulnerability) in patients with non-ST segment elevation acute coronary syndromes. *Heart*. 2004; 90: 847–852.
- (40) Garcia-Moll X, Cole D, Zouridakis E, et al. Increased serum neopterin: a marker of coronary artery disease activity in women. *Heart*. 2000; 83: 346–350.
- (41) Moreno PR, Falk E, Palacios IF, et al. Macrophage infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture. *Circulation*. 1994; 90: 775–778.
- (42) Barbara Voetsch; Joseph Loscalzo, et al. Barbara Voetsch; Joseph Loscalzo, et al. Genetic Determinants of Arterial Thrombosis. American Heart Association, Inc. 2004.
- (43) M C Shewry, W C Smith, M Woodward, and H Tunstall-Pedoe, et al. Variation in coronary risk factors by social status: results from the Scottish Heart Health Study. *Br J Gen Pract*. 1992
- (44) Gaziano JM, Buring JE, Breslow JL, et al. Moderate alcohol intake, increased levels of high-density lipoprotein and its subfractions, and decreased risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1993;329:1829–1834.
- (45) Facchini F, Chen YD, Reaven GM. Light-to-moderate alcohol intake is associated with enhanced insulin sensitivity. *Diabetes Care*. 1994;17:115–119
- (46) Renaud SC, Beswick AD, Fehily AM, et al. Alcohol and platelet aggregation: the Caerphilly Prospective Heart Disease Study. *Am J Clin Nutr*. 1992;55:1012–1017.
- (47) Ridker PM, Vaughan DE, Stampfer MJ, et al. Association of moderate alcohol consumption and plasma concentration of endogenous tissue-type plasminogen activator. *JAMA*. 1994;272:929–933.

- (48) Feskens EJ, Kromhout D. Hyperinsulinemia, risk factors, and coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Arterioscler Thromb.* 1994;14:1641–1647.
- (49) Kiechl S, Willeit J, Poewe W, et al. Insulin sensitivity and regular alcohol consumption: large, prospective, cross sectional population study (Bruneck study). *BMJ.* 1996;313:1040–1044.
- (50) Lazarus R, Sparrow D, Weiss ST. Alcohol intake and insulin levels: the Normative Aging Study. *Am J Epidemiol.* 1997;145:909–916.
- (51) Flávio Danni Fuchs; Lloyd E. Chambless; Paul Kieran Whelton; F. Javier Nieto; Gerardo Heiss. Alcohol Consumption and the Incidence of Hypertension. The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Hypertension.* 2001;37:1242.
- (52) Morrow JD, Frei B, Longmire AW, et al. Increases in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers: smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med.* 1995;332:1198–1203.
- (53) Yokode M, Kita T, Arai H, et al. Cholesterol ester accumulation in macrophages incubated with low density lipoprotein pretreated with cigarette smoke extract. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988;85:2344–2348.
- (54) Heitzer T, Yla-Herttuala S, Luoma J, et al. Cigarette **smoking** potentiates endothelial dysfunction of forearm resistance vessels in patients with hypercholesterolemia: role of oxidized LDL. *Circulation.* 1996;93:1346–1353.
- (55) Richard W. James, PhD; Ilia Leviev, PhD; Alberto Righetti, MD. Smoking Is Associated With Reduced Serum Paraoxonase Activity and Concentration in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation.* 2000;101:2252
- (56) Morris JN, Clayton DG, Everitt MG, et al. Exercise in leisure time: coronary attack and death rates. *Br Heart J.* 1990;63:325–334.
- (57) Lakka TA, Venalainen JM, Rauramaa R, et al. Relation of leisure-time physical activity and cardiorespiratory fitness to the risk of acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1994;330:1549–1554.
- (58) Lee IM, Hsieh CC, Paffenbarger RS Jr. Exercise intensity and longevity in men: the Harvard Alumni Health Study. *JAMA.* 1995;273:1179–1184.

- (59) Leon AS, Connett J, Jacobs DR Jr, et al. Leisure-time physical activity levels and risk of coronary heart disease and death: the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *JAMA*. 1987;258:2388–2395.
- (60) Slattery ML, Jacobs DR Jr, Nichaman MZ. Leisure time physical activity and coronary heart disease death: the US Railroad Study. *Circulation*. 1989;79:304–311.
- (61) Paffenbarger RS Jr, Hyde RT, Wing AL, et al. The association of changes in **physical**-activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. *N Engl J Med*. 1993;328:538–545.
- (62) Dunn AL, Marcus BH, Kampert JB, et al. Comparison of lifestyle and structured interventions to increase physical activity and cardiorespiratory fitness. *JAMA*. 1999;281:327–334.
- (63) Andersen RE, Wadden TA, Bartlett SJ, et al. Effects of lifestyle activity vs structured aerobic exercise in obese women: a randomized trial. *JAMA*. 1999;281:335–340.
- (64) Duncan JJ, Farr JE, Upton SJ, et al. The effects of aerobic exercise on plasma catecholamines and blood pressure in patients with mild essential hypertension. *JAMA*. 1985;254:2609–2613.
- (65) Wood PD, Stefanick ML, Williams PT, et al. The effects on plasma lipoproteins of a prudent weight-reducing diet, with or without exercise, in overweight men and women. *N Engl J Med*. 1991;325:461–466.
- (66) Howard D. Sesso, ScD; Ralph S. Paffenbarger, Jr, MD, DrPH; I-Min Lee, MBBS, ScD. Physical Activity and Coronary Heart Disease in Men. The Harvard Alumni Health Study. *Circulation*. 2000;102:975.
- (67) P.M. Rothwell, PhD; S.C. Howard, DPhil J.D. Spence, MD for the Carotid Endarterectomy Trialists' Collaboration. Relationship Between Blood Pressure and Stroke Risk in Patients With Symptomatic Carotid Occlusive Disease. *Stroke*. 2003;34:2583.
- (68) Kelley DE, Wing R, Buonocore C, Sturis J, Polonsky K, Fitzsimmons M. Relative effects of calorie restriction and weight loss in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993; 77: 1287–1293.
- (69) Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, Keinanen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, et al. Finnish Diabetes Prevention Study Group. Prevention of type

- 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med*. 2001; 344: 1343–1350.
- (70) Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, Nathan DM; Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*. 2002; 346: 393–403.
- (71) Sjostrom CD, Peltonen M, Wedel H, Sjostrom L. Differentiated long-term effects of intentional weight loss on diabetes and hypertension. *Hypertension*. 2000; 36: 20–25.
- (72) Torgerson JS, Hauptman J, Boldrin MN, Sjostrom L. XENical in the prevention of diabetes in obese subjects (XENDOS) study: a randomized study of orlistat as an adjunct to lifestyle changes for the prevention of type 2 diabetes in obese patients. *Diabetes Care*. 2004; 27: 155–161.
- (73) Dattilo AM, Kris-Etherton PM. Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 1992; 56: 320–328.
- (74) Wadden TA, Anderson DA, Foster GD. Two-year changes in lipids and lipoproteins associated with the maintenance of a 5% to 10% reduction in initial weight: some findings and some questions. *Obes Res*. 1999; 7: 170–178.
- (75) Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuzzi AG, Pepys MB, Maseri A. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med*. 1994; 331: 417–424.
- (76) Thompson G, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris, European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med*. 1995; 332: 635–641.
- (77) Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA*. 1998; 279: 1477–1482.
- (78) Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, Klein S, Coppack SW. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82: 4196–4200.

- (79) Bastard JP, Jardel C, Bruckert E, Blondy P, Capeau J, Laville M, Vidal H, Hainque B. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum **and** subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 3338–3342.
- (80) Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, Esposito K, Marfella R, Cioffi M, D’Andrea F, Molinari AM, Giugliano D. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation.* 2002; 105: 804–809.
- (81) Esposito K, Pontillo A, Ciotola M, Di Palo C, Grella E, Nicoletti G, Giugliano D. Weight loss reduces interleukin-18 levels in obese women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 3864–3866.
- (82) McLaughlin T, Abbasi F, Lamendola C, Liang L, Reaven G, Schaaf P, Reaven P. Differentiation between **obesity and** insulin resistance in the association with C-reactive protein. *Circulation.* 2002; 106: 2908–2912.
- (83) Heilbronn LK, Noakes M, Clifton PM. Energy restriction **and** weight loss on very low-fat diets reduce C-reactive protein concentrations in obese, healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21: 968–970.
- (84) Tchernof A, Nolan A, Sites CK, Ades PA, Poehlman ET. Weight loss reduces C-reactive protein levels in obese postmenopausal women. *Circulation.* 2002; 105: 564–569
- (85) Kopp HP, Kopp CW, Festa A, Krzyzanowska K, Kriwanek S, Minar E, Roka R, Schernthaner G. Impact of weight loss on inflammatory proteins and their association with the insulin resistance syndrome in morbidly obese patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23: 1042–1047.
- (86) Marfella R, Esposito K, Siniscalchi M, Cacciapuoti F, Giugliano F, Labriola D, Ciotola M, Di Palo C, Misso L, Giugliano D. Effect of weight loss on cardiac synchronization and proinflammatory cytokines in premenopausal obese women. *Diabetes Care.* 2004; 27: 47–52.
- (87) Juha Vakkilainen, MD; George Steiner, MD; Jean-Claude Ansquer, MD; Francois Aubin, MD; Stephanie Rattier, MSc; Christelle Foucher, PhD; Anders Hamsten, MD; Marja-Riitta Taskinen, MD, on behalf of the DAIS Group. Relationships Between Low-Density Lipoprotein Particle Size, Plasma Lipoproteins, and Progression of Coronary Artery Disease. The Diabetes Atherosclerosis Intervention Study (DAIS). *Circulation.* 2003;107:1733.

- (88) Barter, P.J., Nicholls, S., Rye, K.-A., Anantharamaiah, G.M., Navab, M., Fogelman, A.M. Antiinflammatory properties of HDL
(2004) *Circulation Research*, 95 (8), pp. 764-772.
- (89) Boden, W.E. High-density lipoprotein cholesterol as an independent risk factor in cardiovascular disease: assessing the data from Framingham to the Veterans Affairs High--Density Lipoprotein Intervention Trial.
(2000) *American Journal of Cardiology*, 86 (12 A), pp. 19L-22L.
- (90) W.P. Castelli, J.T. Doyle, T. Gordon, C.G. Hames, M.C. Hjortland, S.B. Hulley, A. Kagan and W.J. Zukel, HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. The cooperative lipoprotein phenotyping study.
Circulation 55 (1977), pp. 767–772.
- (91) P.J. Barter and K.A. Rye, High density lipoproteins and coronary heart disease. *Atherosclerosis* 121 (1996), pp. 1–12.
- (92) A.S. Plump, C.J. Scott and J.L. Breslow, Human apolipoprotein A-1 gene expression increases high density lipoprotein and suppresses atherosclerosis in the apolipoprotein E-deficient mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91 (1994), pp. 9607–9611.
- (93) C. Paszty, N. Maeda, J. Verstuyft and E.M. Rubin, Apolipoprotein A1 transgene corrects apolipoprotein E deficiency-induced atherosclerosis in mice. *J. Clin. Invest.* 94 (1994), pp. 899–903.
- (94) Philip H. Frost, MD; Barry R. Davis, MD, PhD; Alfredo J. Burlando, MD; J. David Curb, MD; Gordon P. Guthrie, Jr, MD; Jonathan L. Isaacsohn, MD; Sylvia Wassertheil-Smoller, PhD; Alan C. Wilson, PhD; Jeremiah Stamler, MD; for the Systolic Hypertension in the Elderly Research Group. Serum Lipids and Incidence of Coronary Heart Disease. Findings From the Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP). *Circulation*. 1996;94:2381-2388.
- (95) TRICHOPOULOU A, LAGIOU P, KUPER H, TRICHOPOULOS D. Cancer and Mediterranean dietary traditions. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000 Sep; 9(9):869-73.
- (96) TRICHOPOULOU A, VASILOPOULOU E. Mediterranean diet and longevity. *Br J Nutr.* 2000 Dec; 84 Suppl 2:S205-9.
- (97) KEYS A, ARAVANIS C, BLACKBURN H, BUZINA R, DJOORDJEVIC B.S, DONTAS A.S, FINDAZA F, KARVONEN M.J,

- KIMURA N, MENOTTI A, MOHACEK I, NEDELIJKOVIC S, PUDDU V, PUNSUR S, TAYLOR H.L, VAN BUCHEM F.S.P. Seven Countries. A Multivariate Analysis of death and Coronary Heart Disease, Harvard University Press, Cambridge MA, 1980.
- (98) KEYS A, ARAVANIS C, BLACKBURN H, BUZINA R, DJOORDJEVIC B.S, DONTAS A.S, FINDAZA F, KARVONEN M.J, KIMURA N, MENOTTI A, MOHACEK I, NEDELIJKOVIC S, PUDDU V, PUNSUR S, TAYLOR H.L, VAN BUCHEM F.S.P. The diet and all-causes death rate in the Seven Countries Study. *Lancet* 1981, II, 58.
- (99) MENOTTI A, KROMHOUT D, BLACKBURN H, FIDANZA F, BUZINA R, NISSINEN A. Food intake patterns and 25-year mortality from coronary heart disease: Cross-cultural correlations in the seven countries study. *Eur J Epidemiol* 1999, 15:507-515.
- (100) TRICOPOULOU A, LAGIOU P, Healthy traditional Mediterranean Diet: An expression of culture, history and lifestyle. *Nutr. Rev.* 1997, 55, 383.
- (101) RIMM EB, ASCHERIO A, GIOVANNUCCI E, SPIEGELMAN D, STAMPFER MJ, WILLETT WC. Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *JAMA*. 1996 Feb 14; 275(6):447-51.
- (102) GONZALEZ CA. The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Public Health Nutr.* 2006 Feb;9(1A):124-6.
- (103) PITSAVOS C, PANAGIOTAKOS DB, TZIMA N, CHRYSOHOOU C, ECONOMOU M, ZAMPELAS A, STEFANADIS C. Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr.* 2005 Sep;82(3):694-9.
- (104) SIMOPOULOS AP. The traditional diet of Greece and cancer. *Eur J Cancer Prev.* 2004 Jun;13(3):219-30.
- (105) BES-RASTROLLO M, SANCHEZ-VILLEGAS A, DE LA FUENTE C, DE IRALA J, MARTINEZ JA, MARTINEZ-GONZALEZ MA. Olive oil consumption and weight change: the SUN prospective cohort study. *Lipids.* 2006 Mar; 41(3):249-56.
- (106) CULLINEN K. Olive oil in the treatment of hypercholesterolemia. *Med Health R I.* 2006 Mar;89(3):113.

- (107) COLOMER R, MENENDEZ JA. Mediterranean diet, olive oil and cancer. *Clin Transl Oncol*. 2006 Jan; 8(1):15-21.
- (108) SCHMIDT EB, DYERBERG J. Omega-3 fatty acids. Current status in cardiovascular medicine. *Drugs*. 1994 Mar;47(3):405-24.
- (109) MILIAS GA, PANAGIOTAKOS DB, PITSAVOS C, XENAKI D, PANAGOPOULOS G, STEFANADIS C. Prevalence of self-reported hypercholesterolaemia and its relation to dietary habits, in Greek adults; a national nutrition & health survey. *Lipids Health Dis*. 2006 Mar 12; 5:5.
- (110) DONALDSON MS. Nutrition and cancer: a review of the evidence for an anti-cancer diet. *Nutr J*. 2004 Oct 20;3:19.
- (111) BINGHAM SA, HUGHES R, CROSS AJ. Effect of white versus red meat on endogenous N-nitrosation in the human colon and further evidence of a dose response. *J Nutr*. 2002; 132:3522S–3525S.
- (112) COTEA I, GHIURU R, HAULICA I. Protective effects of vegetable polyphenols on the dynamic metabolism of lipids. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. 2004 Oct-Dec;108(4):773-6.
- (113) RUF JC. Wine and polyphenols related to platelet aggregation and atherothrombosis. *Drugs Exp Clin Res*. 1999;25(2-3):125-31.
- (114) Matalas A-L, Zampelas A, Stavrinos V, Wolinsky I. The Mediterranean Diet: Constituents and Health Promotion. 2001;256-8.
- (115) Theodora Psaltopoulou, Androniki Naska, Philippos Orfanos, Dimitrios Trichopoulos, Theodoros Mountokalakis and Antonia Trichopoulou. Olive oil, the Mediterranean diet, and arterial blood pressure: the Greek European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 80, No. 4, 1012-1018, October 2004
- (116) He FJ, MacGregor GA. Fortnightly review: beneficial effects of potassium. *BMJ*. 2001; 323: 497–501.
- (117) Kurl S, Tuomainen TP, Laukkanen JA, Nyyssonen K, Lakka T, Sivenius J, Salonen JT. Plasma vitamin C modifies the association between hypertension and risk of stroke. *Stroke*. 2002; 33: 1568–1573.
- (118) Jenkins DJ, Kendall CW, Vuksan V. Viscous fibers, health claims, and strategies to reduce cardiovascular disease risk. *Am J Clin Nutr*. 2000; 71: 401–402. Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP,

- Sacks FM, Bray GA, Vogt TM, Cutler JA, Windhauser MM, et al, for the DASH Collaborative Research Group. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. *N Engl J Med*. 1997; 336: 1117–1124.
- (119) Yochum LA, Folsom AR, Kushi LH. Intake of antioxidant vitamins and risk of death from stroke in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2000; 72: 476–483.
- (120) Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, Stampfer M, Rosner B, Cook NR, Belanger C, LaMotte F, Gaziano JM, Ridker PM, et al. Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 1996; 334: 1145–1149.
- (121) Josphipura KJ, Ascherio A, Manson JE, Stampfer MJ, Rimm EB, Speizer FE, Hennekens CH, Spiegelman D, Willett WC. Fruit and vegetable intake in relation to risk of ischemic stroke. *JAMA*. 1999; 282: 1233–1239.
- (122) Woo KS, Chook P, Lolin YI, Cheung AS, Chan LT, Sun YY, Sanderson JE, Metreweli C, Celermajer DS. Hyperhomocyst(e)inemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans. *Circulation*. 1997; 96: 2542–2544.
- (123) Am Fam Physician. Omega-3 fatty acids. PMID: 15259529 [PubMed - indexed for MEDLINE]. 2004 Jul 1;70(1):133-40. Review.
- (124) A Meta-Analysis of Cohort Studies. Accumulated Evidence on Fish Consumption and Coronary Heart Disease Mortality. *Circulation*. 2004;109:2705-2711.
- (125) Frank B. Hu, MD; Eunyoung Cho, ScD; Kathryn M. Rexrode, MD; Christine M. Albert, MD; JoAnn E. Manson, MD. Fish and Long-Chain ω -3 Fatty Acid Intake and Risk of Coronary Heart Disease and Total Mortality in Diabetic Women. *Circulation*. 2003;107:1852.
- (126) Mitchell S.V. Elkind, MD, MS; Robert Sciacca, DEngSc; Bernadette Boden-Albala, Dr PH; Tanja Rundek, MD, PhD; Myunghee C. Paik, PhD Ralph L. Sacco, MD, MS. Moderate Alcohol Consumption Reduces Risk of Ischemic Stroke. The Northern Manhattan Study. *Stroke*. 2006;37:13.
- (127) Caren G. Solomon, MD, MPH; Frank B. Hu, MD, PhD; Meir J. Stampfer, MD, DrPH; Graham A. Colditz, MBBS, DrPH; Frank E. Speizer, MD; Eric B. Rimm, ScD; Walter C. Willett, MD, DrPH; JoAnn E. Manson, MD, DrPH. Moderate Alcohol Consumption and Risk of Coronary Heart

- Disease Among Women With Type 2 Diabetes Mellitus. *Circulation*. 2000;102:494.
- (128) Romana Femia; Andrea Natali; Antonio L'Abbate; Ele Ferrannini. Coronary Atherosclerosis and Alcohol Consumption. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2006;26:1607.
- (129) Min-Ho Oak, PhD^{*}; Jasser El Bedoui, MS^{*}; Patrick Anglard, PhD; Valérie B. Schini-Kerth, PhD. Red Wine Polyphenolic Compounds Strongly Inhibit Pro-Matrix Metalloproteinase-2 Expression and Its Activation in Response to Thrombin via Direct Inhibition of Membrane Type 1–Matrix Metalloproteinase in Vascular Smooth Muscle Cells. *Circulation*. 2004;110:1861-1867.
- (130) Trichopoulou A, Costacou T, Barnia C, Trichopoulos D. Adherence to a Mediterranean Diet and survival in a Greek population. *New Eng J Med*. 348:2599-608,2003
- (131) Μανιός Γ. Σημειώσεις για το μάθημα διατροφική αξιολόγηση. 189-191.
- (132) SM Artaud-Wild, SL Connor, G Sexton and WE Connor. Differences in coronary mortality can be explained by differences in cholesterol and saturated fat intakes in 40 countries but not in France and Finland. A paradox. *Circulation*, Vol 88, 2771-2779,1993
- (133) Ness AR, Smith GD, Hart C. Milk, coronary heart disease and mortality. *J Epidemiol Community Health*. 2001 Jun;55(6):379-82.
- (134) Lima LM, Carvalho MG, Loures-Vale AA, Fernandes AP, Mota AP, Neto CP, Garcia JC, Saad JA, Souza Mde O. Increased serum levels of lipoprotein(a) correlated with the severity of coronary artery disease in patients submitted to angiography. *Arq Bras Cardiol*. 2006 Sep;87(3):260-6. English, Portuguese.
- (135) Peter Libby, MD; Paul M. Ridker, MD; Attilio Maseri, MD. Inflammation and Atherosclerosis. *Circulation*. 2002;105:1135.
- (136) Pollanen PJ, Lehtimäki T, Mikkelsen J, Ilveskoski E, Kunnas T, Perola M, Penttilä A, Mattila KM, Nikkari ST, Syrjäkoski K, Karhunen PJ. Matrix metalloproteinase3 and 9 gene promoter polymorphisms: joint action of two loci as a risk factor for coronary artery complicated plaques. *Atherosclerosis*. 2005 May;180(1):73-8. Epub 2004 Dec 18.
- (137) A. SAMNEGA,RD , A. SILVEIRA, P. LUNDMAN, S. BOQUIST , J . ODEBERG ,

- J. HULTHE, W. MCPHEAT, P. TORNVALL, L. BERGSTRAND, C. -G. ERICSSON, A. HAMSTEN & P. ERIKSSON. Serum matrix metalloproteinase-3 concentration is influenced by MMP-3)1612 5A/6A promoter genotype and associated with myocardial infarction. *Journal of Internal Medicine* 2005; 258: 411–419
- (138) Steve E. Humphries. The stromelysin-1 (MMP3) gene and risk of coronary artery disease: a candidate gene that has won the election? Center for Cardiovascular Genetics 2003
- (139) P.Y. LIU, Y.H LI, W. C. TSAI, J. H. CHEN. Stromelysin-1 promoter 5A/6A polymorphism is an independent genetic prognostic risk factor and interacts with smoking cessation after index premature myocardial infarction. *Journal of Thrombosis and Hemostasis*, 3: 1998-2005
- (140) Shu Ye. Review. Influence of matrix metalloproteinase genotype on cardiovascular disease susceptibility and outcome. *Cardiovascular research* 69(2006) 636-645
- (141) Kawanami D, Maemura K, Takeda N, Harada T, Nojiri T, Imai Y, Manabe I, Utsunomiya K, Nagai R. Direct reciprocal effects of resistin and adiponectin on vascular endothelial cells: a new insight into adipocytokine-endothelial cell interactions. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004 Feb 6;314(2):415-9.
- (142) Masahiro Terashima, Hozuka Akita, Kenji Kanazawa, Nobutaka Inoue, Shinichiro, Yamada, Keiichi Ito, Yasuaki Matsuda, Eiji Takai, Chikao Iwai, Hiroyuki Kurogane, Yutaka Yoshida and Mitsuhiro Yokoyama. Stromelysin Promoter 5A/6A Polymorphism Is Associated With Acute Myocardial Infarction. *Circulation* 1999;99;2717-2719
- (143) Beyzade S, Zhang S, Wong YK, Day IN, Eriksson P, Ye S. Influences of matrix metalloproteinase-3 gene variation on extent of coronary atherosclerosis and risk of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Jun 18;41(12):2130-7.
- (144) Yamada Y, Izawa H, Ichihara S, Takatsu F, Ishihara H, Hirayama H, Sone T, Tanaka M, Yokota M. Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. *N Engl J Med*. 2002 Dec 12;347(24):1916-23.

- (145) Jianglin Fan, Teruo Watanabe. Inflammatory Reaction in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 2003. Review
- (146) Demosthenes B. Panagiotakos, Christos Pitsavos, Fotini Arvaniti, Christodoulos Stefanadis. Adherence to the Mediterranean food pattern predicts the prevalence of hypertension, hypercholesterolemia, diabetes and obesity, among healthy adults; the accuracy of the MedDietScore. 2007
- (147) Tobin MD, Braund PS, Burton PR, Thompson JR, Steeds R, Channer K, Cheng S, Lindpaintner K, Samani NJ. Genotypes and haplotypes predisposing to myocardial infarction: a multilocus case-control study. *Eur Heart J*. 2004 Mar;25(6):459-67.