



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ:

“ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ”

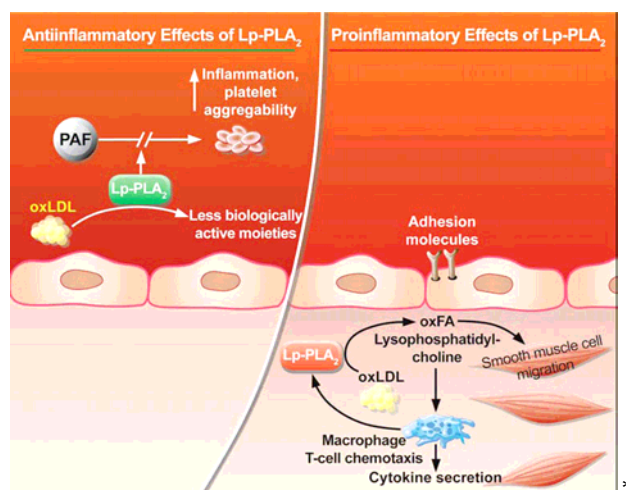
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: “ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ”

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Επίδραση διατροφικής παρέμβασης με τη χρήση γαλακτοκομικών προϊόντων εμπλουτισμένων με αντιοξειδωτικά και υπολιπιδαιμικά συστατικά στη δραστικότητα του ενζύμου PAF ακετυλοϋδρολάση, σε ορό και λευκοκύτταρα υπερλιπιδαιμικών ενηλίκων

Δέδε Βασιλική

ΑΜ. 427821



Επιβλέπων Καθηγητής:

Νομικός Τζώρτζης, Επίκουρος Καθηγητής

Τριμελής επιτροπή:

Νομικός Τζώρτζης, Επίκουρος Καθηγητής

Μανιός Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής

Φραγκοπούλου Ελισάβετ, Λέκτορας

ΑΘΗΝΑ 2009

*Επίδραση διατροφικής παρέμβασης με τη χρήση γαλακτοκομικών προϊόντων
εμπλουτισμένων με αντιοξειδωτικά και υπολιπιδαιμικά συστατικά στη δραστηριότητα
του ενζύμου PAF ακετυλοϋδρολάση, σε ορό και λευκοκύτταρα υπερλιπιδαιμικών
ενηλίκων*

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	5
Περίληψη.....	6
1. Εισαγωγή.....	8
1.1 Διατροφή και καρδιαγγειακά νοσήματα	8
1.1.1. Επιδημιολογικά Στοιχεία	8
1.1.2. Παθοφυσιολογία Καρδιαγγειακών Νοσημάτων	9
1.1.3. Επίδραση της διατροφής σε ανθρωπομετρικούς και βιοχημικούς δείκτες που σχετίζονται με τα καρδιαγγειακά νοσήματα	13
1.2 Διατροφικές παρεμβάσεις με γαλακτοκομικά και εμπλουτισμένα γαλακτοκομικά προϊόντα.....	26
1.2.1. Το γάλα και τα συστατικά του	26
1.2.2. Γάλα - γαλακτοκομικά προϊόντα και καρδιαγγειακός κίνδυνος.....	27
1.2.3. Διατροφικές παρεμβάσεις με γαλακτοκομικά προϊόντα: επίδραση στο λιπιδαιμικό προφίλ.....	28
1.2.4. Διατροφικές παρεμβάσεις με γαλακτοκομικά εμπλουτισμένα με φυτικές στερόλες και στανόλες.....	30
1.2.5. Διατροφικές παρεμβάσεις με γαλακτοκομικά εμπλουτισμένα με ω-3 λιπαρά οξέα και αντιοξειδωτικές βιταμίνες.....	32
1.3. Παράγοντας Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (PAF).....	34
1.3.1. Χημική δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες PAF	34
1.3.2. Μοριακά είδη και ανάλογα PAF – Σχέση δομής-δραστηριότητας.....	35
1.3.3. Μεταβολισμός του PAF – Ένζυμα μεταβολισμού PAF. [157, 158].....	37
1.3.4. Υποδοχέας PAF. [175]	44
1.3.5. Μηχανισμοί μεταγωγής σήματος PAF. [176].....	44
1.3.6. Συμμετοχή του PAF στην παθοφυσιολογία των ασθενειών	44
1.4 Φωσφολιπάση A ₂ συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες (LpPLA ₂).....	48
1.4.1. Χαρακτηριστικά της δομής και της καταλυτικής δράσης της Lp-PLA ₂	49
1.4.2. Ενδυμικές δράσεις της Lp-PLA ₂	49
1.4.3. Έκκριση της Lp-PLA ₂ & σύνδεση της με τις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος	51
1.4.4. Συμμετοχή της Lp-PLA ₂ στη παθοφυσιολογία ασθενειών με έμφαση στις δράσεις στα καρδιαγγειακά.....	53
1.4.5. Επιδημιολογικές μελέτες	60
1.4.6. Φαρμακολογικές/Διατροφικές παρεμβάσεις και Lp-PLA ₂	65
2. Σκοπός	69

3. Μεθοδολογία	70
3.1 Πρωτόκολλο παρέμβασης	70
3.2. Μέθοδοι και εργαλεία εκτίμησης των αποτελεσμάτων	73
3.2.1. Ανθρωπομετρικές Μετρήσεις.....	73
3.2.2. Διατροφική Αξιολόγηση	74
3.2.3. Εκτίμηση Φυσικής Δραστηριότητας.....	74
3.2.4. Αιμοληψία και Βιοχημικές Αναλύσεις.....	74
3.2.5. Προσδιορισμός της Lp-PLA ₂	75
3.3. Στατιστική ανάλυση	78
4. Αποτελέσματα	80
5. Συζήτηση.....	109
6. Συμπεράσματα	115
7. Βιβλιογραφία.....	116

*T. Munzel and T.Gori, *Lipoprotein-associated phospholipase A₂, a marker of vascular inflammation and systemic vulnerability*. Eur Heart J, 2009.

Ευχαριστίες

Θεωρώ αναγκαίο, στην αρχή της εργασίας μου να ευχαριστήσω κάποια άτομα, χωρίς τη συμβολή των οποίων η εκπόνηση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής θα ήταν αδύνατη.

Επιβλέπων καθηγητής ήταν ο Επίκουρος Καθηγητής **κ. Νομικός Τζώρτζης** και μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής, ο Επίκουρος Καθηγητής **κ. Γιάννη Μανιό** και η Λέκτορας **κ. Φραγκοπούλου Ελισάβετ**.

Με την αποπεράτωση της εργασίας αυτής θέλω να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα μου, **κ. Νομικό Τζώρτζη**, για την πολύτιμη παροχή επιστημονικών γνώσεων, την ανεξάντλητη βοήθεια και συμπαράσταση που μου προσέφερε κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων αλλά και κατά την συγγραφή της διατριβής.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τα μέλη της επιτροπής μου, τον **κ. Γιάννη Μανιό** για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και την ευκαιρία που μου πρόσφερε να συμμετέχω στα προγράμματά του αποκτώντας έτσι ανεκτίμητες εμπειρίες και την **κ. Φραγκοπούλου Ελισάβετ** για τις γνώσεις που μου παρείχε κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Δεν θα μπορούσα όμως να μην ευχαριστήσω την **Μαρία Πετρογιάννη** για την άψογη συνεργασία που είχε μαζί μου και τη βοήθειά της έτσι ώστε να μπορώ να ολοκληρώσω την εργασία μου.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να πω και στους φίλους, φίλες, συμφοιτητές και συμφοιτήτριες για την ηθική και ψυχική υποστήριξη που μου προσέφεραν αλλά και στην οικογένειά μου για την αμέριστη στήριξη και συμπαράσταση που μου έδωσε.

Περίληψη

Σκοπός: Εξαιτίας της μοναδικότητας του μηχανισμού δράσης της Lp-PLA₂ και του πιθανού αιτιολογικού ρόλου της στην αθηρογένεση, η Lp-PLA₂ φαίνεται να αποτελεί ένα σύνδεσμο μεταξύ του μεταβολισμού των λιπιδίων και της φλεγμονώδους απάντησης. Η μέτρησή της στο πλάσμα φαίνεται να χρησιμεύει στην αναγνώριση υποκειμένων που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο για μελλοντικά καρδιαγγειακά επεισόδια. Ο σκοπός της μελέτης που διεξήχθη ήταν η αποτελεσματικότητα ενός τρίμηνου συμβουλευτικού προγράμματος για την διατροφή και τον τρόπο ζωής (μόνο του ή σε συνδυασμό με την χρήση γάλατος εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες, ω-3, ω-6 λιπαρά οξέα και αντιοξειδωτικές βιταμίνες), στην μείωση των επιπέδων της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ και στη συσχέτιση των αλλαγών που σημειώθηκαν στους βιοχημικούς και ανθρωπομετρικούς δείκτες με τις αλλαγές στη δραστηριότητα της Lp-PLA₂.

Σχεδιασμός: Τυχαιοποιημένη διπλά τυφλή μελέτη παρέμβασης (Randomized double-blind Trial).

Υλικά και Μέθοδοι: Ένα ομοιογενές δείγμα 95 ατόμων που εμφάνισαν ήπια υπερχοληστερολαιμία (40-60ετών) τυχαιοποιήθηκε σε 3 ομάδες: στην ομάδα παρέμβασης με το εμπλουτισμένο με γάλα (PhG.: n=33), σε μια ομάδα με γάλα placebo (PG: n=31) και στην ομάδα ελέγχου (CG: n=31). Οι εθελοντές της PHG και της PG παρακολούθησαν εβδομαδιαίες συνεδρίες διατροφικής συμπεριφοράς και άσκησης, οι εθελοντές της CG έλαβαν ένα φυλλάδιο με γενικές συμβουλές σε θέματα διατροφικής συμπεριφοράς και άσκησης χωρίς καμία άλλη παρέμβαση. Στα άτομα μετρήθηκε η δραστηριότητα της Lp-PLA₂ στην αρχή της παρέμβασης, στον ένα μήνα και στους τρεις μήνες μετά την παρέμβαση και συσχετίστηκε με βιοχημικούς, ανθρωπομετρικούς και συμπεριφορικούς δείκτες. Χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson για την εύρεση στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων. Η αξιολόγηση της ελεγχόμενης υπόθεσης έγινε με τη χρήση της «Ανάλυσης Διακύμανσης Πολλαπλών Μετρήσεων (Repeated measures ANOVA)».

Αποτελέσματα: Η διαφορά της δραστηριότητας της LpPLA₂ ανάμεσα στα 2 φύλα, ήταν στατιστικά σημαντική, με τους άνδρες να εμφανίζουν πιο αυξημένα επίπεδα σε σύγκριση με αυτά των γυναικών. Σχετικά με τα διατροφικά χαρακτηριστικά και τη φυσική δραστηριότητα δε βρέθηκαν διαφορές μεταξύ των δύο φύλων. Δε παρατηρήθηκαν διαφορές σε βιοχημικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά μεταξύ των τριών υπό-εξέταση ομάδων κατά την έναρξη της μελέτης, υποδεικνύοντας έτσι μία ομοιογένεια μεταξύ των υποκειμένων στις τρεις ομάδες πριν

την έναρξη της παρέμβασης. Επίσης, επιβεβαιώθηκαν οι αναμενόμενες συσχετίσεις των επιπέδων της δραστηριότητας της LpPLA₂ με την Ολική χοληστερόλη, την LDL-C, τα τριγλυκερίδια και την Apo B εμφανίζοντας στατιστικά σημαντική, θετική συσχέτιση στο σύνολο του πληθυσμού αλλά και στα φύλα και στις 3 χρονικές στιγμές της παρέμβασης (baseline, follow-up1 και follow-up2). Όσον αφορά την HDL-C έδειξε στατιστικά σημαντική, αρνητική συσχέτιση στο συνολικό και οριακά στον ανδρικό πληθυσμό πάλι και στις 3 χρονικές στιγμές της παρέμβασης. Από την αρχή ως και μετά τους 3 μήνες της μελέτης, αρνητική συσχέτιση παρουσίασε η πρόσληψη της λακτόζης στο σύνολο του πληθυσμού και στους άνδρες που αντικατοπτρίζεται μερικώς στην αρνητική συσχέτιση της πρόσληψης γαλακτοκομικών προϊόντων με τη δραστηριότητα της LpPLA₂. Τέλος, στον 1 και στους 3 μήνες μετά την παρέμβαση η δραστηριότητα της LpPLA₂ αυξήθηκε στην ομάδα ελέγχου, κάτι το οποίο δεν επιβεβαιώθηκε και στις άλλες δύο ομάδες, στην ομάδα με γάλα placebo και στην ομάδα παρέμβασης με το εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες γάλα.

Συμπέρασμα: Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης μετά από πρόγραμμα διατροφικής παρέμβασης διάρκειας 3 μηνών σε ήπια υπερχοληστερολαιμικά άτομα, έδειξαν ότι παρόλο που στην ομάδα ελέγχου η δραστηριότητα της LpPLA₂ αυξάνει στον 1 και στους 3 μήνες μετά την παρέμβαση, η χορήγηση εμπλουτισμένου με φυτοστερόλες ή placebo γάλακτος αποτρέπει την αύξηση των επιπέδων της δραστηριότητας της LpPLA₂ που παρατηρείται στην ομάδα ελέγχου.

1. Εισαγωγή

1.1 Διατροφή και καρδιαγγειακά νοσήματα

1.1.1. Επιδημιολογικά Στοιχεία

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα περιλαμβάνουν μια ομάδα διαταραχών της καρδιάς και των αγγείων που αποτελούν, σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), την πρώτη αιτία θανάτου παγκοσμίως [1] και κατ' επέκταση ένα σημαντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας.

Με βάση τα στοιχεία του ΠΟΥ για το έτος 2005, 17,5 εκατομμύρια άνθρωποι πέθαναν από κάποιο καρδιαγγειακό νόσημα, ένας αριθμός που αντιστοιχεί στο 30% των συνολικών θανάτων σε όλο τον κόσμο. Ειδικότερα, υπολογίζεται ότι 7,6 εκατομμύρια θάνατοι οφείλονταν στη στεφανιαία νόσο και 5,7 εκατομμύρια στα εγκεφαλικά επεισόδια. Πάνω από το 80% των θανάτων από καρδιαγγειακά αφορούν χώρες χαμηλού ή μέτριου εισοδήματος και συμβαίνουν σχεδόν ισάριθμα σε άντρες και γυναίκες. Τέλος, ο ΠΟΥ προειδοποιεί ότι ακόμη και μέχρι το 2015 τα καρδιαγγειακά νοσήματα θα παραμένουν η πρώτη αιτία θανάτου παγκοσμίως [1].

Σύμφωνα με το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (CDC), περισσότεροι από 70 εκατομμύρια Αμερικανοί υποφέρουν σήμερα από κάποιο καρδιαγγειακό νόσημα [2]. Η στεφανιαία νόσος αποτελεί τη σημαντικότερη αιτία πρόωρης ή μόνιμης ανικανότητας στην αμερικανική αγορά εργασίας, ενώ πάνω από 6 εκατομμύρια περιστατικά που χρήζουν νοσηλείας οφείλονται στα καρδιαγγειακά νοσήματα. Αν και η Αμερικάνικη Καρδιολογική Εταιρία (AHA) δηλώνει ότι στην Αμερική η θνησιμότητα από καρδιαγγειακά μεταξύ των ετών 1994 και 2004 μειώθηκε κατά 25% [3], περισσότεροι από 910.000 Αμερικανοί πεθαίνουν από κάποιο καρδιαγγειακό νόσημα ετησίως, και αυτό αντιστοιχεί σε 1 θάνατο ανά 35 δευτερόλεπτα.

Στον Καναδά, η καρδιακή νόσος και το εγκεφαλικό παραμένουν η πρώτη αιτία θανάτου, τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες. Κάθε χρόνο 79.000 Καναδοί πεθαίνουν από καρδιαγγειακά νοσήματα και εγκεφαλικό. Υπολογίζεται ότι ένας στους τέσσερις Καναδούς έχει κάποια μορφή καρδιαγγειακής δυσλειτουργίας (Heart and Stroke Foundation of Canada). [2]

Όσον αφορά την Ευρώπη, στα καρδιαγγειακά νοσήματα οφείλονται 4,3 εκατομμύρια θάνατοι ετησίως, που αντιστοιχούν στο 48% των συνολικών θανάτων, στην Ε.Ε. πάνω από 2 εκατομμύρια θάνατοι ετησίως, που αντιστοιχούν στο 42% των συνολικών θανάτων. Ενθαρρυντικό είναι, ωστόσο, ότι τόσο η θνησιμότητα όσο και η νοσηρότητα που οφείλονται στα

καρδιαγγειακά μειώνονται στις χώρες της Βόρειας, Νότιας και Δυτικής Ευρώπης. Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι τα καρδιαγγειακά νοσήματα κοστίζουν στην οικονομία της Ε.Ε 169 δισεκατομμύρια ευρώ ετησίως, από τα οποία το 62% αντιστοιχεί στο κόστος για περίθαλψη, το 21% στη ζημία από τη μείωση της παραγωγικότητας και το 17% στην ανεπίσημη υγειονομική φροντίδα που λαμβάνουν τα άτομα με καρδιαγγειακά νοσήματα [4].

Στο Ηνωμένο Βασίλειο, το 2006 καταγράφηκαν 198.000 θάνατοι που οφείλονταν σε καρδιαγγειακά νοσήματα και 98.000 λόγω της στεφανιαίας νόσου. Υπολογίζεται ότι ένας στους πέντε άνδρες και μία στις επτά γυναίκες πεθαίνει από στεφανιαία νόσος [5].

Σύμφωνα με στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, οι δύο κυριότερες αιτίες θανάτου στον ελληνικό πληθυσμό είναι η εγκεφαλοαγγειακή νόσος και η στεφανιαία νόσος. Συνολικά προκαλούν το 34,7% των συνολικών θανάτων και το 17,4% των ετών ζωής προσαρμοσμένων στην αναπηρία (Disability Adjusted Life Years ή DALYs) [6].

1.1.2. Παθοφυσιολογία Καρδιαγγειακών Νοσημάτων

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι μια ευρεία ομάδα παθήσεων της καρδιάς και των αγγείων με κυριότερη εκπρόσωπο τη Στεφανιαία Νόσο. Η πιο συχνή αιτία στεφανιαίας νόσου είναι η απόφραξη των μεγάλων επικαρδιακών αγγείων λόγω αθηροσκλήρωσης. Οι στεφανιαίες αρτηρίες είναι ιδιαίτερα επιρρεπείς σε αθηρωμάτωση του εσωτερικού τους χιτώνα, που συνίσταται σε ανώμαλη πάχυνση και σχηματισμό πλακών.

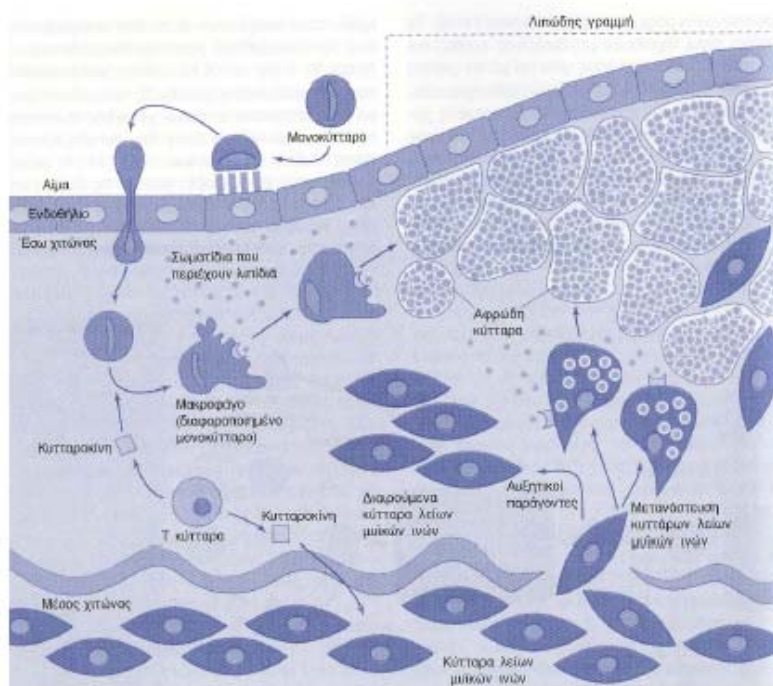
Αθηροσκλήρωση

Παλιότερα, η αθηροσκλήρωση είχε περιγραφεί ως εκφυλιστική νόσος που αποτελούσε αναπόφευκτη συνέπεια της γήρανσης. Η έρευνα τα τελευταία χρόνια έχει δείξει ότι κάτι τέτοιο δεν ισχύει, και η αθηροσκλήρωση περιγράφεται πλέον ως χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση που μπορεί να προληφθεί.[7]

Η αθηροσκλήρωση χαρακτηρίζεται από περιοχές ινώδους πάχυνσης του τοιχώματος των αρτηριών που συνοδεύονται από πλάκες λιπιδίων, οι οποίες μπορεί τελικά να ασβεστοποιηθούν. Η διαταραχή αυτή ξεκινά ήδη από την παιδική ηλικία και σε απουσία επιβαρυντικών παραγόντων εξελίσσεται αργά μέχρι τη γεροντική ηλικία που είναι πλέον πολύ εκτεταμένη. Ωστόσο, παράγοντες όπως η υπέρταση, η υπερλιπιδαιμία ή το κάπνισμα μπορούν να επιταχύνουν την ανάπτυξή της. Ο σχηματισμός της αθηρωματικής πλάκας προκαλεί βλάβη του ενδοθηλίου, στένωση των αγγείων και κατ' επέκταση εμπόδιση της ροής του αίματος προς την καρδιά ή προς την περιφέρεια και σχηματισμό θρόμβων που μπορούν να οδηγήσουν σε αιφνίδιο θάνατο.

Εναρκτήριο γεγονός της αθηροσκλήρωσης αποτελεί η βλάβη του αγγειακού ενδοθηλίου. Το υγιές ενδοθήλιο αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή του αγγειακού τόνου, παράγοντας αγγειοδραστικές ουσίες (προστακυκλίνη, ενδοθηλιογενής παράγοντας χάλασης) και εμπλέκεται κατά περίπλοκο τρόπο στον τοπικό έλεγχο της ενδαγγειακής θρόμβωσης.[8] Όταν το ενδοθήλιο έρχεται σε επαφή με βακτηριακά προϊόντα, ή παράγοντες κινδύνου τόσο ετερογενείς όσο η δυσλιπιδαιμία, αγγειοσυσταλτικές ορμόνες που εμπλέκονται στην υπέρταση, προϊόντα οξειδωσης που σχετίζονται με υπεργλυκαιμία, ή προφλεγμονώδεις κυτοκίνες που εκκρίνονται από το λιπώδη ιστό, προκαλείται βλάβη του ενδοθηλίου, η οποία οδηγεί σε ελάττωση της εξαρτώμενης από το ενδοθήλιο αγγειοδιαστολής και τοπική δυσλειτουργία του ενδοθηλίου που ευνοεί τη θρόμβωση.[9] Η αλλοίωση αυτή έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση μακροφάγων και λιπιδίων (κυρίως λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας) στη θέση της αγγειακής βλάβης.[8] Οι λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας εισέρχονται στο αρτηριακό τοίχωμα, με μία διαδικασία που δεν απαιτεί τη μεσολάβηση υποδοχέα, αλλά εξαρτάται από τη συγκέντρωσή τους στο πλάσμα. Αρχικά, η οξειδωσή τους πραγματοποιείται κυρίως από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, με αποτέλεσμα την παραγωγή μερικώς οξειδωμένων λιποπρωτεϊνών. [7] Τα μερικώς οξειδωμένα προϊόντα θεωρείται ότι επηρεάζουν την παραγωγή γλυκοπρωτεϊνών επιφανείας στα ενδοθηλιακά κύτταρα (E – σελεκτίνη, Intercellular circulating adhesion molecule-1 ή ICAM-1, Vascular cell adhesion molecule-1 ή VCAM-1), που ευνοούν με τη σειρά τους τη μετανάστευση και προσκόλληση των μονοκυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα. Τα μονοκύτταρα εισέρχονται στον υποενδοθηλιακό χώρο και διαφοροποιούνται σε μακροφάγα υπό την επίδραση συγκεκριμένων μορίων (π.χ. χημειοτακτική πρωτεΐνη 1 των μονοκυττάρων(MCP-1), παράγοντες διέγερσης σχηματισμού αποικιών, αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού-B (TGF-β)). Οι

μερικώς οξειδωμένες λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας οξειδώνονται περαιτέρω από τα μακροφάγα, προσλαμβάνονται από ειδικούς υποδοχείς εκκαθαριστές (scavenger receptors) και εισέρχονται σ' αυτά, δημιουργώντας αφρώδη κύτταρα. Σωροί τέτοιων αφρωδών κυττάρων αποτελούν την πρώτη ορατή αλλοίωση της αθηροσκλήρωσης, τη λιπώδη ράβδωση. Τα αφρώδη κύτταρα μπορούν να απελευθερώνουν ουσίες, όπως ιντερλευκίνες και παράγοντες νέκρωσης όγκων, που ενισχύουν την προσκόλληση και τη χημειοταξία επιπλέον μονοκυττάρων στο σημείο της βλάβης. Επιπλέον, τα μακροφάγα απελευθερώνουν ένζυμα, οξειδωμένη χοληστερόλη και ελεύθερες ρίζες που προάγουν την απόπτωση του ενδοθηλίου, η οποία συνεπάγεται την προσκόλληση αιμοπεταλίων στη θέση της βλάβης. [10]



Εικόνα 1. Σχηματισμός μιας λιπώδους γράμμωσης σε μία αρτηρία (McPhee & Μουτσόπουλος, 2000)

Καθώς η πλάκα ωριμάζει, αυξητικοί παράγοντες, (PDGF, βFGF, TGF-β, κ.α.) 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 μιας ινώδους κάψας επάνω από ένα πλούσιο σε λιπίδια πυρήνα. Με την

περαιτέρω αύξηση της πλάκας ο αυλός του αγγείου γίνεται στενότερος και η ροή του αίματος στο σημείο ελαττώνεται. [8]

Η συσσώρευση λιπιδίων μέσα στα μακροφάγα συνεπάγεται νέκρωση των κυττάρων αυτών, με αποτέλεσμα να μένει ελεύθερη μια δεξαμενή λιπιδίων στον πυρήνα της πλάκας. Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα και μαστοκύτταρα απελευθερώνουν μεταλλοπρωτεΐνες, που διασπούν τις πρωτεΐνες της μεσοκυττάριας ουσίας, ενώ T-λεμφοκύτταρα που βρίσκονται στην πλάκα, παράγουν κυτταροκίνες, οι οποίες αναστέλλουν το σχηματισμό 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 αυξάνεται η πίεση μέσα στον αυλό. [8, 11]

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 θρομβογόνες ιδιότητες, με αποτέλεσμα το σχηματισμό θρόμβου μέσα στον αυλό. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια μεσολαβούν στην πρόκληση αγγειοσυσπάσης και περαιτέρω αύξησης του θρόμβου, διακυβεύοντας απότομα τη στεφανιαία ροή αίματος. Τη βαρύτητα της ρήξης της πλάκας και την έκταση της θρόμβωσης αντικατοπτρίζει κλινικά το φάσμα των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων, όπως είναι η ασταθής στηθάγχη, το έμφραγμα του μυοκαρδίου χωρίς επάρματα Q και το έμφραγμα με επάρματα Q. [8, 12, 13]



Εικόνα 2. Σχηματική αναπαράσταση σταθερής και ασταθούς πλάκας.

1.1.3. Επίδραση της διατροφής σε ανθρωπομετρικούς και βιοχημικούς δείκτες που σχετίζονται με τα καρδιαγγειακά νοσήματα

Οι μοντέρνες κοινωνίες επέφεραν έντονες αλλαγές στον τρόπο ζωής και αύξησαν τη συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η αύξηση του σωματικού βάρους, η μη υγιεινή διατροφή, η καθιστική ζωή είχαν σαν αποτέλεσμα μεταβολικές αλλαγές που συνέβαλαν στην αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που βοηθούν στην εξέλιξη ή επιτάχυνση της εξέλιξης της καρδιακής νόσου. Οι παράγοντες κινδύνου κατηγοριοποιούνται σε τροποποιήσιμους και μη τροποποιήσιμους σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 1. Παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου.

Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου	Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου	
	Συμπεριφοριστικοί	Κλινικοί Δείκτες
Ηλικία	Δίαιτα	Παχυσαρκία
Ανδρικό Φύλο	Κάπνισμα	Υπέρταση
Κληρονομικότητα	Υπερβολική κατανάλωση οινόπνευματος	Υπερλιπιδαιμία
Φυλή	Μειωμένη φυσική δραστηριότητα	Σακχαρώδης Διαβήτης
		Υπερτροφία αριστεράς κοιλίας
		Υπερομοκυστεϊναιμία
		Αυξημένα επίπεδα Lp(a)
		Υπερτριγλυκεριδαιμία
		Αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου & παραγόντων φλεγμονής
		CRP

Το συγκεκριμένο κεφάλαιο επικεντρώνεται στο πως η ίδια η δίαιτα αλλά και η σύστασή της μπορεί να επηρεάσει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου, κάτι το οποίο επιβεβαιώνεται από ευρήματα επιδημιολογικών και κλινικών μελετών [14]. Η επίδρασή της γίνεται μέσω της επιρροής που έχει στο λιπιδαιμικό, γλυκαιμικό προφίλ, στους δείκτες συστηματικής φλεγμονής, στην αρτηριακή πίεση και στην παχυσαρκία (ανθρωπομετρικοί δείκτες) [15].

1.1.3.1. Μεσογειακή Διατροφή

Από πολύ νωρίς, η διατροφή θεωρήθηκε ως ένας από τους κυριότερους παράγοντες για την πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων και πολλές έρευνες έχουν γίνει με σκοπό τη διερεύνηση των διατροφικών συστατικών που έχουν καρδιοπροστατευτική δράση. Το μοντέλο της Μεσογειακής Διατροφής πρωτοδιατυπώθηκε στις αρχές του 1970 από το *Ancel Keys* στη

μελέτη των Επτά Χωρών, βασισμένο στην καταγραφή των διατροφικών συνηθειών πληθυσμών στη λεκάνη της Μεσογείου. Στο μοντέλο της Μεσογειακής Διατροφής δίνεται έμφαση στην κατανάλωση λίπους (30-40% της ημερήσιας ενεργειακής πρόσληψης) κυρίως από τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, στην κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, ξηρών καρπών, οσπρίων, ολικής αλέσεως δημητριακών, ψαριών όπως και στη μέτρια κατανάλωση αλκοόλ. [16]

Συνεπώς, τα κύρια χαρακτηριστικά της Μεσογειακής Διατροφής περιελάμβαναν αφθονία φυτικών τροφίμων, το ελαιόλαδο ως κύρια πηγή λίπους, καθώς και μέτρια κατανάλωση γάλακτος, γαλακτοκομικών, πουλερικών, ψαριών και κόκκινου κρασιού και τέλος χαμηλή κατανάλωση κόκκινου κρέατος.

Εκτεταμένες αναφορές έχουν γίνει για τη σημασία του μοντέλου Μεσογειακής Διατροφής στην πρόληψη των καρδιαγγειακών παθήσεων. Οι *Pitsavos et al.* [17] βρήκαν ότι η υιοθέτηση μεσογειακής διατροφής μείωσε τον κίνδυνο για στεφανιαία νόσο σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο.

Στη μελέτη Medi-RIVAGE [18, 19] που πραγματοποιήθηκε σε άτομα με μέτριο καρδιαγγειακό κίνδυνο μετά από διατροφική παρέμβαση 3 μηνών, παρατηρήθηκε 15% μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου στα άτομα που υιοθέτησαν τη Μεσογειακή Διατροφή σε αντίθεση με 9% στα άτομα που διατηρούσαν μια δίαιτα με χαμηλά λιπαρά.

Μέρος της καρδιοπροστατευτικής δράσης της Μεσογειακής Δίαιτας αποτελεί και η ικανότητα της να επιδρά τους μηχανισμούς φλεγμονής. Η υπεροχή της Μεσογειακής Δίαιτας ακόμα και έναντι παρόμοια ευεργετικών διατροφικών μοντέλων φαίνεται και από μελέτη διατροφικής παρέμβασης σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο [20] σύμφωνα με την οποία παρατηρήθηκε πολλή μεγαλύτερη μείωση φλεγμονωδών δεικτών (ιντερλευκίνη-6 ή IL-6, ιντερλευκίνη-7 ή IL-7, ιντερλευκίνη-18 ή IL-18, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη ή CRP) στους ασθενείς που ακολούθησαν το πρότυπο της Μεσογειακής δίαιτας έναντι αυτών που ακολούθησαν μία τυπικά προτεινόμενη ευεργετική για καρδιαγγειακά νοσήματα δίαιτα, καθώς επίσης και σημαντική μείωση στο ΣΒ, στο BMI, στις τιμές της γλυκόζης, της ινσουλίνης, του HOMA σκορ, της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων του αίματος.

Οι *Estruch et al.* [21] σε άτομα με υψηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο μετά από 3μηνη διατροφική παρέμβαση βρήκαν ότι οι δύο δίαιτες Μεσογειακού τύπου (1^ο είδος : πλούσιο σε παρθένο ελαιόλαδο, 2^ο είδος : 30g καρύδια /ημ.) επέφεραν ευεργετικές αλλαγές στη γλυκόζη νηστείας, στη συστολική αρτηριακή πίεση (ΑΠ) και στο πηλίκο ολικής/ HDL χοληστερόλης.

Σε μία πρόσφατη παρεμβατική μελέτη [22] φάνηκε να επιβεβαιώνεται η ευεργετική δράση της Μεσογειακής δίαιτας στη μείωση της LDL, HDL χοληστερόλης και βελτίωση της ινσουλινοευαισθησίας, έναντι δίαιτας με χαμηλά λιπαρά σε υγιείς νεαρούς ενήλικες.

Ο σκοπός της προοπτικής μελέτης Lyon Heart [23] ήταν η σύγκριση της δίαιτας χαμηλών λιπαρών (υψηλής περιεκτικότητας σε ω-6 λιπαρά οξέα) με τη Μεσογειακή δίαιτα πλούσια σε ω-3 λ.ο. σε άτομα με στεφανιαία νόσο. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο αριθμός των ασθενών με μη θανατηφόρα επανέμφραξη του μυοκαρδίου ή καρδιακό θάνατο ήταν μικρότερος κατά 70% στα άτομα που υιοθέτησαν τη Μεσογειακή δίαιτα.

Συμπεραίνουμε λοιπόν μετά από πληθώρα επιδημιολογικών και κλινικών μελετών ότι η Μεσογειακή δίαιτα εξασφαλίζει την επαρκή πρόσληψη δημητριακών , φρούτων , λαχανικών, ξηρών καρπών, οσπρίων, ψαριού και ελαιολάδου και όλα αυτά μαζί με μέτρια κατανάλωση αλκοόλ, οδηγούν βέλτιστη απορρόφηση των διαιτητικών ινών, αντιοξειδωτικών, μαγνησίου και ακόρεστων λ.ο. Συνεπώς η Μεσογειακή δίαιτα αποτελεί ένα αντιφλεγμονώδες διαιτητικό σχήμα που μπορεί να προστατέψει από ασθένειες που σχετίζονται με τη χρόνια φλεγμονή συμπεριλαμβάνοντας την κεντρική παχυσαρκία, το σακχαρώδη διαβήτη τύπου II (ΣΔΙΙ) , το μεταβολικό σύνδρομο και γενικότερα τα καρδιαγγειακά νοσήματα.

1.1.3.2. Μακρο και Μικρο-θρεπτικά συστατικά

Σύσταση δίαιτας

i. Κορεσμένα Λιπαρά Οξέα

Η αυξημένη πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων έχει συσχετισθεί σ'ένα μεγάλο αριθμό ερευνών με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο [24, 25]. Σύμφωνα με τα συμπεράσματα ερευνών, τα κορεσμένα λιπαρά οξέα (SFA) αυξάνουν τα επίπεδα της ολικής και LDL χοληστερόλης, τα

οποία αποτελούν και ένα από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Ο μηχανισμός αυτός έγκειται στο σχηματισμό μικρών χυλομικρών και μικρών VLDL λιποπρωτεϊνών που παραμένουν για περισσότερο χρόνο στην κυκλοφορία, στη μειωμένη δράση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, στην αυξημένη δράση της πρωτεΐνης – μεταφορά εστέρων χοληστερόλης (CETP) και πιθανότατα στην επίδραση στο μέγεθος των VLDL και LDL. [26, 27]

Επιδημιολογικές μελέτες αναφέρουν ότι το περιεχόμενο της δίαιτας σε SFA φαίνεται να σχετίζεται ανάλογα με το κίνδυνο για εμφάνιση ΣΔΙΙ ή μειωμένη ινσουλινοευαισθησία ενώ σε ακόρεστα λ.ο. φαίνεται να σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα. [27] Όμως, σε μια πρόσφατη μελέτη ανασκόπησης [28], μόνο σε 3 από τις 15 έρευνες που συμμετείχαν, παρατηρήθηκε μειωμένη ινσουλινοευαισθησία μετά από δίαιτα με SFA σε αντίθεση με MUFA [29, 30] ή PUFA[30] σε υγιή άτομα, ενώ αυξημένη ινσουλινοαντίσταση μετά από συμπληρωματική κατανάλωση ιχθυελαίων σε διαβητικούς ασθενείς [31], επιβεβαιώνοντας ότι οι περισσότερες μελέτες δεν ανέφεραν καμία επίδραση της ποιότητας του διαιτητικού λίπους σε αυτή τη μεταβολή.

ii. Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα

Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα κυρίως το ελαϊκό οξύ, μειώνουν τα επίπεδα της ολικής και της LDL χοληστερόλης ίσως λιγότερο από τα πολυακόρεστα αλλά δεν έχουν την βλαπτική δράση των πολυακόρεστων στην HDL χοληστερόλη. [32-34] Στις μελέτες αυτές διαπιστώνεται ότι η συχνή κατανάλωση ελαιολάδου, ως η κυριότερη πηγή μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, προκαλεί αύξηση της HDL χοληστερόλης ενώ μειώνει τα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο αίμα έως και 13% όταν η δίαιτα αυτή συμπεριλαμβάνει την συνιστώμενη πρόσληψη υδατανθράκων και λιπιδίων με παράλληλη όμως αντικατάσταση των κορεσμένων λιπαρών οξέων με μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Η υποτριγλυκεριδιαμική δράση των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων εξηγείται με τους ακόλουθους μηχανισμούς: α) αλλαγές στη σύνθεση των VLDL λιποπρωτεϊνών και β) μεταβολές στη δράση ενζύμων και πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην ενδοαγγειακή διαδικασία και καταβολισμό των VLDL μειώνοντας τα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο αίμα.

Πέρα από την θετική επίδραση στα λιπίδια του αίματος, η μεγαλύτερη ωφέλεια από την κατανάλωση μονοακόρεστων λιπαρών οξέων στην προστασία κατά του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών ασθενειών, αφορά στην προστασία της LDL χοληστερόλης από την οξείδωση. [35, 36]

iii. Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα

Η κατανάλωση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων έχει συσχετισθεί με μείωση του κινδύνου καρδιαγγειακών νοσημάτων. [37, 38] Η σχέση αυτή οφείλεται κυρίως στην ευεργετική επίδραση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων μακράς αλύσου στη μείωση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης, των VLDL και των τριγλυκεριδίων [39, 40].

Τα ω-6 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα περιέχονται σε μεγάλο εύρος τροφίμων, αλλά η κύρια πηγή τους είναι τα φυτικά έλαια. Η αντικατάσταση των υδατανθράκων της δίαιτας από το λινελαϊκό οξύ (C 18:2), το κύριο ω-6 πολυακόρεστο λιπαρό οξύ της δίαιτας, οδηγεί σε μείωση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης. Τα ω-6 από όλα τα λιπαρά οξέα έχουν τα ευνοϊκότερα αποτελέσματα στη μείωση χοληστερόλης του πλάσματος και στην ελάττωση της μεταγευματικής λιπαιμίας [41].

Τα μακράς αλύσου ω-3 λιπαρά οξέα εικοσιπεντανοϊκό (EPA) και εικοσιδυοξενικό (DHA) περιέχονται κατά κύριο λόγο στα ψάρια και στα ιχθυέλαια. Τα ω-3 λιπαρά οξέα μειώνουν τα τριγλυκερίδια ελαττώνοντας την σύνθεση των VLDL. Ο μηχανισμός φαίνεται ότι αφορά την αναστολή της ηπατικής σύνθεσης VLDL και της απολιποπρωτεΐνης B-100 καθώς και την μείωση της μεταγευματικής λιπαιμίας. Σύμφωνα με τον AHA συστήνεται σε ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία να λαμβάνουν 2-4g/ημ. EPA και DHA. [42] Οι Engler *et.al.* βρήκαν ότι η συμπληρωματική χορήγηση DHA(1,2 g/ημ) για 6 εβδομάδες σε υπερλιπιδαιμικά παιδιά, βελτίωσε το προφίλ των υποτάξεων των λιποπρωτεϊνών, καθώς είναι γνωστό ότι οι μικρές και πυκνές LDL είναι πιο αθηρογόνες. [43]

Αποτελέσματα μεταanalύσεων έδειξαν ότι η χορήγηση ιχθυελαίων πλούσια σε EPA και DHA μειώνει την αρτηριακή πίεση, επίδραση που φαίνεται χρονο- και δοσο-εξαρτώμενη. [44]

Μία ακόμη δράση των ω-3 λ.ο. ίσως να είναι η μείωση του κινδύνου για θρόμβωση επιδρώντας στην λειτουργία των αιμοπεταλίων και στην ομοιόσταση. Το παραπάνω όμως δεν επιβεβαιώνεται από μεγάλο αριθμό μελετών. [45]

Η αυξημένη κατανάλωση ω-3 λ.ο., κυρίως στη μορφή EPA και/ή DHA, σχετίζεται αρνητικά με τα επίπεδα CRP, IL-6, E-σελεκτίνη, ICAM-1. [46] Βέβαια, υπάρχουν και αρκετές μελέτες που έχουν δείξει ότι τα ω-3 δεν έχουν επίδραση στα επίπεδα των δεικτών της συστηματικής φλεγμονής (ΣΦ) και στη δραστηριότητα των κυττάρων. Στον Ελληνικό πληθυσμό η μελέτη ΑΤΤΙΚΗ έχει δείξει ότι η αυξημένη κατανάλωση ψαριού σχετίζεται με μειωμένα επίπεδα CRP. [47]

iv. *Trans λιπαρά οξέα*

Μελέτες παρατηρούν ότι τα μερικώς υδρογονωμένα λίπη και έλαια σχετίζονται σημαντικά με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών νοσημάτων. [48, 49] Η συσχέτιση αυτή οφείλεται κυρίως στην αύξηση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης και τη μείωση της HDL χοληστερόλης. [50, 51] Αυξημένη πρόσληψη υδρογονωμένων φυτικών ελαίων σχετίζεται με αύξηση της ολικής χοληστερόλης και αυξημένο λόγο LDL/ HDL και ολ. χοληστερόλης/HDL χοληστερόλης. Επιπλέον, μελέτες επισημαίνουν σημαντική αύξηση στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων ύστερα από την υψηλή κατανάλωση trans λιπαρών οξέων. [52] Τα trans λιπαρά οξέα μειώνουν σημαντικά την HDL χοληστερόλη, αυξάνουν την Lp(a) αλλά κυρίως είναι ευαίσθητα σε υπεροξείδωση αυξάνοντας την οξείδωση της LDL ενώ σε μελέτες βρέθηκε ότι αυξάνουν τον κίνδυνο των καρδιαγγειακών νοσημάτων. [53]

Σε αντίθεση με τα ω-3 λ.ο., τα trans λ.ο. ενισχύουν το φαινόμενο της ΣΦ. Η αυξημένη κατανάλωση τους εγκυμονεί μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου αλλά και διαβήτη και η επίδραση αυτή δεν φαίνεται ότι οφείλεται μόνο στη γνωστή τους επίδραση στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών αλλά και στην ενίσχυση των μηχανισμών φλεγμονής. Αυξημένη πρόσληψη trans λ.ο. επάγει υψηλότερα επίπεδα E-σελεκτίνης, CRP, IL-6 και TNFα. [54] Όσον αφορά το διαβήτη, οι Lefevre et.al. χορήγησαν σε 22 άτομα δίαιτα με 25% λίπος για 17 ημέρες. Την 10^η και 16^η ημέρα χορηγήθηκε γεύμα υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος (50% της Ε) σύστασης είτε 20% ελαϊκό οξύ (18:1cis) είτε 10 % ελαϊκό οξύ(18:1cis) και 10% ελαϊδικό οξύ (18:1trans). Η επίδραση στη γλυκόζη και στις δύο δίαιτες ήταν ίδια αλλά τα επίπεδα της ινσουλίνης ήταν αυξημένα στα άτομα που κατανάλωσαν το ελαϊδικό οξύ (18:1trans). Συνεπώς, οδηγούμαστε στο ότι τα trans λ.ο. αυξάνουν άμεσα την ινσουλινοαντίσταση. [55]

v. *Ολικό προσλαμβανόμενο λίπος*

Οι διατροφικές οδηγίες που δίνουν έμφαση στον περιορισμό της συνολικής πρόσληψης λίπους (<30 % της ενέργειας) είναι δυνατόν να προκαλέσουν υπερκατανάλωση υδατανθράκων, συμβάλλοντας στην αυξημένη συχνότητα εμφάνισης παχυσαρκίας. Δίαιτες με χαμηλή περιεκτικότητα σε λίπος (< 25 % των συνολικά προσλαμβανόμενων θερμίδων) αυξάνουν τα επίπεδα τριγλυκεριδίων (κατά 30-100 mg/dl) και μειώνουν την HDL χοληστερόλη. Παρόλο που ορισμένες προοπτικές μελέτες υπέδειξαν σχέση ανάμεσα στο ποσοστό διαιτητικού λίπους και την παχυσαρκία, πρόσφατα δεδομένα προοπτικών μελετών απέτυχαν να στηρίξουν κάποια αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ τους. [56, 57]

Έρευνες σε διάφορους πληθυσμούς έδειξαν ότι αυξημένο BMI παρατηρήθηκε σε χώρες με υψηλή πρόσληψη διαιτητικού λίπους. [58] Σε κλινική μελέτη, άτομα που έχασαν βάρος είτε με ενεργειακό περιορισμό, είτε με δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος, φάνηκε ότι αυτοί που έλαβαν δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος διατήρησαν περισσότερο την απώλεια βάρους μέσα στα επόμενα 2 χρόνια σε σχέση με αυτούς που είχαν υποβληθεί σε ενεργειακό περιορισμό. [59]

vi. Διαιτητική χοληστερόλη

Η διαιτητική χοληστερόλη αυξάνει τα επίπεδα της ολικής και της LDL χοληστερόλης σε μικρότερο όμως βαθμό σε σχέση με τα κορεσμένα λιπαρά οξέα. Σε επίπεδα 500mg/ημέρα η ανταπόκριση των επιπέδων της χοληστερόλης του ορού στη διαιτητική χοληστερόλη μειώνεται. Φαίνεται κατά συνέπεια, ότι υπάρχει ένα επίπεδο ουδός για την ανταπόκριση της χοληστερόλης του πλάσματος στη διαιτητική χοληστερόλη αλλά παράλληλα ποικίλει σημαντικά μεταξύ των ανθρώπων η ευαισθησία στην ανταπόκριση στην διαιτητική χοληστερόλη.

vii. Υδατάνθρακες

Η αντικατάσταση των κορεσμένων λιπαρών οξέων από υδατάνθρακες προκαλεί μείωση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης ανάλογη με αυτή που επιτυγχάνεται όταν τα κορεσμένα λιπαρά οξέα αντικαθίστανται από μονοακόρεστα λιπαρά οξέα. Η υψηλή πρόσληψη υδατανθράκων έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση τόσο των επιπέδων τριγλυκεριδίων νηστείας όσο και των μεταγευματικών τριγλυκεριδίων του πλάσματος. Οι προτεινόμενοι μηχανισμοί που εξηγούν αυτή την επίδραση των υδατανθράκων είναι η αυξημένη σύνθεση VLDL και ο μειωμένος καταβολισμός και κάθαρση από την κυκλοφορία των χυλομικρών και VLDL καθώς και των υπολειμμάτων τους. [60] Επιπρόσθετα, οι υδατάνθρακες σε σχέση με τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα συχνά προκαλούν μείωση των επιπέδων της HDL χοληστερόλης. [61] Όταν οι υδατάνθρακες συνδυάζονται με αυξημένη πρόσληψη φυτικών ινών, είναι μικρότερη η αύξηση των τριγλυκεριδίων και η μείωση της HDL χοληστερόλης. [62] Σε μελέτη [61] βρέθηκε ότι η αντικατάσταση των 2/3 των κορεσμένων λιπαρών οξέων της δίαιτας με υδατάνθρακες είχε πολύ μικρή επίδραση στις συγκεντρώσεις των τριγλυκεριδίων και της HDL χοληστερόλης.

Αποτελέσματα από πρόσφατη μελέτη έδειξαν ότι μια δίαιτα υψηλή σε φρουκτόζη (25% της E) για 10 εβδομάδες μπορεί να προκαλέσει δυσλιπιδαιμία, μείωση της ινσουλινοευαισθησίας και αύξηση της κεντρικής παχυσαρκίας. [63] Συγκεκριμένα, η διαιτητική φρουκτόζη φαίνεται να αυξάνει σημαντικά τα τριγλυκερίδια νηστείας και τις συγκεντρώσεις της LDL χοληστερόλης, ενώ η διαιτητική γλυκόζη όχι, αλλά η διαιτητική γλυκόζη αυξάνει τις συγκεντρώσεις της

γλυκόζης και ινσουλίνης στο αίμα μεταγευματικά, κάτι που δε γίνεται από τη διαιτητική φρουκτόζη. [64]

Δεδομένου του σύγχρονου τρόπου ζωής, ο σημερινός άνθρωπος βρίσκεται σε μεταγευματική κατάσταση και υπεργλυκαιμία στο μεγαλύτερο μέρος της ημέρας γεγονός που οδηγεί σε χρόνια ενεργοποίηση των μηχανισμών φλεγμονής. Αυτό αποδεικνύεται τόσο από επιδημιολογικές μελέτες, όσο και από διατροφικές παρεμβάσεις που έχουν δείξει ότι η αυξημένη κατανάλωση τροφίμων με υψηλό γλυκαιμικό δείκτη χαρακτηρίζεται από αυξημένες συγκεντρώσεις CRP. [65]

Τέλος, γυναίκες που κατανάλωναν δίαιτα χαμηλή σε υδατάνθρακες(<50%) έχασαν περισσότερο σωματικό βάρος και εκατοστά από την περιφέρεια μέσης σε σχέση με άλλες που ήταν σε δίαιτα υψηλή σε υδατάνθρακες(>50%) για 2 έτη. [66]

viii. Πρωτεΐνη

Ένας αριθμός πρόσφατων μελετών έδειξε ότι μια δίαιτα με χαμηλή αναλογία υδατανθράκων και υψηλή σε πρωτεΐνη βελτιώνει το γλυκαιμικό έλεγχο σε υγιείς και διαβητικούς ασθενείς καθώς επίσης οδηγεί και σε βελτιώσεις στα τριγλυκερίδια νηστείας, στην HDL χοληστερόλη και στο πηλίκο ολικής / HDL χοληστερόλης σε χρονική περίοδο 6-12 μηνών. [67, 68] Αυτό βρίσκεται σε αναλογία με τα ευρήματα της Nurses' Health Study [69] που μια πλούσια σε πρωτεΐνες και φτωχή σε υδατάνθρακες δίαιτα μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο για στεφανιαία νόσο.

Η αυξημένη πρόσληψη διαιτητικής πρωτεΐνης σχετίζεται με μειωμένη ενεργειακή πρόσληψη καθώς φαίνεται να προκαλεί αυξημένη αίσθηση κορεσμού. [70] Θετικές επιδράσεις παρουσιάζει επίσης στην σύσταση του σώματος, ιδιαίτερα της άλιπης μάζας. [71] Σε 6μηνη τυχαιοποιημένη μελέτη σε υπέρβαρά και παχύσαρκα άτομα, η απώλεια λίπους ήταν σχεδόν διπλάσια στα άτομα που έλαβαν δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη (25% της E) σε σύγκριση με άτομα που έλαβαν δίαιτα μέτριας περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη (12% της E). [72]

ix. Φυτικές ίνες

Οι υδατοδιαλυτές φυτικές ίνες που περιέχονται στα όσπρια, τη βρώμη και τα φρούτα μειώνουν τα επίπεδα ολικής και LDL χοληστερόλης του ορού. Οι μη διαλυτές φυτικές ίνες δεν έχουν καμιά επίδραση στα επίπεδα της χοληστερόλης του ορού και της LDL χοληστερόλης. [73]

Η δράση τους αυτή πιθανότατα οφείλεται στη δέσμευση των χολικών οξέων πριν απορροφηθούν ή στο σχηματισμό συστατικών όπως το οξικό, προπιονικό και βουτυρικό άλας τα οποία

παράγονται από ενζυματική ζύμωση των ινών από βακτήρια του παχέος εντέρου και έχουν την ιδιότητα να αναστέλλουν τη σύνθεση χοληστερόλης.

Σύμφωνα με τη μελέτη DASH [74] παρατηρηθήκαν σημαντικές μειώσεις στην αρτηριακή πίεση μετά από κατανάλωση φυτικών ινών (φρούτα, λαχανικά, όσπρια).

Οι Mann J. et al. βρήκαν ότι η αυξημένη κατανάλωση φυτικών ινών στη δίαιτα και κυρίως το υδατοδιαλυτό τους μέρος καθώς και η κατανάλωση τροφίμων με χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη βελτιώνουν το γλυκαιμικό έλεγχο σε ασθενείς με διαβήτη. [75]

Η κατανάλωση φυτικών ινών από δημητριακά φαίνεται να σχετίζεται με την προστασία από την παχυσαρκία και το ΣΔΙΙ. Πολλές μελέτες έχουν συσχετίσει την κατανάλωση φυτικών ινών με αυξημένη αίσθηση κορεσμού και μειωμένη ενεργειακή πρόσληψη αλλά κυρίως το υδατοδιαλυτό τους μέρος. Αντίθετα, οι Anderson GH. et al. [76] βρήκαν ότι ένα γεύμα πλούσιο σε μη διαλυτές φυτικές ίνες μπορεί να καταστείλει την όρεξη, μειώνοντας την πείνα όπως και ένα γεύμα φτωχό σε μη διαλυτές φυτικές ίνες.

Σε μια τυχαιοποιημένη μελέτη βρέθηκε ότι η αυξημένη κατανάλωση φυτικών ινών μέσω της Μεσογειακής δίαιτας προκάλεσε μείωση των επιπέδων της CRP από 2,8 σε 1,7mg/dl στην ομάδα παρέμβασης έναντι της ομάδας ελέγχου. Αν βέβαια η ευεργετική επίδραση στη CRP οφείλεται την κατανάλωση φυτικών ινών ή σε άλλους παράγοντες της δίαιτας είναι κάτι το οποίο δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. [20]

Επιπλέον, οι φυτικές ίνες έχουν συσχετισθεί με μειωμένο κίνδυνο καρδιαγγειακών νοσημάτων λόγω της παρουσίας τους σε τρόφιμα (φρούτα και λαχανικά) πλούσια σε άλλα θρεπτικά συστατικά όπως αντιοξειδωτικές βιταμίνες, ανόργανα συστατικά όπως σελήνιο και φολικό οξύ, φυτοστερόλες, και φυτοχημικά. [77] Σε μια μεταανάλυση 67 μελετών που εξέτασαν την κατανάλωση βρώμης και πηκτινών διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της ολικής και LDL χοληστερόλης του ορού μετά από την πρόσληψη υδατοδιαλυτών φυτικών ινών σε ποσότητα 2 με 10 g /ημέρα. [78]

χ. Αντιοξειδωτικά

Το οξειδωτικό stress αποτελεί κύρια αιτία εμφάνισης της αθηροσκληρωτικής νόσου. Η οξείδωση της LDL είναι ένα σημαντικό στάδιο στην ανάπτυξη και στην εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου. Έτσι η μείωση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου μέσω της πρόσληψης αντιοξειδωτικών βιταμινών αποτέλεσε αντικείμενο σημαντικού αριθμού μελετών αλλά τα αποτελέσματα δεν ήταν ενθαρρυντικά. Η προσθήκη αντιοξειδωτικών βιταμινών E,C, β-

καροτένιου, και μαγνησίου, ψευδαργύρου, σεληνίου εμποδίζει την παραγωγή ελευθέρων ριζών που προκαλούν την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών. [79]

Στη μελέτη CHAOS [80] που πραγματοποιήθηκε σε 2002 ασθενείς με εγκαταστημένη στεφανιαία νόσο χορηγήθηκε βιταμίνη E (400-800IU/d) ή εικονικό προϊόν για περίπου 2 χρόνια. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια εμφανή προστατευτική δράση της βιταμίνης E, με το σχετικό κίνδυνο για πρώιμο καρδιαγγειακό επεισόδιο να είναι 0.53. Κάτι το οποίο δεν μπόρεσαν να επιβεβαιώσουν άλλες παρεμβάσεις όπως HOPE study και PPP project. [81, 82]

Η βιταμίνη E ίσως να έχει κάποια καρδιοπροστατευτική δράση στη διαμόρφωση της φλεγμονώδους απάντησης, καθώς η αυξημένη κατανάλωσης της μαζί με καροτενοειδή φαίνεται να μειώνει τους δείκτες του οξειδωτικού στρες και τα επίπεδα της CRP στο αίμα. [83]

Αντίθετα, σε 3 μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες που έγιναν για την επίδραση του β-καροτένιου στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου δεν επιβεβαιώθηκε η ευεργετική του δράση είτε μόνο είτε σε συνδυασμό με τη βιταμίνη E. [84-86]

Σε 20593 ασθενείς υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου της HPS trial χορηγήθηκε συμπληρωματική αγωγή συνδυασμού αντιοξειδωτικών βιταμινών (600 mg βιτ. E, 250 mg βιτ. C and 20 mg β-καροτένιου καθημερινά), υποστηρίζοντας ότι ο συνδυασμός τους φαίνεται να έχει ευεργετικότερη επίδραση απ'ότι η καθεμία ξεχωριστά στη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου. [87]

Το σελήνιο με τη σειρά του έχει χαρακτηριστεί ως προστατευτικό συστατικό κατά της καρδιαγγειακής νόσου, μειώνοντας τη συσσώρευση των οξειδωμένων LDL στο αρτηριακό τοίχωμα μέσω της σεληνοεξαρτώμενη υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. [88] Προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν αντικρουόμενα συμπεράσματα. Οι *Salomen et al.* [89] βρήκαν μια 2-πλασια αύξηση της καρδιαγγειακής θνησιμότητας σε άτομα με συγκέντρωση σεληνίου <45μg/L στο αίμα σε σύγκριση με άτομα με συγκέντρωση σεληνίου μεγαλύτερη στην αρχική φάση, κάτι που δεν επιβεβαίωσαν οι *Virtamo et al.* [90]

xi. Πολυφαινόλες

Οι πολυφαινόλες των φυτικών τροφών είναι μια μεγάλη ομάδα φυτοχημικών με πολλές ευεργετικές δράσεις στην πρόληψη και στη θεραπεία των ασθενειών. Το ενδιαφέρον έχει επικεντρωθεί σε μία ομάδα που αναφέρεται ως φλαβονοειδή που ποικίλει δομικά (φλαβονόλες, φλαβόνες, ισοφλαβόνες, φλαβονόνες και ανθοκυανίνες) και αποτελούν περισσότερο από τα δύο τρίτα των πολυφαινόλων που καταναλώνονται στη δίαιτα. [91] Λόγω της αφθονίας τους στη

φύση μπορούν να βρεθούν στα φρούτα, στα λαχανικά, στον καφέ, στη σοκολάτα και στη σόγια. [92] Οι διαιτητικές πολυφαινόλες έχουν ταυτόχρονα αντιοξειδωτική όπως και αντιφλεγμονώδη δράση. [93]

Οι πολυφαινόλες του σταφυλιού και του κρασιού(ρεσβερατρόλη), ασκούν ισχυρές αντιφλεγμονώδεις δράσεις είτε αναστέλοντας το οξειδωτικό στρες είτε μειώνοντας τη σύνθεση προ-φλεγμονωδών μορίων και μορίων προσκόλλησης από τα μονοκύτταρα σε απόκριση διαφόρων φλεγμονωδών ερεθισμάτων. [94]

Η σοκολάτα και τα προϊόντα του κακάο περιέχουν σε υψηλά ποσά φλαβανόλες με ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση στο επίπεδο των κυττάρων. Η κατανάλωση ροφήματος κακάο έχει άμεση επίδραση στη διαθεσιμότητα του NO και στη σωστή λειτουργία του ενδοθηλίου, μειώνει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1β, IL-2) από τα μονοκύτταρα ενώ παράλληλα ενεργοποιεί τη σύνθεση αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως η IL-4 και ο TGFβ. [95]

Οι φαινολικές ενώσεις του ελαιολάδου (τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη, ολεωρωπαίνη) ενσωματώνονται στην LDL εμποδίζοντας την οξείδωση της και συνεπώς την ικανότητα της να ενεργοποιεί την έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών. [96]

Σε μελέτες που συμμετείχαν άτομα με εμφανείς ενδείξεις προχωρημένης αθηροσκληρυντικής νόσου, η παρουσία των αντιοξειδωτικών ουσιών του ελαιολάδου στη δίαιτα των ατόμων αυτών συνέβαλλε σημαντικά στην προστασία της LDL χοληστερόλης από την οξείδωση. [97, 98]

xiii. Φυτοστερόλες

Οι φυτικές στερόλες συστήνονται επίσημα από το Εθνικό Εκπαιδευτικό Πρόγραμμα για τη χοληστερόλη των ΗΠΑ (NCEP). Κλινικές μελέτες έδειξαν ότι η ένταξη στο καθημερινό διαιτολόγιο 2-3 γραμμαρίων φυτικών στερολών, οδηγεί σε μείωση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης κατά 10-15% εντός 3 εβδομάδων. Η διαιτητική πρόσληψη των φυτοστερολών συνήθως δε ξεπερνάει τα 250-300mg/dl σε χώρες της Βόρειας Ευρώπης, ενώ φαίνεται να είναι υψηλότερη (μέχρι 500-600mg/dl) στις χώρες της Μεσογείου. [98]

Πιστεύεται ότι οι φυτικές στερόλες ανταγωνίζονται την χοληστερόλη στο έντερο λόγω της δομικής ομοιότητας τους, και κατά συνέπεια απορροφάται λιγότερη χοληστερόλη και η υπόλοιπη αποβάλλεται από τον οργανισμό. Παράλληλα έχει αποδειχθεί ότι οι φυτικές στερόλες δεν επηρεάζουν τα επίπεδα της HDL-χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων. Υπάρχουν πολλές μελέτες που δείχνουν ότι η πρόσληψη φυτικών στερολών μειώνει την απορρόφηση

χοληστερόλης μέχρι 25-30%. Με συνέπεια την μείωση της συγκέντρωσης της ολικής χοληστερόλης κατά 7-8 % και της LDL χοληστερόλης κατά 10-12 %. [99, 100]

Οι φυτικές στερόλες/στανόλες δομικά είναι παρόμοιες με τη χοληστερόλη και υπάρχουν σε φυτικά τρόφιμα και κυρίως σε φυτικά έλαια. Πληθώρα μελετών δείχνουν ότι οι φυτικές στερόλες/ στανόλες επιδρούν παρόμοια στη χοληστερόλη μειώνοντας τη. Τέσσερις τυφλές διατροφικές παρεμβάσεις συνέκριναν την αποτελεσματικότητα των φυτικών στερολών/ στανολών και βρήκαν ότι είχαν την ίδια επίδραση σε ολική και LDL χοληστερόλη. [101-104]

Και οι δύο μπορούν να μειώσουν την απορρόφηση της χοληστερόλης κατά 30 % περίπου, ενώ μπορούν να αυξήσουν ελάχιστα τη σύνθεση της χοληστερόλης σε υπερχοληστεραιμικά άτομα. [105]

Τέλος, οι φυτικές στερόλες/ στανόλες φαίνεται ότι μπορούν να συνδυαστούν με φαρμακευτική αγωγή (στατίνες) [106] και με άλλους διατροφικούς παράγοντες [107, 108] που έχει αποδειχθεί ότι έχουν θετική επίδραση στα λιπίδια του αίματος.

xiii. Νάτριο και Κάλιο

Η πρόσληψη NaCl δεν σχετίζεται με το λιπιδαιμικό, γλυκαιμικό προφίλ αλλά με την αρτηριακή πίεση. Η μελέτη INTERSALT, με δείγμα 10.000 ατόμων ηλικίας 20- 59 ετών, έδειξε ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στο προσλαμβανόμενο αλάτι και την ΑΠ. Συγκεκριμένα φάνηκε ότι διαφοροποίηση στην πρόσληψη NaCl κατά 6g, είχε ως αποτέλεσμα μεταβολή στη συστολική πίεση κατά 3-6 mmHg. Ωστόσο, τα αποτελέσματα κάποιων μελετών δείχνουν ότι η μείωση της πρόσληψης αλατιού έχει μόνο άμεσα και όχι μακροπρόθεσμα αποτελέσματα στην ΑΠ και στη θνησιμότητα. Σημαντικό είναι, επίσης, ότι μόνο το 30-50% των υπερτασικών ατόμων φαίνεται να έχουν ευαισθησία στο NaCl, δηλαδή να παρουσιάζουν αύξηση της ΑΠ όταν αυξάνεται η πρόσληψη αλατιού. Το κάλιο συσχετίζεται αρνητικά με την υπέρταση καθώς φαίνεται ότι μειώνει τα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης κυρίως σε υπερτασικούς ασθενείς. Υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί που εξηγούν αυτή τη μείωση, όπως η αύξηση της απέκκρισης νατρίου από τα ούρα και η αναστολή της έκκρισης ρενίνης. Ωστόσο, δεν υπάρχουν αποδείξεις ότι η μακροχρόνια πρόσληψη συμπληρώματος καλίου πρέπει να συστήνεται για τη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Μια δίαιτα πλούσια σε φρούτα και λαχανικά μπορεί να καλύψει τις ημερήσιες ανάγκες καλίου. [109]

xiv. Αλκοόλ

Η μέτρια κατανάλωση 1-2 ποτών/ημ. σχετίζεται με μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου, ενώ η υψηλή πρόσληψη με αυξημένη συνολική θνησιμότητα. [110] Σε πρόσφατη μελέτη, αναφέρεται η προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης αλκοόλ στον κίνδυνο για ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο σε άτομα ηλικίας 60-69 ετών. [111] Το ενδιαφέρον σε αυτή τη μελέτη ήταν ότι μόνο η κατανάλωση κρασιού σχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο. Υπέρμετρη κατανάλωση οινοπνεύματος αυξάνει τα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο αίμα, οδηγεί σε αρτηριακή υπέρταση, καρδιακή ανεπάρκεια, παχυσαρκία και διαβήτη. Άλλα καρδιαγγειακά προβλήματα με τα οποία φαίνεται να σχετίζεται η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ είναι το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, η μυοκαρδιοπάθεια, οι καρδιακές αρρυθμίες και ο αιφνίδιος θάνατος. Για όλα τα παραπάνω, δεν συστήνεται σε άτομα που δεν καταναλώνουν καθόλου αλκοόλ να αρχίσουν να πίνουν. [112]

xv. Φυλλικό Οξύ και Βιταμίνες B₆ και B₁₂

Τα αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης στα αίμα έχουν συσχετιστεί με την αγγειακή νόσο και η συσχέτιση αυτή καθιστά τα αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης ως ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου. [113] Ο ρόλος του φυλλικού οξέος και αλλά και των βιταμινών B₆ και B₁₂ είναι συνδεδεμένος με το μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης σε μεθειονίνη και επομένως με χαμηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης στο αίμα. Μια μέτρια πρόσληψη τροφίμων εμπλουτισμένα σε φυλλικό οξύ (δημητριακά πρωινού: 100μg/μερίδα) ή σε τρόφιμα πλούσια σε φυλλικό οξύ (εσπεριδοειδή, όσπρια) μπορούν να μειώσουν τα επίπεδα ομοκυστεΐνης σε υγιή άτομα [114], ενώ μεγαλύτερη ποσότητα από αυτά τα συστατικά σε άτομα με εγκατεστημένη αγγειακή νόσο. [115]

Σύμφωνα με μια πρόσφατη μετα-ανάλυση μια υψηλή κατανάλωση φυλλικού οξέος (0,8mg) θα μείωνε τον κίνδυνο ισχαιμικής καρδιοπάθειας και εγκεφαλικού επεισοδίου κατά 16% και 24%, αντίστοιχα. [116]

1.2 Διατροφικές παρεμβάσεις με γαλακτοκομικά και εμπλουτισμένα γαλακτοκομικά προϊόντα

1.2.1. Το γάλα και τα συστατικά του

Το γάλα είναι ένα πολύπλοκο στη φυσιολογία του υγρό το οποίο παρέχει θρεπτικά και βιοενεργά συστατικά τα οποία διευκολύνουν την προσαρμογή του νεογνού, ενεργοποιώντας την κυτταρική ανάπτυξη και ωρίμανση του πεπτικού συστήματος. Ο αριθμός, η δραστητικότητα και η σημασία των βιοενεργών συστατικών του γάλακτος και των προϊόντων του που έχουν υποστεί ζύμωση, είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτήν που πίστευαν παλαιότερα. Τα συστατικά αυτά περιλαμβάνουν συγκεκριμένες βιταμίνες, πρωτεΐνες, βιοενεργά πεπτίδια, ολιγοσακχαρίτες και οργανικά οξέα συμπεριλαμβανομένων και των λιπαρών. Μερικά από αυτά είναι φυσιολογικά συστατικά του γάλατος, ενώ άλλα αναδύονται κατά την διάρκεια της διαδικασίας της πέψης ή της ζύμωσης. Γαλακτοκομικά προϊόντα τα οποία έχουν υποστεί ζύμωση με προβιοτικά βακτήρια μειώνουν την απορρόφηση της χοληστερόλης. Οι πρωτεΐνες του ορού του γάλατος, τα μέσης αλύσου λιπαρά οξέα και ιδιαίτερα το ασβέστιο και άλλα μέταλλα μπορεί να συνεισφέρουν στην ευεργετική επίδραση των γαλακτοκομικών στη σύσταση λίπους και μυϊκού ιστού στον ανθρώπινο οργανισμό. Υπάρχουν ολοένα αυξανόμενα στοιχεία για τον ρόλο που παίζουν οι πρωτεΐνες του γάλακτος στο αίσθημα του κορεσμού, την πρόσληψη τροφής και την νοσογόνο παχυσαρκία. Οι πρωτεΐνες του γάλατος, τα πεπτίδια, το ασβέστιο και υπόλοιπα μέταλλα μπορούν να μειώσουν σε σημαντικό βαθμό και την αρτηριακή πίεση. Τα λιπίδια που εμπεριέχονται στο γάλα αποτελούν μια πληθώρα συστατικών με λειτουργικές ιδιότητες. Για παράδειγμα τα σφιγγολιπίδια και οι ενεργοί μεταβολίτες τους μπορούν να ασκήσουν αντιμικροβιακή δράση είτε άμεσα είτε κατά τη διάρκεια της πέψης.

Το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα έχουν την ιδιαιτερότητα να περιέχουν συστατικά που θα μπορούσαν υποθετικά να αυξήσουν τον κίνδυνο για ορισμένες ασθένειες και άλλα συστατικά που θα μπορούσαν να τον μειώσουν. Το γάλα έχει προταθεί ως παράγοντας κινδύνου αθηροσκλήρωσης και στεφανιαίων καρδιακών παθήσεων επειδή αποτελεί πηγή χοληστερόλης και κορεσμένων λιπαρών οξέων. Τα ευεργετικά αποτελέσματα, εντούτοις, έχουν αποδοθεί σε άλλα συστατικά του γάλακτος, όπως το συζευγμένο λινελαϊκό οξύ, το οποίο μπορεί να έχει υπολιπιδαιμικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες, το ασβέστιο, το οποίο μπορεί να προστατεύει από την υπέρταση, και οι βιταμίνες φολικό οξύ, B6 (πυριδοξίνη) και B12 (κυανοκοβαλαμίνη), οι

οποίες συμβάλλουν στα χαμηλότερα επίπεδα ομοκυστεΐνης (τα αυξημένα επίπεδα στο αίμα ίσως σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφράγματος). [117, 118]

Συνεπώς το γάλα, ακόμη και μη εμπλουτισμένο με επιπλέον συστατικά, αποτελεί από μόνο του ένα σημαντικό τρόφιμο το οποίο όχι μόνο αποτελεί πηγή ενέργειας για τον οργανισμό, αλλά ασκεί παράλληλα και ευεργετική επίδραση στην σωστή λειτουργία του.

1.2.2. Γάλα - γαλακτοκομικά προϊόντα και καρδιαγγειακός κίνδυνος

Δεκαετίες πριν επικρατούσε η άποψη ότι η κατανάλωση δίαιτας με υψηλή περιεκτικότητα σε ζωικό λίπος συμπεριλαμβανομένου και του λίπους προερχόμενο από το γάλα, μπορεί να συνεισφέρει στην αύξηση των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η αντίληψη ότι τα γαλακτοκομικά προϊόντα που χαρακτηρίζονται από υψηλή σύσταση σε κορεσμένα λιπαρά και χοληστερόλη είναι αθηρογόνα, προέρχεται από οικολογικές μελέτες κυρίως. [119, 120] Βέβαια, διεθνείς οργανισμοί λαμβάνοντας υπόψη το παραπάνω, συνέστησαν αποφυγή γαλακτοκομικών προϊόντων υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος σαν μέρος μιας υγιεινής διατροφής. [121, 122]

Μελέτες έχουν δείξει μείωση της θνητότητας σε πληθυσμούς έπειτα από αλλαγές στη διατροφή και τον τρόπο ζωής. Στην North Karelia Project, ο χαμηλός δείκτης θνητότητας αποδόθηκε στη μειωμένη πρόσληψη κορεσμένων λ.ο. και χοληστερόλης (από γαλακτοκομικά) και στη αυξημένη πρόσληψη φρούτων και λαχανικών, με παράλληλες τροποποιήσεις στον τρόπο ζωής. [123]

Επιβεβαιώνεται από κάποιες μελέτες η συσχέτιση μεταξύ πρόσληψης γάλακτος και θνητότητα από καρδιαγγειακά νοσήματα καθώς το πηλίκο υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος/ χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος από την κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων σχετίζεται θετικά με αυξημένο κίνδυνο από στεφανιαία νόσο. [124]

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα μπορούν να βελτιώσουν κάποιους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Στην DASH trial σε 133 υπερτασικούς ασθενείς βρέθηκε ότι η κατανάλωση δίαιτας με γαλακτοκομικά χαμηλών λιπαρών για 8 εβδομάδες μείωσε την ΑΠ περισσότερο από ότι μια δίαιτα πλούσια σε φρούτα και λαχανικά. [125] Ο *Elwood et.al.* σε ανασκόπηση 10 προοπτικών μελετών, βρήκαν ότι ο κίνδυνος αγγειακά επεισόδια στην ομάδα με χαμηλή πρόσληψη γάλακτος ήταν περίπου ο ίδιος με την ομάδα με υψηλή πρόσληψη γάλακτος. [126] Σε 827 άνδρες και γυναίκες ηλικίας 18-74 ετών παρατηρήθηκε ότι τα άτομα με υψηλή πρόσληψη γάλακτος είχαν χαμηλότερο κίνδυνο για ανάπτυξη μεταβολικού συνδρόμου σε σχέση με τα άτομα με χαμηλή πρόσληψη γάλακτος. [127]

Η ύπαρξη αντικρουόμενων δεδομένων που αφορούν τη σχέση μεταξύ της πρόσληψης γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων και καρδιαγγειακού κινδύνου πιθανολογείται ότι οφείλεται στην πολυπλοκή σύσταση του γάλακτος και κυρίως των λιπαρών του. [128]

1.2.3. Διατροφικές παρεμβάσεις με γαλακτοκομικά προϊόντα: επίδραση στο λιπιδαιμικό προφίλ

Οι αυξημένες συγκεντρώσεις της LDL χοληστερόλης στο πλάσμα είναι αναγνωρισμένες ως σημαντικός παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου. Παρόλο που είναι εντελώς ξεκάθαρη η σχέση της LDL χοληστερόλης με τα καρδιαγγειακά, δε πρέπει να παραβλέπουμε και ότι τα χαμηλά επίπεδα της HDL χοληστερόλης σχετίζονται σημαντικά με τη καρδιαγγειακή θνησιμότητα.

Σε άνδρες των Μασάι της Αφρικής [129] πρωτομελετήθηκε η επίδραση του γάλακτος στα επίπεδα της χοληστερόλης, καθώς η φυλή αυτή καταναλώνει μεγάλες ποσότητες κρέατος, αίματος και γάλατος κάτι το οποίο δε φάνηκε να τους επηρεάζει, παρατηρώντας τη μειωμένη εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου στον πληθυσμό. Η παραπάνω ερμηνεία αποδόθηκε στην υψηλή κατανάλωση γάλακτος.

Σε σύγκριση του τυπικού αποβουτυρωμένου γάλακτος με το αποβουτυρωμένο γάλα από διασφαλισμένες αγελάδες σε υπερλιπιδαιμικούς άνδρες που πραγματοποίησαν οι *Golay et al.* βρέθηκε σημαντική μείωση στην ολική και LDL χοληστερόλη μετά από κατανάλωση του αποβουτυρωμένου γάλακτος από τις διασφαλισμένες αγελάδες σε ποσότητες 300-500ml/ημέρα για 8 εβδομάδες. Το παρόν ερμηνεύτηκε από τα υψηλά επίπεδα IgG. [130]

Τρεις πρόσφατες μελέτες συγκρίνοντας την επίδραση διαφορετικών γαλακτοκομικών προϊόντων με παρόμοια πρόσληψη διαιτητικού λίπους στα λιπίδια του αίματος πρότειναν ότι η κατανάλωση σκληρού τυριού είχε χαμηλότερη επίδραση στην αύξηση της LDL χοληστερόλης από ότι το βούτυρο ή το γάλα. [131-133]

Προοπτική μελέτη σε Ιαπωνικό πληθυσμό έδειξε θετική συσχέτιση μεταξύ κατανάλωσης γαλακτοκομικών και λιπιδίων του ορού. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα γαλακτοκομικά προϊόντα μπορεί να έχουν ανεπιθύμητη επίδραση στον υπερχοληστερολαιμικό πληθυσμό της Ιαπωνίας, κάτι το οποίο δεν επιβεβαιώθηκε και για την HDL χοληστερόλη λόγω της αύξησής της. [134]

Γνωρίζοντας ότι οι μικρές και πυκνές LDL είναι πιο αθηρογόνες στην επόμενη μελέτη προτάθηκε ότι ίσως η φύση των μορίων της LDL χοληστερόλης σε σχέση με την κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων να έχει ως αποτέλεσμα μια βελτιωμένη καρδιαγγειακή προοπτική. Σε 291 άνδρες ηλικίας 62-64ετών με ποικίλη ινσουλινοευαισθησία [135], παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση του αριθμού των μικρών πυκνών LDL μορίων με την κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων. Αξιοσημείωτο είναι ότι τα λιπαρά από τα γαλακτοκομικά προϊόντα βοήθησαν αποκλειστικά και μόνο στην αύξηση των μεγαλύτερων και λιγότερο αθηρογόνων μορίων της LDL χοληστερόλης.

Μελέτη με 15χρονους Σουηδούς έφηβους, έδειξε ότι η εκτιμώμενη πρόσληψη λιπαρών οξέων από το γάλα (4:0-14:0), σχετίστηκε αντιστρόφως ανάλογα με τις συγκεντρώσεις της χοληστερόλης του ορού και της απολιποπρωτεΐνης B (απο-B) στα κορίτσια ($P<0,05$) και υπήρξε μια αντίστροφη σχέση μεταξύ της εκτιμώμενης πρόσληψης C 12:0 και απο-B ($P<0,001$) στα αγόρια. Τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίχθηκαν από μια αντίστροφη αναλογία των 12:0 και 15:0 στους εστέρες χοληστερόλης του ορού και της συγκέντρωσης χοληστερόλης στον ορό σε αγόρια και κορίτσια ($P<0,005$). Η ερμηνεία που δόθηκε ήταν τα λιπαρά του γάλακτος περιέχουν ή σχετίζονται με κάποια συστατικά της δίαιτας ή χαρακτηριστικά της διατροφικής πρόσληψης, τα οποία εξισορροπούν την προβλεπόμενη θετική συσχέτιση μεταξύ των κορεσμένων λ.ο. και της συγκέντρωσης της χοληστερόλης στον ορό. [136]

Παρόλο που αρκετές μεταβολικές μελέτες σε ανθρώπους έχουν αποδείξει ότι το βούτυρο μπορεί να δημιουργήσει υπερχοληστερολαιμία συγκρινόμενο με άλλες πηγές λίπους [137], οι επιδράσεις του γάλακτος και των γαλακτοκομικών έχουν δώσει αντιφατικά συμπεράσματα. Συνεπώς, η υποχοληστερολαιμική επίδραση των γαλακτοκομικών έχει αναφερθεί σε κάποιες μελέτες [138-140], πολλές βέβαια από τις οποίες είχαν ανεπαρκή σχεδιασμό, οδήγησαν στην υπόθεση ότι το γάλα περιέχει έναν ευεργετικό «γαλακτοκομικό παράγοντα», ο οποίος διαμορφώνει την επίδραση των λιπαρών του γάλακτος στη χοληστερόλη. [141] Αντίθετα, ελεγχόμενες διαιτητικές παρεμβάσεις δεν έδειξαν διαφορά στην επίδραση του γάλακτος και του βουτύρου με ίδιο λιπιδικό περιεχόμενο στα επίπεδα της χοληστερόλης του πλάσματος. [131]

Μελετώντας τις επιδράσεις των γαλακτοκομικών προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση στα επίπεδα της χοληστερόλης του πλάσματος, τα αποτελέσματα είναι ασαφή. Μερικές μελέτες εξέτασαν το κανονικό ζυμωμένο γιαούρτι (με στελέχη *Streptococcus thermophilus* ή *Lactobacillus bulgaricus*) σε σύγκριση με ένα απλό προϊόν ελέγχου (μη ζυμωμένο) και δεν βρήκαν καμία διαφορά στην επίδραση μεταξύ του γάλακτος και του γιαουρτιού σε υγιείς άνδρες. [142] Σε γάλα ζυμωμένο με *Lactobacillus acidophilus* παρατηρήθηκε μείωση στις

συγκεντρώσεις της χοληστερόλης [143], αλλά όχι πάντα [144]. Φαίνεται λοιπόν ότι τα διαφορετικά βακτηριακά στελέχη έχουν διαφορετική επίδραση στην μείωση της χοληστερόλης από ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα.

Είναι σαφές ότι τα γαλακτοκομικά προϊόντα συνεισφέρουν στη σύσταση της δίαιτας σε κορεσμένα λ.ο. Ωστόσο, δεν υπάρχουν ξεκάθαρα δεδομένα για το αν η κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων σχετίζεται με υψηλότερο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Επιπλέον, ενώ τα κορεσμένα λ.ο. θεωρείται ότι αυξάνουν τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης, είναι σημαντικό να σημειώσουμε ότι αυτό δε συμβαίνει με όλα τα κορεσμένα λ.ο. Τα χαμηλά επίπεδα της HDL χοληστερόλης σχετίζονται με υψηλότερο καρδιαγγειακό κίνδυνο, όμως το γάλα φαίνεται να αυξάνει τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης.

1.2.4. Διατροφικές παρεμβάσεις με γαλακτοκομικά εμπλουτισμένα με φυτικές στερόλες και στανόλες

Πολλοί επιστημονικοί οργανισμοί έχουν συντάξει ιατρικές οδηγίες στοχεύοντας στη μείωση του αριθμού των ατόμων με αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης. Διατροφικές συστάσεις και οι αλλαγές στον τρόπο ζωής αποτελούν τον ακρογωνιαίο λίθο για την πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων και των συστατικών που μπορούν να μειώσουν τη χοληστερόλη, έχουν αυξήσει τα διαθέσιμα εργαλεία για τον έλεγχο της χοληστερόλης. Μεταξύ αυτών είναι και η χρήση προϊόντων εμπλουτισμένα με φυτικές στερόλες που έχει εξαπλωθεί ευρέως.

Οι φυτικές στερόλες είναι φυσικά συστατικά δομικά παρόμοια με τη χοληστερόλη και βρίσκονται σε αφθονία στα φυτά. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι οι φυτικές στερόλες και ιδιαίτερα οι εστέρες των φυτικών στερολών μειώνουν αποτελεσματικά την ολική και LDL χοληστερόλη, όταν είναι ενσωματωμένα σε τρόφιμα που έχουν ως βάση τους το λίπος όπως μαργαρίνες.

Σε μετανάλυση [145] αναφέρθηκε ότι μια δόση των 2gr/ημ. των φυτικών στερολών/στανολών προκάλεσε μια μέση μείωση στην LDL χοληστερόλη από 9-14%, εξαρτώμενη από την ηλικία των συμμετεχόντων. Σε ακόμα πιο πρόσφατη μετανάλυση που περιελάμβανε 41 μελέτες έδειξε ότι 2gr/ημ. φυτικών στερολών/στανολών μείωσαν την LDL χοληστερόλη κατά 10%. [146]

Στη μελέτη των *Noakes M et al.* [147], οι συμμετέχοντες κατανάλωναν 300ml/ημέρα placebo ή γάλα με εστέρες φυτοστερολών (PsteE-γάλα), είτε μόνο του, είτε σε συνδυασμό με 25g/ημέρα

μαργαρίνης με εστέρες φυτοστερολών (PsteE-spread). Τα αποτελέσματα μετά από 3 εβδομάδες έδειξαν ότι τόσο το PsteE-γάλα όσο και το PsteE-spread ήταν το ίδιο αποτελεσματικά στη μείωση της ολικής και LDL χοληστερόλης κατά 6% και 8-10% αντίστοιχα σε σύγκριση με το placebo. Δεν παρατηρήθηκε επιπλέον μείωση της χοληστερόλης από τον συνδυασμό του γάλακτος με το spread (4g φυτοστερολών/ημέρα).

Σε ένα δεύτερο κομμάτι της ίδιας μελέτης οι συμμετέχοντες κατανάλωναν 2 μερίδες/ημέρα γιαούρτι είτε placebo, είτε με εστέρες φυτοστερολών (PsteE-γιαούρτι), είτε με εστέρες φυτοστανολών (PstaE-γιαούρτι). Βρέθηκε ότι τα εμπλουτισμένα γιαούρτια είτε με εστέρες φυτοστερολών (PsteE-γιαούρτι), είτε με εστέρες φυτοστανολών (PstaE-γιαούρτι) μείωσαν την LDL χοληστερόλη σημαντικά σε σχέση με το placebo κατά 6 και 5% αντίστοιχα.(6)

Η επίδραση της κατανάλωσης εμπλουτισμένου με φυτοστερόλες γάλακτος στα λιπίδια του αίματος αξιολογήθηκε από μια πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή μελέτη, σε υπερχοληστερολαιμικούς ενήλικες. Η μια ομάδα λάμβανε 1,6g φυτοστερολών εμπλουτισμένων σε γάλα καθημερινά, ενώ η ομάδα ελέγχου λάμβανε ένα placebo γάλα. Στις 6 εβδομάδες, η LDL χοληστερόλη μειώθηκε από $166,2 \pm 2,0$ στα $147,7 \pm 2,8$ mg/dl ($P=0.01$). Ακόμη μια σημαντική μείωση παρατηρήθηκε στην ολική χοληστερόλη από $263,5 \pm 2,6$ στα $231 \pm 3,2$ mg/dl ($P=0,01$). Παρατηρήθηκε μεγαλύτερη μείωση της LDL χοληστερόλης σε υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς οι οποίοι είχαν υψηλότερη LDL στις baseline μετρήσεις. [148]

Σε υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς πραγματοποιήθηκε διατροφική παρέμβαση, στην οποία η ομάδα παρέμβασης λάμβανε 2 μερίδες γάλακτος με χαμηλά λιπαρά εμπλουτισμένο με 0,8g φυτοστερολών/ μερίδα και η ομάδα ελέγχου 2 μερίδες γάλακτος με χαμηλά λιπαρά. Στο τέλος της παρέμβασης, παρατηρήθηκε μείωση της LDL χοληστερόλης κατά 9,5% και 7,8% έπειτα από 3 και 6 εβδομάδες αντίστοιχα, στην ομάδα παρέμβασης σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, ενώ δεν υπήρξε καμία μεταβολή στις συγκεντρώσεις των τριγλυκεριδίων και της HDL. Επιπλέον, δεν υπήρξε καμία μεταβολή της συγκέντρωσης του β-καροτενίου, σε αντίθεση με αυτήν της οξειδωμένης LDL η οποία μειώθηκε στην ομάδα παρέμβασης. [149]

Εκτός από τα γαλακτοκομικά προϊόντα, υπάρχουν προϊόντα που βασίζονται στη σόγια. Σε τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή μελέτη μονοκεντρική μελέτη, 50 κατανάλωναν 200ml/ημ. γάλα σόγιας είτε εμπλουτισμένο με 2,6 gr εστέρων φυτικών στερολών, είτε χωρίς για 8 εβδομάδες. Η κανονική κατανάλωση του γάλακτος σόγιας εμπλουτισμένο με εστέρες φυτικών στερολών μείωσε κατά 7% την LDL χοληστερόλη σε σχέση με το baseline. Η ολική και μη HDL

χοληστερόλη μειώθηκαν 0,26mmol/l και 0,31mmol/l αντίστοιχα. Οι μέσες αλλαγές στις τιμές των λιπιδίων της ομάδας παρέμβασης ήταν μεγαλύτερες σε σχέση την ομάδα placebo. [150]

Με βάση τις παραπάνω μελέτες συμπεραίνουμε ότι καθημερινή κατανάλωση εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών με φυτικές στερόλες φαίνεται να έχουν το επιθυμητό αποτέλεσμα στα λιπίδια του αίματος και συγκεκριμένα στην LDL χοληστερόλη.

1.2.5. Διατροφικές παρεμβάσεις με γαλακτοκομικά εμπλουτισμένα με ω-3 λιπαρά οξέα και αντιοξειδωτικές βιταμίνες

Αρκετές μελέτες εστιάζουν στην πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων με τη βοήθεια των ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (ω-3 PUFAs), συγκεκριμένα από το εικοσιπεντανοϊκό (EPA) και εικοσιδυοεξενικό (DHA) οξύ. Η ευεργετική τους επίδραση έγκειται στη μείωση διαφόρων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου. Παρόλο που ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο τα ω-3 PUFAs ασκούν την αθηροπροστατευτική τους δράση δεν είναι ακόμη ξεκάθαρος, ένας μεγάλος αριθμός πιθανών μηχανισμών έχει προταθεί, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητας των ω-3 PUFAs στο να δρουν ευεργετικά στην θρόμβωση, στο λιπιδαιμικό προφίλ, στην ΑΠ και στη φλεγμονή.

Σε μελέτη των *Carrero et al.* αναφέρθηκε ότι η κατανάλωση ενός γαλακτοκομικού προϊόντος εμπλουτισμένο με ω-3 λιπαρά οξέα, ελαϊκό οξύ και βιταμίνες E, B₆ και φυλλικό οξύ, σε αντίθεση με ένα ημι-αποβουτυρωμένο γάλα παρουσίασε σημαντική μείωση στις συγκεντρώσεις της ολικής και LDL χοληστερόλης, αύξηση της βιταμίνης B₁₂ και φυλλικού οξέος στο πλάσμα με παράλληλη μείωση των επιπέδων των τριγλυκεριδίων, της ομοκυστεΐνης, του VCAM-1 και της CRP σε υγιείς εθελοντές. [151]

Οι *L.Baro et al.* προσπάθησαν να εκτιμήσουν την επίδραση του ημι-αποβουτυρωμένου γάλακτος εμπλουτισμένο με ω-3 λιπαρά οξέα, ελαϊκό οξύ και βιταμίνες E, B₆ και φυλλικό οξύ, σε παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Σε 33 εθελοντές δόθηκαν 500 ml/ημέρα ημι-αποβουτυρωμένου γάλακτος για 4 εβδομάδες και έπειτα 500 ml/ημέρα γάλακτος εμπλουτισμένου με ω-3 για επιπλέον 8 εβδομάδες. Στο τέλος της μελέτης παρατηρήθηκε ότι η κατανάλωση του εμπλουτισμένου γάλακτος μείωσε στατιστικά σημαντικά την ολική και LDL χοληστερόλη του

πλάσματος, καθώς και την ομοκυστεΐνη του πλάσματος. Η ικανότητα οξειδωσης της LDL και η συγκέντρωση της βιταμίνης E, παρέμειναν οι ίδιες κατά τη διάρκεια της έρευνας. Το γάλα φαίνεται να αποτελεί ένα αποτελεσματικό όχημα μεταφοράς για την απορρόφηση λίπους, καθώς τα λιπαρά του διασκορπίζονται σε πολύ μικρά σωματίδια και μπορούν να απορροφηθούν πιο εύκολα από τα μεγάλα. Για τον λόγο αυτό, αναφέρουν οι συγγραφείς ότι χρησιμοποίησαν τα γάλα, ένα καθημερινό ρόφημα, ως μεταφορέα των συμπληρωματικών PUFAs, MUFAs και βιταμινών, στην προσπάθεια να αυξήσουν την πρόσληψη αυτών και να μελετήσουν περαιτέρω τις επιδράσεις τους σε παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου σε υγιείς εθελοντές. [152]

Σε 297 εθελοντές ηλικίας 25-65 ετών με μέτριο καρδιαγγειακό κίνδυνο δόθηκαν : στην ομάδα παρέμβασης 500ml/ημ. γάλα εμπλουτισμένο με EPA και DHA, ελαϊκό οξύ και βιταμίνες A, E, D, B₆ και φυλλικό οξύ, στην ομάδα του placebo 500ml/ημ. αποβουτυρωμένο γάλα και στην ομάδα ελέγχου 500ml/ημ. ημι-αποβουτυρωμένο γάλα. Μετά από ένα χρόνο η κατανάλωση του εμπλουτισμένου γάλακτος παρουσίασε αύξηση του φυλλικού οξέος κατά 58% και της HDL χοληστερόλης κατά 4%. Παράλληλα τα τριγλυκερίδια, η ολική και LDL χοληστερόλη μειώθηκαν κατά 10%, 4% και 6% αντίστοιχα μόνο στην ομάδα παρέμβασης. Οι τιμές της γλυκόζης, της ομοκυστεΐνης και της CRP παρέμειναν αμετάβλητες. Στις ομάδες του αποβουτυρωμένου και του ημι-αποβουτυρωμένου γάλακτος, οι μόνες μειώσεις που παρατηρήθηκαν ήταν στα επίπεδα του φυλλικού οξέος. [153]

Σε διατροφική παρέμβαση συμμετείχαν 8 νορμολιπιδαιμικοί εθελοντές, οι οποίοι κατανάλωναν περιστασιακά αποβουτυρωμένο γάλα και δεν κατανάλωναν καθόλου ψάρι κατά τη διάρκεια της παρέμβασης. Για ένα μήνα ξεκίνησαν με 500ml/ημ. ημι-αποβουτυρωμένου γάλατος και έπειτα συνέχισαν με 500ml/ημέρα γάλατος εμπλουτισμένο με 400 mg ω-3 λιπαρών (300 mg EPA και DHA και 15 mg βιταμίνης E) ανά 500 ml, για επιπλέον 6 εβδομάδες. Δεν παρατηρήθηκε καμία αλλαγή στο λιπιδαιμικούς δείκτες τον πρώτο μήνα, ενώ εντοπίστηκε αύξησης του EPA και DHA του πλάσματος στην 3^η και 6^η εβδομάδα κατανάλωσης του εμπλουτισμένου γάλατος. Η συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων παρουσίασε μείωση 19%, ενώ αυτή της HDL χοληστερόλης 19% αύξηση στο τέλος της 6^η εβδομάδας. Η βιταμίνη E πλάσματος αυξήθηκε κατά 21%, ενώ η ευαισθησία του πλάσματος στην οξειδωση δεν επηρεάστηκε καθόλου κατά τη διάρκεια της παρέμβασης. [154]

Τέλος, η κατανάλωση γάλακτος εμπλουτισμένο με ω-3 λιπαρά οξέα, ελαϊκό οξύ και βιταμίνες E, B₆ και φυλλικό οξύ βελτίωσε την διατροφική κατάσταση και τους δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου. Συνεπώς, παρατηρείται ότι ο εμπλουτισμός γάλακτος με ω-3 και αντιοξειδωτικές βιταμίνες φαίνεται να έχει επιθυμητά αποτελέσματα στα λιπίδια του ορού.

1.3. Παράγοντας Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (PAF)

Ο PAF αποτελεί την κοινή ονομασία ενός φωσφολιπιδίου, της 1-O- αλκυλο-2 ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνης, στο οποίο έχουν αποδοθεί ποικίλες φυσιολογικές δράσεις. Πολλά είναι τα ενδιάμεσα λιποειδή που προέρχονται από τα φωσφολιπίδια αλλά ο PAF είναι το πρώτο φωσφολιποειδές στο οποίο αποδόθηκαν αυτακοειδείς και μηνυματοφόρες λειτουργίες.

Οι λειτουργίες αυτές διενεργούνται μετά από την πρόσδεση του μορίου πάνω στον κατάλληλο υποδοχέα και μέσω ενός καταρράκτη αντιδράσεων που προκύπτουν από αυτήν.

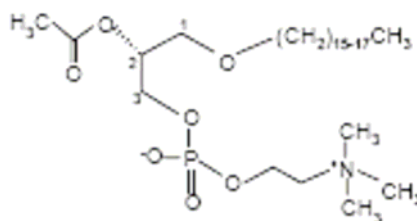
Περιοριστικό παράγοντα για την πρόσδεση του PAF στον υποδοχέα του και για την αναγνώρισή του ως υπόστρωμα από τα συνθετικά και αποικοδομητικά του ένζυμα αποτελεί η δομή του. Το τελευταίο είναι ζωτικής σημασίας καθώς τα δομικά φωσφολιποειδή θα μπορούσαν να υδρολυθούν ανεξέλεγκτα από τα αποικοδομητικά ένζυμα του PAF.

Ο PAF μπορεί να βιοσυντίθεται και να αποικοδομείται με περισσότερο από μία πορείες στα κύτταρα, ανάλογα το είδος και το περιβάλλον του κυττάρου. Οι πορείες αυτές βρίσκονται κάτω από αυστηρό έλεγχο και ρυθμίζονται από εξωκυτταρικά σήματα που οδηγούν, είτε στην σύνθεση είτε στην απενεργοποίηση του PAF ανάλογα την παθοφυσιολογική κατάσταση του οργανισμού. Παράλληλα, έχει βρεθεί άμεση συσχέτιση του μεταβολισμού του PAF με το μεταβολισμό και άλλων, βιολογικά δραστικών, λιποειδών, κυρίως εικοσανοειδών, ενώ έχουν βρεθεί καινούργιες αντιδράσεις και ένζυμα που καθορίζουν το είδος των δομικών αναλόγων του PAF σε κάθε κύτταρο. [155]

1.3.1. Χημική δομή και φυσικοχημικές ιδιότητες PAF

Ο PAF [156] είναι ένα γλυκεριναιθερικό φωσφολιποειδές. Στην πρώτη θέση του γλυκερινικού σκελετού συνδέεται, με αιθερικό δεσμό, μια λιπαρή αλυσίδα που περιλαμβάνει συνήθως 16 ή 18 άτομα άνθρακα και είναι κορεσμένη ή ακόρεστη με έναν ή δύο διπλούς δεσμούς, στη δεύτερη θέση βρίσκεται εστεροποιημένο ένα οξικό οξύ και στην τρίτη θέση υπάρχει μια ομάδα φωσφορυλοχολίνης (Σχήμα 1). Η παραπάνω δομή αντιπροσωπεύει την πιο δραστική μορφή του PAF όχι όμως και τη μοναδική αφού στη φύση έχει βρεθεί μια μεγάλη ποικιλία μοριακών ειδών

και αναλόγων του PAF με παρόμοιες βιολογικές δράσεις. Οι ενώσεις αυτές περιγράφονται αναλυτικότερα παρακάτω.



Σχήμα 1. Χημική δομή του PAF

1.3.2. Μοριακά είδη και ανάλογα PAF – Σχέση δομής-δραστηκότητας

Εκτός από την κλασσική δομή του PAF (Σχήμα 1), στη φύση έχουν βρεθεί και πιστοποιηθεί πλήθος μοριακών ειδών και αναλόγων του με παρόμοιες ή μικρότερες βιολογικές δραστηκότητες. Τα μοριακά είδη και ανάλογα του PAF διαφέρουν ως προς το είδος της λιπαρής αλυσίδας και του δεσμού με τον οποίο αυτή συνδέεται στην sn-1 θέση του γλυκερινικού σκελετού, ως προς το είδος του λιπαρού οξέος που είναι εστεροποιημένο στην sn-2 θέση και τέλος ως προς το είδος της βάσης στην sn-3 θέση.

Στην sn-1 θέση έχουν βρεθεί ανθρακικές αλυσίδες από 14 έως 22 άτομα άνθρακα με έναν ή δύο διπλούς δεσμούς ενώ έχουν βρεθεί ανάλογα του PAF με υδροξυλιωμένες ανθρακικές αλυσίδες. Ο άκυλο-PAF, στον οποίο η ανθρακική αλυσίδα συνδέεται στην sn-1 θέση με εστερικό δεσμό, είναι ιδιαίτερα διαδεδομένος στη φύση και αποτελεί το κυριότερο μοριακό είδος του PAF στα μαστοκύτταρα, βασεόφιλα και ενδοθηλιακά κύτταρα. Στην sn-2 θέση έχουν βρεθεί εστεροποιημένες τόσο προπιονύλο- όσο και βουτυρύλο- ομάδες ενώ τα τελευταία χρόνια μελετώνται, ιδιαίτερα εκτεταμένα, ανάλογα της φωσφατιδυλοχολίνης (PC) όπου στην sn-2 θέση βρίσκονται εστεροποιημένες μικρές άκυλο- ομάδες που είναι συνήθως μονοκαρβοξυλικά, δικαρβοξυλικά και υδροξυκαρβοξυλικά οξέα. Οι ενώσεις αυτές έχουν δράση ανάλογη του PAF

και σχηματίζονται με οξείδωση της PC, που έχει πολυακόρεστα λιπαρά οξέα στην sn-2 θέση, σε καταστάσεις όπου σχηματίζεται ένα ισχυρά οξειδωτικό περιβάλλον όπως στις διάφορες ισχαιμίες και στις χρόνιες φλεγμονές. Τέλος, έχουν βρεθεί ανάλογα του PAF όπου στην sn-3 θέση αντί για χολίνη υπάρχει αιθανολαμίνη. Σε αυτά τα ανάλογα, η λιπαρή αλυσίδα συνδέεται στην sn-1 θέση κυρίως με βινυλαιθερικό δεσμό.

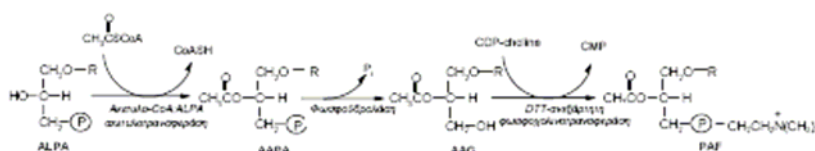
Μελέτες που έχουν γίνει με συνθετικά ανάλογα του PAF έχουν δείξει πως η δομή των μοριακών ειδών καθορίζει και την βιολογική τους δραστηριότητα. Το σημαντικότερο δομικό χαρακτηριστικό για την ύπαρξη βιολογικής δραστηριότητας είναι η παρουσία ακετυλομάδας στην sn-2 θέση του γλυκερινικού σκελετού. Απομάκρυνση της ακετυλομάδας οδηγεί στο λυσο-PAF, ο οποίος είναι ανενεργός. Αντικατάσταση της ακετυλομάδας με λιπαρά οξέα μεγαλύτερης ανθρακικής αλυσίδας οδηγεί σε μόρια με μικρότερη βιολογική δραστηριότητα. Επίσης, ο χημικός δεσμός στην sn-1 θέση του γλυκερινικού σκελετού καθορίζει σε σημαντικό βαθμό την βιολογική δραστηριότητα του PAF. Η δραστηριότητα ακολουθεί γενικά την σειρά αλκυλο-PAF>αλκενυλο-PAF>ακυλο-PAF. Όσον αφορά το είδος της ανθρακικής αλυσίδας στην sn-1 θέση, η μέγιστη δραστηριότητα εμφανίζεται για κορεσμένα ή μονοακόρεστα λιπαρά οξέα με 16 ή 18 άτομα άνθρακα. Η σειρά δραστηριότητα όσον αφορά την βάση στην sn-3 θέση είναι η εξής : χολίνη>διμεθυλοαιθανολαμίνη>μονομεθυλοαιθανολαμίνη> αιθανολαμίνη. Τέλος, ο PAF εμφανίζει στερεοεξειδίκευση αφού η δραστική εναντιομερής μορφή του στην sn-2 θέση είναι η φυσικά απαντώμενη R μορφή. Η ύπαρξη όλων αυτών των μοριακών ειδών και αναλόγων του PAF οφείλεται κυρίως στην σχετικά ευρεία εξειδίκευση των ενζύμων βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης του. Το κάθε είδος κυττάρου δίνει ένα διαφορετικό μίγμα μοριακών ειδών PAF, το οποίο εξαρτάται από την σύσταση των φωσφολιποειδών στις μεμβράνες του κυττάρου, την κατανομή του αραχιδονικού οξέος στις διάφορες τάξεις των φωσφολιποειδών καθώς και από την σχετική ταχύτητα βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης αυτών των ενώσεων. Τα τελευταία χρόνια έχει επανεκτιμηθεί η σημασία των αναλόγων του PAF αφού σχηματίζονται σε πολύ μεγαλύτερα ποσά απ'ότι είχε αρχικά βρεθεί, έχουν ανακαλυφθεί καινούριες βιολογικές δράσεις για αυτά και φαίνεται ότι δρουν ως ενδογενείς ρυθμιστές της δραστηριότητας του PAF.

1.3.3. Μεταβολισμός του PAF – Ένζυμα μεταβολισμού PAF. [157, 158]

1.3.3.1. Μεταβολικές πορείες βιοσύνθεσης PAF

i. *De novo* (εξ' υπαρχής) πορεία βιοσύνθεσης του PAF

Το πρώτο στάδιο της *de novo* πορείας είναι η μεταφορά μίας ακετυλομάδας από το ακετυλο-CoA στο αλκυλο-λυσσο φωσφατιδικό οξύ (ALPA) προς σχηματισμό του 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn γλυκερυλο-3-φωσφορικού οξέος (AAPA). Η αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο ακετυλο-CoA:ALPA ακετυλοτρανσφεράση (*de novo AT*). Στην συνέχεια η φωσφορική ομάδα του AAPA αντικαθίσταται από φωσφορυλοχολίνη με την διαδοχική δράση μίας φωσφοϋδρολάσης, που υδρολύει την φωσφορική ομάδα και μίας DTT ανεξάρτητης φωσφοχολινوترανσφεράσης (CPT) που μεταφέρει την ομάδα της φωσφορυλοχολίνης, ενεργοποιημένης υπό την μορφή κιτυδιλοδιφωσφορικής χολίνης (CDP-χολίνης), στην sn-3 θέση του γλυκερινικού σκελετού (Σχήμα 2).



Σχήμα 2. *De novo* πορεία βιοσύνθεσης του PAF.

Όλα τα ένζυμα της *de novo* πορείας είναι μεμβρανικά και διαφέρουν στα βιοχημικά

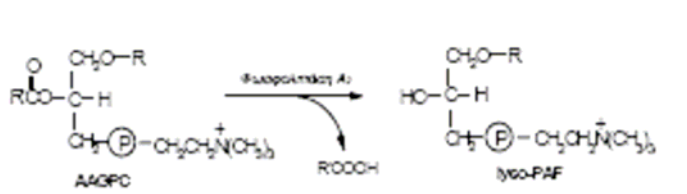
χαρακτηριστικά τους από τα αντίστοιχα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για την *de novo* σύνθεση των άλλων μεμβρανικών γλυκεριναιθερικών φωσφολιποειδών.

Η *de novo* πορεία βιοσύνθεσης του PAF δεν ενεργοποιείται από φλεγμονώδη ερεθίσματα και είναι υπεύθυνη για την συνεχή, σταθερή παραγωγή PAF από τα κύτταρα με σκοπό τη διατήρηση των φυσιολογικών επιπέδων του στο αίμα και στους ιστούς. [159]

ii. 1.3.3.1.2. Βιοσύνθεση του PAF μέσω της πορείας ανασχηματισμού (*remodeling* πορεία)

Η βιοσύνθεση του PAF μέσω της πορείας ανασχηματισμού (*remodeling* πορεία) περιλαμβάνει την μετατροπή γλυκεριναιθερικών φωσφολιποειδών, που προϋπάρχουν στις μεμβράνες των κυττάρων, σε PAF. Ενεργοποιείται σε απόκριση φλεγμονωδών και αλλεργικών ερεθισμάτων με σκοπό την άμεση παραγωγή του από τα κύτταρα.

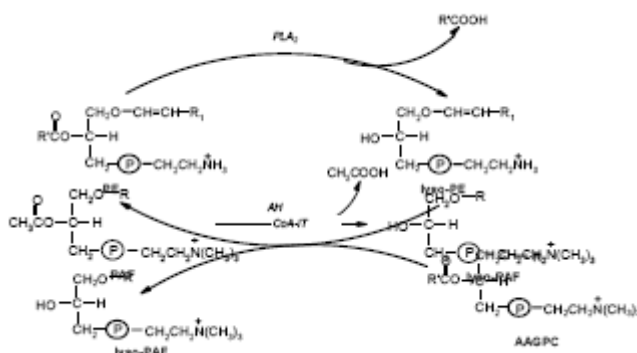
Πρόδρομη ένωση του PAF στην *remodeling* πορεία είναι το μεμβρανικό γλυκεριναιθερικό φωσφολιποειδές - αλκυλοακυλογλυκερυλοφωσφοχολίνη (AAGPC). Στην sn-2 θέση του φωσφολιποειδούς βρίσκονται εστεροποιημένα κυρίως αραχιδονικό οξύ και λιγότερο άλλα μονοακόρεστα και πολυακόρεστα οξέα. Το πρώτο στάδιο της *remodeling* πορείας περιλαμβάνει την υδρόλυση της AAGPC προς λυσο-PAF. Αρχικά, η αντίδραση αυτή αποδίδονταν αποκλειστικά στην δράση μιας υποθετικής (PLA₂), με εξειδίκευση για αιθερικά υποστρώματα. Ωστόσο σήμερα έχει βρεθεί ότι η αντίδραση μπορεί να γίνει με δύο διαφορετικές πορείες ανάλογα το είδος του κυττάρου. Η πρώτη πορεία περιλαμβάνει τη δράση μιας PLA₂, η οποία έχει εξειδίκευση για πολυακόρεστες αλυσίδες στην sn-2 θέση του γλυκερινικού σκελετού της AAGPC αλλά δεν φαίνεται να δείχνει ιδιαίτερη εξειδίκευση για το είδος του δεσμού στην sn-1 θέση (Σχήμα 3). Μέχρι σήμερα δεν έχει αποδειχτεί η ύπαρξη ειδικής PLA₂, η οποία υδρολύει εξειδικευμένα την AAGPC σε λυσο-PAF. Με αυτόν τον τρόπο σχηματίζεται ο λυσο-PAF σε περιτοναϊκά κύτταρα ποντικού [160], σε μακροφάγα αρουραίου [161], σε ουδετερόφιλα [162] και ηωσινόφιλα ανθρώπου [163] κ.α.



Σχήμα 3. Σχηματισμός λυσο-PAF από AAGPC με την δράση PLA₂.

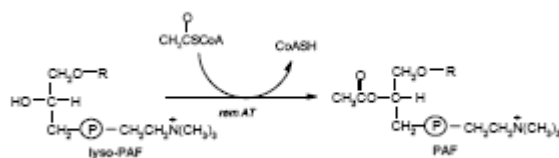
Στη δεύτερη πορεία σχηματισμού του λυσο-PAF, η οποία έχει αποδειχτεί τα τελευταία χρόνια, μια CoA-ανεξάρτητη τρανσακυλάση (CoA-IT) μεταφέρει την ακυλο- ομάδα (κυρίως

αραχιδονόυλο-) από την sn-2 θέση της AAGPC σε λυσο- πλασμαλογόνα αιθανολαμίνης (λυσο-PE). Η λυσο-PE σχηματίζεται από PE με την δράση μιας PLA₂ ειδικής για τα πλασμαλογόνα αιθανολαμίνης και για αραχιδονόυλο- ομάδες στην sn-2 θέση των πλασμαλογόνων [164] (Σχήμα 4). Χαρακτηριστικό της *remodeling* πορείας είναι ότι και στις δύο πορείες σχηματισμού του λυσο-PAF ελευθερώνεται παράλληλα αραχιδονικό οξύ, το οποίο στη συνέχεια μπορεί να μετατραπεί σε βιολογικά δραστικά εικοσανοειδή όπως προσταγλανδίνες, λευκοτριένια, κ.α.



Σχήμα 4. Σχηματισμός λυσο-PAF με τη δράση τρσανσακυλασών.

Το δεύτερο στάδιο της *remodeling* πορείας είναι η ακετυλίωση του λυσο-PAF προς PAF από το ένζυμο ακετυλο-CoA:λυσο-PAF ακετυλοτρανσφεράση (*rem AT*). Η *rem AT* δείχνει εξειδίκευση για αιθερικό δεσμό στην sn-1 θέση και μεταφέρει μικρού Mr άκυλο- ομάδες (2 ή 3 ατόμων C) στην sn-2 θέση (Σχήμα 5).



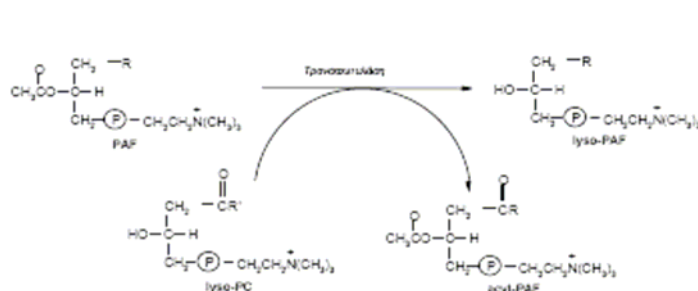
Σχήμα 5. Ακετυλίωση λυσο-PAF προς PAF.

1.3.3.2. Μεταβολικές πορείες αποικοδόμησης PAF

Το πρώτο και σημαντικότερο στάδιο αποικοδόμησης του PAF είναι η υδρόλυση της

ακετυλομάδας από την sn-2 θέση του γλυκερινικού σκελετού, η οποία οδηγεί στον σχηματισμό του βιολογικά ανενεργού λυσο-PAF. Η αντίδραση υδρόλυσης της ακετυλομάδας μπορεί να επιτευχθεί με τους εξής τρόπους :

α) Με την δράση της PAF ακετυλοϋδρολάση (PAF-AH), μίας Ca^{2+} -ανεξάρτητης PLA2 που δείχνει εξειδίκευση για μικρού Mr (2 ή 3 ατόμων C) και οξειδωμένα λιπαρά οξέα στην sn-2 θέση του γλυκερινικού σκελετού (Σχήμα 6). Έχουν βρεθεί τόσο εξωκυτταρικές όσο και ενδοκυτταρικές ισομορφές του ενζύμου που παίζουν σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της βιολογικής δραστηριότητας του PAF. [165]



Σχήμα 6. Υδρόλυση του PAF από την AH.

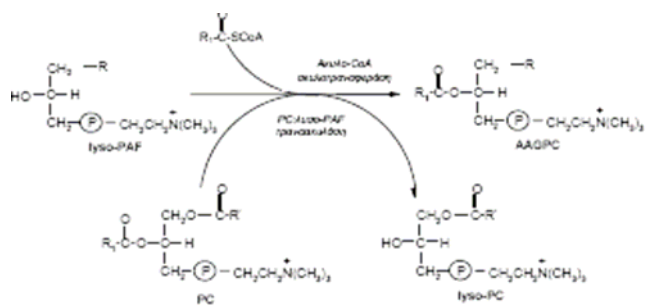
β) Με τη δράση τρανσακετυλασών που μεταφέρουν την ακετυλομάδα σε άλλα λιποειδικά υποστρώματα με ελεύθερο υδροξύλιο όπως λυσο-πλασμαλογόνα, λυσο φωσφατιδυλοχολίνη, λιπαρές αλκοόλες, σφιγγοσίνη κ.α. Μέσω αυτής της αντίδρασης σχηματίζονται ακετυλιωμένα μόρια στα οποία έχουν αποδοθεί σημαντικές βιολογικές δράσεις τα τελευταία χρόνια. Ενζυμική δραστηριότητα τρανσακετυλάσης έχει βρεθεί σε HL-60 κύτταρα [166], σε ενδοθηλιακά κύτταρα [167] καθώς και σε κλάσματα LDL ανθρώπινου πλάσματος. [168]

γ) Με τη δράση της λεκιθίνη:χοληστερόλη ακυλοτρανσφεράσης (LCAT), η οποία μπορεί να μεταφέρει την ακετυλομάδα σε λυσο-PC στο πλάσμα ανθρώπου. Βιοχημικές μελέτες έχουν δείξει ότι η τρανσακετυλάση και η LCAT αποτελούν διαφορετικά ένζυμα. [169]

Ενδοκυτταρικά, ο λυσο-PAF είναι ιδιαίτερα κυτταροτοξικός λόγω των απορρυπαντικών ιδιοτήτων του γι'αυτό και είτε εκκρίνεται στον εξωκυτταρικό χώρο, είτε μεταβολίζεται

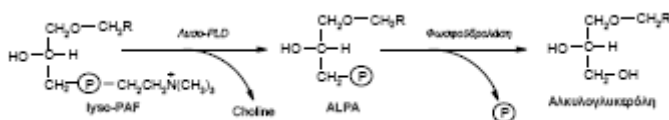
περαιτέρω στο εσωτερικό του κυττάρου. Η μεταβολική τύχη του λυσο-PAF εξαρτάται από το είδος του κυττάρου και μπορεί να είναι η εξής :

α) Μπορεί να επανακυλιωθεί προς AAGPC, το οποίο στην συνέχεια ενσωματώνεται στις μεμβράνες των κυττάρων. Η ακυλίωση μπορεί να γίνει είτε από ακυλο-CoA ακυλοτρανσφεράσες, είτε από τρανσακυλάσες που μεταφέρουν ακόρεστα λιπαρά οξέα, κυρίως αραχιδονικό οξύ, από την PC στον λυσο-PAF (Σχήμα 7). Η μετατροπή του PAF σε AAGPC είναι ο συνηθέστερος τρόπος αποικοδόμησης του στα περισσότερα κύτταρα, κυρίως στα λευκοκύτταρα και στα αιμοπετάλια.

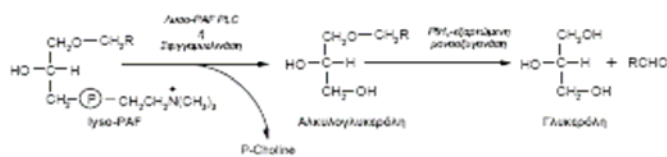


Σχήμα 7. Ακυλίωση του λυσο-PAF προς AAGPC.

β) Μπορεί να μεταβολιστεί από λυσο-φωσφολιπάση C σε αλκυλογλυκερόλη (Σχήμα 8), η οποία είναι δυνατόν στη συνέχεια να διασπαστεί περαιτέρω σε γλυκερόλη και λιπαρή αλδεΐδη από την τετραϋδροπτερίδινη-εξαρτώμενη μονοοξυγονάση (Σχήμα 9). Η πορεία αυτή έχει αποδειχτεί σε ηπατοκύτταρα αρουραίου. [170]



Σχήμα 8. Υδρόλυση λυσο-PAF προς αλκυλογλυκερόλη.

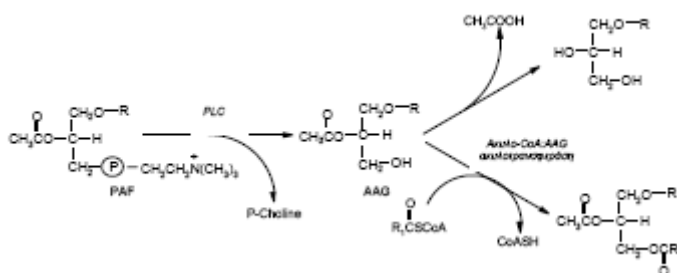


Σχήμα 9. Υδρόλυση λυσο-PAF από PLD.

γ) Μπορεί να υδρολυθεί από μία λυσο-PLD σε ALPA, το οποίο στη συνέχεια μπορεί να μετατραπεί σε AAG με την δράση μίας φωσφοϋδρολάσης (Σχήμα 10). Η πορεία αυτή αποικοδόμησης του λυσο-PAF έχει βρεθεί σε πλάσμα κουνελιού [171].

δ) Ο αιθερικός δεσμός του λυσο-PAF μπορεί να διασπαστεί από την τετραϋδροπερίδιν-εξαρτώμενη μονοοξυγονάση προς λιπαρές αλδεϋδες. Η μονοοξυγονάση διασπά τον αιθερικό δεσμό στα γλυκεριναιθερικά λιποειδή και για να δράσει απαιτεί τουλάχιστον ένα ελεύθερο υδροξύλιο.

Εκτός από την PAF-AH και την τρανσακετυλάση, στο μόριο του PAF μπορεί να δράσει μία PLC η δράση της οποίας οδηγεί στον σχηματισμό AAG (Σχήμα 10).



Σχήμα 10. Υδρόλυση PAF από PLC.

1.3.3.3. Μηχανισμοί έκκρισης PAF από τα κύτταρα

Ο νεοσυντιθέμενος PAF μπορεί, είτε να μεταβολιστεί άμεσα, είτε να δράσει στο εσωτερικό του κυττάρου και ύστερα να μεταβολιστεί, είτε να εκκριθεί στον εξωκυτταρικό χώρο και να δράσει σε γειτονικά κύτταρα. Το ποσό του PAF που εκκρίνεται από τα κύτταρα εξαρτάται, τόσο από το είδος του κυττάρου, όσο και από τις συνθήκες ενεργοποίησης του. Τα ανθρώπινα λευκοκύτταρα μπορούν να εκκρίνουν 0 έως 60% του νεοσυντιθέμενου PAF ανάλογα το εξωτερικό ερέθισμα και τις συνθήκες ενεργοποίησης. [172] Αντίθετα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν από λίγο έως καθόλου PAF ανεξαρτήτως ερεθίσματος. [173]

Στα ενδοθηλιακά κύτταρα ο PAF δεν εκκρίνεται αλλά μετά την σύνθεση του μπορεί να βρεθεί στην εξωτερική πλευρά της πλασματικής μεμβράνης και από εκεί να δράσει ως διακυτταρικός μεσολαβητής. Με αυτόν τον τρόπο ο παραγόμενος από τα ενδοθηλιακά κύτταρα PAF μπορεί να ενεργοποιήσει τα ουδετερόφιλα, ενώ με παρόμοιο μηχανισμό ο PAF των ουδετερόφιλων μπορεί να ενεργοποιήσει την προσκόλληση αιμοπεταλίων σε αυτά δρώντας από την επιφάνειά τους. [174]

1.3.3.4. Τοπολογία μεταβολισμού PAF

Οι ενδοκυτταρικές περιοχές στις οποίες διεξάγονται οι μεταβολικές πορείες βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης του PAF δεν έχουν πλήρως εντοπιστεί. Οι περισσότερες μελέτες έχουν γίνει με κλασσικά πειράματα υποκυτταρικής κατανομής των ενζύμων και των ραδιενεργών υποστρωμάτων τους και έχουν δείξει ότι τα ένζυμα βιοσύνθεσης του PAF εντοπίζονται κυρίως σε ενδοκυτταρικά μεμβρανικά σωματίδια όπως στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER), στις πυρηνικές μεμβράνες και σε άλλα μη διευκρινισμένα μεμβρανικά κλάσματα. [157, 158] Η μεταφορά του PAF και των προϊόντων αποικοδόμησης του μεταξύ των μεμβρανών γίνεται, είτε με την βοήθεια ειδικών για τον PAF μεταφορικών πρωτεϊνών, είτε με την σύντηξη λιποειδικών κυστιδίων.

1.3.4. Υποδοχέας PAF. [175]

Ο PAF ασκεί τις δράσεις του μέσω της σύνδεσης του σε ειδικό υποδοχέα στη μεμβράνη των κυττάρων. Πρόσφατα, βρέθηκε ότι ο υποδοχέας του PAF εκφράζεται, όχι μόνο στην επιφάνεια, αλλά και σε ενδοσώματα ενδοθηλιακών κυττάρων γεγονός που υποδηλώνει τον πιθανό ρόλο του PAF ως ενδοκυτταρικού μεσολαβητή.

Οι πρωτεΐνες του υποδοχέα, που κωδικοποιούνται στον άνθρωπο και το ινδικό χοιρίδιο, είναι απλές πολυπεπτιδικές αλυσίδες 342 αμινοξέων και έχουν Mr 39 kDa. Μία ομάδα εννέα καταλοίπων σερίνης και θρεονίνης, κοντά στο καρβοξυτελικό κυτοπλασματικό άκρο, είναι πιθανές περιοχές φωσφορυλίωσης από κινάσες υποδοχέων G πρωτεϊνών.

Το mRNA εκφράζεται στα περισσότερα κύτταρα και ιστούς, η κατανομή της έκφρασης όμως διαφέρει από οργανισμό σε οργανισμό γεγονός που δείχνει ότι υπάρχουν ειδικοί μηχανισμοί για κάθε ιστό άλλα και για κάθε οργανισμό που ρυθμίζουν την έκφραση του υποδοχέα του PAF.

1.3.5. Μηχανισμοί μεταγωγής σήματος PAF. [176]

Η σύνδεση του PAF στον υποδοχέα του προκαλεί την ενεργοποίηση πορειών στο εσωτερικό του κυττάρου που οδηγούν στον σχηματισμό ή στην αύξηση της συγκέντρωσης ενδοκυτταρικών μηνυματοφόρων μορίων όπως Ca^{2+} , cAMP, 1,4,5-τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP3), διακυλογλυκερόλη (DAG), αραχιδονικό οξύ, τα οποία με την σειρά τους προκαλούν την τελική απόκριση του κυττάρου. Στην ενεργοποίηση αυτών των μηχανισμών μεσολαβούν G πρωτεΐνες, οι οποίες είναι συζευγμένες με τον υποδοχέα του PAF. Το είδος του μηχανισμού μεταγωγής σήματος εξαρτάται από το είδος του κυττάρου και βρίσκεται υπό αυστηρή ρύθμιση ενώ πολλές φορές η σύνδεση του PAF στον υποδοχέα του ενεργοποιεί παραπάνω από ένα μηχανισμούς που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους.

1.3.6. Συμμετοχή του PAF στην παθοφυσιολογία των ασθενειών

Ο PAF συμμετέχει σε αρκετές παθοφυσιολογικές καταστάσεις ασκώντας ποικίλες δράσεις στα κύτταρα και στους ιστούς. Αυτή η ποικιλότητα προέρχεται από το γεγονός ότι ένας μεγάλος αριθμός ερεθισμάτων, κυρίως θρομβωτικά και φλεγμονώδη, αυξάνουν τον PAF ενεργοποιώντας

τα βιοσυνθετικά του μονοπάτια. Ο PAF είναι ένας φυσιολογικός διαμεσολαβητής της φλεγμονής, της αναπαραγωγής, της μνήμης, του αγγειακού τόνου, της απόπτωσης και της αγγειογένεσης. Ένας από τους πρωταρχικούς ρόλους του PAF είναι η επαγωγή ενδοκυτταρικών αντιδράσεων. Συγκεκριμένα, συντίθεται από μια πληθώρα κυττάρων, προσδένεται στους μεμβρανικούς υποδοχείς άλλων κυττάρων, τα ενεργοποιεί και μεταβάλλει το φαινότυπό τους. Εκτός από τη διακυτταρική του δράση, του έχει αποδοθεί επίσης αυτοκρινής και ενδοκρινής δράση.

Όσον αφορά την ενδοκυτταρική του δραστηριότητα, αυτή ανιχνεύεται στα αγγειακά και φλεγμονώδη συστήματα, συμπεριλαμβάνοντας τη μεταφορά μηνυμάτων μεταξύ των κυττάρων του κεντρικού νευρικού συστήματος, του γαστρεντερικού, του ενδοκρινικού συστήματος και άλλων οργάνων.

Όλες οι παραπάνω ρυθμιστικές διεργασίες έγκειται στην εξειδικευμένη λειτουργικότητα του PAF ως ένα διακυτταρικό μηνυματοφόρο μόριο, ενώ ο αριθμός τους αποτελεί φυσική απόρροια της ανάγκης για ακριβή έλεγχο των βιολογικών του δραστηριοτήτων. [155]

1.3.6.1. Φλεγμονή

Η φλεγμονή αποτελεί μια πολύπλοκη, ολοκληρωμένη, βιολογική απάντηση των αγγειωμένων ιστών στο τραύμα. Ο PAF είναι ένας σύνδεσμος των διαφόρων διαμεσολαβητών που εμπλέκονται σε φυσιολογικές καθώς επίσης και σε παθολογικές φλεγμονώδεις διαδικασίες. [177]

Η έκκριση του PAF από μερικά φλεγμονώδη κύτταρα όπως μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα, είναι ένας μηχανισμός για την ενδοκυτταρική μεταγωγή σήματος και την ενίσχυση της φλεγμονώδους απάντησης. [174]

Ο PAF προκαλεί συσώρευση των αιμοπεταλίων και απελευθέρωση ισταμίνης. Ο PAF επίσης ασκεί παρόμοιες επιδράσεις στα ουδετερόφιλα και σε άλλα φλεγμονώδη κύτταρα διαμέσου του υποδοχέα του, παρόλο που οι ειδικές απαντήσεις ποικίλουν μεταξύ των διαφόρων τύπων κυττάρων. [178]

Τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα φέρνουν τον PAF στην επιφάνεια, στην οποία παραμένουν συνδεδεμένα οδηγώντας σε προσκόλληση των ουδετερόφιλων σε αυτά. [174] Η σύνθεση του PAF από τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι γρήγορη και προκύπτει σύμφωνα με την

έκθεση σε ειδικούς αγωνιστές όπως θρομβίνη, ισταμίνη, λευκοτριένιο D4, ATP. Η αυξημένη προσκόλληση ουδετερόφυλλων και μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο έρχεται ως απάντηση στην απομάκρυνση του μορίου προσκόλλησης των λευκοκυττάρων, P-σελεκτίνη, από ειδικά ενδοκυτταρικά κομμάτια, τα σωμάτια Weibel-Palade, στην ενδοθηλιακή επιφάνεια. [179]

1.3.6.2. Αθηροσκλήρωση

Η Αθηροσκλήρωση είναι μια χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση που μπορεί να οδηγήσει σε ένα οξύ κλινικό επεισόδιο μέσω της ρήξη της πλάκας και της θρόμβωσης. Κοινοί παράγοντες κινδύνου όπως ο ΣΔ, το κάπνισμα, οι οξειδωμένες LDL (Ox-LDL) και η συστηματική φλεγμονή [180] έχουν ως κοινό χαρακτηριστικό τα αυξημένα επίπεδα του PAF και των λιπιδίων που σχετίζονται με τον PAF.

Ο PAF συμμετέχει σε κρίσιμα σημεία της αθηρογένεσης, συμπεριλαμβανομένων της θρόμβωσης, της φλεγμονής και της οξείδωσης. [181] Ο PAF προωθεί την οξείδωση [182] διεγείροντας τα μονοκύτταρα/μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα παράγοντας ανιόντα του υπεροξειδίου του οξυγόνου και του υδρογόνου που δημιουργούν την οξείδωση της LDL χοληστερόλης.

Ο PAF συντίθεται από φλεγμονώδη ενδοθηλιακά κύτταρα και εκτίθεται στην επιφάνεια των κυττάρων προάγοντας την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα. [155] Ο PAF επίσης αυξάνει την ενδοθηλιακή διαπερατότητα [183] επιτρέποντας σε μακρομόρια όπως οι LDL και οι Ox-LDL και σε κύτταρα να μεταναστεύουν στον υποενδοθηλιακό χώρο. Σύνθεση του PAF πραγματοποιείται ακόμη από προσκολλημένα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια στο ενδοθήλιο, όπου παραμένει συνδεδεμένος στη μεμβράνη μεσολαβώντας στην προσκόλληση των ουδετερόφυλλων πάνω στο ενδοθήλιο. [184] Επιπλέον, οι Ox-LDL επηρεάζουν την προσκόλληση των μονοκυττάρων πάνω στο ενδοθήλιο μερικώς διαμέσου του υποδοχέα του PAF.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα προσκολλημένα λευκοκύτταρα ενεργοποιούνται από την συνεργιστική δράση του PAF και της P-σελεκτίνης [155] και ακολούθως διεισδύουν στον υποενδοθηλιακό χώρο, όπου αποκτούν το φαινότυπο των μακροφάγων. Μέσα στον υποενδοθηλιακό χώρο, τα μονοκύτταρα-μακροφάγα παράγουν πολλαπλάσιες κυτοκίνες, καθώς επίσης μετά τη συσσώρευση των λιπιδίων μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. [185]

Επιπλέον, ο PAF που παράγεται προσωρινά από τα μακροφάγα και τα αφρώδη κύτταρα, τα οποία ενεργοποιούνται με φαγοκυττάρωση, ενισχύοντας έτσι τα φλεγμονώδη σήματα στον υποενδοθηλιακό χώρο, ασκώντας σ' αυτή την περιοχή προφλεγμονώδεις, προαθηρογόνες και προθρομβωτικές επιδράσεις. [186] Συμπερασματικά, ο PAF προωθεί τον πολλαπλασιασμό των λείων αγγειακών κυττάρων, διεγείροντας τη μεταγραφή ενός επιδερμικού παράγοντα ανάπτυξης συνδεδεμένο με ηπαρίνη στα μονοκύτταρα και τη σύνθεση της IL-6 στους λείους μύες των αγγείων. [187]

Ο PAF επίσης επηρεάζει την απελευθέρωση των πρωτεασών, όπως η ελαστάση, από τα λευκοκύτταρα που ευνοούν τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας, μιας και αυτά τα ένζυμα αποικοδομούν συστατικά της εξωκυτταρικής μήτρας του εσωτερικού καλύματος.

Κλινικές μελέτες επιβεβαιώνουν την ύπαρξη υψηλών επιπέδων PAF σε στεφανιαίες αρτηρίες ασθενών με σοβαρής μορφής αθηροσκλήρωση και σε δείγματα ασθενών μετά από καθαρισμό των αρτηριών με στεφανιαία πλάκα. [188]

Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ζώα παρατηρήθηκε ο προστατευτικός ρόλος των ανταγωνιστών του PAF κατά της αθηροσκλήρωσης. [189] Επιπρόσθετα, η PAF AH δρα προληπτικά κατά της παθολογικής φλεγμονής σ' έναν αριθμό ζωικών μοντέλων. [190]

Αντίθετα, στους ανθρώπους η ανεπάρκεια της PAF AH έχει ως αποτέλεσμα, τα μόρια της LDL να γίνονται πιο επιρρεπή στην οξείδωση. Επιπρόσθετα, αυτά τα μόρια της LDL επιδρούν στη σύνθεση των μορίων προσκόλλησης πιο αποτελεσματικά απ' ότι οι γηγενείς LDL. [191] Είναι ενδιαφέρον επίσης ότι τα κάπνισμα προκαλεί οξείδωση της LDL, ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και αυξημένα επίπεδα PAF.

Η εμφανής δραστηριότητα των μορίων του PAF είναι μερικώς εξαρτώμενη από τις διατροφικές συνήθειες, καθώς το περιεχόμενο και η σύσταση των μεμβρανικών κυττάρων και οι λιποπρωτεΐνες του πλάσματος καθορίζονται σε μεγάλο βαθμό από τη διαίτα. Η αντι-PAF δραστηριότητα έχει ανιχνευτεί σε λιπιδικά αποστάγματα από παραδοσιακά τρόφιμα της Μεσογειακής Δίαιτας, όπως ελαιόλαδο, κρασί, ψάρι, μέλι, γάλα και γιαούρτι. [180] Διατροφικές παρεμβάσεις σε ζώα έχουν δείξει ότι η κατανάλωση ελαιόλαδου πλούσιο σε ανταγωνιστές του PAF αναστέλλει την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης. [192] Σε μη ινσουλινοεξαρτώμενους διαβητικούς ασθενείς, η κατανάλωση της παραδοσιακής Μεσογειακής δίαιτας [193] ή Μεσογειακού τύπου γευμάτων από ταχυφαγία [194], πλούσια σε ανταγωνιστές του PAF βελτίωσε τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων εξαιτίας του PAF.

1.4 Φωσφολιπάση A₂ συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες (LpPLA₂)

Το ένζυμο Lp-PLA₂, ανήκει στην υπεροικογένεια των ενζύμων που ονομάζονται φωσφολιπάσες A₂. Τα ένζυμα αυτά διαφέρουν στην δομή αλλά εμπλέκονται όμως όλα στην υδρόλυση των λιπαρών οξέων από τη sn-2 θέση των φωσφολιπιδίων. [195]

Η Lp-PLA₂ εκκρίνεται από διάφορα φλεγμονώδη κύτταρα που έχουν ουσιαστικό ρόλο στην αθηροσκληρωτική διαδικασία (μονοκύτταρα, μακροφάγα, Τ λεμφοκύτταρα και μαστοκύτταρα). [196]

Η Lp-PLA₂ διαφέρει από τις άλλες φωσφολιπάσες A₂, διότι η δράση της δεν εξαρτάται από την παρουσία ασβεστίου, δρα δε κυρίως επί υδατοδιαλυτών πολικών φωσφολιπιδίων, ιδιαίτερα επί εκείνων που έχουν οξειδωμένα λιπαρά οξέα στη θέση sn-2. [197] Μέχρι τώρα έχουν περιγραφεί δύο κύριοι τύποι του ενζύμου: η εκκρινόμενη (πλάσμα) και η ενδοκυττάρια (κυτταροπλασματική). [198] Η Lp-PLA₂ του πλάσματος αναφέρεται και σαν GVIIA PLA₂. Στο πλάσμα κυκλοφορεί συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες, γεγονός στο οποίο [199] οφείλεται και η ονομασία της ως «συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A₂» (Lp-PLA₂). Στο ανθρώπινο πλάσμα συνδέεται κυρίως με τις χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL), αλλά και με τις υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (HDL), τις πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL), τις ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (IDL), καθώς και με την λιποπρωτεΐνη (a). [190]

Σε αρκετές μελέτες *in vitro*, σε μοντέλα ζώων *in vivo* αλλά και σε κλινικές μελέτες έχει πιστοποιηθεί ότι η Lp-PLA₂ εμπλέκεται στην διαδικασία της αθηροσκλήρωσης και της καρδιαγγειακής νόσου. Όμως ο ακριβής παθοφυσιολογικός ρόλος του ενζύμου στο πλάσμα και στο αρτηριακό τοίχωμα δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί. Αρκετές μελέτες δείχνουν ότι αυτός ο ρόλος μπορεί να διαφοροποιείται ανάλογα με τον τύπο της λιποπρωτεΐνης, στην οποία είναι συνδεδεμένη η Lp-PLA₂ στο πλάσμα.

Κυτταρική πηγή της Lp-PLA₂ του πλάσματος είναι κυρίως τα λευκοκύτταρα του αίματος (μακροφάγα) αλλά και τα ηπατοκύτταρα. Η δραστηριότητα της πλασματικής Lp-PLA₂ μπορεί να διαφέρει μέχρι και 5 φορές σε ένα πληθυσμό υγιών ανθρώπων. Το 60% αυτών των διαφορών οφείλεται σε γενετικούς παράγοντες.

Μελέτες έχουν δείξει ότι τα επίπεδα της Lp-PLA₂ μπορεί να είναι αυξημένα ή μειωμένα σε διάφορες ασθένειες. Αυξημένη δραστηριότητα παρατηρείται κυρίως σε ασθένειες που έχουν

φλεγμονώδη αίτια όπως για παράδειγμα υπέρταση, αγγειακές παθήσεις, ισχαιμίες, εγκεφαλικά επεισόδια, διαβήτης, ρευματοειδής αρθρίτιδα κ.α.. Μειωμένα επίπεδα Lp-PLA₂ παρατηρούνται σε ασθένειες όπως το άσθμα, συστηματικός ερυθματώδης λύκος, σπηλαιμία, νόσος Crohns κ.α.

1.4.1. Χαρακτηριστικά της δομής και της καταλυτικής δράσης της Lp-PLA₂

Η Lp-PLA₂ έχει κλωνοποιηθεί τόσο από τον άνθρωπο, όσο και από άλλους οργανισμούς. Το cDNA της Lp-PLA₂ κωδικοποιεί ένα πολυπεπτίδιο 45 KDa και 441 αμινοξέων. Για την δράση του ενζύμου απαιτείται, εκτός από την Ser273, ένα Asp296 και μία His351, τα οποία αποτελούν την χαρακτηριστική τριάδα των α/β υδρολασών. Η Lp-PLA₂ του πλάσματος μπορεί να υδρολύσει λιπαρά οξέα μέχρι και 9 ατόμων άνθρακα στην θέση sn-2 καθώς και οξειδωμένα φωσφολιποειδή.

Μετά την αποκοπή ενός υδρόφοβου σηματοδοτικού πεπτιδίου στη θέση Ala-17/Val-18, η Lp-PLA₂ του ανθρώπινου πλάσματος εκκρίνεται στην κυκλοφορία [200], είναι δε N-γλυκοζυλιωμένη σε δύο υπολείμματα ασπαραγίνης και περιέχει διάφορες αλυσίδες σακχάρων μεταξύ των οποίων σιαλικό οξύ. [201]

Η πρωτοταγής δομή της είναι μοναδική με εξαίρεση την αλληλουχία Gly-His-Ser- Phe-Gly στο καταλυτικό κέντρο του ενζύμου που είναι ίδια με αυτήν των εστερασών σερίνης και των λιπασών. Η Ser-273 της αλληλουχίας Gly-His-Ser- Phe-Gly μαζί με τα αμινοξέα Asp-296 and His-351 συγκροτούν την καταλυτική τριάδα του ενζύμου. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να αναστέλλεται η δράση της από αναστολείς της εστεράσης της σερίνης όπως Pefabloc και διυσοπροπυλοφθοριοφωσφορικά ιόντα. [202]

Υπάρχουν δύο α-έλικες στη δομή της που συμβάλλουν στη σύνδεση της με τις λιποπρωτεΐνες. Η μία (αμινοξικές θέσεις 114-126), βοηθάει στην σύνδεση με τις LDL. Η δεύτερη (αμινοξικές θέσεις 362-369) περιέχει υδρόφοβα αμινοξέα και προσφάτως έχειδειχθεί ότι επηρεάζει την σύνδεση με τις HDL. [203]

1.4.2. Ενδυμικές δράσεις της Lp-PLA₂

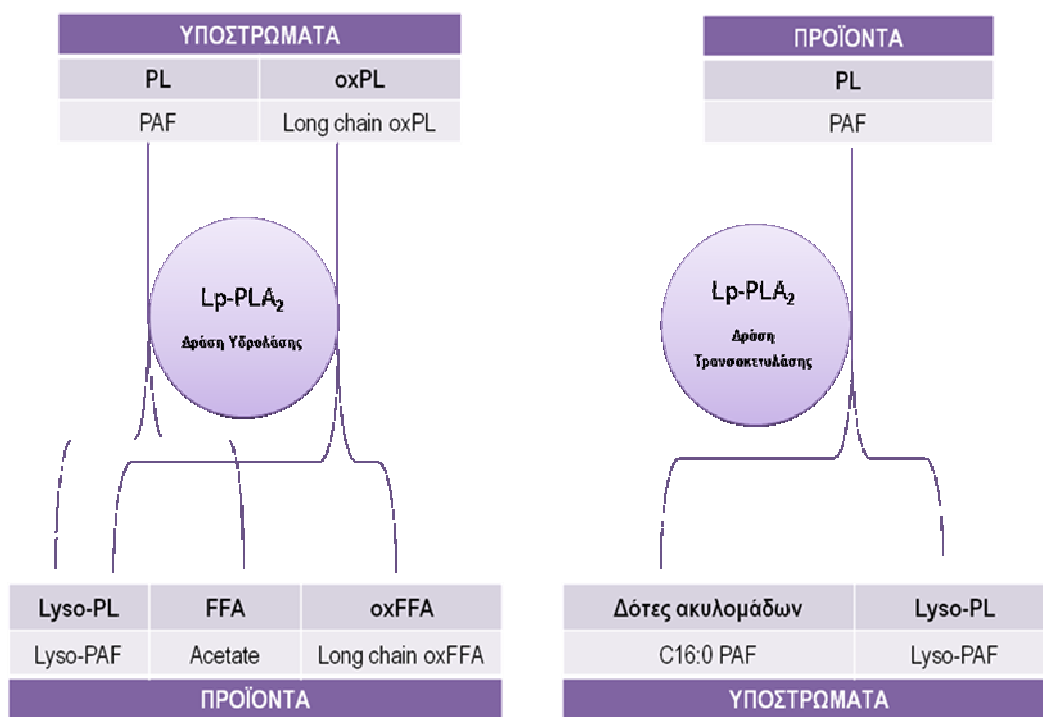
Το πρώτο υπόστρωμα της Lp-PLA₂ που περιγράφηκε ήταν ο PAF. Τα προϊόντα της υδρόλυσης του PAF από την Lp-PLA₂ είναι ο λυσο-PAF και το οξικό οξύ. Σημαντική ερευνητική πρόοδος σημειώθηκε με την ανακάλυψη ότι το ένζυμο μπορεί να υδρολύσει οξειδωμένα φωσφολιπίδια

(oxPL) που παράγονται με μη ενζυματική οξείδωση των φωσφατιδυλοχολινών, οι οποίες περιέχουν στη θέση sn-2 λιπαρές ακυλο-ομάδες, από ελεύθερες ρίζες. Τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια είναι υπόστρωμα για την Lp-PLA₂ παρά το γεγονός ότι περιέχουν ανθρακικές αλυσίδες με περισσότερα από 9 άτομα άνθρακα. [204]

Τα προϊόντα της υδρόλυσης των oxPL είναι οξειδωμένα ελεύθερα λιπαρά οξέα (oxFFA) και λυσοφωσφατιδυλοχολίνη (lyso-PC). Στις οξειδωμένες χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (oxLDL) έχουν βρεθεί πολλά είδη οξειδωμένων φωσφολιπιδίων, τα οποία παρουσιάζουν βιολογική δράση και ενέχουν ρόλους κλειδιά σε πολλά στάδια της αθηρογένεσης. [205] Η Lp-PLA₂ αποδείχθηκε επίσης ότι καταλύει την υδρόλυση φωσφολιπιδίων που περιέχουν F2-ισοπροστάνια εστεροποιημένα στην sn-2 θέση (F2-IP-PC) *in vitro* και *in vivo*. [206]

Εκτός της δράσης της Lp-PLA₂ σαν λιπάση και εστεράση, το ένζυμο εμφανίζει επίσης και δράση τρανσακετυλάσης. [169] Η δράση αυτή εντοπίζεται στις LDL, όπου η Lp-PLA₂ καταλύει την μεταφορά οξεικής ομάδας καθώς και βραχείας αλυσού λιπαρά οξέα από τον PAF και τα αιθερο/εστερο συνδεδεμένα ανάλογα του σε αιθερο/εστερο συνδεδεμένα λυσοφωσφολιπίδια. [168] Η δράση της Lp-PLA₂ σαν τρανσακετυλάση δεν έχει διεκρινισθεί πλήρως, πρόσφατα δε ανιχνεύθηκε στο αρτηριακό τοίχωμα, γεγονός που υποδηλώνει την πιθανή ρύθμιση από την Lp-PLA₂, της συγκέντρωσης του PAF και των λυσοφωσφολιπιδίων κατά την αθηρογένεση. [207] Τέλος, η Lp-PLA₂ δρά επί της συνδεδεμένης με τις LDL γκρελίνης και προκαλεί την απομάκρυνση του οκτανοϊκού οξέος. Η γκρελίνη, μία πεπτιδική ορμόνη παράγεται κυρίως από το στομάχι και διεγείρει το αίσθημα πρόσληψης τροφής και την έκκριση της αυξητικής ορμόνης. [208]

Αν και τα περισσότερα υποστρώματα της Lp-PLA₂ που περιγράφηκαν, παράγονται κατά το οξειδωτικό stress, η ίδια η Lp-PLA₂ είναι επιδεκτική σε οξειδωτική αδρανοποίηση. Η αδρανοποίηση της Lp-PLA₂ κατά την οξείδωση πιθανά διευκολύνει την συσσώρευση υποστρωμάτων του ενζύμου, τα οποία σχηματίζονται κατά το οξειδωτικό stress. [209] Η αδρανοποίηση της Lp-PLA₂ είναι μη αντιστρεπτή διαδικασία και πρόσφατα εδείχθη ότι ένα από τα κυριότερα σημεία οξειδωτικής της αδρανοποίησης είναι η Met-117. [210]



Σχήμα 11. Ενδυμικές δράσεις Lp-PLA₂.

1.4.3. Έκκριση της Lp-PLA₂ & σύνδεση της με τις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος

1.4.3.1. Σύνδεση της Lp-PLA₂ με τις LDL λιποπρωτεΐνες

Το 70% με 80% του ενζύμου είναι συνδεδεμένα με τις LDL με ειδική αλληλεπίδραση πρωτεΐνης- πρωτεΐνης μεταξύ του αμινοτελικού άκρου της Lp-PLA₂ και του καρβοξυτελικού άκρου της apoB. [211] Από τα διάφορα μόρια των LDL, η Lp-PLA₂ συνδέεται κύρια με τα μικρότερα και πυκνότερα μόρια, τα οποία θεωρούνται ως γνωστόν και πιο αθηρογόνα. [212]

Το ηλεκτραρνητικό κλάσμα των LDL στην κυκλοφορία εμφανίζει πενταπλάσια δραστηριότητα Lp-PLA₂, περιέχει δε επίσης πολλά από τα προϊόντα της δράσης της Lp-PLA₂ π.χ. lysoPC και oxFFA. Το κλάσμα αυτό των LDL, αντιπροσωπεύει το 8% των LDL του πλάσματος σε ασθενείς με φυσιολογικά λιπίδια και σε ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία το 15,6% αντίστοιχα, αφθονούν δε στο κλάσμα αυτό τα μικρά και πυκνά μόρια των LDL. [213] Το ηλεκτραρνητικό κλάσμα των LDL επάγει την έκφραση γονιδίων φλεγμονής και την

προσκόλληση των μονοκυττάρων στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και πιθανά αυτό αποδίδεται στην αθηρογόνο δράση της. [214]

Σε αρκετά ζώα (π.χ. ποντίκια, κουνέλια, σκύλοι), η Lp-PLA₂ συνδέεται κύρια με τις HDL (αντίθετα από τον άνθρωπο) και αυτό αποδίδεται στις διαφορετικές μεταξύ των ειδών αμινοξικές αλληλουχίες της Lp-PLA₂ και της apoB.

Στις ανθρώπινες αθηρωματικές βλάβες εντοπίζονται δύο κύριες πηγές της Lp-PLA₂, αυτή που μεταφέρεται με τις LDL στον έσω χιτώνα από την κυκλοφορία και αυτή που συντίθεται *de novo* από τα φλεγμονώδη κύτταρα της αθηρωματικής πλάκας (μακροφάγα, T-κύτταρα, και μαστικά κύτταρα). Υψηλά επίπεδα του mRNA της Lp-PLA₂ έχουν προσδιορισθεί σε καρωτιδικές πλάκες. [215] Σε στεφανιαίες αθηρωματικές βλάβες ανευρίσκεται Lp-PLA₂ με ανοσοχημική βαφή ιδιαίτερα στα μακροφάγα της λεπτής ινώδους κάψας του αθηρώματος που παρατηρείται στο 60% των θυμάτων με αιφνίδιο καρδιακό θάνατο. [216]

Η Lp-PLA₂ που κυκλοφορεί προέρχεται κύρια από τα αιμοποιητικά κύτταρα, δηλαδή κύτταρα που δεν παράγουν λιποπρωτεΐνες. Αυτό αποδείχθηκε σε ασθενή με φυσιολογική Lp-PLA₂ στο πλάσμα που έκανε αλλογενή μεταμόσχευση μυελού. Ο δότης ήταν ομοζυγώτης σε μετάλλαξη της Lp-PLA₂ V279F που χαρακτηρίζεται από απουσία δραστηριότητας της Lp-PLA₂ με αποτέλεσμα ο λήπτης να μην έχει δραστική Lp-PLA₂ στο πλάσμα του. [196]

Η έκκριση της Lp-PLA₂ στην κυκλοφορία συμβαίνει ανεξάρτητα της έκκρισης των λιποπρωτεϊνών και το ένζυμο ακολούθως συνδέεται με τις λιποπρωτεΐνες. Αντίστοιχα σε ασθενείς με νόσο Tangier που χαρακτηρίζονται από έλλειψη HDL η δραστηριότητα της Lp-PLA₂ είναι υψηλότερη από ότι σε υγιείς [217], ενώ και σε ασθενείς με αβ λιποπρωτεΐναιμία, η δραστηριότητα της Lp-PLA₂ είναι φυσιολογική. [218]

Η έκκριση της Lp-PLA₂ εξαρτάται από τον βαθμό της κυτταρικής διαφοροποίησης και ρυθμίζεται επίσης από εξωγενείς παράγοντες όπως PAF, κυτταροκίνες και στεροειδείς ορμόνες. [219] Για την σύνδεση της Lp-PLA₂ με τις LDL κύριο ρόλο έχει η απολιποπρωτεΐνη B-100 (apoB-100) που το καρβοξυτελικό άκρο (αμινοξικά υπολείμματα 4119–4279) ενώνεται με αμινοξικά υπολείμματα Tyr-205, Trp-115 και Leu-116 και σε λιγότερο βαθμό Met-117 της Lp-PLA₂. [211]

1.4.3.2. Σύνδεση της Lp-PLA₂ με τις HDL λιποπρωτεΐνες

Μια μικρή αναλογία της Lp-PLA₂ στο πλάσμα των νορμολιπιδαιμικών ασθενών κυκλοφορεί συνδεδεμένη με τις HDL. [190] Αρχικά θεωρήθηκε ότι οι Lp-PLA₂ παρουσίαζαν έλλειψη στην HDL και η δραστικότητα της HDL-Lp-PLA₂ αποδόθηκε στην παραοξονάση 1 (PON1). [220] Ένα ένζυμο που υπάρχει κύρια στις HDL [221] και μπορεί να υδρολύει φωσφολιπίδια [222] και κατ' επέκταση τον PAF. [220]

Ακόμη όμως αποδείχθηκε ότι οι παραπάνω δράσεις που είναι ανάλογες με τη δράση της Lp-PLA₂, δεν προέρχονται από την PON1 αλλά από ελάχιστη επιμόλυνση με Lp-PLA₂ που υπήρχε μαζί με την PON. Συνεπώς, η PON1 δεν έχει δράση φωσφολιπάσης προς τον PAF και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια και η Lp-PLA₂ είναι η μόνη φωσφολιπάση A₂ των HDL. [223]

1.4.3.3. Σύνδεση της Lp-PLA₂ με τη λιποπρωτεΐνη Lp(a)

Η κατανομή της Lp-PLA₂ μεταξύ LDL και HDL μπορεί να επηρεασθεί από την παρουσία της Lp(a), όταν η συγκέντρωση της στο πλάσμα υπερβαίνει τα 30 mg/dl. Ενδιαφέρον είναι ότι η Lp(a) είναι πλούσια σε Lp-PLA₂. Περιέχει 1,5-2 φορές περισσότερο ένζυμο (μάζα) και αρκετές φορές περισσότερο Lp-PLA₂ σε δραστικότητα. [224] Η Lp(a) που είναι συνδεδεμένη με την Lp-PLA₂ [Lp(a)-Lp-PLA₂] είναι σε μεγάλο βαθμό γλυκοζυλιωμένη και πολύ επιδεκτική σε οξείδωση *in vitro*. Η σύνδεση της Lp-PLA₂ γίνεται με την apoB-100 της Lp(a) και όχι με την apo (a). [225]

Υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις καταλυτικές ιδιότητες του ενζύμου στους διάφορους ισομορφικούς τύπους της Lp(a). Στις μικρές ισομορφές εμφανίζονται μεγαλύτερες τιμές *K_m* και *V_{max}*, σε σύγκριση με τις μεγαλύτερες, και αυτό οφείλεται μάλλον στο ότι η apo (a) επηρεάζει τη σχέση της Lp-PLA₂ με τη Lp(a), παρόλο που η ίδια η apo (a) δε συνδέεται με την Lp-PLA₂. [224]

1.4.4. Συμμετοχή της Lp-PLA₂ στη παθοφυσιολογία ασθενειών με έμφαση στις δράσεις στα καρδιαγγειακά

1.4.4.1. Αλλεργικές και Φλεγμονώδεις Ασθένειες

Οι αλλαγές της δραστηριότητας της PAF-AH στο πλάσμα σε διάφορες αλλεργικές και φλεγμονώδεις ασθένειες, δείχνουν ότι το ένζυμο φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο σε αυτές τις διαταραχές. Η δραστηριότητα της PAF-AH στο πλάσμα είναι μειωμένη σε άτομα με ενεργό συστηματικό ερυθματοειδή λύκο [226], με νεκρωτική εντεροκολίτιδα [227], με σήψη ή σηπτικό σοκ [228], ή με σοβαρό βρογχικό άσθμα [228]. Η επακόλουθη αύξηση του PAF και των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων ίσως να συνεισφέρει στην παθολογική διαδικασία των διαταραχών αυτών. Αντίθετα, η δραστηριότητα της PAF-AH στο πλάσμα είναι αυξημένη σε άτομα με ΣΔ [229], με ιδιοπαθή υπέρταση [230], με ρευματοειδή ή άλλες μορφές αρθρίτιδας [231]. Η δραστηριότητα της PAF-AH είναι επίσης υψηλή στο πλάσμα σε άτομα με χρόνια χολόσταση από ασθένειες του ήπατος. Βέβαια, η δραστηριότητα της PAF-AH στο πλάσμα μπορεί να επανέλθει στα φυσιολογικά επίπεδα μετά από επιτυχή μεταμόσχευση ήπατος [232].

1.4.4.2. Ο ρόλος της Lp-PLA₂ στην αθηροσκλήρωση και στην καρδιαγγειακή νόσο.

Ο βιολογικός ρόλος της Lp-PLA₂ στην αθηροσκλήρωση είναι σε κάποιο βαθμό αμφιλεγόμενος και αδιευκρίνιστος. Αρχικά, η Lp-PLA₂ θεωρήθηκε αθηροπροστατευτική με βάση *in vitro* μελέτες που έδειξαν ότι ο PAF, μια ένωση με γνωστές φλεγμονώδεις ιδιότητες, υδρολύεται από την Lp-PLA₂. [233]

Ο PAF ενεργοποιεί διάφορα κύτταρα που συμμετέχουν στην αθηρογένεση, συντίθεται τοπικά στα σημεία του ενδοθηλιακού τραυματισμού και συσσωρεύεται στις αθηρωματικές πλάκες των ασθενών με προχωρημένη στεφανιαία νόσο. Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι το φωσφολιπίδιο αυτό έχει ενεργό ρόλο στη παθοφυσιολογία της αθηροσκλήρωσης. [234]

Ο PAF καθώς και τα φλεγμονώδη οξειδωμένα φωσφολιπίδια (oxPL) σχηματίζονται κυρίως στις LDL κατά την οξείδωση και θεωρείται ότι έχουν κεντρικό ρόλο στον σχηματισμό των αθηρωματικών πλακών. Ακολούθως, οι έρευνες έδειξαν ότι η Lp-PLA₂ πιθανά δεν είναι το κύριο ένζυμο που υδρολύει τον PAF *in vivo*. Σε πρόσφατες μάλιστα μελέτες που χορήγησαν ανασυνδυασμένη Lp-PLA₂ σε ασθενείς που στις παθήσεις τους (π.χ. άσθμα, σηπτικό σοκ) ο PAF παίζει καθοριστικό ρόλο, δεν παρατηρήθηκε κλινικό όφελος. [235] Σε ασθενείς δε, που έχουν έλλειψη της Lp-PLA₂ όταν χορηγήθηκε εισπνεόμενος PAF, δε παρατηρήθηκε η προσδοκώμενη συστηματική ή πνευμονική αντίδραση. [236]

Οι αθηροπροστατευτικές ιδιότητες της Lp-PLA₂ εξηγήθηκαν βάσει του ρόλου της στον καταβολισμό του PAF και των oxPL, μιας και τα δύο έχουν αθηρογόνο δράση [234], ενώ ο

φλεγμονώδης και αθηρογόνος ρόλος της Lp-PLA₂ βασίζεται στο ότι κατά την καταλυόμενη από την Lp-PLA₂ υδρόλυση των oxPL παράγονται λυσοφωσφατιδυλοχολίνη (lyso-PC) και οξειδωμένα ελεύθερα λιπαρά οξέα (oxFFA). Και οι δύο αυτές ενώσεις έχουν αθηρογόνο δράση. [237]

1.4.4.2.1. Η δράση της Lp-PLA₂ στο αρτηριακό τοίχωμα.

Η Lp-PLA₂ που υπάρχει μέσα στις αθηροσκληρωτικές βλάβες, προέρχεται από δύο κύριες πηγές: είτε το ένζυμο μεταφέρεται συνδεδεμένο με τις LDL στον έσω χιτώνα, είτε γίνεται *de novo* σύνθεση του ενζύμου μέσα στις αθηρωματικές πλάκες από φλεγμονώδη κύτταρα. [238]

Έχει αποδειχθεί ότι η Lp-PLA₂ υδρολύει τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια των οξειδωμένων LDL στον έσω χιτώνα. Τα οξειδωμένα ελεύθερα λιπαρά οξέα και η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη, προϊόντα αυτής της αντίδρασης, ενεργοποιούν την έκφραση μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο καθώς και κυτταροκινών [239], ενώσεων που ευνοούν την προσέλκυση των μονοκυττάρων στον έσω χιτώνα. Εκεί, τα μονοκύτταρα ενεργοποιούνται μετατρέπόμενα σε μακροφάγα και τελικά σε αποπτωτικά αφρώδη κύτταρα. Αυτά τα ενεργοποιημένα μακροφάγα και αφρώδη κύτταρα παράγουν επιπλέον Lp-PLA₂, η οποία στην συνέχεια επανεισέρχεται στην κυκλοφορία. [240] Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη που παράγεται κατά την υδρόλυση των οξειδωμένων LDL από την Lp-PLA₂, συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την δυσλειτουργία του ενδοθηλίου των στεφανιαίων.

Η ιστοπαθολογική βαφή των στεφανιαίων και των καρωτίδων αποδεικνύει την παρουσία της Lp-PLA₂ στην λεπτή ινώδη κάψα των έτοιμων να διαρραγούν πλακών αλλά όχι και στις πρώιμες πλάκες. Όταν δεν υπάρχει στεφανιαία αθηρωματική πλάκα η συγκέντρωση της Lp-PLA₂ είναι μειωμένη. Από αυτές τις αθηρωματικές πλάκες που είναι έτοιμες να διαρραγούν θεωρείται ότι ελευθερώνεται η Lp-PLA₂ στην κυκλοφορία. [241, 242]

Στις ώριμες αθηρωματικές πλάκες των στεφανιαίων και των καρωτίδων με την ιστοπαθολογική βαφή αποκαλύπτεται ότι η Lp-PLA₂ εντοπίζεται μαζί με μακροφάγα και οξειδωμένες LDL, (διαπιστώθηκε δε αυξημένη συγκέντρωση του mRNA της Lp-PLA₂) σε αορτικά δείγματα με προχωρημένη αθηροσκλήρωση εντοπισμένη κυρίως στα φλεγμονώδη κύτταρα. Αντίθετα, με την αυξημένη συγκέντρωση της Lp-PLA₂ στις περιοχές των μακροφάγων, στα λεία μυϊκά κύτταρα υπάρχει μικρή μόνο συγκέντρωση της Lp-PLA₂. [215]

Φαίνεται επίσης να υπάρχει σχέση μεταξύ της παρουσίας Lp-PLA₂ και της απόπτωσης στις ίδιες περιοχές των αθηρωματικών πλακών όπως διαπιστώθηκε στην ιστοπαθολογική ανάλυση. Αν και οι οξειδωμένες LDL είναι γνωστό ότι επάγουν την απόπτωση [243], τα δεδομένα δείχνουν ότι η lysoPC, προϊόν της δράσης της Lp-PLA₂ μπορεί επίσης να επάγει την απόπτωση. [238] Η ένδειξη αυτή ενισχύεται και από το ότι η εκλεκτική αναστολή της Lp-PLA₂ προστατεύει τα μακροφάγα από τον κυτταρικό θάνατο που προκαλείται από τις οξειδωμένες LDL. [244] Ο εντοπισμός της Lp-PLA₂ με πειράματα διπλής βαφής μέσα σε αποπτωτικά μακροφάγα μαζί με τα προαναφερθέντα, δείχνει ότι η Lp-PLA₂ μπορεί να έχει βασικό ρόλο στην επαγωγή του κυτταρικού θανάτου, στον σχηματισμό και στην αστάθεια του ανθρώπινου στεφανιαίου αθηρώματος. [241]

Τελευταία, με ανοσοχημική ανάλυση διαπιστώθηκε ότι σε ανθρώπινη αθηροσκληρωτική αορτή, η δράση της Lp-PLA₂ ως τρανσακετυλάσης ήταν ελαφρά αυξημένη συγκριτικά με την δράση της ως υδρολάσης και αυτό συνοδεύτηκε από συσσώρευση lyso-PAF και σχηματισμό PAF, ενώ στις υγιείς μαστικές αρτηρίες, η δράση της Lp-PLA₂ ως τρανσακετυλάσης ήταν πολύ μειωμένη συγκριτικά με την δράση της ως υδρολάσης. Αυτή η ανισορροπία μεταξύ της υδρολυτικής δράσης και της δράσης της ως τρανσακετυλάση ίσως να συμβάλλει στην πρόοδο της αθηροσκλήρωσης. [207]

Όλες σχεδόν οι μελέτες για τον ρόλο της Lp-PLA₂ στην διαδικασία της αθηροσκλήρωσης στους ανθρώπους έχουν γίνει είτε *in vitro* σε διάφορα κυτταρικά συστήματα, είτε *ex vivo* μετρώντας τη συγκέντρωση ή τη δραστηριότητα της στην κυκλοφορία και συσχετίζοντας τα αποτελέσματα με το βαθμό αθηροσκλήρωσης και τα ανάλογα καρδιαγγειακά σύνδρομα. Το πρόβλημα που υπάρχει σε αυτές τις μελέτες είναι ότι οι συνθήκες στο αρτηριακό τοίχωμα και στις αθηρωματικές πλάκες διαφέρουν σημαντικά από του πλάσματος (π.χ. επικράτηση των μακροφάγων από τα μονοκύτταρα, αυξημένο οξειδωτικό stress, περισσότερες τροποποιημένες λιποπρωτεΐνες από ότι οι κανονικές, αποπτωτικά φαινόμενα, αντιδράσεις χρόνιας φλεγμονής κλπ).

1.4.4.2.2. Δυσλιπιδαιμίες και Lp-PLA₂

Οι δυσλιπιδαιμίες και οι διαταραχές του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών επηρεάζουν αφενός τα επίπεδα της Lp-PLA₂, αφετέρου την κατανομή της ανάμεσα στις λιποπρωτεΐνες. Στην πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία, η δραστηριότητα της συνδεδεμένης με τις LDL Lp-PLA₂ (LDL-Lp-PLA₂), αυξάνει παράλληλα με τη βαρύτητα της υπερχοληστερολαιμίας και τα

υψηλότερα επίπεδα της ενζυμικής δραστηριότητας παρατηρούνται στην ομόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία. Αντίθετα, δεν επηρεάζεται σημαντικά η δραστηριότητα της HDL-Lp-PLA₂. [245]

Σε ασθενείς με φυσιολογική ή αυξημένη LDL-χοληστερόλη στο πλάσμα, αυτό που ρυθμίζει σε μεγάλο βαθμό τη συγκέντρωση της Lp-PLA₂ στο πλάσμα και την κατανομή του ενζύμου στις διάφορες λιποπρωτεΐνες του πλάσματος, είναι ο ρυθμός απομάκρυνσης των LDL από την κυκλοφορία. [246]

Ασθενείς με συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία παρουσιάζουν επίσης αυξημένη δραστηριότητα της Lp-PLA₂. Στους ασθενείς αυτούς, είναι αυξημένη η δραστηριότητα της LDL-Lp-PLA₂, της VLDL-Lp-PLA₂ και της IDL-Lp-PLA₂, ενώ είναι μειωμένη η δραστηριότητα της HDL-Lp-PLA₂ αλλά και η συγκέντρωση της HDL-χοληστερόλης. [247]

Σε ασθενείς με πρωτοπαθή υπερτριγλυκεριδαιμία η δραστηριότητα της Lp-PLA₂ είναι αυξημένη επειδή είναι αυξημένες οι VLDL-Lp-PLA₂ και IDL-Lp-PLA₂. Η δραστηριότητα της LDL-Lp-PLA₂ δεν επηρεάζεται σε αυτόν τον τύπο υπερλιπιδαιμίας, ενώ είναι μειωμένη η δραστηριότητα της HDL-Lp-PLA₂ αλλά και η συγκέντρωση της HDL-χοληστερόλης. [248]

Ως κοινό χαρακτηριστικό των προαναφερθεισών δυσλιπιδαιμιών θεωρείται ότι είναι η διαφορετική η κατανομή της Lp-PLA₂ στις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB και apoA-I, από ότι σε φυσιολογικές περιπτώσεις. Στις HDL (που περιέχουν apoA-I) τα επίπεδα της HDL-Lp-PLA₂ είναι μειωμένα συγκριτικά με τα ολικά επίπεδα της Lp-PLA₂ στο πλάσμα. [245]

1.4.4.2.3. Ο ρόλος της LDL-Lp-PLA₂

Έχουμε αναφέρει ήδη ότι η Lp-PLA₂ συνδέεται κυρίως με τις LDL και ότι η LDL-Lp-PLA₂ διαμορφώνει σε μεγάλο βαθμό τη συγκέντρωση της Lp-PLA₂ στο πλάσμα. Η κατακράτηση και στη συνέχεια η τροποποίηση των πλούσιων σε apoB λιποπρωτεϊνών (ιδιαίτερα των LDL) μέσα στο αρτηριακό τοίχωμα αποτελούν καθοριστικό στάδιο για την έναρξη της αθηροσκληρωτικής διαδικασίας. [249] Το γεγονός αυτό είναι σημαντικό διότι όπως έχουμε ήδη αναφέρει ότι το μεγαλύτερο μέρος της Lp-PLA₂ βρίσκεται συνδεδεμένο με τις LDL (70–80%). Η επακόλουθη τροποποίηση των LDL μέσα στον έσω χιτώνα παράγει οξειδωμένα φωσφολιπίδια, τα οποία είναι υπόστρωμα για την δράση της Lp-PLA₂ μετατρέπόμενα από αυτήν ταχύτατα σε lysoPC and oxFFA, τα οποία όπως ήδη έχει αναφερθεί, έχουν φλεγμονώδεις ιδιότητες.

Σημαντικό σημείο επίσης για τον αθηρογόνο ρόλο της Lp-PLA₂ είναι ότι οι ιδιαίτερα αθηρογόνες μικρές και πυκνές LDL είναι πλούσιες σε Lp-PLA₂. [250] Ο εμπλουτισμός των sdLDL με Lp-PLA₂ έχει σαν συνέπεια την αύξηση της παραγωγής της lyso-PC [251] και του PAF, δύο φλεγμονωδών και αθηρογόνων φωσφολιπιδίων. [168] Όπως προαναφέραμε η Lp-PLA₂ συνεισφέρει στην αθηρογενετικότητα των LDL και μάλιστα στο ηλεκτρικότητα μέρος τους, LDL(-). [214]

Επιπρόσθετα, ο ρόλος της LDL-Lp-PLA₂ ως αιτιολογικού παράγοντα για την αθηροσκλήρωση υποστηρίζεται από ευρήματα πρόσφατων κλινικών μελετών κατά τις οποίες, η χορήγηση darapladib, ενός αναστολέα της Lp-PLA₂, εμπόδισε την εξάπλωση του νεκρωτικού πυρήνα, καθοριστικού παράγοντα για την σταθερότητα της αθηρωματικής πλάκας, αντίθετα με αντίστοιχους ασθενείς στους οποίους χορηγείτο placebo. [252, 253]

Οι oxLDL έχουν επίσης ανοσογονικότητα και τα oxPL καθώς και η lyso-PC που περιέχουν, παίζουν μεγάλο ρόλο στην αντιγονικότητα των oxLDL συμμετέχοντας στην δημιουργία διαφόρων επιτόπων που αναγνωρίζονται από πολλά αυτοαντισώματα. Τέτοια αντισώματα υπάρχουν στο αίμα υγιών αλλά και ασθενών με στεφανιαία νόσο και υπέρταση. [244, 254]

Χορήγηση επίσης ειδικού αναστολέα (SB677116) της Lp-PLA₂ σε πειραματόζωα στα οποία είχε προκληθεί αυξημένη έκφραση του mRNA της Lp-PLA₂ στα μονοκύτταρα της περιφέρειας και στις στεφανιαίες αρτηρίες, μείωσε εκτός από την Lp-PLA₂ και την φλεγμονώδη αντίδραση στα κυκλοφορούντα στην περιφέρεια μονοκύτταρα (ICAM-1, IL-6), και στους στεφανιαίους ιστούς (ICAM-1, VCAM-1). [255]

1.4.4.2.4. Ο αντιαθηρογόνο ρόλος της HDL-Lp-PLA₂

Η πρώτη ένδειξη για τον αντιαθηρογόνο ρόλο της HDL-Lp-PLA₂ προήλθε από μελέτες *in vitro* που έδειξαν ότι η Lp-PLA₂ συμμετέχει σημαντικά στην αναστολή, που προκαλούν οι HDL, της ενεργοποίησης κυττάρων που επάγεται από τις oxLDL. [256]

Στη συνέχεια, αρκετές μελέτες *in vivo* έδειξαν τον αντιφλεγμονώδη και αντιαθηρογόνο ρόλο της HDL-Lp-PLA₂. Όμως αυτές οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε τρωκτικά και σε κουνέλια, όπου (όπως και σε άλλα ζώα) η Lp-PLA₂, κατά πολύ μεγάλο ποσοστό, συνδέεται με τις HDL. Η διαφορά μεταξύ ανθρώπου και ζώων στην κατανομή της Lp-PLA₂ μεταξύ LDL και HDL οφείλεται στις διαφορές μεταξύ των ειδών που υπάρχουν στις αμινοξικές αλληλουχίες στην Lp-PLA₂ καθώς και στην apoB. [211]

Σε νορμολιπιδαιμικά κουνέλια η HDL-Lp-PLA₂ μειώνει τη συσσώρευση των οξειδωμένων λιποπρωτεϊνών, αναστέλλει τη φλεγμονή καθώς και τη θρόμβωση που επάγεται από το stress. Υπερέκφραση της ανθρώπινης apoA-I σε ποντίκια αυξάνει τα επίπεδα της HDL στο πλάσμα και προστατεύει από την αθηροσκλήρωση. [257] Παράλληλα, η υπερέκφραση της apoA-I συνοδεύεται από πολλαπλή αύξηση της HDL-Lp-PLA₂, η οποία πιθανά επάγει την αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση των HDL. [258]

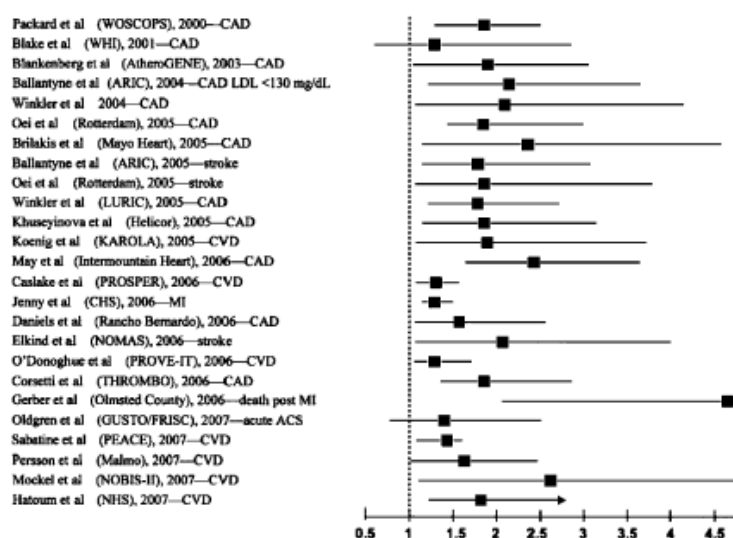
1.4.4.2.5. Ο ρόλος της Lp(a)-Lp-PLA₂

Η συμβολή της Lp(a)-Lp-PLA₂ στη φλεγμονώδη αντίδραση στο αρτηριακό τοίχωμα έχει ιδιαίτερη σημασία ιδίως σε ασθενείς που έχουν υψηλή Lp(a) στο πλάσμα, αφού η Lp(a) συσσωρεύεται περισσότερο στις LDL μέσα στις αρτηριακές βλάβες και συνδέεται μάλιστα με ιδιαίτερα μεγάλη συγγένεια με τα συστατικά των αλλοιώσεων στα σημεία των βλαβών. Όπως οι LDL, η Lp(a) είναι επιδεκτική σε οξείδωση και η οξειδωμένη Lp(a) είναι πλούσια σε lyso-PC χάρη στην υδρόλυση των oxPL από την Lp-PLA₂. [225]

Η Lp(a)-Lp-PLA₂ επηρεάζει σημαντικά (την βιολογική δραστηριότητα) της οξειδωμένης Lp(a) στο αρτηριακό τοίχωμα, στην οποία λαμβάνουν μέρος oxPL και lyso-PC. Μάλιστα έχει δειχθεί ότι τα oxPL του πλάσματος συσσωρεύονται κατά προτίμηση στην Lp(a). [259] Επίσης, τα oxPL μπορούν να συνδεθούν απευθείας στην apo(a) αν και βρίσκονται στα oxPL και στο λιπιδικό μέρος της Lp(a). Τα oxPL που σχηματίζονται στις oxLDL ή στα κύτταρα που υπόκεινται σε οξειδωτικό stress ή σε αποπτωτική διαδικασία, ελευθερώνονται στην κυκλοφορία προερχόμενα από πηγές κυτταρικού τραυματισμού όπως ρήξη πλάκας και θάνατο των μυοκυττάρων και συνδέονται με αυξημένη συγγένεια με την Lp(a). Πιθανά, η Lp(a) δρα σαν ο κύριος μεταφορέας και καθαριστής των oxPL στην κυκλοφορία αλλά ο ρόλος της στη φλεγμονή και στη αθηροσκληρωτική νόσο χρειάζεται παραπέρα διερεύνηση. [260]

1.4.5. Επιδημιολογικές μελέτες

Αποτελέσματα από 15 μελέτες που έγιναν μετά το 2000 δείχνουν την προγνωστική δυνατότητα των αυξημένων συγκεντρώσεων αλλά και των αυξημένων δραστηριοτήτων της Lp-PLA₂ για τον κίνδυνο μελλοντικών στεφανιαίων συμβαμάτων και εγκεφαλικών επεισοδίων. Οι μελέτες αφορούν συμβάματα σε αρχικά υγιείς ασθενείς σε μελέτες πληθυσμού αλλά και συμβάματα που λαμβάνουν χώρα εκ νέου σε ασθενείς με εγκατεστημένη αθηρωματική νόσο. (Σχήμα 12)



Σχήμα 12. Lp-PLA₂ και καρδιαγγειακός κίνδυνος. (Corson MA. et al. 2008)

Η πρώτη ένδειξη για συσχέτιση μεταξύ Lp-PLA₂ και στεφανιαίων συμβαμάτων προήλθε από την μελέτη WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study) [261], σε 580 υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς, μέσης ηλικίας, χωρίς ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου (CHD), που παρουσίασαν στεφανιαίο σύμβαμα σε χρονικό διάστημα παρακολούθησης 4,9 ετών και συγκρίθηκαν με 1160 μάρτυρες.

Στη μελέτη αυτή, μία αύξηση στη συγκέντρωση της Lp-PLA₂ κατά μία σταθερή απόκλιση (SD) σχετίζεται με αύξηση 18% στην πιθανότητα κινδύνου για μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάματα (RR=1,18). Στη μελέτη Women's Health Study (WHS) [262] σε μεγάλο αριθμό μέσης ηλικίας νορμοχοληστερολαιμικών γυναικών δεν επιβεβαιώθηκαν τα συμπεράσματα της μελέτης WOSCOPS. Η απουσία συσχέτισης αποδίδεται στην διαφορά του φύλου των ασθενών των δύο μελετών.

Στην μελέτη Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) [263] με 608 άνδρες και γυναίκες ασθενείς με CHD και 740 μάρτυρες που παρακολουθήθηκαν για 6–8 έτη με διόρθωση για την ηλικία και το φύλο, η Lp-PLA₂ σχετιζόταν με αυξημένο κίνδυνο για στεφανιαία νόσο. Στους ασθενείς της μελέτης με χαμηλή LDL-C, η Lp-PLA₂ προέβλεπε ανεξάρτητα τον κίνδυνο για στεφανιαία νόσο (hazard ratio (HR)=2,08). Αυτό δείχνει ότι πιθανά η Lp-PLA₂ είναι χρήσιμος δείκτης για την ανίχνευση ασθενών υψηλού κινδύνου με σχετικά φυσιολογικά επίπεδα LDL-C.

Στην μελέτη MONICA-Augsburg [264] βρέθηκε ανεξάρτητη συσχέτιση της Lp-PLA₂ με στεφανιαία νόσο σε 934 υγιείς μέσης ηλικίας άνδρες με μέτρια αύξηση ολικής χοληστερόλης. Αύξηση κατά μία σταθερή απόκλιση (SD) στην Lp-PLA₂ είχε ισχυρή και ανεξάρτητη συσχέτιση με πρωτοεμφανιζόμενα συμβάματα (HR=1.23) και μετά από έλεγχο για πολλούς συμπαράγοντες.

Στις μελέτες ARIC [263] και MONICA [264] υπολογίσθηκε η επιπρόσθετη της CRP προγνωστική δυνατότητα των τιμών της Lp-PLA₂ για καρδιαγγειακό κίνδυνο. Σύμφωνα με την οδηγία AHA/CDC, τιμές CRP >3.0 mg/L θεωρούνται υψηλές και για την Lp-PLA₂ το σημείο αποκοπής (cut-point) στο άνω τεταρτημόριο ήταν 422 μg/L στην ARIC [263] και 290.8 ng/mL στην MONICA [264]. Στην ARIC [263], ασθενείς με υψηλή Lp-PLA₂ και υψηλή CRP έδειξαν τριπλάσια πιθανότητα κινδύνου για στεφανιαία νόσο (HR =2,95), ενώ στην μελέτη MONICA-Augsburg [264] στον συνδυασμό αυξημένης Lp-PLA₂ και αυξημένης CRP προέκυπτε HR=1,93.

Στη μελέτη Rotterdam [265], με 7,983 ασθενείς ηλικίας >55ετών που παρακολουθήθηκαν κατά μέσο όρο 7,2 έτη, μετρήθηκε η δραστηριότητα της Lp-PLA₂ αντί για την μάζα της. Αύξηση κατά μία SD στη συγκέντρωση της Lp-PLA₂ είχε ισχυρή και ανεξάρτητη συσχέτιση, όπως και στην μελέτη MONICA [264], με πρωτοεμφανιζόμενα συμβάματα στεφανιαία νόσο (HR=1,20),

Στην πληθυσμιακή μελέτη Bruneck [266] που δημοσιεύθηκε πρόσφατα και η οποία περιελάμβανε 765 άνδρες και γυναίκες ηλικίας 40–79ετών, η Lp-PLA₂ προέβλεπε τον κίνδυνο για στεφανιαία νόσο, ή μελλοντικό καρδιαγγειακό κίνδυνο (HR = 1,4) για κάθε μία SD αύξηση στην ενζυμική δραστηριότητα. Βρέθηκε επίσης ότι ο συνδυασμός Lp-PLA₂ και oxPL/apoB (ανώτερο τεταρτημόριο σε σχέση με το κάτω τεταρτημόριο) οδήγησε σε τετραπλάσιο HR για καρδιαγγειακό κίνδυνο.

Η Lp-PLA₂ είχε προγνωστική δυνατότητα για στεφανιαία νόσο ακόμα και όταν οι παραδοσιακοί λιπιδικοί ή άλλοι δείκτες δεν έχουν προγνωστική αξία όπως στους ηλικιωμένους. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων της συγκέντρωσης Lp-PLA₂ κατά την έναρξη της μελέτης Rancho Bernardo [267], η οποία περιελάμβανε 1077 υγιείς άνδρες και γυναίκες (μέσης ηλικίας

72 έτη και χωρίς ιστορικό Σ.Ν) που παρακολουθήθηκαν για 17 έτη, έδειξαν ότι η Lp-PLA₂ είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας κινδύνου για μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάματα. Συγκεκριμένα σε πολυπαραγοντικά μοντέλα συγκρίνοντας το πρώτο και το τέταρτο τεταρτημόριο, ο κίνδυνος για καρδιαγγειακά συμβάματα αυξάνεται κατά 60% έως 90%. Η επιπρόσθετη της CRP και των άλλων συμβατικών παραγόντων κινδύνου προγνωστική δυνατότητα των επιπέδων της Lp-PLA₂ για καρδιαγγειακό κίνδυνο ήταν μεγαλύτερη (αύξηση στην περιοχή AUC της καμπύλης ROC από 0.595 σε 0.617). Σε δύο άλλες μελέτες Cardiovascular Health Study (CHS) [268] και PROSPER (The Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk) [269] σε ηλικιωμένο πληθυσμό χωρίς ιστορικό Σ.Ν., η αυξημένη Lp-PLA₂ (μάζα) συσχετιζόταν με αυξημένο 10ετή κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου αλλά παρόμοια συσχέτιση δεν βρέθηκε για την Lp-PLA₂ (δραστικότητα).

Αν και η συσχέτιση μεταξύ αυξημένων συγκεντρώσεων της Lp-PLA₂ και μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβαμάτων αποδεικνύεται σταθερή σε μελέτες πρωτογενούς πρόληψης, στο θέμα της προγνωστικής αξίας της Lp-PLA₂ για τα οξεία στεφανιαία σύνδρομα (ACS) παραμένουν αντικρουόμενα τα δεδομένα από διάφορες μελέτες. Η μελέτη PROVE IT-TIMI 22 [270] ήταν η πρώτη μελέτη που ασχολήθηκε με την προγνωστική αξία της Lp-PLA₂ σε ασθενείς με ACS. Στην μελέτη αυτή με 3.648 ασθενείς με ACS, η Lp-PLA₂ (δραστικότητα και μάζα) μετρήθηκε στην αρχή και μετά από 30 μέρες. Και η μάζα και η δραστηριότητα της Lp-PLA₂ δεν είχαν προγνωστική δυνατότητα για επαναλαμβανόμενα συμβάματα όταν μετρήθηκαν στην εισαγωγή στο νοσοκομείο ή λίγο μετά. Η μέτρηση της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ όμως, είχε προγνωστική αξία σε μετέπειτα χρονική στιγμή π.χ. στην 30ή ημέρα, δείχνοντας 33% αυξημένο κίνδυνο για επανάληψη επεισοδίων στο άνω πεντατημόριο της κατανομής της Lp-PLA₂ για περίοδο 24 μηνών (RR=1,33). Παρόμοια αρνητικά αποτελέσματα είχαν και δύο άλλες μελέτες από την Σουηδία [271]. Στην πρώτη μελέτη FRISC II (1,362 ασθενείς με ACS), η Lp-PLA₂ (μάζα) δεν συσχετίζεται με τη θνητότητα ή την επανάληψη θανατηφόρων ή μη εμφραγμάτων για 6 μήνες τουλάχιστον μετά και κατά την διάρκεια της μελέτης. Οι ίδιοι ερευνητές σε άλλο πληθυσμό βρήκαν βασικά τα ίδια αποτελέσματα (μελέτη GUSTO IV) [271].

Δεδομένα από μελέτη στην Minnesota [272], αντίθετα με τις δύο προαναφερθείσες μελέτες σε 271 ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, έδειξαν ότι συγκεντρώσεις της Lp-PLA₂ (με την έναρξη των συμπτωμάτων) ήταν ισχυρός και ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την θνητότητα μετά από 1 έτος. Η μελέτη πάντως αυτή είχε μικρό αριθμό ασθενών. Αποτελέσματα από την γερμανική μελέτη NOBIS-II [273] σε 429 ασθενείς με υπόνοια ACS και στους οποίους η Lp-PLA₂ μετρήθηκε με την εισαγωγή στο νοσοκομείο είναι αντίθετα με τις μελέτες FRISC II και GUSTO IV ACS.

Ενώ η προγνωστική αξία της Lp-PLA₂ στα ACS χρειάζεται επιπλέον διερεύνηση, στο θέμα της πρόγνωσης μελλοντικών συμβαμάτων σε ασθενείς με εγκατεστημένη αλλά σταθερή στεφανιαία νόσο, ο ρόλος της Lp-PLA₂ φαίνεται σταθερά επιβεβαιωμένος και υποσχόμενος. Σε μελέτη από την Mayo Clinic [274] 466 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφία, παρακολουθήθηκαν κατά μέσο όρο 4 χρόνια. Για αύξηση της Lp-PLA₂ (μάζα) κατά μία SD, ο σχετικός κίνδυνος ήταν 1,30.

Στην μελέτη KAROLA (Langzeiterfolge der Kardiologischen Anschlussheilbehandlung) [275], η Lp-PLA₂ μάζα και δραστηριότητα μετρήθηκε κατά μέσο όρο 43 μέρες μετά οξύ επεισόδιο σε 1051 ασθενείς με στεφανιαία νόσο, ηλικίας 30–70ετών, που παρακολουθήθηκαν κατά μέσο όρο 48,7 μήνες για τυχόν επανάληψη καρδιαγγειακού επεισοδίου. Σε πολυπαραγοντική ανάλυση βρέθηκε ότι η Lp-PLA₂ (μάζα) έχει ανεξάρτητη προγνωστική δυνατότητα, ενώ η Lp-PLA₂ (δραστηριότητα) ήταν οριακά στατιστικά σημαντική.

Σε 766 μετεμφραγματικούς ασθενείς από την μελέτη THROMBO (Thrombogenic Factors and Recurrent Coronary Events) [276], που ήταν σε παρακολούθηση για 26 μήνες, οι αυξημένες συγκεντρώσεις της Lp-PLA₂ (μάζα), προέβλεψαν διπλάσιο κίνδυνο για επανάληψη στεφανιαίων επεισοδίων σε πολυπαραγοντικό μόντελο. Τελευταία δημοσιεύθηκε η PEACE (Prevention of Events with Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition) [277], η μεγαλύτερη μελέτη για την προγνωστική αξία της Lp-PLA₂ για επανάληψη καρδιαγγειακών επεισοδίων σε ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο. Η Lp-PLA₂ (μάζα) μετρήθηκε σε 3.766 ασθενείς με επιβεβαιωμένη στεφανιαία νόσο. Με πολυπαραγοντική ανάλυση φάνηκε η σημασία της αυξημένης Lp-PLA₂ για την πρόβλεψη επεισοδίων σε πενταετή διάρκεια.

Στην μεγάλη μελέτη Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study (LURIC) [278] συμμετείχαν για 5,5 έτη, 2.513 ασθενείς με στεφανιογραφικά επιβεβαιωμένη στεφανιαία νόσο και 719 χωρίς στεφανιαία νόσο. Η Lp-PLA₂ (δραστηριότητα) έδειξε διπλάσια αυξημένο κίνδυνο για καρδιακό θάνατο μεταξύ των 2 ακραίων τεταρτημορίων στην κατανομή της.

Αρκετές μελέτες έχουν εξετάσει την σχέση της Lp-PLA₂ και του κινδύνου για αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο. Δεδομένα από την μελέτη Rotterdam [265] έδειξαν ότι η αυξημένη Lp-PLA₂ (δραστηριότητα) (4^ο τεταρτημόριο) προέβλεπε 97% αυξημένο κίνδυνο εγκεφαλικού επεισοδίου συγκριτικά με τη μειωμένη ενζυματική δραστηριότητα (1^ο τεταρτημόριο). Για αύξηση κατά μία SD στην δραστηριότητα της Lp-PLA₂ προβλεπόταν αυξημένος κίνδυνος κατά 24%. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν στην μελέτη ARIC [279], στην οποία ο κίνδυνος για εγκεφαλικό επεισόδιο ήταν περίπου διπλάσιος στο 4^ο τεταρτημόριο της κατανομής της Lp-PLA₂

(μάζα) από ότι στο 1^ο τεταρτημόριο. Οι ασθενείς ήταν 194 και παρακολούθηθηκαν κατά μέσο όρο 4,4 έτη λαμβάνοντας υπόψη τους συμπαράγοντες. Ασθενείς δε, που είχαν πολύ υψηλή και την Lp-PLA₂ και την CRP είχαν 11 φορές πιο αυξημένο κίνδυνο σε σχέση με εκείνους που είχαν που είχαν τις χαμηλές συγκεντρώσεις στην Lp-PLA₂ και στην CRP. Σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες από την μελέτη Women's Health Initiative (WHI) [280] δεν βρέθηκαν ανάλογα αποτελέσματα αλλά ενδιαφέρον είχε ότι οι γυναίκες που δεν ήταν σε θεραπεία υποκατάστασης ορμονών είχαν μεγαλύτερο κίνδυνο για ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο από αυτές που ήταν σε θεραπεία. Αυτό υποδηλώνει ότι οι συγκεντρώσεις της Lp-PLA₂ μπορεί να επηρεάζονται από ορμονική ρύθμιση.

Στην μελέτη Northern Manhattan Study (NOMAS) [281] μελετήθηκε ο κίνδυνος επανάλιψης εγκεφαλικών επεισοδίων για 4 χρόνια σε 467 ασθενείς που εμφάνισαν πρώτο ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις της Lp-PLA₂ στο 4^ο τεταρτημόριο σχετικά με το 1^ο τεταρτημόριο προέβλεπαν τον κίνδυνο, HR = 2,08. Ενδιαφέρον είναι ότι αυτό δεν ίσχυε για την CRP. Τα δεδομένα για την Lp-PLA₂ από μελέτες για εγκεφαλικά επεισόδια είναι πολύ λιγότερα σε σχέση με τα δεδομένα μελετών για την καρδιαγγειακή νόσο και χρειάζεται επιπλέον διερεύνηση για την προγνωστική δυνατότητα της Lp-PLA₂ στα εγκεφαλικά επεισόδια.

Για την μελέτη της Lp-PLA₂ σαν αναδεικνυόμενου βιοδείκτη στην πρόγνωση του καρδιαγγειακού κινδύνου, η επόμενη μεταανάλυση παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα. Η μεταανάλυση που έγινε στην Mayo Clinic [282] και περιελάμβανε 14 μελέτες με 20549 ασθενείς επιβεβαίωσε την ισχυρή και ανεξάρτητη συσχέτιση μεταξύ αυξημένων συγκεντρώσεων της Lp-PLA₂ και του καρδιαγγειακού κινδύνου (OR = 1,60), μετά από διόρθωση για τους συμβατικούς παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά επεισόδια. Μία ακόμη σχετική μεταανάλυση έγινε (Emerging Risk Factor Collaboration Study) [283] και θα βοηθήσει στην εξαγωγή πολύτιμων συμπερασμάτων.

Συμπερασματικά, η Lp-PLA₂ θεωρείται σαν ένας πολλά υποσχόμενος βιοδείκτης για την ακριβή εκτίμηση του μελλοντικού καρδιαγγειακού κινδύνου. Η ταχέως αυξανόμενη βιβλιογραφία για την Lp-PLA₂ θα μας εφοδιάσει με πολλά στοιχεία για την εμπλοκή της στην παθοφυσιολογία καρδιαγγειακών νοσημάτων. Υπάρχει διάσταση στα αποτελέσματα και στην σχέση που έχει η Lp-PLA₂ όταν μετράται σαν μάζα και όταν μετράται σαν δραστικότητα.

Ωστόσο, πρέπει να καθοριστούν επίσης ορισμένα κριτήρια που αφορούν την προτυποποίηση των μεθόδων μέτρησης, την προαναλυτική επεξεργασία των δειγμάτων και την στατιστική αξιολόγηση των ευρημάτων ώστε να είναι επαναλήψιμα και αξιολογήσιμα τα ευρήματα από τις

μελέτες. Μένει δε ακόμη να διευκρινισθεί η διαφορά που ευρίσκεται στα αποτελέσματα των μετρήσεων μεταξύ της συγκέντρωσης Lp-PLA₂ και της δραστικότητας Lp-PLA₂ σε σχέση με την προγνωστική της αξία.

1.4.6. Φαρμακολογικές/Διατροφικές παρεμβάσεις και Lp-PLA₂

Ένας μεγάλος όγκος επιδημιολογικών μελετών όπως προαναφέρθηκε, απέδειξαν ότι η αυξημένη συγκέντρωση της μάζας της Lp-PLA₂ καθώς και η αυξημένη δραστικότητα του ενζύμου σχετίζονται θετικά με ποικίλους καρδιαγγειακούς δείκτες.

Μεταξύ των διαφόρων παραγόντων που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία των ατόμων με καρδιαγγειακά νοσήματα, φαίνεται ότι σχεδόν μόνο η φαρμακευτική αγωγή που επιδρά δραστικά το μεταβολισμό των λιπιδίων επηρεάζει και την Lp-PLA₂ στο πλάσμα. [284] Συνεπώς, αρκετές στατίνες (atorvastatin, lovastatin, simvastatin, and fluvastatin) προκαλούν μείωση της δραστικότητας του ενζύμου στο πλάσμα με παράλληλη μείωση στα επίπεδα της LDL χοληστερόλης. [247, 285] Αντίθετα, η πραμβαστατίνη αυξάνει τη δραστικότητα της Lp-PLA₂ στο πλάσμα [270], ενώ άλλοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η ίδια στατίνη φαίνεται να μειώνει της μάζας της Lp-PLA₂ στο πλάσμα [286]. Οι φιμπράτες μειώνουν τη δραστικότητα της Lp-PLA₂ στο πλάσμα αλλά αυξάνουν σημαντικά τη δραστικότητα της HDL-Lp-PLA₂ στο πλάσμα. [248, 287] Τα παραπάνω δεδομένα δείχνουν ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές στην επίδραση των διαφόρων υπολιπιδαιμικών φαρμάκων στη δραστικότητα και στη μάζα της Lp-PLA₂ στο πλάσμα και στις υποτάξεις των λιποπρωτεϊνών.

Σε κλινική μελέτη σε υπερτριγλυκεριδαιμικούς ασθενείς χορηγήθηκαν 40mg/ημ. σιμβαστατίνη και 4gr/ημ. ω-3 PUFA. Παρατηρήθηκε μια μείωση 3,5% στις τιμές της Lp-PLA₂ στο πλάσμα που ήταν ανεξάρτητη των τιμών των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών στο αίμα. Στη μελέτη των *Saougos VG et al.* [288] βρέθηκε ότι η εξετιμίμπη και η ροσουβαστατίνη μείωσαν την μάζα της Lp-PLA₂. Σε δυσλιπιδαιμικούς τύπου Ια παρατηρήθηκε μια μείωση 18% με χορήγηση 10mg/ημ. εξετιμίμπη και 29% με 10mg/ημ ροσουβαστατίνη στη μάζα της Lp-PLA₂ αντίστοιχα.

Οι *Kuvin JT et al.* αξιολόγησαν την επίδραση του νικοτινικού οξέος στην Lp-PLA₂ σε άτομα με στεφανιαία νόσο και βρήκαν ότι μετά από 3μήνες χορήγησης η Lp-PLA₂ μειώθηκε κατά 20%. [289] Στην επόμενη παρέμβαση μελετήθηκε η επίδραση της σιμβαστατίνης (20mg/ημ) και της φαινοφιμπράτης (160mg/ημ) σε διαβητικούς τύπου ΙΙ με δυσλιπιδαιμία. Το κάθε φάρμακο

ξεχωριστά αλλά και ο συνδυασμός τους μείωσαν τα επίπεδα της Lp-PLA₂ περισσότερο από 25%. [290] Σε σύγκριση των διαφόρων στατινών σε δόση 40mg/ημ. στην Lp-PLA₂ βρέθηκε ότι η ατορβαστατίνη είναι πιο αποτελεσματική σε σχέση με τις υπόλοιπες στατίνες, καθώς προκάλεσε όχι μόνο μείωση της LDL χοληστερόλης αλλά και της Lp-PLA₂. [285]

Στην υπάρχουσα βιβλιογραφία, ο αριθμός των διατροφικών παρεμβάσεων στα επίπεδα της Lp-PLA₂ είναι πολύ περιορισμένος. Ο Reddy KJ et al. [291] προσπάθησαν να εξετάσουν την αποτελεσματικότητα μιας παρέμβασης στην αλλαγή του τρόπου ζωής σε συνδυασμό με τη χορήγηση υπολιπιδαιμικής αγωγής στη μείωση των επιπέδων της Lp-PLA₂. Στην παρέμβαση συμμετείχαν 248 άτομα για 10,5 μήνες. Η τροποποίηση του τρόπου ζωής περιελάμβανε συμβουλευτική σε θέματα διατροφής και άσκησης. Όσον αφορά τη φαρμακευτική αγωγή περιελάμβανε χορήγηση ω-3 ιχθυελαίων (2000mg/ημ), νικοτινικό οξύ (500-1000mg/ημ), εξετιμίμπη (10mg/ημ), φαινοφιμπράτη (160mg/ημ) και colesvelam HCL (1850mg/ημ) καθώς επίσης και 20-40mg/ημ σιμβαστατίνη και 5-20mg/ημ. ροσουβαστατίνη. Το 65% έλαβαν χαμηλή ως μέτρια δόση σιμβαστατίνης, ενώ το 35 % χαμηλή ως μέτρια δόση ροσουβαστατίνης. Τα αποτελέσματα της παρέμβασης έδειξαν μια μείωση κατά 32,5% στις μέσες τιμές της Lp-PLA₂ μετά τη θεραπεία. (baseline 181.1±41.5 vs 122.1±28.1ng/mL, P<0,001) Η αλλαγή που παρατηρήθηκε στην LDL χοληστερόλη ήταν 41% (baseline 126.2±43 vs 73.9±37.7mg/dL), η οποία ήταν επίσης στατιστικά σημαντική (P<0,001). Όμως, η συσχέτιση μεταξύ της Lp-PLA₂ και της LDL χοληστερόλης ήταν θετική αλλά λιγότερο ισχυρή απ' ό,τι αναμενόταν ($r^2=0,052$, P<0,001).

Όσον αφορά τη διατροφή υπάρχουν δεδομένα που προτείνουν ότι η κατανάλωση ψαριού ίσως να μειώνει τον κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα λόγω του περιεχομένου τους σε ω-3 PUFA και κυρίως EPA και DHA. [292] Υπάρχουν αρκετοί μηχανισμοί με τους οποίους τα ω-3 PUFA ασκούν τις ευεργετικές τους επιδράσεις, συμπεριλαμβανομένων των επιδράσεων στα λιπίδια και λιποπρωτεΐνες του πλάσματος, στην ΑΠ, στα λευκοκύτταρα και στα αιμοπετάλια. [42] Ο σκοπός της παρέμβασης που ακολουθεί ήταν να μελετηθεί η επίδραση των ω-3 PUFA που προέρχονται από ιχθυέλαια στα επίπεδα του πλάσματος της Lp-PLA₂ σε υγιή άτομα. Μετά από τυχαιοποίηση οι 60 συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες παρέμβασης και σε μία ομάδα ελέγχου. Στην πρώτη ομάδα παρέμβασης χορηγήθηκε μια μέτρια δόση ω-3 PUFA (2gr/ημ) και στη δεύτερη ομάδα παρέμβασης χορηγήθηκε μια υψηλή δόση ω-3 PUFA (6,6gr/ημ), ενώ στην ομάδα ελέγχου ελαιόλαδο για το διάστημα 12 εβδομάδων. Τα άτομα που έλαβαν 2gr/ημ και 6,6gr/ημ ω-3 PUFA είχαν σημαντική αύξηση στις συγκεντρώσεις των EPA και DHA στα λευκοκύτταρα/κοκκιοκύτταρα και στα αιμοπετάλια, αλλά η μεγαλύτερη αύξηση παρατηρήθηκε στην ομάδα των 6,6gr/ημ ω-3 PUFA, ενώ καμία αλλαγής δεν υπήρξε στην ομάδα ελέγχου. Μια

μείωση των τριγλυκεριδίων του πλάσματος παρουσιάστηκε μετά από τη χορήγηση και των δύο δόσεων ω-3 PUFA, αντίθετα όμως τα λιπίδια και οι λιποπρωτεΐνες του πλάσματος παρέμειναν ανεπηρέαστα μετά τα ω-3 PUFA. Επιπρόσθετα, η συμπληρωματική χορήγηση των ω-3 PUFA δεν είχε καμία επίδραση στα επίπεδα της Lp-PLA₂ στο πλάσμα σε καμία από τις τρεις ομάδες, ούτε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Δεν υπήρξε καμία συσχέτιση μεταξύ του περιεχομένου σε ω-3 PUFA στα λευκοκύτταρα/κοκκιοκύτταρα και στα αιμοπετάλια και της Lp-PLA₂ του πλάσματος. [293]

Οι Schmidt EB. et al. [294] ερεύνησαν τη σχέση μεταξύ των επιπέδων της Lp-PLA₂ στο πλάσμα και 1) της σοβαρότητας της στεφανιαίας νόσου όπως καθορίστηκε με τη χρήση στεφανιογραφίας, και 2) του περιεχομένου σε ω-3 PUFA που προέρχονται από ιχθυέλαια στο λιπώδη ιστό σε 291 άτομα με στεφανιαία νόσο μέσης ηλικίας 60ετών. Βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της Lp-PLA₂ στο πλάσμα με την ηλικία, την ολική και την LDL χοληστερόλη, την Apo B και με την hsCRP, καθώς και αρνητική συσχέτιση με το περιεχόμενο σε EPA του λιπώδους ιστού. Είναι ενδιαφέρον επίσης ότι οι ασθενείς με τα υψηλότερα επίπεδα Lp-PLA₂, ήταν μεγαλύτερης ηλικίας και είχαν υψηλότερα επίπεδα χοληστερόλης και χαμηλότερα επίπεδα ω-3 PUFA σε σύγκριση με τους ασθενείς με τα χαμηλότερα επίπεδα Lp-PLA₂. Οι συγγραφείς χρησιμοποίησαν το περιεχόμενο σε ω-3 PUFA του λιπώδους ιστού διότι η σύσταση των λιπαρών οξέων του λιπώδους ιστού είναι δείκτης της δίαιτας των τελευταίων 6-12 μηνών. [42] Κάτι που επιβεβαιώθηκε και από την ανάλυση της πολλαπλής παλινδρόμησης που είχε ως εξαρτημένη μεταβλητή την Lp-PLA₂.

Εκτός από την επίδραση ενός συγκεκριμένου θρεπτικού συστατικού στα επίπεδα της Lp-PLA₂ έχει μελετηθεί και η επίδραση της δίαιτας συνολικά. Σε πρόσφατη κλινική μελέτη που διεξήχθη, αξιολογήθηκαν οι επιδράσεις της απώλειας σωματικού βάρους με υποθερμιδική δίαιτα σε παχύσαρκες μη διαβητικές γυναίκες στη δραστηριότητα της Lp-PLA₂ στο πλάσμα, καθώς και με τις υποτάξεις των λιποπρωτεϊνών. Σε 28 παχύσαρκες γυναίκες χορηγήθηκε δίαιτα μέσω περιορισμό 1000 θερμίδων /ημέρα και σύστασης : 48,5% ± 4,1 υδατανθράκων, 28,5% ± 3,2 λίπους με 13,3% ± 1,7 μονοακόρεστων λ.ο., 9,1% ± 1,4 πολυακόρεστων λ.ο. και 6,0% ± 1,1 κορεσμένων λ.ο., 23,0% ± 1,4 πρωτεΐνης και 165,5 ± 38,4mg χοληστερόλης. Μετά από 8 εβδομάδες παρέμβασης, η δίαιτα προσαρμόστηκε με 20% επιπλέον περιορισμό των θερμίδων και την ίδια σύσταση μέχρι το τέλος της παρέμβασης. Μετά θεραπεία 4 μηνών τα άτομα είχαν χάσει 10,3% του σωματικού τους βάρους, καθώς επίσης βελτίωσαν το λιπιδαιμικό και γλυκαιμικό τους προφίλ. Σημαντική μείωση παρατηρήθηκε στη μάζα των VLDL, IDL μορίων και των μεγάλων μορίων LDL χοληστερόλης αλλά όχι των μορίων sdLDL χοληστερόλης μετά τη διατροφική παρέμβαση. Η δραστηριότητα της Lp-PLA₂ μειώθηκε σημαντικά (- 10,2%, p <

0,01) μετά την 4μηνη διατροφική παρέμβαση. Πρέπει να σημειωθεί ότι οι αλλαγές στη δραστηριότητα της Lp-PLA₂ συσχετίστηκαν με τις αλλαγές της VLDL χοληστερόλης ($r = 0,39$, $p < 0,05$), αλλά όχι με αλλαγές σε ανθρωπομετρικούς και άλλους λιπιδαιμικούς δείκτες. [295]

Η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ σχετίζεται με μειωμένο καρδιαγγειακό κίνδυνο καθώς περίπου το 50% αυτής της συσχέτισης εξηγείται από την αύξηση της HDL χοληστερόλης. Ακόμη, άλλοι παράγοντες όπως φλεγμονώδεις και φαιμορρυκτικοί [296] ή μια αύξηση της ινσουλινοευσθησίας ίσως να μπορούν να συμπεριληφθούν. [297] Σε τυχαιοποιημένη crossover κλινική μελέτη συμμετείχαν 11 αδύνατοι και 9 υπέρβαροι άνδρες με δυτικού τύπου τρόπο ζωής και δίαιτα. Η μελέτη είχε 2 περιόδους θεραπείας των 3 εβδομάδων. Μετά από κατανάλωση 3 κουτιών μπύρας 5% vol (40gr αιθανόλης) ή μπύρας χωρίς αλκοόλ καθημερινά κατά τη διάρκεια των 3 εβδομάδων, βρέθηκε ότι αύξηση της HDL και μείωση της LDL χοληστερόλης κατά 18,2% και 7,8% αντίστοιχα στην ομάδα της μπύρας 5% vol έναντι αυτής χωρίς αλκοόλ. Η δραστηριότητα όμως της Lp-PLA₂ μεταξύ των δύο ομάδων δε φάνηκε να διαφέρει ($p = 0,23$) παρά τα προφανή αποτελέσματα στις λιποπρωτεΐνες. [298]

Συμπεραίνουμε ότι η δραστηριότητα και η μάζα της Lp-PLA₂ μπορεί να επηρεαστεί από τα επίπεδα της LDL λιποπρωτεΐνης στο πλάσμα κυρίως, όμως η επίδραση της δίαιτας ή διαφόρων θεραπευτικών συστατικών καθώς και του τρόπου ζωής στην Lp-PLA₂ δεν έχει μελετηθεί επαρκώς. Βέβαια, η υπάρχουσα βιβλιογραφία δεν έχει δείξει ότι η διατροφή μπορεί να επιδράσει αποτελεσματικά στα επίπεδα της Lp-PLA₂. Το σίγουρο όμως είναι ότι η διεξαγωγή επιπλέον παρεμβάσεων με το ίδιο επιστημονικό αντικείμενο είναι απαραίτητη.

2. Σκοπός

Η παρούσα ερευνητική μελέτη αφορά μια παρέμβαση διατροφικής αγωγής σε ασθενείς με ήπια/μέτρια υπερχοληστερολαιμία ή/και υπέρταση ή/και παχυσαρκία, με στόχο την επίδραση σε συμπεριφορές και δείκτες υγείας που σχετίζονται με την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων. Ο σκοπός της μελέτης που διεξήχθη ήταν να εξετάσει κατά πόσο ένα τρίμηνο συμβουλευτικό πρόγραμμα για την διατροφή και τον τρόπο ζωής, μόνο του ή σε συνδυασμό με την χρήση γάλατος εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες, ω-3, ω-6 λιπαρά οξέα και αντιοξειδωτικές βιταμίνες, μπορεί να έχει διαφορετικού μεγέθους αποτελέσματα στα επίπεδα ενός καινούργιου δείκτη πρόβλεψης καρδιαγγειακού κινδύνου σε υπερλιπιδαιμικούς ασθενείς. Απώτερος σκοπός της μελέτης ήταν να βρεθεί κατά πόσο οι αλλαγές που σημειώθηκαν στους βιοχημικούς και ανθρωπομετρικούς δείκτες ύστερα από την 3μηνη παρέμβαση μπορούν να συσχετιστούν με αλλαγές της Lp-PLA₂.

3. Μεθοδολογία

3.1 Πρωτόκολλο παρέμβασης

3.1.1. Ομάδες παρέμβασης

Η στρατολόγηση των ατόμων ξεκίνησε τον Νοέμβριο του 2008. Οι εξετάσεις διαλογής έγιναν σε 340 άτομα. Στο αρχικό screening συλλέχθηκαν πληροφορίες που αφορούσαν το ιατρικό ιστορικό, τη δημογραφική κατάσταση, τη φυσική δραστηριότητα, τις διαιτητικές, καπνιστικές συνήθειες, τις μετρήσεις σωματικού βάρους, ύψους, αρτηριακής πίεσης καθώς και τον προσδιορισμό της ολικής χοληστερόλης, γλυκόζης, τριγλυκεριδίων σε φλεβικό αίμα χρησιμοποιώντας Accutrend® GCT (Roche Diagnostics, Athens). 150 εθελοντές συμμετείχαν σε δεύτερο screening που υποβλήθηκαν σε πλήρη αιματολογικό και βιοχημικό έλεγχο. Τα άτομα επιλέχθηκαν με βάση τα παρακάτω περιληπτικά κριτήρια: ηλικία 40-60 ετών, BMI<31kg/m², ολική χοληστερόλη>200mg/dl, καμία φαρμακευτική αγωγή για την μείωση των λιπιδίων πλάσματος, μη ύπαρξη διαβήτη, φυσιολογική λειτουργία θυρεοειδούς και καμία μεταβολική δυσλειτουργία εκτός από την υπερλιπιδαιμία, καμία φαρμακευτική αγωγή η οποία μπορεί να επηρεάσει τον μεταβολισμό των λιποειδών και μη ύπαρξη ανάγκης για τέτοια φαρμακευτική αγωγή. Η μελέτη εγκρίθηκε από την επιτροπή βιοηθικής του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου και όλα τα άτομα έδωσαν γραπτή συγκατάθεση.

Έπειτα από τις αρχικές μετρήσεις, ένα δείγμα των 95 ατόμων (καλύτερη συμμόρφωση) που εμφάνισαν ήπια υπερχοληστερολαιμία (40-60ετών) τυχαιοποιήθηκαν στην ομάδα παρέμβασης με το εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες γάλα (PhG.: n=33), σε μια ομάδα με γάλα placebo (PG: n=31) και στη ομάδα ελέγχου (CG: n=31). Οι εθελοντές κατανάλωναν 3 μερίδες γάλατος είτε του Placebo, είτε του εμπλουτισμένου με φυτοστερόλες (2.25g φυτικές στερόλες /ημέρα). Επίσης, οι εθελοντές της PHG και της PG παρακολούθησαν εβδομαδιαίες συνεδρίες εστιαζόμενες σε θέματα διατροφικής συμπεριφοράς και άσκησης, οι εθελοντές της CG έλαβαν ένα φυλλάδιο με γενικές συμβουλές σε θέματα διατροφικής συμπεριφοράς και άσκησης χωρίς καμία άλλη παρέμβαση.

3.1.2. Προϊόν

Στην κλινική αυτή μελέτη, το γάλα το οποίο δόθηκε στους εθελοντές ήταν εμπλουτισμένο με τα παρακάτω συστατικά:

Συστατικά	250ml γάλα	%RDA 250ml	100ml γάλα	%RDA 100ml	RDAs	Μονάδα
Φυτοστερόλες	0,83		0,33			g
Πολυακόρεστα λ.ο.	0,8		0,33			g
➤ Λινολεϊκό οξύ	0,7	6,36%	0,3	2,7%	11 (DRIs)	g
➤ Λινολενικό οξύ	0,1	9,09%	0,03	2,27%	1,1 (DRIs)	g
Μαγνήσιο	36,6	12,2%	14,6	4,9%	300	mg
Σελήνιο	41,2		16,5		55 (DRIs)	μg
Βιτ Α	185,1	23,1%	74	9,3%	800	μg
Βιτ C	66,3	110,4%	26,5	44,2%	60	mg
Βιτ E	13,1	131,3%	5,3	52,5%	10	mg
Βιτ B₆	4,2	208,4%	1,7	83,3%	2	mg
Βιτ B₁₂	4,2	420,9%	1,7	168,4%	1	μg
Φυλλικό οξύ	166,9	83,4%	66,7	33,4%	200	μg

3.1.3 Διατροφικές συνεδρίες

Οι διατροφικές συνεδρίες βασίστηκαν στο “Μοντέλο Πίστης Υγείας” και το “Υπερθεωρητικό μοντέλο και Στάδια της Ζωής” .

Αρ. Συνεδρίας	Αναλυτικό Περιεχόμενο Συνεδριών
4 ^η εβδομάδα Φεβρουαρίου	- Τι είναι η καρδιαγγειακή νόσος; - Επιδημιολογία της καρδιαγγειακής νόσου - Τρόποι για να μειώσεις τους παράγοντες κινδύνου
1 ^η εβδομάδα Μαρτίου	
2 ^η εβδομάδα Μαρτίου	- Ημερήσιες Ενεργειακές Ανάγκες - Σχεδιασμός γευμάτων
3 ^η εβδομάδα Μαρτίου	
2 ^η εβδομάδα Απριλίου	- Οδηγίες για Φυσική Δραστηριότητα (ένταση και διάρκεια). - Ισορροπημένο εβδομαδιαίο διαιτητικό πλάνο για άνδρες και γυναίκες
4 ^η εβδομάδα Απριλίου	
2 ^η εβδομάδα Μαΐου	Ανασκόπηση

3.1.4

Μετρήσεις

Κατά τη διάρκεια της μελέτης έγιναν οι παρακάτω μετρήσεις:

Κατά την φάση διαλογής (screening): α) ιατρικό

ιστορικό β) αρτηριακή πίεση γ) βάρος και ύψος δ) ολική χοληστερόλη, γλυκόζη, τριγλυκερίδια

Κατά την έναρξη της παρέμβασης (baseline), την 4^η εβδομάδα (follow up 1) και την 8^η εβδομάδα (follow up 2):

α) Προσδιορισμός αιματολογικών-βιοχημικών δεικτών

- Γενική αίματος
- Δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου: Ολική χοληστερόλη, LDL-χοληστερόλη, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, ομοκυστεΐνη, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), απολιποπρωτεΐνη A-1, απολιποπρωτεΐνη B
- Lp-PLA₂
- Δείκτες οξείδωσης / αντιοξειδωτικής ικανότητας: Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (Total Antioxidant Capacity, TAC)
- Αντιοξειδωτικές βιταμίνες: α-τοκοφερόλη, βιταμίνη A, βιταμίνη C
- Λοιπές βιταμίνες: φυλλικό οξύ, βιταμίνη B6, βιταμίνη B12

- Ηλεκτρολύτες: Κάλιο, Νάτριο
- Ηπατικά ένζυμα: Γλουταμινική-οξαλοξεϊκή τρανσαμινάση ορού (SGOT), Γλουταμινική πυροσταφυλική τρανσαμινάση ορού (SGPT), Ολική αλκαλική φωσφατάση (ALP)
- Κρεατίνη
- Ορμόνες θυροειδούς: T3, T4 και TSH

β) Ανθρωπομετρία και αξιολόγηση σύστασης σώματος

Μέτρηση σωματικού βάρους, ύψους, περιφερειών μέσης και ισχύου, καθώς και δερματοπτυχών. Ανάλυση Βιοηλεκτρικής Εμπέδησης (BIA).

γ) Διαιτητική αξιολόγηση

Αξιολόγηση διαιτητικών συνηθειών και διαιτητικής πρόσληψης με ερωτηματολόγια συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων και χρήση ανακλήσεων 24ώρου.

δ) Αξιολόγηση επιπέδων φυσικής δραστηριότητας

Αξιολόγηση επιπέδων φυσικής δραστηριότητας με τη χρήση ερωτηματολογίων ή/και δραστηριογράφων/επιταχυνσιομέτρων.

ε) Μέτρηση αρτηριακής πίεσης.

στ) Κλινική εξέταση

3.2. Μέθοδοι και εργαλεία εκτίμησης των αποτελεσμάτων

3.2.1. Ανθρωπομετρικές Μετρήσεις

Το βάρος του σώματος καταγράφεται στο πλησιέστερο 0.1kg με ψηφιακό ζυγό (Seca, Hamburg) και το ύψος μετράται στο πλησιέστερο 0,5cm με εμπορικό αναστημόμετρο (Leicester Height Measure; CMS Instruments, Oxford), ο ρουχισμός είναι ο ελάχιστος δυνατός και χωρίς παπούτσια. Από την μέτρηση του ύψους και του βάρους προκύπτει ο δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) με έναν απλό υπολογισμό σύμφωνα με τον τύπο:

$$\Delta M \Sigma = \frac{\text{βάρους (kg)}}{\text{ύψους (m)}^2}$$

Η περιφέρεια μέσης και περιφέρεια ισχύων καταγράφεται στο πλησιέστερο 0.1cm με τη χρήση πλαστικής μεζούρας στο ύψος του ομφάλου και στο ύψος του μεγάλου τροχαντήρα και της ηβικής σύμφισης, αντίστοιχα. Το ποσοστό σωματικού λίπους μετρήθηκε με την Ανάλυση της Βιοηλεκτρικής Εμπέδησης (BIA).

3.2.2. Διατροφική Αξιολόγηση

Οι διατροφικές πληροφορίες συλλέχθηκαν με μία τριήμερη ανάκληση 24ώρου που έγινε στους εθελοντές (2 καθημερινές και 1 ημέρα από το Σαββατοκύριακο). Όλοι οι συνεντευκτές ήταν εκπαιδευμένοι να ελαχιστοποιούν τις επιδράσεις των ερωτώμενων. Στους συμμετέχοντες ζητήθηκε να ανακαλέσουν το είδος και την ποσότητα των τροφίμων και ποτών που κατανάλωσαν κατά τη διάρκεια της προηγούμενης μέρας κατά χρονολογική σειρά. Για τη βελτίωση της ακρίβειας στην περιγραφή των τροφίμων και των μερίδων τους, χρησιμοποιήθηκαν οικιακά σκεύη (π.χ. φλυτζάνια, κουτάλια), καθώς και χάρτινα προπλάσματα τροφίμων (Western Dairy Council, Thornton, CO) κατά τη διάρκεια της συνέντευξης για τον ορισμό των ποσοτήτων που θεωρούνται ως ένα ισοδύναμο. Τα στοιχεία της διατροφικής τους πρόσληψης αναλύθηκαν με το Nutritionist V diet analysis λογισμικό (version 2.1; First Databank, San Bruno, CA), το οποίο περιελάμβανε πίνακες συστάσεως από Ελληνικά τρόφιμα και συνταγές, καθώς και εμπορικές συσκευασίες τροφίμων που έχουν χημική ανάλυση και κυκλοφορούν στην Ελλάδα.

3.2.3. Εκτίμηση Φυσικής Δραστηριότητας

Η φυσική δραστηριότητα εκτιμήθηκε με ένα τρίμερο ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας. Οι συμμετέχοντες κατέγραφαν το χρόνο που δαπανούσαν σε ποικίλες φυσικές δραστηριότητες κατά τη διάρκεια 2 καθημερινών και 1 ημέρας από το Σαββατοκύριακο. Το ερωτηματολόγιο ταξινομούσε τις όλες τις δραστηριότητες (δουλειά, σπορ, ελεύθερος χρόνος) σε 4 κατηγορίες με βάση τη μέση ένταση σε σχέση με την επίδραση στο καρδιαγγειακό σύστημα. Ο σκοπός του ερωτηματολογίου ήταν η καταγραφή της εβδομαδιαίας συχνότητας και διάρκειας αυτών των δραστηριοτήτων.

3.2.4. Αιμοληψία και Βιοχημικές Αναλύσεις

Η αιμοληψία έγινε πρωινές ώρες μετά από 12ωρη νηστεία των εθελοντών. Από κάθε εθελοντή ελήφθησαν 25 ml ολικού αίματος, τα οποία τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια χωρίς EDTA. Τα δείγματα διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 2 περίπου ώρες, για μπορέσουν να

πήξουν. Ο όρος διαχωρίστηκε με φυγοκέντρωση στις 4000 στροφές επί 10 λεπτά σε θερμοκρασία 4°C (Universal 32R centrifuge; Hettich Laboratories, Tuttlingen). Στη συνέχεια, τα δείγματα ορού και πλάσματος τοποθετήθηκαν σε πλαστικά Eppendorf των 1,5ml και αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία -80 °C έως την ημέρα περαιτέρω ανάλυσης.

Ο προσδιορισμός γλυκόζης, ολικής και HDL χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων πλάσματος πραγματοποιήθηκε με φωτομετρική μέθοδο. Η Απολιποπρωτεΐνη Α και Β ποσοδιορίστηκαν με ανοσονεφελομετρική μέθοδο (χημειοφωταύγεια). Όλες οι αναλύσεις έγιναν με τον αυτόματο αναλυτή και με τη χρήση εμπορικών ενζυμικών αντιδραστηρίων (Roche/Hitachi modular system P.800 module). Ο προσδιορισμός της LDL χοληστερόλης έγινε με την εξίσωση Friedewald ($LDL = \text{Ολική χοληστερόλη} - (HDL + \text{Τριγλυκερίδια}/5)$) και της VLDL χοληστερόλης υπολογίστηκε από την αφαίρεση της ολικής χοληστερόλης. Το μοντέλο αξιολόγησης της ινσουλινοαντίστασης (HOMA-IR) υπολογίστηκε από τις συγκεντρώσεις της γλυκόζης και ινσουλίνης νηστείας (Matthews Diabetologia 1985).

3.2.5. Προσδιορισμός της Lp-PLA₂

Όργανα

- ✓ Πιπέτες 1-10, 10-100, 100-1000μL

Αναλώσιμα

- ✓ Tips κίτρινα, μπλε
- ✓ Eppendorfs
- ✓ Μικροπλακίδια τύπου ELISA 96 βοθρίων

Διαλύτες

- ✓ Απιονισμένο νερό
- ✓ EtOH

Διαλύματα

- ✓ *Tris-HCl 100mM – EGTA 1mM pH=7,2*

Για την παρασκευή αυτού του δ/ματος χρειάστηκαν 1,2114g Tris-HCl και 0,03804g EGTA που διαλύθηκαν σε 100ml απιονισμένο νερό σε ποτήρι ζέσεως.

- ✓ *DTNB 1mM*

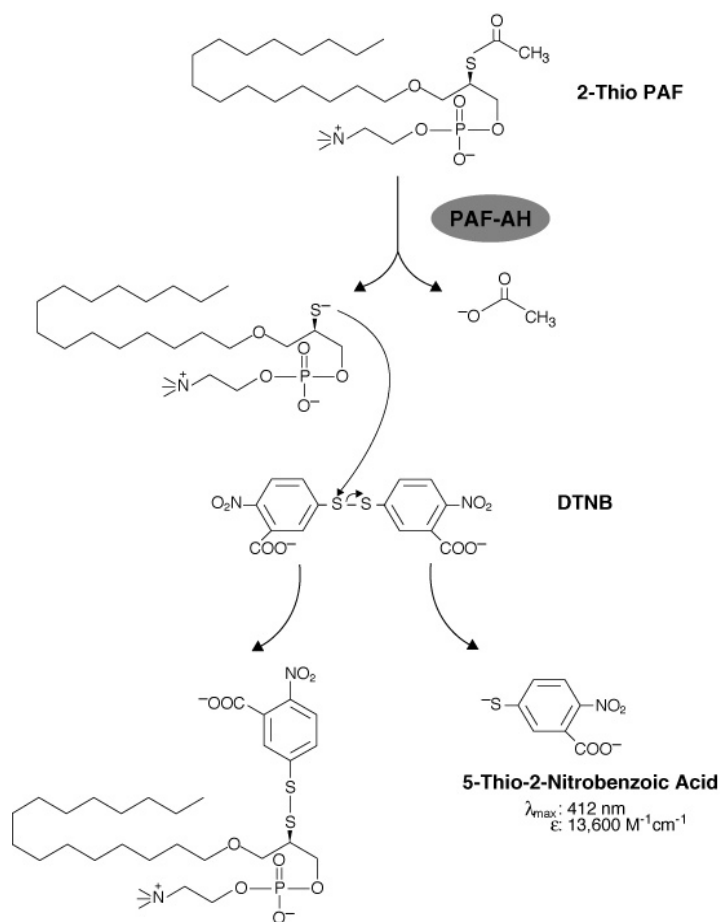
Για την παρασκευή αυτού του δ/ματος χρειάστηκαν 0,0020g DTNB που διαλύθηκαν σε 5ml απιονισμένο νερό σε πλαστικό δοκιμαστικό σωλήνα. Το δ/μα φτιάχνεται κάθε φορά φρέσκο και διατηρείται σε σκιερό χώρο.

✓ *Stock δ/μα 2-thio-PAF 5mg/100μL EtOH*

Ο στερεός 2-thio-PAF προμηθεύτηκε από την Cayman Chemical.

✓ *Δ/μα εργασίας 2-thio-PAF 500μM*

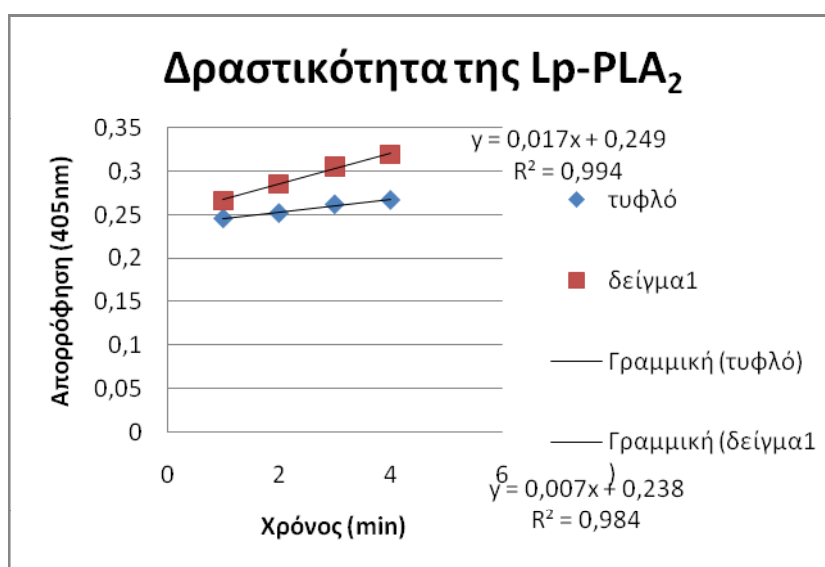
Για την παρασκευή αυτού του δ/ματος χρειάστηκαν 6,5μL stock δ/ματος 2-thio-PAF, τα οποία εξατμίστηκαν με τη χρήση υγρού Αζώτου. Μετά την εξαύτμιση διαλύθηκαν σε 1,2ml απιονισμένο νερό σε erppendorf σωλήνα.



Εικόνα 3. Φασματοφωτομετρικός Προσδιορισμός της Lp-PLA₂.

Φασματοφωτομετρικός Προσδιορισμός της Lp-PLA₂

- ✓ Τα δείγματα των ορών ξεπαγώνονται από τους -80°C και διατηρούνται καθόλη τη διάρκεια σε σταθερή θερμοκρασία.
- ✓ Σε κάθε πηγαδάκι των μικροπλακιδίων τοποθετούνται 90μL Tris-HCl (100mM) – EGTA(1mM), 40μL DTNB(1mM), 10μL Serum, και η αντίδραση ξεκινάει με 60μL 2-thio-PAF(500μM). Στο τυφλό αντί για 2-thio-PAF προστίθενται 60μL Tris-HCl – EGTA.
- ✓ Το πλακίδιο με τα δείγματα εισέρχεται στο φασματοφωτόμετρο και καταγράφεται η απορρόφηση στα 405nm για διάστημα 7min ανά λεπτό.
- ✓ Σε κάθε δείγμα και στο τυφλό του γίνεται καμπύλη αναφοράς. Η αντίδραση είναι γραμμική. (Σχήματα 13)



Σχήμα 13. Τυπική καμπύλη αναφοράς της δραστικότητας της Lp-PLA₂ στην αρχή της παρέμβασης σε ένα δείγμα.

Υπολογισμός της δραστικότητας της Lp-PLA₂

- ✓ Προσδιορίζεται το ΔA_{405} ανά λεπτό για το τυφλό και για το δείγμα από την κλιση των αντίστοιχων καμπύλων και αφαιρείται το ΔA_{405} ανά λεπτό του τυφλού από το ΔA_{405} ανά λεπτό του δείγματος.
- ✓ Χρήση της ακόλουθης φόρμουλας για τον υπολογισμό της δραστηρότητας της Lp-PLA₂. Ο ρυθμός αντίδρασης στα 414nm μπορεί να προσδιοριστεί με τη βοήθεια του συντελεστή μοριακής απορροφητικότητας του DTNB των 10,66mM.¹

$$\text{Δραστηρότητα της Lp-PLA}_2 = \frac{\Delta A_{405} / \text{min}}{10 \text{mM}^{-1}} \times \frac{0,200 \text{ml}}{0,01 \text{ml}} = \frac{\mu \text{mol}}{\text{min ml}}^2$$

3.3. Στατιστική ανάλυση

Όλα τα δεδομένα αναφέρονται ως Μέσος όρος $\pm$ Τυπική Απόκλιση και ως ποσοστιαία μεταβολή στην αρχή της παρέμβασης, στον ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1) και στους τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2), αντίστοιχα. Η κανονικότητα της κατανομής των υπό εξέταση μεταβλητών καθορίστηκε με τον έλεγχο Kolmogorov-Smirnov. Επιπλέον, η κανονικότητα της κατανομής ελέγχθηκε μέσω των διαγραμμάτων Q-Q μεταξύ των αναμενόμενων & των παρατηρούμενων τιμών της Lp-PLA₂. Ο έλεγχος T-Test (Independent sample T-Test) χρησιμοποιήθηκε για να καθοριστεί αν οι διαφορές μεταξύ των δύο φύλλων ήταν στατιστικά σημαντικές. Οι διαφορές στα χαρακτηριστικά των υποκειμένων της μελέτης κατά την έναρξη της παρέμβασης μεταξύ των τριών ομάδων εκτιμήθηκαν με την Ανάλυση της Διακύμανσης (one-way ANOVA). Ακόμη, ο συντελεστής Pearson χρησιμοποιήθηκε για τις συσχετίσεις. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε η Ανάλυση της Διακύμανσης Πολλαπλών Μετρήσεων (Repeated measures ANOVA), ούτως ώστε να καθοριστεί η σημαντικότητα των διαφορών μεταξύ των τριών ομάδων, αναφορικά με τις μεταβολές που παρατηρήθηκαν στις υπό μελέτη μεταβλητές από την αρχή της παρέμβασης, στον ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1) και στους τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2). Η ίδια

¹ Ο συντελεστής μοριακής απορροφητικότητας του DTNB στα 412nm είναι 13,6mM⁻¹cm⁻¹. Αυτός ο συντελεστής προσαρμόστηκε για το βάθος του δ/ματος στο πηγάδι (0,784cm). Ο συντελεστής μοριακής απορροφητικότητας του DTNB στα 405nm είναι 12,8mM⁻¹cm⁻¹ και με την προσαρμογή θα είναι 10,0mM⁻¹.

² Για να μετατραπεί σε nmol/min/ml πολλαπλασιάζουμε επί 1000.

ανάλυση χρησιμοποιήθηκε επίσης για να εκτιμηθεί η σημαντικότητα των διαφορών στις μέσες τιμές μεταξύ των τριών ομάδων σε κάθε χρονική στιγμή μετρήσεων (Δηλαδή baseline, F1, F2), αλλά και η σημαντικότητα των μεταβολών που παρατηρήθηκαν εντός της κάθε ομάδας (Δηλαδή εντός του control, του placebo και του intervention) κατά τους 1 και 3 μήνες παρέμβασης, αντίστοιχα. Στην παραπάνω ανάλυση ως μεταξύ-των-ομάδων παράγοντας (Between-group factor) χρησιμοποιήθηκαν οι υπό-εξέταση ομάδες (Δηλαδή control έναντι placebo έναντι intervention), ενώ ως εντός-των-ομάδων παράγοντας (Within-group factor) χρησιμοποιήθηκαν οι χρονικές στιγμές των μετρήσεων (Δηλαδή Έναρξη, 1 και 3 μήνες επανεξέτασης). Για τη διόρθωση του σφάλματος τύπου I κατά τις πολλαπλές ανά ζεύγη (post-hoc) συγκρίσεις χρησιμοποιήθηκε η διόρθωση Bonferroni. Τέλος, πραγματοποιήθηκε ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης που αξιολόγησε τη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της δραστηριότητας της LpPLA₂ (εξαρτημένη μεταβλητή) και των επιπέδων της LDL-C, HDL-C, των τριγλυκεριδίων και της πρόσληψης λακτόζης χρησιμοποιώντας συγχυτικούς παράγοντες. Όλοι οι έλεγχοι που πραγματοποιήθηκαν ήταν αμφίπλευροι και πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του στατιστικού λογισμικού SPSS 13.0. Το επίπεδο σημαντικότητας σε όλες τις αναλύσεις ήταν $P < 0.05$.

4. Αποτελέσματα

4.1. Ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού κατά την έναρξη της μελέτης

Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές $\pm$ τ.α βασικών δημογραφικών, ανθρωπομετρικών δεικτών του πληθυσμού που σχετίζονται με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο που προέκυψαν από το δείγμα στην αρχή της παρέμβασης (baseline).

Πίνακας 2. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού στην αρχή της παρέμβασης (baseline)

Ανθρωπομετρικοί δείκτες	Σύνολο Μέσος όρος $\pm$ ΤΑ	Γυναίκες Μέσος όρος $\pm$ ΤΑ	Άνδρες Μέσος όρος $\pm$ ΤΑ	P-value
Ηλικία (έτη)	48,3 $\pm$ 8,7 (n=104)	51,4 $\pm$ 8,8 (n=48)	46,9 $\pm$ 7,9 (n=56)	0,006**
Βάρος (kg)	78,81 $\pm$ 14,15 (n=104)	69,28 $\pm$ 9,32 (n=48)	86,98 $\pm$ 12,39 (n=56)	0,000***
ΔΜΣ (kg/m ²)	28,23 $\pm$ 3,76 (n=104)	27,28 $\pm$ 3,86 (n=48)	29,05 $\pm$ 3,49 (n=56)	0,015*
Περιφέρεια μέσης (cm)	91,40 $\pm$ 12,21 (n=104)	83,57 $\pm$ 10,35 (n=48)	98,12 $\pm$ 9,40 (n=56)	0,000***
Περιφέρεια ισχίων (cm)	103,79 $\pm$ 9,67 (n=104)	103,81 $\pm$ 6,53 (n=48)	103,77 $\pm$ 11,78 (n=56)	0,985
% ποσοστό λίπους σώματος	39,01 $\pm$ 6,22 (n=102)	42,16 $\pm$ 6,26 (n=47)	36,31 $\pm$ 4,78 (n=55)	0,000***
ΣΑΠ (mmHg)	131,48 $\pm$ 16,64 (n=104)	124,83 $\pm$ 15,68 (n=48)	137,18 $\pm$ 15,40 (n=56)	0,000***
ΔΑΠ (mmHg)	82,25 $\pm$ 10,33 (n=104)	80,10 $\pm$ 11,17 (n=48)	84,09 $\pm$ 9,26 (n=56)	0,049*

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001

Επιπλέον, ο Πίνακας 3 εμπεριέχει βασικά βιοχημικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού ως μέσες τιμές $\pm$ τ.α που σχετίζονται με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο που προέκυψαν από το δείγμα στην αρχή της παρέμβασης (baseline).

Πίνακας 3. Βιοχημικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού στην αρχή της παρέμβασης (baseline)

Βιοχημικοί δείκτες	Σύνολο Μέσος όρος $\pm$ TA	Γυναίκες Μέσος όρος $\pm$ TA	Άνδρες Μέσος όρος $\pm$ TA	P-value
LpPLA ₂ (nmol/min/ml)	28,76 $\pm$ 7,50 (n=104)	25,13 $\pm$ 6,21 (n=48)	31,87 $\pm$ 7,15 (n=56)	0,000***
TBARS (nmol/100μl)	0,15 $\pm$ 0,09 (n=81)	0,11 $\pm$ 0,04 (n=40)	0,16 $\pm$ 0,13 (n=49)	0,019*
CRP(mg/dl)	2,73 $\pm$ 2,49 (n=103)	2,54 $\pm$ 2,18 (n=47)	2,89 $\pm$ 2,73 (n=56)	0,489
TAC(nmol/μl)	50,55 $\pm$ 3,69 (n=101)	50,41 $\pm$ 3,79 (n=46)	50,67 $\pm$ 3,64 (n=55)	0,727
Ινσουλίνη(μUI/ml)	11,23 $\pm$ 6,14 (n=103)	10,17 $\pm$ 5,01 (n=47)	12,13 $\pm$ 6,87 (n=56)	0,108
Ομοκυστεΐνη(μmol/l)	12,39 $\pm$ 3,60 (n=103)	10,36 $\pm$ 2,26 (n=47)	14,09 $\pm$ 3,64 (n=56)	0,000***
β – καροτένιο(mg/dl)	37,35 $\pm$ 19,45 (n=103)	42,05 $\pm$ 20,74 (n=47)	33,40 $\pm$ 17,52 (n=56)	0,024*
B ₁₂	416,68 $\pm$ 127,75 (n=103)	450,60 $\pm$ 127,43 (n=47)	388,21 $\pm$ 121,97 (n=56)	0,013*
Φυλλικό οξύ(ng/ml)	8,22 $\pm$ 3,12 (n=103)	9,59 $\pm$ 3,28 (n=47)	7,07 $\pm$ 2,47 (n=56)	0,000***
Γλυκόζη αίματος (mg/dl)	96,84 $\pm$ 10,57 (n=103)	97,30 $\pm$ 10,39 (n=47)	96,46 $\pm$ 10,81 (n=56)	0,692
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	252,91 $\pm$ 31,14 (n=103)	254,32 $\pm$ 33,16 (n=47)	251,73 $\pm$ 29,59 (n=56)	0,677
Ολική χοληστερόλη/HDL-C	4,96 $\pm$ 1,57 (n=103)	4,30 $\pm$ 1,40 (n=47)	5,51 $\pm$ 1,51 (n=56)	0,000***
HDL-C (mg/dl)	55,22 $\pm$ 15,91 (n=103)	62,79 $\pm$ 14,76 (n=47)	48,88 $\pm$ 14,04 (n=56)	0,000***
LDL-C (mg/dl)	172,91 $\pm$ 29,29 (n=103)	168,55 $\pm$ 30,20 (n=47)	176,57 $\pm$ 28,25 (n=56)	0,168
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	123,29 $\pm$ 47,92 (n=103)	114,49 $\pm$ 45,96 (n=47)	130,68 $\pm$ 48,69 (n=56)	0,088
Apo A (mg/dl)	170,36 $\pm$ 29,23 (n=103)	182,77 $\pm$ 25,33 (n=47)	159,95 $\pm$ 28,38 (n=56)	0,000***
Apo B (mg/dl)	118,24 $\pm$ 21,20 (n=103)	112,23 $\pm$ 20,99 (n=47)	123,29 $\pm$ 20,21 (n=56)	0,008**

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001

Όπως φαίνεται από τους παραπάνω Πίνακες (2,3), ο πληθυσμός που συμμετείχε στην παρέμβαση, έχει αυξημένο ΔΜΣ, (υπέρβαρος) και αυξημένο % ποσοστό σωματικού λίπους. Ως βασικό κριτήριο επιλογής του, ο πληθυσμός είναι υπερχοληστερολαιμικός με αυξημένη ολική και LDL χοληστερόλη (>200mg/dl και >160mg/dl αντίστοιχα), ενώ η HDL είναι οριακά χαμηλή (<60 mg/dl). Όσον αφορά τις υπόλοιπες βιοχημικές αναλύσεις, φαίνονται να είναι εντός των φυσιολογικών ορίων. Ο πληθυσμός μας είναι δηλαδή νορμογλυκαιμικός και έχει φυσιολογικά επίπεδα αρτηριακής πίεσης. Παράλληλα, παρατηρούμε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών, τόσο στα ανθρωπομετρικά (ηλικία, ΔΜΣ, περιφέρεια

μέσης, %ποσοστό σωματικού λίπους), όσο και στα βιοχημικά χαρακτηριστικά (ΣΑΠ, ΔΑΠ, Ολική χοληστερόλη/HDL-C, HDL, Apo-A, Apo-B, Ομοκυστεΐνη, B₁₂). Η διαφορά της δραστηριότητας της LpPLA₂ ανάμεσα στα 2 φύλα, είναι επίσης στατιστικά σημαντική, με τους άνδρες να εμφανίζουν πιο αυξημένα επίπεδα σε σύγκριση με αυτά των γυναικών.

4.2. Διαφορές στα χαρακτηριστικά των τριων ομάδων παρέμβασης κατά την έναρξη της παρέμβασης

Τα αρχικά χαρακτηριστικά των 104 υποκειμένων που συμμετείχαν σε όλη τη διάρκεια της μελέτης συνοψίζονται στους Πίνακες 4 και 5. Σύμφωνα με τα δεδομένα των Πινάκων 3 και 4 δε παρατηρήθηκαν διαφορές σε βιοχημικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά μεταξύ των τριών υπό-εξέταση ομάδων κατά την έναρξη της μελέτης, υποδεικνύοντας έτσι μία ομοιογένεια μεταξύ των υποκειμένων στις τρεις ομάδες πριν την έναρξη της παρέμβασης.

Πίνακας 4. Βιοχημικά χαρακτηριστικά των τριών ομάδων παρέμβασης στην αρχή της παρέμβασης (baseline).

	Control	Placebo	Intervention	P-value
	<i>Μέσος όρος ± ΤΑ n(♂/♀)</i>	<i>Μέσος όρος ± ΤΑ n(♂/♀)</i>	<i>Μέσος όρος ± ΤΑ n(♂/♀)</i>	
n(♂/♀)	31 (16/15)	31 (19/12)	33 (15/18)	0,443
LpPLA₂(nmol/min/ml)	28,91±6,88 29(16/13)	28,34±8,18 29(17/12)	28,70±7,74 32(14/18)	0,960
TBARS (nmol/100μl)	0,15±0,16 27(14/13)	0,15±0,09 25(16/9)	0,13±0,04 25(10/15)	0,742
CRP(mg/dl)	49,76±4,05 29(16/13)	51,57±3,04 28(16/12)	50,87±3,45 31(14/17)	0,155
TAC(nmol/μl)	2,50±3,03 29(16/13)	2,89±2,34 29(17/12)	2,81±2,41 32(14/18)	0,839
Ινσουλίνη(μUI/ml)	12,14±5,85 29(16/13)	10,17±4,11 29(17/12)	9,50±3,88 32(14/18)	0,081
Ομοκυστεΐνη(μmol/l)	11,90±3,52 29(16/13)	11,93±2,58 29(17/12)	12,47±2,75 32(14/18)	0,698
β – καροτενίο(mg/dl)	36,94±18,51 29(16/13)	41,68±23,54 29(17/12)	36,22±18,66 32(14/18)	0,533
B₁₂	401,66±147,93 29(16/13)	462,90±138,96 29(17/12)	399,19±100,63 32(14/18)	0,108
Φυλλικό οξύ(ng/ml)	7,92±3,21 29(16/13)	8,43±2,97 29(17/12)	8,53±2,99 32(14/18)	0,708
Γλυκόζη αίματος (mg/dl)	96,90±7,18 29(16/13)	96,83±9,90 29(17/12)	97,22±12,28 32(14/18)	0,987
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	255,28±31,99 29(16/13)	251,59±32,54 29(17/12)	252,22±31,32 32(14/18)	0,894
Ολική χοληστερόλη/HDL-C	5,16±1,87 29(16/13)	4,94±1,41 29(17/12)	4,73±1,60 32(14/18)	0,586
HDL-C (mg/dl)	54,52±17,47 29(16/13)	54,52±14,82 29(17/12)	57,78±16,72 32(14/18)	0,666

LDL-C (mg/dl)	173,93±32,04 29(16/13)	172,07±31,58 29(17/12)	172,69±27,20 32(14/18)	0,972
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	132,45±57,27 29(16/13)	125,28±43,33 29(17/12)	108,84±39,96 32(14/18)	0,139
Apo A (mg/dl)	172,45±30,48 29(16/13)	168,03±28,52 29(16/12)	172,13±30,35 32(14/17)	0,819
Apo B (mg/dl)	119,66±25,06 29(16/13)	119,31±22,26 29(17/12)	116,25±18,92 32(14/18)	0,801

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

Πίνακας 5. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των τριών ομάδων παρέμβασης στην αρχή της παρέμβασης (baseline).

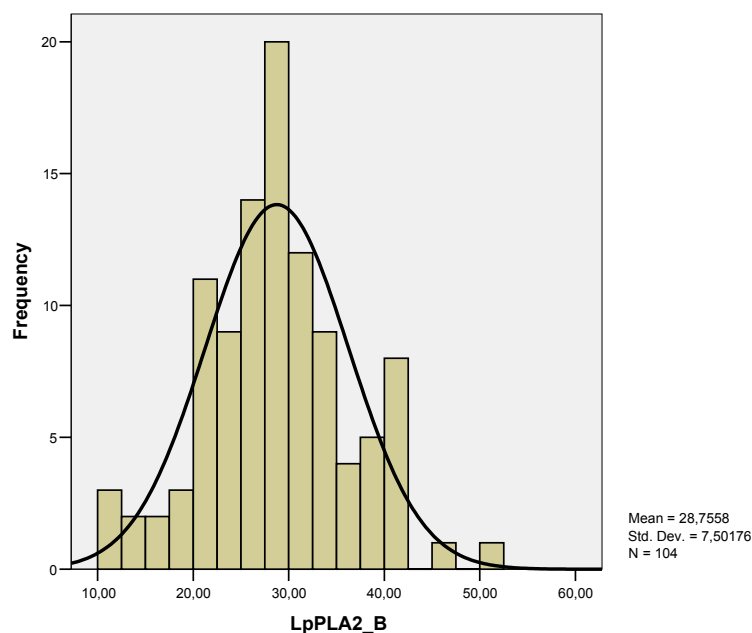
	Control	Placebo	Intervention	P-value
	<i>Μέσος όρος ± TA n(♂/♀)</i>	<i>Μέσος όρος ± TA n(♂/♀)</i>	<i>Μέσος όρος ± TA n(♂/♀)</i>	
n(♂/♀)	31 (16/15)	31 (19/12)	33 (15/18)	0,443
Ηλικία (έτη)	50.3 ± 3.1	47.0 ± 3.6	50.9 ± 9.1	0,166
Βάρος (kg)	77,18±15,78 29(16/13)	80,47±12,26 29(17/12)	77,12±12,13 32(14/18)	0,552
ΔΜΣ (kg/m²)	27,89±3,73 29(16/13)	28,82±3,40 29(17/12)	27,90±3,44 32(14/18)	0,513
Περιφέρεια μέσης (cm)	90,29±13,28 29(16/13)	93,13±9,77 29(17/12)	89,45±11,41 32(14/18)	0,438
Περιφέρεια ισχίων (cm)	102,72±6,47 29(16/13)	105,22±5,78 29(17/12)	104,30±6,16 32(14/18)	0,296
ΣΑΠ (mmHg)	128,10±16,68 29(16/13)	136,34±15,66 29(17/12)	129,69±15,50 32(14/18)	0,117
ΔΑΠ (mmHg)	79,66±8,84 29(16/13)	84,45±10,98 29(17/12)	82,34±11,22 32(14/18)	0,220
% ποσοστό λίπους σώματος	38,03±5,88 29(16/13)	39,20±6,43 28(16/12)	40,72±5,66 31(14/17)	0,223

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

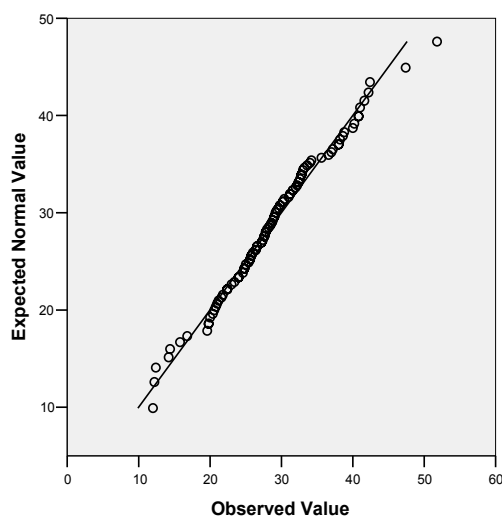
4.3. Κατανομή της δραστικότητας της LpPLA₂

Προκειμένου να προχωρήσουμε σε περαιτέρω στατιστική ανάλυση των δεδομένων της παρέμβασης αυτής, έγινε έλεγχος της κανονικότητας της δραστικότητας της LpPLA₂. Ο έλεγχος της κανονικότητας έγινε με το τεστ Kolmogorov- Smirnov, με το οποίο βρέθηκε ότι οι τιμές της δραστικότητας της LpPLA₂ ακολουθούν την κανονική κατανομή ($P=0,768>0,5$) στην αρχική φάση της παρέμβασης (baseline) καθώς και στον έναν και στους τρεις μήνες μετά την έναρξη

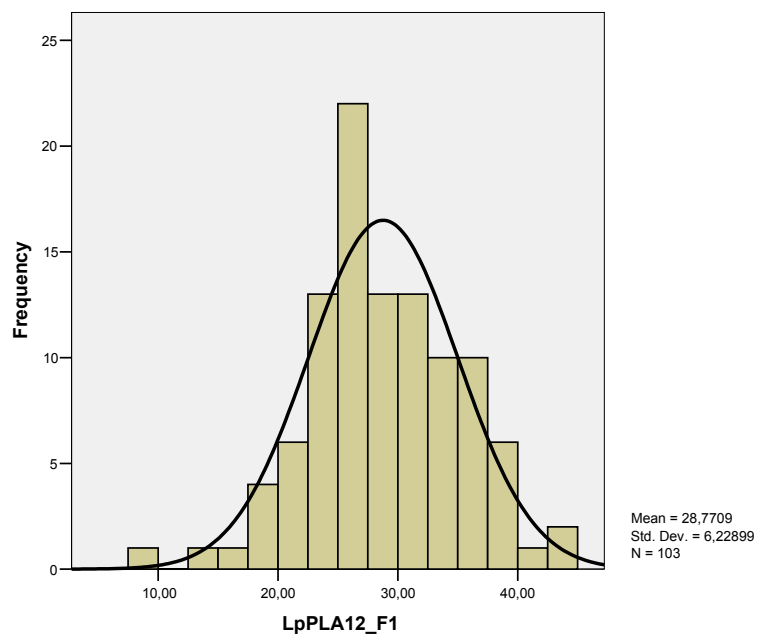
της παρέμβασης (follow up 1 και follow up2) ($P=0,572$ και $P=0,564$ αντίστοιχα). Το αποτέλεσμα αυτά επιβεβαιώνονται και από τα ιστογράμματα κατανομής των τιμών της δραστηριότητας της LpPLA₂ στα σχήματα (14), (16) και (18) που παρουσιάζονται παρακάτω.



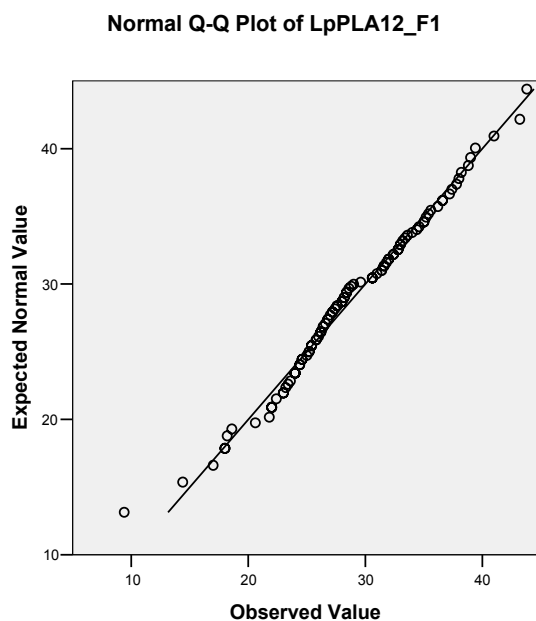
Σχήμα 14. Η κατανομή της δραστηριότητας της LpPLA₂ στην αρχική φάση της παρέμβασης (baseline)



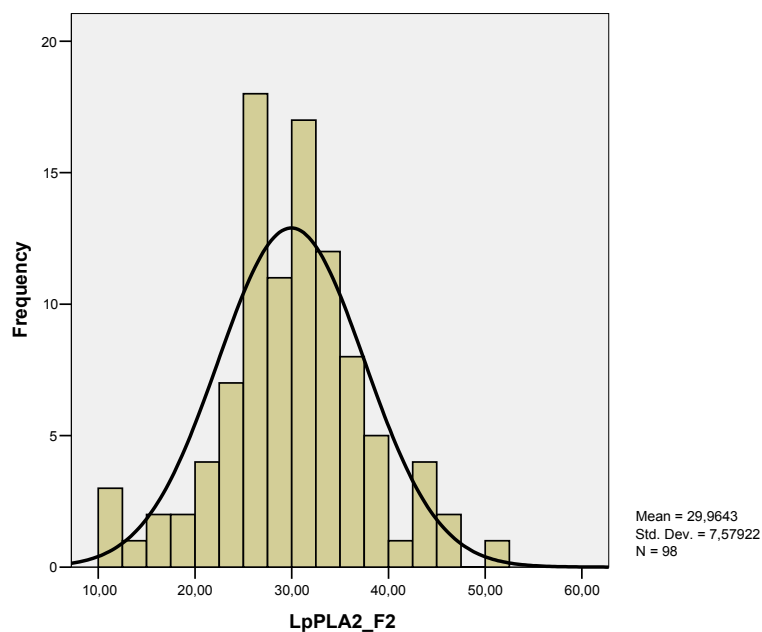
Σχήμα 15. Διάγραμμα Q-Q μεταξύ των αναμενόμενων & των παρατηρούμενων τιμών της Lp-PLA₂ στην αρχική φάση της παρέμβασης (baseline).



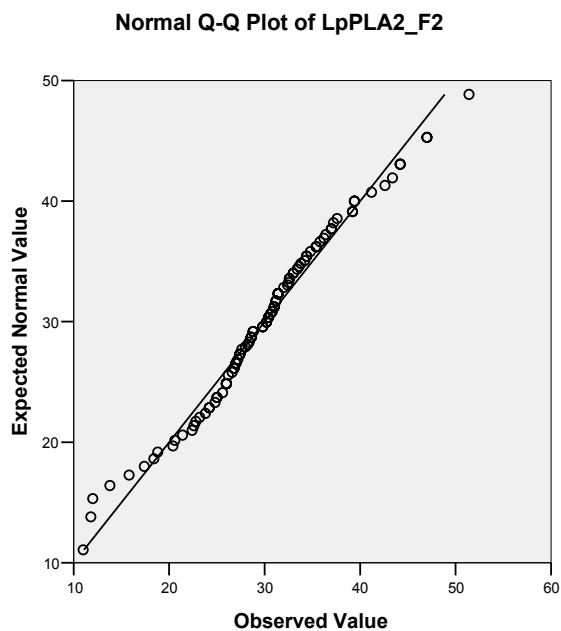
Σχήμα 16. Η κατανομή της δραστηριότητας της LpPLA₂ ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1).



Σχήμα 17. Διάγραμμα Q-Q μεταξύ των αναμενόμενων & των παρατηρούμενων τιμών της Lp-PLA₂ ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1).



Σχήμα 18. Η κατανομή της δραστικότητας της LpPLA₂ τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2).



Σχήμα 19. Διάγραμμα Q-Q μεταξύ των αναμενόμενων & των παρατηρούμενων τιμών της Lp-PLA₂ τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2).

4.4 Συσχέτιση της δραστηριότητας της LpPLA₂ με ανθρωπομετρικούς και βιοχημικούς δείκτες στις τρεις φάσεις της παρέμβασης

Στη συνέχεια συσχετίστηκαν τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂, στο συνολικό πληθυσμό και ξεχωριστά σε άνδρες και γυναίκες, με τα επίπεδα των βιοχημικών και ανθρωπομετρικών δεικτών στις τρεις φάσεις της παρέμβασης. Επειδή και στις τρεις φάσεις της παρέμβασης η δραστηριότητα της LpPLA₂ ακολουθούσε κανονική κατανομή έγινε χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson για την εύρεση στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων.

4.4.1. Συσχετίσεις στην αρχή της παρέμβασης (baseline)

Πίνακας 6. Συσχέτιση βιοχημικών χαρακτηριστικών με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ στην αρχή της παρέμβασης (baseline)

	LpPLA ₂ (baseline)		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
TBARS (nmol/100μl)	r=0,097, p=0,367 (n=89)	r=-0,334, p=0,035* (n=40)	r=0,037, p=0,800 (n=49)
TAC (nmol/μl)	r=-0,151, p=0,132 (n=101)	r=-0,171, p=0,257 (n=46)	r=-0,200, p=0,143 (n=55)
CRP (mg/dl)	r=0,053, p=0,597 (n=103)	r=-0,007, p=0,964 (n=47)	r=0,043, p=0,753 (n=56)
Ινσουλίνη (μUI/ml)	r=0,014, p=0,891 (n=103)	r=0,078, p=0,601 (n=47)	r=-0,142, p=0,297 (n=56)
Ομοκυστεΐνη (μmol/l)	r=0,125, p=0,209 (n=103)	r=-0,018, p=0,904 (n=47)	r=-0,197, p=0,145 (n=56)
β – καροτένιο(mg/dl)	r=-0,113, p=0,255 (n=103)	r=-0,098, p=0,511 (n=47)	r=0,055, p=0,685 (n=56)
B₁₂	r=-0,103, p=0,301 (n=103)	r=-0,057, p=0,702 (n=47)	r=0,056, p=0,680 (n=56)
Φυλλικό οξύ (ng/ml)	r=-0,161, p=0,104 (n=103)	r=-0,126, p=0,398 (n=47)	r=0,169, p=0,212 (n=56)
Γλυκόζη αίματος (mg/dl)	r=0,030, p=0,760 (n=103)	r=-0,129, p=0,387 (n=47)	r=0,183, p=0,177 (n=56)
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	r=0,155, p=0,119 (n=103)	r=0,132, p=0,376 (n=47)	r=0,247, p=0,066 (n=56)

Ολική χοληστερόλη/HDL-C	$r=0,458, p=0,000^{***}$ (n=103)	$r=0,263, p=0,074$ (n=47)	$r=0,405, p=0,002^{**}$ (n=56)
HDL-C (mg/dl)	$r=-0,371, p=0,000^{***}$ (n=103)	$r=-0,178, p=0,230$ (n=47)	$r=-0,250, p=0,064$ (n=56)
LDL-C (mg/dl)	$r=0,300, p=0,002^{**}$ (n=103)	$r=0,240, p=0,104$ (n=47)	$r=0,296, p=0,027^{*}$ (n=56)
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	$r=0,184, p=0,063$ (n=103)	$r=-0,027, p=0,856$ (n=47)	$r=0,226, p=0,093$ (n=56)
Apo A (mg/dl)	$r=-0,362, p=0,000^{***}$ (n=103)	$r=-0,290, p=0,048^{*}$ (n=47)	$r=-0,188, p=0,165$ (n=56)
Apo B (mg/dl)	$r=0,302, p=0,002^{**}$ (n=103)	$r=0,161, p=0,280$ (n=47)	$r=0,257, p=0,056^{*}$ (n=56)

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 6 στην αρχή της παρέμβασης (baseline), παρατηρούμε ότι τα TBARS έχει στατιστικά σημαντική, αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα της δραστικότητας της LpPLA₂, μόνο στον γυναικείο πληθυσμό. Επίσης, παρατηρούνται οι αναμενόμενες συσχετίσεις των επιπέδων της δραστικότητας της LpPLA₂ με το πηλίκΟ Ολική χοληστερόλη/HDL-C, τις LDL-C και Apo B εμφανίζοντας στατιστικά σημαντική, θετική συσχέτιση στο σύνολο του πληθυσμού και στους άνδρες, οι HDL-C και Apo A έχουν στατιστικά σημαντική, αρνητική συσχέτιση στο σύνολο του πληθυσμού και η Apo A και στις γυναίκες. Τα τριγλυκερίδια εμφάνισαν οριακή θετική συσχέτιση στο σύνολο και στους άνδρες.

Με ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης και χρησιμοποιώντας ως συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, το φύλο και το ΔΜΣ, βρέθηκε ότι η στατιστική σημαντικότητα στη συσχέτιση της δραστικότητας της LpPLA₂ με την LDL-C, την HDL-C και με τα τριγλυκερίδια (οριακά) διατηρείται όπως φαίνεται στους Πίνακες 7, 8, 9 αντίστοιχα.

Πίνακας 7. Αποτελέσματα από γραμμική παλινδρόμηση που αξιολόγησε την συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της δραστικότητας της LpPLA₂ (εξαρτημένη μεταβλητή) και των επιπέδων της LDL-C (ανεξάρτητη μεταβλητή).

Μοντέλο για τη δραστικότητα της LpPLA₂	B	S.E.	P
LDL-C	0,064	0,022	0,004 **
Ηλικία(έτη)	-0,113	0,076	0,139
Φύλο	6,447	1,347	0,000 ***
ΔΜΣ (kg/m²)	-0,404	0,172	0,021 *

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

Από τον Πίνακα 7 διαπιστώνουμε ότι η συσχέτιση της LDL-C με τη δραστικότητα της LpPLA₂ είναι στατιστικά σημαντική ($p=0,004$). Για κάθε 1 mg/dl αύξηση της LDL-C η δραστικότητα της LpPLA₂ αυξάνεται κατά 0,064 nmol/min/ml.

Πίνακας 8. Αποτελέσματα από γραμμική παλινδρόμηση που αξιολόγησε την συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της δραστηριότητας της LpPLA₂ (εξαρτημένη μεταβλητή) και των επιπέδων της HDL-C (ανεξάρτητη μεταβλητή).

Μοντέλο για τη δραστηριότητα της LpPLA ₂	B	S.E.	P
HDL-C	-0,099	0,046	0,033*
Ηλικία(έτη)	-0,058	0,078	0,459
Φύλο	5,861	1,469	0,000***
ΔΜΣ (kg/m ²)	-0,434	0,175	0,015*

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

Από τον Πίνακα 8 διαπιστώνουμε ότι η συσχέτιση της HDL-C με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ είναι στατιστικά σημαντική ($p=0,033$). Για κάθε 1 mg/dl αύξηση της HDL-C η δραστηριότητα της LpPLA₂ μειώνεται κατά 0,099 nmol/min/ml.

Πίνακας 9. Αποτελέσματα από γραμμική παλινδρόμηση που αξιολόγησε την συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της δραστηριότητας της LpPLA₂ (εξαρτημένη μεταβλητή) και των επιπέδων TG (ανεξάρτητη μεταβλητή).

Μοντέλο για τη δραστηριότητα της LpPLA ₂	B	S.E.	P
TG	0,024	0,014	0,092
Ηλικία(έτη)	-0,087	0,077	0,266
Φύλο	6,812	1,375	0,000***
ΔΜΣ (kg/m ²)	-0,478	0,179	0,009**

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

Τέλος, στον Πίνακα 9 φαίνεται ότι η συσχέτιση των τριγλυκεριδίων με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ είναι οριακά στατιστικά σημαντική ($p=0,092$). Για κάθε 1 mg/dl αύξηση των τριγλυκεριδίων, η δραστηριότητα της LpPLA₂ αυξάνεται κατά 0,024 nmol/min/ml.

Πίνακας 10. Συσχέτιση ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ στην αρχή της παρέμβασης (baseline)

	LpPLA ₂ (baseline)		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
Ηλικία (έτη)	$r=-0,193$, $p=0,049^*$ ($n=104$)	$r=-0,223$, $p=0,127$ ($n=48$)	$r=-0,016$, $p=0,907$ ($n=56$)

Βάρος (kg)	r=0,157, p=0,111 (n=104)	r=-0,018, p=0,903 (n=48)	r=-0,270, p=0,044* (n=56)
ΔΜΣ (kg/m²)	r=-0,094, p=0,342 (n=104)	r=-0,193, p=0,189 (n=48)	r=-0,266, p=0,047* (n=56)
Περιφέρεια μέσης (cm)	r=0,181, p=0,066 (n=104)	r=-0,073, p=0,624 (n=48)	r=-0,165, p=0,225 (n=56)
Περιφέρεια ισχίων (cm)	r=-0,144, p=0,144 (n=104)	r=-0,164, p=0,265 (n=48)	r=-0,164, p=0,228 (n=56)
ΣΑΠ (mmHg)	r=0,263, p=0,007** (n=104)	r=0,169, p=0,251 (n=48)	r=0,079, p=0,561 (n=56)
ΔΑΠ (mmHg)	r=0,055, p=0,580 (n=104)	r=-0,029, p=0,846 (n=48)	r=-0,045, p=0,744 (n=56)
% ποσοστό λίπους σώματος	r=-0,315, p=0,001*** (n=102)	r=-0,119, p=0,425 (n=47)	r=-0,138, p=0,315 (n=55)

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001

Όσον αφορά τις συσχετίσεις στην αρχή της παρέμβασης (baseline)(Πίνακας 10), παρατηρούμε ότι το βάρος και ο ΔΜΣ μόνο στους άνδρες σχετίζονται αρνητικά με τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂. Η ΣΑΠ εμφανίζει θετική συσχέτιση τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂ στο σύνολο του πληθυσμού και όχι στα δύο φύλα. Οριακή θετική συσχέτιση φαίνεται να εμφανίζει και η Περιφέρεια μέσης στο σύνολο με p=0,066. Καθώς παρατηρήθηκε και αρνητική συσχέτιση της ηλικίας και του % ποσοστού λίπους σώματος με τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂.

4.4.2. Συσχετίσεις στον ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1)

Πίνακας 11. Συσχέτιση βιοχημικών χαρακτηριστικών με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1)

	LpPLA ₂ (follow up 1)		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
TBARS (nmol/100μl)	r=0,096, p=0,374 (n=88)	r=-0,123, p=0,454 (n=39)	r=0,166, p=0,256 (n=49)
TAC (nmol/μl)	r=-0,063, p=0,519 (n=106)	r=-0,084, p=0,569 (n=48)	r=-0,023, p=0,862 (n=58)
CRP (mg/dl)	r=-0,143, p=0,143 (n=106)	r=-0,156, p=0,291 (n=48)	r=-0,208, p=0,118 (n=58)
Ινσουλίνη (μUI/ml)	r=0,234, p=0,016* (n=106)	r=0,093, p=0,528 (n=48)	r=0,220, p=0,097 (n=58)
Ομοκυστεΐνη (μmol/l)	r=0,265, p=0,006** (n=105)	r=0,366, p=0,010** (n=48)	r=0,074, p=0,587 (n=57)
β – καροτένιο (mg/dl)	r=0,110, p=0,260 (n=106)	r=0,269, p=0,065 (n=48)	r=0,168, p=0,208 (n=58)
B₁₂	r=-0,224, p=0,021* (n=106)	r=-0,015, p=0,920 (n=48)	r=-0,246, p=0,063 (n=58)
Φυλλικό οξύ (ng/ml)	r=-0,238, p=0,014* (n=106)	r=-0,106, p=0,472 (n=48)	r=-0,123, p=0,358 (n=58)
Γλυκόζη αίματος (mg/dl)	r=0,076, p=0,437 (n=106)	r=0,087, p=0,559 (n=48)	r=-0,002, p=0,991 (n=58)

Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	r=0,275, p=0,004*** (n=106)	r=0,406, p=0,004** (n=48)	r=0,278, p=0,035* (n=58)
Ολική χοληστερόλη/HDL-C	r=0,392, p=0,000*** (n=106)	r=0,271, p=0,063 (n=48)	r=0,377, p=0,003** (n=58)
HDL-C (mg/dl)	r=-0,206, p=0,034* (n=106)	r=-0,019, p=0,899 (n=48)	r=-0,150, p=0,261 (n=58)
LDL-C (mg/dl)	r=0,236, p=0,015* (n=106)	r=0,358, p=0,012* (n=48)	r=0,154, p=0,249 (n=58)
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	r=0,460, p=0,000*** (n=106)	r=0,240, p=0,100 (n=48)	r=0,587, p=0,000*** (n=58)
Apo A (mg/dl)	r=-0,143, p=0,143 (n=106)	r=-0,016, p=0,913 (n=48)	r=-0,040, p=0,763 (n=58)
Apo B (mg/dl)	r=0,342, p=0,000*** (n=106)	r=0,386, p=0,007** (n=48)	r=0,264, p=0,045* (n=58)

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001

Σύμφωνα με τα δεδομένα που συνοψίζονται στον Πίνακα 11 παρατηρούμε ότι ένα μήνα μετά από την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1) διατηρούνται οι αναμενόμενες συσχετίσεις των επιπέδων της δραστηριότητας της LpPLA₂ με το πηλίκΟ Ολική χοληστερόλη/HDL-C, την Apo B και την Ολική χοληστερόλη εμφανίζοντας στατιστικά σημαντική, θετική συσχέτιση στο σύνολο του πληθυσμού στους άνδρες και στις γυναίκες. Σχετικά με την LDL-C και τα τριγλυκερίδια παρουσιάζουν θετική συσχέτιση στο συνολικό πληθυσμό, στις γυναίκες και στους άνδρες αντίστοιχα, καθώς και η HDL-C έχει στατιστικά σημαντική, αρνητική συσχέτιση στο σύνολο του πληθυσμού και όχι στα 2 φύλα. Επιπλέον, τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂ σχετίζονται στατιστικά σημαντικά με r=0,234 στο σύνολο του πληθυσμού, ακολούθως και τα επίπεδα της Ομοκυστεΐνης με r=0,265 στον πληθυσμό και στις γυναίκες r=0,366. Τέλος, η βιταμίνη B₁₂ και το φυλλικό οξύ μειώνονται με την αύξηση των επιπέδων της δραστηριότητας της LpPLA₂ μόνο στο σύνολο.

Πίνακας 12. Συσχέτιση ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1)

	LpPLA ₂ (follow up 1)		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
Ηλικία (έτη)	r=-0,077, p=0,437 (n=103)	r=0,139 p=0,347 (n=48)	r=-0,155, p=0,258 (n=55)
Βάρος (kg)	r=0,246, p=0,011* (n=106)	r=0,107, p=0,470 (n=48)	r=0,053, p=0,694 (n=58)
ΔΜΣ (kg/m²)	r=0,144, p=0,150 (n=102)	r=0,128, p=0,393 (n=47)	r=0,042, p=0,758 (n=55)
Περιφέρεια μέσης (cm)	r=0,247, p=0,011* (n=106)	r=0,045, p=0,763 (n=48)	r=0,133, p=0,320 (n=58)
Περιφέρεια ισχίων (cm)	r=0,033, p=0,739 (n=106)	r=0,056, p=0,706 (n=48)	r=-0,036, p=0,790 (n=58)

ΣΑΠ (mmHg)	r=0,104, p=0,290 (n=106)	r=0,236, p=0,107 (n=48)	r=-0,117, p=0,381 (n=58)
ΔΑΠ (mmHg)	r=-0,026, p=0,794 (n=106)	r=0,035, p=0,813 (n=48)	r=-0,229, p=0,084 (n=58)
% ποσοστό λίπους σώματος	r=-0,110, p=0,263 (n=105)	r=0,071, p=0,635 (n=47)	r=-0,044, p=0,745 (n=58)

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001

Τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂ φαίνεται να αυξάνονται καθώς αυξάνεται το βάρος των γυναικών του πληθυσμού και καθώς μειώνεται οριακά η ΔΑΠ στον ανδρικό πληθυσμό. Επίσης, διατηρείται η στατιστικά σημαντική, θετική συσχέτιση της περιφέρειας μέσης με τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂ ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1), όπως απεικονίζεται και στον Πίνακα 12.

4.4.3. Συσχετίσεις στους τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2)

Πίνακας 13. Συσχέτιση βιοχημικών χαρακτηριστικών με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2)

	LpPLA ₂ (follow up 2)		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
TBARS (nmol/100μl)	r=0,166, p=0,131 (n=84)	r=-0,303, p=0,072 (n=36)	r=0,213, p=0,146 (n=48)
TAC (nmol/μl)	r=0,115, p=0,252 (n=101)	r=-0,044, p=0,775	r=0,250, p=0,063 (n=56)
CRP (mg/dl)	r=-0,094, p=0,359 (n=97)	r=-0,088, p=0,571 (n=44)	r=-0,179, p=0,200 (n=53)
Ινσουλίνη (μUI/ml)	r=0,163, p=0,104 (n=101)	r=0,135, p=0,376 (n=45)	r=0,115, p=0,400 (n=56)
Ομοκυστεΐνη (μmol/l)	r=0,181, p=0,069 (n=101)	r=-0,191, p=0,209 (n=45)	r=0,173, p=0,204 (n=56)
β – καροτένιο (mg/dl)	r=0,028, p=0,781 (n=101)	r=-0,027, p=0,861 (n=45)	r=0,226, p=0,094 (n=56)
B ₁₂	r=-0,197, p=0,048* (n=101)	r=-0,004, p=0,978 (n=45)	r=-0,251, p=0,062 (n=56)
Φυλλικό οξύ (ng/ml)	r=-0,174, p=0,081 (n=101)	r=0,048, p=0,755 (n=45)	r=-0,212, p=0,117 (n=56)
Γλυκόζη αίματος (mg/dl)	r=0,120, p=0,232 (n=101)	r=0,217, p=0,151 (n=45)	r=0,035, p=0,796 (n=56)
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	r=0,258, p=0,009** (n=101)	r=0,410, p=0,005** (n=45)	r=0,195, p=0,150 (n=56)
Ολική χοληστερόλη/HDL-C	r=0,427, p=0,000*** (n=101)	r=0,384, p=0,009** (n=45)	r=0,378, p=0,004** (n=56)
HDL-C (mg/dl)	r=-0,315, p=0,001*** (n=101)	r=-0,253, p=0,093 (n=45)	r=-0,224, p=0,097 (n=56)
LDL-C (mg/dl)	r=0,317, p=0,001*** (n=101)	r=0,458, p=0,002** (n=45)	r=0,209, p=0,123 (n=56)
Τριγλυκερίδια	r=0,286, p=0,004**	r=0,208, p=0,170	r=0,250, p=0,063

(mg/dl)	(n=101)	(n=45)	(n=56)
Apo A (mg/dl)	r=-0,270, p=0,006** (n=101)	r=-0,225, p=0,137 (n=45)	r=-0,170, p=0,212 (n=56)
Apo B (mg/dl)	r=0,388, p=0,000*** (n=101)	r=0,483, p=0,001*** (n=45)	r=0,265, p=0,048* (n=56)

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001

Ο Πίνακας 13 εμπεριέχει τις συσχετίσεις των βιοχημικών χαρακτηριστικών με τη δραστικότητα της LpPLA₂ στους τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2). Συνεχίζεται η θετική συσχέτιση του πηλίκου Ολική χοληστερόλη/HDL-C και της Apo B με τη δραστικότητα της LpPLA₂ στο σύνολο και στα 2 φύλα καθώς επίσης και η αρνητική συσχέτιση της HDL-C και της Apo A στο συνολικό πληθυσμό. Σχετικά με την Ολική και την LDL-C στις γυναίκες και στο σύνολο σχετίζονται θετικά με τα επίπεδα της δραστικότητας της LpPLA₂. Ακόμη, η αρνητική της βιταμίνης B₁₂ και η θετική συσχέτιση της Ομοκυστεΐνης με τη δραστικότητα της LpPLA₂ επιβεβαιώνεται για άλλη μια φορά στο σύνολο.

Πίνακας 10. Συσχέτιση ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών με τη δραστικότητα της LpPLA₂ τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2)

	LpPLA ₂ (follow up 2)		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
Ηλικία (έτη)	r=-0,100, p=0,327 (n=98)	r=0,033 p=0,831 (n=45)	r=-0,135, p=0,336 (n=53)
Βάρος (kg)	r=0,074, p=0,464 (n=101)	r=-0,167, p=0,274 (n=45)	r=-0,057, p=0,678 (n=56)
ΔΜΣ (kg/m²)	r=0,010, p=0,921 (n=101)	r=-0,037, p=0,810 (n=45)	r=-0,060, p=0,659 (n=56)
Περιφέρεια μέσης (cm)	r=0,131, p=0,191 (n=101)	r=0,074, p=0,629 (n=45)	r=-0,080, p=0,557 (n=56)
Περιφέρεια ισχίων (cm)	r=-0,110, p=0,276 (n=101)	r=-0,224, p=0,138 (n=45)	r=-0,090, p=0,508 (n=56)
ΣΑΠ (mmHg)	r=0,067, p=0,508 (n=101)	r=-0,052, p=0,736 (n=45)	r=0,012, p=0,928 (n=56)
ΔΑΠ (mmHg)	r=-0,056, p=0,576 (n=101)	r=-0,183, p=0,228 (n=45)	r=-0,091, p=0,505 (n=56)
% ποσοστό λίπους σώματος	r=-0,185, p=0,064 (n=101)	r=-0,160, p=0,293 (n=45)	r=-0,046, p=0,738 (n=56)

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001

Τέλος, στους τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2), η αύξηση της τη δραστικότητας της LpPLA₂ σχετίζεται με τη μείωση του % ποσοστό λίπους σώματος στο σύνολο οριακά στατιστικά σημαντικά (Πίνακας 14).

4.5. Συσχέτιση της δραστηριότητας της LpPLA₂ με δείκτες διατροφικής πρόσληψης στις τρεις φάσεις της παρέμβασης

Τοιουτοτρόπως, συσχετίστηκαν και τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂, στο συνολικό πληθυσμό και ξεχωριστά σε άνδρες και γυναίκες, με δείκτες διατροφικής πρόσληψης, στις τρεις φάσεις της παρέμβασης. Επειδή και στις τρεις φάσεις της παρέμβασης η δραστηριότητα της LpPLA₂ ακολουθούσε κανονική κατανομή έγινε χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson για την εύρεση στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων.

4.5.1. Συσχετίσεις στην αρχή της παρέμβασης (baseline)

Πίνακας 115. Συσχέτιση δεικτών διατροφικής πρόσληψης με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ στην αρχή της παρέμβασης (baseline)

	LpPLA ₂ (baseline)		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
Ενέργεια (kcal)	r=0,072, p=0,465 (n=104)	r=0,195, p=0,183 (n=48)	r=-0,217, p=0,109 (n=56)
Πρωτεΐνη (g)	r=0,049, p=0,622 (n=104)	r=0,158, p=0,285 (n=48)	r=-0,224, p=0,097 (n=56)
Υδατάνθρακες(g)	r=-0,001, p=0,995 (n=104)	r=0,042, p=0,776 (n=48)	r=-0,193, p=0,154 (n=56)
Λίπος (g)	r=0,087, p=0,380 (n=104)	r=0,271, p=0,063 (n=48)	r=-0,174, p=0,200 (n=56)
Αλκοόλ (g)	r=0,154, p=0,120 (n=104)	r=-0,043, p=0,772 (n=48)	r=0,044, p=0,749 (n=56)
Χοληστερόλη (mg)	r=0,002, p=0,987 (n=104)	r=0,217, p=0,138 (n=48)	r=-0,229, p=0,090 (n=56)
SFA (g)	r=0,026, p=0,790 (n=104)	r=0,232, p=0,112 (n=48)	r=-0,230, p=0,089 (n=56)
MUFA (g)	r=0,102, p=0,304 (n=104)	r=0,233, p=0,110 (n=48)	r=-0,113, p=0,406 (n=56)
PUFA (g)	r=0,098, p=0,324 (n=104)	r=0,241, p=0,099 (n=48)	r=-0,093, p=0,497 (n=56)
Ολεϊκό οξύ (g)	r=0,113, p=0,255 (n=104)	r=0,211, p=0,149 (n=48)	r=-0,092, p=0,500 (n=56)
Λινολεϊκό οξύ (g)	r=0,118, p=0,233 (n=104)	r=0,176, p=0,232 (n=48)	r=-0,053, p=0,698 (n=56)

Λινολενικό οξύ (g)	r=0,087, p=0,380 (n=104)	r=0,266, p=0,068 (n=48)	r=-0,133, p=0,328 (n=56)
EPA (g)	r=0,016, p=0,872 (n=104)	r=0,057, p=0,700 (n=48)	r=0,244, p=0,071 (n=56)
DHA (g)	r=-0,026, p=0,792 (n=104)	r=0,001, p=0,993 (n=48)	r=0,265, p=0,048 * (n=56)
Νάτριο (mg)	r=0,010, p=0,923 (n=104)	r=0,068, p=0,645 (n=48)	r=-0,235, p=0,082 (n=56)
Βιταμίνη Α (IU)	r=-0,013, p=0,898 (n=104)	r=-0,002, p=0,990 (n=48)	r=0,113, p=0,409 (n=56)
Βιταμίνη C (mg)	r=-0,025, p=0,801 (n=104)	r=-0,155, p=0,294 (n=48)	r=0,025, p=0,853 (n=56)
Ασβέστιο (mg)	r=0,001, p=0,993 (n=104)	r=0,108, p=0,446 (n=48)	r=-0,202, p=0,135 (n=56)
Βιταμίνη D (IU)	r=-0,198, p=0,044 * (n=104)	r=0,224, p=0,126 (n=48)	r=-0,407, p=0,002 ** (n=56)
Βιταμίνη E (IU)	r=-0,008, p=0,937 (n=104)	r=0,163, p=0,269 (n=48)	r=0,018, p=0,897 (n=56)
Α-τοκοφερόλη (mg)	r=0,043, p=0,668 (n=104)	r=0,123, p=0,407 (n=48)	r=-0,077, p=0,574 (n=56)
Θειαμίνη (mg)	r=-0,046, p=0,645 (n=104)	r=0,087, p=0,558 (n=48)	r=-0,296, p=0,027 * (n=56)
Ριβοφλαβίνη (mg)	r=-0,040, p=0,688 (n=104)	r=0,241, p=0,099 (n=48)	r=-0,270, p=0,044 * (n=56)
Ιώδιο(μg)	r=-0,065, p=0,511 (n=104)	r=0,077, p=0,603 (n=48)	r=-0,138, p=0,312 (n=56)
Ψευδάργυρος (mg)	r=0,004, p=0,969 (n=104)	r=0,158, p=0,283 (n=48)	r=-0,252, p=0,061 (n=56)
Σελήνιο (mg)	r=0,041, p=0,680 (n=104)	r=0,190, p=0,197 (n=48)	r=-0,187, p=0,167 (n=56)
Μόλυβδος (μg)	r=-0,123, p=0,213 (n=104)	r=0,159, p=0,279 (n=48)	r=-0,234, p=0,082 (n=56)
Διαιτητικές Ίνες (g)	r=-0,023, p=0,820 (n=104)	r=-0,045, p=0,761 (n=48)	r=-0,155, p=0,255 (n=56)
Ακατέργαστες Δ.Ι. (g)	r=0,076, p=0,443 (n=104)	r=0,061, p=0,681 (n=48)	r=0,011, p=0,939 (n=56)
Γλυκόζη (g)	r=0,078, p=0,430 (n=104)	r=0,082, p=0,579 (n=48)	r=-0,036, p=0,791 (n=56)
Φρουκτόζη (g)	r=0,054, p=0,584 (n=104)	r=0,079, p=0,593 (n=48)	r=-0,063, p=0,647 (n=56)
Λακτόζη (g)	r=-0,192, p=0,051 * (n=104)	r=0,145, p=0,324 (n=48)	r=-0,406, p=0,002 ** (n=56)
Μαλτόζη (g)	r=0,037, p=0,710 (n=104)	r=-0,009, p=0,951 (n=48)	r=-0,073, p=0,594 (n=56)
Ισοδύναμα Γάλακτος πλήρες	r=-0,021, p=0,831 (n=104)	r=0,050, p=0,738 (n=48)	r=-0,145, p=0,288 (n=56)
Ισοδύναμα Γάλακτος Συνολικά	r=-0,073, p=0,458 (n=104)	r=0,080, p=0,590 (n=48)	r=0,219, p=0,105 (n=56)
Ισοδύναμα Χ.Λ. Κρέατος	r=0,098, p=0,320 (n=104)	r=-0,035 p=0,813 (n=48)	r=0,023, p=0,866 (n=56)
Ισοδύναμα Μ.Λ. Κρέατος	r=0,044, p=0,655 (n=104)	r=0,225, p=0,124 (n=48)	r=-0,112, p=0,412 (n=56)
Ισοδύναμα Λίπους	r=0,111, p=0,264 (n=104)	r=0,121, p=0,411 (n=48)	r=-0,059, p=0,666 (n=56)

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001

Στον πίνακα 15, βλέπουμε ότι όσο αυξάνονται οι προσλαμβανόμενες ποσότητες του ολικού λίπους, του λινολεϊκού οξέος, τόσο αυξάνονται τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂ στον γυναικείο πληθυσμό με οριακά στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις. Επιπρόσθετα, η πρόσληψη της θειαμίνης και της ριβοφλαβίνης μέσω της διατροφής, φαίνεται να συσχετίζεται αρνητικά με τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂, ενώ του DHA θετικά στους άνδρες με $p < 0,05$. Αρνητική συσχέτιση παρουσιάζουν και η πρόσληψη της βιταμίνης D και της λακτόζης με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ στο σύνολο του πληθυσμού και στους άνδρες.

Με ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης και χρησιμοποιώντας ως συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, το φύλο και το ΔΜΣ, βρέθηκε ότι η στατιστική σημαντικότητα στη συσχέτιση της δραστηριότητας της LpPLA₂ με την πρόσληψη λακτόζης εξαφανίζεται όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 16.

Πίνακας 12. Αποτελέσματα από γραμμική παλινδρόμηση που αξιολόγησε την συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της δραστηριότητας της LpPLA₂ (εξαρτημένη μεταβλητή) και της πρόσληψης λακτόζης (ανεξάρτητη μεταβλητή).

Μοντέλο για τη δραστηριότητα της LpPLA ₂	B	Std. Error	P
Λακτόζη	-0,171	0,128	0,185
Ηλικία(έτη)	-0,096	0,077	0,218
Φύλο	6,811	1,382	0,000***
ΔΜΣ (kg/m ²)	-0,396	0,178	0,028*

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$

4.5.2. Συσχετίσεις στον ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1)

Πίνακας 13. Συσχέτιση δεικτών διατροφικής πρόσληψης με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1)

	LpPLA ₂ (follow up 1)		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
Ενέργεια (kcal)	$r=0,216$, $p=0,026^*$ (n=107)	$r=0,052$, $p=0,724$ (n=49)	$r=0,131$, $p=0,326$ (n=58)
Πρωτεΐνη (g)	$r=0,058$, $p=0,553$ (n=107)	$r=-0,011$, $p=0,939$ (n=49)	$r=-0,110$, $p=0,412$ (n=58)
Υδατάνθρακες(g)	$r=0,163$, $p=0,094$ (n=107)	$r=-0,009$, $p=0,951$ (n=49)	$r=0,150$, $p=0,261$ (n=58)
Λίπος (g)	$r=0,188$, $p=0,053^*$ (n=107)	$r=0,119$, $p=0,414$ (n=49)	$r=0,103$, $p=0,442$ (n=58)
Αλκοόλ (g)	$r=0,135$, $p=0,167$ (n=107)	$r=-0,030$, $p=0,837$ (n=49)	$r=0,067$, $p=0,615$ (n=58)
Χοληστερόλη (mg)	$r=0,063$, $p=0,517$ (n=107)	$r=0,120$, $p=0,410$ (n=49)	$r=-0,096$, $p=0,472$ (n=58)

SFA (g)	r=0,149, p=0,125 (n=107)	r=0,194, p=0,182 (n=49)	r=0,039, p=0,769 (n=58)
MUFA (g)	r=0,160, p=0,099 (n=107)	r=0,045, p=0,757 (n=49)	r=0,084, p=0,530 (n=58)
PUFA (g)	r=0,134, p=0,167 (n=107)	r=0,109, p=0,455 (n=49)	r=0,072, p=0,589 (n=58)
Ολεϊκό οξύ (g)	r=0,174, p=0,074 (n=107)	r=0,050, p=0,733 (n=49)	r=0,096, p=0,472 (n=58)
Λινολεϊκό οξύ (g)	r=0,163, p=0,093 (n=107)	r=0,104, p=0,475 (n=49)	r=0,148, p=0,268 (n=58)
Λινολενικό οξύ (g)	r=0,237, p=0,014** (n=107)	r=0,203, p=0,161 (n=49)	r=0,211, p=0,112 (n=58)
EPA (g)	r=-0,074, p=0,446 (n=107)	r=-0,232, p=0,109 (n=49)	r=-0,108, p=0,418 (n=58)
DHA (g)	r=-0,047, p=0,633 (n=107)	r=-0,249, p=0,085 (n=49)	r=-0,111, p=0,405 (n=58)
Νάτριο (mg)	r=0,172, p=0,077 (n=107)	r=-0,041, p=0,777 (n=49)	r=0,148, p=0,268 (n=58)
Βιταμίνη A (IU)	r=0,008, p=0,934 (n=107)	r=0,042, p=0,773 (n=49)	r=-0,032, p=0,809 (n=58)
Βιταμίνη C (mg)	r=-0,120, p=0,217 (n=107)	r=-0,202, p=0,164 (n=49)	r=0,031, p=0,819 (n=58)
Ασβέστιο (mg)	r=-0,034, p=0,728 (n=107)	r=0,040, p=0,787 (n=49)	r=-0,120, p=0,369 (n=58)
Βιταμίνη D (IU)	r=0,018, p=0,850 (n=107)	r=0,174, p=0,232 (n=49)	r=-0,166, p=0,213 (n=58)
Βιταμίνη E (IU)	r=0,010, p=0,918 (n=107)	r=0,140, p=0,336 (n=49)	r=-0,083, p=0,535 (n=58)
Α-τοκοφερόλη (mg)	r=0,134, p=0,170 (n=107)	r=-0,113, p=0,439 (n=49)	r=0,133, p=0,319 (n=58)
Θειαμίνη (mg)	r=0,004, p=0,970 (n=107)	r=-0,207, p=0,154 (n=49)	r=-0,031, p=0,815 (n=58)
Ριβοφλαβίνη (mg)	r=0,001, p=0,990 (n=107)	r=0,076, p=0,604 (n=49)	r=-0,124, p=0,353 (n=58)
Ιώδιο(μg)	r=-0,169, p=0,082 (n=107)	r=-0,174, p=0,232 (n=49)	r=-0,093, p=0,489 (n=58)
Ψευδάργυρος (mg)	r=0,079, p=0,418 (n=107)	r=0,084, p=0,568 (n=49)	r=-0,088, p=0,513 (n=58)
Σελήνιο (mg)	r=-0,024, p=0,804 (n=107)	r=-0,211, p=0,146 (n=49)	r=-0,097, p=0,471 (n=58)
Μόλυβδος (μg)	r=-0,190, p=0,049* (n=107)	r=-0,016, p=0,913 (n=49)	r=-0,343, p=0,008** (n=58)
Διαιτητικές Ύνες (g)	r=0,123, p=0,206 (n=107)	r=-0,004, p=0,976 (n=49)	r=0,072, p=0,590 (n=58)
Ακατέργαστες Δ.Ι. (g)	r=0,084, p=0,391 (n=107)	r=0,292, p=0,042* (n=49)	r=0,036, p=0,788 (n=58)
Γλυκόζη (g)	r=0,121, p=0,213 (n=107)	r=-0,040, p=0,783 (n=49)	r=0,270, p=0,041* (n=58)
Φρουκτόζη (g)	r=0,146, p=0,135 (n=107)	r=-0,010, p=0,948 (n=49)	r=0,240, p=0,070 (n=58)
Λακτόζη (g)	r=-0,190, p=0,050* (n=107)	r=-0,156, p=0,284 (n=49)	r=-0,158, p=0,235 (n=58)
Μαλτόζη (g)	r=0,225, p=0,020* (n=107)	r=0,114, p=0,436 (n=49)	r=0,267, p=0,043* (n=58)
Ισοδύναμα Γάλακτος πλήρες	r=0,072, p=0,462 (n=107)	r=0,305, p=0,033* (n=49)	r=-0,158, p=0,235 (n=58)
Ισοδύναμα Γάλακτος Συνολικά	r=-0,077, p=0,428 (n=107)	r=0,142, p=0,329 (n=49)	r=-0,242, p=0,067 (n=58)
Ισοδύναμα Χ.Λ. Κρέατος	r=-0,115, p=0,240 (n=107)	r=-0,103, p=0,482 (n=49)	r=-0,257, p=0,051* (n=58)

Ισοδύναμα Μ.Λ. Κρέατος	$r=-0,031$, $p=0,750$ ($n=107$)	$r=-0,030$, $p=0,837$ ($n=49$)	$r=-0,069$, $p=0,608$ ($n=58$)
Ισοδύναμα Λίπους	$r=0,199$, $p=0,040^*$ ($n=107$)	$r=0,060$, $p=0,681$ ($n=49$)	$r=0,128$, $p=0,340$ ($n=58$)

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

Κατά τη δεύτερη φάση της παρέμβασης οι περισσότερες στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις παρατηρήθηκαν πρώτα στο σύνολο του πληθυσμού και μετά στους άνδρες. Πιο συγκεκριμένα στο σύνολο, η ημερήσια πρόσληψη ενέργειας και λίπους φαίνεται να συσχετίζεται θετικά με τη δραστηριότητα της LpPLA₂, καθώς επίσης και η πρόσληψη του λινολενικού οξέος. Επιπλέον, όσο αυξάνονται οι προσλαμβανόμενες ποσότητες των ακατέργαστων Δ.Ι. στις γυναίκες, της γλυκόζης στους άνδρες και της μαλτόζης στον ανδρικό και συνολικό πληθυσμό, τόσο αυξάνονται τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂. Αντίθετα, η αυξημένη διατροφική λακτόζη και μολύβδου φαίνεται να σχετίζεται με μειωμένη δραστηριότητα της LpPLA₂ στον πληθυσμό και στους άνδρες για το μόλυβδο.

Η κατανάλωση ισοδυνάμων πλήρους γάλακτος φαίνεται να σχετίζεται θετικά με $p=0,033$, με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ στον γυναικείο πληθυσμό. Όσον αφορά την κατανάλωση ισοδυνάμων από την ομάδα του λίπους, εμφανίζεται στατιστικά σημαντική, θετική συσχέτιση στον συνολικό πληθυσμό, η αυξημένη κατανάλωση ισοδυνάμων άπαχου κρέατος φαίνεται να επιδρά αρνητικά στη δραστηριότητα της LpPLA₂ στον ανδρικό πληθυσμό. (Πίνακας 17)

4.5.3. Συσχετίσεις στους τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2)

Πίνακας 14. Συσχέτιση δεικτών διατροφικής πρόσληψης με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2)

	LpPLA ₂ (follow up 2)		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
Ενέργεια (kcal)	$r=0,091$, $p=0,365$ ($n=102$)	$r=-0,069$, $p=0,651$ ($n=46$)	$r=0,012$, $p=0,933$ ($n=56$)
Πρωτεΐνη (g)	$r=0,069$, $p=0,493$ ($n=102$)	$r=0,074$, $p=0,626$ ($n=46$)	$r=0,013$, $p=0,926$ ($n=56$)
Υδατάνθρακες(g)	$r=0,075$, $p=0,454$ ($n=102$)	$r=0,017$, $p=0,909$ ($n=46$)	$r=-0,033$, $p=0,807$ ($n=56$)
Λίπος (g)	$r=0,064$, $p=0,524$ ($n=102$)	$r=-0,151$, $p=0,315$ ($n=46$)	$r=0,050$, $p=0,717$ ($n=56$)
Αλκοόλ (g)	$r=0,020$, $p=0,842$ ($n=102$)	$r=-0,301$, $p=0,042^*$ ($n=46$)	$r=-0,035$, $p=0,797$ ($n=56$)
Χοληστερόλη (mg)	$r=0,123$, $p=0,217$ ($n=102$)	$r=0,207$, $p=0,168$ ($n=46$)	$r=0,059$, $p=0,668$ ($n=56$)

SFA (g)	r=-0,041, p=0,683 (n=102)	r=-0,141, p=0,350 (n=46)	r=-0,097, p=0,477 (n=56)
MUFA (g)	r=0,136, p=0,174 (n=102)	r=-0,122, p=0,421 (n=46)	r=0,157, p=0,247 (n=56)
PUFA (g)	r=0,031, p=0,754 (n=102)	r=-0,081, p=0,591 (n=46)	r=0,054, p=0,690 (n=56)
Ολεϊκό οξύ (g)	r=0,135, p=0,175 (n=102)	r=-0,154, p=0,308 (n=46)	r=0,188, p=0,165 (n=56)
Λινολεϊκό οξύ (g)	r=0,002, p=0,984 (n=102)	r=-0,117, p=0,439 (n=46)	r=0,136, p=0,319 (n=56)
Λινολενικό οξύ (g)	r=-0,024, p=0,812 (n=102)	r=-0,229, p=0,126 (n=46)	r=0,018, p=0,897 (n=56)
EPA (g)	r=0,034, p=0,736 (n=102)	r=0,073, p=0,629 (n=46)	r=-0,021, p=0,879 (n=56)
DHA (g)	r=0,031, p=0,759 (n=102)	r=0,067, p=0,658 (n=46)	r=-0,022, p=0,870 (n=56)
Νάτριο (mg)	r=-0,093, p=0,354 (n=102)	r=-0,049, p=0,744 (n=46)	r=-0,236, p=0,080 (n=56)
Βιταμίνη A (IU)	r=0,021, p=0,838 (n=102)	r=0,059, p=0,697 (n=46)	r=-0,016, p=0,907 (n=56)
Βιταμίνη C (mg)	r=-0,017, p=0,863 (n=102)	r=0,139, p=0,359 (n=46)	r=-0,065, p=0,634 (n=56)
Ασβέστιο (mg)	r=-0,115, p=0,251 (n=102)	r=0,109, p=0,471 (n=46)	r=-0,268, p=0,046* (n=56)
Βιταμίνη D (IU)	r=-0,019, p=0,849 (n=102)	r=0,024, p=0,872 (n=46)	r=-0,064, p=0,641 (n=56)
Βιταμίνη E (IU)	r=0,016, p=0,870 (n=102)	r=0,023, p=0,881 (n=46)	r=0,057, p=0,675 (n=56)
Α-τοκοφερόλη (mg)	r=0,185, p=0,063 (n=102)	r=-0,022, p=0,885 (n=46)	r=0,210, p=0,119 (n=56)
Θειαμίνη (mg)	r=0,000, p=0,996 (n=102)	r=-0,013, p=0,934 (n=46)	r=-0,043, p=0,753 (n=56)
Ριβοφλαβίνη (mg)	r=0,008, p=0,936 (n=102)	r=0,129, p=0,394 (n=46)	r=-0,092, p=0,500 (n=56)
Ιώδιο(μg)	r=-0,143, p=0,152 (n=102)	r=0,020, p=0,894 (n=46)	r=-0,197, p=0,147 (n=56)
Ψευδάργυρος (mg)	r=0,045, p=0,654 (n=102)	r=-0,031, p=0,837 (n=46)	r=-0,005, p=0,973 (n=56)
Σελήνιο (mg)	r=-0,071, p=0,479 (n=102)	r=-0,027, p=0,860 (n=46)	r=-0,122, p=0,369 (n=56)
Μόλυβδος (μg)	r=-0,167, p=0,094 (n=102)	r=-0,191, p=0,203 (n=46)	r=-0,112, p=0,411 (n=56)
Διαιτητικές Ύνες (g)	r=0,031, p=0,757 (n=102)	r=-0,016, p=0,917 (n=46)	r=0,026, p=0,850 (n=56)
Ακατέργαστες Δ.Ι. (g)	r=0,103, p=0,304 (n=102)	r=-0,115, p=0,445 (n=46)	r=0,183, p=0,176 (n=56)
Γλυκόζη (g)	r=0,058, p=0,561 (n=102)	r=0,108, p=0,476 (n=46)	r=-0,001, p=0,995 (n=56)
Φρουκτόζη (g)	r=0,153, p=0,126 (n=102)	r=0,115, p=0,446 (n=46)	r=0,151, p=0,267 (n=56)
Λακτόζη (g)	r=-0,162, p=0,105 (n=102)	r=0,000, p=0,998 (n=46)	r=-0,267, p=0,046* (n=56)
Μαλτόζη (g)	r=0,116, p=0,244 (n=102)	r=0,180, p=0,232 (n=46)	r=0,064, p=0,640 (n=56)
Ισοδύναμα Γάλακτος πλήρες	r=-0,149, p=0,134 (n=102)	r=-0,229, p=0,126 (n=46)	r=-0,109, p=0,424 (n=56)
Ισοδύναμα Γάλακτος Συνολικά	r=-0,163, p=0,102 (n=102)	r=-0,123, p=0,416 (n=46)	r=-0,154, p=0,257 (n=56)
Ισοδύναμα Χ.Λ. Κρέατος	r=0,082, p=0,413 (n=102)	r=-0,196, p=0,192 (n=46)	r=0,100, p=0,462 (n=56)

Ισοδύναμα Μ.Α. Κρέατος	$r=0,166, p=0,095$ (n=102)	$r=0,133, p=0,378$ (n=46)	$r=0,136, p=0,319$ (n=56)
Ισοδύναμα Λίπους	$r=0,053, p=0,598$ (n=102)	$r=-0,168, p=0,263$ (n=46)	$r=0,029, p=0,832$ (n=56)

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

Τέλος, στους τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2) παρατηρήθηκε ότι η αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ και λακτόζης ως μέρος της διατροφής των υποκειμένων σχετίζεται με μειωμένη δραστηριότητα της LpPLA₂ στον γυναικείο και ανδρικό πληθυσμό αντίστοιχα. (Πίνακας 18)

4.6. Συσχέτιση της δραστηριότητας της LpPLA₂ με τη φυσική δραστηριότητα στις τρεις φάσεις της παρέμβασης

Με τον ίδιο τρόπο συσχετίστηκαν και τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂, στο συνολικό πληθυσμό και ξεχωριστά σε άνδρες και γυναίκες, με τη φυσική δραστηριότητα πιο συγκεκριμένα με το μέσο αριθμό βημάτων ανά ημέρα, στις τρεις φάσεις της παρέμβασης. Επειδή και στις τρεις φάσεις της παρέμβασης η δραστηριότητα της LpPLA₂ ακολουθούσε κανονική κατανομή έγινε χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson για την εύρεση στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων. Όμως, δε παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση με τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂ στο συνολικό πληθυσμό, σε άνδρες και σε γυναίκες και στις τρεις φάσεις της παρέμβασης.

4.7. Οι μεταβολές της δραστηριότητας της LpPLA₂ στις 3 φάσεις της παρέμβασης

4.7.1. Οι μεταβολές της δραστηριότητας της LpPLA₂ στον συνολικό πληθυσμό

Η στατιστική ανάλυση με τη μέθοδο RM-ANOVA, έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂ με την πάροδο του χρόνου και στην ομάδα placebo και στην ομάδα παρέμβασης, ενώ σχετικά με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ στην ομάδα ελέγχου φάνηκε να υπάρχει οριακή στατιστική διαφορά από την αρχή ως το τέλος της παρέμβασης. Παράλληλα, η παρέμβαση με το εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες γάλα (ομάδα παρέμβασης), διαφοροποίησε τη μεταβολή των επιπέδων της δραστηριότητας της LpPLA₂ σε σχέση με την ομάδα ελέγχου αλλά όχι με την ομάδα placebo ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1) και τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2). Κάτι

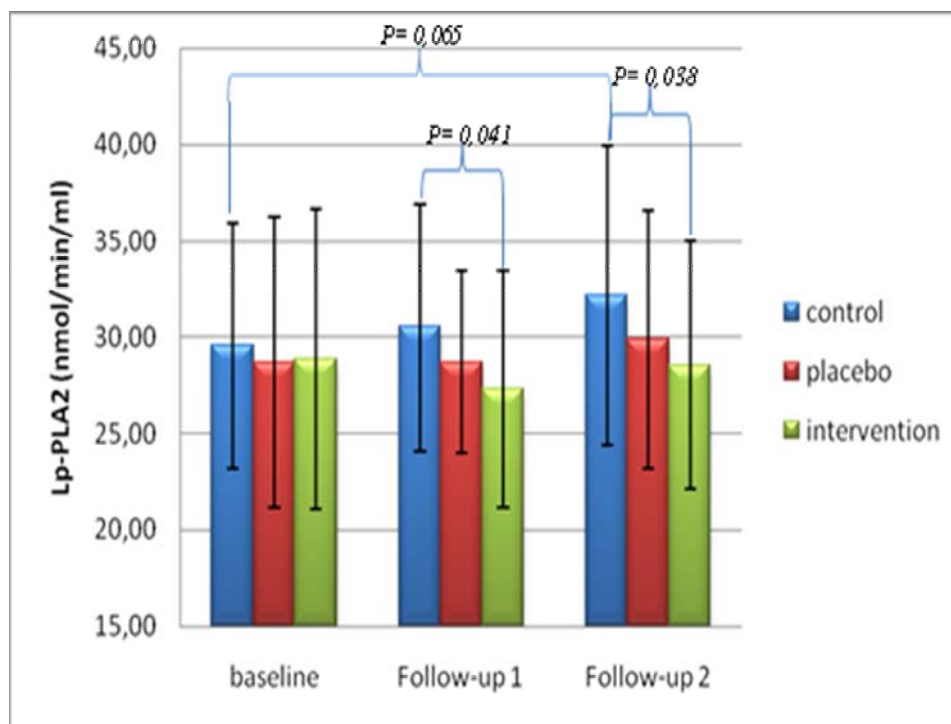
που δεν επιβεβαιώθηκε στην αρχή της παρέμβασης (baseline). Επιπρόσθετα, οι συσχετίσεις αυτές δεν επηρεάστηκαν με την προσθήκη ως συγχυτικού παράγοντα της LDL χοληστερόλης. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνονται από τα παρακάτω σχήματα (20,21).

Πίνακας 19. Μεταβολές των απόλυτων τιμών και % μεταβολές της δραστηριότητας της LpPLA₂ στο συνολικό πληθυσμό

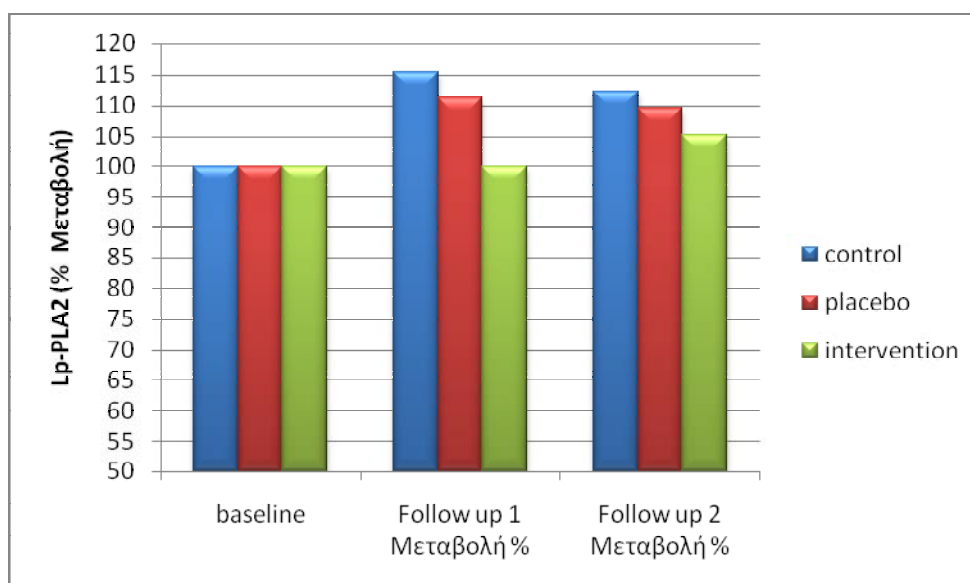
LpPLA ₂ (nmol/min/ml)	Baseline Μέσος όρος $\pm$ TA	Follow up 1 Μέσος όρος $\pm$ TA	Follow up 1 Μεταβολή % Μέσος όρος (95% CI)	Follow up 2 Μέσος όρος $\pm$ TA	Follow up 2 Μεταβολή % Μέσος όρος (95% CI)	P-value Group X Time Effect
Ομάδα ελέγχου	29,57 $\pm$ 6,38	30,50 $\pm$ 6,46	+15,33 (-5,22 έως 35,88)	32,14 $\pm$ 7,75	+12,19 (-0,32 έως 24,71)	0,185
Ομάδα placebo	28,70 $\pm$ 7,55	28,71 $\pm$ 4,76	+11,16 (-4,49 έως 26,81)	29,86 $\pm$ 6,71	+9,61 (-4,58 έως 23,81)	
Ομάδα παρέμβασης	28,85 $\pm$ 7,82	27,30 $\pm$ 6,16	-0,06 (-11,09 έως 11,21)	28,55 $\pm$ 6,39	+5,24 (-8,97 έως 19,46)	

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$

Τα δεδομένα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 19 συνοψίζουν τις διαφορές μεταξύ των υπό-εξέταση ομάδων αναφορικά τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2) με τις μεταβολές που επήλθαν στη δραστηριότητα της LpPLA₂ στο συνολικό πληθυσμό στην αρχή της παρέμβασης (baseline), στον ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1) και στους τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2).



Σχήμα 20. Η μεταβολή των απόλυτων τιμών της δραστηριότητας της LpPLA₂ στις τρεις φάσεις της παρέμβασης και στις τρεις ομάδες της παρέμβασης στο σύνολο.



Σχήμα 21. Η % μεταβολή της δραστηριότητας της LpPLA₂ στις τρεις φάσεις της παρέμβασης και στις τρεις ομάδες της παρέμβασης.

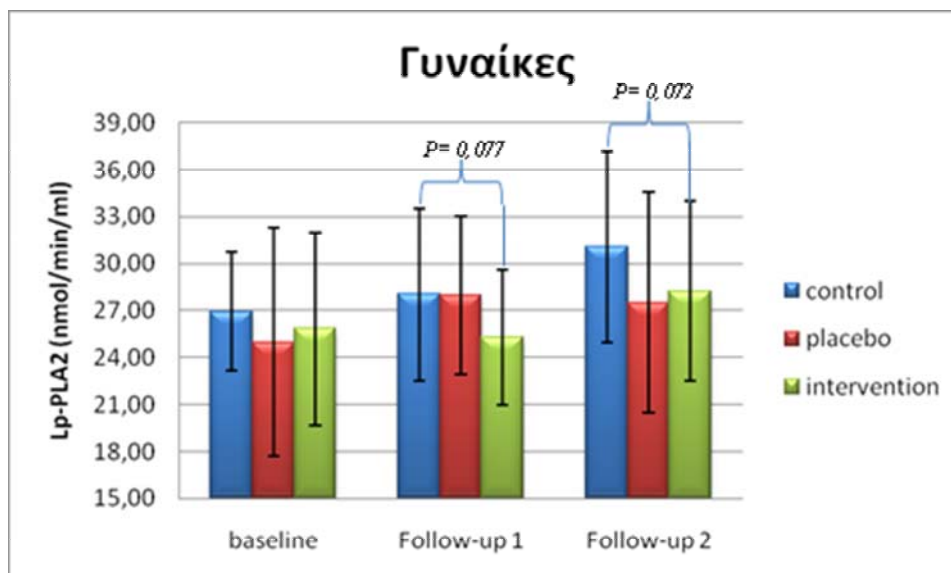
4.7.2. Οι μεταβολές της δραστηριότητας της LpPLA₂ ξεχωριστά σε άνδρες και γυναίκες

Στον Πίνακα 20 φαίνονται οι μεταβολές των απόλυτων τιμών της δραστηριότητας της LpPLA₂ σε γυναίκες και άνδρες. Πιο συγκεκριμένα παρατηρείται ότι το ανδρικό φύλο έχει μεγαλύτερες τιμές δραστηριότητας της LpPLA₂ σε σχέση με τις γυναίκες και μεταξύ των τριών ομάδων παρέμβασης αλλά και μεταξύ των 3 τριών χρονικών στιγμών. Όσον αφορά τις γυναίκες, η παρέμβαση με το εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες γάλα (ομάδα παρέμβασης), διαφοροποίησε οριακά τη μεταβολή των επιπέδων της δραστηριότητας της LpPLA₂ σε σχέση με την ομάδα ελέγχου αλλά όχι με την ομάδα placebo ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1) και τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2). Κάτι που δεν επιβεβαιώθηκε στην αρχή της παρέμβασης (baseline). Στους άνδρες δε βρέθηκε κάτι ανάλογο.

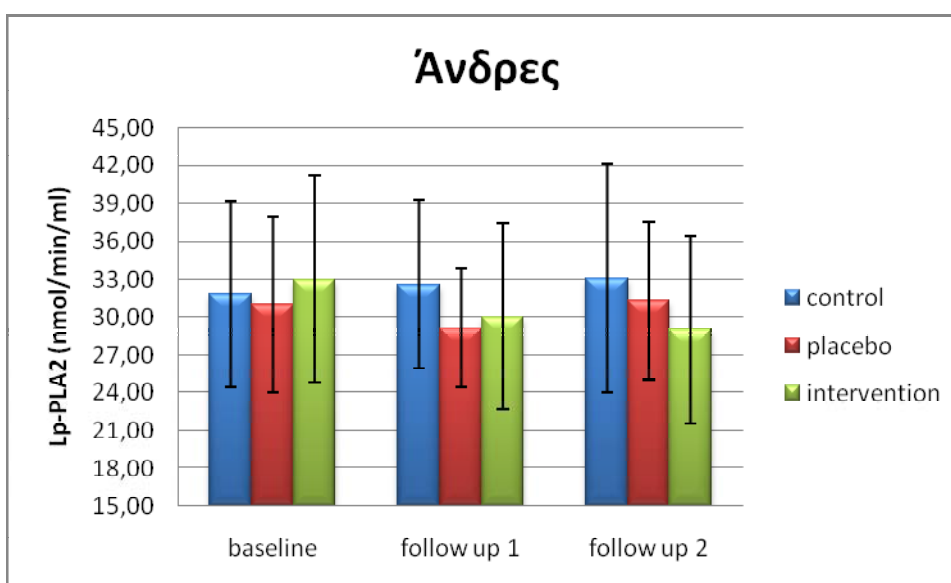
Πίνακας 20. Μεταβολές των απόλυτων τιμών της δραστηριότητας της LpPLA₂ σε γυναίκες και άνδρες ξεχωριστά

LpPLA ₂ (nmol/min/ml)		Baseline <i>Μέσος όρος ± ΤΑ</i>	Follow up 1 <i>Μέσος όρος ± ΤΑ</i>	Follow up 2 <i>Μέσος όρος ± ΤΑ</i>
Ομάδα ελέγχου	<i>γυναίκες</i>	26,95±3,81	28,03±5,52	31,08±6,11
	<i>άνδρες</i>	31,81±7,37	32,61±6,63	33,04±9,05
Ομάδα placebo	<i>γυναίκες</i>	25,00±7,25	27,98±5,04	27,50±7,04
	<i>άνδρες</i>	31,01±6,97	29,16±4,68	31,33±6,26
Ομάδα παρέμβασης	<i>γυναίκες</i>	25,84±6,16	25,30±4,34	28,23±5,74
	<i>άνδρες</i>	33,02±8,17	30,08±7,33	28,98±7,43

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$



Σχήμα 22. Η μεταβολή των απόλυτων τιμών της δραστηριότητας της LpPLA₂ στις τρεις φάσεις της παρέμβασης και στις τρεις ομάδες της παρέμβασης, στις γυναίκες.



Σχήμα 23. Η μεταβολή των απόλυτων τιμών της δραστηριότητας της LpPLA₂ στις τρεις φάσεις της παρέμβασης και στις τρεις ομάδες της παρέμβασης, στις άνδρες.

4.8. Συσχέτιση της δραστηριότητας της LpPLA₂ με τις διαφορές σε βιοχημικούς δείκτες στις δύο φάσεις της παρέμβασης

Στη συνέχεια συσχετίστηκαν τα επίπεδα της δραστηριότητας της ΔLpPLA₂, στο συνολικό πληθυσμό και ξεχωριστά σε άνδρες και γυναίκες, με τα επίπεδα των διαφόρων των βιοχημικών δεικτών στις 2 φάσεις της παρέμβασης.

Πίνακας 21. Συσχέτιση της δραστηριότητας της ΔLpPLA₂ με τις διαφορές σε βιοχημικούς δείκτες

	ΔLpPLA ₂		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
Δ ₁ TBARS (nmol/100μl)	r=-0,046, p=0,674 (n=87)	r=-0,344, p=0,032 *	r=0,204, p=0,165 (n=48)
Δ ₁ TAC(nmol/μl)	r=-0,098, p=0,330 (n=100)	r=-0,104, p=0,493 (n=46)	r=-0,142, p=0,306 (n=54)
Δ ₁ CRP(mg/dl)	r=-0,029, p=0,774 (n=102)	r=0,059, p=0,691 (n=47)	r=-0,064, p=0,641 (n=55)
Δ ₁ Ινσουλίνη(μUI/ml)	r=-0,019, p=0,849 (n=102)	r=-0,048, p=0,749 (n=47)	r=0,004, p=0,977 (n=55)
Δ ₁ Ομοκυστεΐνη(μmol/l)	r=0,206, p=0,039 *	r=0,244, p=0,098 (n=47)	r=0,126, p=0,365 (n=54)
Δ ₁ β – καροτένιο(mg/dl)	r=0,126, p=0,208 (n=102)	r=0,090, p=0,548 (n=47)	r=0,133, p=0,332 (n=55)
Δ ₁ B ₁₂	r=-0,085, p=0,395 (n=102)	r=-0,236, p=0,111 (n=47)	r=0,003, p=0,980 (n=55)
Δ ₁ Φυλλικό οξύ(ng/ml)	r=-0,197, p=0,047 *	r=-0,264, p=0,073 (n=47)	r=-0,219, p=0,108 (n=55)
Δ ₁ Γλυκόζη αίματος (mg/dl)	r=-0,063, p=0,527 (n=102)	r=-0,220, p=0,137 (n=47)	r=0,164, p=0,231 (n=55)
Δ ₁ Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	r=0,326, p=0,001 ** (n=102)	r=0,189, p=0,204 (n=47)	r=0,442, p=0,001 ** (n=55)
Δ ₁ LDL-C (mg/dl)	r=0,345, p=0,000 *** (n=102)	r=0,242, p=0,102 (n=47)	r=0,414, p=0,002 ** (n=55)
Δ ₁ HDL-C (mg/dl)	r=-0,163, p=0,102 (n=102)	r=-0,096, p=0,520 (n=47)	r=-0,177, p=0,196 (n=55)
Δ ₁ Τριγλυκερίδια (mg/dl)	r=0,221, p=0,025 * (n=102)	r=0,028, p=0,853 (n=47)	r=0,377, p=0,005 ** (n=55)
Δ ₁ Apo A (mg/dl)	r=-0,070, p=0,483 (n=102)	r=-0,147, p=0,323 (n=47)	r=0,030, p=0,826 (n=55)
Δ ₁ Apo B (mg/dl)	r=0,331, p=0,001 ** (n=102)	r=0,164, p=0,269 (n=47)	r=0,465, p=0,000 *** (n=55)

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001

Σύμφωνα με τα δεδομένα που συνοψίζονται στον Πίνακα 21 παρατηρούμε ότι στην πρώτη φάση της παρέμβασης διατηρούνται οι συσχετίσεις των επιπέδων της δραστηριότητας της Δ₁LpPLA₂ με την Δ₁Ολική χοληστερόλη, την Δ₁LDL-C, τα Δ₁τριγλυκερίδια και την Δ₁Apo B και εμφανίζοντας στατιστικά σημαντική, θετική συσχέτιση στο σύνολο του πληθυσμού και στους άνδρες. Επιπλέον, τα επίπεδα της δραστηριότητας της Δ₁LpPLA₂ σχετίζονται αρνητικά στατιστικά σημαντικά με τα Δ₁TBARS στις γυναίκες, ακολούθως και τα επίπεδα της Δ₁Ομοκυστεΐνης με $r=0,206$ στον πληθυσμό. Τέλος, το Διφυλλικό οξύ μειώνεται με την αύξηση των επιπέδων της δραστηριότητας της Δ₁LpPLA₂ μόνο στο σύνολο.

Πίνακας 22. Συσχέτιση της δραστηριότητας της Δ₂LpPLA₂ με τις διαφορές σε βιοχημικούς δείκτες

	Δ ₂ LpPLA ₂		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
Δ ₂ TBARS (nmol/100μl)	$r=0,087$, $p=0,436$ ($n=83$)	$r=-0,260$, $p=0,125$ ($n=36$)	$r=0,190$, $p=0,202$ ($n=47$)
Δ ₂ TAC(nmol/μl)	$r=0,045$, $p=0,664$ ($n=95$)	$r=-0,290$, $p=0,059$ ($n=43$)	$r=0,284$, $p=0,042$ * ($n=52$)
Δ ₂ CRP(mg/dl)	$r=0,101$, $p=0,325$ ($n=97$)	$r=0,316$, $p=0,037$ * ($n=44$)	$r=0,041$, $p=0,770$ ($n=53$)
Δ ₂ Ινσουλίνη(μUI/ml)	$r=-0,065$, $p=0,526$ ($n=97$)	$r=0,017$, $p=0,914$ ($n=44$)	$r=-0,097$, $p=0,492$ ($n=53$)
Δ ₂ Ομοκυστεΐνη(μmol/l)	$r=0,112$, $p=0,273$ ($n=97$)	$r=0,288$, $p=0,058$ * ($n=44$)	$r=0,008$, $p=0,955$ ($n=53$)
Δ ₂ β – καροτένιο(mg/dl)	$r=0,090$, $p=0,383$ ($n=97$)	$r=-0,085$, $p=0,585$ ($n=44$)	$r=0,184$, $p=0,188$ ($n=53$)
Δ ₂ B ₁₂	$r=-0,222$, $p=0,029$ * ($n=97$)	$r=-0,137$, $p=0,374$ ($n=44$)	$r=-0,316$, $p=0,021$ * ($n=53$)
Δ ₂ Φυλλικό οξύ(ng/ml)	$r=-0,029$, $p=0,779$ ($n=97$)	$r=0,082$, $p=0,595$ ($n=44$)	$r=-0,200$, $p=0,151$ ($n=53$)
Δ ₂ Γλυκόζη αίματος (mg/dl)	$r=0,081$, $p=0,431$ ($n=97$)	$r=-0,086$, $p=0,579$ ($n=44$)	$r=0,201$, $p=0,149$ ($n=53$)
Δ ₂ Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	$r=0,099$, $p=0,335$ ($n=97$)	$r=-0,041$, $p=0,790$ ($n=44$)	$r=0,190$, $p=0,173$ ($n=53$)
Δ ₂ LDL-C (mg/dl)	$r=0,127$, $p=0,215$ ($n=97$)	$r=0,045$, $p=0,773$ ($n=44$)	$r=0,162$, $p=0,248$ ($n=53$)
Δ ₂ HDL-C (mg/dl)	$r=-0,096$, $p=0,351$ ($n=97$)	$r=0,012$, $p=0,938$ ($n=44$)	$r=-0,154$, $p=0,272$ ($n=53$)
Δ ₂ Τριγλυκερίδια (mg/dl)	$r=0,019$, $p=0,855$ ($n=97$)	$r=-0,334$, $p=0,027$ * ($n=44$)	$r=0,252$, $p=0,068$ ($n=53$)
Δ ₂ Apo A (mg/dl)	$r=-0,050$, $p=0,628$ ($n=97$)	$r=-0,114$, $p=0,460$ ($n=44$)	$r=0,021$, $p=0,881$ ($n=53$)
Δ ₂ Apo B (mg/dl)	$r=0,150$, $p=0,142$ ($n=97$)	$r=0,066$, $p=0,671$ ($n=44$)	$r=0,192$, $p=0,168$ ($n=53$)

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

Ο Πίνακας 22 δείχνει ότι στη δεύτερη φάση της παρέμβασης διατηρούνται οι αναμενόμενες συσχετίσεις των επιπέδων της δραστηριότητας της Δ₂LpPLA₂ με τα Δ₂τριγλυκερίδια

εμφανίζοντας στατιστικά σημαντική, θετική συσχέτιση στις γυναίκες. Ακόμη, τα επίπεδα της δραστηριότητας της $\Delta_2\text{LpPLA}_2$ σχετίζονται αρνητικά στατιστικά σημαντικά με τη $\Delta_2\text{B}_{12}$ στο συνολικό και στον ανδρικό πληθυσμό, ακολούθως και τα $\Delta_2\text{TAC}$ με $r=0,284$ στους άνδρες. Τέλος, η $\Delta_2\text{CRP}$ αυξάνεται με την αύξηση των επιπέδων της δραστηριότητας της $\Delta_2\text{LpPLA}_2$ μόνο στις γυναίκες.

4.9. Συσχέτιση της δραστηριότητας της LpPLA_2 με τις διαφορές σε δείκτες διατροφικής πρόσληψης στις δύο φάσεις της παρέμβασης

Τοιοιούτρόπως, συσχετίστηκαν και τα επίπεδα της δραστηριότητας της ΔLpPLA_2 , στο συνολικό πληθυσμό και ξεχωριστά σε άνδρες και γυναίκες, με δείκτες διατροφικής πρόσληψης, στις δύο φάσεις της παρέμβασης.

Πίνακας 23. Συσχέτιση της δραστηριότητας της $\Delta_1\text{LpPLA}_2$ με τις διαφορές σε δείκτες διατροφικής πρόσληψης.

	$\Delta_1\text{LpPLA}_2$		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
$\Delta_1\text{λακτόζης}$	$r=-0,118, p=0,235$ (n=103)	$r=-0,049, p=0,741$ (n=48)	$r=-0,237, p=0,081$ (n=55)

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

Στην πρώτη φάση της παρέμβασης (Πίνακας 23) παρατηρήθηκε ότι η $\Delta_1\text{λακτόζης}$ ως μέρος της διατροφής των υποκειμένων δε διατηρεί την αρνητική συσχέτιση με τη δραστηριότητα της $\Delta_1\text{LpPLA}_2$ ούτε στο σύνολο του πληθυσμού αλλά ούτε και στα 2 φύλα.

Πίνακας 24. Συσχέτιση της δραστηριότητας της $\Delta_2\text{LpPLA}_2$ με τις διαφορές σε δείκτες διατροφικής πρόσληψης.

	$\Delta_2\text{LpPLA}_2$		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
$\Delta_2\text{λακτόζης}$	$r=-0,121, p=0,236$ (n=98)	$r=0,094, p=0,534$ (n=45)	$r=-0,350, p=0,010^{**}$ (n=53)

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$

Ενώ, στη δεύτερη φάση της παρέμβασης (Πίνακας 24) εμφανίζεται πάλι η αρνητική συσχέτιση μεταξύ της δραστηριότητας της $\Delta_2\text{LpPLA}_2$ με τη Δ_2 λακτόζη στον ανδρικό πληθυσμό.

5. Συζήτηση

Μια από τις πιο μεγάλες ανακαλύψεις στο χώρο της παθοφυσιολογίας και των καρδιαγγειακών νοσημάτων, ήταν η αναγνώριση της αθηροσκλήρωσης ως φλεγμονώδη ασθένεια. Η φλεγμονή είναι παρούσα σε κάθε στάδιο της αθηροσκλήρωσης – αρχή, ανάπτυξη και αποσταθεροποίηση του αθηρώματος. Με αυτή τη βάση, αρκετές επιδημιολογικές μελέτες άρχισαν να ερευνούν τα συστατικά της φλεγμονώδους διαδικασίας και την συσχέτιση τους με τα καρδιαγγειακά επεισόδια. Η Lp-PLA₂ είναι ένας καινούργιος δείκτης φλεγμονής που έχει αρκετά μελετηθεί η πιθανή του σχέση με τα καρδιαγγειακά συμβάματα. Η Lp-PLA₂ αποδομεί τον PAF όπως επίσης και τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια, τα οποία συγκεντρώνονται στο αρτηριακό τοίχωμα και παίζουν ρόλο κλειδί στην αθηροσκλήρωση. Στο ανθρώπινο πλάσμα η Lp-PLA₂ συνδέεται σε μεγαλύτερη αναλογία με την LDL-C και σε μικρότερη με την HDL-C και πιο συγκεκριμένα με τα μικρά και πιο αθηρογόνα μόρια της LDL. Αντίθετα, όταν συνδέεται με την HDL-C φαίνεται να συνεισφέρει στις αντιαθηρογόνες ιδιότητές της. Αρκετά στοιχεία προτείνουν ότι ο ρόλος της Lp-PLA₂ στην αθηροσκλήρωση μάλλον εξαρτάται από τον τύπο της λιποπρωτεΐνης με την οποία συνδέεται το ένζυμο.

Λαμβάνοντας υπόψη ότι η Lp-PLA₂ συνδέεται κυρίως με την LDL-C και γνωρίζοντας τη συμβολή της LDL-C στην αθηροσκλήρωση, είναι εύλογο που αποτέλεσε αντικείμενο μελέτης διατροφικών παρεμβάσεων. Οι φυτικές στερόλες και στανόλες χρησιμοποιούνται ευρέως σε τέτοιου είδους παρεμβάσεις, ιδιαίτερα μέσω της προσθήκης αυτών σε γαλακτοκομικά προϊόντα, βελτιώνοντας σημαντικά το λιπιδαιμικό προφίλ. Με αυτή λοιπόν τη συλλογιστική πραγματοποιήσαμε μια παρόμοια διαιτητική παρέμβαση με γάλα εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες και αντιοξειδωτικά για να διαπιστώσουμε τελικά αν η διατροφή μπορεί να επιφέρει αλλαγές στις τιμές δραστηριότητας της Lp-PLA₂. Συνεπώς, η παρούσα μελέτη επικεντρώνεται στη μέτρηση της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ στο πλάσμα των εθελοντών με υπερχοληστερολαιμία και στη μεταβολή αυτού στην πορεία της παρέμβασης.

Αποτελέσματα από πληθώρα μελετών μετά το 2000 δείχνουν την προγνωστική δυνατότητα των αυξημένων συγκεντρώσεων αλλά και των αυξημένων δραστηριοτήτων της Lp-PLA₂ για τον κίνδυνο μελλοντικών στεφανιαίων συμβαμάτων και εγκεφαλικών επεισοδίων. Οι μελέτες αφορούν συμβάματα σε αρχικά υγιείς ασθενείς σε μελέτες πληθυσμού αλλά και συμβάματα που λαμβάνουν χώρα εκ νέου σε ασθενείς με εγκατεστημένη αθηρωματική νόσο. Οι περισσότερες όμως επιδημιολογικές μελέτες έχουν ασχοληθεί με τη συσχέτιση των αυξημένων συγκεντρώσεων (μάζα) της Lp-PLA₂ με αυξημένο κίνδυνο για στεφανιαία νόσο ή την πρόβλεψη του. [261-263] Τα αποτελέσματα αυτά αποδεικνύουν ότι η προγνωστική αξία της μάζας ενός

ενζύμου όπως της Lp-PLA₂ μπορεί να είναι διαφορετική από αυτή της δραστικότητας, αφού μάζα και δραστικότητα δε συμβαδίζουν πάντα. Στην Cardiovascular Health Study (CHS) [268] και PROSPER (The Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk) [269] σε ηλικιωμένο πληθυσμό χωρίς ιστορικό Σ.Ν., η αυξημένη Lp-PLA₂ (μάζα) συσχετιζόταν με αυξημένο 10ετή κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου αλλά παρόμοια συσχέτιση δεν βρέθηκε για την Lp-PLA₂ (δραστικότητα).

Όσον αφορά τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις που έγιναν στα δείγματα της παρούσας παρέμβασης, παρατηρούμε ότι όντως ο συνολικός πληθυσμός είναι υπερχοληστερολαιμικός και υπέρβαρος ηλικίας 40-60 ετών, κατάλληλα επιλεγμένος, χωρίς να εμφανίζει άλλα βιοχημικά παθολογικά ευρήματα. Όπως φαίνεται και στους πίνακες 1,2 υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών, τόσο στα ανθρωπομετρικά (ηλικία, ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης, % ποσοστό σωματικού λίπους), όσο και στα βιοχημικά χαρακτηριστικά (ΣΑΠ, ΔΑΠ, Ολική χοληστερόλη/HDL-C, HDL, Apo-A, Apo-B, Ομοκυστεΐνη, B₁₂). Σύμφωνα με τα δεδομένα των Πινάκων 3 και 4 δε παρατηρήθηκαν διαφορές σε βιοχημικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά μεταξύ των τριών υπό-εξέταση ομάδων κατά την έναρξη της μελέτης, υποδεικνύοντας έτσι μία ομοιογένεια μεταξύ των υποκειμένων στις τρεις ομάδες πριν την έναρξη της παρέμβασης.

Στην μελέτη μας, τα επίπεδα της δραστικότητας της LpPLA₂ στους υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς πριν την παρέμβαση ήταν $28,76 \pm 7,50$ nmol/min/mL, τα επίπεδα αυτά είναι συγκρίσιμα αν και λίγο χαμηλότερα με τα επίπεδα της δραστικότητας της LpPLA₂ υποκειμένων άλλων μελετών. Συγκεκριμένα, στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ [299] καθώς και στην CHS [300], οι αντίστοιχες τιμές της δραστικότητας της LpPLA₂ ήταν 39 ± 10 , $39,6 \pm 13$ nmol/min/mL αντίστοιχα. Αντίθετα σε μελέτη σε υγιείς Έλληνες ενήλικες [301], η μέση τιμή της δραστικότητας της LpPLA₂ ήταν $24,8 \pm 4,5$ nmol/min/mL. Οι ελαφρώς διαφορετικές τιμές της δραστικότητας της LpPLA₂ στις τρεις μελέτες είναι πιθανόν να οφείλονται στο διαφορετικό τρόπο μέτρησης της δραστικότητας της LpPLA₂ σε σχέση με την παρούσα μελέτη, ενώ ειδικά στην τρίτη που οι τιμές είναι υψηλότερες μάλλον αποδίδεται στο γεγονός ότι μελετήθηκε υγιής πληθυσμός. Πρέπει επίσης να τονιστεί ότι η κύρια διαφοροποίηση της δικής μας ενζυμικής διαδικασίας από τις υπόλοιπες είναι ότι ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε thio-PAF αντί για PAF και η αντίδραση έγινε σε θερμοκρασία δωματίου. Η δραστικότητα της LpPLA₂ έχει επίσης μετρηθεί σε αντίστοιχους πληθυσμούς (υπερχοληστερολαιμικούς) με το δικό μας στις ακόλουθες μελέτες. [245, 286, 302, 303]

Η διαφορά της δραστηριότητας της LpPLA₂ ανάμεσα στα 2 φύλα στην παρούσα μελέτη, είναι στατιστικά σημαντική, με τους άνδρες να εμφανίζουν πιο αυξημένα επίπεδα σε σύγκριση με αυτά των γυναικών. Το παραπάνω φαίνεται να επιβεβαιώνεται και από άλλες μελέτες. Στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ [299], η δραστηριότητα και η μάζα της LpPLA₂ ήταν υψηλότερες στους άνδρες σε σύγκριση με τις γυναίκες ($P < 0,001$). Ακόμη, οι M.Persson et al. [304] παρατήρησαν ότι τα επίπεδα της LpPLA₂ ήταν χαμηλότερα στις γυναίκες έναντι των ανδρών. Το παρόν παρατηρήθηκε και στις ακόλουθες μελέτες. [245, 286, 302, 303] Το γεγονός ότι η HDL-C σχετίζεται αρνητικά με την LpPLA₂ σε συνδυασμό με το γεγονός ότι η HDL-C είναι υψηλότερη στις γυναίκες εν μέρει εξηγεί γιατί οι γυναίκες έχουν χαμηλότερη δραστηριότητα της LpPLA₂. Παράλληλα, έχει φανεί από μελέτες σε πειραματόζωα ότι τα οιστρογόνα μειώνουν την έκφραση της LpPLA₂, γεγονός που μπορεί και αυτό να συνεισφέρει στη μειωμένη δραστηριότητα της LpPLA₂ στις γυναίκες.

Από την ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης με συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, το φύλο και το BMI, βρέθηκε ότι η στατιστική σημαντικότητα στη συσχέτιση της δραστηριότητας της LpPLA₂ με την ηλικία και το ΔΜΣ διατηρείται. Η ηλικία εμφανίζει θετική συσχέτιση με τη δραστηριότητα της LpPLA₂ όπως και στην μελέτη ΑΤΤΙΚΗ [299] με $P = 0,05$. Αντίθετα, ο ΔΜΣ εμφανίζει αρνητική συσχέτιση με τη δραστηριότητα της LpPLA₂. Παρόμοιες μελέτες δίνουν αντικρουόμενα αποτελέσματα. Σε πρόσφατη μελέτη των Gerber Y. et.al. [272] επιβεβαιώνεται η αρνητική συσχέτιση του ΔΜΣ. Βέβαια, σε διατροφική παρέμβαση με ω-3 λ.ο. ιχθυελαίων σε υγιή πληθυσμό [293] παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση με το ΔΜΣ όπως και στη μελέτη ARIC [263]. Αν το BMI θεωρηθεί ως ένας δείκτης παχυσαρκίας τότε κατά βάση άνθρωποι με μεγάλο BMI χαρακτηρίζονται από υποκλινική φλεγμονή που υποβόσκει της παχυσαρκίας. Ωστόσο, φλεγμονώδεις μεσολαβητές (IL-1, IL-4, TNFα) έχουν διαφορετική δράση στην έκφραση της LpPLA₂ από τα κύτταρα, αφού άλλοι την αυξάνουν και άλλοι τη μειώνουν και μάλιστα με στάδιο της διαφοροποίησης του κάθε κυττάρου. [219] Είναι λογικό να εμφανίζονται αντικρουόμενα αποτελέσματα και στις επιδημιολογικές μελέτες. Και δεδομένου ότι η υποκλινική φλεγμονή υποβόσκει της παχυσαρκίας τότε η αυξημένη συστηματική φλεγμονή ανθρώπων με μεγάλο BMI μπορεί να οδηγήσει αυξημένη δραστηριότητα της LpPLA₂ και αυτό γιατί πολλές αδιποκίνες όπως ο TNFα μπορούν να υπάγουν έκφραση της LpPLA₂. [165]

Όσον αφορά τις συσχετίσεις της δραστηριότητας της LpPLA₂ και των άλλων βιοχημικών δεικτών που εμφανίζονται στον πληθυσμό μας, πρέπει να τονιστεί ότι οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις δεν διατηρούνται και στα τρία στάδια της μελέτης. Αυτό οφείλεται αφενός στο ότι ο αριθμός του πληθυσμού μας δεν είναι ιδιαίτερα μεγάλος για συγχρονική μελέτη και αφετέρου ότι είναι αρκετά ομοιογενής του με αποτέλεσμα οι μικρές διαφοροποιήσεις στα βιοχημικά και

ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά να μη μπορούν να οδηγήσουν σε μεγάλες διαφοροποιήσεις στην LpPLA₂. Παρακάτω θα ακολουθήσουν οι συσχετίσεις που διατηρήθηκαν σε βάθος χρόνου.

Ένα άλλο εύρημα από την παρούσα μελέτη είναι η θετική συσχέτιση μεταξύ της δραστικότητας της LpPLA₂ και της LDL-C, η οποία ήταν αναμενόμενη, δεδομένου ότι η LDL δρα ως ένα λειτουργικό «ρεζερβουάρ» για την LpPLA₂ στην κυκλοφορία. [190] Επίσης, τα επίπεδα της δραστικότητας της LpPLA₂ εμφάνισαν στατιστικά σημαντική, θετική συσχέτιση στο σύνολο του πληθυσμού αλλά και στα φύλα με την TC, τα τριγλυκερίδια και την Apo B και στις 3 χρονικές στιγμές της παρέμβασης. Σε διατροφική παρέμβαση μετά από απώλεια βάρους βρέθηκε ότι οι μεταβολές της δραστικότητας της LpPLA₂ σχετίζονταν θετικά με τις μεταβολές της VLDL-C. [295] Όσον αφορά την HDL-C έδειξε στατιστικά σημαντική, αρνητική συσχέτιση στο συνολικό και οριακά στον ανδρικό πληθυσμό πάλι και στις 3 χρονικές στιγμές της παρέμβασης. Η πρώτη ένδειξη για τον αντιαθηρογόνο ρόλο της HDL-Lp-PLA₂ προήλθε από μελέτες *in vitro* που έδειξαν ότι η Lp-PLA₂ συμμετέχει σημαντικά στην αναστολή, που προκαλούν οι HDL, της ενεργοποίησης κυττάρων που επάγεται από τις oxLDL. [256]

Επιπρόσθετα, η στατιστική σημαντικότητα στη συσχέτιση της δραστικότητας της LpPLA₂ με την LDL-C, την HDL-C και με τα τριγλυκερίδια (οριακά) διατηρείται όπως φαίνεται στους Πίνακες 6,7,8 αντίστοιχα μετά από ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης. Πολλές μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες όπως η ARIC [263], η CHS [300], η ΑΤΤΙΚΗ [299], η WOSCOP [261], η μελέτη των Persson M. [304] επιβεβαιώνουν τις συσχετίσεις της δραστικότητας αλλά και της μάζας της LpPLA₂ με τις μεταβλητές του λιπιδίων. Τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρούνται και σε διατροφική παρέμβαση [293] με χορήγηση ω-3 λ.ο. από ιχθυέλαια.

Όσον αφορά την ομοκυστεΐνη, φαίνεται ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωσή της στο πλάσμα, τόσο αυξάνονται και τα επίπεδα της δραστικότητας της LpPLA₂ στο συνολικό και γυναικείο πληθυσμό. Αντίθετα, τα επίπεδα του φυλλικού οξέος και της βιταμίνης B₁₂ στο πλάσμα σχετίζονται αρνητικά με τα επίπεδα της δραστικότητας της LpPLA₂ στο σύνολο και τα δύο και η βιταμίνης B₁₂ και στις γυναίκες. Τα αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης στα αίμα έχουν συσχετιστεί με την αγγειακή νόσο. [113] Ο ρόλος του φυλλικού οξέος και αλλά και της βιταμίνης B₁₂ είναι συνδεδεμένος με το μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης και επομένως με χαμηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης στο αίμα. Γνωρίζοντας ότι τα επίπεδα του φυλλικού οξέος και της βιταμίνης B₁₂ στο πλάσμα αντανακλούν τη διατροφική πρόσληψη αυτών των συστατικών [305], κατανοούμε ότι μια μέτρια πρόσληψη τροφίμων εμπλουτισμένα σε φυλλικό οξύ και βιταμίνη B₁₂ (π.χ. δημητριακά πρωινού: 100μg/μερίδα) μπορούν να μειώσουν τα επίπεδα ομοκυστεΐνης σε υγιή άτομα [114], ενώ μεγαλύτερη ποσότητα σε άτομα με εγκατεστημένη αγγειακή νόσο. [115]

Συσχέτιση της LpPLA₂ με την ομοκυστεΐνη, το φυλλικό οξύ και τη βιταμίνη B₁₂ δεν έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία. Πιθανόν, ο οξειδωτικός τραυματισμός του ενδοθηλίου και η μετέπειτα φλεγμονώδης απόκριση να μπορούν να εξηγήσουν τη θετική συσχέτιση μεταξύ ομοκυστεΐνης και LpPLA₂ αν και πολύ μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες απαιτούνται ώστε να παγιωθεί.

Από την αρχή ως και μετά τους 3 μήνες της μελέτης, αρνητική συσχέτιση παρουσίασε η πρόσληψη της λακτόζης στο σύνολο του πληθυσμού και στους άνδρες που αντικατοπτρίζεται μερικώς στην αρνητική συσχέτιση της πρόσληψης γαλακτοκομικών προϊόντων με τη δραστηριότητα της LpPLA₂. Με ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης και χρησιμοποιώντας ως συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, το φύλο και το ΔΜΣ, βρέθηκε ότι η στατιστική σημαντικότητα στη συσχέτιση της δραστηριότητας της LpPLA₂ με την πρόσληψη λακτόζης εξαφανίζεται όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 16. Στην παρούσα μελέτη οι γυναίκες καταναλώνουν περισσότερη λακτόζη σε σχέση με τους άνδρες. Βάζοντας το φύλο στην ανάλυση χάνεται η συσχέτιση γιατί αφού το κομμάτι του πληθυσμού που προσλαμβάνει περισσότερη λακτόζη (γυναίκες) έχει και χαμηλότερη δραστηριότητα LpPLA₂. Ωστόσο, πάλι δεν εξηγείται η συσχέτιση στους άνδρες.

Στον 1 και στους 3 μήνες μετά την παρέμβαση η δραστηριότητα της LpPLA₂ αυξήθηκε στην ομάδα ελέγχου, κάτι το οποίο δεν επιβεβαιώθηκε και στις άλλες δύο ομάδες, στο συνολικό πληθυσμό και όχι στα 2 φύλα. Παράλληλα, η παρέμβαση με το εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες γάλα (ομάδα παρέμβασης), διαφοροποίησε τη μεταβολή των επιπέδων της δραστηριότητας της LpPLA₂ σε σχέση με την ομάδα ελέγχου αλλά όχι με την ομάδα placebo ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1) και τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2). Επιπρόσθετα, οι συσχετίσεις αυτές δεν επηρεάστηκαν με την προσθήκη ως συγχυτικού παράγοντα της LDL χοληστερόλης.

Τέλος, αυτό που μας ενδιαφέρει περισσότερο στην παρούσα μελέτη είναι το εάν μεταβλήθηκαν τα επίπεδα της δραστηριότητας της LpPLA₂ των υποκειμένων κατά τη διάρκεια της παρέμβασης, έπειτα από τη μείωση της LDL-C των εθελοντών. Κάτι που είναι εμφανές από τη διατήρηση των θετικών συσχετίσεων των επιπέδων της δραστηριότητας της Δ1LpPLA₂ με την Δ1LDL-C, στο συνολικό και ανδρικό πληθυσμό στην πρώτη φάση της παρέμβασης, αλλά όχι και στη δεύτερη. Από τα υπάρχοντα δεδομένα, παρατηρείται μείωση της LDL-C στην ομάδα παρέμβασης σε σχέση με τις άλλες δύο ομάδες κατά 24,7% μετά το τέλος της παρέμβασης (αδημοσίευτα δεδομένα). Δεδομένου ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ της Δ1LDL-C με την Δ1LpPLA₂, αυτή η μείωση θα έπρεπε να οδηγούσε σε αντίστοιχη μείωση της LpPLA₂ στην ομάδα

παρέμβασης. Είναι πιθανό κάποιοι άλλοι παράγοντες, μη διευκρινισμένοι ακόμη να επηρεάζουν τη μεταβολή της δραστηριότητας της LpPLA2 αντίθετα από την LDL-C. Πιθανόν αυτή η μείωση της χοληστερόλης να μην ήταν ικανή από μόνη της να επηρεάσει τη δραστηριότητα της LpPLA2 στο πλάσμα. Μια άλλη εξήγηση θα μπορούσε να ήταν ότι η μείωση της LDL-C προκάλεσε μια παράλληλη μείωση της HDL-C, κάτι το οποίο θα σήμαινε αύξηση της δραστηριότητας της LpPLA2 στο πλάσμα λόγω της αρνητικής συσχέτισής τους.

6. Συμπεράσματα

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης μετά από πρόγραμμα διατροφικής παρέμβασης διάρκειας 3 μηνών σε ήπια υπερχοληστερολαιμικά άτομα, έδειξαν ότι παρόλο που στην ομάδα ελέγχου η δραστηριότητα της LpPLA₂ αυξάνει στον 1 και στους 3 μήνες μετά την παρέμβαση, η χορήγηση εμπλουτισμένου με φυτοστερόλες ή placebo γάλακτος αποτρέπει την αύξηση των επιπέδων της δραστηριότητας της LpPLA₂ που παρατηρείται στην ομάδα ελέγχου.

7. Βιβλιογραφία

1. WHO. Cardiovascular diseases Fact Sheet No 317 2007 [cited; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>.
2. CDC. Addressing the Nation's Leading Killers Division for Heart Disease and Stroke Prevention 2006 [cited; Available from: <http://www.cdc.gov/>.
3. Association, A.H. Cardiovascular Disease Statistics [cited; Available from: <http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=4478>.
4. Peterson S, P.V., Rayner M, Lean J, Luengo – Fernandez R, Gray A. European Cardiovascular Statistics 2005 edition [cited; Available from: <http://www.heartstats.org/datapage.asp?id=1570>.
5. Foundation, B.H. Coronary Heart Disease Statistics [cited; Available from: <http://www.heartstats.org/homepage.asp>.
6. Organisation, W.H. Deaths and DALYs attributable to the 10 leading causes in the WHO European Region. 2002 [cited; Available from: <http://www.who.int>
7. J. A. Berliner, M.N., A. M. Fogelman, Joy S. Frank, L. L. Demer, P. A. Edwards, A. D. Watson, A. J. Lusis, *Atherosclerosis: Basic Mechanisms: Oxidation, Inflammation, and Genetics*, in *Circulation*. 1995. p. 2488-2496.
8. Eric H. Awtry, J.L., *Στεφανιαία Καρδιοπάθεια*. Cecil Παθολογία. 2003: Εκδόσεις Λίτσας. σελ. 99-116.
9. Libby, P. and P. Theroux, *Pathophysiology of coronary artery disease*. *Circulation*, 2005. **111**(25): p. 3481-8.
10. Fuster, V., Lewis A. Conner Memorial Lecture. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation*, 1994. **90**(4): p. 2126-46.
11. Plutzky, J., *Atherosclerotic plaque rupture: emerging insights and opportunities*. *Am J Cardiol*, 1999. **84**(1A): p. 15J-20J.
12. Libby, P., *What have we learned about the biology of atherosclerosis? The role of inflammation*. *Am J Cardiol*, 2001. **88**(7B): p. 3J-6J.
13. Buja, L.M. and J.T. Willerson, *Role of inflammation in coronary plaque disruption*. *Circulation*, 1994. **89**(1): p. 503-5.
14. Kris-Etherton, P.M., et al., *Recent discoveries in inclusive food-based approaches and dietary patterns for reduction in risk for cardiovascular disease*. *Curr Opin Lipidol*, 2002. **13**(4): p. 397-407.
15. Elisaf, M., *The treatment of coronary heart disease: an update. Part 1: An overview of the risk factors for cardiovascular disease*. *Curr Med Res Opin*, 2001. **17**(1): p. 18-26.
16. Willett, W.C., et al., *Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating*. *Am J Clin Nutr*, 1995. **61**(6 Suppl): p. 1402S-1406S.
17. Pitsavos, C., et al., *Epidemiology of cardiovascular risk factors in Greece: aims, design and baseline characteristics of the ATTICA study*. *BMC Public Health*, 2003. **3**: p. 32.
18. Vincent-Baudry, S., et al., *The Medi-RIVAGE study: reduction of cardiovascular disease risk factors after a 3-mo intervention with a Mediterranean-type diet or a low-fat diet*. *Am J Clin Nutr*, 2005. **82**(5): p. 964-71.
19. Vincent, S., et al., *The Medi-RIVAGE study (Mediterranean Diet, Cardiovascular Risks and Gene Polymorphisms): rationale, recruitment, design, dietary intervention and baseline characteristics of participants*. *Public Health Nutr*, 2004. **7**(4): p. 531-42.
20. Esposito, K., et al., *Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial*. *Jama*, 2004. **292**(12): p. 1440-6.

21. Estruch, R., et al., *Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial*. Ann Intern Med, 2006. **145**(1): p. 1-11.
22. Perez-Jimenez, F., et al., *A Mediterranean and a high-carbohydrate diet improve glucose metabolism in healthy young persons*. Diabetologia, 2001. **44**(11): p. 2038-43.
23. de Lorgeril, M., et al., *Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study*. Circulation, 1999. **99**(6): p. 779-85.
24. Rivellesse, A.A., et al., *Effects of dietary saturated, monounsaturated and n-3 fatty acids on fasting lipoproteins, LDL size and post-prandial lipid metabolism in healthy subjects*. Atherosclerosis, 2003. **167**(1): p. 149-58.
25. Kabagambe, E.K., et al., *Individual saturated fatty acids and nonfatal acute myocardial infarction in Costa Rica*. Eur J Clin Nutr, 2003. **57**(11): p. 1447-57.
26. Sacks, F.M. and M. Katan, *Randomized clinical trials on the effects of dietary fat and carbohydrate on plasma lipoproteins and cardiovascular disease*. Am J Med, 2002. **113 Suppl 9B**: p. 13S-24S.
27. Rivellesse, A.A. and S. Lilli, *Quality of dietary fatty acids, insulin sensitivity and type 2 diabetes*. Biomed Pharmacother, 2003. **57**(2): p. 84-7.
28. Galgani, J.E., et al., *Effect of the dietary fat quality on insulin sensitivity*. Br J Nutr, 2008. **100**(3): p. 471-9.
29. Vessby, B., et al., *Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study*. Diabetologia, 2001. **44**(3): p. 312-9.
30. Summers, L.K., et al., *Substituting dietary saturated fat with polyunsaturated fat changes abdominal fat distribution and improves insulin sensitivity*. Diabetologia, 2002. **45**(3): p. 369-77.
31. Mostad, I.L., et al., *Effects of n-3 fatty acids in subjects with type 2 diabetes: reduction of insulin sensitivity and time-dependent alteration from carbohydrate to fat oxidation*. Am J Clin Nutr, 2006. **84**(3): p. 540-50.
32. Silva, K.D., et al., *Chylomicron particle size and number, factor VII activation and dietary monounsaturated fatty acids*. Atherosclerosis, 2003. **166**(1): p. 73-84.
33. Perez-Jimenez, F., J. Lopez-Miranda, and P. Mata, *Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: beyond cholesterol*. Atherosclerosis, 2002. **163**(2): p. 385-98.
34. Lada, A.T. and L.L. Rudel, *Dietary monounsaturated versus polyunsaturated fatty acids: which is really better for protection from coronary heart disease?* Curr Opin Lipidol, 2003. **14**(1): p. 41-6.
35. Wan, Y., et al., *Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans*. Am J Clin Nutr, 2001. **74**(5): p. 596-602.
36. Anderson, K.J., et al., *Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation*. J Nutr, 2001. **131**(11): p. 2837-42.
37. Renaud, S. and D. Lanzmann-Petithory, *Coronary heart disease: dietary links and pathogenesis*. Public Health Nutr, 2001. **4**(2B): p. 459-74.
38. Campos, H., A. Baylin, and W.C. Willett, *Alpha-linolenic acid and risk of nonfatal acute myocardial infarction*. Circulation, 2008. **118**(4): p. 339-45.
39. Djousse, L., et al., *Dietary linolenic acid is inversely associated with plasma triacylglycerol: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study*. Am J Clin Nutr, 2003. **78**(6): p. 1098-102.
40. Ascherio, A., *Epidemiologic studies on dietary fats and coronary heart disease*. Am J Med, 2002. **113 Suppl 9B**: p. 9S-12S.
41. Kris-Etherton, P.M., K.D. Hecker, and A.E. Binkoski, *Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular health*. Nutr Rev, 2004. **62**(11): p. 414-26.

42. Kris-Etherton, P.M., W.S. Harris, and L.J. Appel, *Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease*. Circulation, 2002. **106**(21): p. 2747-57.
43. Engler, M.M., et al., *Effect of docosahexaenoic acid on lipoprotein subclasses in hyperlipidemic children (the EARLY study)*. Am J Cardiol, 2005. **95**(7): p. 869-71.
44. Mori, T.A., et al., *Differential effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on vascular reactivity of the forearm microcirculation in hyperlipidemic, overweight men*. Circulation, 2000. **102**(11): p. 1264-9.
45. Knapp, H.R., *Dietary fatty acids in human thrombosis and hemostasis*. Am J Clin Nutr, 1997. **65**(5 Suppl): p. 1687S-1698S.
46. Sijben, J.W. and P.C. Calder, *Differential immunomodulation with long-chain n-3 PUFA in health and chronic disease*. Proc Nutr Soc, 2007. **66**(2): p. 237-59.
47. Zampelas, A., et al., *Fish consumption among healthy adults is associated with decreased levels of inflammatory markers related to cardiovascular disease: the ATTICA study*. J Am Coll Cardiol, 2005. **46**(1): p. 120-4.
48. Clifton, P.M., J.B. Keogh, and M. Noakes, *Trans fatty acids in adipose tissue and the food supply are associated with myocardial infarction*. J Nutr, 2004. **134**(4): p. 874-9.
49. Baylin, A., et al., *High 18:2 trans-fatty acids in adipose tissue are associated with increased risk of nonfatal acute myocardial infarction in costa rican adults*. J Nutr, 2003. **133**(4): p. 1186-91.
50. Mensink, R.P., et al., *Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials*. Am J Clin Nutr, 2003. **77**(5): p. 1146-55.
51. Lichtenstein, A.H., et al., *Influence of hydrogenated fat and butter on CVD risk factors: remnant-like particles, glucose and insulin, blood pressure and C-reactive protein*. Atherosclerosis, 2003. **171**(1): p. 97-107.
52. Colandre, M.E., R.S. Diez, and C.A. Bernal, *Metabolic effects of trans fatty acids on an experimental dietary model*. Br J Nutr, 2003. **89**(5): p. 631-9.
53. Willett, W.C., et al., *Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women*. Lancet, 1993. **341**(8845): p. 581-5.
54. Mozaffarian, D., *Trans fatty acids - effects on systemic inflammation and endothelial function*. . Atheroscler., 2006. **Suppl 7**: p. 29-32.
55. Lefevre, M., Lovejoy, J., Smith, S., Windhauser, M., DeLany, J., Champagne, C., Rood, J. & Bray, G. A., *Acute effects of dietary trans fatty acids on postprandial insulin, glucose and triglyceride levels*. . FASEB J, 1999. **13**: p. A54(abs.).
56. Willett, W.C., *Is dietary fat a major determinant of body fat?* Am J Clin Nutr, 1998. **67**(3 Suppl): p. 556S-562S.
57. Seidell, J.C., *Dietary fat and obesity: an epidemiologic perspective*. Am J Clin Nutr, 1998. **67**(3 Suppl): p. 546S-550S.
58. Bray, G.A. and B.M. Popkin, *Dietary fat intake does affect obesity!* Am J Clin Nutr, 1998. **68**(6): p. 1157-73.
59. Toubro, S. and A. Astrup, *Randomised comparison of diets for maintaining obese subjects' weight after major weight loss: ad lib, low fat, high carbohydrate diet v fixed energy intake*. Bmj, 1997. **314**(7073): p. 29-34.
60. Abbasi, F., et al., *High carbohydrate diets, triglyceride-rich lipoproteins, and coronary heart disease risk*. Am J Cardiol, 2000. **85**(1): p. 45-8.
61. Turley, M.L., et al., *The effect of a low-fat, high-carbohydrate diet on serum high density lipoprotein cholesterol and triglyceride*. Eur J Clin Nutr, 1998. **52**(10): p. 728-32.
62. Vuksan, V., et al., *Beneficial effects of viscous dietary fiber from Konjac-mannan in subjects with the insulin resistance syndrome: results of a controlled metabolic trial*. Diabetes Care, 2000. **23**(1): p. 9-14.

63. Stanhope, K.L. and P.J. Havel, *Fructose consumption: considerations for future research on its effects on adipose distribution, lipid metabolism, and insulin sensitivity in humans*. J Nutr, 2009. **139**(6): p. 1236S-1241S.
64. Schaefer, E.J., J.A. Gleason, and M.L. Dansinger, *Dietary fructose and glucose differentially affect lipid and glucose homeostasis*. J Nutr, 2009. **139**(6): p. 1257S-1262S.
65. Qi, L. and F.B. Hu, *Dietary glycemic load, whole grains, and systemic inflammation in diabetes: the epidemiological evidence*. Curr Opin Lipidol, 2007. **18**(1): p. 3-8.
66. Esposito, K., M. Ciotola, and D. Giugliano, *Low-carbohydrate diet and coronary heart disease in women*. N Engl J Med, 2007. **356**(7): p. 750; author reply 750-2.
67. Yancy, W.S., Jr., et al., *A low-carbohydrate, ketogenic diet versus a low-fat diet to treat obesity and hyperlipidemia: a randomized, controlled trial*. Ann Intern Med, 2004. **140**(10): p. 769-77.
68. Westman, E.C., et al., *Low-carbohydrate nutrition and metabolism*. Am J Clin Nutr, 2007. **86**(2): p. 276-84.
69. Colditz, G.A., J.E. Manson, and S.E. Hankinson, *The Nurses' Health Study: 20-year contribution to the understanding of health among women*. J Womens Health, 1997. **6**(1): p. 49-62.
70. Astrup, A., *The satiating power of protein--a key to obesity prevention?* Am J Clin Nutr, 2005. **82**(1): p. 1-2.
71. Layman, D.K., et al., *A reduced ratio of dietary carbohydrate to protein improves body composition and blood lipid profiles during weight loss in adult women*. J Nutr, 2003. **133**(2): p. 411-7.
72. Skov, A.R., et al., *Randomized trial on protein vs carbohydrate in ad libitum fat reduced diet for the treatment of obesity*. Int J Obes Relat Metab Disord, 1999. **23**(5): p. 528-36.
73. Anderson, J.W. and T.J. Hanna, *Impact of nondigestible carbohydrates on serum lipoproteins and risk for cardiovascular disease*. J Nutr, 1999. **129**(7 Suppl): p. 1457S-66S.
74. Appel, L.J., et al., *A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure*. DASH Collaborative Research Group. N Engl J Med, 1997. **336**(16): p. 1117-24.
75. Mann, J., *Dietary fibre and diabetes revisited*. Eur J Clin Nutr, 2001. **55**(11): p. 919-21.
76. Samra, R.A. and G.H. Anderson, *Insoluble cereal fiber reduces appetite and short-term food intake and glycemic response to food consumed 75 min later by healthy men*. Am J Clin Nutr, 2007. **86**(4): p. 972-9.
77. Truswell, A.S., *Cereal grains and coronary heart disease*. Eur J Clin Nutr, 2002. **56**(1): p. 1-14.
78. Brown, L., et al., *Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis*. Am J Clin Nutr, 1999. **69**(1): p. 30-42.
79. Plotnick, G.D., M.C. Corretti, and R.A. Vogel, *Effect of antioxidant vitamins on the transient impairment of endothelium-dependent brachial artery vasoactivity following a single high-fat meal*. Jama, 1997. **278**(20): p. 1682-6.
80. Stephens, N.G., et al., *Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS)*. Lancet, 1996. **347**(9004): p. 781-6.
81. Yusuf, S., et al., *Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients*. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. N Engl J Med, 2000. **342**(3): p. 154-60.

82. de Gaetano, G., *Low-dose aspirin and vitamin E in people at cardiovascular risk: a randomised trial in general practice*. Collaborative Group of the Primary Prevention Project. *Lancet*, 2001. **357**(9250): p. 89-95.
83. Winklhofer-Roob, B.M., et al., *Effects of vitamin E and carotenoid status on oxidative stress in health and disease. Evidence obtained from human intervention studies*. *Mol Aspects Med*, 2003. **24**(6): p. 391-402.
84. Omenn, G.S., et al., *Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease*. *N Engl J Med*, 1996. **334**(18): p. 1150-5.
85. Hennekens, C.H., 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**(18): p. 1145-9.
86. *The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group*. *N Engl J Med*, 1994. **330**(15): p. 1029-35.
87. *MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial*. *Lancet*, 2002. **360**(9326): p. 23-33.
88. Neve, J., *Selenium as a risk factor for cardiovascular diseases*. *J Cardiovasc Risk*, 1996. **3**(1): p. 42-7.
89. Salonen, J.T., et al., *Association between cardiovascular death and myocardial infarction and serum selenium in a matched-pair longitudinal study*. *Lancet*, 1982. **2**(8291): p. 175-9.
90. Virtamo, J., et al., *Serum selenium and the risk of coronary heart disease and stroke*. *Am J Epidemiol*, 1985. **122**(2): p. 276-82.
91. Dell'Agli, M., A. Buscila, and E. Bosisio, *Vascular effects of wine polyphenols*. *Cardiovasc Res*, 2004. **63**(4): p. 593-602.
92. Scalbert, A. and G. Williamson, *Dietary intake and bioavailability of polyphenols*. *J Nutr*, 2000. **130**(8S Suppl): p. 2073S-85S.
93. Zern, T.L. and M.L. Fernandez, *Cardioprotective effects of dietary polyphenols*. *J Nutr*, 2005. **135**(10): p. 2291-4.
94. Yoon, J.H. and S.J. Baek, *Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties*. *Yonsei Med J*, 2005. **46**(5): p. 585-96.
95. Selmi, C., et al., *The anti-inflammatory properties of cocoa flavanols*. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2006. **47 Suppl 2**: p. S163-71; discussion S172-6.
96. Covas, M.I., *Olive oil and the cardiovascular system*. *Pharmacol Res*, 2007. **55**(3): p. 175-86.
97. Hargrove, R.L., et al., *Low fat and high monounsaturated fat diets decrease human low density lipoprotein oxidative susceptibility in vitro*. *J Nutr*, 2001. **131**(6): p. 1758-63.
98. de Jong, A., J. Plat, and R.P. Mensink, *Metabolic effects of plant sterols and stanols (Review)*. *J Nutr Biochem*, 2003. **14**(7): p. 362-9.
99. Mittelman, S.D., et al., *Extreme insulin resistance of the central adipose depot in vivo*. *Diabetes*, 2002. **51**(3): p. 755-61.
100. Cianflone, K., et al., *Fasting acylation-stimulating protein is predictive of postprandial triglyceride clearance*. *J Lipid Res*, 2004. **45**(1): p. 124-31.
101. Weststrate, J.A. and G.W. Meijer, *Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total- and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects*. *Eur J Clin Nutr*, 1998. **52**(5): p. 334-43.
102. Noakes, M., et al., *An increase in dietary carotenoids when consuming plant sterols or stanols is effective in maintaining plasma carotenoid concentrations*. *Am J Clin Nutr*, 2002. **75**(1): p. 79-86.
103. Jones, P.J., et al., *Modulation of plasma lipid levels and cholesterol kinetics by phytosterol versus phytostanol esters*. *J Lipid Res*, 2000. **41**(5): p. 697-705.

104. Hallikainen, M.A., et al., *Comparison of the effects of plant sterol ester and plant stanol ester-enriched margarines in lowering serum cholesterol concentrations in hypercholesterolaemic subjects on a low-fat diet*. Eur J Clin Nutr, 2000. **54**(9): p. 715-25.
105. Normen, L., et al., *Soy sterol esters and beta-sitostanol ester as inhibitors of cholesterol absorption in human small bowel*. Am J Clin Nutr, 2000. **71**(4): p. 908-13.
106. Simons, L.A., *Additive effect of plant sterol-ester margarine and cerivastatin in lowering low-density lipoprotein cholesterol in primary hypercholesterolemia*. Am J Cardiol, 2002. **90**(7): p. 737-40.
107. Yoshida, M., et al., *Effect of plant sterols and glucomannan on lipids in individuals with and without type II diabetes*. Eur J Clin Nutr, 2006. **60**(4): p. 529-37.
108. Shrestha, S., et al., *A combination therapy including psyllium and plant sterols lowers LDL cholesterol by modifying lipoprotein metabolism in hypercholesterolemic individuals*. J Nutr, 2006. **136**(10): p. 2492-7.
109. A, Z., *Κλινική Διαιτολογία & Διατροφή με στοιχεία παθολογίας*, ed. τ. 1. 2007: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης.
110. Program, N.C.E. *Third Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III)*. National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute 2001 [cited; No. 01-3670:]
111. Djousse, L., et al., *Alcohol consumption and risk of ischemic stroke: The Framingham Study*. Stroke, 2002. **33**(4): p. 907-12.
112. Association, A.H. *Risk Factors and Coronary Heart Disease and Stroke* [cited; Available from: <http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=539>].
113. *Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials*. Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. Bmj, 1998. **316**(7135): p. 894-8.
114. Venn, B.J., et al., *Dietary counseling to increase natural folate intake: a randomized, placebo-controlled trial in free-living subjects to assess effects on serum folate and plasma total homocysteine*. Am J Clin Nutr, 2002. **76**(4): p. 758-65.
115. Malinow MR, D.P., Hess DL, *Reduction of plasma homocysteine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients with coronary heart disease*. N Engl J Med 1998(338): p. 1009-15.
116. De Caterina, R., et al., *Nutritional mechanisms that influence cardiovascular disease*. Am J Clin Nutr, 2006. **83**(2): p. 421S-426S.
117. Haug, A., A.T. Hostmark, and O.M. Harstad, *Bovine milk in human nutrition--a review*. Lipids Health Dis, 2007. **6**: p. 25.
118. Ebringer, L., M. Ferencik, and J. Krajcovic, *Beneficial health effects of milk and fermented dairy products--review*. Folia Microbiol (Praha), 2008. **53**(5): p. 378-94.
119. Kagan, A., et al., *Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California: demographic, physical, dietary and biochemical characteristics*. J Chronic Dis, 1974. **27**(7-8): p. 345-64.
120. A, K., *Coronary heart disease in seven countries*. Circulation, 1970(41): p. 1-211.
121. Lichtenstein, A.H., et al., *Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee*. Circulation, 2006. **114**(1): p. 82-96.
122. Foundation, B.N. *Heart disease and stroke (cardiovascular disease) 2004* [cited; Available from: <http://www.nutrition.org.uk/home.asp?siteId=43§ionId=404&subSectionId=321&parentSection=299&which=1>].
123. Pietinen, P., et al., *Changes in diet in Finland from 1972 to 1992: impact on coronary heart disease risk*. Prev Med, 1996. **25**(3): p. 243-50.

124. Hu, F.B., et al., *Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women*. Am J Clin Nutr, 1999. **70**(6): p. 1001-8.
125. Conlin, P.R., et al., *The effect of dietary patterns on blood pressure control in hypertensive patients: results from the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) trial*. Am J Hypertens, 2000. **13**(9): p. 949-55.
126. Elwood, P.C., et al., *Milk drinking, ischaemic heart disease and ischaemic stroke II. Evidence from cohort studies*. Eur J Clin Nutr, 2004. **58**(5): p. 718-24.
127. Azadbakht, L., et al., *Dairy consumption is inversely associated with the prevalence of the metabolic syndrome in Tehranian adults*. Am J Clin Nutr, 2005. **82**(3): p. 523-30.
128. Yu, S., et al., *Plasma cholesterol-predictive equations demonstrate that stearic acid is neutral and monounsaturated fatty acids are hypocholesterolemic*. Am J Clin Nutr, 1995. **61**(5): p. 1129-39.
129. Mann, G.V., *Studies of a surfactant and cholesteremia in the Maasai*. Am J Clin Nutr, 1974. **27**(5): p. 464-9.
130. Golay, A., et al., *Cholesterol-lowering effect of skim milk from immunized cows in hypercholesterolemic patients*. Am J Clin Nutr, 1990. **52**(6): p. 1014-9.
131. Tholstrup, T., et al., *Does fat in milk, butter and cheese affect blood lipids and cholesterol differently?* J Am Coll Nutr, 2004. **23**(2): p. 169-76.
132. Nestel, P.J., A. Chronopulos, and M. Cehun, *Dairy fat in cheese raises LDL cholesterol less than that in butter in mildly hypercholesterolaemic subjects*. Eur J Clin Nutr, 2005. **59**(9): p. 1059-63.
133. Biong, A.S., et al., *A comparison of the effects of cheese and butter on serum lipids, haemostatic variables and homocysteine*. Br J Nutr, 2004. **92**(5): p. 791-7.
134. Chi, D., M. Nakano, and K. Yamamoto, *Milk and milk products consumption in relationship to serum lipid levels: a community-based study of middle-aged and older population in Japan*. Cent Eur J Public Health, 2004. **12**(2): p. 84-7.
135. Sjogren, P., et al., *Milk-derived fatty acids are associated with a more favorable LDL particle size distribution in healthy men*. J Nutr, 2004. **134**(7): p. 1729-35.
136. Samuelson, G., et al., *Dietary fat intake in healthy adolescents: inverse relationships between the estimated intake of saturated fatty acids and serum cholesterol*. Br J Nutr, 2001. **85**(3): p. 333-41.
137. Cox, C., et al., *Effects of coconut oil, butter, and safflower oil on lipids and lipoproteins in persons with moderately elevated cholesterol levels*. J Lipid Res, 1995. **36**(8): p. 1787-95.
138. Thompson, L.U., et al., *The effect of fermented and unfermented milks on serum cholesterol*. Am J Clin Nutr, 1982. **36**(6): p. 1106-11.
139. Rossouw, J.E., et al., *The effect of skim milk, yoghurt, and full cream milk on human serum lipids*. Am J Clin Nutr, 1981. **34**(3): p. 351-6.
140. Antila, M., et al., *Is fat globule membrane essential for cholesterol-lowering effect of milk?* Lancet, 1980. **1**(8168 Pt 1): p. 602.
141. Nair, C.R. and G.V. Mann, *A factor in milk which influences cholestermia in rats*. Atherosclerosis, 1977. **26**(3): p. 363-7.
142. McNamara, D.J., A.E. Lowell, and J.E. Sabb, *Effect of yogurt intake on plasma lipid and lipoprotein levels in normolipidemic males*. Atherosclerosis, 1989. **79**(2-3): p. 167-71.
143. Anderson, J.W. and S.E. Gilliland, *Effect of fermented milk (yogurt) containing Lactobacillus acidophilus L1 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans*. J Am Coll Nutr, 1999. **18**(1): p. 43-50.
144. Kiessling, G., J. Schneider, and G. Jahreis, *Long-term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol*. Eur J Clin Nutr, 2002. **56**(9): p. 843-9.

145. Law, M., *Plant sterol and stanol margarines and health*. Bmj, 2000. **320**(7238): p. 861-4.
146. Katan, M.B., et al., *Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels*. Mayo Clin Proc, 2003. **78**(8): p. 965-78.
147. Noakes, M., et al., *Plant sterol ester-enriched milk and yoghurt effectively reduce serum cholesterol in modestly hypercholesterolemic subjects*. Eur J Nutr, 2005. **44**(4): p. 214-22.
148. Mannarino, E., et al., *Effects of a phytosterol-enriched dairy product on lipids, sterols and 8-isoprostane in hypercholesterolemic patients: a multicenter Italian study*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2009. **19**(2): p. 84-90.
149. Hansel, B., et al., *Effect of low-fat, fermented milk enriched with plant sterols on serum lipid profile and oxidative stress in moderate hypercholesterolemia*. Am J Clin Nutr, 2007. **86**(3): p. 790-6.
150. Weidner, C., et al., *Cholesterol lowering effect of a soy drink enriched with plant sterols in a French population with moderate hypercholesterolemia*. Lipids Health Dis, 2008. **7**: p. 35.
151. Carrero, J.J., et al., *Cardiovascular effects of milk enriched with omega-3 polyunsaturated fatty acids, oleic acid, folic acid, and vitamins E and B6 in volunteers with mild hyperlipidemia*. Nutrition, 2004. **20**(6): p. 521-7.
152. Baro, L., et al., *n-3 Fatty acids plus oleic acid and vitamin supplemented milk consumption reduces total and LDL cholesterol, homocysteine and levels of endothelial adhesion molecules in healthy humans*. Clin Nutr, 2003. **22**(2): p. 175-82.
153. Fonolla, J., et al., *Milk enriched with "healthy fatty acids" improves cardiovascular risk markers and nutritional status in human volunteers*. Nutrition, 2009. **25**(4): p. 408-14.
154. Visioli, F., et al., *Very low intakes of N-3 fatty acids incorporated into bovine milk reduce plasma triacylglycerol and increase HDL-cholesterol concentrations in healthy subjects*. Pharmacol Res, 2000. **41**(5): p. 571-6.
155. Prescott, S.M., et al., *Platelet-activating factor and related lipid mediators*. Annu Rev Biochem, 2000. **69**: p. 419-45.
156. TN, N., *Μελέτη του μεταβολισμού του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) σε ανθρώπινο νεφρό και της συμμετοχής του στην πρόκληση σπειραματονεφρίτιδας*, in Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας. 2002, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών: Αθήνα.
157. Snyder, F., *Platelet-activating factor: the biosynthetic and catabolic enzymes*. Biochem J, 1995. **305 (Pt 3)**: p. 689-705.
158. Snyder, F., *Platelet-activating factor and its analogs: metabolic pathways and related intracellular processes*. Biochim Biophys Acta, 1995. **1254**(3): p. 231-49.
159. Pinckard, R.N., et al., *Structural and (patho)physiological diversity of PAF*. Clin Rev Allergy, 1994. **12**(4): p. 329-59.
160. Mencia-Huerta, J.M., et al., *Is platelet-activating factor (PAF-acether) synthesis by murine peritoneal cells (PC) a two-step process?* Agents Actions, 1981. **11**(6-7): p. 556-8.
161. Winkler, J.D., et al., *Evidence for different mechanisms involved in the formation of lyso platelet-activating factor and the calcium-dependent release of arachidonic acid from human neutrophils*. Biochem Pharmacol, 1992. **44**(10): p. 2055-66.
162. Bauldry, S.A. and R.E. Wooten, *Leukotriene B4 and platelet activating factor production in permeabilized human neutrophils: role of cytosolic PLA2 in LTB4 and PAF generation*. Biochim Biophys Acta, 1996. **1303**(1): p. 63-73.
163. White, S.R., et al., *Regulation of human eosinophil degranulation and activation by endogenous phospholipase A2*. J Clin Invest, 1993. **91**(5): p. 2118-25.

164. Yamashita, A., T. Sugiura, and K. Waku, *Acyltransferases and transacylases involved in fatty acid remodeling of phospholipids and metabolism of bioactive lipids in mammalian cells*. J Biochem, 1997. **122**(1): p. 1-16.
165. Tjoelker, L.W. and D.M. Stafforini, *Platelet-activating factor acetylhydrolases in health and disease*. Biochim Biophys Acta, 2000. **1488**(1-2): p. 102-23.
166. Lee, T.C., Y. Uemura, and F. Snyder, *A novel CoA-independent transacetylase produces the ethanolamine plasmalogen and acyl analogs of platelet-activating factor (PAF) with PAF as the acetate donor in HL-60 cells*. J Biol Chem, 1992. **267**(28): p. 19992-20001.
167. Balestrieri, M.L., L. Servillo, and T. Lee, *The role of platelet-activating factor-dependent transacetylase in the biosynthesis of 1-acyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine by stimulated endothelial cells*. J Biol Chem, 1997. **272**(28): p. 17431-7.
168. Tsoukatos, D.C., et al., *Platelet-activating factor acetylhydrolase and transacetylase activities in human plasma low-density lipoprotein*. Biochem J, 2001. **357**(Pt 2): p. 457-64.
169. Liu, M. and P.V. Subbaiah, *Hydrolysis and transesterification of platelet-activating factor by lecithin-cholesterol acyltransferase*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. **91**(13): p. 6035-9.
170. Okayasu, T., et al., *Metabolism of platelet-activating factor in primary cultured adult rat hepatocytes by a new pathway involving phospholipase C and alkyl monooxygenase*. Biochim Biophys Acta, 1986. **876**(1): p. 58-64.
171. Yamashita, M., et al., *The metabolism of platelet activating factor in platelets and plasma of various animals*. J Toxicol Sci, 1983. **8**(3): p. 177-88.
172. DeNichilo, M.O., et al., *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is a stimulant of platelet-activating factor and superoxide anion generation by human neutrophils*. J Biol Chem, 1991. **266**(8): p. 4896-902.
173. McIntyre, T.M., G.A. Zimmerman, and S.M. Prescott, *Leukotrienes C4 and D4 stimulate human endothelial cells to synthesize platelet-activating factor and bind neutrophils*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1986. **83**(7): p. 2204-8.
174. Zimmerman, G.A., et al., *Endothelial cell-associated platelet-activating factor: a novel mechanism for signaling intercellular adhesion*. J Cell Biol, 1990. **110**(2): p. 529-40.
175. Ishii, S. and T. Shimizu, *Platelet-activating factor (PAF) receptor and genetically engineered PAF receptor mutant mice*. Prog Lipid Res, 2000. **39**(1): p. 41-82.
176. Izumi, T., et al., *Regulation and signal transduction of PAF receptor*. Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res, 1995. **23**: p. 461-6.
177. Hanahan, D.J., *Platelet activating factor: a biologically active phosphoglyceride*. Annu Rev Biochem, 1986. **55**: p. 483-509.
178. Shimizu, T., et al., *Platelet-activating factor receptor and signal transduction*. Biochem Pharmacol, 1992. **44**(6): p. 1001-8.
179. Lorant, D.E., et al., *Inflammatory roles of P-selectin*. J Clin Invest, 1993. **92**(2): p. 559-70.
180. Constantinos A. Demopoulos, H.C.K., Smaragdi Antonopoulou, *Platelet activating factor - a molecular link between atherosclerosis theories*. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 2003(105): p. 705-716.
181. Hirashima, Y., et al., *Transfection of the plasma-type platelet-activating factor acetylhydrolase gene attenuates glutamate-induced apoptosis in cultured rat cortical neurons*. Brain Res, 2000. **885**(1): p. 128-32.
182. Rouis, M., F. Nigon, and M.J. Chapman, *Platelet activating factor is a potent stimulant of the production of active oxygen species by human monocyte-derived macrophages*. Biochem Biophys Res Commun, 1988. **156**(3): p. 1293-301.

183. Handley, D.A., et al., *Effect of platelet activating factor on endothelial permeability to plasma macromolecules*. Immunopharmacology, 1984. **8**(3-4): p. 137-42.
184. Weber, C. and T.A. Springer, *Neutrophil accumulation on activated, surface-adherent platelets in flow is mediated by interaction of Mac-1 with fibrinogen bound to α IIb β 3 and stimulated by platelet-activating factor*. J Clin Invest, 1997. **100**(8): p. 2085-93.
185. Weyrich, A.S., et al., *Monocyte tethering by P-selectin regulates monocyte chemotactic protein-1 and tumor necrosis factor- α secretion. Signal integration and NF- κ B translocation*. J Clin Invest, 1995. **95**(5): p. 2297-303.
186. Dentan, C., et al., *Phagocytic activation induces formation of platelet-activating factor in human monocyte-derived macrophages and in macrophage-derived foam cells. Relevance to the inflammatory reaction in atherogenesis*. Eur J Biochem, 1996. **236**(1): p. 48-55.
187. Cirillo, P., et al., *[Effect of platelets and leukocytes on in vitro proliferation of muscle cells: role of platelet-derived chemical mediators]*. Cardiologia, 1996. **41**(2): p. 141-7.
188. Mueller, H.W., et al., *Measurement of platelet-activating factor in a canine model of coronary thrombosis and in endarterectomy samples from patients with advanced coronary artery disease*. Circ Res, 1995. **77**(1): p. 54-63.
189. Feliste, R., et al., *Protective effect of BN 52021, a specific antagonist of platelet-activating factor (PAF-acether) against diet-induced cholesteryl ester deposition in rabbit aorta*. Atherosclerosis, 1989. **78**(2-3): p. 151-8.
190. Tselepis, A.D. and M. John Chapman, *Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor-acetylhydrolase*. Atheroscler Suppl, 2002. **3**(4): p. 57-68.
191. Subramanian, V.S., et al., *Role of lecithin-cholesterol acyltransferase in the metabolism of oxidized phospholipids in plasma: studies with platelet-activating factor-acetyl hydrolase-deficient plasma*. Biochim Biophys Acta, 1999. **1439**(1): p. 95-109.
192. Karantonis, H.C., et al., *In vivo antiatherogenic properties of olive oil and its constituent lipid classes in hyperlipidemic rabbits*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2006. **16**(3): p. 174-85.
193. Antonopoulou, S., et al., *Effect of traditional Greek Mediterranean meals on platelet aggregation in normal subjects and in patients with type 2 diabetes mellitus*. J Med Food, 2006. **9**(3): p. 356-62.
194. Karantonis, H.C., et al., *Effect of fast-food Mediterranean-type diet on type 2 diabetics and healthy human subjects' platelet aggregation*. Diabetes Res Clin Pract, 2006. **72**(1): p. 33-41.
195. Six, D.A. and E.A. Dennis, *The expanding superfamily of phospholipase A(2) enzymes: classification and characterization*. Biochim Biophys Acta, 2000. **1488**(1-2): p. 1-19.
196. Asano, K., et al., *Cellular source(s) of platelet-activating-factor acetylhydrolase activity in plasma*. Biochem Biophys Res Commun, 1999. **261**(2): p. 511-4.
197. Min, J.H., et al., *Membrane-bound plasma platelet activating factor acetylhydrolase acts on substrate in the aqueous phase*. Biochemistry, 1999. **38**(39): p. 12935-42.
198. Honda, Z., et al., *Cloning by functional expression of platelet-activating factor receptor from guinea-pig lung*. Nature, 1991. **349**(6307): p. 342-6.
199. Tew, D.G., et al., *Purification, properties, sequencing, and cloning of a lipoprotein-associated, serine-dependent phospholipase involved in the oxidative modification of low-density lipoproteins*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1996. **16**(4): p. 591-9.

200. Tjoelker, L.W., et al., *Anti-inflammatory properties of a platelet-activating factor acetylhydrolase*. *Nature*, 1995. **374**(6522): p. 549-53.
201. Akiyama, M., et al., *Identification of a major PAF acetylhydrolase in human serum/plasma as a 43 kDa glycoprotein containing about 9 kDa asparagine-conjugated sugar chain(s)*. *J Biochem*, 1998. **123**(5): p. 786-9.
202. Stafforini, D.M., T.M. McIntyre, and S.M. Prescott, *Platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma*. *Methods Enzymol*, 1990. **187**: p. 344-57.
203. Samanta, U. and B.J. Bahnson, *Crystal structure of human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase: structural implication to lipoprotein binding and catalysis*. *J Biol Chem*, 2008. **283**(46): p. 31617-24.
204. Stremler, K.E., et al., *Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Oxidatively fragmented phospholipids as substrates*. *J Biol Chem*, 1991. **266**(17): p. 11095-103.
205. Leitinger, N., *The role of phospholipid oxidation products in inflammatory and autoimmune diseases: evidence from animal models and in humans*. *Subcell Biochem*, 2008. **49**: p. 325-50.
206. Stafforini, D.M., et al., *Release of free F2-isoprostanes from esterified phospholipids is catalyzed by intracellular and plasma platelet-activating factor acetylhydrolases*. *J Biol Chem*, 2006. **281**(8): p. 4616-23.
207. Tsoukatos, D.C., et al., *Platelet-activating factor acetylhydrolase and transacetylase activities in human aorta and mammary artery*. *J Lipid Res*, 2008. **49**(10): p. 2240-9.
208. De Vriese, C., et al., *Ghrelin interacts with human plasma lipoproteins*. *Endocrinology*, 2007. **148**(5): p. 2355-62.
209. Liapikos, T.A., et al., *Platelet-activating factor formation during oxidative modification of low-density lipoprotein when PAF-acetylhydrolase has been inactivated*. *Biochim Biophys Acta*, 1994. **1212**(3): p. 353-60.
210. MacRitchie, A.N., et al., *Molecular basis for susceptibility of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase to oxidative inactivation*. *Faseb J*, 2007. **21**(4): p. 1164-76.
211. Stafforini, D.M., et al., *Molecular basis of the interaction between plasma platelet-activating factor acetylhydrolase and low density lipoprotein*. *J Biol Chem*, 1999. **274**(11): p. 7018-24.
212. Benitez, S., et al., *Platelet-activating factor acetylhydrolase is mainly associated with electronegative low-density lipoprotein subfraction*. *Circulation*, 2003. **108**(1): p. 92-6.
213. Sevanian, A., et al., *LDL- is a lipid hydroperoxide-enriched circulating lipoprotein*. *J Lipid Res*, 1997. **38**(3): p. 419-28.
214. Sanchez-Quesada, J.L., et al., *Electronegative LDL of FH subjects: chemical characterization and induction of chemokine release from human endothelial cells*. *Atherosclerosis*, 2003. **166**(2): p. 261-70.
215. Hakkinen, T., et al., *Lipoprotein-associated phospholipase A(2), platelet-activating factor acetylhydrolase, is expressed by macrophages in human and rabbit atherosclerotic lesions*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999. **19**(12): p. 2909-17.
216. Virmani, R., et al., *Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000. **20**(5): p. 1262-75.
217. Pritchard, P.H., A. Chonn, and C.C. Yeung, *The degradation of platelet-activating factor in the plasma of a patient with familial high density lipoprotein deficiency (Tangier disease)*. *Blood*, 1985. **66**(6): p. 1476-8.

218. Yamada, Y., et al., *Characterization of the platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma by heterologous expression in Xenopus laevis oocytes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. **91**(22): p. 10320-4.
219. Stafforini, D.M., *Biology of platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH, lipoprotein associated phospholipase A2)*. Cardiovasc Drugs Ther, 2009. **23**(1): p. 73-83.
220. Rodrigo, L., et al., *Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase*. Biochem J, 2001. **354**(Pt 1): p. 1-7.
221. Marchegiani, F., et al., *Paraoxonase 1: genetics and activities during aging*. Rejuvenation Res, 2008. **11**(1): p. 113-27.
222. Ahmed, Z., et al., *Multiple substrates for paraoxonase-1 during oxidation of phosphatidylcholine by peroxynitrite*. Biochem Biophys Res Commun, 2002. **290**(1): p. 391-6.
223. Ahmed, Z., et al., *Apolipoprotein A-I promotes the formation of phosphatidylcholine core aldehydes that are hydrolyzed by paraoxonase (PON-1) during high density lipoprotein oxidation with a peroxynitrite donor*. J Biol Chem, 2001. **276**(27): p. 24473-81.
224. Tsironis, L.D., et al., *Reduced PAF-acetylhydrolase activity associated with Lp(a) in patients with coronary artery disease*. Atherosclerosis, 2004. **177**(1): p. 193-201.
225. Karabina, S.A., et al., *PAF-acetylhydrolase activity of Lp(a) before and during Cu(2+)-induced oxidative modification in vitro*. Atherosclerosis, 1996. **125**(1): p. 121-34.
226. Tetta, C., et al., *Release of platelet-activating factor in systemic lupus erythematosus*. Int Arch Allergy Appl Immunol, 1990. **91**(3): p. 244-56.
227. Caplan, M.S., et al., *Role of platelet activating factor and tumor necrosis factor-alpha in neonatal necrotizing enterocolitis*. J Pediatr, 1990. **116**(6): p. 960-4.
228. Graham, R.M., et al., *Plasma degradation of platelet-activating factor in severely ill patients with clinical sepsis*. Crit Care Med, 1994. **22**(2): p. 204-12.
229. Hofmann, B., et al., *Enhanced degradation of platelet-activating factor in serum from diabetic patients*. Haemostasis, 1989. **19**(3): p. 180-4.
230. Satoh, K., et al., *Increased activity of the platelet-activating factor acetylhydrolase in plasma low density lipoprotein from patients with essential hypertension*. Prostaglandins, 1989. **37**(6): p. 673-82.
231. Dulioust, A., et al., *Paf-acether acetylhydrolase activity is increased in patients with rheumatic diseases*. Scand J Rheumatol, 1992. **21**(4): p. 161-4.
232. Meade, C.J., et al., *Serum PAF acetylhydrolase and chronic cholestasis*. Lancet, 1991. **338**(8773): p. 1016-7.
233. Watson, A.D., et al., *Effect of platelet activating factor-acetylhydrolase on the formation and action of minimally oxidized low density lipoprotein*. J Clin Invest, 1995. **95**(2): p. 774-82.
234. Ninio, E., *Phospholipid mediators in the vessel wall: involvement in atherosclerosis*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2005. **8**(2): p. 123-31.
235. Opal, S., et al., *Recombinant human platelet-activating factor acetylhydrolase for treatment of severe sepsis: results of a phase III, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial*. Crit Care Med, 2004. **32**(2): p. 332-41.
236. Naoki, K., et al., *PAF responsiveness in Japanese subjects with plasma PAF acetylhydrolase deficiency*. Biochem Biophys Res Commun, 2004. **317**(1): p. 205-10.
237. Takahashi, M., et al., *Lysophosphatidylcholine induces apoptosis in human endothelial cells through a p38-mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism*. Atherosclerosis, 2002. **161**(2): p. 387-94.

238. Zalewski, A. and C. Macphee, *Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis: biology, epidemiology, and possible therapeutic target*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005. **25**(5): p. 923-31.
239. MacPhee, C.H., et al., *Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase, generates two bioactive products during the oxidation of low-density lipoprotein: use of a novel inhibitor*. *Biochem J*, 1999. **338** (Pt 2): p. 479-87.
240. Lavi, S., et al., *Local production of lipoprotein-associated phospholipase A2 and lysophosphatidylcholine in the coronary circulation: association with early coronary atherosclerosis and endothelial dysfunction in humans*. *Circulation*, 2007. **115**(21): p. 2715-21.
241. Kolodgie, F.D., et al., *Lipoprotein-associated phospholipase A2 protein expression in the natural progression of human coronary atherosclerosis*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006. **26**(11): p. 2523-9.
242. Mannheim, D., et al., *Enhanced expression of Lp-PLA2 and lysophosphatidylcholine in symptomatic carotid atherosclerotic plaques*. *Stroke*, 2008. **39**(5): p. 1448-55.
243. Steinberg, D., *Atherogenesis in perspective: hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime*. *Nat Med*, 2002. **8**(11): p. 1211-7.
244. Carpenter, K.L., et al., *Inhibition of lipoprotein-associated phospholipase A2 diminishes the death-inducing effects of oxidised LDL on human monocyte-macrophages*. *FEBS Lett*, 2001. **505**(3): p. 357-63.
245. Tsimihodimos, V., et al., *Altered distribution of platelet-activating factor-acetylhydrolase activity between LDL and HDL as a function of the severity of hypercholesterolemia*. *J Lipid Res*, 2002. **43**(2): p. 256-63.
246. Guerra, R., et al., *Determinants of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase: heritability and relationship to plasma lipoproteins*. *J Lipid Res*, 1997. **38**(11): p. 2281-8.
247. Tsimihodimos, V., et al., *Atorvastatin preferentially reduces LDL-associated platelet-activating factor acetylhydrolase activity in dyslipidemias of type IIA and type IIB*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002. **22**(2): p. 306-11.
248. Tsimihodimos, V., et al., *Fenofibrate induces HDL-associated PAF-AH but attenuates enzyme activity associated with apoB-containing lipoproteins*. *J Lipid Res*, 2003. **44**(5): p. 927-34.
249. Hansson, G.K., *Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease*. *N Engl J Med*, 2005. **352**(16): p. 1685-95.
250. Tselepis, A.D., et al., *PAF-degrading acetylhydrolase is preferentially associated with dense LDL and VHDL-1 in human plasma. Catalytic characteristics and relation to the monocyte-derived enzyme*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995. **15**(10): p. 1764-73.
251. Karabina, S.A., et al., *Increased activity of platelet-activating factor acetylhydrolase in low-density lipoprotein subfractions induces enhanced lysophosphatidylcholine production during oxidation in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia*. *Eur J Clin Invest*, 1997. **27**(7): p. 595-602.
252. Mohler, E.R., 3rd, et al., *The effect of darapladib on plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and cardiovascular biomarkers in patients with stable coronary heart disease or coronary heart disease risk equivalent: the results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study*. *J Am Coll Cardiol*, 2008. **51**(17): p. 1632-41.
253. Serruys, P.W., et al., *Effects of the direct lipoprotein-associated phospholipase A(2) inhibitor darapladib on human coronary atherosclerotic plaque*. *Circulation*, 2008. **118**(11): p. 1172-82.

254. Monaco, C., et al., Autoantibodies against oxidized low density lipoproteins in patients with stable angina, unstable angina or peripheral vascular disease; pathophysiological implications. *Eur Heart J*, 2001. **22**(17): p. 1572-7.
255. Shi, Y., et al., Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in leukocyte activation and inflammatory responses. *Atherosclerosis*, 2007. **191**(1): p. 54-62.
256. Navab, M., et al., HDL and the inflammatory response induced by LDL-derived oxidized phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001. **21**(4): p. 481-8.
257. Rubin, E.M., et al., Inhibition of early atherogenesis in transgenic mice by human apolipoprotein AI. *Nature*, 1991. **353**(6341): p. 265-7.
258. De Geest, B., et al., Effect of overexpression of human apo A-I in C57BL/6 and C57BL/6 apo E-deficient mice on 2 lipoprotein-associated enzymes, platelet-activating factor acetylhydrolase and paraoxonase. Comparison of adenovirus-mediated human apo A-I gene transfer and human apo A-I transgenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000. **20**(10): p. E68-75.
259. Tsimikas, S., et al., Oxidized phospholipids, Lp(a) lipoprotein, and coronary artery disease. *N Engl J Med*, 2005. **353**(1): p. 46-57.
260. Tsimikas, S., L.D. Tsimonis, and A.D. Tselepis, New insights into the role of lipoprotein(a)-associated lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007. **27**(10): p. 2094-9.
261. Packard, C.J., et al., Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med*, 2000. **343**(16): p. 1148-55.
262. Blake, G.J., et al., A prospective evaluation of lipoprotein-associated phospholipase A(2) levels and the risk of future cardiovascular events in women. *J Am Coll Cardiol*, 2001. **38**(5): p. 1302-6.
263. Ballantyne, C.M., et al., Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation*, 2004. **109**(7): p. 837-42.
264. Koenig, W., et al., Lipoprotein-associated phospholipase A2 adds to risk prediction of incident coronary events by C-reactive protein in apparently healthy middle-aged men from the general population: results from the 14-year follow-up of a large cohort from southern Germany. *Circulation*, 2004. **110**(14): p. 1903-8.
265. Oei, H.H., et al., Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study. *Circulation*, 2005. **111**(5): p. 570-5.
266. Kiechl, S., et al., Oxidized phospholipids, lipoprotein(a), lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, and 10-year cardiovascular outcomes: prospective results from the Bruneck study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007. **27**(8): p. 1788-95.
267. Daniels, L.B., et al., Lipoprotein-associated phospholipase A2 is an independent predictor of incident coronary heart disease in an apparently healthy older population: the Rancho Bernardo Study. *J Am Coll Cardiol*, 2008. **51**(9): p. 913-9.
268. Jenny NS, S.C., Cushman M, Nelson JJ, Tracy RP, Psaty BM, Lipoprotein-associated phospholipase A2 and cardiovascular disease: results from the Cardiovascular Health Study. *Circulation*, 2006(113): p. E-332.
269. Caslake MJ, C.J., Murray E, Bedford D, Robertson M, Nelson JJ, Lipoprotein-associated phospholipase A2 as a risk factor for coronary vascular disease in the elderly. *Atheroscler Suppl*, 2006(7): p. 484.
270. O'Donoghue, M., et al., Lipoprotein-associated phospholipase A2 and its association with cardiovascular outcomes in patients with acute coronary

- syndromes in the PROVE IT-TIMI 22 (PRavastatin Or atorVastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis In Myocardial Infarction) trial. *Circulation*, 2006. **113**(14): p. 1745-52.
271. Oldgren, J., et al., Lipoprotein-associated phospholipase A2 does not predict mortality or new ischaemic events in acute coronary syndrome patients. *Eur Heart J*, 2007. **28**(6): p. 699-704.
272. Gerber, Y., et al., Lipoprotein-associated phospholipase A2 and prognosis after myocardial infarction in the community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006. **26**(11): p. 2517-22.
273. Mockel, M., et al., Lipoprotein-associated phospholipase A2 for early risk stratification in patients with suspected acute coronary syndrome: a multi-marker approach: the North Wuertemberg and Berlin Infarction Study-II (NOBIS-II). *Clin Res Cardiol*, 2007. **96**(9): p. 604-12.
274. Brilakis, E.S., et al., Association of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels with coronary artery disease risk factors, angiographic coronary artery disease, and major adverse events at follow-up. *Eur Heart J*, 2005. **26**(2): p. 137-44.
275. Koenig, W., et al., Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts future cardiovascular events in patients with coronary heart disease independently of traditional risk factors, markers of inflammation, renal function, and hemodynamic stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006. **26**(7): p. 1586-93.
276. Corsetti, J.P., et al., High lipoprotein-associated phospholipase A2 is a risk factor for recurrent coronary events in postinfarction patients. *Clin Chem*, 2006. **52**(7): p. 1331-8.
277. Sabatine, M.S., et al., Prognostic utility of lipoprotein-associated phospholipase A2 for cardiovascular outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007. **27**(11): p. 2463-9.
278. Winkler, K., et al., Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts 5-year cardiac mortality independently of established risk factors and adds prognostic information in patients with low and medium high-sensitivity C-reactive protein (the Ludwigshafen risk and cardiovascular health study). *Clin Chem*, 2007. **53**(8): p. 1440-7.
279. Ballantyne, C.M., et al., Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident ischemic stroke in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Arch Intern Med*, 2005. **165**(21): p. 2479-84.
280. Wassertheil-Smoller, S., et al., Lipoprotein-associated phospholipase A2, hormone use, and the risk of ischemic stroke in postmenopausal women. *Hypertension*, 2008. **51**(4): p. 1115-22.
281. Elkind, M.S., et al., High-sensitivity C-reactive protein, lipoprotein-associated phospholipase A2, and outcome after ischemic stroke. *Arch Intern Med*, 2006. **166**(19): p. 2073-80.
282. Garza, C.A., et al., Association between lipoprotein-associated phospholipase A2 and cardiovascular disease: a systematic review. *Mayo Clin Proc*, 2007. **82**(2): p. 159-65.
283. Ballantyne, C., et al., Collaborative meta-analysis of individual participant data from observational studies of Lp-PLA2 and cardiovascular diseases. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 2007. **14**(1): p. 3-11.
284. Eisaf, M. and A.D. Tselepis, Effect of hypolipidemic drugs on lipoprotein-associated platelet activating factor acetylhydrolase. Implication for atherosclerosis. *Biochem Pharmacol*, 2003. **66**(11): p. 2069-73.
285. Schaefer, E.J., et al., Effects of atorvastatin versus other statins on fasting and postprandial C-reactive protein and lipoprotein-associated phospholipase A2 in

- patients with coronary heart disease versus control subjects. *Am J Cardiol*, 2005. **95**(9): p. 1025-32.
286. Albert, M.A., et al., *The effect of statin therapy on lipoprotein associated phospholipase A2 levels*. *Atherosclerosis*, 2005. **182**(1): p. 193-8.
 287. Tambaki, A.P., et al., *Effects of antihypertensive and hypolipidemic drugs on plasma and high-density lipoprotein-associated platelet activating factor-acetylhydrolase activity*. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2004. **9**(2): p. 91-5.
 288. Saougos, V.G., et al., *Differential effect of hypolipidemic drugs on lipoprotein-associated phospholipase A2*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007. **27**(10): p. 2236-43.
 289. Kuvin, J.T., et al., *Effects of extended-release niacin on lipoprotein particle size, distribution, and inflammatory markers in patients with coronary artery disease*. *Am J Cardiol*, 2006. **98**(6): p. 743-5.
 290. Muhlestein, J.B., et al., *The reduction of inflammatory biomarkers by statin, fibrate, and combination therapy among diabetic patients with mixed dyslipidemia: the DIACOR (Diabetes and Combined Lipid Therapy Regimen) study*. *J Am Coll Cardiol*, 2006. **48**(2): p. 396-401.
 291. Kota J. Reddy, M., Manmeet Singh, MD, Richard R. Batsell, PhD Joey R. Bangit, MD, Rekha A. Miraskar, MD, Misbah S. Zaheer, MD Carol Cockerham, MS, Michael Wegner, PhD, *Effects of lifestyle counseling and combination lipid-modifying therapy on lipoprotein-associated phospholipase A2 mass concentration*. *Journal of Clinical Lipidology*, 2009(3): p. 275-280.
 292. Schmidt, E.B., et al., *Marine n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary heart disease: Part II. clinical trials and recommendations*. *Thromb Res*, 2005. **115**(4): p. 257-62.
 293. Pedersen, M.W., et al., *The effect of marine n-3 fatty acids in different doses on plasma concentrations of Lp-PLA2 in healthy adults*. *Eur J Nutr*, 2009. **48**(1): p. 1-5.
 294. Schmidt, E.B., et al., *Lipoprotein-associated phospholipase A2 concentrations in plasma are associated with the extent of coronary artery disease and correlate to adipose tissue levels of marine n-3 fatty acids*. *Atherosclerosis*, 2008. **196**(1): p. 420-4.
 295. Tzotzas, T., et al., *Effects of a low-calorie diet associated with weight loss on lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) activity in healthy obese women*. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2008. **18**(7): p. 477-82.
 296. Sierksma, A., et al., *Moderate alcohol consumption reduces plasma C-reactive protein and fibrinogen levels; a randomized, diet-controlled intervention study*. *Eur J Clin Nutr*, 2002. **56**(11): p. 1130-6.
 297. Sierksma, A., et al., *Effect of moderate alcohol consumption on adiponectin, tumor necrosis factor-alpha, and insulin sensitivity*. *Diabetes Care*, 2004. **27**(1): p. 184-9.
 298. Beulens, J.W., et al., *Moderate alcohol consumption and lipoprotein-associated phospholipase A2 activity*. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2008. **18**(8): p. 539-44.
 299. Tselepis, A.D., et al., *Smoking induces lipoprotein-associated phospholipase A2 in cardiovascular disease free adults: the ATTICA Study*. *Atherosclerosis*, 2009. **206**(1): p. 303-8.
 300. Furberg, C.D., et al., *Distribution and correlates of lipoprotein-associated phospholipase A2 in an elderly cohort: the Cardiovascular Health Study*. *J Am Geriatr Soc*, 2008. **56**(5): p. 792-9.
 301. Detopoulou, P., et al., *Lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) activity, platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) in leukocytes and body composition in healthy adults*. *Lipids Health Dis*, 2009. **8**: p. 19.

- 302. Kom, G.D., et al., *Impact of atorvastatin treatment on platelet-activating factor acetylhydrolase and 15-F(2trans)-isoprostane in hypercholesterolaemic patients.* Br J Clin Pharmacol, 2007. **63**(6): p. 672-9.
- 303. Nakou, E.S., et al., *The effect of orlistat and ezetimibe, alone or in combination, on serum LDL and small dense LDL cholesterol levels in overweight and obese patients with hypercholesterolaemia.* Curr Med Res Opin, 2008. **24**(7): p. 1919-29.
- 304. Persson, M., et al., *The epidemiology of Lp-PLA(2): distribution and correlation with cardiovascular risk factors in a population-based cohort.* Atherosclerosis, 2007. **190**(2): p. 388-96.
- 305. Moat, S.J., et al., *Folate, homocysteine, endothelial function and cardiovascular disease.* J Nutr Biochem, 2004. **15**(2): p. 64-79.