

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

Σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε παθολογικές καταστάσεις

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

Χατζοπούλου Ιωάννα
Α.Μ.: 9507

Υπεύθυνη πτυχιακής:	Σμαραγδή Αντωνοπούλου
Εξεταστική επιτροπή:	Σ. Αντωνοπούλου
	Ν. Ανδρικόπουλος
	Α. Ζαμπέλας

Καλλιθέα 2000

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Πρόλογος

Λίστα

Ανάλυση

Συνθήκες

Αποτελέσματα

Μεταβολές των αποτελεσμάτων

Εξωτερικοί παράγοντες

Συνολικά αποτελέσματα, οι οποίες είναι ανάλογα των, στα αποτελέσματα

και ο ρόλος του PAF στην αθηρογένεση

Ευχαριστώ την υπεύθυνη της πτυχιακής μου κα Σ. Αντωνοπούλου και την εξεταστική επιτροπή κο Ν. Ανδρικόπουλο και κο Α. Ζαμπέλα.

Αλληλεπίδραση αποτελεσμάτων και μορίων προσέγγισης

Η σημασία της κατανόησης της αθηρογενούς βλάβης

Σύσταση των λιπιδίων των αποτελεσμάτων και διαφοράς μεταξύ

Σύσταση των λιπιδίων των αποτελεσμάτων σε αγέννητα

Επίδραση της διατροφής στη σύσταση και τη λειτουργία των αποτελεσμάτων

Σύσταση των λιπιδίων των αποτελεσμάτων σε κατελεσμένους ασθενείς

Συμπεράσματα

Συνθήκες κατανόησης, κατανόηση και συμπεράσματα

Βιβλιογραφία

Ι. Χατζοπούλου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Πρόλογος	1
Λιποειδή	2
Απλά Λιποειδή	2
Σύνθετα Λιποειδή	5
Αιμοπετάλια	9
Μορφολογία των αιμοπεταλίων	9
Μεταβολισμός αιμοπεταλίων	12
Συγκολλητικές ουσίες, οι αντίστοιχοι υποδοχείς τους στα αιμοπετάλια και ο ρόλος του PAF στην αθηρογένεση	14
Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στην πήξη και ινωδόλυση	19
Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στην αθηρογένεση	21
Αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων και μορίων προσκόλλησης	21
Η θρομβογενετική ικανότητα της αθηρωματικής βλάβης	22
Σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων και διάφοροι παράμετροι	23
Σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε υγιή άτομα	34
Επίδραση της διατροφής στη σύσταση και τη λειτουργία των αιμοπεταλίων	47
Σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε παθολογικές καταστάσεις	63
Συμπεράσματα	87
Συντμήσεις κειμένου, πινάκων και σχημάτων	90
Βιβλιογραφία	91

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Σκοπός της μελέτης αυτής είναι να διαλευκανθεί αν αλλάζει η σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις και κατά πόσο αλληλεπιδρά η αλλαγή αυτή με την αιτιολογία και την παθογένεια της κάθε νόσου αλλά και τι συνέπειες μπορεί να έχει. Γι' αυτό το σκοπό, αναλύονται παράμετροι που σχετίζονται με το θέμα αυτό, όπως τα λιποειδή και οι κατηγορίες τους καθώς και τα αιμοπετάλια και η μορφολογία τους. Ως μέτρο σύγκρισης αναφέρεται η σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε υγιή άτομα. Τέλος, δεν θα μπορούσε η κάλυψη του θέματος αυτού να ήταν πλήρης αν δεν αναφερόταν και η επίδραση της διατροφής στη σύσταση και τη λειτουργία των αιμοπεταλίων.

ΛΙΠΟΕΙΔΗ

Σα λιποειδή χαρακτηρίζονται τα αδιάλυτα στο νερό οργανικά βιομόρια, που διαλύονται όμως σε οργανικούς διαλύτες και δεν έχουν ομοιογενείς δομικές μονάδες. Υπάρχουν διάφοροι τρόποι κατάταξης των λιποειδών. Ο περισσότερο ικανοποιητικός σήμερα είναι εκείνος που τα διαχωρίζει ανάλογα με τη δομή του σκελετού τους. Σύμφωνα με αυτόν, διακρίνονται σε :

- Απλά λιποειδή ή ουδέτερα ή μη πολικά λιποειδή τα οποία αποτελούνται από μη σαπωνοποιήσιμες ενώσεις (πχ. υδρογονάνθρακες, λιπαρά οξέα, αλκοόλες, κλπ) ή απλούς εστέρες (πχ. τριγλυκερίδια, κηρούς, εστέρες χοληστερόλης, κλπ) και σε
 - Σύνθετα λιποειδή ή πολικά λιποειδή τα οποία με υδρόλυση, δίνουν περισσότερα από δυο προϊόντα υδρόλυσης, όπως τα φωσfolιποειδή, που με υδρόλυση δίνουν γλυκερίνη, λιπαρά οξέα, φωσφορικό οξύ και κάποια βάση (πχ. χολίνη, αιθανολαμίνη, κλπ)
- Τέλος θα πρέπει να αναφερθεί ότι τα λιποειδή δεν απαντούν, συνήθως μόνα τους αλλά είναι συνδεδεμένα, με ασθενείς μη χημικούς δεσμούς με άλλες τάξεις ενώσεων, όπως τις πρωτεΐνες (λιποπρωτεΐνες) ή τους υδατάνθρακες (γλυκολιποειδή).

ΑΠΛΑ ΛΙΠΟΕΙΔΗ

Λιπαρά οξέα

Είναι τα πιο απλά λιποειδή. Χαρακτηρίζονται από μια σχετικά μεγάλη υδρογονοανθρακική αλυσίδα που καταλήγει σε καρβοξύλιο. Τα λιπαρά οξέα έχουν σχεδόν πάντα άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα ενώ λιπαρά οξέα με περιττό αριθμό ατόμων άνθρακα βρίσκονται σε σημαντικά ποσά σε αρκετά θαλάσσια ζώα. Παρ' ότι στα περισσότερα λιπαρά οξέα η υδρογονοανθρακική αλυσίδα είναι ευθεία υπάρχουν παραδείγματα (που βρίσκονται κυρίως σε βακτήρια) που περιέχουν διακλαδώσεις υποκαταστάτες (υδροξυλομάδες, μεθυλομάδες) ή ακόμα και κυκλικές δομές. Η αλυσίδα μπορεί να περιέχει διπλούς δεσμούς ώστε να σχηματίζονται μονοακόρεστα (1 δ.δ.) και πολυακόρεστα (πολλοί δ.δ.) λιπαρά οξέα ενώ στα κορεσμένα δεν υπάρχουν διπλοί δεσμοί. Τα λιπαρά οξέα με διπλό δεσμό απαντούν σε cis και trans-ισομερή ανάλογα με τη διάταξη της ανθρακικής αλυσίδας. Τα cis λιπαρά οξέα υπάρχουν άφθονα στη φύση ενώ τα trans δεν μπορούν να

χρησιμοποιηθούν από τον οργανισμό σαν τα απαραίτητα λιπαρά οξέα. Ο πίνακας 1 περιγράφει τα κυριότερα λιπαρά οξέα που απαντούμε στη φύση.

Πίνακας 1

ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ		
Κορεσμένα		
Χημικός Τύπος	Κοινή Ονομασία	
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	Λαυρικό	12:0
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	Μυριστικό	14:0
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	Παλμιτικό	16:0
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	Στεατικό	18:0
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	Αραχιδικό	20:0
Ακόρεστα		
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Παλμιτολεϊκό	16:1 ^{Δ9cis}
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Ελαϊκό	18:1 ^{Δ9cis}
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Λινελαϊκό	18:2 ^{Δ9,Δ12}
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	α-λινολενικό	18:3 ^{Δ9,12,15}
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	γ-λινολενικό	18:3 ^{Δ6,9,12}
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	Αραχιδονικό	20:4 ^{Δ5,8,11,14}

Τα θηλαστικά δεν μπορούν να συνθέσουν λινελαϊκό και γ-λινολενικό και γι' αυτό θεωρούνται απαραίτητα λιπαρά οξέα.

Οι προσταγλανδίνες είναι λιπαρά οξέα με δράση τοπικών ορμονών. Αποτελούνται από ανθρακική αλυσίδα με 20 άτομα άνθρακα που περιέχουν ένα πενταμελή ανθρακικό δακτύλιο. Ο βασικός σκελετός των προσταγλανδινών ονομάστηκε προστάνιο και το αντίστοιχο μονοκαρβοξυλικό οξύ προστανοϊκό οξύ. Διακρίνονται σε PGA, PGB, PGD, PGE, PGF, PGI, PGG και PGH με ένα δείκτη που συμβολίζει τους διπλούς δεσμούς που υπάρχουν εκτός του δακτυλίου. Μαζί με τις θρομβοξάνες συμμετέχουν σε ένα ευρύ πεδίο φυσιολογικών λειτουργιών όπως μείωση της αρτηριακής πίεσης, διούρηση, συσσώρευση των αιμοπεταλίων, επιρροές στο ανοσοποιητικό και νευρικό σύστημα, γαστρικές εκκρίσεις και διέγερση της σύσπασης των λείων μυών. Κάποιοι συνδιασμοί προσταγλανδινών και θρομβοξανών επιδεικνύουν ανταγωνιστικές δράσεις.

Τριγλυκερίδια

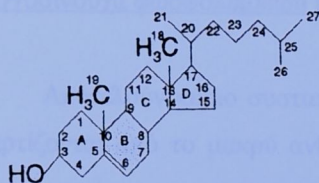
Τα τριγλυκερίδια αποτελούν την κυριότερη μορφή εναποθήκευσης λίπους σε ζώα και φυτά. Αποθηκεύονται στο κυττόπλασμα των κυττάρων των θηλαστικών και κινητοποιούνται εύκολα σε περίπτωση ανάγκης για ενέργεια. Πρόκειται για εστέρες λιπαρών οξέων με γλυκερίνη και διαμορφώνονται σε μονο-, δι- και τριγλυκερίδια.

Τα τριγλυκερίδια απαντούν και σε κρυσταλλικές μορφές με τις οποίες εξηγείται το φαινόμενο του πολυμορφισμού που υποστηρίζει την ύπαρξη περιοχής τήξης για τα λίπη και όχι σημείου τήξης. Εντούτοις το σημείο τήξης των τριγλυκεριδίων εξαρτάται από το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας των λιπαρών οξέων, το βαθμό κορεσμού, την *cis* ή *trans* μορφή και από την ύπαρξη πλάγιας αλυσίδας.

Τα τριγλυκερίδια που είναι στερεά στη θερμοκρασία δωματίου αναφέρονται ως λίπη, ενώ όταν είναι υγρά ονομάζονται έλαια. Τα τριγλυκερίδια υδρολύονται είτε ενζυμικά, είτε με χημικό τρόπο (οξέα ή βάσεις). Η υδρόλυση με βάση ονομάζεται σαπωνοποίηση και τα λιπαρά οξέα, που έχουν τη μορφή αλάτων, σάπωνες.

Στεροειδή

Είναι παράγωγα του υπερυδροκυκλοπεντανοφενανθρενίου που προέρχεται από συμπίκνωση ισοπρενοειδών παραγώγων. Τα περισσότερα στεροειδή διαθέτουν δύο μεθυλικές ομάδες. Σπουδαιότερη ομάδα στεροειδών είναι οι στερόλες με κύριο



Χοληστερόλη

εκπρόσωπο τη χοληστερόλη, που είναι πρόδρομη ένωση, στους ζωικούς οργανισμούς, των χολικών οξέων, των κορτικοστεροειδών, της προγεστερόνης, των ανδρογόνων και των οιστρογόνων.

Στα φυτά απαντώνται οι φυτοστερόλες όπως είναι οι σιτοστερόλη και οι στιγμαστερόλη. Στους μύκητες και στους ζυμομύκητες συναντούμε τις μυκοστερόλες, όπως την εργοστερόλη.

Τερπενοειδή

Είναι δομικά παράγωγα του ισοπρενίου. Στα τερπενοειδή ανήκουν ενώσεις όπως το σκουαλένιο (πρόδρομη ένωση της χοληστερόλης), τα καροτενοειδή, λιποδιαλυτές βιταμίνες Α, D, Ε και Κ, οι ουβικινόνες και οι πλαστοκινόνες. Στους ζωικούς ιστούς συναντάμε τις δολιχόλες ενώ ουσίες φυτικής προέλευσης όπως η γερανιόλη, η φαρνεσόλη και το λιμονέλιο είναι συστατικά των αιθέριων ελαίων. Στην κατηγορία αυτή τέλος εντάσσεται και το φυσικό ελαστικό με την αλκοόλη φυτόλη που είναι συστατικό της χλωροφύλλης.

Κηροί

Πρόκειται για παράγωγα εστεροποίησης λιπαρών οξέων μεγάλου μήκους ανθρακικής αλυσίδας με αλκοόλη ή στερόλη μεγάλου μήκους ανθρακικής αλυσίδας. Οι κηροί είναι τελείως αδιάλυτοι στο νερό. Ασκούν δράση απώθησης του νερού σε φτερά πουλιών ή στην επιφάνεια φύλων διαφόρων φυτών και φρούτων. Επιπλέον σε θαλάσσιους μικροοργανισμούς χρησιμοποιούνται ως αποθήκες ενέργειας.

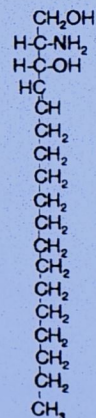
ΣΥΝΘΕΤΑ ΛΙΠΟΕΙΔΗ

Σφιγγοσινούχα φωσφολιποειδή και γλυκολιποειδή

Αποτελούν κύριο συστατικό της μεμβράνης των κυττάρων και απαρτίζονται από το μακρύ ανθρακικό σκελετό μιας αμινοαλκοόλης της σφιγγοσίνης.

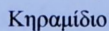
Λιγότερο συχνά απαντάται η διυδροσφιγγοσίνη. Στα φυτά και στη ζύμη συναντάται η φυτοσφιγγοσίνη ενώ στα θαλασσινά το 4,8-σφιγγαδιένιο. Στα σφιγγοσινούχα φωσφολιποειδή όταν η αμινομάδα της σφιγγοσίνης συνδέεται με αμιδικό δεσμό με ένα λιπαρό οξύ προκύπτει το κηραμίδιο.

Σε μια άλλη περίπτωση τυχαίνει στο ακραίο υδροξύλιο του



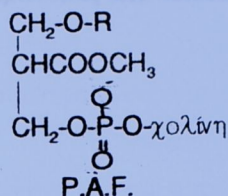
Σφιγγοσίνη
(4-σφιγγενίνη)

$$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ | \\ \text{H}-\text{C}-\text{NH}-\text{C}=\text{O} \\ | \quad \quad \quad | \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \quad \text{CH}_3 \end{array}$$



ΦΩΣΦΑΙΛΙΚΟ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	ΒΑΣΗ	ΦΩΣΦΟΛΙΠΟΙΔΕΣ
------------------------	------	---------------

Εδώ πρέπει να αναφερθεί και ο Παράγοντας Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF) που είναι ένα γλυκεριναιθερικό ανάλογο των φωσφολιποειδών (1-Ο-ακυλο-2-ακέτυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη)



Ως παράγοντας με ιδιότητα μεσολαβητή- ορμόνη συμμετέχει σε πολλές βιολογικές δράσεις όπως πχ. στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, την πρόκληση αλλεργίας, ενώ ενοχοποιείται για πολλές παθολογικές καταστάσεις.

Τα φωσφολιποειδή λόγω της ικανότητάς τους να διατάσσονται στο χώρο με τις πολικές κεφαλές προς τα έξω και τις υδρόφοβες ουρές των λιπαρών οξέων προς τα μέσα σχηματίζουν διπλοστιβάδες στις μεμβράνες των κυττάρων.

Τα φωσφογλυκερίδια υδρολύονται με εξειδικευμένα ένζυμα τις φωσφολιπάσες. Ανάλογα με τη θέση του λιπαρού οξέως που ελευθερώνεται διακρίνουμε τη φωσφολιπάση A1 (δρά στη θέση 1), τη φωσφολιπάση A2 (δρά στη θέση 2) και τη φωσφολιπάση B που δρα και στις δυο θέσεις. Η αφαίρεση μόνο ενός λιπαρού οξέως από ένα φωσφογλυκερίδιο δίνει ένα λυσοφωσφογλυκερίδιο.

Σε μια τελευταία κατηγορία φωσφολιποειδών, ο φώσφορος είναι κατευθειάν ενωμένος με άνθρακα. Πρόκειται για φωσφολιποειδή που δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς.

Λιποπρωτεΐνες

Από την ένωση λιποειδών με πρωτεΐνες προκύπτουν οι λιποπρωτεΐνες που δεν έχουν κύριους χημικούς δεσμούς μεταξύ λιποειδών και πρωτεϊνών αλλά αποτελούν σύμπλοκες ενώσεις με δευτερεύοντες δεσμούς. Οι λιποπρωτεΐνες περιέχουν σε διαφορετική αναλογία τριγλυκερίδια, χοληστερόλη, εστέρες χοληστερόλης και φωσφολιποειδή και από τη μικρότερη στη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη διακρίνονται σε χυλομικρά, πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (very low density lipoprotein, VLDL), χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (low density lipoprotein, LDL) και υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (high density lipoprotein, HDL).

Υπάρχει και ένα σωματίδιο ενδιάμεσης περιεκτικότητας (intermediate density lipoprotein, IDL), με περιεκτικότητα ανάμεσα σε VLDL και LDL.

Όσον αφορά τη διάταξη των σωματιδίων στο μόριο των λιποπρωτεϊνών, παρατηρήθηκε ότι τα υδροφοβικά λιποειδή (τριγλυκερίδια, μη πολικά λιποειδή) τοποθετούνται στο κέντρο του μορίου ενώ οι πολικές πρωτεΐνες και λιποπρωτεΐνες διατάσσονται στην περιφέρεια.

Κύριος ρόλος των λιποπρωτεϊνών είναι η μεταφορά λιπαρών υλών από ιστό σε ιστό για την κάλυψη των αναγκών των κυττάρων σε λιποειδή.

Τα χυλομικρά σχηματίζονται κυρίως από διαιτητικά λιποειδή ενώ οι υπόλοιπες πρωτεΐνες από λιποειδή ενδογενούς προέλευσης.

Τα χυλομικρά και τα λιμοκύτταρα αποτελούν τα κύρια μέσα μεταφοράς των λιποπρωτεϊνών, τόσο από τους κύτταρα όσο και από τον κυκλοφορικό χώρο.

Τα λιμοκύτταρα είναι ένας παραγωγός κλειδί για την αποθήκευση ενέργειας καθώς επίσης είναι κυττάρους του μυελού των οστών, του μυοκαρδίου, του ήπατος, του σπληνός, του σπένδαυλου και του στομάχου. Τα λιμοκύτταρα είναι κυρίως κυττάρους που παράγουν ενέργεια και είναι κυρίως κυττάρους που παράγουν ενέργεια. Τα λιμοκύτταρα είναι κυρίως κυττάρους που παράγουν ενέργεια και είναι κυρίως κυττάρους που παράγουν ενέργεια.

Διαμέγεθος: Τα λιμοκύτταρα αποτελούνται από δύο κύρια μέρη, το κεφάλι και το σώμα. Το κεφάλι αποτελείται από δύο κύρια μέρη, το κεφάλι και το σώμα. Το κεφάλι αποτελείται από δύο κύρια μέρη, το κεφάλι και το σώμα. Το κεφάλι αποτελείται από δύο κύρια μέρη, το κεφάλι και το σώμα.

Παραγωγή Ενέργειας

Η παραγωγή ενέργειας αποτελείται από δύο κύρια μέρη, το κεφάλι και το σώμα. Το κεφάλι αποτελείται από δύο κύρια μέρη, το κεφάλι και το σώμα. Το κεφάλι αποτελείται από δύο κύρια μέρη, το κεφάλι και το σώμα. Το κεφάλι αποτελείται από δύο κύρια μέρη, το κεφάλι και το σώμα.

Ενέργεια: Είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία. Η ενέργεια είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία. Η ενέργεια είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία. Η ενέργεια είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία.

Μεταβολισμός: Είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία. Ο μεταβολισμός είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία. Ο μεταβολισμός είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία. Ο μεταβολισμός είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία.

Ενέργεια: Είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία. Η ενέργεια είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία. Η ενέργεια είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία. Η ενέργεια είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία.

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Το σώμα διαθέτει ένα ειδικό σύστημα αντιμετώπισης των διαφόρων λοιμογόνων και τοξικών παραγόντων: τα λευκοκύτταρα, τα ιστικά μακροφάγα και το λεμφικό ιστό. Στην κατηγορία των λευκοκυττάρων, πέρα από τους έξι διαφορετικούς τύπους λευκών αιμοσφαιρίων, ανήκουν τα αιμοπετάλια.

Τα αιμοπετάλια είναι ένας ετερογενής πληθυσμός που αποτελεί τμήματα ενός εβδόμου τύπου κυττάρου του μυελού των οστών, του μεγακαρυοκυττάρου. Η ετερογένειά τους αφορά το σχήμα, την πυκνότητά τους και τα χαρακτηριστικά χρώσης. Έχουν όγκο μεταξύ 5-12 μm^3 , ενώ η διάμετρος κυμαίνεται μεταξύ 1,5-2,5 μm . Η μορφολογία τους ποικίλλει και έτσι εμφανίζονται σφαιρικά, ωοειδή ή ραβδοειδή με αζουρόφιλα κοκκία.

Δομικά το αιμοπετάλιο αποτελείται από τρεις ζώνες που καθεμία έχει ξεχωριστή λειτουργία: την περιφερική ζώνη, τη ζώνη του κυτταροπλασματικού υποστρώματος και τη ζώνη των οργανιδίων.

Περιφερική ζώνη

Η περιφερική ζώνη υπεισέρχεται στις χημικές αντιδράσεις που σχετίζονται με την προσκόλληση των αιμοπεταλίων και το σχηματισμό θρόμβου. Αποτελείται από το εξωτερικό περίβλημα, τη μεμβράνη και την υπομεμβρανική περιοχή.

Εξωτερικό περίβλημα: Είναι ένας άμορφος μανδύας, που έρχεται σε άμεση επαφή με το περιβάλλον και εισχωρεί μ' ένα πολύπλοκο σύστημα καναλιών μέχρι το εσωτερικό του αιμοπεταλίου. Πρωτεΐνες του πλάσματος, ένζυμα και γλυκοπρωτεΐνες προσροφούνται στην επιφάνειά του παίζοντας μεγάλο ρόλο στην πήξη του αίματος.

Μεμβράνη: Πρόκειται για μια τυπική τριελασματοειδής μεμβράνη. Αποτελείται από δύο στρώματα φωσφολιποειδών, τα οποία λόγω του αρνητικού τους φορτίου βρίσκονται στο εσωτερικό της μεμβράνης. Ανάμεσα στα δύο στρώματα παρεμβάλλονται χοληστερόλη, γλυκολιποειδή και γλυκοπρωτεΐνες. Οι τελευταίες λειτουργούν ως υποδοχείς απάντησης σε συσσωρευτικές ουσίες, αναστολείς, παράγοντες πήξης και φωσφολιποειδή που έχουν σχέση με τη σύνθεση προσταγλαδίνων και την κινητοποίηση του Ca^{+2} μέσα στο κύτταρο.

Υπομεμβρανική περιοχή: Αποτελεί μεταβατικό χώρο μεταξύ της περιφερικής ζώνης και του κυτταροπλασματικού υποστρώματος, που θεωρείται όμως μέρος της πρώτης. Στην

περιοχή αυτή διακρίνονται λεπτά ινίδια που συντελούν στη διατήρηση του δισκοειδούς σχήματος των αιμοπεταλίων και παίρνουν μέρος στο σχηματισμό και τη διατήρηση των ψευδοποδίων.

Ζώνη κυτταροπλασματικού υποστρώματος

Πρόκειται για άμορφη ομοιογενή ουσία που ονομάζεται υαλόπλασμα στην οποία παρεμβάλλονται ορισμένα κοκκία. Με προσεκτική παρατήρηση διακρίνεται ένα σύστημα από μικροσωληνίσκους, ένα δεύτερο σύστημα μικροϊνιδίων, ενώ ένα τρίτο σύστημα ινιδίων εντοπίζεται στην υπομεμβρανική περιοχή. Η έκκριση των κοκκίων, η συστολή των ψευδοποδίων και του θρόμβου εξαρτάται από αυτά τα συστήματα ινιδίων.

Ζώνη των οργανιδίων

Μέσα απ' την μεγάλη ποικιλία οργανιδίων που ανευρίσκονται στα αιμοπετάλια διακρίνονται τα κοκκία, τα πυκνά σωμάτια και τα μιτοχόνδρια. Σε ποσοστό 3% εμφανίζεται σύμπλεγμα Golgi ενώ σπανιότερα συναντάμε κομμάτια ενδοπλασματικού δικτύου και υπολείματα πυρήνα.

Κοκκία: Μεγάλα σε αριθμό, εμφανίζονται ωοειδή ή στρογγυλά και εκκρίνουν ουσίες όταν ενεργοποιούνται. Ένας τύπος κοκκίων, τα λυσοσώματα, περιέχουν υδρολυτικά ένζυμα, τα υπεροξυσωμάτια έχουν καταλάση ενώ στα α- κοκκία εντοπίστηκε ο παράγοντας αιμοπεταλίων 4.

Πυκνά σωμάτια: Σχετικά λίγα σε αριθμό, παίζουν σπουδαίο ρόλο στην αιμόσταση. Είναι κοκκία στρογγυλά και αυξάνουν σε αριθμό κατά τη διάρκεια της πρώιμης φάσης, εξαφανίζονται κατά την όψιμη φάση της γλοιώδους μεταμόρφωσης και κατά τη συστολή του θρόμβου.

Συστήματα Μεμβρανών

Πρόκειται για την τέταρτη λειτουργική ζώνη των αιμοπεταλίων. Αποτελείται από το σύστημα ανοιχτών καναλίων (ΣΑΚ) που είναι αναδιπλώσεις της επιφάνειας του κυττάρου που εισχωρούν μέσα στο κυτταρόπλασμα. Τα κανάλια ΣΑΚ αυξάνουν τη συνολική επιφάνεια του αιμοπεταλίου και βοηθούν τις χημικές και σωματιδιακές ουσίες να φτάσουν στις βαθύτερες κοιλότητες του κυττάρου. Από την άλλη, τα κανάλια

χρησιμεύουν ως αγωγοί για τις ουσίες που εκκρίνονται απ' το εσωτερικό των αιμοπεταλίων.

Ένα δεύτερο σύστημα μεμβρανών στα αιμοπετάλια είναι το σύστημα πυκνών σωληναρίων (ΣΠΣ). Τα κανάλια ΣΠΣ είναι διάσπαρτα στο κυτταρόπλασμα του αιμοπεταλίου και είναι σημαντικά για την επεξεργασία των μικροσωληνίσκων που διατηρούν τη δισκοειδή μορφή των αιμοπεταλίων. Το ΣΠΣ αποτελεί και δεξαμενή ασβεστίου.

ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Ο μεταβολισμός των αιμοπεταλίων εξαρτάται από το μέγεθός τους και έτσι τα μεγάλα αιμοπετάλια έχουν πολλαπλάσιο μεταβολικό ρυθμό απ' τα μικρά και ελαφριά. Έχουν την ικανότητα να συνθέτουν γλυκογόνο, λιποειδή, ακτίνη και μυοσίνη αλλά δεν συνθέτουν νουκλεοτίδια, κετονικά σώματα και δεν κάνουν γλυκονεογένεση. Καταβολίζουν μόνο τη σερίνη απ' τα αμινοξέα και το 75% των ολικών λιποειδών αποτελείται απ' τα φωσφολιποειδή που συμμετέχουν στην πήξη, αποτελούν παράγοντα πήξης κλπ.

Σε κατάσταση ηρεμίας, η γλυκόζη προέρχεται απ' το γλυκογόνο. Από την αερόβια γλυκόλυση παράγεται το 57%, ενώ απ' την αναερόβια το 55%. Ο κύκλος του Krebs παράγει το 10% της ενέργειας και ένα μικρό μέρος ενέργειας παράγει ο κύκλος των φωσφοπεντοζών. Σε κατάσταση διέγερσης αυξάνεται η αερόβια και αναερόβια γλυκόλυση ο κύκλος του Krebs παράγει το 40% της ενέργειας, ενώ ο κύκλος των φωσφοπεντοζών παρέχει ενέργεια μέχρι και 13%.

Στην κατάσταση αυτή η αύξηση της γλυκόλυσης οφείλεται στους εξής παράγοντες:

α) την αύξηση του κυτοπλασματικού Ca^{+2}

Τα Ca^{+2} ενεργοποιεί τη φωσφορύλαση μέσω της κινάσης της φωσφορύλασης με αποτέλεσμα γλυκογονόλυση. Πρόκειται για την άμεση δράση των διεγερτών που αυξάνουν το ελεύθερο ενδοκυτταρικό Ca^{+2} . Εμμέσως δρουν η αδρεναλίνη και το κολλαγόνο εκκρίνοντας TXA_2 και ADP αυξάνοντας έτσι το ενδοκυτταρικό Ca^{+2} .

β) την ενεργοποίηση της φωσφο-φρουκτο-κινάσης που μετατρέπει την 6-φωσφοφρουκτόζη σε 1,6-διφωσφο-φρουκτόζη. Το ένζυμο αυτό υπόκειται σε αλοστερική ρύθμιση. Συγκεκριμένα αναστέλλεται από το ATP και ενεργοποιείται από το AMP.

Η επιβίωση των αιμοπεταλίων καθορίζεται από τη διαθέσιμη ποσότητα νουκλεοτιδίων αδενίνης. Υπάρχουν δύο αποθήκες ενέργειας. Στη μια αποθήκη αποθηκεύονται τα 2/3 των νουκλεοτιδίων της αδενίνης που δε χρησιμοποιούνται στο μεταβολισμό αλλά απελευθερώνονται κατά το φαινόμενο της έκκρισης. Στην άλλη αποθήκη αποθηκεύονται το 1/3 των νουκλεοτιδίων της αδενίνης που χρησιμοποιούνται στο μεταβολισμό. Σε μια τρίτη αποθήκη συσσωρεύεται η ενέργεια που προέρχεται από την αποικοδόμηση μέρους του ATP της δεύτερης αποθήκης προς AMP, IMP, ινοσίνη και υποξανθίνη. Η ενέργεια αυτή δαπανάται κατά το φαινόμενο της έκκρισης.

Μεταβολισμός του c-AMP στη διέγερση

Η δράση του c-AMP στα αιμοπετάλια αν και αντίθετη απ' τη συνήθη δράση του στα κύτταρα είναι σημαντική. Συγκεκριμένα ενεργοποιεί μια πρωτεϊνική κινάση A και αναστέλλει τη φωσφολιπάση C. Συνοπτικά διατηρεί σε μη ενεργοποιημένη κατάσταση τα αιμοπετάλια στην κυκλοφορία τα οποία ενεργοποιούνται σε χαμηλά επίπεδα c-AMP. Αναστολείς της αδενυλοκυκλάσης και ενεργοποιητές της φωσφοδιεστεράσης ρυθμίζουν τη μείωση των επιπέδων του c-AMP. Η αύξηση των επιπέδων του c-AMP ρυθμίζεται από ενεργοποιητές της αδενυλοκυκλάσης και αναστολείς της φωσφοδιεστεράσης.

Μεταβολισμός του Ca^{+2} στη διέγερση

Το Ca^{+2} έχει το ρόλο δευτέρου μηνύματος στο μεταβολισμό των αιμοπεταλίων. Είναι απαραίτητο στη συσσώρευση και στην έκκριση με την επίδραση επινεφρίνης, ADP και PAF. Αντίθετα, δεν απαιτείται στην αλλαγή σχήματος και στην έκκριση με την επίδραση θρομβίνης, κολλαγόνου και ιονοφόρου.

Στη φάση της διέγερσης το ενδοκυτταρικό Ca^{+2} είναι 10000 φορές περισσότερο απ' ό,τι στη φάση ηρεμίας.

Υπάρχουν 2 αποθήκες Ca^{+2} : μια στο κυτόπλασμα και μια στο σύστημα των πυκνών σωληναρίων .

Τα επίπεδα του ενδοκυτταρικού Ca^{+2} ελέγχονται απ' τους εξής μηχανισμούς:

α) μιας Ca/Mg εξαρτώμενης ΑΤΡασης που ελευθερώνει Ca^{+2} .

β) την αντλία ανταλλαγής Na/Ca που εξαρτάται απ' το c-AMP.

γ) την αντλία έκκρισης Ca^{+2} που ελέγχεται από μια Ca-ΑΤΡαση.

δ) μια αντλία που δεσμεύει Ca^{+2}

ε) Υποδοχείς (GP IIb/IIIa) ή κανάλια που επιτρέπουν την είσοδο Ca^{+2} .

ΣΥΓΚΟΛΛΗΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ, ΟΙ ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΟΥΣ ΣΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΡΑΦ ΣΤΗΝ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗ

Οι μορφολογικές, πέρα από τις βιοχημικές μεταβολές των αιμοπεταλίων που συμβαίνουν κατά την ενεργοποίηση τους είναι:

- i) Αλλάζουν σχήμα
- ii) Αποκαλύπτουν υποδοχείς μέσω των οποίων συνδέονται ενώσεις που προκαλούν προσκόλληση ή συγκόλληση
- iii) Αυξάνεται το ελεύθερο κυτοπλασματικό Ca^{+2}

Οι ενώσεις που προκαλούν τη συσσώρευση και οι οποίες δρουν σαν αγωνιστές είναι οι εξής:

α) ADP

Δρα μέσω υποδοχέων και συνδέεται ενίοτε στα αιμοπετάλια μέσω της γλυκοπρωτεΐνης GP IIb.

Προκαλεί αύξηση του ελεύθερου ενδοκυτταρικού Ca^{+2} από εξωκυτταρικό και ενδοκυτταρικό χώρο. Ενεργοποιεί τη G πρωτεΐνη και τη φωσφολιπάση C οπότε σχηματίζεται τριφωσφοινοσιτόλη (IP_3) που ελευθερώνει Ca^{+2} . Η πρωτεϊνική κίνηση C που ενεργοποιείται από τη διακυλγλυκερόλη καταλύει τη φωσφορυλίωση χωρίς η μεσολάβησή της να είναι καθοριστική για την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από το ADP. Επίσης, προκαλεί σχηματισμό φωσφατιδικού οξέος.

Το ADP εκκρινόμενο κι από τα δ-σωματίδιο ενισχύει τη συσσώρευση αλλά μεταβολιζόμενο σε αδενοσίνη αναστέλλει τις λειτουργίες των αιμοπεταλίων καθυστερώντας την απάντησή τους ύστερα από αρχική διέγερση.

Το ενζυμικό σύστημα φωσφοκρεατίνης και κίνησης της φωσφοκρεατίνης (CP/CPK) φωσφορυλιώνει το ADP (ανενεργό ADP) και έτσι αναστέλλεται η συσσώρευση.

β) Κολλαγόνο

Υπάρχουν διάφορες μορφές κολλαγόνου. Όπως το ADP, συνδέεται στα αιμοπετάλια μέσω γλυκοπρωτεϊνών όπως GPIa/IIa, GPIIb/IIIa. Η δράση του έγκειται στην αύξηση του ενδοκυτταρικού Ca με το σύστημα φωσφατιδυλινοσιτόλης / πρωτεϊνικής κίνησης C. Επίσης, παράγει φωσφατιδικό οξύ και μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος.

Παρουσία αναστολέων του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος και του ADP η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από το κολλαγόνο μειώνεται.

γ) Μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος

Το AA απελευθερώνεται απ' τα φωσφολιποειδή των μεμβρανών με δράση φωσφολιπάσης A₂ ή C. Στη συνέχεια μεταβολίζεται προς λευκοτριένια ή προσταγλανδίνες. Κύριος μεταβολίτης του AA που προκαλεί συσώρευση είναι το θρομβοξάνιο A₂ και η προσταγλανδίνη H₂.

Υπάρχουν δύο σημεία σύνδεσης του TXA₂ στα αιμοπετάλια. Το TXA₂ προκαλεί αλλαγή του σχήματος των αιμοπεταλίων, αύξηση του ελεύθερου ενδοκυτταρικού Ca⁺² και ενεργοποίηση του συστήματος της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης.

Οι κύριοι μεταβολίτες του AA αναστέλονται από την ινδομεθακίνη.

δ) Θρομβίνη

Οι υποδοχείς της θρομβίνης στα αιμοπετάλια εντοπίζονται σε διάφορα σημεία και πιθανόν να σχετίζονται με τις γλυκοπρωτεΐνες GPIb λόγω του ότι σε έλλειψή τους μειώνεται η δράση της θρομβίνης. Πιστεύεται ότι η θρομβίνη δεσμεύεται σ' ένα υποδοχέα, που βιοσυντίθεται με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA, ως εξής: υδρολύει ένα πεπτίδιο απ' το αμινοτελικό άκρο της πεπτιδικής αλυσίδας και το νέο αμινοτελικό άκρο εισέρχεται στην περικυτταρική μεμβράνη του αιμοπεταλίου δίνοντας σήμα για ενεργοποίηση.

Η θρομβίνη δρα αλλάζοντας το σχήμα στα αιμοπετάλια και προκαλώντας τη συσώρευση και έκκριση των συστατικών των α- και δ- σωματιδίων. Όπως και οι προηγούμενες ενώσεις αυξάνει το ενδοκυτταρικό Ca⁺² και ενεργοποιεί το σύστημα της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης παράγοντας διακυλογλυκερόλη και φωσφατιδικό οξύ. Επίσης ενεργοποιεί την φωσφολιπάση A₂ και υδρολύει το AA. Αναστέλλεται απ' την ινδομεθακίνη και το ενζυμικό σύστημα φωσφοκρεατίνης και κινάσης της φωσφοκρεατίνης.

ε) Αδρεναλίνη (επινεφρίνη)

Δρα μέσω α₂- αδρενεργικού υποδοχέα προκαλώντας συσώρευση και έκκριση.

Αυξάνει τα επίπεδα του ελεύθερου ενδοκυτταρικού Ca⁺² μόνο με εισροή εξωκυτταρικού Ca⁺².

Συνδέεται στα αιμοπετάλια μέσω γλυκοπρωτεϊνών GPIIb/IIIa. Η δράση της σχετίζεται με την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A_2 και φωσφολιπάσης C καθώς και το σχηματισμό TXA_2 .

Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από αδρεναλίνη διαφέρει ανάλογα με το χρόνο αιμοδοσίας ή παραμονής του πλάσματος πλουσίου σε αιμοπετάλια. Αντίθετα με τις άλλες ενώσεις δρα περισσότερο συνεργικά και όχι ως αγωνιστής ως ακολούθως: αυξάνει αρχικά το ελεύθερο ενδοκυτταρικό Ca^{+2} αλλά όχι αρκετά για να ενεργοποιήσει το αιμοπετάλιο. Παρόλα αυτά απαιτείται λιγότερη ενέργεια για το σχηματισμό διακυλογλυκερόλης και ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης.

στ) Σεροτονίνη

Έχει ειδικούς υποδοχείς. Έχει παρατηρηθεί ότι *in vitro* αυξάνει το ενδοκυτταρικό Ca^{+2} , ενεργοποιεί τη φωσφολιπάση C και προκαλεί συσώρευση και έκκριση. Όταν εκκρίνεται απ' τα δ-σωματίδια ενισχύει το φαινόμενο της συσώρευσης. Είναι άγνωστο όμως αν ο ρόλος της είναι η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων ή η αγγειοσύσπαση. Η μέτρηση της εκκρινόμενης σεροτονίνης αποτελεί μέτρο της ποσότητας του επιδρώντος αγωνιστή και με τη χρήση ειδικών ενώσεων μετριέται αυτή η ποσότητα ακόμα και με μικρές ποσότητες αγωνιστών.

Παράγοντες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων

Συνδέεται σε υποδοχείς με πεπτιδική αλυσίδα που βιοσυντίθενται με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA. Είναι ο πιο ισχυρός αγωνιστής, προκαλώντας αντιστρεπτή συσώρευση σε συγκεντρώσεις της τάξης $10^{-11} M - 10^{-16} M$ και μη αντιστρεπτή σε συγκεντρώσεις της τάξης των $10^{-9} M$. Προκαλεί έκκριση των α-, δ- και λ-σωματιδίων.

Η δράση του PAF προϋποθέτει εξωκυττάριο Ca^{+2} και συνεπάγεται: i) αύξηση του ενδοκυττάρου Ca^{+2} μέσω των G πρωτεϊνών ii) ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C, της πρωτεϊνικής κινάσης C, των φωσφολιπασών A_2 και D. iii) παραγωγή φωσφατιδικού οξέος, πρωτεϊνικών τυροσινικών κινασών και κινασών των πρωτεϊνικών κινασών μέσω της διακυλογλυκεροκινάσης. Η φωσφολιπάση A_2 υδρολύει το AA, το οποίο μεταβολίζεται σε TXA_2 , ενώ το υπόλοιπο του μορίου (Lyso-PAF) ακετυλιώνεται προς παραγωγή νέων μορίων PAF. Τέλος, ο PAF επιδρά και στην έκφραση γονιδίων ενώ η μακρόχρονη έκθεση στον PAF προκαλεί απευαισθητοποίηση στη δράση του PAF.

Υπολογισμός αριθμού υποδοχέων ανά αιμοπετάλιο:

Ο υπολογισμός αυτός επιτυγχάνεται με ανάλυση Scatchard plot της ειδικής πρόσδεσης του αγωνιστή στα αιμοπετάλια απουσία και παρουσία ψυχρού αγωνιστή. Από την κλίση της καμπύλης της ανάλυσης προσδιορίζονται το μέτρο της χημικής συγγένειας μεταξύ αγωνιστή και υποδοχέα και ο αριθμός των θέσεων δέσμευσης ανά αιμοπετάλιο.

Δρόμοι συσσώρευσης των αιμοπεταλίων:

Η συσσώρευση ανεξάρτητα απ' τον μηχανισμό που χρησιμοποιούν οι αγωνιστές ακολουθεί τρεις πορείες:

- α) Μέσω του ADP που αναστέλλεται όταν μετατρέπεται σε ανενεργό ATP με το ενζυμικό σύστημα φωσφοκρεατίνης / κίνησης της φωσφοκρεατίνης.
- β) Μέσω των μεταβολιτών του AA που αναστέλλεται απ' τα φάρμακα αναστολής της δράσης της κυκλοοξυγονάσης, ασπιρίνη και ινδομεθακίνη.
- γ) Μέσω του PAF που αναστέλλεται από ειδικούς αναστολείς με κυριότερο το BN 52021.

Ο καθορισμός του δρόμου συσσώρευσης γίνεται με χρήση ειδικών αναστολέων είτε/και με πειράματα διασταυρούμενης απευαισθητοποίησης.

Από πειράματα σε κουνέλια βρέθηκε ότι οι τρεις αυτοί δρόμοι αλληλοεξαρτώνται μεταξύ τους.

Επίδραση του PAF στην αθηρογένεση

Ο PAF εμπλέκεται στις αρτηριακές βλάβες προκαλώντας την έκκριση ιντερλευκίνης και TNF και με το φαινόμενο αυτοαναπαραγωγής επιδρά στα ενδοθηλιακά κύτταρα μαζί μ' αυτές ή μόνος του. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα διαθέτουν υποδοχείς σύνδεσης ελεύθερου και ήδη συνδεδεμένου PAF προκαλώντας την προσκόλληση των κυττάρων. Στη συνέχεια, γίνεται ρήξη του ενδοθηλίου, απενδοθηλιοποίηση και κυτταρική διήθηση. Τα λεία μυϊκά κύτταρα πολλαπλασιάζονται λόγω του PAF ενώ τα έμμορφα συστατικά του αίματος και ουσίες όπως κολλαγόνο, λιποειδή, χοληστερόλη και γλυκοζαμινογλυκάνες προσκολλώνται στο εσωτερικό του αγγείου. Σε συνεργασία με ουσίες όπως τον αιμοπεταλιακό παράγοντα πήξης (PDGF) και τη θρομβοσπονδίνη (TSP) επεκτείνει τη βλάβη και παρεμποδίζει την ινωδόλυση (μέσω TSP και HRG).

Για την αθηρωγόνο δράση στα αγγεία ενοχοποιείται ο PAF και όχι η χοληστερόλη ή τα κορεσμένα λιπαρά οξέα. Έτσι, από in vivo και in situ πειράματα ερευνητών

διαπιστώθηκε ότι ο σχηματισμός αθηρωματικών πλακών οφείλεται σε τοπική φλεγμονώδη αντίδραση στα αγγεία.

Η Μεσογειακή διαίτα και τροφές πλούσιες σε αναστολείς του PAF (λάδι, μέλι, γιαούρτι, ψάρια, κρασί κλπ) προστατεύουν απ' την αθηρωμάτωση και τα καρδιαγγειακά νοσήματα χωρίς να χρειάζεται ο αποκλεισμός της χοληστερόλης και των κορεσμένων λιπαρών οξέων από τη διαίτα.

Τα παρατηρήματα στην κλινική

Ο αντιθρομβωτικός παράγοντας X (X_a) συνδέεται με ισχυρή φασφολιπασική του επίδραση να σχηματίζεται απ' τον τριωμεταμένο ιόν, καθώς και με τον παράγοντα V, παρούσα ιόντων Ca^{++} , σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο και ενεργοποιώντας παράγοντα της πρωθρομβίνης. Μόλις σε μικρό βαθμό υπάρχει ο παράγοντας αυτός διασπώ την πρωθρομβίνη με σχηματισμό θρομβίνης, η οποία δρα ως ενζύμο για το σχηματισμό νέων στον τριωμεταμένο ιόν. Το σύμπλοκο έχουν υποδείξει για τους παράγοντες X_a και V_a (ενεργοποιημένος παράγοντας V). Ο διαμεταμένος παράγοντας X_a στα αιμοπετάλια καταλύει την ενεργοποίηση της πρωθρομβίνης 100.000 φορές περισσότερο απ' ό,τι ο παράγοντας X_a στο πλάσμα. Το ανθρώπινο αιμοπετάλιο περιέχει 0,2 mg του παράγοντα αυτού. 10^8 αιμοπετάλια και έχουν άρα 20-30 εκατομμύρια απ' αυτόν τον παράγοντα στην αιμοπεταλιακή μεμβράνη. Τα αιμοπετάλια περιέχουν επίσης υποδοχείς οι οποίοι δεσφύονται με τον παράγοντα X και οδηγούν στην ενεργοποίησή του.

Το αιμοπεταλιακό φράγμα δεν με τη σύνδεσή της στον αιμοπεταλιακό υποδοχέα πρωθρομβίνη εξαρτάται απ' τον βαθμό της θρομβίνης, ο οποίος να εξουδετερώνει το διαμεταμένο παράγοντα X_a και έτσι να ενεργοποιεί την αιμοπεταλιακή της κλίση. Έτσι η πρωθρομβίνη δεν ελκύει πλέον στην κλίση της ενεργητικής θρόμβωσης. Έπειτα, οι δύο άλλους μηχανισμούς οι οποίοι εξουδετερώνουν την ενεργοποίηση οδηγούν της πρωθρομβίνης. Ο πρώτος είναι ο αιμοπεταλιακός παράγοντας 4, ένα τριωμεταμένο πολυμερές. Ο δεύτερος είναι η θρομβολυμεινίνη που εκκρίνεται απ' τα αιμοπετάλια και διασπάζει την κλίση σε απενεργή θρομβολυμεινίνη (αλβιδίνη - δολφ θρομβολυμεινίνη ή $IIIb$). Η πρωθρομβίνη εξουδετερώνει την πρωθρομβίνη διαμεταμένης της.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΗΝ ΠΗΞΗ ΚΑΙ ΙΝΩΔΟΛΥΣΗ

Η λειτουργία των αιμοπεταλίων στην αιμόσταση διακρίνεται σε τέσσερις φάσεις: συσσώρευση – προσκόλληση, συγκόλληση, απέκκριση και προπηξία. Συνοπτικά συμβαίνουν τα εξής: το αιμοπετάλιο κινείται προς την περιοχή της αγγειακής βλάβης όπου δρα καταλυτικά. Όταν διακόπτεται η βλάβη εκλύονται αγγειοσυσπαστικές ουσίες που προσελκύουν και άλλα αιμοπετάλια σχηματίζοντας τον αιμοπεταλιακό θρόμβο. Ο θρόμβος του αίματος μετά το σχηματισμό του μπορεί να ακολουθήσει δύο διαφορετικές πορείες: να μπουκώσει τον αυτόν ινοβλάστες και να σχηματίσουν συνδετικό ιστό ή να διαλυθεί απ' το ινωδολυτικό σύστημα.

Το αιμοπετάλιο στην πήξη

Ο ενεργοποιημένος παράγοντας X (Xa) συνδέεται με τα ιστικά φωσφολιποειδή που απελευθερώνονται απ' τον τραυματισμένο ιστό, καθώς και με τον παράγοντα V, παρουσία ιόντων Ca^{+2} , σχηματίζοντας ένα σύμπλεγμα που ονομάζεται ενεργοποιημένος παράγοντας της προθρομβίνης. Μέσα σε μερικά δευτερόλεπτα ο παράγοντας αυτός διασπά την προθρομβίνη με σχηματισμό θρομβίνης, η οποία δρα ως ένζυμο για το σχηματισμό ινικής στον τραυματισμένο ιστό. Τα αιμοπετάλια έχουν υποδοχείς για τους παράγοντες Xa και Va (ενεργοποιημένος παράγοντας V). Ο δεσμευμένος παράγοντας Xa στα αιμοπετάλια καταλύει την ενεργοποίηση της προθρομβίνης 300.000 φορές ταχύτερα απ' ό,τι ο παράγοντας Xa στο πλάσμα. Τα ανθρώπινα αιμοπετάλια περιέχουν 0,3 μg του παράγοντα ανά 10^8 αιμοπετάλια και έχουν βρεθεί 200-300 υποδοχείς γι' αυτόν τον παράγοντα στην αιμοπεταλιακή επιφάνεια. Σε σπάνιες περιπτώσεις έλλειψης υποδοχέων οι ασθενείς πάσχουν από σοβαρή αιμορραγική διάθεση.

Το αντιπηκτικό ηπαρίνη που με τη σύνδεσή της στον συμπάγοντα αντιθρομβίνης ηπαρίνης αδρανοποιεί τη συνδεδεμένη θρομβίνη αδυνατεί να εξουδετερώσει το δεσμευμένο παράγοντα Xa και έτσι να αναχαιτίσει την ενεργοποίηση της πήξης. Έτσι η ηπαρίνη δεν παίζει ρόλο στην πρόληψη της αρτηριακής θρόμβωσης. Επίσης, με δυο άλλους μηχανισμούς τα αιμοπετάλια αναστέλλουν την αντιπηκτική δράση της ηπαρίνης. Ο πρώτος είναι ο αιμοπεταλιακός παράγοντας 4, ένα τετραμερές πολυπεπίδιο. Ο δεύτερος είναι η θρομβοσπονδίνη που εκκρίνεται απ' τα αιμοπετάλια και δεσμεύει την πλούσια σε ιστιδίνη γλυκοπρωτεΐνη (histidine – rich glycoprotein ή HRG). Η τελευταία εξουδετερώνει την ηπαρίνη δεσμεύοντάς την.

Τα αιμοπετάλια διαθέτουν υποδοχείς και για τους παράγοντες XI και XIa, αν και δε συμμετέχουν στην ενεργοποίηση του παράγοντα XI. Μείωση του παράγοντα XII δεν οδηγεί σε αιμορραγική διάθεση ενώ ο παράγοντας XI είναι ουσιώδης στην αιμόσταση.

Τα αιμοπετάλια περιέχουν ακόμα παράγοντα XIII που εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμά τους και δεν απεκκρίνεται όταν το αιμοπετάλιο ενεργοποιείται. Οι συμπαράγοντες V και VIII συμμετέχουν στην ενεργοποίηση παραγόντων πήξης μ' ένα συγκεκριμένο μηχανισμό. Σε μικρή έστω αγγειακή βλάβη, ο ιστικός παράγων (tissue factor ή TF) του υπενδοθηλίου ενεργοποιεί τον παράγοντα VII δημιουργώντας ένα σύμπλεγμα που ενεργοποιεί τον παράγοντα X. Έτσι από τη δράση αυτού σχηματίζεται θρομβίνη που ενεργοποιεί τους συμπαράγοντες V, VIII και αιμοπετάλια οπότε ξεκινάει η διαδικασία της πήξης μέσω της ενδογενούς οδού.

Τα αιμοπετάλια στην αντιπηξία

Οι πρωτεΐνες S και C (APC) στο πλάσμα έχουν αντιπηκτική δράση. Συγκεκριμένα η πρώτη είναι συμπαράγοντες της δεύτερης η οποία εξουδετερώνει τους συμπαράγοντες Va και VIIIa.

Η πρωτεΐνη S συντίθεται στο ήπαρ, αγγειακό ενδοθήλιο και μεγακαρυοκύτταρα. Απεκκρίνεται απ' τα α- αιμοπεταλιακά κοκκία με τη διέγερση των αιμοπεταλίων με θρομβίνη. Υπό τη δράση των πρωτεϊνών C και S παρατηρείται απώλεια των θέσεων υποδοχέων στα αιμοπετάλια για τον παράγοντα Va. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η μείωση ή/και επιβράδυνση του σχηματισμού ινικής.

Τα αιμοπετάλια στην ινωδόλυση

Η ινωδολυτική ικανότητα εξαρτάται απ' τους ενεργοποιητές του πλασμινογόνου t-PA και u-PA. Οι παράγοντες αυτοί έχουν αναστολείς: τον PAI-1 και PAI-2. Ο t-PA βρίσκεται σε σύμπλεγμα με τον PAI-1 στο αίμα. Ο PAI-1 εντοπίζεται στα α- αιμοπεταλιακά κοκκία ενώ η πρωτεΐνη PAI-1 στα αιμοπετάλια. Η ανασταλτική δράση του PAI-1 σχετίζεται με την αυξημένη πιθανότητα σχηματισμού θρόμβου. Τη δράση αυτή του PAI-1 ανταγωνίζεται η APC. Συγκεκριμένα, η πρωτεΐνη S καταλύει την επαύξηση της APC στα φωσφολιποειδή η οποία καταστέλλει την απελευθέρωση PAI απ' τα α-κοκκία. Έτσι η APC επιταχύνει την ινωδόλυση, αυξάνοντας τη δραστηριότητα του t-PA.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗ

Σε περίπτωση αγγειακής βλάβης το αιμοπετάλιο συμμετέχει στην ανάπτυξη αθηρωματικής πλάκας όπως αποδεικνύουν ιστοχημικές μελέτες. Αυξητικοί παράγοντες, κυτταροκίνες και μόρια προσκόλλησης συνυπάρχουν και επάγουν το σχηματισμό θρόμβου.

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΚΑΙ ΜΟΡΙΩΝ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ

Κολλαγόνο

Τα αιμοπετάλια προσκολλώνται στα ινίδια του κολλαγόνου της υποενδοθηλιακής στιβάδας όταν υπάρχει βλάβη, απογύμνωση ή δυσλειτουργία του ενδοθηλίου.

Η συγκόλληση των αιμοπεταλίων καθορίζεται από την ενεργοποίηση ADP και θρομβοξάνης (TXA₂). Από τα δέκα περίπου είδη κολλαγόνου τα αιμοπετάλια αντιδρούν με τους τύπους I, II, III και IV απαιτώντας την παρουσία παράγοντα Von Willebrand και φμπρονεκτίνης.

Παράγοντας Von Willebrand (vWF)

Η προσκόλληση των αιμοπεταλίων σταθεροποιείται απ' τον παράγοντα vWF. Ο vWF εντοπίζεται στις θέσεις που προσκολλώνται τα αιμοπετάλια και συνδέεται με τις γλυκοπρωτεΐνες Ib και IIb – IIIa. Προέρχεται είτε από το πλάσμα είτε εκκρίνεται απ' τα α-κοκκία των αιμοπεταλίων. Στην πρώτη περίπτωση υπάρχει σε πολυμερή με διαφορετικό μοριακό βάρος.

Φιμπρονεκτίνη

Η προσκόλληση των αιμοπεταλίων με τη φιμπρονεκτίνη γίνεται με τους υποδοχείς της GPIIb – IIIa και Ic – IIa. Έχει μεγάλη προσκολλητική ικανότητα και αλληλεπιδρά μέσω της RGD θέσης της. Υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορεί να υπάρχει και τρίτος υποδοχέας για την φιμπρονεκτίνη στα αιμοπετάλια.

Ινωδογόνο και ινώδες

Η προσκόλληση των αιμοπεταλίων με το ινωδογόνο και το ινώδες γίνεται μέσω της GPIIb – IIIa και απαιτεί την παρουσία του vWF που εκκρίνεται απ' τα α-κοκκία. Η προσκόλληση στο ινώδες είναι ισχυρότερη απ' ό,τι η προσκόλληση σε επιφάνειες

καλλυμένες με ινώδογόνο. Για να ακολουθήσει στη συνέχεια η συγκόλληση των αιμοπεταλίων (απ' το σχηματισμό ινώδους) δεν επιδρούν άλλες πρωτεΐνες.

Άλλα μόρια προσκόλλησης χωρίς σπουδαίο ρόλο στη διαδικασία της προσκόλλησης είναι η λαμίνη και η θρομβοσπονδίνη.

Η ΘΡΟΜΒΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΗΣ ΠΛΑΚΗΣ

Τα αιμοπετάλια υποβοηθούν την ανάπτυξη αθηρωματικής πλάκας συμμετέχοντας στο σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων και στην μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων του αρτηριακού τοιχώματος. Συγκεκριμένα τα συγκολλημένα με κολλαγόνο αιμοπετάλια παράγουν σωματίδια πλούσια σε λιποειδή και χοληστερόλη, τα οποία παραλαμβάνονται απ' τα μακροφάγα οδηγώντας στο σχηματισμό αφρωδών κυττάρων. Τα προσκολλημένα αιμοπετάλια εκκρίνουν αυξητικούς παράγοντες και κυτταροκίνες όπως τον αυξητικό παράγοντα των αιμοπεταλίων (PDGF), τον μετατρεπτικό αυξητικό παράγοντα (TGF- β) και τον όξινο και βασικό αυξητικό παράγοντα ινοβλαστών (FGF). Έτσι επαυξάνεται το μιτογόνο ερέθισμα και η μετανάστευση των λείων μυϊκών ινών κατά της ανάπτυξης της πλάκας.

Ο σχηματισμός θρόμβου, η διήθηση των μονοκυττάρων και η έκκριση του αιμοπεταλιακού παράγοντα 4 ενισχύουν την αθηρογόνο δράση των αιμοπεταλίων. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια εκκρίνουν την TXA₂ και επάγουν το σχηματισμό του συμπλέγματος της προθρομβινάσης, προθρομβίνης, Va και Xa που επιταχύνει την αναγέννηση της θρομβίνης.

Με σκοπό να μελετηθεί η σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε παθολογικές καταστάσεις κρίνεται σκόπιμο να διερευνηθούν πρωτίστως τα παρακάτω θέματα:

- αλλαγές στη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε σχέση με την ηλικία
- συσχέτιση των επιπέδων των πρωτεϊνών και λιποειδών στο πλάσμα με τη λειτουργία των αιμοπεταλίων στα παιδιά διαφορετικών ηλικιών
- σύσταση των λιποειδών σε φρέσκα και αποθηκευμένα διαλύματα αιμοπεταλίων
- βιοχημικός χαρακτηρισμός απομονωμένων τμημάτων αιμοπεταλίων που απελευθερώνονται από ανθρώπους και αρουραίους μετά από ενεργοποίηση

Στην έρευνα των S. Prisco, P.G. Rogasi, M. Matucci, R. Paniccia, R. Abbate, G.F. Gensini, G.G.N. Serneri το 1986 μελετήθηκε η σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε 52 υγιή άτομα ηλικίας 20 έως 68 ετών. Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να διερευνηθούν αλλαγές στα λιποειδή των αιμοπεταλίων σχετικές με την ηλικία. Τα άτομα της ομάδας που διερευνήθηκε ζούσαν σε μια στενή γεωγραφική περιοχή και ήταν φυσιολογικά άτομα χωρίς δυσλιπιδαιμίες ή άλλες μεταβολικές διαταραχές. Είχαν παρόμοιες διαιτητικές συνήθειες, φυσιολογική αρτηριακή πίεση και δεν έπαιρναν φάρμακα. Έγινε αλλαγή φλεβικού αίματος μετά από δωδεκάωρη ολονύχτια νηστεία και αποχή από το κάπνισμα. Το αίμα φυγοκεντρήθηκε ώστε να παραληφθεί το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP). Το περιεχόμενο των αιμοπεταλίων σε πρωτεΐνη υπολογίστηκε με τη μέθοδο των Lowry et al. Τα λιποειδή των αιμοπεταλίων εκχυλίστηκαν με τη μέθοδο Folch et al. Τα ολικά λιποειδή διαχωρίστηκαν σε στήλη πυριτικού οξέος αρχικά με έκλουση με χλωροφόρμιο, ώστε να απομακρυνθούν τα ουδέτερα λιποειδή και στη συνέχεια με μεθανόλη για να παραληφθούν τα φωσφολιποειδή. Τα κλάσματα των φωσφολιποειδών διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Στα διαχωρισμένα κλάσματα έγινε ταυτοποίηση των λιπαρών οξέων και των αλδευδών με αέρια χρωματογραφία, μετά από τρανσμεθυλίωση αυτών (μέθοδος Ruggeri et al). Οι μεθυλεστέρες και διμεθυλακετάλες που σχηματίστηκαν αναλύθηκαν με αέρια χρωματογραφία. Σε προκαταρκτικά πειράματα έγινε επιπλέον προσδιορισμός διαφόρων λιπαρών οξέων με φασματοφωτομετρία μάζας και χρωματογραφία λεπτής στιβάδας.

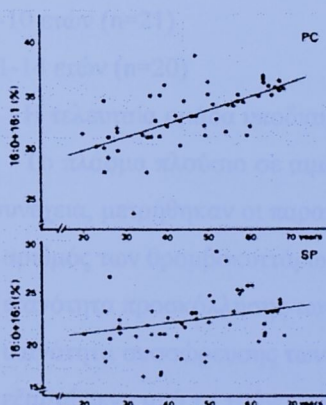
Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι δε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στις διάφορες ηλικιακές ομάδες για το περιεχόμενο πρωτεΐνης, χοληστερόλης και ολικών φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων (πίνακας 1.1). Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά και στο ποσοστό των διαφορετικών κλασμάτων των φωσφολιποειδών. Η μοριακή αναλογία χοληστερόλη / φωσφολιποειδή αυξήθηκε σημαντικά με την ηλικία, όπως και η

ολική χοληστερόλη στο πλάσμα. Παρατηρήθηκαν σημαντικές διακυμάνσεις στο περιεχόμενο σε εστεροποιημένα λιπαρά οξέα σε διάφορα κλάσματα φωσφολιποειδών. Συγκεκριμένα, τα 16:0 και 16:1 αυξήθηκαν σημαντικά με την ηλικία στη φωσφατιδυλοχολίνη και σφιγγομυελίνη (σχήμα 1.1), ενώ το λινελαϊκό (18:2 n-6) μειώθηκε και στα τέσσερα κλάσματα φωσφολιποειδών δηλαδή τη φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη, τη φωσφατιδυλοχολίνη, το φωσφατιδυλοϊνositή και τη φωσφατιδυλοσερίνη (σχήμα 1.2).

Πίνακας 1.1

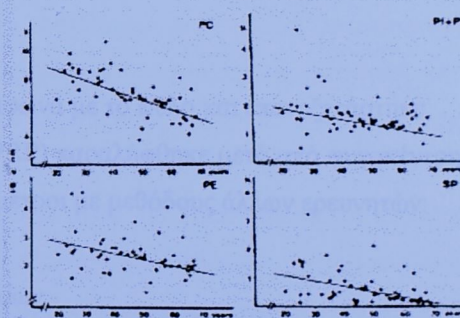
Χοληστερόλη αιμοπεταλίων, ολικά φωσφολιποειδή και εκατοστιαίο περιεχόμενο κυρίων κλασμάτων φωσφολιποειδών

	20 – 29	30 – 39	40 – 49	50 – 59	60 – 69
Πρωτεΐνη (mg/10 αιμοπετάλια)	1,8 ± 0,4	1,9 ± 0,5	1,8 ± 0,6	1,7 ± 0,6	1,9 ± 0,5
Χοληστερόλη (nmol/mg πρωτεΐνης)	116,5 ± 26,1	127,7 ± 39,0	130,9 ± 38,8	140,9 ± 23,9	139,1 ± 22,6
Φωσφολιποειδή (nmol/mg πρωτεΐνης)	256,2 ± 51,6	257,3 ± 56,9	251,4 ± 48,3	256,1 ± 39,1	256,1 ± 42,1
PC %	32,2 ± 2,5	35,0 ± 4,9	32,2 ± 2,4	33,4 ± 3,9	34,0 ± 4,8
PE %	27,8 ± 1,0	25,8 ± 2,9	28,7 ± 4,5	26,6 ± 3,7	26,1 ± 4,1
PI + PS %	16,5 ± 4,1	14,6 ± 1,2	17,0 ± 2,9	16,2 ± 4,4	16,5 ± 3,1
SP %	18,9 ± 2,4	18,3 ± 2,6	18,5 ± 3,9	19,1 ± 4,2	17,9 ± 5,1
Άλλα %	4,6 ± 2,4	6,3 ± 3,4	3,6 ± 2,1	4,7 ± 3,2	5,5 ± 3,7
C/PL Μοριακή αναλογία	0,47 ± 0,10	0,5 ± 0,11	0,52 ± 0,08	0,55 ± 0,04	0,57 ± 0,07



Σχήμα 1.1

Συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας και το περιεχόμενο 16:0+16:1 στα αιμοπετάλια της PC και SP



Σχήμα 1.2

Συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας και το περιεχόμενο 18:2 n-6 σε διάφορα κλάσματα φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων

Η αύξηση της αναλογίας χοληστερόλη/φωσφολιποειδή μειώνει τη ρευστότητα της μεμβράνης και επηρεάζει ένζυμα και υποδοχείς που σχετίζονται με αυτή. Από την άλλη, αιμοπετάλια με υψηλότερη αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή παράγουν αυξημένα ποσά θρομβοξάνης A_2 που οδηγεί σε συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Ομοίως, οι διακυμάνσεις που βρέθηκαν στο περιεχόμενο σε λιπαρά οξέα είναι σημαντικές καθώς αυξημένα ποσά κορεσμένων λιπαρών οξέων μπορεί να σχετίζονται με αυξημένη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Όπως, για παράδειγμα, για το λινελαϊκό οξύ *in vivo* έρευνες έδειξαν ότι δίαιτα χαμηλή σε αυτό προδιαθέτει για έμφραγμα του μυοκαρδίου ενώ βρέθηκαν χαμηλά ποσά λινελαϊκού σε λιπώδη ιστό ατόμων με στεφανιαία νόσο.

Συμπερασματικά, οι αλλαγές που συμβαίνουν στη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων με την ηλικία μπορεί να παίζουν κάποιο ρόλο στη γένεση της αθηροσκλήρυνσης και σε θρομβωτικά φαινόμενα που συμβαίνουν στους ηλικιωμένους. Οι αλλαγές αυτές πρέπει να λαμβάνονται υπόψη σε κάθε έρευνα που μελετά το περιεχόμενο των αιμοπεταλίων στα λιποειδή αυτά.

Η επόμενη έρευνα επικεντρώνεται στις αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών – λιποειδών στο πλάσμα με τις λειτουργίες των αιμοπεταλίων στην παιδική ηλικία. Πρόκειται για την εργασία των B. Podolsak, G. Peter και J. Öller το 1978. 67 παιδιά ηλικίας 2 έως 14 ετών συμμετείχαν στην έρευνα. Ήταν όλα υγιή, δεν έπαιρναν φάρμακα και χωρίστηκαν στις παρακάτω ομάδες:

Κορίτσια και Αγόρια:

- 2-6 ετών (n=26)
- 7-10 ετών (n=21)
- 11-14 ετών (n=20)

Η τελευταία ομάδα υποδιαιρέθηκε σύμφωνα με το φύλο και επανεξετάστηκε.

Το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP) παραλήφθηκε μετά από φυγοκέντρηση. Στη συνέχεια, μετρήθηκαν οι παρακάτω παράμετροι με μεθόδους άλλων ερευνητών:

- ο αριθμός των θρομβοκυττάρων
- η ικανότητα προσκόλλησης των αιμοπεταλίων
- η ικανότητα συσσώρευσης των αιμοπεταλίων
- η εξαρτώμενη από το χρόνο αύξηση της αυθόρμητης προσκόλλησης και συσσώρευσης των αιμοπεταλίων στο γυαλί
- η ικανότητα εξάπλωσης των αιμοπεταλίων
- ο προσδιορισμός ινωδογόνου
- ο προσδιορισμός των επιπέδων των πρωτεϊνών στο πλάσμα και

- ο προσδιορισμός των επιπέδων των λιποειδών στο πλάσμα

Τα φωσφολιποειδή διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Μετά από κατάλληλη επεξεργασία των διαχωρισμένων φωσφολιποειδών ακολουθεί αντίδραση με το αντιδραστήριο C και μέτρηση της οπτικής πυκνότητας. Με βάση πρότυπη καμπύλη αναφοράς, προσδιορίστηκε η συγκέντρωση φωσφόρου.

Πρωτεΐνες και λιποειδή που υπολογίστηκαν στην έρευνα παρουσιάζονται στον πίνακα 2.1. Οι IgM, β-λιποπρωτεΐνη, πλασμινογόνο, σερουλοπλασμίνη και προαλβουμίνη έδειξαν στατιστικά σημαντικές αλλαγές σε διάφορες ηλικιακές ομάδες. Τα παιδιά κάτω της σχολικής ηλικίας είχαν λιγότερη IgM από αυτά στην εφηβεία, αλλά είχαν σαφώς περισσότερη σερουλοπλασμίνη και ινωδογόνο από άλλες ηλικιακές ομάδες. Αυτά τα παιδιά (2-6 ετών) είχαν περισσότερη β-λιποπρωτεΐνη και λιγότερη προαλβουμίνη από τα αγόρια στην εφηβεία. Η ίδια σχέση γι' αυτά τα δύο συστατικά του πλάσματος εμφανίστηκε στα παιδιά ηλικίας 7-10 ετών και στα κορίτσια στην εφηβεία. Οι ομάδες με τη χαμηλότερη προαλβουμίνη παρουσίασαν ασθενέστερη λειτουργία των αιμοπεταλίων στο γυαλί (προσκόλληση και συσώρευση) (πίνακας 2.2). Η αύξηση του πλασμινογόνου στην ομάδα 2-6 ετών πιθανόν σχετίζεται με την αύξηση του ινωδογόνου.

Όσον αφορά τις συσχετίσεις κατά ηλικιακές ομάδες (πίνακας 2.3) ενδιαφέρον παρουσιάζει η θετική συσχέτιση μεταξύ α₂-μακροσφαιρίνης και β-λιποπρωτεΐνης στην ομάδα 1. Σε συνδυασμό με τη θετική συσχέτιση μεταξύ σφιγγομυελίνης και β-λιποπρωτεΐνης-πλασμινογόνου εκφράζουν το διαφορετικό μεταβολισμό στα νεώτερα παιδιά που εξαρτάται από την ηλικία. Η θετική συσχέτιση μεταξύ ινωδογόνου και κατεστραμμένων αιμοπεταλίων πιθανόν να οφείλεται στην κοινή καταστροφή ή απομάκρυνση από την κυκλοφορία. Επίσης, παρατηρήθηκε μια θετική συσχέτιση μεταξύ ελεύθερων λιπαρών οξέων και χρονο-εξαρτώμενης αύξησης της προσκολλητικότητας και συσώρευσης των αιμοπεταλίων.

Σε παιδιά ηλικίας 7-10 ετών παρατηρήθηκε μόνο μια θετική συσχέτιση μεταξύ της εξάπλωσης των αιμοπεταλίων και της χρονο-εξαρτώμενης αύξησης της προσκόλλησης των αιμοπεταλίων. Οι αρνητικές συσχετίσεις που βρέθηκαν επιβεβαιώνουν ότι η ελεύθερη ή εστεροποιημένη χοληστερόλη δεν επηρεάζει τη διαδικασία σχηματισμού θρόμβου ή τις λειτουργίες των θρομβοκυττάρων.

Η ομάδα 3 παρουσίασε θετική συσχέτιση μεταξύ σερουλοπλασμίνης και ελεύθερων προσκολλημένων αιμοπεταλίων. Θετική ήταν και η συσχέτιση μεταξύ β-λιποπρωτεΐνης και της εξάπλωσης των αιμοπεταλίων. Η προαλβουμίνη που βρίσκεται σε

Πίνακας 2.1

Μέση τιμή και διακύμανση (± 1 s) των πρωτεϊνών του πλάσματος και των λιποειδών σε υγιή παιδιά διαφορετικής ηλικίας. Οι πρωτεΐνες σε mg/100ml πλάσματος, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA) σε mmol/l πλάσματος

	IgM	α - μακροανοσοσφαιρίνη	α - αντιθρομβίνη	β - λιποπρωτεΐνη	Πλασμινόγено	Casnioplasmin	Πρό - αβουμίνη	Σύνθετο-για C3	Ινδολόγιο	Ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA)	Χοληστερόλη (Ελεύθερη)	Χοληστερόλη (Ολική)	Ανυόλεκτινή	Σφιγγομυελίνη	Λεκτίνη	N
2-6 ετών	↓125,2 ±40,4	↑477,7 ±62,5	↑242,6 ±106,7	↑458,5 ±127,7	↑13,0 ±2,1	↑46,8 ±10,4	↓16,3 ±5,2	88,3 ±19,0	↑430,0 ±117,0	0,6 ±0,4	↑26,9 ±11,2	↑154,7 ±25,5	2,1 ±1,7	7,8 ±7,1	13,2 ±10,0	26
7-10 ετών	↓117,4 ±37,4	↓451,3 ±70,9	210,1 ±123,1	417,6 ±78,0	12,0 ±2,1	↓38,6 ±12,4	↓15,0 ±6,5	↓82,6 ±1,8	397,0 ±83,0	0,6 ±0,4	25,1 ±14,9	150,7 ±28,9	3,7 ±4,2	9,1 ±6,8	15,2 ±14,0	21
11-14 ετών	↑152,0 ±55,4	464,0 ±83,1	214,2 ±122,5	↓391,6 ±89,2	12,3 ±1,4	↓35,6 ±7,1	18,7 ±7,1	↑94,8 ±16,1	↓370,0 ±68,0	0,5 ±0,3	21,9 ±9,7	↓145,0 ±27,0	3,4 ±3,4	10,6 ±12,2	18,0 ±14,5	20
11-14 ετών	↑157,2 ±33,7	456,6 ±75,8	↓107,2 ±82,4	↑455,2 ±119,6	↑13,4 ±0,9	↓32,8 ±6,2	↓14,7 ±10,0	94,3 ±18,3	↓336,0 ±38,0	0,3 ±0,2	↓19,2 ±11,1	149,7 ±36,5	4,3 ±3,9	13,7 ±16,7	21,8 ±20,2	6
11-14 ετών	↑150,1 ±62,3	466,6 ±88,1	↑252,4 ±112,8	↓368,9 ±67,2	↓11,9 ±1,4	↓36,7 ±7,4	↑20,2 ±5,6	95,0 ±16,2	384,0 ±74,0	0,6 ±0,3	23,1 ±9,2	143,0 ±23,2	3,0 ±3,2	9,3 ±10,1	16,3 ±12,8	14

Η στατιστική σπουδαιότητα καταδεικνύεται με τα βέλη: ↑=αυξημένη, ↓=ελατωμένη

υψηλότερη συγκέντρωση σ' αυτή την ομάδα, πιθανόν έχει θετική επίδραση στην προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων στο γυαλί.

Πίνακας 2.2

Αποτελέσματα εξέτασης της λειτουργίας των αιμοπεταλίων (σε σίλικονοποιημένο γυαλί) σε υγιή παιδιά διαφορετικών ηλικιακών ομάδων

	Ελεύθερα προσκολλημένα αιμοπετάλια / qmm (1 ώρα μετά τη λήψη του αίματος)	PAI (1 ώρα μετά τη λήψη του αίματος)	Δ PAI (1./2.)	PAgI (1 ώρα μετά τη λήψη του αίματος)	Δ PAgI (1./2.)	Εξάλωση αιμοπεταλίων («Απλωτές» - μορφές /1000 κύτταρα)	PF3 (I/II)
2-6 ετών Α Θ	1760±574	1,2±0,5	0,6±0,4	0,7±0,3	0,5±0,3	550±75	11,4±5,4
7-11 ετών Α Θ	1470±352	1,2±0,4	0,6±0,3	0,7±0,3	0,5±0,3	544±110	11,5±6,7
11-14 ετών Α Θ	1710±686	1,5±0,5	0,7±0,4	0,9±0,4	0,7±0,4	556±86	11,5±6,2
11-14 ετών Θ	1306±480	1,1±0,4	0,6±0,4	0,7±0,2	0,5±0,2	545±65	6,7±4,1
11-14 ετών Α	1883±702	1,6±0,5	0,8±0,4	1,0±0,4	0,7±0,4	561±96	13,3±5,9

Σύμβολα:

PAI = Δείκτης προσκόλλησης αιμοπεταλίων

PAgI = Δείκτης συσσώρευσης αιμοπεταλίων

Δ PAI και Δ PAgI = Χρονικά εξαρτώμενη διαφορά (αύξηση) της αυθόρμητης προσκόλλησης και συσσώρευσης των αιμοπεταλίων μεταξύ της πρώτης και της δεύτερης ώρας μετά τη αιμοληψία

PF3 = Διαθεσιμότητα του αιμοπεταλιακού παράγοντα 3, I/II = Διαφορά μεταξύ της πρώτης εξέτασης και 30 min μετά την προσθήκη kaolin.

Σε αντίθεση με τις υπόλοιπες ομάδες, η ομάδα 4 παρουσίασε θετική συσχέτιση μεταξύ πλασινογόνου-συμπλήρωμα C και αύξηση της συσσώρευσης – προσκόλλησης των αιμοπεταλίων.

Αυτές ήταν οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνών – λιποειδών στο πλάσμα με τις λειτουργίες των αιμοπεταλίων όπως τις κατέγραψαν οι ερευνητές. Ενδιαφέρουσα είναι η παρατήρηση των ερευνητών ότι τα φωσφολιποειδή παίζουν ουσιαστικό ρόλο στο σχηματισμό θρομβοκινάσης (σύμπλεγμα ενζύμου – φωσφολιποειδούς στο στάδιο σχηματισμού της προθρομβίνης). Τα λιποειδή που απαιτούνται για την ανάπτυξη της θρομβοκινάσης στο αίμα προέρχονται απ' τα αιμοπετάλια. Έτσι, η σύσταση σε λιπαρά οξέα των φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων είναι μεγάλης σημασίας γιατί η πήξη ελέγχεται ή διεγείρεται από τα φωσφολιποειδή με μη συγκεκριμένο τρόπο.

Πίνακας 2.3
Ηλικιακά σχετιζόμενες στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις

α) Ομάδα 1 (2 – 6 ετών Α Θ)			
Θετική συσχέτιση			
Μεταξύ		καί	
α_2 – μακροανοσοσφαιρίνης		β – λιποπρωτεΐνης, προαλβουμίνης	
Σφιγγομυελίνης		β – λιποπρωτεΐνης, πλασμινογόνου	
Ινωδογόνου		«Απλωτές» - μορφές	
Ελευθέρων λιπαρών οξέων (FFA)		Λυσολεκθίνης, Δ PAI _{1,2} Δ PAGI _{1,2}	
β) Ομάδα 2 (7 –10 ετών Α Θ)			
Θετική συσχέτιση		Αρνητική συσχέτιση	
Μεταξύ	και	Μεταξύ	και
Δ PAI _{1,2}	Μεγάλων εξαπλωμένων μορφών	α_2 – μακροανοσοσφαιρίνης	Ολικής χοληστερόλης
		Ελεύθερης χοληστερόλης	Μεγάλων εξαπλωμένων μορφών
		Ολικής χοληστερόλης	Λεκθίνης
γ) Ομάδα 3 (11 – 14 ετών Α Θ)			
Θετική συσχέτιση		Αρνητική συσχέτιση	
Μεταξύ	και	Μεταξύ	και
β – λιποπρωτεΐνης	Μεγάλων εξαπλωμένων μορφών	IgM	α_1 – αντιθρυψίνης
Σερουλοπλασμίνη	Σφιγγομυελίνης, Ελεύθερα προσκολλη- μένα αιμοπετάλια	β - λιποπρωτεΐνης	«Απλωτές μορφές»
Προαλβουμίνης	PAGI		
Ινωδογόνου	Μεγάλων εξαπλωμένων μορφών		
Σφιγγομυελίνης	Διαθεσιμότητα PF3, Δ PAGI _{1,2}		
δ) Ομάδα 4 (11 – 14 ετών Α)			
Θετική συσχέτιση		Αρνητική συσχέτιση	
Μεταξύ	και	Μεταξύ	και
Πλασμινογόνου	PAI, PagI	α_1 - αντιθρυψίνης	Ελευθέρων λιπαρών οξέων (FFA)
Συμπλήρωμα C3	Μεγάλων εξαπλωμένων μορφών		

Στην επόμενη έρευνα διερευνάται η υπόθεση ότι τα αιμοπετάλια χάνουν την αιμοστατική τους ικανότητα κατά τη διάρκεια μικρής περιόδου αποθήκευσης, λόγω αλλαγών στη σύσταση των λιπιδίων τους. Πρόκειται για τη μελέτη των M.A Hamid, Th. J. Kunicki και R.H. Aster το 1978.

Αιμοπετάλια συλλέχθηκαν από αιμοδότες που δεν είχαν πάρει φάρμακα κατά τη διάρκεια των 7 ημερών του πειράματος. Τοποθετήθηκαν σε ACD (acid-citrate-dextrose) ή CPD (citrate-phosphate-dextrose) αντιπηκτικό. Συλλέχθηκε το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP) και το τελικό ενειώρημα των αιμοπεταλίων χωρίστηκε σε 3 μέρη: ένα για ανάλυση λιπιδίων και τα άλλα δύο για αποθήκευση 72 ωρών είτε στους 4° C είτε στους 20°C. Τα ολικά λιπιδιό των αιμοπεταλίων απομονώθηκαν σε τη μέθοδο του Folch et al. Τα κλάσματα των φωσφολιπιδίων διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία λεπτής

στιβάδας. Τα λιπαρά οξέα και οι διμεθυλικές ακετάλες των ολικών λιποειδών και φωσφολιποειδών μεθυλιώθηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο Way et al. Οι διμεθυλικές ακετάλες και οι μεθυλεστέρες ανιχνεύθηκαν με αέρια χρωματογραφία χρησιμοποιώντας ανιχνευτή ιονισμού φλόγας. Η πρωτεΐνη των αιμοπεταλίων προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Lowry.

Φρέσκα και αποθηκευμένα αιμοπετάλια δε διέφεραν σημαντικά στο περιεχόμενο πρωτεΐνης (πίνακας 3.1)

Πίνακας 3.1

Περιεχόμενο σε πρωτεΐνες φρέσκων και αποθηκευμένων συγκεντρώσεων αιμοπεταλίων

Συνθήκες Αποθήκευσης	ACD	ACD
	Αντιπηκτικό*	Αντιπηκτικό*
Φρέσκα	15,11±0,79	14,50±0,41
4° C, 72 ώρες	14,47±0,63	14,18±0,29
20° C, 72 ώρες	14,91±0,83	13,92±0,26

*Οι τιμές αντιπροσωπεύουν mg πρωτεΐνης/ 10¹⁰ αιμοπετάλια (μέση τιμή ± 1SE, n=6)

Η ανάλυση των ολικών λιποειδών, χοληστερόλης, φωσφολιποειδών και ελεύθερων λιπαρών οξέων φρέσκων και αποθηκευμένων αιμοπεταλίων παρουσιάζεται στον πίνακα 3.2.

Πίνακας 3.2

Περιεχόμενο σε λιποειδή φρέσκων και αποθηκευμένων συγκεντρώσεων αιμοπεταλίων

	Φρέσκα*	Αποθήκευση σε 4° C (1)		Αποθήκευση σε 20° C (1)	
		ACD	CPD	ACD	CPD
		Αντιπηκτικό	Αντιπηκτικό	Αντιπηκτικό	Αντιπηκτικό
Ολικά λιποειδή	5,06±0,20	94±7,4	94±4,3	91±1,6 (3)	92±6,0
Φωσφολιποειδή	3,49±0,18	97±8,3	89±7,0	89±2,6 (3)	93±6,8
Ολική χοληστερόλη	0,79±0,06	96±6,7	96±6,3	85±4,2 (3)	84±4,6 (3)
Ελεύθερα λιπαρά οξέα πλάσματος	0,46±0,03 (2)	101±3,6	138±2,4 (3)	182±5,3 (3)	261±16 (3)

* Τιμές σε mg/10¹⁰ αιμοπετάλια (μέση τιμή ± 1SE, n=12)

(1) Ποσοστό της τιμής που παρατηρήθηκε σε συγκεντρώσεις αιμοπεταλίων ανά ζεύγη (μέση τιμή ± 1 SD, n=6)

(2) Τιμές σε μεq/ml πλάσματος

(3) p<0,01 σχετικά με τις φρέσκες παρασκευασμένες συγκεντρώσεις αιμοπεταλίων

Όπως φαίνεται εκεί κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης στους 20°C τα αιμοπετάλια χάνουν περίπου το 15% του περιεχομένου τους σε ολική χοληστερόλη. Στο ACD αντιπηκτικό παρατηρήθηκε μια σημαντική απώλεια (12%) των ολικών φωσφολιποειδών και σημαντική μείωση στα ολικά λιποειδή και χοληστερόλη. Στους 4°C δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές σε κανένα αντιπηκτικό, εκτός από μια αύξηση στα ελεύθερα λιπαρά οξέα στο CPD. Η σταθερότητα της πρωτεΐνης των αιμοπεταλίων κατά τη

διάρκεια της αποθήκευσης δείχνει ότι η μείωση στο περιεχόμενο λιποειδών δεν οφείλεται σε θρυμματισμό της μεμβράνης αλλά σε επιλεγμένη απώλεια λιποειδικού υλικού.

Το περιεχόμενο φρέσκων και αποθηκευμένων αιμοπεταλίων σε φωσφολιποειδή δεν άλλαξε σημαντικά κάτω από τις τέσσερις συνθήκες αποθήκευσης (πίνακας 3.3).

Πίνακας 3.3

Περιεχόμενα φωσφολιποειδών σε φρέσκα και αποθηκευμένα αιμοπετάλια

Τμήμα	Φρέσκο	4°C, 72 ώρες	20°C, 72 ώρες
ACD αντιπηκτικό			
πρώτο διαλυτικό	0,8±0,22	0,6±0,14	0,5±0,15
PE	24,8±1,11	24,0±1,78	24,3±1,58
PS	10,5±0,79	11,7±0,60	10,3±0,90
PI	5,6±0,40	5,9±0,58	7,3±1,37
PC	39,2±2,14	37,3±2,31	34,9±2,99
SP	17,8±0,66	17,1±0,98	20,2±1,27
LL	0,9±0,28	1,0±0,55	1,0±0,51
CPD Αντιπηκτικό			
πρώτο διαλυτικό	0,9±0,06	0,9±0,10	1,0±0,24
PE	26,9±0,95	26,6±0,85	26,7±0,56
PS	9,8±0,34	9,0±0,50	9,7±0,59
PI	4,4±0,85	5,3±0,64	5,1±0,6
PC	38,7±1,05	38,7±0,99	38,2±0,63
SP	18,5±0,59	18,8±0,72	19,0±0,54
LL	0,5±0,10	0,5±0,07	0,6±0,18

Το ίδιο ισχύει και για το περιεχόμενο των ολικών λιποειδών και φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων σε λιπαρά οξέα (πίνακας 3.4) αλλά και για το περιεχόμενο των εξατομικευμένων φωσφολιποειδών σε λιπαρά οξέα (πίνακας 3.5 και 3.6).

Πίνακας 3.4

Περιεχόμενο λιπαρών οξέων στα ολικά λιποειδή και στα ολικά φωσφολιποειδή σε φρέσκες συγκεντρώσεις αιμοπεταλίων: Ποσοστό των ολικών λιπαρών οξέων

	Ολικά Λιποειδή		Ολικά φωσφολιποειδή	
	ACD αντιπηκτικό	CPD αντιπηκτικό	ACD αντιπηκτικό	CPD αντιπηκτικό
14:0 DMA	1,4±0,69	1,3 ± 0,29	0,3 ± 0,11	0,3 ± 0,17
14:0	0,7±0,21	0,6 ± 0,14	0,3 ± 0,25	0,3 ± 0,18
16:0 DMA	2,2±0,39	1,3 ± 0,16	1,4 ± 0,28	1,9 ± 0,74
16:0	17,3±2,18	15,3 ± 1,41	19,8 ± 3,79	16,1 ± 1,0
16:1	1,5±0,15	1,3 ± 0,16	1,5 ± 0,56	1,2 ± 0,35
18:DMA	2,7±0,30	2,0 ± 0,36	2,8 ± 0,41	2,0 ± 0,72
18:0; 18:1 DMA	16,0±0,49	16,2 ± 1,25	18,3 ± 1,46	20,3 ± 2,15
18:1	14,2±0,33	16,3 ± 2,29	17,2 ± 1,32	17,8 ± 0,27
18:2	4,7±0,20	6,2 ± 0,39	5,1 ± 0,62	5,8 ± 0,67
20:0	1,6±0,16	1,5 ± 0,25	1,6 ± 0,21	1,2 ± 0,17
18:3; 20:1	0,9±0,21	1,3 ± 0,23	0,8 ± 0,17	0,9 ± 0,12
21:0; 20:2	0,7±0,43	0,4 ± 0,28	1,5 ± 0,17	1,4 ± 0,23
20:3; 22:0	3,0±0,87	2,2 ± 0,70	0,9 ± 0,13	0,9 ± 0,25
20:4; 22:1	21,1±0,46	21,5 ± 0,66	24,6 ± 2,14	23,7 ± 1,53
24:0	1,4±0,37	1,5 ± 0,28	1,7 ± 0,49	1,4 ± 0,24
24:1	3,6±0,38	2,9 ± 0,45	2,0 ± 0,71	1,6 ± 0,81
26:0	1,7±0,40	1,6 ± 0,18	0,8 ± 0,27	0,7 ± 0,58

* Μέσος ± ISE, n=6. Μαζί με τα παραπάνω, τα ακόλουθα λιπαρά οξέα ανιχνεύθηκαν σε ίχνη: 12:0, 15:0, 17:0 DMA, 17:0, 22:0 άγνωστο, 22:0 ή 20:5 και 22:5

Πίνακας 3.5

Περιεχόμενο σε λιπαρά οξέα των φωσφολιπιδίων που βρίσκονται σε συγκεντρώσεις φρέσκων αιμοπεταλίων παρασκευασθέντων από CPD αίμα: Ποσοστό των ολικών λιπαρών οξέων

	PE (1)	PS (1)	PC (!)	SPM (1)
16:0 DMA	7,8 ± 1,1	1,5 ± 0,9	±	±
16:0	7,4 ± 1,0	13,0 ± 4,8	28,0 ± 1,6	32,9 ± 1,5
16:1	0,8 ± 0,2	1,6 ± 0,9	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,07
17:0	0,5 ± 0,5	1,2 ± 1,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,07
18:0 DMA	8,5 ± 2,4	1,5 ± 0,9		
18:0; 18:1 DMA	17,8 ± 2,7	30,7 ± 8,5	14,0 ± 2,3	10,5 ± 0,3
18:1	7,9 ± 0,5	14,7 ± 1,5	25,5 ± 1,7	2,5 ± 0,2
18:2	5,4 ± 1,6	10,0 ± 0,2	10,0 ± 0,2	1,5 ± 0,2
18:3; 20:1	2,0 ± 0,2	2,1 ± 0,9	1,1 ± 0,2	±
20:0	2,0 ± 0,7	2,7 ± 0,7	1,6 ± 0,3	5,1 ± 0,8
20:2; 21:0	1,1 ± 0,3		0,5 ± 0,03	1,1 ± 0,1
20:3; 22:0	0,3 ± 0,1	3,1 ± 1,43	1,7 ± 0,5	24,5 ± 1,3
20:4; 22:1	28,2 ± 3,5	21,7 ± 3,0	16,2 ± 1,5	
22:2; 20:5	0,7 ± 0,4			
22:4	2,2 ± 0,4			
22: άγνωστο	1,9 ± 0,8			
22:5	1,3 ± 0,3			
22:6	2,7 ± 0,6			
23:0				3,2 ± 0,3
24:0				5,9 ± 0,7
24:1	1,0 ± 0,6			12,6 ± 1,1

(1) Μέση τιμή ± 1SE, n=6

Πίνακας 3.6

Περιεχόμενο λιπαρών οξέων του φωσφατιδυλινωσίου σε φρέσκες και αποθηκευμένες συγκεντρώσεις αιμοπεταλίων (CPD αντιπηκτικό)

Λιπαρά οξέα	Φρέσκα*	4°C, 72 ώρες*	20°C, 72 ώρες*
16:0	2,6 ± 0,6	2,6 ± 0,9	2,4 ± 0,4
16:1	0,7 ± 0,1	1,1 ± 0,9	0,8 ± 0,1
17:0	1,0 ± 0,3	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,4
18:0	28,3 ± 0,3	28,1 ± 0,3	28,0 ± 3,9
18:1	7,8 ± 0,7	10,2 ± 0,3(1)	10,6 ± 0,7(1)
18:2	12,7 ± 0,2	8,6 ± 1,4(1)	6,5 ± 1,7(1)
18:3; 20:1	1,2 ± 0,2	3,5 ± 2,3	1,3 ± 0,2
20:0	1,0 ± 0,2	1,5 ± 0,4	0,8 ± 0,1
20:3; 22:0	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,7 ± 0,1
20:4; 22:1	45,4 ± 1,0	45,1 ± 2,5	45,5 ± 2,2

* Μέση τιμή ± SE, n=6

(1) p<0,025 συγκρινόμενα με τις φρέσκες συγκεντρώσεις

Τα ευρήματα της έρευνας δεν αποδεικνύουν ότι αλλαγές στη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων αιτιολογούν:

- την απώλεια της συσώρευσης που παρατηρήθηκε in vitro
- την πιθανή απώλεια της ικανότητας των αποθηκευμένων αιμοπεταλίων στους 20°C να λειτουργήσουν φυσιολογικά στην αιμόσταση αμέσως μετά τη διάχυση ή

- τη μικρότερη διάρκεια ζωής των αιμοπεταλίων που αποθηκεύονται σε συνθήκες ψύξης (4°C)

Ωστόσο η έρευνα αυτή δεν αποκλείει την πιθανότητα ότι οι αλλαγές στη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων είναι υπεύθυνες για τη γένεση της βλάβης των αποθηκευμένων αιμοπεταλίων.

Η επόμενη έρευνα, των S.I. Skarlatos, L.M. Amende, F.-F. Chao, E.J. Blanchette – Mackie, W. Gamble και H.S. Kruth το 1988, ασχολήθηκε με το βιοχημικό χαρακτηρισμό μικροσωματιδίων χοληστερόλης – φωσφολιποειδών που απελευθερώνεται από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια ανθρώπων και αρουραίων.

Πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια αποκτήθηκε από υγιείς δότες. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων για το χαρακτηρισμό της απελευθερούμενης χοληστερόλης έγινε με προσθήκη των αγωνιστών θρομβίνη, κολλαγόνο, A 23187 και ADP. Για το χαρακτηρισμό των απελευθερούμενων μικροσωματιδίων λιποειδών προστέθηκε ο αγωνιστής θρομβίνη. Τα μικροσωματίδια χοληστερόλης – φωσφολιποειδών απομονώθηκαν από τα υπερκείμενα απελευθερούμενα μικροσωματίδια αιμοπεταλίων με φυγοκέντρηση, microfiltration και gel filtration chromatography. Στα κλάσματα της gel filtration έγιναν οι παρακάτω υπολογισμοί

- η πρωτεΐνη με Bio-Rad microassay
- τα ολικά λιποειδή με τη μέθοδο Folch et al.
- η ολική χοληστερόλη με τη μέθοδο φθορισμού του Gamble et al.
- Ο ολικός φώσφορος φωσφολιποειδών, φασματοφωτομετρικώς, με τη μέθοδο Chalvardjian και Rudnick
- τα τριγλυκερίδια με τη διαδικασία Chernick

Η εξακρίβωση του είδους της πρωτεΐνης έγινε με ηλεκτροφόρηση και η απεικόνιση των απελευθερούμενων μικροσωματιδίων με ηλεκτρονική μικροσκοπική ανάλυση. Παρόμοιες διαδικασίες ακολουθήθηκαν και για τα αιμοπετάλια αρουραίων.

Τα ανθρώπινα αιμοπετάλια που ενεργοποιήθηκαν με θρομβίνη απελευθέρωσαν $28,1 \pm 2,3$ nmoles χοληστερόλης και αυτά των ποντικών $29,0 \pm 2,8$ nmoles χοληστερόλης ανά 10^9 αιμοπετάλια. Αυτό αντιπροσωπεύει το 16 και 28% του αιμοπεταλιακού περιεχομένου σε χοληστερόλη αντίστοιχα. Απουσία θρομβίνης παρατηρήθηκε κάποια αυθόρμητη αλλά μικρότερη απελευθέρωση χοληστερόλης.

Το 50% της μέγιστης απελευθέρωσης χοληστερόλης στα ανθρώπινα αιμοπετάλια πραγματοποιήθηκε σε 30 λεπτά ενώ το ίδιο ποσοστό απελευθερώθηκε σε 60 λεπτά στους αρουραίους.

Το ιονοφόρο Ca^{+2} A23187 ήταν το ίδιο αποτελεσματικό με τη θρομβίνη στην απελευθέρωση χοληστερόλης. Αντίθετα το κολλαγόνο ήταν λιγότερο αποτελεσματικό και το ADP καθόλου αποτελεσματικό.

Μολονότι η θρομβίνη παρήγαγε την απελευθέρωση γαλακτικής αφυδρογονάσης (συστατικό του κυτοπλάσματος), δεν φάνηκε ότι η απελευθέρωση της χοληστερόλης προέκυψε από λύση των κυττάρων. Όμως, ενώ η κολχικίνη αναστέλλει την απελευθέρωση της χοληστερόλης, τελικά μείωσε ελαφρώς την απελευθέρωση γαλακτικής αφυδρογονάσης.

Η χημική ανάλυση των απελευθερούμενων μικροσωματιδίων στους αρουραίους έδειξε ότι αποτελούνται κατά 10% από χοληστερόλη, 34% από φωσφολιποειδή και 57% από πρωτεΐνη (τα τριγλυκερίδια δεν διευκρινήθηκαν). Η αναλογία χοληστερόλη προς φωσφολιποειδή ήταν 0,6. Τα τμήματα που απελευθερώθηκαν από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια αρουραίων που ήταν σε δίαιτα υψηλής χοληστερόλης για 4 εβδομάδες περιείχαν διπλάσια ποσότητα χοληστερόλης και ίδια ποσότητα φωσφολιποειδών (πίνακας 4.1).

Πίνακας 4.1

Σύνθεση των τμημάτων λιπιδίων των αιμοπεταλίων^a

Περιεχόμενα	Άνθρωπος (N=8) ^b	Αρουραίοι (N=2) βάρος %	Αρουραίοι υπό δίαιτα χοληστερόλης (N=1)
Χοληστερόλη	8 ± 0,9 ^c	10 (11, 8.6) ^d	16
Φωσφολιποειδή	32 ± 3,1	34 (32, 35.4)	34
Τριγλυκερίδια	3 ± 0,7	ND ^e	5
Πρωτεΐνη	57 ± 2,7	57 (56, 57)	45
C/P μοριακός δείκτης	0,57 ± 0,04	0.61 (0.51, 0.71)	1.0

a. Τα υπερκείμενα αιμοπετάλια που ελευθερώθηκαν μετά από διατήρηση δύο ωρών με θρομβίνη υφίσταντο gel filtration χρωματογραφία. Τα κλάσματα των τμημάτων των λιπιδίων αναλύθηκαν για περιεχόμενο χοληστερόλης, φωσφολιποειδών, τριγλυκεριδίων, πρωτεΐνης. Οι τιμές τους προστέθηκαν για να εξακριβωθεί το % βάρους κάθε συστατικού σε κάθε πείραμα. Στον πίνακα δίνονται οι μέσοι των % βάρους.

b. Αριθμός των πειραμάτων. Αιμοπετάλια από 10 ζώα χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα αρουραίων.

Αιμοπετάλια από ένα άτομο χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ανθρώπων.

c. Μέσος ± SEM

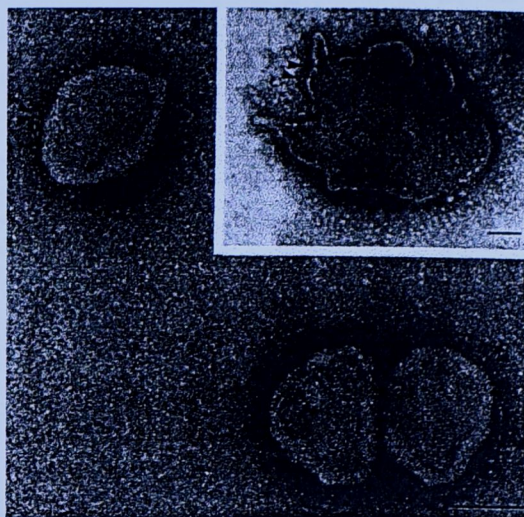
d. Οι τιμές που βρέθηκαν σε κάθε πείραμα περιλαμβάνονται στην παρένθεση.

e. Δεν διευκρινίστηκε.

Η αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή ήταν 1,0. Έρευνες στο παρελθόν έδειξαν ότι η αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων ατόμων με υπερχοληστερολαιμία είναι αυξημένη μόνο στο τμήμα της μεμβράνης τους. Έτσι μπορεί να υποθέσει κανείς ότι η αυξημένη αναλογία χοληστερόλης/φωσφολιποειδών, στα αιμοπετάλια αρουραίων που ακολούθησαν δίαιτα υψηλή σε χοληστερόλη, δείχνει ότι τα απελευθερούμενα μικροσωματίδια μπορεί να προέρχονται από τη μεμβράνη. Ωστόσο οι

Shick και Shick διατυπώνουν την άποψη ότι το περιεχόμενο χοληστερόλης και η τοποθέτησή της στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων διαμορφώνεται κατά τη διάρκεια σχηματισμού των μεμβρανών στα μεγακαρυοκύτταρα και δεν προέρχεται από ανταλλαγή με το περιεχόμενό της στο πλάσμα. Τα τμήματα που απελευθερώθηκαν από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια ανθρώπων αποτελούνται κατά 8% από χοληστερόλη, 32% από φωσφολιποειδή, 3% από τριγλυκερίδια και 57% από πρωτεΐνη.

Στο Σχήμα 4.1 φαίνεται η ηλεκτρονική μικρογραφία των απελευθερούμενων μικροσωματιδίων. Στο κέντρο φαίνονται τα μικροσωματίδια που δεν ενεργοποιήθηκαν από θρομβίνη και είναι σφαιρικά. Αντίθετα πιο ακαθόριστο σχήμα έχουν τα ενεργοποιημένα μικροσωματίδια (πάνω δεξιά).



Σχήμα 4.1

Τα μικροσωματίδια χοληστερόλης-φωσφολιποειδών που απελευθερώνονται από τα αιμοπετάλια μπορεί να παίζουν κάποιο ρόλο στη συγκέντρωση λιποειδών ανάμεσα στα κύτταρα που σχηματίζουν θρόμβο. Ο θρόμβος αυτός μπορεί να αυξήσει την de novo αθηρωματική βλάβη ή να ενσωματωθεί σε προϋπάρχουσες βλάβες. Περισσότερη έρευνα της λειτουργίας των μικροσωματιδίων αυτών μπορεί να ξεκαθαρίσει το ρόλο τους στην πήξη και την αθηροσκλήρωση.

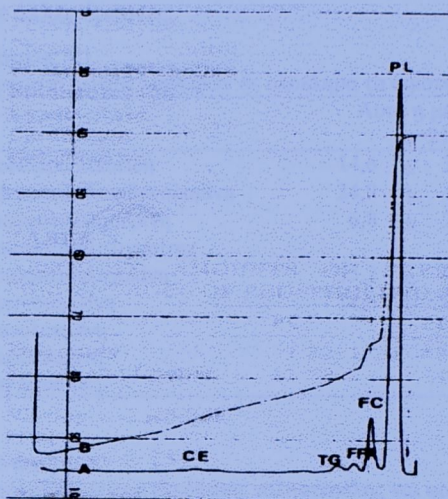
Έχοντας υπόψη τις παρακάτω παραμέτρους, θα μελετηθεί η σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε υγιή άτομα και η επίδραση της διατροφής στη σύσταση αυτή.

Στην πρώτη έρευνα των K. Hiramatsu, H. Nozaki και Sh. Arimori το 1980 αναλύθηκε το περιεχόμενο των αιμοπεταλίων σε λιποειδή με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) και ανίχνευση ιονισμού φλόγας (FID).

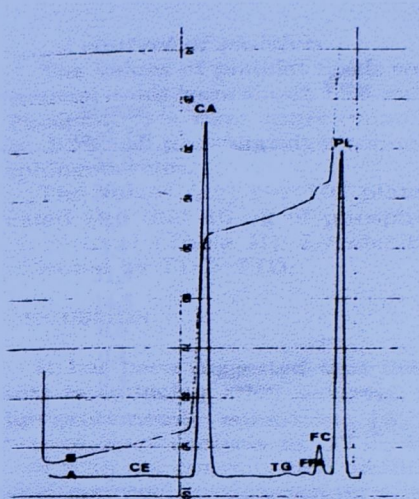
Το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια αποκτήθηκε από 21 υγιείς ενήλικες (8 γυναίκες και 13 άντρες). Η μέση ηλικία, η χοληστερόλη και τα φωσφολιποειδή ορού ήταν 25, 162 mg/dl και 169 mg/dl αντίστοιχα. Ουδέτερα λιποειδή (εστέρες χοληστερόλης, οξικός εστέρας χοληστερόλης, ελεύθερη χοληστερόλη, τριγλυκερίδια) και ολικά φωσφολιποειδή αναπτύχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) και

προσδιορίστηκαν με ανίχνευση ιονισμού φλόγας (FID). Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για τα κλάσματα των φωσφολιποειδών.

Ουδέτερα λιποειδή (εστέρας χοληστερόλης, ελεύθερη χοληστερόλη, ελεύθερα

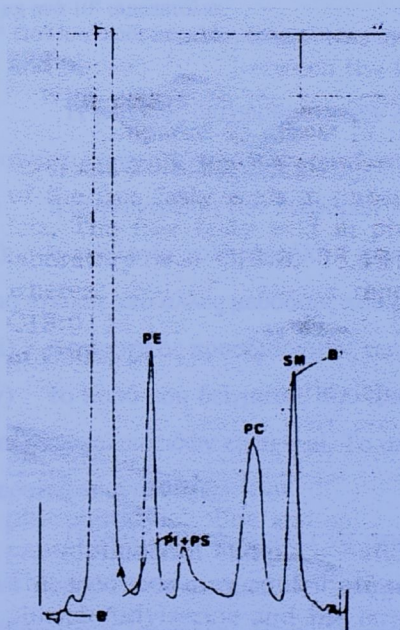


Σχήμα 5.1



Σχήμα 5.2

λιπαρά οξέα, τριγλυκερίδια) και ολικά φωσφολιποειδή ανιχνεύθηκαν με την TLC-FID (σχήμα 5.1). Η ίδια ανάλυση δεν διέφερε όταν προστέθηκε οξικός εστέρας χοληστερόλης (ως εσωτερικό standard) (σχήμα 5.2).



Σχήμα 5.3

Τα κλάσματα των φωσφολιποειδών εμφανίστηκαν σε 4 κορυφές που αντιστοιχούν στη φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη, φωσφατιδυλονοσίτη και φωσφατιδυλοσερίνη, φωσφατιδυλοχολίνη και σφιγγομυελίνη (σχήμα 5.3). Η φωσφατιδυλοχολίνη και η φωσφατιδυλοσερίνη δεν διαχωρίστηκαν ξεκάθαρα σε δύο κορυφές με τη μέθοδο TLC-FID.

Οι συγκεντρώσεις των λιποειδών των αιμοπεταλίων υπολογίστηκαν ως ποσοστά βάρους (πίνακας 5.1). Τα ουδέτερα λιποειδή κατείχαν το 15% των ολικών λιποειδών και κύριο συστατικό του ήταν η χοληστερόλη. Τα φωσφολιποειδή αντιστοιχούν αντιστοιχούν στο 80% των ολικών λιποειδών, από τα οποία το

20% ήταν φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη και σφριγγομυελίνη και το 35% φωσφατιδυλοχολίνη. Η λυσολεκθίνη, καρδιολπίνη και γαγγλιοζίτες δεν μπόρεσαν να ανιχνευθούν από την TLC-FID. Στον πίνακα 5.2 φαίνονται οι τιμές φωσφολιποειδών και χοληστερόλης σε μg ανά 10⁸ αιμοπετάλια και τα ποσοστά των κλασμάτων των φωσφολιποειδών σε σύγκριση με άλλες έρευνες.

Πίνακας 5.1

Ποσοστό ολικών λιποειδών σε ολόκληρα τα αιμοπετάλια

	Αυτή η μελέτη (n=21)	Marcus et al. [5]
Ουδέτερα λιποειδή	14,6 ± 3,6	21,0
Φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη	24,9 ± 4,5	20,0
Φωσφατιδυλοσερίνη	6,8 ± 3,4	8,0
Φωσφατιδυλολινωσίτης		3,4
Φωσφατιδυλοχολίνη	35,2 ± 3,1	31,4
Σφριγγομυελίνη	18,6 ± 2,6	14,5
Λυσολεκθίνη		0,6
Καρδιολπίνη		0,4
Γαγγλιοσίδες		0,5

Πίνακας 5.2

Απόλυτα νούμερα ελεύθερης χοληστερόλης και φωσφολιποειδών και ποσοστά των κλασμάτων των φωσφολιποειδών

	FC*	PL*	PE**	PI+PS**	PC**	SM**
Αυτή η μελέτη	7,32±1,10	46,06±8,36	29,6±4,9	7,8±3,9	41,1±3,9	22,1±2,8
Shattil & Cooper [7]	11,22	34,44				
Nordoy & Rodset [10]		23,62	31,6	10,1	44,7	13,5
Marcus et al. [5]			27,0	15,1	38,4	17,0

* μg ανά 10⁸ αιμοπετάλια

** Ποσοστό κάθε υποκλάσματος των φωσφολιποειδών

Η μέθοδος διαχωρισμού των λιποειδών με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) φαίνεται να έχει κάποια πλεονεκτήματα:

- η συγκέντρωση των διαφόρων λιποειδών διευκρινίζεται με μια μόνο διαδικασία
- η αναλογία χοληστερόλη / φωσφολιποειδή που βρίσκεται με αυτή τη μέθοδο είναι πιο έγκυρη από άλλες μεθόδους που βρίσκουν τα συστατικά αυτά ξεχωριστά.
- ο ποσοτικός προσδιορισμός των κλασμάτων των φωσφολιποειδών είναι εφικτός.
- το ποσό του δείγματος που απαιτείται για τον προσδιορισμό ουδέτερων λιποειδών και φωσφολιποειδών είναι 6 μl. Το υπόλοιπο του δείγματος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για περαιτέρω αναλύσεις.

Παρόλα αυτά, πρέπει να επισημάνουμε ότι η μέθοδος TLC είναι παλιά και έχει ένα σοβαρό μειονέκτημα: δεν επιτρέπει τον ικανοποιητικό διαχωρισμό των διαφόρων τάξεων των λιποειδών. Είναι, λοιπόν, λογικό να θεωρηθούν πιο έγκυρες οι έρευνες που έγιναν με σύγχρονες μεθόδους όπως – καταλήγοντας στην καλύτερη – η αέρια

χρωματογραφία, η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και η φασματοφωτομετρία μάζας.

Όπως για παράδειγμα η επόμενη έρευνα των F.A. Yedoah, R.K. Adosraku, A. Nikolaou και W.A Gibbons το 1995. Σ' αυτή την έρευνα αναλύθηκαν τα λιποειδή των αιμοπεταλίων με συνδυασμό της τεχνικής του μαγνητικού πυρηνικού συντονισμού (proton-nuclear-magnetic resonance ή NMR) και υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC).

Έτσι αίμα συλλέχθηκε από υγιείς δότες και φυγοκεντρήθηκε ώστε να παραληφθεί το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια. Τα λιποειδή εκχυλίστηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο των Bligh και Dyer και πλύθηκαν με KCl σε μεθανόλη, διηθήθηκαν, εξατμίστηκε ο διαλύτης σε ρεύμα αζώτου και μεταφέρθηκαν τα λιποειδή σε σωλήνες NMR. Εκτός από την ανάλυση NMR έγινε και συνδυασμός αυτής με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης για το διαχωρισμό των διαφόρων τάξεων των λιποειδών.

Τα αποτελέσματα της NMR ανάλυσης παρουσιάζονται στους πίνακες 6.1, 6.2 και 6.3.

Πίνακας 6.1

Ανάλυση με μαγνητικό συντονισμό των ολικών λιποειδών που αποσπάστηκαν από την μεμβράνη των ανθρώπινων αιμοπεταλίων (ταυτότητα λιποειδών)

Ταυτότητα Λιπιδίου	Χημική στροφή (ppm)	Integral area	Σύνθεση (mol% ± SD)
Χοληστερόλη	0•68	0•450	34•80±3•0
Ολική φωσφοχολίνη	3•20	0•353	28•21±2•3
Ολικά PE	3•10	0•255	19•50±0•9
Φωσφοσερίνη	3•75	0•110	6•92±1•5
Μή κορεσμένα SL	5•70	0•160	12•90±0•8
Plasmalogen	5•90	0•160	-----
Τριγλυκερίδια	4•32/4•15	-----	

ppm = μέρη ανά εκατομύριο; SD = στατιστική απόκλιση;

PE = φωσφοαθανολαμίνη; SL = σφιγγολιποειδή

Πίνακας 6.2

Ανάλυση με μαγνητικό συντονισμό των ολικών λιποειδών που αποσπάστηκαν από την μεμβράνη των ανθρώπινων αιμοπεταλίων (λιπώδης αλυσίδα)

Λιπώδης αλυσίδα	Χημική στροφή (ppm)	Ολική αλυσίδα (%)
Ολική αλυσίδα	0•86, 0•95	100
Ολικά ακόρεστα	2•02	39•8
Ολικά κορεσμένα	-----	60•2
Λινολεϊκό (C:2)*	2•75	5•3±0•38
AA* (C:4)	1•70	12•0±2•7
DOC (C:6)	2•40	2•8±0•5
Μονοακόρεστα	-----	19•70

*C:n υποδηλώνει λιπώδεις αλυσίδες με n διπλούς δεσμούς

Το σήμα στο 1•70 ppm μπορεί επίσης να περιέχει το εικοσαπεντανοϊκό οξύ με παρόμοια δομή (-CH₂ CH₂ CH₂COO)

ppm = μέρη ανά εκατομύριο; AA = αραχιδοναϊκό οξύ;

DOC = δοκοσαεξανοϊκό οξύ

Πίνακας 6.3

Σύνθεση σε φωσφολιποειδή των μεμβρανών των αιμοπεταλίων

Τάξη φωσφολιπιδίων	NMR προσδοκώμενο (mol %)	TLC προσδοκώμενο (%)
Φωσφατιδυλοχολίνη	43.3 ± 3.0	41.3 ± 1.1
PE	29.7 ± 1.8	28.1 ± 0.6
Φωσφατιδυλοσερίνη	10.5 ± 2.0	11.0 ± 0.5
Σφιγγομυελίνη	19.4 ± 2.4	18.0 ± 0.7
Ολική ανάκτηση	102.9 ± 2.3	98.0 ± 3.8

NMR = μαγνητικός πυρηνικός συντονισμός; TLC = χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας;

PE = φωσφατιδυλαιθανολαμίνη

Όπως φαίνεται η φωσφατιδυλοσερίνη κατέχει τη μικρότερη αναλογία των ολικών λιποειδών (6,92%) και φωσφολιποειδών (10,5%) ενώ η φωσφατιδυλοχολίνη τη μεγαλύτερη (28,21% και 43,3% αντίστοιχα). Ο φωσφατιδυλοϊνositής, η φωσφατιδυλογλυκερόλη και το φωσφατιδικό οξύ δεν ανιχνεύθηκαν από το NMR. Η χοληστερόλη ήταν το κύριο στεροειδές που ανιχνεύθηκε. Η αναλογία χοληστερόλη / φωσφολιποειδή ήταν 0.53. Εστέρες χοληστερόλης, δι- και τριγλυκερίδια δεν ανιχνεύθηκαν από το NMR. Η αναλογία κορεσμένα / ακόρεστα λιπαρά οξέα ήταν 2,3.

Σύμφωνα με την NMR ανάλυση των φωσφολιποειδών χολίνης στα κλάσματα της HPLC, μόνο φωσφοχολίνες συζευγμένες με διγλυκερίδια ήταν παρούσες. Η φωσφατιδυλοχολίνη αποτελεί το $28,21 \pm 2,3\%$ των ολικών λιποειδών και το $43,3 \pm 3,0$ των φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων (πίνακας 6.1 και 6.3). Η ολική ανάλυση παρουσίασε χαμηλά ποσά πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στη φωσφατιδυλοχολίνη και συγκεκριμένα υψηλότερο ποσοστό λινελαϊκού σε σχέση με το αραχιδονικό. Η ολική ακορεστότητα υπολογίστηκε γύρω στο 51,2% των λιπαρών οξέων (πίνακας 6.4). Η αναλογία χοληστερόλη / φωσφατιδυλοχολίνη ήταν 0,53.

Τα φωσφολιποειδή αιθανολαμίνης που ανιχνεύθηκαν στην NMR ανάλυση των κλασμάτων της HPLC ήταν παρόντα σε μορφή διακύλ- (38,8%) και αιθέρα (61,2%). Ο τύπος του αιθέρα διαχωρίστηκε σε κλάσματα πλασμενυλο- (90%) και αλκυλακύλ- (10%) λιποειδών. Τα φωσφολιποειδή αιθανολαμίνης αποτελούσαν το $19,5 \pm 0,9\%$ των ολικών λιποειδών και το $29,7\% \pm 1,8\%$ των ολικών φωσφολιποειδών (πίνακας 6.1 και 6.3). Το ποσοστό της ακορεστότητας ήταν διπλάσιο από αυτό της φωσφατιδυλοχολίνης. Το επίπεδο του αραχιδονικού οξέος στη φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη ήταν τριπλάσιο απ' αυτό της φωσφατιδυλοχολίνης, καθιστώντας την πλουσιότερη πηγή αραχιδονικού οξέος (πίνακας 6.4).

Η σφιγγομυελίνη που ανιχνεύθηκε στην ανάλυση NMR των κλασμάτων της HPLC αποτελούσε το $12,9 \pm 2,4\%$ των φωσφολιποειδών (πίνακες 6.1 και 6.3). Παρουσιάστηκαν

δύο τύποι σφιγγομυελίνης: η σφιγγενίνη και η σφιγγανίνη. Η σφιγγομυελίνη όμως που ήταν παρούσα στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων βρισκόταν κυρίως στη μορφή σφιγγενίνης.

Πίνακας 6.4

Σύσταση σε λιπαρά οξέα των φωσφολιποειδών της χολίνης και της αιθανολαμίνης της μεμβράνης των αιμοπεταλίων από ανάλυση με μαγνητικό πυρηνικό συντονισμό

Λιπώδης αλυσίδα	Χημική στροφή (ppm)	Ολικές αλυσίδες %	
		Χολίνη	Αιθανολαμίνη
Ολικές αλυσίδες	0.86	100	100
Ολικές ακόρεστες	2.02	51.20	57.6
Ολικές κορεσμένες	-----	48.80	42.40
Λινολεϊκό (C:2)	2.75	12.10	3.03
Αραχιδονικό (C:4)	1.70	9.18	29.81
Εξανοϊκό οξύ (C:6)	2.40	3.53	3.82
x – λινολεϊκό (C:3)	0.96	11.95	
Λινολεϊκό (C:3)	0.95		9.60
μονο-κορεσμένα	-----	14.44	
μονοακόρεστα	-----		11.35

Σε γενικές γραμμές η μέθοδος NMR (μαγνητικού πυρηνικού συντονισμού) αποδείχτηκε γρήγορη, κατανοητή και το ίδιο ακριβής όπως μια χρωματογραφική ανάλυση. Επίσης παρείχε πληροφορίες για τη σύσταση σε λιπαρά οξέα των άθικτων, μη υδρολυμένων λιποειδών.

Η επόμενη έρευνα των R. García-Guerra, J.A García-Domínguez και J. González-Rodríguez το 1996 διαφέρει από τις δυο προηγούμενες. Εδώ ερευνήθηκε η σύσταση σε λιποειδή της μεμβράνης των ανθρώπινων αιμοπεταλίων πλάσματος [Human platelet plasma membrane (HPPM)] και συσχετίστηκε με το περιεχόμενο της κύριας πρωτεΐνης μεμβράνης, της γλυκοπρωτεΐνης IIb/IIIa (GP IIb/IIIa).

Στην έρευνα αυτή χρησιμοποιήθηκαν δύο πηγές αιμοπεταλίων στα οποία έγινε η ίδια επεξεργασία.. Από τράπεζα αίματος, συγκεντρώσεις αιμοπεταλίων και πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια παραλήφθηκαν από 14 υγιείς εθελοντές και των δύο φύλων, ηλικίας 24-60 ετών. Τα πλυμένα αιμοπετάλια υφίσταντο υπο-οσμωτική λύση μετά από ενδοκυτταρική φόρτιση με γλυκερόλη. Μετά από φυγοκέντρηση, τέσσερα κλάσματα (F I, F II, F III και F IV) αποκτήθηκαν στις κορυφές του 30, 40, 45 και 50% στρωμάτων γλυκόζης. Τα λιποειδή εκχυλίσθηκαν με τη διαδικασία Bligh Dyer. Σε αυτά εφαρμόστηκε χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) για να διαχωρισθούν τα κλάσματα φωσφολιποειδών. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και τα ουδέτερα λιποειδή καθώς και η κατανομή των λιπαρών οξέων σε κάθε κλάσμα διαχωρίστηκαν με αέρια χρωματογραφία μετά από υδρόλυση. Ακολούθησε φασματοφωτομετρία μάζας για τον τελικό προσδιορισμό των ολικών λιποειδών που εκχυλίστηκαν. Τα ξηρά βάρη των HPPM, των

Πίνακας 7.1

Σύνθεση σε λιποειδή των κλασμάτων FI και FII των ανθρωπίνων αιμοπεταλίων υγιών ατόμων

	FI + FII		FI ^b		FII ^b
% Πρωτεΐνη ^c		12,3 ± 1,7	6,2 ± 0,8	6,5 ± 1,0	
Ph/πρωτεΐνη (mg/mg)		0,59 ± 0,07	0,62 ± 0,07	0,58 ± 0,04	
Ch/πρωτεΐνη (mg/mg)		0,19 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,18 ± 0,02	
Ch/Ph (mol/mol)		0,64 ± 0,04	0,63 ± 0,04	0,64 ± 0,04	
Λιπαρά οξέα	nmol/μmol P ^d	Μοριακό %	Βάρους %	Βάρους%	Βάρους%
14:0	7,0 ± 2,1	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
15:0	3,1 ± 0,7	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
16:0 ALD	11,7 ± 1,7	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1
16:0 DMA	41,2 ± 3,0	2,3 ± 0,2	2,1 ± 0,2	2,0 ± 0,2	2,0 ± 0,2
16:0	323,5 ± 18,3	17,8 ± 0,8	15,7 ± 0,7	15,9 ± 0,4	15,7 ± 0,7
16:1 (n-9)	8,2 ± 2,6	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2
16:1 (n-7)	5,8 ± 3,2	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1
iso 17:0	2,0 ± 0,9	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
antiiso 17:0	3,3 ± 1,7	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
17:0 DMA	2,1 ± 1,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
17:0	6,9 ± 1,2	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1
18:0 ALD	17,6 ± 2,0	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1
18:1 ALD	3,9 ± 1,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
18:0 DMA	58,3 ± 4,6	3,2 ± 0,3	3,3 ± 0,3	3,2 ± 0,3	3,3 ± 0,3
18:1 DMA	8,7 ± 2,4	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
18:0	345,4 ± 19,9	19,0 ± 1,1	18,6 ± 0,9	18,4 ± 0,7	18,7 ± 0,9
18:1 (n-9)	246,4 ± 20,3	13,5 ± 1,1	13,0 ± 0,8	13,3 ± 0,7	13,4 ± 0,9
18:1 (n-7)	22,6 ± 2,8	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1
18:2 (n-6)	78,7 ± 13,9	4,3 ± 0,8	4,3 ± 0,7	4,2 ± 0,7	4,1 ± 0,7
19:0	2,1 ± 0,9	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
20:0 DMA	6,9 ± 2,0	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1
20:0	28,8 ± 2,4	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,1
20:1 (n-9)	14,0 ± 3,3	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,2
20:2 (n-6)	5,4 ± 1,6	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
20:3 (n-6)	18,4 ± 2,5	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1
20:4 (n-6)	323,6 ± 15,7	17,8 ± 0,5	18,5 ± 0,6	18,2 ± 0,5	18,3 ± 0,6
20:5 (n-3)	8,7 ± 2,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,1
22:0	61,6 ± 5,0	3,4 ± 0,3	4,0 ± 0,3	4,1 ± 0,5	3,9 ± 0,3
22:1 (n-9)	2,8 ± 0,5	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
22:4 (n-6)	26,0 ± 4,5	1,4 ± 0,2	1,6 ± 0,3	1,6 ± 0,3	1,7 ± 0,3
22:5 (n-6)	2,9 ± 0,9	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
22:5 (n-3)	14,5 ± 2,0	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1
22:6 (n-3)	28,5 ± 4,2	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,3	1,5 ± 0,3	1,7 ± 0,3
23:0	7,7 ± 1,8	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1
24:0	29,3 ± 4,5	1,6 ± 0,2	2,0 ± 0,3	2,0 ± 0,3	1,9 ± 0,3
24:1 (n-9)	38,9 ± 5,5	2,1 ± 0,3	2,7 ± 0,3	2,6 ± 0,4	2,5 ± 0,3
24:2 (n-6)	4,2 ± 0,9	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1

a. Κλάσματα μεμβρανών από 14 υγιή άτομα πλυμένα 1 φορά με ρυθμιστικό

b. Κλάσματα μεμβρανών από 6 υγιή άτομα πλυμένα 1 φορά με ρυθμιστικό

c. % βάρους ολικής πρωτεΐνης (Markwell et al, 1978) στο κλάσμα με αναφορά στην ολική πρωτεΐνη των αιμοπεταλίων

d. nmol λιπαρών οξέων / μmol φωσφόρου στα ολικά λιποειδή που αποσπάστηκαν

ολικών λιποειδών που εκχυλίστηκαν και των υπολειμάτων πρωτεΐνης της μεμβράνης υπολογίστηκαν με ανάλυση gravimetric. Η ανάλυση της χοληστερόλης έγινε με τροποποίηση της μεθόδου Courchain et al. Η ανάλυση φωσφόρου των λιποειδών έγινε με τροποποίηση της μεθόδου του Barlett. Οι ολικές πρωτεΐνες υπολογίστηκαν με τη μέθοδο του Markwell et al, ενώ έγινε ηλεκτροφόρηση και ποσοτικός προσδιορισμός των πρωτεϊνών με microdensitometry. Ακολουθούν τα αποτελέσματα της έρευνας.

Οι ερευνητές αποφάσισαν να μελετήσουν τα κλάσματα FI και FII που ήταν πολύ όμοια, προκειμένου να μειωθεί το ποσό του αίματος που απαιτείται για την ανάλυση των λιποειδών των HPPM. Πριν από αυτό, μετρήθηκε η αναλογία βάρους φωσφολιποειδή / χοληστερόλη και χοληστερόλη / πρωτεΐνη καθώς και η μοριακή αναλογία χοληστερόλη / φωσφολιποειδή που βρέθηκαν ίδιες και στα δύο κλάσματα (πίνακας 7.1). Ακολουθώντας εφαρμόστηκαν και πιο αυστηρά κριτήρια στην ανάλυση των ολικών λιποειδών που εκχυλίστηκαν στα κλάσματα FI και FII τα οποία βρέθηκαν ποσοτικά και ποιοτικά όμοια. Σύμφωνα με την ανάλυση αυτή η σύσταση των λιποειδών εκφράζεται ως η μάζα λιπαρού οξέος ανά μg φωσφόρου στα ολικά λιποειδή που εκχυλίστηκαν. Επίσης, εκφράζεται και ως το ποσοστό μορίων και βάρους κάθε λιπαρού οξέος στα ολικά λιποειδή που αποσπάστηκαν. Τα λιπαρά οξέα είχαν μήκος αλυσίδας που κυμαίνονταν από C14 έως C24. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα αντιστοιχούν στο $47,3 \pm 4,3\%$ των ολικών λιπαρών οξέων από τα οποία $40,7 \pm 0,9\%$ ήταν τετρα-ακόρεστα. Λιγότερα άφθονα ήταν το λινελαϊκό οξύ, οι C16 και C18 ακόρεστες διμεθυλικές ακετάλες, τα κορεσμένα C20, C22 και C24 και τα ακόρεστα C24:1(n-9), C22:4(n-6) και C22:6(n-3) λιπαρά οξέα. Αξίζει να σημειωθεί ότι το περιεχόμενο λινελαϊκού και αραχιδονικού οξέος είναι χαμηλότερο σε HPPM από πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (4,3 και 18,5% αντίστοιχα) σε σχέση με HPPM από συγκεντρώσεις αιμοπεταλίων (5,2 και 19,6% αντίστοιχα). Εξίσου σημαντικό είναι και το γεγονός ότι η αναλογία χοληστερόλη / φωσφολιποειδή ήταν $0,64 \pm 0,04$ για τα δείγματα που εξετάστηκαν την ίδια μέρα που συλλέχθηκαν και μειώθηκε καθώς αυξανόταν η μέρα της αποθήκευσης. Έτσι η αναλογία αυτή ήταν $0,54 \pm 0,04$ την 7η μέρα αποθήκευσης.

Στην gravimetric ανάλυση ξηρού βάρους χρησιμοποιήθηκαν τρεις διαδικασίες πλυσίματος:

- (α) μια φορά πλύσιμο με ρυθμιστικό
- (β) τρεις φορές πλύσιμο με ρυθμιστικό
- (γ) τρεις φορές πλύσιμο με νερό

Η τελευταία διαδικασία αφαιρεί πίο πολύ πρωτεΐνη από τη μεμβράνη σε σχέση με τις άλλες δύο. Η gravimetric ανάλυση έδειξε ότι τα αποσπασμένα λιποειδή και τα

υπολείμματα πρωτεΐνης αντιπροσωπεύουν το $47,2 \pm 0,3\%$ και $52,5 \pm 0,4\%$ της μεμβράνης αντίστοιχα μετά από τη διαδικασία (β) (η αναλογία λιποειδή / πρωτεΐνη ήταν $0,90 \pm 0,01$). Τα ίδια συστατικά (λιποειδή και πρωτεΐνη) αντιπροσώπευαν το $53,0 \pm 0,06\%$ και $45,1 \pm 1,3\%$ της μεμβράνης αντίστοιχα μετά από τη διαδικασία (γ) (η αναλογία λιποειδή / πρωτεΐνη ήταν $1,18 \pm 0,3$) [πίνακας 7.2]. Η αναλογία λιποειδή / πρωτεΐνη που αποκτήθηκε με χημική ανάλυση ήταν $0,78 \pm 0,09$, $0,94 \pm 0,01$ και $1,22 \pm 0,06$ μετά από τις διαδικασίες (α), (β) και (γ) αντίστοιχα. Η μέση μοριακή αναλογία χοληστερόλη / GP IIb/IIIa και φωσφολιποειδή / GP IIb/IIIa ήταν 800 και 1200 αντίστοιχα (πίνακας 7.2).

Πίνακας 7.2

Το αποτέλεσμα της διαδικασίας πλυσίματος στο περιεχόμενο λιποειδών και πρωτεΐνης στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων του πλάσματος.

	Πλυσίματα με ρυθμιστικό διάλυμα				Πλυσίματα με νερό	
	Ένα'		Τρία'		Τρία'	
	Αναλογία βάρους	Μοριακή αναλογία	Αναλογία Βάρους	Μοριακή Αναλογία	Αναλογία βάρους	Μοριακή αναλογία
Λιποειδή/Πρωτεΐνη ^α	$\pm$	$\pm$	$0,90 \pm 0,01$	$\pm$	$1,18 \pm 0,03$	$\pm$
Ch/πρωτεΐνη ^β	$0,19 \pm 0,02$	$\pm$	$0,23 \pm 0,01$	$\pm$	$0,30 \pm 0,02$	$\pm$
Ph/πρωτεΐνη ^β	$0,59 \pm 0,07$	$\pm$	$0,70 \pm 0,01$	$\pm$	$0,92 \pm 0,04$	$\pm$
Ch+Ph/πρωτεΐνη ^β	$0,78 \pm 0,07$	$\pm$	$0,94 \pm 0,01$	$\pm$	$1,22 \pm 0,06$	$\pm$
Ch+Ph/πρωτεΐνη ^γ	$\pm$	$\pm$	$0,88 \pm 0,01$	$\pm$	$1,14 \pm 0,01$	$\pm$
Ch/GPIIb/IIIa ^δ	$1,30 \pm 0,09$	768 ± 53	$1,36 \pm 0,08$	803 ± 47	$1,36 \pm 0,03$	803 ± 17
Ph/GPIIb/IIIa ^δ	$4,04 \pm 0,08$	1188 ± 23	$4,12 \pm 0,16$	1211 ± 46	$4,15 \pm 0,04$	1219 ± 12
Ch+Ph/GPIIb/IIIa ^δ	$5,34 \pm 0,17$	1956 ± 76	$5,48 \pm 0,24$	2014 ± 93	$5,51 \pm 0,07$	2022 ± 29
Ch/Ph	$0,32 \pm 0,02$	$064 \pm 0,04$	$0,33 \pm 0,01$	$0,66 \pm 0,02$	$0,33 \pm 0,01$	$0,66 \pm 0,02$

^α Ξηρό βάρος;

Ch, χημική ανάλυση χοληστερόλης; Ph, χημική ανάλυση φωσφολιποειδών;

^β Ανάλυση πρωτεϊνών σύμφωνα με τους Markwell et al. (1978)

^γ Ανάλυση πρωτεϊνών με α.α ανάλυση

^δ GPIIb/IIIa προσδιορίστηκε με ηλεκτροφόρηση και πυκνομετρία

^ε Δεδομένα από αιμοπετάλια 14 ατόμων

^ς Δεδομένα από 5 διαφορετικές πηγές αιμοπεταλίων από 5 υγιή άτομα

Εάν η διανομή των λιποειδών γύρω από την κύρια πρωτεΐνη ήταν ανάλογη της πρωτεϊνικής μάζας, δεδομένου ότι η GP IIb/IIIa αντιπροσωπεύει το 20,8% της ολικής πρωτεΐνης μεμβράνης, τότε ένας μέσος όρος 168 μορίων χοληστερόλης και 252 φωσφολιποειδών θα βρίσκονταν γύρω από κάθε μόριο GP IIb/IIIa στο στρώμα της μεμβράνης.

Τα πέντε είδη φωσφολιποειδών διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας των HPPM των ολικών λιποειδών που εκχυλίστηκαν. Στον πίνακα 7.3 αναγράφεται το περιεχόμενο μάζας κάθε κλάσματος ανά μg φωσφόρου μαζί με το μοριακό ποσοστό κάθε φωσφολιποειδούς σε σχέση με τα ολικά φωσφολιποειδή που εκχυλίστηκαν. Παράλληλα δίδεται και το περιεχόμενο που προσδιορίστηκε με ανάλυση λιπαρών οξέων. Σύμφωνα με αυτή τα κυρίαρχα κλάσματα ήταν η φωσφατιδυλοχολίνη ($36,2 \pm 1,0\%$) και

ακολουθούσαν η φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη ($24,9 \pm 0,9\%$), η σφιγγομυελίνη ($22,3 \pm 0,90\%$) ενώ η φωσφατιδυλοσερίνη ($12,1 \pm 0,6\%$) και φωσφατιδυλινωσΐτης ($4,5 \pm 0,4\%$) βρέθηκαν στις μικρότερες συγκεντρώσεις.

Πίνακας 7.3

Σύσταση των φωσφολιποειδών (μέσος $\pm$ SD) των ολικών λιποειδών που εκχειλίστηκαν από την μεμβράνη των αιμοπεταλίων του πλάσματος 14 υγιών απόμων. Ο προσδιορισμός της σύστασης έγινε με ανάλυση φωσφόρου και λιπαρών οξέων των κλασμάτων των φωσφολιποειδών που διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

	Ανάλυση Φωσφόρου ^α		Ανάλυση λιπαρών οξέων ^β	
	nmol/μg P	Μοριακό %	nmol/μg P	Μοριακό %
SPM	$5,89 \pm 0,51$	$22,8 \pm 1,4$	$5,78 \pm 0,46$	$22,3 \pm 0,9$
PC	$8,96 \pm 0,54$	$34,6 \pm 0,9$	$9,36 \pm 0,39$	$36,2 \pm 1,0$
PE	$6,50 \pm 0,48$	$25,1 \pm 1,0$	$6,45 \pm 0,42$	$24,9 \pm 0,9$
PS	$3,23 \pm 0,30$	$12,5 \pm 0,9$	$3,15 \pm 0,29$	$12,1 \pm 0,6$
PI	$1,33 \pm 0,11$	$5,1 \pm 0,4$	$1,18 \pm 0,10$	$4,5 \pm 0,4$
Σύνολο	$25,91 \pm 1,40$	$\pm$	$25,90 \pm 1,46$	$\pm$

α. Προσδιορίστηκε υπολογίζοντας ένα άτομο φωσφόρου ανά μόριο φωσφολιποειδών.

β. Προσδιορίστηκε υπολογίζοντας δύο μόρια λιπαρών οξέων ανά μόριο φωσφολιποειδών εκτός από την SPM όπου ένα μόριο λιπαρού οξέως αντιστοιχεί σε ένα μόριο SPM.

Η σύσταση σε λιπαρά οξέα των εξατομικευμένων φωσφολιποειδών και των ελεύθερων λιπαρών οξέων που διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας αναγράφεται στον πίνακα 7.4. Η συνεισφορά των διαφορετικών κλασμάτων στα ολικά λιπαρά οξέα της μεμβράνης είναι (ως μοριακό ποσοστό) 39,4 $\pm$ 1,1% από τη PC, 27 $\pm$ 1,0% από τη PE, 13,3 $\pm$ 0,6% από τη PS, 12,1 $\pm$ 0,5% από τη SPM, 4,9 $\pm$ 0,4% από τη PI και 3,3 $\pm$ 0,4% από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα.

Πιο αναλυτικά, η σφιγγομυελίνη παρουσιάζει ένα υψηλό περιεχόμενο λιπαρών οξέων με μακριά αλυσίδα (C22, C23 και C24 σε ποσοστό 57,5 $\pm$ 5,8%) και υψηλό ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων (79,3 $\pm$ 6,6%). Είναι η μόνη πηγή 22:1(n-9), 23:0 και 24:2(n-6) και κυρίως αυτή συνεισφέρει στο συνολικό ποσό 22:0 και 24:1(n-9) των ολικών λιποειδών που εκχειλίστηκαν.

Η φωσφατιδυλοχολίνη παρουσίασε ίσο ποσοστό κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων. Τα κύρια λιπαρά οξέα που βρέθηκαν στο κλάσμα αυτό ήταν το παλμιτικό, στεατικό, ελαϊκό και αραχιδονικό. Είναι το μόνο φωσφολιποειδές με υψηλότερο ποσοστό ελαϊκού από το στεατικό.

Η φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη περιέχει υψηλό ποσοστό αραχιδονικού οξέος (33,1 $\pm$ 2,5%) και είναι η πλουσιότερη πηγή του οξέος αυτού. Περιέχει υψηλό ποσοστό C16 και C18 (26,3 $\pm$ 3,2%). Η αναλογία κορεσμένα / ακόρεστα είναι χαμηλότερη από 1.

Πίνακας 7.4

Σύσταση των λιπαρών οξέων (μέσος $\pm$ SD) υπολογισμένη με αέρια χρωματογραφία της SPM, PC, PE, PI, PS, PL, και FFA

	SPM			PC			PE			PS			PI			FFA		
	nmol/ μ mol P	Μοριακό %	nmol/ μ mol P	Μοριακό %	nmol/ μ mol P	Μοριακό %	nmol/ μ mol P	Μοριακό %	nmol/ μ mol P	Μοριακό %	nmol/ μ mol P	Μοριακό %	nmol/ μ mol P	Μοριακό %	nmol/ μ mol P	Μοριακό %	nmol/ μ mol P	Μοριακό %
14:0	0,9 $\pm$ 0,4	0,5 $\pm$ 0,2	1,6 $\pm$ 0,7	0,3 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,45	0,2 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,3	0,2 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,3	0,2 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,7	3,2 $\pm$ 1,4	0,4 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,3	0,0	0,0
15:0	0,2 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,4	0,2 $\pm$ 0,1	0,0	0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
16:0 ALD	0,0	0,0	0,7 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,0	8,6 $\pm$ 1,1	2,2 $\pm$ 0,3	0,4 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
16:0 DMA	0,0	0,0	2,3 $\pm$ 0,3	0,4 $\pm$ 0,0	28,3 $\pm$ 3,2	7,1 $\pm$ 0,8	1,0 $\pm$ 0,6	0,3 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,6	0,3 $\pm$ 0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
16:0	48,8 $\pm$ 3,7	27,3 $\pm$ 1,6	186,0 $\pm$ 14,4	32,0 $\pm$ 2,5	13,1 $\pm$ 2,3	3,3 $\pm$ 0,6	2,4 $\pm$ 1,2	1,2 $\pm$ 0,6	2,4 $\pm$ 1,2	1,2 $\pm$ 0,6	2,3 $\pm$ 0,6	3,2 $\pm$ 0,8	17,5 $\pm$ 4,8	35,5 $\pm$ 9,7	0,9 $\pm$ 0,4	1,9 $\pm$ 0,8	0,0	0,0
16:1 n-9	0,0	0,0	2,5 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
16:1 n-7	0,0	0,0	1,9 $\pm$ 0,6	0,3 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
iso 17:0	0,0	0,0	0,7 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
antisso 17:0	0,0	0,0	1,0 $\pm$ 0,3	0,2 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
17:0 DMA	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
17:0	0,6 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,1	2,4 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,1	0,8 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,0	0,6 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,4	0,0	0,0	0,0	0,0
18:0 ALD	0,0	0,0	0,0	0,0	15,7 $\pm$ 1,9	3,9 $\pm$ 0,5	0,7 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
18:1 ALD	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5 $\pm$ 0,6	0,6 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
18:0 DMA	0,0	0,0	0,0	0,0	42,3 $\pm$ 3,7	10,6 $\pm$ 0,9	1,8 $\pm$ 0,9	1,2 $\pm$ 0,5	1,8 $\pm$ 0,9	1,2 $\pm$ 0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
18:1 DMA	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0 $\pm$ 1,4	1,5 $\pm$ 0,4	0,2 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
18:0	10,7 $\pm$ 1,4	6,0 $\pm$ 0,9	83,1 $\pm$ 6,8	14,3 $\pm$ 1,2	56,5 $\pm$ 3,5	14,1 $\pm$ 0,9	86,9 $\pm$ 6,7	44,3 $\pm$ 3,4	86,9 $\pm$ 6,7	44,3 $\pm$ 3,4	33,4 $\pm$ 2,4	46,2 $\pm$ 3,4	14,6 $\pm$ 3,5	29,7 $\pm$ 7,1	8,2 $\pm$ 2,0	8,2 $\pm$ 2,0	0,0	0,0
18:1 n-9	1,3 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,2	128,3 $\pm$ 13,9	22,1 $\pm$ 2,4	21,4 $\pm$ 3,0	5,4 $\pm$ 0,8	39,9 $\pm$ 4,9	20,3 $\pm$ 2,5	39,9 $\pm$ 4,9	20,3 $\pm$ 2,5	3,7 $\pm$ 0,9	5,1 $\pm$ 1,3	8,2 $\pm$ 2,0	16,7 $\pm$ 4,1	0,0	0,0	0,0	0,0
18:1 n-7	0,2 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	10,4 $\pm$ 1,1	1,8 $\pm$ 0,2	2,9 $\pm$ 0,4	0,7 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,5	0,8 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,5	0,8 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,3	2,0 $\pm$ 0,6	0,0	0,0	0,0	0,0
18:2 n-6	0,1 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,0	50,7 $\pm$ 7,3	8,7 $\pm$ 1,3	11,8 $\pm$ 2,1	2,9 $\pm$ 0,5	2,1 $\pm$ 0,8	1,1 $\pm$ 0,4	2,1 $\pm$ 0,8	1,1 $\pm$ 0,4	1,0 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 0,6	1,7 $\pm$ 0,5	3,3 $\pm$ 1,9	0,0	0,0	0,0	0,0
19:0	0,2 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,0	0,0	0,0	0,3 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,1	0,0	0,0	0,0 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
20:0 DMA	0,0	0,0	0,0	0,0	4,3 $\pm$ 0,8	1,1 $\pm$ 0,2	0,0	0,0	1,1 $\pm$ 0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
20:0	10,6 $\pm$ 1,5	6,6 $\pm$ 0,9	6,6 $\pm$ 0,9	1,1 $\pm$ 0,2	2,4 $\pm$ 0,4	0,6 $\pm$ 0,1	3,8 $\pm$ 0,4	1,9 $\pm$ 0,2	3,8 $\pm$ 0,4	1,9 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,2	0,6 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
20:1 n-9	0,2 $\pm$ 0,2	0,0	7,0 $\pm$ 1,1	1,8 $\pm$ 0,2	1,6 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,2	1,1 $\pm$ 0,4	0,0	0,0	0,0	0,0
20:2 n-6	0,0	0,0	3,1 $\pm$ 0,7	0,5 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,3	0,3 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
20:3 n-6	0,6 $\pm$ 0,2	8,4 $\pm$ 1,2	8,4 $\pm$ 1,2	1,4 $\pm$ 0,2	2,7 $\pm$ 0,4	0,7 $\pm$ 0,1	3,3 $\pm$ 0,6	1,7 $\pm$ 0,3	3,3 $\pm$ 0,6	1,7 $\pm$ 0,3	0,5 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
20:4 n-6	1,5 $\pm$ 0,6	0,9 $\pm$ 0,5	58,2 $\pm$ 5,1	10,0 $\pm$ 0,9	132,3 $\pm$ 9,9	33,1 $\pm$ 2,5	39,5 $\pm$ 3,8	20,1 $\pm$ 1,9	39,5 $\pm$ 3,8	20,1 $\pm$ 1,9	28,0 $\pm$ 3,2	38,7 $\pm$ 4,5	0,6 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 0,9	0,0	0,0	0,0	0,0
20:5 n-3	0,0	0,0	3,1 $\pm$ 0,6	0,5 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 1,1	0,6 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
22:0	45,2 $\pm$ 4,6	25,3 $\pm$ 1,6	4,2 $\pm$ 0,9	0,7 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,1	1,6 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,2	1,6 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
22:1 n-9	1,2 $\pm$ 0,3	0,7 $\pm$ 0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
22:4 n-6	0,0	0,0	3,6 $\pm$ 0,8	0,6 $\pm$ 0,1	14,9 $\pm$ 3,5	3,7 $\pm$ 0,9	1,5 $\pm$ 0,3	0,5 $\pm$ 0,1	3,7 $\pm$ 0,9	1,5 $\pm$ 0,3	0,2 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
22:5 n-6	0,0	0,0	0,6 $\pm$ 0,2	0,1 $\pm$ 0,0	1,1 $\pm$ 0,4	0,3 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
22:5 n-3	0,0	0,0	2,1 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,1	8,2 $\pm$ 1,4	2,0 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,1	2,0 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
22:6 n-3	0,0	0,0	5,1 $\pm$ 1,2	0,9 $\pm$ 0,2	12,7 $\pm$ 2,5	3,2 $\pm$ 0,6	2,8 $\pm$ 0,7	1,4 $\pm$ 0,4	3,2 $\pm$ 0,6	2,8 $\pm$ 0,7	0,2 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
23:0	3,9 $\pm$ 0,6	2,2 $\pm$ 0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
24:0	20,4 $\pm$ 3,8	11,4 $\pm$ 1,6	2,4 $\pm$ 0,6	0,4 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,4	0,0	0,0	0,0	0,0
24:1 n-9	28,8 $\pm$ 4,8	16,0 $\pm$ 1,8	2,2 $\pm$ 0,6	0,4 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
24:2 n-6	3,3 $\pm$ 0,8	1,9 $\pm$ 0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ανάκτηση %	94,7 $\pm$ 6,8	100,2 $\pm$ 5,9			95,4 $\pm$ 5,3		94,1 $\pm$ 4,8				84,7 $\pm$ 5,2							

Στη φωσφατιδυλοσερίνη τα κύρια λιπαρά οξέα ήταν το στεατικό ($44,3 \pm 3,4\%$), ελαϊκό ($20,3 \pm 2,5\%$) και το αραχιδονικό ($20,1 \pm 1,9\%$). Τα ποσά κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων ήταν ίσα. Το ίδιο ισχύει και για το φωσφατιδυλοινωσίτη όπου τα κύρια λιπαρά οξέα ήταν το στεατικό ($46,2 \pm 3,4\%$) και το αραχιδονικό ($38,7 \pm 4,5\%$). Συνολικά το ποσό του φωσφατιδυλοινωσίτη είναι χαμηλό λόγω της υψηλότερης περιεκτικότητάς του σε φώσφορο.

Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα τέλος αντιπροσωπεύουν το $2,9 \pm 0,4\%$ των ολικών λιπαρών οξέων στα ολικά λιποειδή που εκχυλίστηκαν. Το παλμιτικό, στεατικό και ελαϊκό οξύ ήταν τα κύρια λιπαρά οξέα.

Η έρευνα αυτή και τα αποτελέσματά της είναι έγκυρα σε σχέση με άλλες έρευνες καθώς βασίζεται σε ανάλυση των λιποειδών των αιμοπεταλίων με συνδυασμό αέριας χρωματογραφίας και φασματοφωτομετρίας μάζας, μέθοδοι με μεγάλη ακρίβεια.

Προκειμένου να διαμορφωθεί μια πλήρης εικόνα για τη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε υγιή άτομα, είναι απαραίτητο να αναφερθεί η σχέση μεταξύ της σύστασης των φωσfolιποειδών στο πλάσμα και στα αιμοπετάλια σε υγιή άτομα. Πρόκειται για την έρευνα των D.Prisco, R. Paniccia, B. Bandinelli, M. Filippini, I. Francalanci, T. Brunelli, B. Giustri και R. Abbate το 1996.

30 υγιείς άρρενες χωρίς ακραίες διαιτητικές συνήθειες συμμετείχαν στην έρευνα. Είχαν φυσιολογικές εργαστηριακές εξετάσεις, δείκτη μάζας σώματος < 26 , φυσιολογική πίεση ($< 140 / 90$ mm Hg) και δεν έπαιρναν φάρμακα για 2 εβδομάδες. Παραλήφθηκε το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια και πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια με φυγοκέντρηση. Τα διάφορα φωσfolιποειδή εκχυλίστηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας. Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων και διμεθυλακεταλικές αλδεύδες (DMA) προετοιμάστηκαν με τρανσμεθανόλυση. Οι εστέρες εκχυλίστηκαν με εξάνιο και αναλύθηκαν με αέρια χρωματογραφία. Όλες οι αναλυτικές διαδικασίες ολοκληρώθηκαν 2 μέρες μετά την αιμοληψία. Κατά τη διάρκεια των επεξεργασιών τα λιποειδή φυλάσσονταν στους -20°C . Οι παραπάνω συνθήκες αποθήκευσης πιθανόν να επηρεάσουν το τελικό περιεχόμενο χοληστερόλης, φωσfolιποειδών και λιποειδών των αιμοπεταλίων όπως φάνηκε σε προηγούμενη έρευνα.

Η σύσταση των φωσfolιποειδών σε λιπαρά οξέα στα αιμοπετάλια και το πλάσμα, καθώς και οι συντελεστές συσχέτισης αναφέρονται στους πίνακες 8.1-8.4.

Καθώς το πλάσμα περιέχει χαμηλά ποσά φωσφατιδυλοινωσίτη, δεν αναφέρθηκαν συσχετίσεις γι' αυτό το κλάσμα. Ισχυρές συσχετίσεις αναφέρθηκαν για τα περισσότερα λιπαρά οξέα της φωσφατιδυλοχολίνης (πίνακας 8.1) και ιδιαίτερα για το παλμιτικό και

παλμιτελαϊκό, ελαϊκό, λινελαϊκό, λινολενικό, αραχιδονικό και δοκοσαεξανοϊκό (σχήμα 8.1). Αντίθετα χαμηλές συσχετίσεις βρέθηκαν για τα άλλα κλάσματα.

Πίνακας 8.1

Σύσταση σε λιπαρά οξέα % της φωσφατιδυλογολίνης στο πλάσμα και τα αιμοπετάλια και οι συντελεστές συσχέτισης (n=30)

	Αιμοπετάλια	Πλάσμα	r	P
16:0 + 16:1 n-7	31,17 ± 3,54	31,17 ± 4,69	0,70	<0,001
18:0	13,02 ± 1,13	13,02 ± 2,05	0,55	<0,01
18:1 n-9	24,05 ± 2,02	24,05 ± 2,57	0,76	<0,001
18:2 n-6	7,92 ± 2,91	7,92 ± 5,31	0,95	<0,001
18:3 n-3	1,24 ± 0,29	1,24 ± 0,17	0,63	<0,001
20:3 n-6	1,36 ± 0,19	1,36 ± 1,21	0,01	ns
20:4 n-6	13,40 ± 1,12	13,40 ± 2,26	0,57	<0,001
20:5 n-3	0,20 ± 0,05	0,20 ± 0,18	0,52	<0,01
22:4 n-6	1,37 ± 0,36	1,37 ± 0,18	0,26	ns
22:5 n-3	0,66 ± 0,28	0,66 ± 0,16	0,51	<0,01
22:6 n-3	0,77 ± 0,26	0,77 ± 0,98	0,78	<0,001

Πίνακας 8.2

Σύσταση σε λιπαρά οξέα % της φωσφατιδυλοαθανολαμίνης στο πλάσμα και τα αιμοπετάλια και οι συντελεστές συσχέτισης (n=30)

	Αιμοπετάλια	Πλάσμα	r	P
16:0 DMA	7,14 ± 4,44	4,28 ± 2,41	0,33	ns
16:0	7,38 ± 2,53	11,30 ± 2,89	0,35	ns
16:1 n-1	0,67 ± 0,42	1,54 ± 1,05	0,31	ns
18:0 DMA	6,32 ± 2,15	4,58 ± 2,00	0,01	ns
18:0	15,64 ± 2,04	15,98 ± 3,33	0,20	ns
18:1 n-9	8,73 ± 2,67	9,03 ± 2,37	0,31	ns
18:2 n-6	3,31 ± 1,27	8,40 ± 2,35	0,25	ns
18:3 n-3	0,66 ± 0,16	0,51 ± 0,31	0,09	ns
20:3 n-6	0,72 ± 0,24	1,30 ± 0,50	0,08	ns
20:4 n-6	33,30 ± 3,23	23,10 ± 2,99	0,35	ns
20:5 n-3	0,40 ± 0,20	1,04 ± 0,28	0,34	ns
22:4 n-6	6,24 ± 1,13	2,08 ± 1,22	0,19	ns
22:5 n-3	2,72 ± 0,97	2,40 ± 0,96	0,04	ns
22:6 n-3	2,74 ± 1,01	9,45 ± 2,17	0,20	ns

Πίνακας 8.3

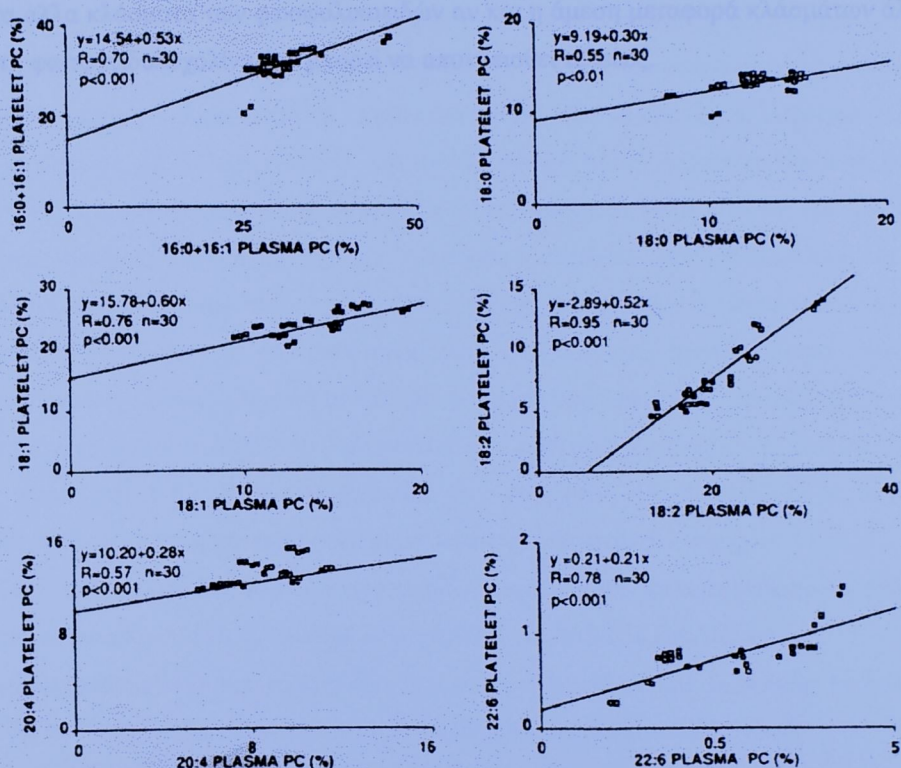
Σύσταση σε λιπαρά οξέα % της φωσφατιδυλοσερίνης στο πλάσμα και τα αιμοπετάλια και οι συντελεστές συσχέτισης (n=30)

	Αιμοπετάλια	Πλάσμα	r	P
16:0	11,89 ± 2,92	25,81 ± 2,36	-0,21	ns
16:1 n-7	1,31 ± 0,73	2,39 ± 2,11	0,02	ns
18:0	36,97 ± 4,76	17,26 ± 2,29	0,03	ns
18:1 n-9	12,53 ± 5,14	11,26 ± 1,97	-0,26	ns
18:2 n-6	2,89 ± 1,86	7,76 ± 3,16	0,04	ns
18:3 n-3	1,02 ± 0,34	0,32 ± 0,19	0,03	ns
20:3 n-6	0,61 ± 0,34	1,06 ± 0,84	0,01	ns
20:4 n-6	26,36 ± 10,99	6,87 ± 3,20	-0,14	ns
20:5 n-3	0,17 ± 0,13	0,23 ± 0,13	0,29	ns
22:4 n-6	1,31 ± 0,94	3,68 ± 1,38	0,05	ns
22:5 n-3	0,33 ± 0,30	0,29 ± 0,25	0,35	ns
22:6 n-3	0,46 ± 0,49	1,50 ± 0,66	0,20	ns

Πίνακας 8.4

Σύσταση σε λιπαρά οξέα % της σφίγγομυελίνης στο πλάσμα και τα αιμοπετάλια και οι συντελεστές συσχέτισης (n=30)

	Αιμοπετάλια	Πλάσμα	r	P
16:0 + 16:1 n-7	19,75 ± 2,91	28,87 ± 3,64	0,19	ns
18:0	5,54 ± 1,66	8,83 ± 1,51	0,11	ns
18:1 n-9	2,91 ± 1,91	2,65 ± 1,08	0,21	ns
18:2 n-6	1,06 ± 0,85	1,89 ± 1,67	0,25	ns
20:0	5,51 ± 1,40	4,26 ± 0,82	0,30	ns
22:1 n-9	5,60 ± 4,18	2,40 ± 1,20	0,07	ns
23:0	2,35 ± 1,20	4,80 ± 1,15	0,25	ns
24:0	10,06 ± 2,53	9,27 ± 2,16	0,33	ns
24:1 n-9	19,11 ± 2,38	21,76 ± 4,28	0,25	ns



Σχήμα 8.1

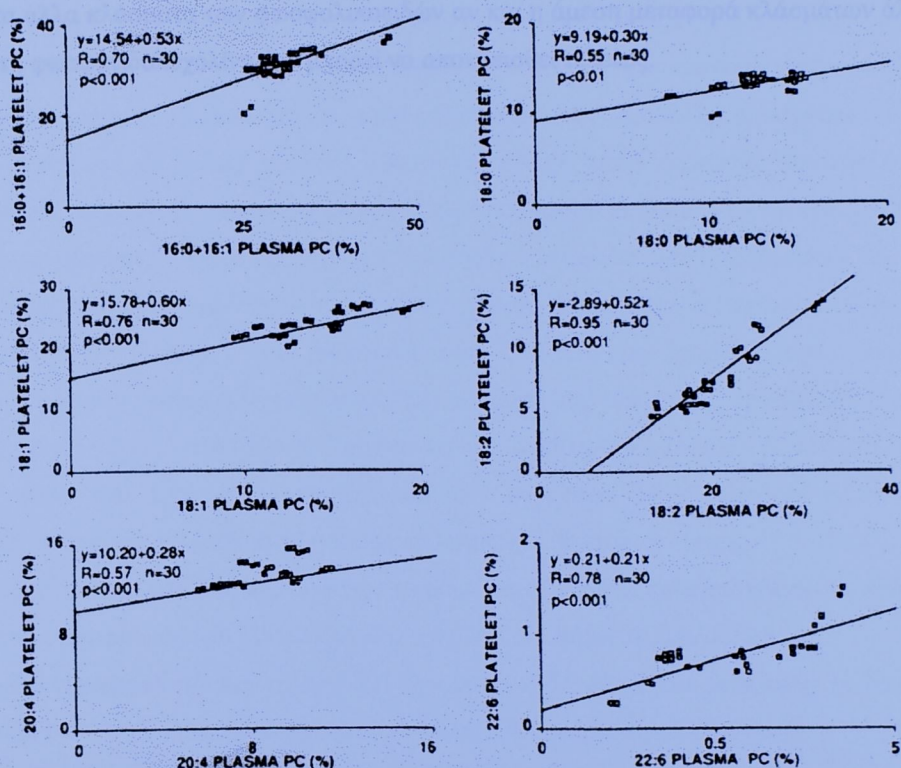
Η μελέτη των δεδομένων αυτών έγινε γνωρίζοντας ότι σε in vitro πειράματα τα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων ανανεώνονται μέσω τριών μονοπατιών:

- (1) de novo βιοσύνθεση, που δεν την αποδέχονται κάποιοι ερευνητές
- (2) επανακυκλώση λυσοφωσφολιποειδών, το επονομαζόμενο μονοπάτι του Land και
- (3) άμεση μεταφορά μορίων φωσφολιποειδών που περιέχονται σε λιποπρωτεΐνες του πλάσματος.

Πίνακας 8.4

Σύσταση σε λιπαρά οξέα % της σφίγγομυελίνης στο πλάσμα και τα αιμοπετάλια και οι συντελεστές συσχέτισης (n=30)

	Αιμοπετάλια	Πλάσμα	r	P
16:0 + 16:1 n-7	19,75 ± 2,91	28,87 ± 3,64	0,19	ns
18:0	5,54 ± 1,66	8,83 ± 1,51	0,11	ns
18:1 n-9	2,91 ± 1,91	2,65 ± 1,08	0,21	ns
18:2 n-6	1,06 ± 0,85	1,89 ± 1,67	0,25	ns
20:0	5,51 ± 1,40	4,26 ± 0,82	0,30	ns
22:1 n-9	5,60 ± 4,18	2,40 ± 1,20	0,07	ns
23:0	2,35 ± 1,20	4,80 ± 1,15	0,25	ns
24:0	10,06 ± 2,53	9,27 ± 2,16	0,33	ns
24:1 n-9	19,11 ± 2,38	21,76 ± 4,28	0,25	ns



Σχήμα 8.1

Η μελέτη των δεδομένων αυτών έγινε γνωρίζοντας ότι σε in vitro πειράματα τα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων ανανεώνονται μέσω τριών μονοπατιών:

- (1) de novo βιοσύνθεση, που δεν την αποδέχονται κάποιοι ερευνητές
- (2) επανακυλίωση λυσοφωσφολιποειδών, το επονομαζόμενο μονοπάτι του Land και
- (3) άμεση μεταφορά μορίων φωσφολιποειδών που περιέχονται σε λιποπρωτεΐνες του πλάσματος.

Παρότι *in vitro* παρατηρήθηκε μια μεγάλη ενσωμάτωση ραδιενεργών λιπαρών οξέων σε φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων, *in vivo* σε ανθρώπους μόνο μια περιορισμένη ανταλλαγή λιπαρών οξέων ανάμεσα στα αιμοπετάλια και το πλάσμα συνεισφέρει στην τελική διαμόρφωση των λιπαρών οξέων των φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων. Έτσι τα αιμοπετάλια διαμορφώνονται κατά τη διάρκεια του κυτταρικού σχηματισμού.

Ωστόσο η φωσφατιδυλοχολίνη παρουσιάζει μια σημαντική απόκλιση. Αντίθετα από όλα τα άλλα κλάσματα, η ενσωμάτωση ολόκληρων μορίων φωσφολιποειδών από το πλάσμα στα αιμοπετάλια μπορεί να είναι ένας μηχανισμός που λειτουργεί για την ανανέωση της φωσφατιδυλοχολίνης. Κάποιοι άλλοι μηχανισμοί πιθανόν να λειτουργούν για τα άλλα κλάσματα των φωσφολιποειδών αν και η άμεση μεταφορά κλάσμάτων άλλων από τη φωσφατιδυλοχολίνη δεν μπορεί να αποκλεισθεί τελείως.

1) Διακρίβω την πρώτη περίοδο των οκτώ εβδομάδων και καταμετράω τη δεύτερη περίοδο οκτώ εβδομάδων (όπως ΚΑΛΙΟΛΛΑΙΟ-ΚΑΛΑΜΠΟΚΕΛΛΑΙΟ) :

2) καταμετράω την πρώτη περίοδο των οκτώ εβδομάδων και διακρίβω τη δεύτερη περίοδο των οκτώ εβδομάδων (όπως ΚΑΛΑΜΠΟΚΕΛΛΑΙΟ-ΕΛΛΙΟΛΛΑΙΟ).

Οι ποσοτικές θέσεις ήταν την ίδια ποσότητα α σε θρεπτικά συστήματα και γαλακτοπλάη, πρώτη 16-27%, υδατοθήρα 49-57%, ελαιό έλαια 10% και γαλακτοπλάη 100 mg/1000 θερμίδες. Η αναλογία καλαμποκιού-γάλακτος στις δύο θέσεις ήταν όμοια ΚΑΛΑΜΠΟΚΕΛΛΑΙΟΥ 1:28 και ΕΛΛΙΟΛΛΑΙΟΥ 0:33. Εάν ελάω 2:2 παρατηρώμεν α αύξηση των λιπών οι καρβομένα, πολυακόρεστα και μονοακόρεστα κίτρινά και η συνισσάμεν κατά στη συνολική ημερήσια πρόσληψη.

Εξετάζοντας την επίδραση της διατροφής στη σύσταση και τη λειτουργία των αιμοπεταλίων παρουσιάζονται επτά σημαντικές μελέτες, οι οποίες αναφέρονται στη συνέχεια καταλήγοντας στην πιο πρόσφατη.

Το 1986 οι ερευνητές C.R. Sirtori, E. Tremoli, E. Gatti, G. Montanari, M. Sirtori, S. Colli, G. Gianfranceschi, P. Maderna, C.Z. Dentone, G. Testolin και C. Galli εκτίμησαν την επίδραση του ελαιόλαδου και του καλαμποκέλαιου στα λιποειδή του πλάσματος και των αιμοπεταλίων σε ασθενείς υψηλού κινδύνου όπως περιγράφεται στη συνέχεια.

Από 84 ασθενείς επιλέχθηκαν άτομα και των δύο φύλων ηλικίας 39-65 ετών με τα ακόλουθα κριτήρια: α) όχι υπέρβαροι β) ασυμπτωματικοί ή με σταθερή κλινική νόσο που απαιτεί την ελάχιστη φαρμακευτική θεραπεία γ) χωρίς φαρμακολογική θεραπεία υπερλιπιδαιμίας για 3 μήνες τουλάχιστον ή κατανάλωση φαρμάκων που να επηρεάζουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και δ) διαιτητικό ιστορικό που αποκλείει την πρόσληψη σταθερών ποσών ελαιόλαδου ή καλαμποκέλαιου. Οι ασθενείς επιλέχθηκαν λόγω υπερλιπιδαιμίας με υψηλό κίνδυνο αθηροσκλήρυνσης και/ή παρουσία κλινικής νόσου (υπέρταση, στεφανιαία νόσο, περιφερική αρτηριακή νόσο). Η διεξαγωγή της έρευνας έγινε σε τρεις συνεχείς περιόδους: μια προδοκιμαστική περίοδο οκτώ εβδομάδων και δύο περιόδους οκτώ εβδομάδων με διαιτητικό λίπος, ελαιόλαδο ή καλαμποκέλαιο. Οι συμμετέχοντες συνέχισαν την κανονική τους ζωή και τις δραστηριότητές τους. Η προδοκιμαστική περίοδος είχε ως σκοπό της εκτίμηση της διαιτητικής πρόσληψης ώστε να διατηρηθεί το πραγματικό βάρος. Το ποσοστό των κορεσμένων λιπαρών οξέων στη δίαιτα ήταν γύρω στο 10%. Κατά τη διάρκεια των επόμενων 16 εβδομάδων οι ασθενείς ακολουθούσαν τις παρακάτω δύο σειρές πρόσληψης διαιτητικού λίπους:

- 1) ελαιόλαδο την πρώτη περίοδο των οκτώ εβδομάδων και καλαμποκέλαιο τη δεύτερη περίοδο οκτώ εβδομάδων (δίαιτα ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ-ΚΑΛΑΜΠΟΚΕΛΑΙΟ) ή
- 2) καλαμποκέλαιο την πρώτη περίοδο των οκτώ εβδομάδων και ελαιόλαδο τη δεύτερη περίοδο των οκτώ εβδομάδων (δίαιτα ΚΑΛΑΜΠΟΚΕΛΑΙΟ-ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ).

Οι πειραματικές δίαιτες είχαν την ίδια περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά και χοληστερόλη: πρωτεΐνη 18-21%, υδατάνθρακες 49-52%, ολικό λίπος 30% και χοληστερόλη 100 mg/1000 θερμίδες. Η αναλογία πολυακόρεστα/κορεσμένα στις δύο δίαιτες ήταν: δίαιτα ΚΑΛΑΜΠΟΚΕΛΑΙΟΥ 1.28 και δίαιτα ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ 0.33. Στον πίνακα 9.1 παρουσιάζονται οι συστάσεις των διαιτών σε κορεσμένα, πολυακόρεστα και μονοακόρεστα καθώς και η συνεισφορά τους στη συνολική ημερήσια πρόσληψη.

Πίνακας 9.1
Μέσες τιμές λιπαρών οξέων σε δίαιτες με καλαμποκέλαιο και ελαιόλαδο

Σύσταση λιπαρών οξέων	% ημερήσιες θερμίδες		% ολικών λιπαρών οξέων	
	Καλαμποκέλαιο	Ελαιόλαδο	Καλαμποκέλαιο	Ελαιόλαδο
Κορεσμένα	7,8	7,4	28	27
Μονοακόρεστα	10	17,5	36	34
Πολυακόρεστα	10	2,8	36	9

Στη μελέτη των αιμοπεταλίων το αίμα συλλέχθηκε και φυγοκεντρήθηκε ώστε να παραληφθεί το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP). Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων ελέγχθηκε χρησιμοποιώντας επινεφρίνη, κολλαγόνο και αραχιδονικό οξύ ως παράγοντες συσσώρευσης. Για κάθε τέτοιο παράγοντα προσδιορίστηκε η συγκέντρωση έναρξης συσσώρευσης (threshold aggregation concentration ή TAC). Η παραγωγή μαλονδιαλδεϋδης προσδιορίστηκε με φασματοφωτομετρική τεχνική μετά από προσθήκη θρομβίνης στα αιμοπετάλια. Ο σχηματισμός θρομβοξάνης B₂ υπολογίστηκε μετρώντας τη συγκέντρωσή της μετά από προσθήκη κολλαγόνου στα αιμοπετάλια.

Όσον αφορά την επίδραση των διαιτών στα συστατικά του πλάσματος ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι και οι δύο δίαιτες επηρέασαν τα επίπεδα των αποπρωτεϊνών ΑΙ και Β. Στη δίαιτα ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ-ΚΑΛΑΜΠΟΚΕΛΑΙΟ παρατηρήθηκε μια αύξηση κατά 5,2% στην αποπρωτεΐνη ΑΙ μετά τη χορήγηση ελαιόλαδου στην πρώτη περίοδο οκτώ εβδομάδων. Στη δίαιτα ΚΑΛΑΜΠΟΚΕΛΑΙΟ-ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ η αποπρωτεΐνη ΑΙ αυξήθηκε σημαντικά μετά τη χορήγηση ελαιόλαδου στη δεύτερη περίοδο οκτώ εβδομάδων. Η αποπρωτεΐνη Β μειώθηκε μέτρια όταν χορηγήθηκε ελαιόλαδο πρώτα (δίαιτα ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ-ΚΑΛΑΜΠΟΚΕΛΑΙΟ) ενώ μειώθηκε δραματικά όταν χορηγήθηκε καλαμποκέλαιο πρώτα (δίαιτα ΚΑΛΑΜΠΟΚΕΛΑΙΟ-ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ). Η αναλογία αποπρωτεΐνη ΑΙ/Β που είναι δείκτης αθηρωματικού κινδύνου, βελτιώθηκε και στις δύο δίαιτες κυρίως όμως με το ελαιόλαδο. Η γλυκόζη στο πλάσμα ήταν σημαντικά μειωμένη στις περιόδους χορήγησης ελαιόλαδου με μέση μείωση -6,2% σε σχέση με τη χορήγηση καλαμποκέλαιου.

Δεδομένα για τα αιμοπετάλια αποκτήθηκαν από 21 ασθενείς. Στη δίαιτα ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ-ΚΑΛΑΜΠΟΚΕΛΑΙΟ (n=12) παρουσιάστηκε μια σημαντική αύξηση του TAC στην επινεφρίνη και με τις δύο δίαιτες κυρίως όμως με τη δίαιτα καλαμποκέλαιου. Η δίαιτα αυτή (καλομποκέλαιου) παρουσίασε επίσης σημαντική αύξηση στο TAC για το αραχιδονικό οξύ, ενώ η δίαιτα ελαιόλαδου στο τελευταίο τεστ συσχετίστηκε με σημαντική μείωση στην απελευθέρωση θρομβοξάνης B₂ (πίνακας 9.2).

Πίνακας 9.2

Οι συγκεντρώσεις έναρξης συσσώρευσης (TACs) των αιμοπεταλίων και ο σχηματισμός μωλυνδιαδείδης (MDA), θρομβοξάνης B₂ (TXB₂) στο τέλος των περιόδων διαίτας (μέσος ± SD)

TACs	Προδοκιμαστική περίοδος (-4 εβδομάδες)	Ελατόλαδο → Καλάμποςκέλαιο (n=12)			Προδοκιμαστική περίοδος (-4 εβδομάδες)	Καλάμποςκέλαιο → Ελατόλαδο (n=9)		
		Βάση (0)	Τέλος ελατολάδου	Τέλος καλάμποςκέλαίου		Βάση (0)	Τέλος καλάμποςκέλαίου	Τέλος ελατολάδου
Αδρεναλίνη (μg/ml)	0,16±0,05	0,15±0,05	0,22±0,05*	0,25±0,10*	0,09±0,05	0,06±0,03	0,09±0,02	0,08±0,02
Κολλαγόνο (μg/ml)	0,44±0,08	0,33±0,07	0,41±0,07*	0,33±0,07	0,27±0,05	0,33±0,06	0,29±0,04	0,42±0,08*
Αραγιδονικό οξύ (mM)	0,38±0,04	0,32±0,04	0,29±0,03	0,41±0,04*	0,31±0,01	0,30±0,05	0,35±0,07*	0,38±0,05*
MDA (nmol/3X10 ⁸ αιμοπετάλια)	0,45±0,05	0,43±0,05	0,42±0,06	0,47±0,05	0,35±0,06	0,33±0,05	0,35±0,04	0,38±0,07
TXB ₂ (ng/ml PRP)	191,4±21,2	186,7±19,9	146,2±16,8*	172,7±22,7	163,5±26,2	164,7±21,4	140,2±20,7	177,4±23,5

* p<0,05 σε σχέση με τη βάση

+ p<0,05 σε σχέση με άλλη διαίτα.

Στη δίαιτα ΚΑΛΑΜΠΟΚΕΛΑΙΟ-ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ (n=9) παρατηρήθηκε μόνο μια σημαντική αύξηση στο TAC για το κολλαγόνο στο τέλος της δίαιτας ελαιόλαδου. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διακυμάνσεις στην απελευθέρωση μανονδιαλδεϋδης ή θρομβοξάνης B₂ (εκτός από αυτή που αναφέρθηκε).

Μια δίαιτα πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα συγκρινόμενη με δίαιτα υψηλή σε κορεσμένα γενικά οδηγεί σε μειωμένη δραστηριότητα των αιμοπεταλίων ως προς τους παράγοντες συσσώρευσης με χαμηλότερο σχηματισμό μεταβολιτών προσταγλανδίνης πριν από τη συσσώρευση. Πολύ πρόσφατα εκείνης της εποχής ευρήματα έδειξαν ότι το ελαϊκό και λινελαϊκό οξύ, όταν προστιθενται in vitro σε ανθρώπινα αιμοπετάλια, ορίζουν όμοιες αλλαγές στις φυσικοχημικές αναλογίες της μεμβράνης και μειώνουν τη δραστηριότητα με ανάλογο τρόπο. Σε μια παράλληλη έρευνα σε ποντίκια παρατηρήθηκε ότι η παραγωγή 6-κετο- PGF_{1α} του αρτηριακού τοιχώματος (ο κύριος μεταβολίτης της αντισυσσωρευτικής προστακυκλίνης) ήταν υψηλότερη μετά από δίαιτα πλούσια σε ελαιόλαδο απ' ό,τι μετά από δίαιτα πλούσια σε καλαμποκέλαιο. Τελικά, το συμπέρασμα της έρευνας αυτής είναι ότι μια δίαιτα χαμηλή σε λίπος, πλούσια σε ελαιόλαδο, με χαμηλή πολυακόρεστα / κορεσμένα αναλογία, έχει καλύτερο αποτέλεσμα στη λειτουργία των αιμοπεταλίων από μια δίαιτα πλούσια σε πολυακόρεστα. Αυτή η παρατήρηση προτείνει ότι η διαιτητική αντικατάσταση μπορεί να μην είναι πάντα απαραίτητη σε άτομα υψηλού κινδύνου που καταναλώνουν παραδοσιακή Μεσογειακή δίαιτα, με χαμηλό ολικό λίπος και κορεσμένα λιπαρά οξέα. Έτσι, η πρόσληψη ελαιόλαδου ως κύριο διαιτητικό λίπος σχετίζεται με την προστασία έναντι καρδιαγγειακών παθήσεων.

Σε μια άλλη έρευνα των R.M. Dougherty, C. Galli, A. Ferro – Luzzi και J.M. Iacono το 1987 εξετάστηκε η επίδραση των διαιτητικών λιπών στη σύσταση των λιποειδών και φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων σε τρεις χώρες: Ιταλία, Φινλανδία και Η.Π.Α. Άντρες ηλικίας 40-45 ετών με παρόμοιες ασχολίες συμμετείχαν στην έρευνα. Ειδικοί διαιτολόγοι κατέγραφαν το διαιτητικό ιστορικό τους για 7 ημέρες και συνέλεξαν ποσότητες φαγητού που κατανάλωναν σε μια μέρα τις οποίες και ανέλυναν. Ακολουθούσε η συλλογή του αίματος όπου 9 όγκοι αίματος προστίθενται σε 1 όγκο 3,8% κιτρικού νατρίου. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP) παραλήφθηκε. Τα αιμοπετάλια απομονώθηκαν. Τα λιποειδή των αιμοπεταλίων εκχλίστηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο των Folch et al. Τα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Τα φωσφολιποειδή παραλήφθηκαν και στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε μέρος αυτών για προσδιορισμό φωσφόρου ή/και μετατροπή στους μεθυλεστέρες τους. Οι μεθυλεστέρες

λιπαρών οξέων των φωσφολιποειδών διαχωρίστηκαν με αέρια χρωματογραφία . Ακολουθεί η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Η ανάλυση της σύστασης της δίαιτας στις 3 χώρες παρουσιάζεται στον πίνακα 10.1.

Πίνακας 10.1
Σύνθεση των διαίτων

	Περιοχή		
	Camino n=20	Nurmijarvi n=21	Beltsille n=21
Υπολογισμένη σύνθεση των διαίτων ¹			
Ενέργεια (kcal)	3700	3298	3327
% Ενέργεια από:			
Πρωτεΐνες	13	14	15
Υδατάνθρακες	44	47	46
Αλκοόλ	14	1	1
Λίπη	32	39	40
Κορεσμένα λιπαρά οξέα	8,7	22,1	17,4
Ελαϊκό οξύ	17,5	13,9	17,9
Λινελαϊκό οξύ	2,2	3,5	4,9
Αναλυμένη σύνθεση των διαίτων ²			
% Ενέργεια από:			
Πρωτεΐνη	16	14	16
Υδατάνθρακες	52	47	45
Λίπη	32	39	39
Κορεσμένα λιπαρά οξέα	10,7	22,6	14,0
Ελαϊκό οξύ	17,8	11,7	15,4
Λινελαϊκό οξύ	2,4	2,4	7,3

¹ Από μία εγγραφή 7 – ημερών διαίτας

² Ανάλυση από μίας ημέρας διαίτας

Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι οι Ιταλοί (Canino) κατανάλωσαν το ελάχιστο ποσό λίπους, κορεσμένων λιπαρών οξέων και λινελαϊκού οξέος. Οι Φινλανδοί (Nurmijarvi) κατανάλωσαν το υψηλότερο ποσό κορεσμένων λιπαρών οξέων, ενώ οι Αμερικανοί (Bestville) κατανάλωσαν περισσότερο λινελαϊκό οξύ από όλους. Η σύσταση των αιμοπεταλίων σε λιποειδή παρουσιάζεται στον πίνακα 10.2.

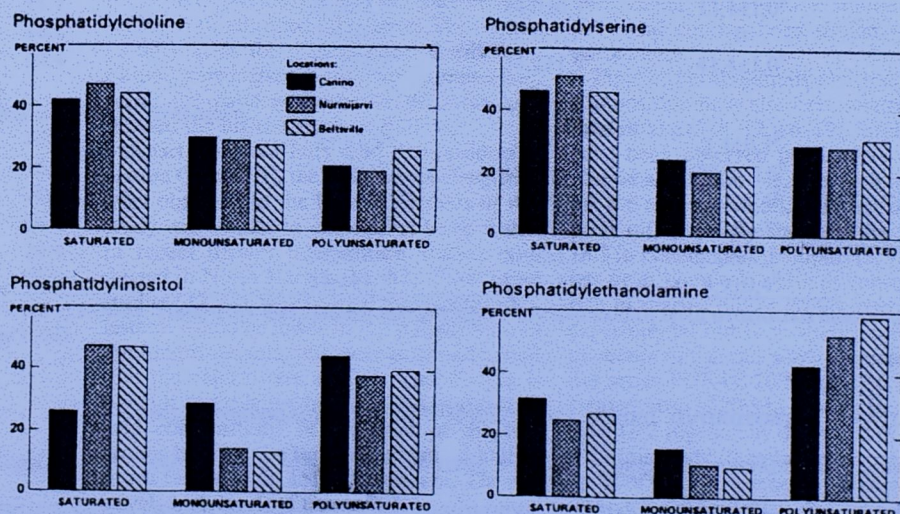
Η χοληστερόλη ήταν υψηλότερη στα δείγματα των κατοίκων του Nurmijarvi. Στα ολικά φωσφολιποειδή μόνο μικρές διαφορές βρέθηκαν στις τρεις περιοχές. Αναλυτικά, για τα φωσφολιποειδή βρέθηκε ότι η σφιγγομυελίνη ήταν χαμηλότερη στα δείγματα των αιμοπεταλίων του Nurmijarvi απ' ό,τι στο Bestville. Τα δείγματα των αιμοπεταλίων του Bestville περιείχαν λιγότερη φωσφατιδυλοχολίνη από τα αιμοπετάλια των Φινλανδών. Η φωσφατιδυλοσερίνη ήταν ίδια και στις 3 ομάδες. Ο φωσφατιδυλοϊνοσίτης ήταν αρκετά χαμηλότερος στα δείγματα των αιμοπεταλίων του Nurmijarvi απ' ό,τι στις άλλες δυο περιοχές. Η φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη τέλος, ήταν υψηλότερη στα αιμοπετάλια του Nurmijarvi απ' ό,τι στα αιμοπετάλια του Canino. Ο πίνακας 10.3 και το σχήμα 10.1 παρουσιάζουν τη σύσταση των φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων.

Πίνακας 10.2

Σύνθεση του πλάσματος, των ερυθρών κυττάρων και των αιμοπεταλίων*

	Περιοχή		
	Casino n=20	Nymijarvi n=21	Beltsville n=21
Πλάσμα			
Πρωτείνες (g/dl)	5,9±0,1	5,4±0,1 ^β	5,3±0,1 ^β
Χοληστερόλη	213±7 ^α	242±11 ^β	191±6 ^γ
Τριγλυκερίδια	140±18 ^α	145±22 ^α	80±7 ^β
Φωσφολιποειδή	243±5 ^α	228±8 ^α	196±7 ^β
SPH (% όλων)	16,6±0,5 ^α	20,8±0,6 ^β	18,2±0,4 ^γ
PC	71,9±1,1	71,2±0,7	69,8±1,0
L-PC	7,1±0,6	7,0±0,5	9,0±0,6
PE	3,3±0,5 ^α	1,9±0,3 ^β	3,7±0,5 ^α
Ερυθρά κύτταρα			
Χοληστερόλη	22,4±1,2 ^α	18,7±0,6 ^β	17,2±1,0 ^β
Φωσφολιποειδή	62,7±1,5	64,9±1,1	62,8±1,7
SPH	25,1±1,0 ^{αβ}	23,4±1,0 ^α	26,6±1,0 ^β
PC	32,6±1,3	33,3±0,8	30,3±0,4
PS	15,8±0,6 ^{αβ}	14,3±0,8 ^α	16,8±0,6 ^β
PE	26,5±1,6	29,1±1,2	26,4±1,0
Αιμοπετάλια			
Χοληστερόλη	18,9±1,2 ^α	22,2±0,7 ^β	19,3±0,8 ^α
Φωσφολιποειδή	70,0±3,4	74,2±2,6	69,1±2,3
SPH	16,0±1,5 ^{αβ}	13,2±0,8 ^α	16,5±1,2 ^β
PC	34,8±3,1 ^{αβ}	38,2±1,4 ^α	31,1±1,7 ^β
PI	11,8±1,6 ^α	6,5±1,2 ^β	10,6±1,0 ^α
PS	13,2±1,4	10,6±1,1	12,0±1,0
PE	18,8±1,9 ^α	25,8±1,2 ^β	23,4±1,5 ^{αβ}

* Μέσος ± SEM. Τιμές στην ίδια γραμμή που δεν έχουν τον ίδιο εκθέτη είναι στατιστικά διαφορετικές (p<0,05)



Σχήμα 10.1

Σύσταση σε λιπαρά οξέα των αιμοπεταλίων

Πίνακας 10.3

Σύσταση των κυρίων λιπαρών οξέων (που είναι παρόντα) της σφιγγομυελίνης και των γλυκερολωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων*

	Περιοχή		
	Casino n=20	Nyrmijarvi n=21	Beltsville n=21
Σφιγγομυελίνη			
14:0	2,1±0,2 ^a	0,7±0,2 ^β	2,5±0,4 ^a
16:0	11,4±0,8 ^a	14,7±0,7 ^β	12,7±0,7 ^{αβ}
18:0	3,9±0,4 ^a	4,1±0,2 ^β	6,1±0,5 ^β
18:1	0,6±0,2	1,1±0,4	1,3±0,3
20:0	4,3±0,4 ^a	5,2±0,3 ^a	10,3±0,5 ^β
22:0	22,9±1,2 ^a	26,1±0,8 ^β	27,3±1,0 ^β
24:0	38,3±2,6 ^a	23,4±1,7 ^β	17,2±0,7 ^γ
24:1	16,4±0,7 ^a	24,7±1,5 ^β	22,6±1,2 ^β
Φωσφατιδυλχολίνη			
16:0	26,6±0,8 ^{αβ}	28,6±0,9 ^a	25,5±0,7 ^β
18:0	13,7±0,4 ^a	16,2±0,6 ^β	17,0±0,3 ^β
18:1	30,4±0,3 ^a	29,9±0,5 ^a	28,2±0,3 ^β
18:2	7,0±0,1 ^a	6,9±0,3 ^a	8,2±0,3 ^β
20:4	15,8±0,6 ^a	13,8±0,7 ^β	19,6±0,4 ^γ
22:6	6,5±0,8 ^a	4,6±0,5 ^a	1,5±0,1 ^β
Φωσφατιδυλσερίνη			
16:0	4,7±0,6 ^a	1,8±0,2 ^β	0,8±0,1 ^γ
18:0	41,0±1,0 ^a	48,4±1,2 ^β	17,0±0,3 ^β
18:1	24,1±0,8 ^a	19,7±0,6 ^β	28,2±0,3 ^β
18:2	3,0±0,6 ^a	1,4±0,3 ^β	19,6±0,4 ^γ
20:4	27,3±1,1	28,7±1,4	1,5±0,1 ^β
Φωσφατιδυλολινοσίτης			
16:0	12,4±1,6 ^a	5,3±1,1 ^β	3,3±0,5 ^β
18:0	12,7±1,0 ^a	41,0±2,0 ^β	42,1±0,5 ^β
18:1	28,3±2,3 ^a	14,0±0,7 ^β	13,1±1,0 ^β
18:2	2,4±0,5 ^a	5,5±1,3 ^β	tr
20:4	44,3±2,7 ^a	34,2±1,7 ^β	41,4±1,0 ^a
Φωσφατιδυλοαθανολαμίνη			
16:0	8,6±1,3 ^a	3,4±0,1 ^β	3,4±0,3 ^β
18:0	21,1±1,1 ^{αβ}	19,5±0,6 ^a	22,2±0,6 ^β
18:1	14,7±0,8 ^a	9,7±0,5 ^β	8,7±0,4 ^β
18:2	5,6±1,1 ^a	2,5±0,1 ^β	4,2±0,3 ^a
20:4	38,4±2,4 ^a	51,9±1,6 ^β	55,6±1,1 ^β
22:6	11,7±1,7 ^a	13,0±1,2 ^a	5,9±0,4 ^β

* Μέσος ± SEM. Τιμές στην ίδια γραμμή που δεν έχουν τον ίδιο εκθέτη είναι στατιστικά διαφορετικές (p<0,04)

Τα γλυκεροφωσφολιποειδή των Φινλανδών γενικά αντικατοπτρίζουν το υψηλό περιεχόμενο κορεσμένου λίπους της διαίτας ενώ τα γλυκεροφωσφολιποειδή των Ιταλών αντικατοπτρίζουν το υψηλό περιεχόμενο μονοακόρεστου λίπους της διαίτας τους. Ωστόσο,

δεν ισχύει το ίδιο για την υψηλή πρόσληψη πολυακόρεστων των Αμερικανών. Φαίνεται εδώ όπως και από άλλες έρευνες ότι τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα των αιμοπεταλίων δεν επηρεάζονται εύκολα από τη διαιτητική πρόσληψη αντίστοιχων λιπαρών οξέων. Οι κύριες διαφορές που παρουσιάστηκαν μεταξύ των τριών πληθυσμών ήταν οι ακόλουθες: τα επίπεδα λινελαϊκού οξέος ήταν χαμηλότερα στη φωσφατιδυλοσερίνη και φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη, αλλά όχι στη φωσφατιδυλοχολίνη των Φινλανδών, ενώ τα επίπεδα αραχιδονικού οξέος ήταν υψηλότερα στη φωσφατιδυλοχολίνη των Αμερικανών και χαμηλότερα στη φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη των Ιταλών. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (π.χ. αραχιδονικό οξύ) λειτουργούν ως πρόδρομοι των προσταγλανδινών και παίζουν έτσι ρόλο στις μεταβολικές λειτουργίες των αιμοπεταλίων (π.χ. πήξη). Ωστόσο, χρειάζεται να γίνουν περαιτέρω έρευνες για την επίδραση της διαιτητικής πρόσληψης πολυακόρεστων στις λειτουργίες αυτές.

Η επόμενη έρευνα έγινε το 1991 και μελετά την επίδραση διαιτητικής πρόσληψης δι-ακετυλο-ακυλογλυκερόλης στη σύσταση των λιποειδών κυρίων οργάνων. Επειδή ο PAF μπορεί να συντεθεί από μια πρόδρομη πηγή του 1-αλκυλ-2-ακυλ-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη (αλκυλακυλ-GPC) μέσω της πορείας απακυλίωσης-ακετυλίωσης, οι επιστήμονες M.L. Blank, E.A. Cress, Z.L. Smith και F. Snyder, θεώρησαν σημαντικό να μελετήσουν εάν αυτή η πρόδρομη πηγή μπορεί να αυξηθεί σε ιστούς θηλαστικών με χορήγηση από το στόμα δι-ακετυλο-ακυλογλυκερόλης. Η έρευνα έγινε σε αρουραίους που χωρίστηκαν σε μια ομάδα ελέγχου με φυσιολογική διαίτα και μια ομάδα με διαιτητική πρόσληψη 1-0-αλκυλ-2,3-διακετυλ-sn-γλυκερόλη (ADAG) για 6 ημέρες. Η ανάλυση του ADAG με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) και υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) έδειξε ότι αποτελείται πάνω από 95% από αλκυλδιακετυλ-γλυκερόλες με κύριες αλκυλ- αλυσίδες το 16:1 (17%) και το 18:1 (67%). Μετά τη διαίτα οι αρουραίοι θανατώθηκαν και έγινε η ανάλυση της περιεκτικότητας των ιστών τριών κύριων οργάνων (νεφρά, ήπαρ, πνεύμονες) σε αλκυλακυλ και αλκ-1-ενυλακυλ αιθέρους. Η ανάλυση των ουδέτερων λιποειδών έγινε με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Στη συνέχεια έγινε α) ποσοτικός προσδιορισμός του φωσφόρου στα κλάσματα των φωσφολιποειδών και β) υπολογισμός του ποσοστού των ομάδων octadecenyl (18:1) στους αλκυλακυλ και αλκ-1-ενυλακυλ αιθέρους από τα ολικά φωσφολιποειδή. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των κλασμάτων διαρυλο-sn-γλυκεροφωσφατιδυλοχολίνης (GPC) πραγματοποιήθηκε μετά από κατάλληλη επεξεργασία των δειγμάτων και καθαρισμό με HPLC των ακυλαιθέρων, με ενζυμική υδρόλυση με φωσφολιπάση C.

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στα ποσά ολικών λιποειδών και φωσφολιποειδών στους ιστούς των αρουραίων και των δύο ομάδων. Ωστόσο, η ανάλυση με TLC των ουδέτερων λιποειδών και στους τρεις ιστούς των αρουραίων που ετράφησαν με ADAG έδειξε ιδιαίτερα για το ήπαρ και τους πνεύμονες σύσταση λιποειδών όμοια με διακετυλοαλκυλογλυκερόλης.

Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι η αναλογία αλκυλ-γλυκερόλης του ADAG ενσωματώθηκε στα λιποειδή του ήπατος και των πνευμόνων. Η διαιτητική πρόσληψη του ADAG είχε μικρή επίδραση στη διανομή των τάξεων των φωσφολιποειδών. Μικρές διαφορές παρατηρήθηκαν στις τρεις τάξεις φωσφολιποειδών στον πνεύμονα των αρουραίων που ετράφησαν με ADAG. Συγκεκριμένα, οι λόγοι: σφιγγομυελίνη/λυσο GPC και φωσφατιδυλινοσίτη/σερίνη ήταν αυξημένοι ενώ το διαρυλο-GPC μειώθηκε σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (πίνακας 11.1).

Πίνακας 11.1

Κατανομή των τάξεων των φωσφολιποειδών σε επιλεγμένους ιστούς ατόμων ελέγχου και ποντικών τραφέντων με Αλκυλδιακετυλογλυκερόλη (ADAG)^a

Ιστός	Δίαιτα	Σφιγγομυελίνη + ΛυσοGPC	Διαρύλο-GPC	Φωσφατιδυλινοσίτη/ σερίνη	Διαρύλο-GPE
Νεφρός	ελέγχου	14,5±0,4	44,5±0,8	9,1±0,7	32,1±0,6
	ADAG	15,5±0,4	43,0±0,8	10,7±0,6	30,8±0,4
Ήπαρ	ελέγχου	6,2±0,7	61,5±2,3	4,2±0,8	25,7±0,9
	ADAG	4,9±0,7	62,8±0,5	4,3±0,5	28,0±0,8
Πνεύμονας	ελέγχου	11,9±0,2	52,9±0,6	11,6±0,2	23,5±0,4
	ADAG	13,2±0,1 ^β	49,5±0,4 ^β	13,4±0,3 ^β	23,9±0,6

^a Όλες οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσες τιμές ±SE από ιστούς 5 ποντικών από κάθε ομάδα, εκτός από ένα δείγμα πνεύμονα που χάθηκε στην ομάδα ελέγχου.

^β Τιμές που είναι σημαντικά διαφορετικές από αντίστοιχες ελέγχου (p<0,01)

Η ανάλυση με HPLC των αλκυλακυλ και αλκ-1-ενυλακυλ αιθέρων που προέκυψαν από τα ολικά φωσφολιποειδή των ιστών έδειξε ότι οι αλυσίδες αιθέρων εμπλουτίστηκαν με το ανάλογο 18:1 στα ποντίκια με την ADAG δίαιτα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. (πίνακας 11.2)

Στη συνέχεια εξετάστηκε το ποσό των αλυσίδων αιθέρων αλκυλακυλ και αλκ-1-ενυλακυλ που ήταν παρόντα στα φωσφολιποειδή διαρυλο-GPE και διαρυλο-GPC. Σε συμφωνία με άλλες έρευνες και οι τρεις ιστοί και στις δύο ομάδες παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις του αλκ-1-ενυλακυλ στην τάξη GPE ενώ η τάξη GPC ήταν εμπλουτισμένη στον αλκυλακυλ τύπο (πίνακας 11.3).

Πίνακας 11.2

Τα αποτελέσματα των διαιτητικών συμπληρωμάτων αλκυδιακετύलगλυκερόλης (ADAG) στο περιεχόμενο 18:1 των ομάδων αιθέρα στα ολικά κλάσματα φωσφολιποειδών που συλλέχθηκαν από ιστούς αρουραίων^a

Ιστοί και υποκλάσματα γλυκερόλης	% αλυσίδες γλυκερόλης 18:1	
	Δίαιτα ελέγχου	Δίαιτα ADAG
Νεφροί		
Αλκ-1-ενυλακυλ	19,2±0,4	32,6±0,4
Αλκυλακυλ	44,2±1,2	61,1±1,0
Ήπαρ		
Αλκ-1-ενυλακυλ	18,8±2,0	38,9±1,0
Αλκυλακυλ	45,2±1,9	78,7±3,4
Πνεύμονες		
Αλκ-1-ενυλακυλ	14,1±0,6	26,0±0,1
Αλκυλακυλ	42,2±1,9	64,5±0,8

^a Τα ολικά κλάσματα φωσφολιποειδών από τους ίδιους ιστούς όπως στον πίνακα 1 αναλύθηκαν για τη σύσταση των αλυσίδων αλειφατικών αιθέρων (βλέπε μεθοδολογία έρευνας). Όλες οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο ποσοστό ± SE (η=3) και ήταν σημαντικά υψηλότερες ($p<0,001$) στα 18:1 για όλους τους ιστούς από αρουραίους που έκαναν τη δίαιτα ADAG.

Πίνακας 11.3

Τα αποτελέσματα της διαίτας ADAG στη διανομή των υποκλασμάτων αιθέρων στα διαρύλο-GPE και διαρύλο-GPC φωσφολιποειδή σε επελεγμένους ιστούς αρουραίων^a

Ιστοί και υποκλάσματα γλυκερόλης	% των φωσφολιποειδών τάξεων			
	Ελέγχου GPE	GPC	ADAG GPE	ADAG GPC
Νεφροί				
Αλκ-1-ενυλακυλ	20,0±1,0	2,3±0,1	21,3±0,9	3,9±0,2 ^β
Αλκυλακυλ	0,9±0,1	1,7±0,1	2,2±0,2 ^β	6,3±0,2 ^β
Ήπαρ				
Αλκ-1-ενυλακυλ	3,3±0,2	0,4±0,0	4,9±0,2 ^β	0,6±0,1
Αλκυλακυλ	0,1±0,0	0,3±0,0	3,4±0,6 ^β	3,5±0,5 ^β
Πνεύμονες				
Αλκ-1-ενυλακυλ	41,3±1,0	1,6±0,1	47,1±1,1 ^γ	2,6±0,2 ^γ
Αλκυλακυλ	1,1±0,1	2,6±0,1	2,9±0,2 ^β	10,1±0,4 ^β

^a Το περιεχόμενο των υποκλασμάτων αιθέρα των διαρύλο-GPE και διαρύλο-GPC υπολογίστηκε όπως αναφέρθηκε στη μεθοδολογία της έρευνας από τους ίδιους ιστούς όπως στον πίνακα 1. Όλες οι τιμές είναι οι μέσοι ± SE ($n=5$ εκτός από ένα όπως στο πίνακα 1). Οι τιμές για τα υποκλάσματα διακυλ (δεν φαίνονται εδώ) είναι η διαφορά ανάμεσα στο 100% και το άθροισμα των δύο υποκλασμάτων αιθέρα. Οι τιμές που είναι σημαντικά υψηλότερες από τα αναγραφόμενα δεδομένα για την ομάδα ελέγχου επισημαίνονται από τον δείκτη β - $p<0,001$ και γ - $p<0,01$. Τα υποκλάσματα διακυλ, εκτός από το διακυλ-GPE των νεφρών, ήταν σημαντικά χαμηλότερα ($p<0,01$) σε ιστούς των ζώων με δίαιτα ADAG.

Οι τάξεις του αιθέρα αλκ-1-ενυλακυλ στα κλάσματα φωσφολιποειδών GPC και GPE ήταν ελαφρώς αυξημένες ως αποτέλεσμα της διαιτητικής πρόσληψης ADAG. Αντίθετα, οι συγκεντρώσεις των τάξεων του αλκυλακυλ αιθέρα στα κλάσματα των φωσφολιποειδών GPC και GPE ήταν σημαντικά αυξημένες στους αρουραίους με δίαιτα ADAG συγκρινόμενες με την ομάδα ελέγχου. Έτσι ο πρόδρομος του PAF αλκυλακυλ-GPC αυξήθηκε σημαντικά στους τρεις ιστούς των αρουραίων.

Η αύξηση αυτής της ουσίας ως αποτέλεσμα διαιτητικής πρόσληψης διακετυλο αλκυλογλυκερόλης μπορεί να έχει έντονη επίδραση στις μεταβολικές λειτουργίες των

αιμοπεταλίων όπου εμπλέκεται ο PAF. Ωστόσο, είναι απαραίτητο να γίνουν περισσότερες έρευνες ώστε να διαλευκανθεί η υπόθεση αυτή.

Την επίδραση της διαιτητικής πρόσληψης α-λινολενικού οξέος (18:3 n-3) και της αναλογίας λινελαϊκό (18:2) / λινολενικό (18:3) λιπαρών οξέων στη σύσταση των φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων, το χρόνο αιμορραγίας και την παραγωγή θρομβοξανών και προσταγλανδινών μελέτησαν οι ερευνητές J.K. Chan, B.E McDonald, J.M. Gerrard, V.M Bruce, B.J Weaver και B.J Holub το 1993.

Στην έρευνα συμμετείχαν 8 άρρενες φοιτητές ηλικίας 20 έως 34 ετών με φυσιολογικές εξετάσεις χοληστερόλης πλάσματος. Η έρευνα αποτελούνταν από 2 φάσεις 42 ημερών. Κάθε φάση χωρίστηκε σε 3 περιόδους: μια περίοδο 6 ημερών πριν από το πείραμα με μικτή σε λιπαρά διαίτα και 2 πειραματικές περιόδους 18 ημερών.

Στην 1η πειραματική περίοδο της 1ης φάσης δύο άτομα ακολούθησαν τυχαία μια από τις παρακάτω δίαιτες: ηλιέλαιο και ελαιόλαδο [χαμηλό περιεχόμενο 18:3 n-3, υψηλή αναλογία 18:2/18:3 (LO – HI)], β) σογιέλαιο [ενδιάμεσο περιεχόμενο 18:3 n-3, ενδιάμεση αναλογία 18:2/18:3 (IN – IN)], γ) canola oil [ενδιάμεσο περιεχόμενο 18:3 n-3, χαμηλή αναλογία 18:2/18:3 (IN – LO) και δ) ηλιέλαιο, ελαιόλαδο και λιναρέλαιο [υψηλό περιεχόμενο 18:3 n-3, χαμηλή αναλογία 18:2/18:3 (HI – LO)]. Στις ακόλουθες πειραματικές περιόδους της φάσης I και II κάθε ζευγάρι άλλαζε διαίτα σύμφωνα με τη σειρά: LO – HI σε IN – IN, IN – IN σε IN – LO, IN – LO σε HI – LO και HI – LO σε LO – HI. Στον πίνακα 12.1 δίδεται η σύσταση σε λιπαρά οξέα των διαίτων.

Πίνακας 12.1

Σύσταση σε λιπαρά οξέα των διαίτων^α

Λιπαρά οξέα	Δίαιτες ^β				
	Μικτό λίπος	LO - HI	IN - IN	IN - LO	HI - LO
Ποσοστό των ολικών λιπαρών οξέων					
14:0	4,5	1,5	1,5	1,5	1,6
16:0	23,8	13,0	14,5	9,8	11,7
16:1 n-7	1,8	0,8	0,6	0,7	0,6
18:0	12,4	4,7	5,2	3,8	5,6
18:1 n-9	38,5	56,0	24,8	54,2	29,6
18:2 n-6	12,0	21,9	44,9	19,5	36,0
18:3 n-3	1,0	0,8	6,5	6,6	13,4
20:0	0,3	0,4	0,3	0,6	0,3
20:1 n-9	0,5	0,4	0,2	1,3	0,1
22:0	ίχνη ^γ	0,3	0,3	0,4	0,4
Λόγος 18:2/18:3	12,0	27,4	6,9	3,0	2,7

^α Μέσοι των τεσσάρων ζευγών (2 για κάθε μενού)

^β Πηγές προστιθέμενου λίπους: μικτό λίπος, 11% καλαμποκέλαιο, 22% λαρδί, 22% ξύγκι και 22% shortening; χαμηλό περιεχόμενο 18:3 n-3, υψηλή αναλογία 18:2/18:3 (LO – HI), 20% ηλιέλαιο και 80% ελαιόλαδο, ενδιάμεσο περιεχόμενο 18:3 n-3, ενδιάμεση αναλογία 18:2/18:3 (IN – IN), 100% σογιέλαιο, ενδιάμεσο περιεχόμενο 18:3 n-3, χαμηλή αναλογία 18:2/18:3 (IN – LO), 100% canola oil, και υψηλό περιεχόμενο 18:3 n-3, χαμηλή αναλογία 18:2/18:3 (HI – LO), 47% ηλιέλαιο, 20% ελαιόλαδο και 33% λιναρέλαιο

^γ Λιγότερο από 0,05%

Αφού συλλέχθηκαν τα δείγματα αίματος φυγοκεντρήθηκαν ώστε να παραληφθούν τα αιμοπετάλια και να αφαιρεθεί το πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια (PPP). Τα φωσφολιποειδή στα αιμοπετάλια PC, PE, PPE διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και οι κηλίδες των φωσφολιποειδών στις πλάκες της TLC κατεργάστηκαν με ατμούς HCl για την υδρόλυση των αλκενυλ- ομάδων των κλασμάτων αλκενυλακυλ γλυκεροφωσφατιδυλοαιθανολαμινών (PPE). Οι μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων διαχωρίστηκαν στη συνέχεια με αέρια χρωματογραφία (GLC). Στη συνέχεια, έγινε μέτρηση του χρόνου εμφάνισης αιμορραγίας μετά από εγκοπή καθώς και η παραγωγή TXB₂ και 6-κετο-PG F_{1a} στο αίμα που συλλέχθηκε μέσα σε 4 λεπτά μετά την εγκοπή. Υπολογίστηκε η συγκέντρωση σε µg/L της TXB₂ που είναι ο σταθερός μεταβολίτης της TXA₂ και ο ρυθμός παραγωγής σε pg/min της 6-κετο-PGF_{1a} που είναι ο σταθερός μεταβολίτης της PGI₂. Ακολουθεί στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Σύμφωνα με την έρευνα αυτή, η σύσταση σε λιπαρά οξέα των φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων αντικατοπτρίζει τη σύσταση σε λιπαρά οξέα των διαίτων. Τα επίπεδα του 18:1 n-9 ήταν σημαντικά αυξημένα σε όλα τα κλάσματα φωσφολιποειδών στις LO – HI και IN – LO δίαιτες. Ομοίως, τα επίπεδα του 18:2 n-6 ήταν αυξημένα στις δίαιτες IN – IN και HI – LO. Μόνο μικρή ενσωμάτωση του 18:3 n-3 παρατηρήθηκε στα φωσφολιποειδή και ιδιαίτερα στη LO – HI δίαιτα. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην εναλλακτική οδό οξείδωσής του για ενέργεια που φαίνεται ότι πραγματοποιήθηκε. Σε γενικές γραμμές, τα φωσφολιποειδή είχαν υψηλότερο περιεχόμενο σε πολυακόρεστα n-3 μακράς αλυσού στην HI – LO δίαιτα και χαμηλότερα στην LO – HI. Το χαμηλό ποσό 18:3 n-3 ή η αναλογία 18:2n-6/18:3 n-3 της δίαιτας δεν είχαν σημαντική επίδραση στη συγκέντρωση πολυακόρεστων n-6. Αντίθετα, η αναλογία 18:2/18:3 επηρέασε τα επίπεδα πολυακόρεστων n-3 στα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων. Συγκεκριμένα, οι δίαιτες IN – LO και HI – LO που παρουσίασαν χαμηλή αυτή την αναλογία, συσχετίστηκαν με υψηλά ποσά n-3 πολυακόρεστων και ιδιαίτερα το 20:5 n-3. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην ικανότητα διεκδίκησης από το 18:3 n-3 του ένζυμου που επιμηκύνει το 18:3 n-3 σε λιπαρά οξέα μεγαλύτερης αλυσού. Ωστόσο, για να πραγματοποιηθεί κάτι τέτοιο είναι απαραίτητο η αναλογία 18:2/18:3 να είναι μικρότερη από 6,9.

Όσον αφορά το χρόνο εμφάνισης αιμορραγίας δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στις πειραματικές δίαιτες (πίνακας 12.2). Η παραγωγή TXB₂ όμως ήταν χαμηλότερη στην IN – LO και HI – LO δίαιτα σε σχέση με τις άλλες δίαιτες ενώ η παραγωγή 6-κετο-PGF_{1a} / TXB₂ ήταν υψηλότερη στη HI – LO δίαιτα απ' ό,τι στη LO – HI. Έτσι, η αναλογία 6-κετο-PGF_{1a} / TXB₂ ήταν υψηλότερη στη HI – LO και IN – LO δίαιτα όπου παρατηρούνται και

υψηλότερα ποσά 20:5 n-3. Γνωρίζοντας ότι η TXB₂ προάγει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων ενώ η PGI₂ την αναστέλλει, η ισορροπία των μεταβολιτών τους (TXB₂, 6-κετο-PGF_{1α}) στη HI – LO διαίτα είναι σημαντική. Είναι πιθανό η διαίτα αυτή να έχει αντιθρομβωτικό αποτέλεσμα γεγονός πολύ επιθυμητό στην περίπτωση στεφανιαίας νόσου. Ωστόσο, οι μεταβολές στην παραγωγή των μεταβολιτών αυτών που προκαλεί η διαίτα HI – LO, μπορεί να προκαλέσουν φαινόμενα σημαντικότερα από το αντιθρομβωτικό αποτέλεσμα. Έτσι, και εδώ είναι απαραίτητο να γίνει περισσότερη έρευνα.

Πίνακας 12.2

Χρόνοι αιμορραγίας και παραγωγή κατά την αιμορραγία των προστανοειδών μετά από τις πειραματικές δίαιτες^a

	Πειραματικές δίαιτες			
	LO - HI	IN - IN	IN - LO	HI - LO
Χρόνος αιμορραγίας (min)	5,00±0,26 ^a	4,94±0,23 ^a	5,27±0,23 ^a	5,07±0,26 ^a
Παραγωγή κατά την αιμορραγία των:				
TXB ₂ (μg/L)	5,01±0,60 ^a	5,15±0,52 ^a	3,81±0,52 ^a	4,11±0,60 ^a
6-Keto-PGF _{1α} (pg/min)	2,90±0,51 ^a	3,64±0,44 ^{aβ}	3,84±0,44 ^{aβ}	4,70±0,51 ^β
Λόγος 6-Keto-PGF _{1α} /TXB ₂	0,81±0,17 ^{aβ}	0,74±0,12 ^a	1,08±0,16 ^{aβ}	1,52±0,31 ^β

^a Οι τιμές στην ίδια σειρά με τον ίδιο εκθέτη (α-β) δεν διαφέρουν σημαντικά (p>0,05). Όλες οι τιμές είναι οι μέσοι ±SEM, n=8, βλέπε πίνακα 1 για συντημήσεις.

Στην επόμενη μελέτη το 1994 οι ερευνητές R.P. Mensink και G. Hornstra εξέτασαν εάν η πρόσληψη trans-C18:1 λιπαρών οξέων επηρεάζει την αναλογία trans-C18:1 στα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων. 38 άντρες, 19 έως 45 ετών, απόλυτα υγιείς, συμμετείχαν στην έρευνα. Στο πείραμα όλοι οι άντρες συμμετείχαν αρχικά σε μια διαίτα 3 εβδομάδων με συνήθη έλαια (δίαιτα ελέγχου). Στη συνέχεια, χωρίστηκαν σε 2 ομάδες. Η μια συνέχισε την προηγούμενη διαίτα και η άλλη ακολούθησε μία διαίτα βασισμένη στο φοινικέλαιο για 6 εβδομάδες (πρώτη πειραματική περίοδος). Στη συνέχεια, όλοι οι εθελοντές ακολουθούν τη διαίτα ελέγχου για 3 εβδομάδες και μετά οι δίαιτες της πρώτης πειραματικής περιόδου αντιστράφηκαν για τις δυο ομάδες για τις τελευταίες 6 εβδομάδες του πειράματος. Αφού αναλύθηκε η σύσταση σε λιπαρά οξέα των διαιτών των πειραματικών περιόδων, δείγματα αίματος συλλέχθηκαν στο τέλος κάθε πειραματικής περιόδου. Μετά από σαπωνοποίηση και μεθυλίωση η αναλογία trans-C18:1 σε σχέση με τα ολικά λιπαρά οξέα υπολογίστηκε με αέρια χρωματογραφία.

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων (πίνακας 13.1) έδειξε ότι η αναλογία trans-C18:1 στα ολικά λιπαρά οξέα μειώθηκε από 4,7 στη διαίτα ελέγχου σε 2,1 στη διαίτα φοινικέλαιου. Η αναλογία αυτή μειώθηκε και στα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων κατά τη διάρκεια της διαίτας φοινικέλαιου. Κατά τη διάρκεια της πρώτης πειραματικής περιόδου, η αναλογία trans-C18:1 στα φωσφολιποειδή αιμοπεταλίων προς διαιτητικό trans-C18:1 ήταν 4,00 ενώ στη δεύτερη πειραματική περίοδο 4,25. Μέση συσχέτιση

παρατηρήθηκε ανάμεσα στην αναλογία trans-C18:1 στα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων και το διαιτητικό tans-C18:1 στην πρώτη και δεύτερη πειραματική περίοδο. Οι συντελεστές συσχέτισης ήταν 0,52 και 0,58 αντίστοιχα. Ωστόσο, η μελέτη των δεδομένων έδειξε ότι η ανάλυση των λιπαρών οξέων των φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να υπολογιστεί η πρόσληψη με τη διαίτα trans-C18:1. Γνωρίζοντας από άλλες έρευνες ότι το trans-C18:1 αυξάνει τη συγκέντρωση των αθηρογενετικών λιποπρωτεϊνών και μειώνει τις αντιαθηρογενετικές πρωτεΐνες είναι δυνατό να εξακριβωθεί η επίδρασή του σε παθολογικές καταστάσεις με βάση τη συγκέντρωσή του στα λιποειδή των αιμοπεταλίων.

Πίνακας 13.1

Η αναλογία των trans μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (trans-C18:1) στη διαίτα, τα τριγλυκερίδια ορού και τα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων ανδρών που κατανάλωσαν διαίτα ελέγχου και διαίτα όπου το σύνθητες λίπος αντικαταστάθηκε κυρίως από φοινικέλαιο.

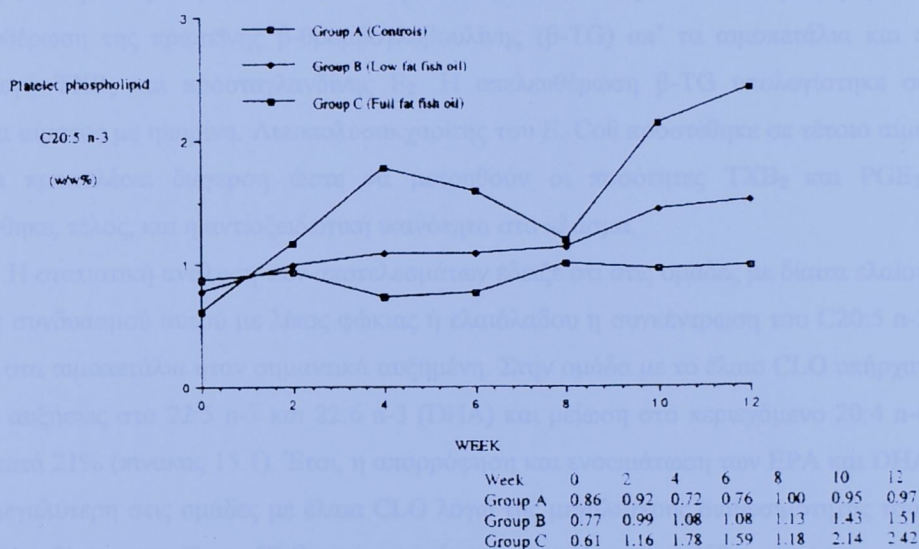
	g/100 g λιπαρών οξέων					
	Δίαιτα		Τριγλυκερίδια ορού		Φωσφολιποειδή αιμοπεταλίων	
	Μέση τιμή	SE	Μέση τιμή	SE	Μέση τιμή	SE
Δίαιτα ελέγχου	4.7	0.7	3.5	0.13	1.0	0.06
Εύρος	1.4-8.9		1.6-5.7		0.5-1.7	
Δίαιτα με φοινικέλαιο	2.1	0.16	2.8	0.11	0.7	0.04
Εύρος	1.1-4.8		1.5-4.6		0.2-1.3	
Αλλαγή (1)	2.5***	0.31	0.8***	0.13	0.3***	0.06
Εύρος	-0.7-7.7		-1.4-2.6		-0.5-1.1	

*** Η μέση αλλαγή ήταν στατιστικά σημαντική, $p < 0,001$

(1) Υπολογίστηκε ως η διαφορά ανάμεσα στο επίπεδο της διαίτας ελέγχου και το επίπεδο της διαίτας φοινικελαιού για κάθε άτομο

Στην επόμενη έρευνα, μελετάται η επίδραση λιπαρών ουσιών εμπλουτισμένων με ιχθυέλαια στη σύσταση λιπαρών οξέων των φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων υγιών εθελοντών. Οι ερευνητές H. Roche και N.J. Gibney το 1994 σχημάτισαν μια ομάδα 33 υγιών άρρενων που χωρίστηκαν σε 3 ισάριθμες υπο-ομάδες. Η πρώτη ομάδα κατανάλωσε μια διαίτα εμπλουτισμένη με λίπος βουτύρου σε ποσοστό 80% του ολικού λίπους και η δεύτερη ομάδα μια διαίτα χαμηλή σε λίπος βουτύρου σε ποσοστό 40%. Και οι δύο δίαιτες περιείχαν 8g ιχθυελαίου ανά 100 g λίπους. Η τρίτη ομάδα κατανάλωσε μια συνήθη διαίτα και χρησιμοποιήθηκε ως ομάδα ελέγχου. Το πείραμα διήρκεσε 12 εβδομάδες. Δείγματα αίματος συλλέγονταν κάθε 2 εβδομάδες. Αιμοπετάλια απομονώθηκαν από πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια και αραιώθηκαν σε ρυθμιστικό (Tris-EDTA) για την παραλαβή των λιποειδών με τη μέθοδο Folch. Τα φωσφολιποειδή απομονώθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας. Η αναλογία των λιπαρών οξέων των μεθυλεστέρων έγινε με αέρια χρωματογραφία.

Οι εθελοντές προσλάμβαναν 50g την ημέρα λίπη από τα οποία 0,72g ήταν εικοσαπεντανοϊκό (20:5 n-3 ή EPA) και 0,36g δοκοσαεξανοϊκό (22:6 n-3 ή DHA) τα κύρια ιχθυέλαια. Το παλμιτικό οξύ (C16:0) αυξήθηκε και στις τρεις ομάδες. Το στεατικό οξύ (C18:0) μειώθηκε σε κάθε ομάδα το ίδιο και το αραχιδονικό οξύ (C20:4). Αντίθετα, στις δύο ομάδες διαιτών με ιχθυέλαιο τα επίπεδα EPA και DHA στα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων αυξήθηκαν. Οι αλλαγές στα επίπεδα του EPA στα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων με το πέρασμα των εβδομάδων παρουσιάζεται στο σχήμα 14.1. Η δεύτερη ομάδα που ακολούθησε δίαιτα χαμηλή σε λίπος βουτύρου παρουσίασε σταθερή αύξηση των επιπέδων EPA ενώ η πρώτη ομάδα με δίαιτα εμπλουτισμένη σε λίπος βουτύρου παρουσίασε μεγαλύτερη ενσωμάτωση του C20:5 n-3 στα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων.



Σχήμα 14.1

Τα ιχθυέλαια EPA και DHA έχουν προστατευτική δράση έναντι των καρδιαγγειακών παθήσεων μειώνοντας τα τριγλυκερίδια στο πλάσμα και τη μεταγευματική λιπαιμία, ενώ η ενσωμάτωση του EPA στα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων έχει αντιθρομβωτικό αποτέλεσμα. Έτσι, η κατανάλωση μια με δύο φορές την εβδομάδα λιπαρών ψαριών προστατεύει από την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου.

Την επίδραση ιχθυέλαιου και ελαιόλαδου στη σύσταση σε λιπαρά οξέα των αιμοπεταλίων, τη ρευστότητα της μεμβράνης των αιμοπεταλίων και την ανταπόκριση της

λειτουργίας του στα έλαια αυτά μελέτησαν οι ερευνητές E. Vognild, E.O. Elvevoll, J. Brox, R. L. Olsen, H. Barstad, M. Aursand και B. Osterud το 1998.

124 γυναίκες και 149 άντρες ηλικίας 16-69 ετών επιλέχθηκαν για την έρευνα αυτή. Κατανάλωναν 15 ml την ημέρα έλαιο από το ήπαρ μπακαλιάρου (CLO), ελαιόλαδο, επεξεργασμένο και μη επεξεργασμένο λίπος φάλαινας, μείγμα λίπους CLO και λίπους φώκιας και μείγμα CLO και ελαιόλαδου. Μετά από τις 12 εβδομάδες διάρκειας του πειράματος έγινε η συλλογή δειγμάτων αίματος. Αποκτήθηκε το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια όπου τα αιμοπετάλια πλύθηκαν και αραιώθηκαν σε 0,15 mol/L NaCl προκειμένου να γίνει η υδρόλυση και η παραλαβή των λιπαρών οξέων για να αναλυθούν με αέρια χρωματογραφία. Οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων αναλύθηκαν με αέρια-υγρή χρωματογραφία. Η μέτρηση της ρευστότητας της μεμβράνης έγινε σε δείγματα που πλύθηκαν με NaCl και αραιώθηκαν σε ρυθμιστικό φωσφορικού καλίου. Προκειμένου να υπολογιστεί η επίδραση των ελαίων στη λειτουργία των αιμοπεταλίων μετρήθηκε η απελευθέρωση της πρωτεΐνης β-θρομβογλοβουλίνης (β-TG) απ' τα αιμοπετάλια και η παραγωγή TXB₂ και προσταγλανδίνης E₂. Η απελευθέρωση β-TG υπολογίστηκε σε πλάσμα αίματος με ηπαρίνη. Λιποπολυσακχαρίτης του E. Coli προστέθηκε σε τέτοιο αίμα για να προκαλέσει διέγερση ώστε να μετρηθούν οι ποσότητες TXB₂ και PGE₂. Μετρήθηκε, τέλος, και η αντιοξειδωτική ικανότητα στο πλάσμα.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι στις ομάδες με δίαιτα ελαίου CLO ή συνδυασμού αυτού με λίπος φώκιας ή ελαιόλαδου η συγκέντρωση του C20:5 n-3 (EPA) στα αιμοπετάλια ήταν σημαντικά αυξημένη. Στην ομάδα με το έλαιο CLO υπήρχαν επίσης αυξήσεις στο 22:5 n-3 και 22:6 n-3 (DHA) και μείωση στο περιεχόμενο 20:4 n-6 (AA) κατά 21% (πίνακας 15.1). Έτσι, η απορρόφηση και ενσωμάτωση των EPA και DHA είναι μεγαλύτερη στις ομάδες με έλαια CLO λόγω της μεγαλύτερης διαθεσιμότητάς τους εκεί. Στις δίαιτες με έλαια CLO και τα μείγματα αυτού παρατηρήθηκε μείωση στην παραγωγή TXB₂ στο πλάσμα αίματος διεγερμένο με λιποπολυσακχαρίτη. Αν και στο πείραμα αυτό δεν έγινε μέτρηση της συσσώρευσης η μείωση στην παραγωγή της TXB₂ δεν αντικατοπτρίζει σπουδαία μείωση της συσσώρευσης λόγω της TXB₂. Λόγω της εξασθενημένης διέγερσης του αίματος από το λιποπολυσακχαρίτη η παραγωγή θρομβοξάνης αντικατοπτρίζει αυτή τη μειωμένη ικανότητα των αιμοπεταλίων για ενεργοποίηση λόγω διέγερσης. Μειωμένη ήταν και η παραγωγή της PGE₂ γεγονός που μπορεί να οφείλεται, όπως και για την TXB₂, στη μείωση του 20:4 n-6 στα αιμοπετάλια – στις ομάδες με έλαια CLO – από το οποίο παράγονται οι θρομβοξάνες, τα λευκοτριένια και οι προσταγλανδίνες.

Πίνακας 15.1

Σύσταση σε λιπαρά οξέα των αιμοπεταλίων πριν και μετά από 12 εβδομάδες διατροφικής χορήγησης ελαίων (βάρος/βάρος% των ολικών λιπαρών οξέων)^α

Λιπαρά οξέα	Δίαιτα ελέγχου n=36		Έλαιο από ήπαρ μπακαλιούρου (CLO) n=34		Ελαιόλαδο n=29		Επεξεργασμένο λίπος φώφαινας n=31		Λίπος φώφαινας n=36		Έλαιο φώφαινας/CLO n=35		Ελαιόλαδο/CLO n=35	
	Πρίν	Μετά	Πρίν	Μετά	Πρίν	Μετά	Πρίν	Μετά	Πρίν	Μετά	Πρίν	Μετά	Πρίν	Μετά
14:0	2,0±0,1	2,4±0,2	2,0±0,2	2,4±0,2	2,1±0,3	2,1±0,2	2,1±0,1	2,5±0,2	2,0±0,2	2,4±0,2	2,0±0,1	2,2±0,2	2,1±0,1	2,2±0,2
16:0	23,7±0,3	23,6±0,3	23,6±0,4	23,4±0,4	23,5±0,5	23,0±0,3	22,9±0,3	23,5±0,3	23,5±0,4	23,9±0,2	23,2±0,3	23,5±0,3	24,0±0,6	23,1±0,3
18:0	21,4±0,3	21,6±0,3	21,1±0,2	20,4±0,4	21,3±0,3	21,5±0,3	21,2±0,2	21,2±0,4	21,2±0,3	21,4±0,4	21,5±0,2	20,7±0,3	21,2±0,3	21,2±0,3
18:1 n-9	13,7±0,2	13,8±0,3	13,7±0,2	14,1±0,3	13,0±0,6	14,7±0,4	13,9±0,5	13,9±0,5	13,9±0,2	13,8±0,4	13,7±0,2	14,6±0,3	13,6±0,2	14,5±0,3
18:2 n-6	6,3±0,2	6,2±0,2	6,3±0,2	5,9±0,1	6,4±0,3	6,3±0,1	6,4±0,2	6,3±0,1	6,5±0,1	6,0±0,2	6,4±0,1	5,8±0,2	6,5±0,2	6,0±0,1
18:3 n-6	0,3±0,0	0,3±0,1	0,2±0,0	0,2±0,1	0,3±0,1	0,2±0,1	0,2±0,0	0,2±0,1	0,3±0,1	0,2±0,1	0,3±0,1	0,2±0,0	0,3±0,0	0,3±0,1
20:1	0,7±0,0	0,5±0,0	0,6±0,0	0,7±0,1	0,6±0,0	0,6±0,1	0,7±0,0	0,8±0,1	0,7±0,0	0,7±0,1	0,7±0,0	0,7±0,1	0,6±0,0	0,6±0,1
20:2	0,6±0,1	0,4±0,0	0,5±0,0	0,4±0,0	0,5±0,0	0,5±0,0	0,4±0,0	0,4±0,0	0,4±0,0	0,6±0,1	0,5±0,0	0,4±0,0	0,5±0,0	0,4±0,0
22:0	3,3±0,1	3,2±0,1	3,0±0,1	3,3±0,1	3,2±0,2	3,2±0,2	3,4±0,2	3,0±0,1	2,9±0,1	3,5±0,2	3,2±0,1	3,5±0,2	3,1±0,2	3,2±0,1
20:3 n-6	1,4±0,1	1,4±0,1	1,5±0,1	1,4±0,1	1,4±0,1	1,4±0,1	1,6±0,1	1,4±0,2	1,5±0,1	1,3±0,1	1,4±0,1	1,4±0,2	1,4±0,1	1,4±0,1
20:4 n-6	18,9±0,5	17,1±0,4	19,4±0,3	15,4±0,5 ^γ	17,6±0,5	17,6±0,5	19,0±0,3	15,8±0,4	18,9±0,4	16,21±0,4	18,8±0,4	15,5±0,4	18,3±0,4	16,2±0,4
20:4 n-3	0,1±0,0	1,1±0,2	0,1±0,0	1,3±0,5	0,9±0,2	0,9±0,2	0,0±0,0	0,9±0,2	0,1±0,0	0,8±0,1	0,1±0,0	1,0±0,2	0,1±0,0	1,0±0,2
24:0	0,8±0,1	1,8±0,2	1,0±0,3	1,7±0,1	1,6±0,1	1,6±0,1	0,9±0,1	1,7±0,1	0,7±0,1	1,6±0,1	1,0±0,1	1,4±0,1	0,8±0,1	1,8±0,1
20:5 n-3	1,1±0,1	1,3±0,1	1,1±0,1	2,4±0,1 ^γ	1,2±0,2	1,2±0,2	1,2±0,1	1,8±0,1	1,1±0,1	1,6±0,1	1,3±0,1	2,5±0,1 ^γ	1,1±0,1	1,8±0,1 ^β
24:1	1,0±0,0	1,0±0,2	0,9±0,0	1,4±0,4	0,9±0,0	0,9±0,0	0,9±0,0	1,3±0,2	0,8±0,1	1,3±0,2	0,9±0,1	1,1±0,0	0,9±0,0	1,3±0,2
22:5 n-3	1,2±0,0	1,0±0,1	1,2±0,0	1,4±0,1 ^β	1,0±0,1	1,0±0,1	1,2±0,0	1,1±0,1	1,2±0,1	1,2±0,1	1,2±0,1	1,3±0,0 ^β	1,1±0,0	1,2±0,1
22:6 n-3	2,3±0,1	2,2±0,1	2,4±0,1	2,9±0,1 ^γ	2,3±0,1	2,3±0,1	2,6±0,1	2,6±0,1	2,5±0,1	2,6±0,1	2,6±0,1	2,9±0,1	2,5±0,1	2,8±0,2

^α Μέσες τιμές ± SEM. Οι διαφορές ανάμεσα στις τιμές πριν και μετά τη διατροφική χορήγηση ελέγχθηκαν με ανάλυση ενός παράγοντα της

διακύμανσης του Dunnett t-test για πολλαπλές συγκρίσεις των ομάδων του test με την ομάδα ελέγχου

^β p<0,05

^γ p<0,01

Αντιθέτως, η παραγωγή β-TG δεν επηρεάστηκε από κανένα έλαιο. Ομοίως δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στη ρευστότητα της μεμβράνης. Ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων και ο αριθμός των αιμοπεταλίων που μετρήθηκαν ήταν αυξημένος και μειωμένος αντίστοιχα στις ομάδες με επεξεργασμένο και μη επεξεργασμένο λίπος φάλαινας. Δεδομένου ότι αυτά τα χαρακτηριστικά του όγκου και του αριθμού των αιμοπεταλίων σχετίζονται με μειωμένη ανταπόκριση σε συγκολλητικές ουσίες, η μέτρηση in vitro των παραμέτρων αυτών καθώς και της β-TG έδειξε ότι τα έλαια φάλαινας και ο συνδυασμός CLO και ελαιόλαδου μπορεί να έχουν την καλύτερη αντιθρομβωτική επίδραση απ' όλα τα άλλα έλαια.

Αφού μελετήθηκε η επίδραση της διατροφής στη σύσταση και τις λειτουργίες των αιμοπεταλίων, ακολουθεί η μελέτη της σύστασης των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε παθολογικές καταστάσεις καταλήγοντας στην πιο πρόσφατη έρευνα.

Η πρώτη έρευνα έγινε το 1981 από τους J.S. Owen, R.A Hutton, R.C. Day, K.R. Bruckdorfer και N. McIntyre και αφορούσε τη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων και την ικανότητά τους για συσσώρευση σε ασθένειες του ήπατος.

34 άτομα με διάφορες ασθένειες του ήπατος (π.χ. κίρρωση, ηπατίτιδα) και 20 απόλυτα υγιή άτομα συμμετείχαν στην έρευνα ως ασθενείς και ομάδα ελέγχου αντίστοιχα. Μετά από τη συλλογή του αίματος, απομονώθηκαν τα αιμοπετάλια και τα λιποειδή εκχυλίστηκαν με τη μέθοδο Folch et al. Ένα μέρος από τα λιποειδή αυτά χρησιμοποιήθηκε για προσδιορισμό χοληστερόλης και φωσφολιποειδών. Τα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και μετρήθηκαν ως ανόργανος φώσφορος. Στους τελευταίους 18 ασθενείς που μελετήθηκαν η σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων καθορίστηκε με αέρια-υγρή χρωματογραφία, το ίδιο και οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων. Σε κάποια επιπρόσθετα άτομα, μετρήθηκε η σύσταση των φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων σε λιπαρά οξέα. Σ' αυτές τις περιπτώσεις τα γλυκεροφωσφολιποειδή αιθανολαμίνης των διακυλ και πλασμαλογόνου κλασμάτων επεξεργάστηκαν κατάλληλα για τη μετατροπή που πλασμαλογόνου σε λυσοφωσφατιδυλοαιθανολαμίνη. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων μετρήθηκε με νεφελομετρία του πλάσματος πλούσιο σε αιμοπετάλια μετά από 3 λεπτά από την προσθήκη του ADP, αδρεναλίνη, κολλαγόνου, ριστοσετίνη ως συγκολλητικές ουσίες.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε (πίνακας 16.1) ότι η συγκέντρωση χοληστερόλης ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς ενώ το περιεχόμενο φωσφολιποειδών το ίδιο. Σημαντικά αυξημένα στους ασθενείς ήταν και η αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή. Όσον αφορά τη σύσταση των αιμοπεταλίων των ασθενών σε φωσφολιποειδή, παρατηρήθηκε αύξηση στο κλάσμα της PC και μείωση στα κλάσματα PE και SM σε σχέση με τα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων της ομάδας ελέγχου. Η αναλογία PC/SM ήταν σημαντικά αυξημένη στα αιμοπετάλια των ασθενών. Στα ερυθροκύτταρα ηπατοπαθών υπάρχει ένδειξη ότι η μεγάλη ποσότητα χοληστερόλης και PC διαμορφώνονται από τις μη φυσιολογικές λιποπρωτεΐνες του πλάσματος. Η σύσταση σε λιπαρά οξέα των ερυθροκυττάρων είναι επίσης μη φυσιολογική. Στην παρούσα έρευνα όμοιες αλλαγές παρατηρήθηκαν και στη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων και λόγω της συσχέτισής τους με τα ερυθροκύτταρα όσον αφορά την αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή πρέπει ο ίδιος μηχανισμός διαμόρφωσης των

Πίνακας 16.1

Σύσταση των λιπιδίων των ερυθροκυττάρων και αιμοπεταλίων από ασθενείς με ηπατική νόσο και από υγιή άτομα.^a

Αντικείμενο	Χοληστερόλη (nmol/10 ⁷ ερυθροκύτταρα και nmol/10 ⁸ αιμοπετάλια)	Φωσfolιπιδιή	Χοληστερόλη/ Φωσfolιπιδιή (mol/mol)	%φώσφορος ολικών λιπιδίων							
				LPC ^b	SM	PI	PS	PC	PE	PA	
				(mol %)							
Ερυθροκύτταρα											
Υγιείς (20)	3,55±0,24	4,10±0,32	0,87±0,03	1,2±0,4	26,5±1,0	0,5±0,3	13,1±1,1	29,4±1,3	27,5±1,3	1,8±0,5	
Ασθενείς (34)	4,78±0,57 ^e	4,62±0,58 ^e	1,04±0,12 ^e	0,8±0,4 ^d	22,8±3,2 ^e	0,7±0,4	12,0±1,6 ^d	40,7±6,9 ^e	20,9±2,9 ^e	2,1±0,7	
Αιμοπετάλια											
Υγιείς (20)	24,9±4,0	43,6±7,3	0,57±0,02	1,1±0,5	19,1±1,1	2,7±1,1	9,2±1,2	40,2±1,5	27,6±2,3	N.D.	
Ασθενείς (34)	27,8±4,1 ^γ	43,0±6,5	0,65±0,05 ^e	1,2±0,3	16,8±1,1 ^e	2,9±0,9	9,3±1,1	43,5±1,9 ^e	26,2±1,9 ^γ	N.D.	

^a τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι ± S.D. για τον αριθμό των ατόμων που δίνονται στην παρένθεση εκτός από την σύσταση των φωσfolιπιδίων των αιμοπεταλίων όπου μόνο 24 ασθενείς μελετήθηκαν.

^γ P<0,05

^δ P<0,01

^e P<0,001

λιποειδών να ισχύει και για τα αιμοπετάλια. Τα αιμοπετάλια όμως σε αντίθεση με τα ερυθροκύτταρα έχουν την ικανότητα να συνθέτουν φωσφολιποειδή και λιπαρά οξέα, έτσι μπορεί να διατηρούν φυσιολογική σύσταση μεμβράνης υπό την παρουσία μη φυσιολογικών λιποπρωτεϊνών πλάσματος. Στα αιμοπετάλια των ηπατοπαθών παρατηρήθηκαν μειωμένα ποσά αραχιδονικού οξέος (πίνακας 16.2), ενώ η αναλογία του στα κλάσματα φωσφολιπιδίων ήταν μειωμένη (πίνακας 16.3).

Πίνακας 16.2
Σύσταση σε λιπαρά οξέα των αιμοπεταλίων ασθενών με ηπατική νόσο και από υγιή άτομα^α

	% ολικά λιπαρά οξέα						
Ατομα	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	20:3	20:4
	(mol %)						
Υγιής	19,6±3,1	0,7±0,7	24,0±2,9	17,1±1,7	6,1±1,4	1,0±0,3	31,5±4,0
Ασθενείς	22,3±3,2 ^β	1,6±0,8 ^γ	22,1±2,2 ^β	24,5±3,4 ^δ	4,5±0,9 ^δ	1,1±0,5	23,9±3,4 ^δ

^α Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι ± S.D. Υπήρχαν 18 άτομα σε κάθε ομάδα

^β P<0,05

^γ P<0,01

^δ P<0,001

Πίνακας 16.3
Περιεχόμενο αραχιδονικού οξέως στα κυριότερα εξατομικευμένα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων από ασθενείς με ηπατική νόσο και από υγιή άτομα^α

Άτομα (Αρ.)	% Αραχιδονικό οξύ σε λιπαρά οξέα εξατομικευμένων φωσφολιποειδών			
	Διακυλ – PE	Πλασμαλογόνο - PE	PS	PC
	(mol %)			
Υγιής (4)	41,0±3,7	95,1±5,1	18,5±5,7	16,6±2,4
Ασθενείς (7)	33,1±10,3	77,9±15,5	12,3±8,8	12,5±1,9

^α Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέσοι ± S.D.

Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων ήταν μειωμένη και παρατηρήθηκε αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της συσσώρευσης λόγω αδρεναλίνης και την αναλογία χοληστερόλης/φωσφολιποειδών και PC/SM. Αντιθέτως, θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ αραχιδονικού οξέος και συσσώρευσης λόγω αδρεναλίνης (πίνακας 16.4). Η απουσία παραγόντων στο πλάσμα που να προκαλούν μειωμένη συσσώρευση όπως π.χ. αυξημένα προϊόντα διάσπασης ινωδογόνου δηλώνει ότι το ελάττωμα αυτό οφείλεται στο ίδιο το αιμοπετάλιο. Μια εξήγηση της μειωμένης συσσώρευσης μπορεί να είναι η σπληνομεγαλία των ηπατοπαθών που απομακρύνει τα μεγάλα και πιο δραστήρια αιμοπετάλια. Ωστόσο εξετάζοντας αυτή την παράμετρο σε υγιείς και ασθενείς δε βρέθηκε διαφορά στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων τους. Μια άλλη εξήγηση μπορεί να είναι η αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ συσσώρευσης των αιμοπεταλίων λόγω ADP και των αναλογιών χοληστερόλης/φωσφολιποειδών και PC/SM ή η θετική συσχέτιση της συσσώρευσης λόγω ADP με το αραχιδονικό οξύ. Οποιαδήποτε απ' αυτές τις αλλαγές στη

σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων μπορεί να επηρεάσει την αναστολή ή τη διέγερση της συσσώρευσής τους. Η μείωση του αραχιδονικού οξέος κατά 24% στα αιμοπετάλια των ασθενών μπορεί να μείωσε τη διαθεσιμότητά του για σύνθεση TXA₂ και έτσι να οδήγησε στη μείωση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων.

Πίνακας 16.4

Συντελεστές συσχέτισης μεταξύ λιποειδών των αιμοπεταλίων και συσσώρευσης των αιμοπεταλίων σε ασθενείς με ηπατική νόσο.^a

Μεταβλητές (Αρ.)	Βαθμός συντελεστή συσχέτισης Spearman's (r _s)	Σημαντικότητα
Χοληστερόλη, ADP (27)	-0,05	N.S.
Χοληστερόλη, αδρεναλίνη (27)	-0,29	N.S.
C/P, ADP (27)	-0,41	P<0,05
C/P, αδρεναλίνη (27)	-0,41	P<0,05
PC/SM, ADP (23)	-0,25	N.S.
PC/SM, αδρεναλίνη (23)	-0,58	P<0,01
% 20:4 ADP (13)	0,52	P<0,05
% 20:4 αδρεναλίνη (13)	0,70	p<0,01

^a Η συσσώρευση μετρήθηκε ως το μέγιστο ποσοστό μείωσης στην απορρόφηση μέσα σε τρία λεπτά από την προσθήκη ADP ή αδρεναλίνης (τελικές συγκεντρώσεις 2μmol/l) για τον αριθμό των ατόμων που δίνονται στην παρένθεση.

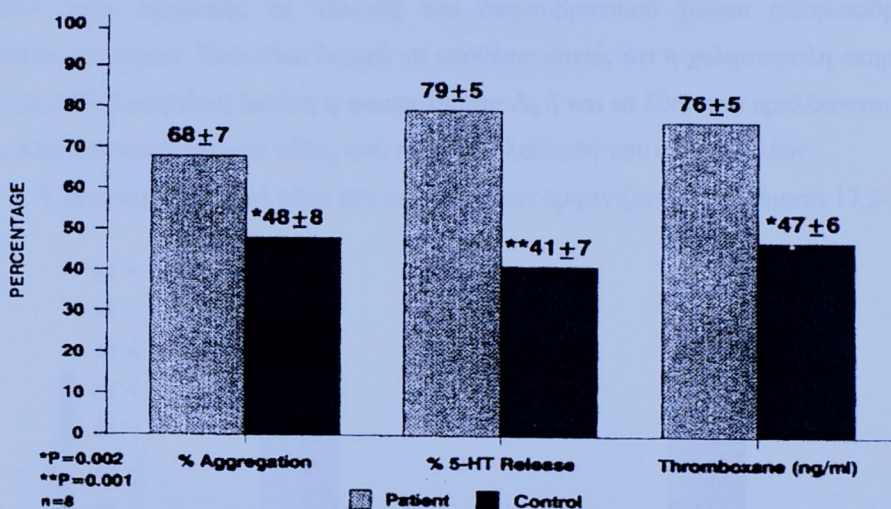
Η επίδραση της σύστασης των λιποειδών των αιμοπεταλίων στη συσσώρευσή τους απαιτεί περισσότερη διερεύνηση. Το ίδιο και η υπόθεση ότι η μειωμένη διαθεσιμότητα αραχιδονικού οξέος εξηγεί αυτή τη μειωμένη συσσώρευση.

Σε μια άλλη έρευνα, μελετήθηκε η λειτουργία των αιμοπεταλίων μετά από διέγερση με θρομβίνη, η σύσταση σε λιπαρά οξέα των φωσφολιποειδών και τα επίπεδα του λιποειδικού περιεχομένου στις ολικές μεμβράνες των αιμοπεταλίων σε υγιή και υπερλιπιδαιμικά άτομα. Πρόκειται για τη μελέτη των N. Chetty και N.H. Naran το 1992.

Μελετήθηκαν 2 ομάδες ατόμων. Η ομάδα 1 αποτελούνταν από 15 υπερλιπιδαιμικούς άρρενες μέσης ηλικίας από 15 έως 44,6 ετών. Η ομάδα 2 αποτελούνταν από 15 υγιή άτομα πρόμοιας ηλικίας, φύλου και φυλής. Όλοι οι συμμετέχοντες είχαν παρόμοιες διαιτητικές συνήθειες και δεν έπαιρναν φάρμακα που να επηρεάζουν τη λειτουργία των αιμοπεταλίων. Από το λιποειδικό προφίλ στον ορό των συμμετεχόντων οι υπερλιπιδαιμικοί ασθενείς είχαν υψηλότερες τιμές τριγλυκεριδίων, ολικής χοληστερόλης και LDL.

Αίμα ολονύκτιας νηστείας συλλέχθηκε από τους συμμετέχοντες προκειμένου να αναλυθούν τα λιποειδή στον ορό και να παραληφθεί το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια. Για τη μελέτη της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων έγινε επισήμανση με [¹⁴C] σεροτονίνη. Για την ανάλυση των λιποειδών χρησιμοποιήθηκε άλλο δείγμα αιμοπεταλίων μη

επισημασμένων με σεροτονίνη. Σε συσσωρευματομέτρο προστέθηκε θρομβίνη στα αιμοπετάλια υπό ανάδευση και προσδιορίστηκε η απελευθέρωση σεροτονίνης. Με ραδιοανοσολογική μέθοδο υπολογίστηκε η παραγωγή θρομβοξάνης. Τα ολικά λιποειδή εκχυλίστηκαν με την μέθοδο των Bligh και Dyer και διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας. Τα φωσφολιποειδή που εκχυλίστηκαν μετά από κατάλληλη κατεργασία μετατράπηκαν σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων οι οποίοι προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας. Τα ουδέτερα λιποειδή εκχυλίστηκαν από τη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας. Για τον προσδιορισμό της χοληστερόλης, των εστέρων χοληστερόλης, της κοπροστανόλης και των τριγλυκεριδίων ακολούθησε αέρια χρωματογραφία με τις ίδιες διαδικασίες που έγιναν και στην επεξεργασία των



Σχήμα 17.1

μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων. Τα αποτελέσματα των ερευνών που έγιναν για τη λειτουργία των αιμοπεταλίων παρουσιάζονται στο σχήμα 17.1.

Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων, η απελευθέρωση σεροτονίνης και η παραγωγή TXB_2 μετά από διέγερση με θρομβίνη ήταν σημαντικά αυξημένα στους υπερλιπιδαιμικούς ασθενείς σε σχέση με την ομάδα ελέγχου.

Η σύσταση των αιμοπεταλίων σε λιποειδή στις δύο ομάδες των συμμετεχόντων παρουσιάζεται στον πίνακα 17.1.

Πίνακας 17.1

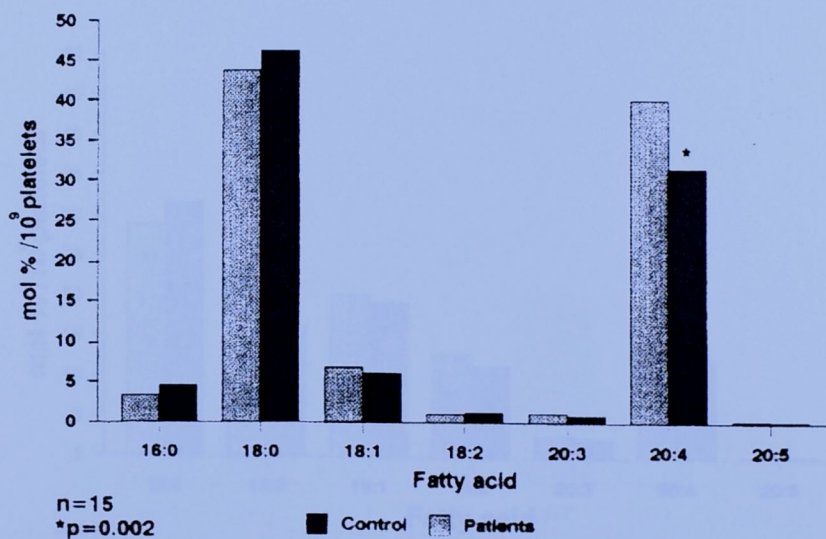
Λιποειδή των αιμοπεταλίων σε 15 υπερλιπιδεμικούς ασθενείς και 15 υγιή άτομα ελέγχου.

	Φωσφολιποειδή	Χοληστερόλη	Εστέρες χοληστερόλης	Τριγλυκερίδια
ΥΛ – ασθενείς	678,56±330,96	292,61±58,70	91,17±35,43	46,03±22,59
Άτομα - ελέγχου	385,89±203,72	246,87±49,76	59,84±32,38	26,43±10,79
Τιμή P	=0,001	=0,01	=0,002	=0,002

Όλες οι τιμές εκφράζονται ως nM/10⁹ αιμοπετάλια. Οι τιμές σε μέσο ±S.D.

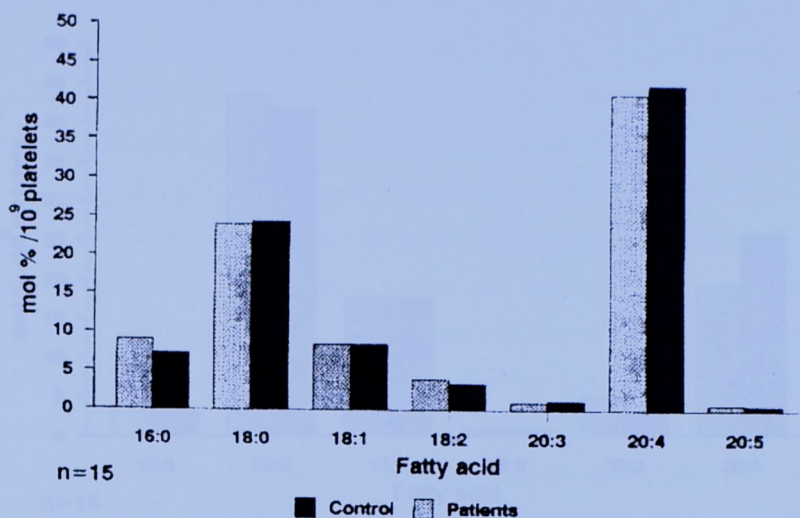
Οι τιμές των φωσφολιποειδών, χοληστερόλης, εστέρων χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων ήταν σημαντικά αυξημένες στα αιμοπετάλια των υπερλιπιδαιμικών ασθενών σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Η αύξηση της χοληστερόλης στα αιμοπετάλια μπορεί να είναι αρκετή για να προκαλέσει την αυξημένη αντίδραση των αιμοπεταλίων, εφόσον η χοληστερόλη επηρεάζει τη ρευστότητα της μεμβράνης και η δραστικότητα των λιπασών είναι επιρρεπής σε αλλαγές του διαμεμβρανικού χώρου αλληλεπίδρασης λιποειδών και νερού. Έτσι είναι λογικό να υποθέσει κανείς ότι η χοληστερόλη επηρεάζει τα ένζυμα (διγλυκεριδική λιπάση ή φωσφολιπάση A₂ ή και τα δύο) που εμπλέκονται στην απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος από τα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων.

Η σύσταση σε λιπαρά οξέα των αιμοπεταλίων εμφανίζεται στα σχήματα 17.2-17.6.



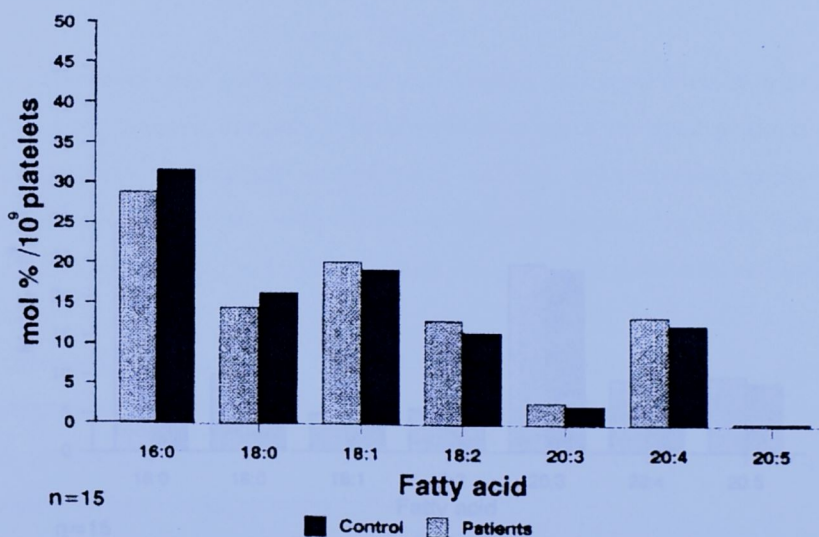
Σχήμα 17.2

Σύσταση σε λιπαρά οξέα των αιμοπεταλίων της ΠΙ σε ΥΛ ασθενείς και άτομα της ομάδας ελέγχου



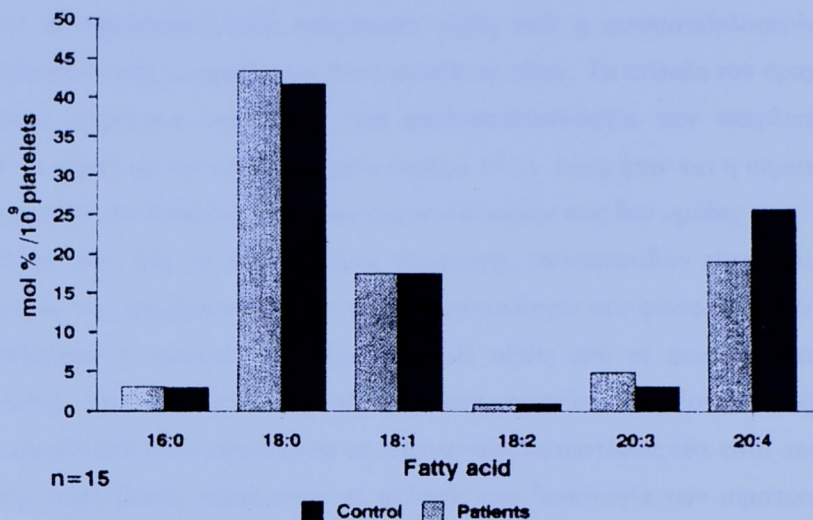
Σχήμα 17.3

Σύσταση σε λιπαρά οξέα των αιμοπεταλίων της PE σε ΥΛ ασθενείς και άτομα της ομάδος ελέγχου



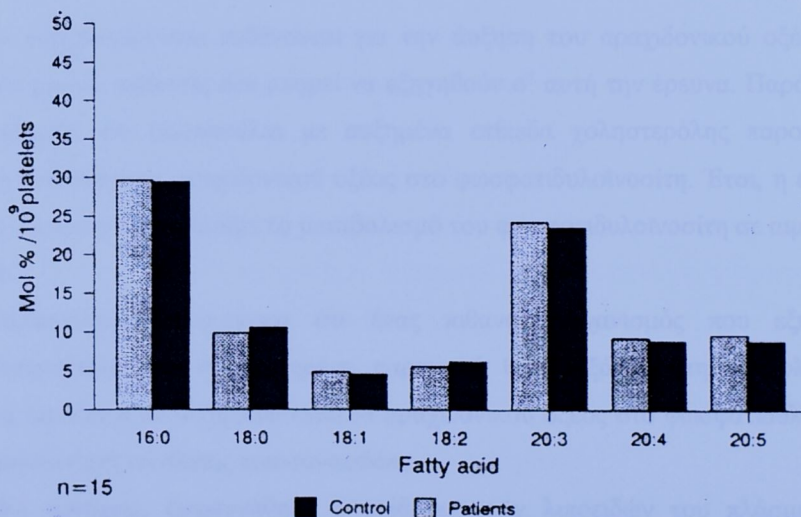
Σχήμα 17.4

Σύσταση σε λιπαρά οξέα των αιμοπεταλίων της PC σε ΥΛ ασθενείς και άτομα της ομάδος ελέγχου



Σχήμα 17.5

Σύσταση σε λιπαρά οξέα των αιμοπεταλίων της PS σε ΥΛ ασθενείς και άτομα της ομάδος ελέγχου



Σχήμα 17.6

Σύσταση σε λιπαρά οξέα των αιμοπεταλίων της SM σε ΥΛ ασθενείς και άτομα της ομάδος ελέγχου

Η φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη και ο φωσφατιδυλοϊονοσίτης περιέχουν τα υψηλότερα ποσά αραχιδονικού οξέος. Η φωσφατιδυλοχολίνη και η σφιγγομυελίνη περιέχουν το υψηλότερο ποσό παλμιτικού οξέος ενώ η φωσφατιδυλοσερίνη και ο φωσφατιδυλοϊονοσίτης το υψηλότερο ποσό στεατικού οξέος. Τα επίπεδα του αραχιδονικού οξέος ήταν σημαντικά υψηλότερα στο φωσφατιδυλοϊονοσίτη των υπερλιπιδαιμικών ασθενών σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (σχήμα 17.2). Αυτή ήταν και η σημαντικότερη διαφορά μεταξύ των λιπαρών οξέων των φωσφολιποειδών στις δύο ομάδες.

Όπως είναι ήδη γνωστό ο ρυθμός παραγωγής εικοσανοειδών εξαρτάται από την κινητοποίηση του αραχιδονικού οξέος και τη δραστηριότητα των φωσφολιπασών που έχει σαν αποτέλεσμα η απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος από τα φωσφολιποειδή. Έχει παρουσιαστεί στο παρελθόν ότι αλλαγές στα επίπεδα αραχιδονικού οξέος στα φωσφολιποειδή που είτε εμφανίζονται σε παθολογικές καταστάσεις είτε είναι αποτέλεσμα διαιτητικής παρέμβασης σχετίζονται με αλλαγές στη λειτουργία των αιμοπεταλίων. Η αυξημένη υπερευαισθησία των αιμοπεταλίων στους υπερλιπιδαιμικούς ασθενείς είναι πιθανόν να οφείλεται στα αυξημένα επίπεδα αραχιδονικού οξέος στο φωσφατιδυλοϊονοσίτη. Είναι ένας επιπλέον μηχανισμός που εξηγεί την υπερλειτουργία των αιμοπεταλίων και την αυξημένη παραγωγή TXB_2 .

Οι μηχανισμοί που ευθύνονται για την άυξηση του αραχιδονικού οξέος στους υπερλιπιδαιμικούς ασθενείς δεν μπορεί να εξηγηθούν σ' αυτή την έρευνα. Παρόλα αυτά, έχει αποδειχθεί ότι αιμοπετάλια με αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης παρουσιάζουν αυξημένη ενσωμάτωση αραχιδονικού οξέος στο φωσφατιδυλοϊονοσίτη. Έτσι, η αυξημένη χοληστερόλη μπορεί να αλλάζει το μεταβολισμό του φωσφατιδυλοϊονοσίτη σε αιμοπετάλια εν ηρεμία.

Συμπερασματικά φαίνεται ότι ένας πιθανός μηχανισμός που εξηγεί την υπερδραστηριότητα και την αυξημένη παραγωγή θρομβοξάνης στην υπερλιπιδαιμία μπορεί να οφείλεται σε αυξημένα επίπεδα αραχιδονικού οξέος στο φωσφατιδυλοϊονοσίτη, που θεωρείται πηγή σύνθεσης εικοσανοειδών.

Στη συνέχεια, διερευνήθηκε η επίδραση των λιποειδών του πλάσματος στη ρευστότητα της μεμβράνης των αιμοπεταλίων σε υπερτασικούς ασθενείς, προκειμένου να αποκτηθούν πληροφορίες για το ρόλο της υπερχοληστερολαιμίας και της υπερτριγλυκεριδαιμίας στις διαμεμβρανικές αναλογίες των αιμοπεταλίων στην υπέρταση. Πρόκειται για την έρευνα των K.H.L.Q. Sang, M. Mazeaud, C. Astarie, V. Dutanthon, F. Driss και M. Devynck το 1993.

44 ασθενείς (31 άντρες και 13 γυναίκες ηλικίας 34-67 ετών) συμμετείχαν στην έρευνα. Είχαν ήπια ως μέτρια υπέρταση, δεν έπαιρναν φάρμακα που να επηρεάζουν τη λειτουργία των αιμοπεταλίων και δεν είχαν διαιτητικούς περιορισμούς. Υποδιαιρέθηκαν σε 4 ομάδες:

- 14 ασθενείς με χοληστερόλη πλάσματος $< 6,2$ mmol/l και τριγλυκερίδια $< 1,6$ mmol/l (ομάδα Α).
- 16 ασθενείς με χοληστερόλη πλάσματος $> 6,2$ mmol/l και τριγλυκερίδια $< 1,6$ mmol/l (ομάδα Β).
- 9 ασθενείς με χοληστερόλη πλάσματος $> 6,2$ mmol/l και τριγλυκερίδια $> 1,6$ mmol/l (ομάδα C).
- 5 υπερτριγλυκεριδαιμικούς ασθενείς με χοληστερόλη πλάσματος $< 6,2$ mmol/l και τριγλυκερίδια $> 1,8$ mmol/l (ομάδα D).

Οι ασθενείς δεν είχαν αντιυπερτασική θεραπεία για ένα μήνα.

Μετρήθηκε η χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, η HDL και η LDL στο πλάσμα. Παραλήφθηκε το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια στο οποίο έγιναν οι ακόλουθες μετρήσεις:

- Η μέτρηση της ρευστότητας της μεμβράνης. Σε εναιώρημα αιμοπεταλίων προστέθηκαν οι φθορισμομετρικές χρωστικές DPH (1,6-διφαινυλ-1,3,5-εξατρίνιο) και TMA-DPH (1-[4-(τριμεθυλαμινο)-φαινυλ]-6-φαινυλ-1,3,5-εξατρίνιο) για να γίνει η επισήμανση των συστατικών της μεμβράνης. Ακολούθησαν φασματοφθορισμομετρικές μετρήσεις:
- Η μέτρηση της συγκέντρωσης του αιμοπεταλιακού κυτοπλασματικού Ca^{+2} , έγινε με τον φθορισμομετρικό δείκτη Quin-2. Ακολούθησαν φθορισμομετρικές μετρήσεις.
- Η μέτρηση του κυτοπλασματικού αιμοπεταλιακού pH έγινε με φθορισμομετρικό δείκτη BCECF και ακολούθησαν φθορισμομετρικές μετρήσεις.
- Η μέτρηση του περιεχομένου του αιμοπεταλιακού c-AMP έγινε ραδιοανοσολογικά.
- Η μέτρηση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων με προσθήκη ADP ή κολλαγόνου υπολογίστηκε με τη βοήθεια του συσσωρευματομέτρου.
- Η μέτρηση των λιποειδών των αιμοπεταλίων έγινε σε αιμοπετάλια που προετοιμάστηκαν για τη μέτρηση του κυκλικού AMP. Τα ολικά λιποειδή εκχυλίστηκαν με τη μέθοδο Folch. Η χοληστερόλη μεμβράνης υπολογίστηκε ενζυματικά με την οξειδάση χοληστερόλης και τα ολικά φωσφολιποειδή με την τεχνική Rouser.

Τα χαρακτηριστικά των ασθενών παρουσιάζονται στον πίνακα 18.1.

Πίνακας 18.1

Χαρακτηριστικά των λιποειδών των αιμοπεταλίων των υπερτασικών ασθενών που μελετήθηκαν

	Ομάδα Α	Ομάδα Β	Ομάδα Γ	Ομάδα Δ
Ορός (mmol/l)				
Χοληστερόλη	<6,2	>6,2	>6,2	<6,2
Τριγλυκερίδια	<1,6	<1,6	>1,6	>1,8
Αριθμός	14	16	9	5
Λόγος φύλλου(Α/Θ)	9/5	9/7	8/1	5/0
Ηλικία (χρόνια)	52±3	57±2	50±3 ^δ	49±3 ^δ
Δείκτης μάζας σώματος (Kg/m ²)	24,3±1,0	24,2±0,8	27,0±0,8 ^δ	27,1±1,0
Μέση αρτηριακή πίεση (mmHg)	119±3	118±2	126±3 ^δ	118±4

Ορός (mmol/l)

Χοληστερόλη	5,41±0,14	6,84±0,15 ^γ	7,11±0,35 ^γ	5,70±0,19 ^{ε,ζ}
HDL - χοληστερόλη	1,44±0,10	1,74±0,12	1,32±0,10	1,23±0,16
LDL - χοληστερόλη	3,49±0,11	4,69±0,19 ^γ	4,87±0,33 ^γ	3,24±0,25 ^{ε,η}
Τριγλυκερίδια	1,04±0,08	0,84±0,06	2,02±0,12 ^{γ,ε}	2,69±0,38 ^{γ,ε}

Σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων*

Χοληστερόλη (μg/mg πρωτεΐνης)	38±2	49±3 ^β	46±3 ^α	41±4
Φωσφολιποειδή (μg/mg πρωτεΐνης)	124±6	147±10	156±9 ^β	133±3 ^η
C/PL (μοριακός λόγος)	0,64±0,03	0,68±0,03	0,60±0,02	0,60±0,06

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι ±SEM

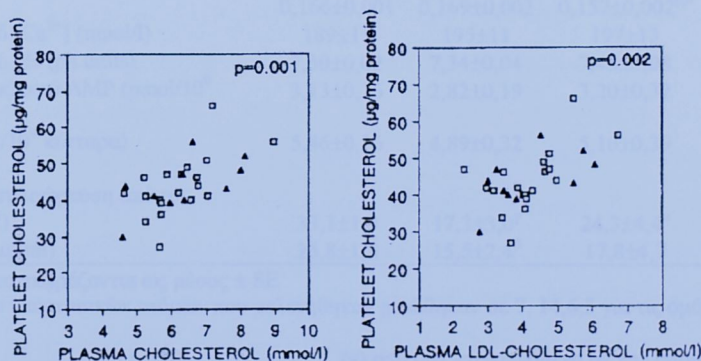
* Οι αριθμοί των ασθενών μειώθηκαν σε 10,10,6 και 3 για τις ομάδες Α, Β, Γ και Δ αντίστοιχα

(α) p<0,05, (β) p<0,01 (γ) p<0,001 συγκρινόμενο με την ομάδα Α

(δ) p<0,05 (ε) p<0,001 συγκρινόμενο με την ομάδα Β

(ζ) p<0,05 (η) p<0,01 συγκρινόμενο με την ομάδα Γ

Τα επίπεδα χοληστερόλης και LDL στο πλάσμα ήταν αυξημένα στις ομάδες Β και Γ σε σχέση με τις ομάδες Α και Δ. Τα τριγλυκερίδια στο πλάσμα ήταν αυξημένα στις ομάδες Γ και Δ. Για να μελετηθεί η επίδραση της χοληστερόλης του πλάσματος στα λιποειδή της μεμβράνης των αιμοπεταλίων, τα λιποειδή αυτά υπολογίστηκαν σε 29 άτομα από τους ασθενείς. Το περιεχόμενο των αιμοπεταλίων σε χοληστερόλη αυξήθηκε στις ομάδες με αυξημένη τη χοληστερόλη και την LDL του πλάσματος. Αυτό φαίνεται και από την θετική συσχέτιση μεταξύ των δύο παραμέτρων (σχήμα 18.1).



Σχήμα 18.1

Το περιεχόμενο των αιμοπεταλίων σε φωσφολιποειδή αυξήθηκε σε ασθενείς με αυξημένη χοληστερόλη και LDL στο πλάσμα ώστε να υπάρχει μια σταθερή αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή (πίνακας 18.1). Αντιθέτως, αυτή η αναλογία μειώθηκε σε ασθενείς με αυξημένα τριγλυκερίδια όπως φαίνεται από την αντίστροφη συσχέτιση αυτών των δύο παραμέτρων (πίνακας 18.2).

Πίνακας 18.2

Συντελεστές συσχέτισης ανάμεσα στα λιποειδή του ορού και τη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων

Ορός	Ολική χοληστερόλη	LDL Χοληστερόλη	HDL Χοληστερόλη	HDL/LDL	Τριγλυκερίδια
Αιμοπετάλια					
Χοληστερόλη	0,602***	0,572**	0,018	-0,234	0,077
Φωσφολιποειδή	0,491**	0,509**	-0,176	-0,384*	0,169
C/PL	0,117	0,085	0,229	0,159	-0,393*

* p<0,05

** p<0,01

*** p<0,001

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές στη ρευστότητα της μεμβράνης μεταξύ των ασθενών των ομάδων Α και Β παρότι ήταν υπερχοληστερολαιμικοί. Όταν όμως εξετάστηκαν μόνο άντρες, η μέση φθορισμομετρική ανισοτροπία του DPH ήταν πιο υψηλή στην ομάδα Β σε σχέση με την ομάδα Α. Έτσι φαίνεται ότι ο εμπλουτισμός των αιμοπεταλίων με χοληστερόλη σχετίζεται με μειωμένη ρευστότητα μεμβράνης. Στην περίπτωση του TMA-DPH δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στις δύο ομάδες (πίνακας 18.3).

Πίνακας 18.3

Παράμετροι αιμοπεταλίων στους υπερτασικούς ασθενείς που μελετήθηκαν

	Ομάδα Α	Ομάδα Β	Ομάδα Γ	Ομάδα Δ
Ορός (mmol/l)				
Χοληστερόλη	<6,2	>6,2	>6,2	<6,2
Τριγλυκερίδια	<1,6	<1,6	>1,6	>1,8
Ανισοτροπία στους 37° C				
TMA – DPH	0,273±0,002	0,272±0,002	0,268±0,002	0,269±0,005
DPH	0,166±0,001	0,169±0,002	0,157±0,002 ^{β,δ}	0,150±0,004 ^{γ,δ}
Κυτοπλασματικό [Ca ²⁺] (nmol/l)	189±11	195±11	197±13	185±14
Κυτοπλασματικό pH (ph units)	7,30±0,02	7,34±0,04	7,45±0,08	7,42±0,12
Περιεχόμενο κυκλικού AMP (pmol/10 ⁸ κύτταρα)	3,13±0,16	2,82±0,19	3,20±0,32	3,12±0,20
+Ro ₁₅₋₂₀₄₁ (pmol/10 ⁸ κύτταρα)	5,46±0,36	4,89±0,32	5,10±0,39	4,48±0,52
Απάντηση στη συσσώρευση από το:				
- ADP (2 μmol/l)	33,1±1,0	17,3±3,0 ^γ	24,3±4,4 ^α	20,6±8,7 ^α
- Κολλαγόνο (2μg/ml)	25,8±1,8	15,5±2,4 ^β	17,8±4,7	16,6±5,9

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσος ± SE

* Ο αριθμός των υπερτασικών ατόμων που μελετήθηκαν μειώθηκαν σε 9, 14,6,3 για τις ομάδες Α, Β, Γ, Δ αντίστοιχα

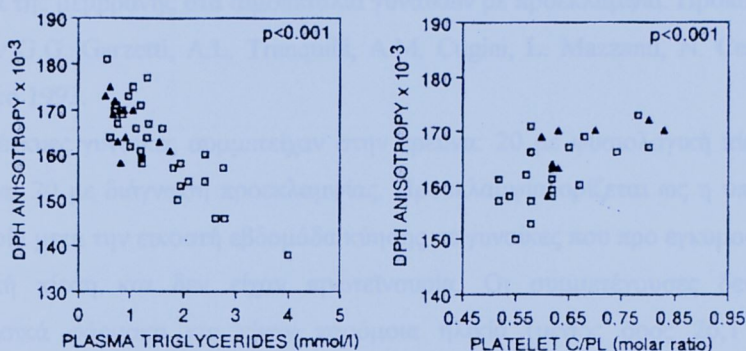
(α) p<0,05

(β) p<0,01

(γ) p<0,001 συγκρινόμενο με την ομάδα Α

(δ) p<0,001 συγκρινόμενο με την ομάδα Β

Πάντως η ρευστότητα της μεμβράνης δεν άλλαξε σημαντικά σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία. Αντίθετα, τα αυξημένα τριγλυκερίδια στο πλάσμα σχετίζονται με αυξημένη ρευστότητα της μεμβράνης. Αυτό φαίνεται από τη μειωμένη φθορισμομετρική ανισοτροπία του DPH στις ομάδες C και D σε σχέση με τις ομάδες A και B. Σε όλες τις ομάδες των ασθενών οι τιμές της φθορισμομετρικής ανισοτροπίας του DPH συσχετίστηκαν αντιστρόφως με τα τριγλυκερίδια στο πλάσμα (σχήμα 18.2). Στην περίπτωση του TMA-DPH δεν παρατηρήθηκαν διαφορές της ρευστότητας σε σχέση με τα τριγλυκερίδια στο πλάσμα.



Σχήμα 18.2

Έτσι συμπεραίνει κανείς ότι η υπερχοληστερολαιμία δεν είναι ο κύριος παράγοντας που επηρεάζει τις δυναμικές αναλογίες της μεμβράνης όπως φαίνονται από το DPH. Η τροποποίηση της ρευστότητας της μεμβράνης συσχετίζεται με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα. Αξίζει να αναφερθεί ότι η φθορισμομετρική ανισοτροπία του DPH συσχετίστηκε θετικά με την αναλογία χοληστερόλης/φωσφολιπιδίων. Από τις άλλες μετρήσεις που έγιναν βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις του κυτοπλασματικού Ca^{+2} και το περιεχόμενο κυκλικού AMP δεν διέφερε σημαντικά στις διάφορες ομάδες. Το κυτοπλασματικό pH συσχετίστηκε θετικά με τα τριγλυκερίδια στο πλάσμα: τα επίπεδα του c-AMP των αιμοπεταλίων είναι αντιστρόφως ανάλογα με το λόγο χοληστερόλη/φωσφολιπιδίου. Ωστόσο, αυτή η τάση δεν παρουσιάστηκε μετά από αναστολή των φωσφοδιεστερασών των αιμοπεταλίων με $\text{R}_{015-2041}$. Έτσι, υποθέτει κανείς ότι η συσχέτιση μεταξύ των λιπιδίων των αιμοπεταλίων και του cAMP οφείλεται μάλλον στη δραστικότητα των φωσφοδιεστερασών και όχι στην αδενυλική κυκλάση. Όταν συγκρίθηκαν τα αιμοπετάλια των υπερχοληστερολαιμικών ή/και των υπερτριγλυκεριδικών ασθενών με τα αιμοπετάλια υγιών ατόμων, παρουσιάστηκε μειωμένη δραστικότητα στη συσσώρευση που προκαλείται από το ADP και το κολλαγόνο (πίνακας 18.3).

Η παρούσα έρευνα δείχνει ότι σε μη θεραπευμένους υπερτασικούς ασθενείς η υπερχοληστερολαιμία σχετίζεται με αυξημένο περιεχόμενο χοληστερόλης των αιμοπεταλίων χωρίς όμως σημαντικές αλλαγές στην αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή ή στη ρευστότητα της μεμβράνης. Αντίθετα, η υπερτριγλυκεριδαμία συνοδεύεται από αλλαγές στις δυναμικές αναλογίες της μεμβράνης. Η σχέση μεταξύ τριγλυκεριδίων στο πλάσμα και δυναμικών αναλογιών της μεμβράνης των αιμοπεταλίων χρειάζεται εκτενέστερη μελέτη.

Στη συνέχεια, μελετήθηκε η σύσταση των λιποειδών, η υπεροξειδωσή τους και η ρευστότητα της μεμβράνης στα αιμοπετάλια γυναικών με προεκλαμψία. Πρόκειται για την έρευνα των G.G. Garzetti, A.L. Tranquilli, A.M. Cugini, L. Mazzanti, N. Cester, και C. Romanini, το 1993.

40 έγκυες γυναίκες συμμετείχαν στην έρευνα: 20 με φυσιολογική πίεση (ομάδα ελέγχου) και 20 με διάγνωση προεκλαμψίας. Προεκλαμψία ορίζεται ως η υπέρταση και πρωτεϊνουρία μετά την εικοστή εβδομάδα κύησης σε γυναίκες που προ εγκυμοσύνης είχαν φυσιολογική πίεση και δεν είχαν πρωτεϊνουρία. Οι συμμετέχουσες δεν έπαιρναν αντιυπερτασικά φάρμακα και είχαν παρόμοια ηλικία (μέσος όρος 26,1 ετών) και βρίσκονταν μεταξύ 28ης και 32ης εβδομάδας κύησης.

Πλάσμα με μεμβράνες αιμοπεταλίων παραλήφθηκε με τη μέθοδο του Enouf et al. Τα λιποειδή των μεμβρανών των αιμοπεταλίων παραλήφθηκαν με τη μέθοδο Folch et al. Η συγκέντρωση χοληστερόλης υπολογίστηκε με τη μέθοδο του Zak και τα ολικά φωσφολιποειδή όπως περιέγραψε ο Barlett. Τα λιπαρά οξέα ανιχνεύθηκαν με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας και εξετάστηκαν για μεθυλιωμένους εστέρες. Τα υπεροξειδιωμένα λιποειδή υπολογίστηκαν ως συζευγμένα διένια ανά mg πρωτεΐνης. Η ρευστότητα της μεμβράνης υπολογίστηκε με φθορισμομετρική εκπόλωση χρησιμοποιώντας DPH ως μετρική χρώση. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στον πίνακα 19.1.

Η συγκέντρωση χοληστερόλης ήταν σημαντικά αυξημένη στις μεμβράνες των αιμοπεταλίων των γυναικών με προεκλαμψία. Η συγκέντρωση των φωσφολιποειδών δεν άλλαξε. Έτσι, η αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή ήταν αυξημένη. Αυξημένα ήταν και τα ακόρεστα λιπαρά οξέα στις εγκύους με προεκλαμψία. Σ' αυτή την ομάδα και τα συζευγμένα διένια ήταν σημαντικά αυξημένα. Ωστόσο, η εκπόλωση του διπλού στρώματος της μεμβράνης ήταν σημαντικά μειωμένη στα αιμοπετάλια των ασθενών με προεκλαμψία.

Πίνακας 19.1

Συγκεντρώσεις λιποειδών υπεροξειδίων και διαπερατότητα της μεμβράνης των αιμοπεταλίων εγκύου γουναίκας

	Φυσιολογικής πίεσης	Προεκλαμπτική	P
	20	20	<0,001
Χοληστερόλη (nmol/mg πρωτεΐνης)	102,8±4,6	128,1±5,3	MΣ
Φωσφολιποειδή (nmol/mg πρωτεΐνης)	171,4±3,2	173,1±3,7	<0,001
Χοληστερόλη/Φωσφολιποειδή (mol/mol)	0,60±0,06	0,74±0,07	<0,001
Μή κορεσμένα/κορεσμένα λιπαρά οξέα (mol/mol)	0,27±0,03	0,49±0,03	<0,001
Λιποειδή υπεροξειδία (nmol/mg πρωτεΐνης)	1,58±0,11	2,88±0,19	<0,001
Διαπερατότητα μεμβράνης (I/diphenylhexatriene polarization)	3,356±0,025	3,584±0,055	<0,001

MΣ Μή σημαντικό

Τα δεδομένα παρουσιάζονται σαν μέσες τιμές ±SD

Τα ευρήματα της έρευνας δείχνουν ότι μια δομική ανωμαλία της μεμβράνης των αιμοπεταλίων συνοδεύει την προεκλαμψία. Η αυξημένη χοληστερόλη και η αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή αποδεικνύει μια ανακατανομή της σύστασης των λιποειδών των αιμοπεταλίων. Σ' αυτή την ανακατανομή μπορεί να οφείλονται βλάβες σε συγκεκριμένες λειτουργίες, όπως τη μεταφορά ιόντων μέσα από τη μεμβράνη που έχει παρατηρηθεί σε υπερτασικές εγκύους. Η αλλαγή στη δομή της μεμβράνης μπορεί επίσης να ευνοεί τη συσσώρευση και καταστροφή των αιμοπεταλίων, αυξάνοντας την απελευθέρωση των παραγώγων του αραχιδονικού οξέος, τα οποία μπορεί να προκαλούν κατατροφή των αγγείων.

Τα προϊόντα υπεροξειδωσής των λιποειδών, εκτός από το να αναστέλλουν τη σύνθεση προστακυκλίνων, διεγείρουν την καταστροφή του λείου μυός. Η καταστροφή των αγγείων έτσι μπορεί να επιδεινώσει την υπέρταση μέσω ισχαιμικού τραυματισμού των κυττάρων και ακόλουθη υπεροξειδωσής δημιουργώντας έτσι ένα φαύλο κύκλο. Ωστόσο, η αύξηση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης δεν βρίσκεται σε συμφωνία με την αύξηση της ρευστότητας της μεμβράνης των αιμοπεταλίων καθώς η χοληστερόλη αυξάνει την ακαμψία της μεμβράνης των αιμοπεταλίων. Είναι δυνατόν, όμως, οι ποσοτικές αλλαγές στη σύσταση των φωσφολιποειδών να εξηγούν το αποτέλεσμα του υψηλού περιεχομένου της χοληστερόλης. Η αυξημένη συγκέντρωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων στη μεμβράνη αυξάνει το υπόστρωμα για υπεροξειδωσής και αυξάνει τη ρευστότητα της μεμβράνης. Ωστόσο, κάποια άλλα κύτταρα όπως τα περιαρτηριακά μυοκύτταρα, των

οποίων τα αιμοπετάλια αντιπροσωπεύουν τα κυκλοφορούντα πειραματικά μοντέλα, έχουν παρόμοιες αλλαγές, συνεισφέροντας έτσι στην παθοφυσιολογία της προεκλαμψίας. Είναι γεγονός ότι η δυσλειτουργία ενδοθηλιακών κυττάρων που σχετίζεται με την υπέρταση στην εγκυμοσύνη, μπορεί να προέρχεται από οξειδωτικό στρες.

Εγκυμοσύνη και προεκλαμψία είναι καταστάσεις που αυξάνουν το εσωτερικό οξειδωτικό στρες των κυττάρων. Η αυξημένη δραστηριότητα ελεύθερων ριζών ή η μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα μπορεί να συνεισφέρουν σ' αυτό. Όποια και αν είναι η αιτία, η εμπλοκή της μεμβράνης των αιμοπεταλίων επιβεβαιώνει το ρόλο της κυτταρικής καταστροφής για το ξεκίνημα και την ανάπτυξη των ασθενειών της υπέρτασης στην εγκυμοσύνη.

Με την τροποποιημένη ρευστότητα και τη σύσταση των λιποειδών σε λιποπρωτεΐνες και τις μεμβράνες των αιμοπεταλίων σε διαβητικούς ασθενείς ασχολείται η επόμενη μελέτη. Πρόκειται για έρευνα των R.A. Rabini, G. Ferretti, R. Galassi, M. Taus, G. Guratolo, A. Tangora, P. Fumelli και L. Mazzanti το 1994.

Στην έρευνα συμμετείχαν 12 άντρες με ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη (IDDM) ηλικίας 25 ± 5 ετών και 14 άντρες με μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη (NDDM) ηλικίας 44 ± 7 ετών καθώς και 26 υγιείς άντρες παρόμοιας ηλικίας. Οι ασθενείς με NIDDM ακολουθούσαν μόνο δίαιτα ως θεραπεία, ενώ οι ασθενείς με IDDM ακολουθούσαν αγωγή με ινσουλίνη. Μετά την επιλογή τους όλοι οι συμμετέχοντες ακολούθησαν την παρακάτω δίαιτα για δύο μήνες:

- 22-24% λίπη
- Κορεσμένα/ μονοακόρεστα/ πολυακόρεστα λιπαρά οξέα σε αναλογία 1/1/1
- Χοληστερόλη < 300 mg / ημέρα
- 25-26% πρωτεΐνες και
- 51-52% υδατάνθρακες

Μετά από αυτούς τους δύο μήνες έγινε η συλλογή του αίματος για την απομόνωση των λιποπρωτεϊνών και των αιμοπεταλίων. Επίσης, έγινε και ο προσδιορισμός των ακόλουθων παραμέτρων: HbA1c και τριγλυκερίδια, χοληστερόλη, HDL-χοληστερόλη και φωσφολιποειδή στο πλάσμα.

Οι λιποπρωτεΐνες απομονώθηκαν κατάλληλα με υπερφυγοκέντρηση. Η ολική χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια των λιποπρωτεϊνών υπολογίστηκαν με ενζυματικές μεθόδους και τα φωσφολιποειδή με τη μέθοδο Barlett. Η συγκέντρωση της πρωτεΐνης των λιποπρωτεϊνών υπολογίστηκε με τη μέθοδο Lowry et al.

Παραλήφθηκε το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια και ακολούθησε βιοχημικός και ανοσολογικός χαρακτηρισμός των μεμβρανών των αιμοπεταλίων στο πλάσμα σύμφωνα με τη διαδικασία που ακολούθησε ο Epouf. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης χοληστερόλης, φωσφολιποειδών και πρωτεϊνών έγινε με τις διαδικασίες που περιγράφηκαν για τις λιποπρωτεΐνες. Η ρευστότητα των λιποπρωτεϊνών και των μεμβρανών των αιμοπεταλίων υπολογίστηκε με τη φθορισμομετρική εκπόλωση με probe DPH.

Η μελέτη των συγκεντρώσεων των λιποεδών στο πλάσμα δεν έδειξε σημαντικές αλλαγές μεταξύ των ασθενών και των υγιών ατόμων (πίνακας 20.1). Υψηλότερη ρευστότητα παρατηρήθηκε στην VLDL λιποπρωτεΐνη σε σχέση με τις LDL και HDL (πίνακας 20.2). Συγχρόνως, εμφανίστηκε μείωση της εκπόλωσης άρα υψηλότερη ρευστότητα στην LDL των NIDDM ασθενών σε σχέση με τους IDDM ασθενείς και την ομάδα ελέγχου. Η μελέτη της σύστασης των λιποπρωτεϊνών (πίνακας 20.3) παρουσίασε τις ακόλουθες τροποποιήσεις: i) μειωμένο ήταν το περιεχόμενο πρωτεΐνης στην VLDL των IDDM ασθενών σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ii) το περιεχόμενο τριγλυκεριδίων ήταν σημαντικά αυξημένο σε όλες τις λιποπρωτεΐνες των IDDM και NIDDM ασθενών σε σχέση την ομάδα ελέγχου και τέλος, iii) το περιεχόμενο φωσφολιποειδών ήταν σημαντικά μειωμένο στην HDL των διαβητικών ασθενών σε σχέση με την ομάδα ελέγχου.

Πίνακας 20.1

Επίπεδα HbA1c και συγκεντρώσεις λιποειδών του πλάσματος σε υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου) και ασθενείς με IDDM και NIDDM

	Ομάδα ελέγχου (n=26)	NIDDM (n=24)	IDDM (n=12)
HbA1c (%)	4,9±0,6	8,1±0,8 ^a	9,1±1,3 ^a
Ολική χοληστερόλη (mmol/L)	4,0±4,93	4,79±1,01	4,37±0,54
HDL χοληστερόλη (mmol/L)	1,14±0,39	1,04±0,41	1,06±0,44
Τριγλυκερίδια (mmol/L)	1,37±0,32	1,78±0,55	1,40±0,25

Παρουσιάζεται η μέση τιμή ± η στατιστική απόκλιση

^a p<0,01

Πίνακας 20.2

Ρευστότητα των λιποπρωτεϊνών σε υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου) και ασθενείς με IDDM και NIDDM

	Ομάδα ελέγχου (n=26)	NIDDM (n=14)	IDDM (n=12)
Ρευστότητα VLDL (P)	0,205±0,018	0,195±0,021	0,203±0,028
Ρευστότητα LDL (P)	0,342±0,015	0,301±0,018 ^a	0,336±0,021
Ρευστότητα HDL (P)	0,302±0,011	0,291±0,021	0,305±0,027

Η διαπερατότητα των λιποπρωτεϊνών εκφράζεται ως φθορισμομετρική εκπόλωση P του probe DPH

Παρουσιάζεται η μέση τιμή ± η στατιστική απόκλιση

^a p<0,01

Πίνακας 20.3

Ποσοστιαία σύσταση (βάρος %) των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος σε υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου) και ασθενείς με IDDM και NIDDM

	Πρωτεΐνες (%)	TG (%)	PL (%)	C (%)
VLDL				
Ομάδα ελέγχου	25±7	41±8	18±7	16±9
IDDM	9±5 ^a	57±7 ^a	16±5	18±9
NIDDM	14±9	56±4 ^a	15±8	15±6
LDL				
Ομάδα ελέγχου	29±7	4±2	21±6	46±7
IDDM	15±8 ^a	14±8 ^a	23±4	48±6
NIDDM	26±11	15±8 ^a	21±7	38±10
HDL				
Ομάδα ελέγχου	49±9	2±1	28±4	21±7
IDDM	49±7	10±5 ^a	19±3 ^a	22±10
NIDDM	52±7	12±4 ^a	18±4 ^a	18±6

Παρουσιάζονται η μέση τιμή ± SD. TG, Τριγλυκερίδια; PL, φωσφολιπιδιό;

C, χοληστερόλη.

^a p<0,05

Όσον αφορά τις συσχετίσεις μεταξύ της φθορισμομετρικής εκπόλωσης και της χημικής σύστασης των λιποπρωτεϊνών παρατηρήθηκαν τα εξής (πίνακας 20.4):

Πίνακας 20.4

Συσχετίσεις μεταξύ φθορισμομετρικής εκπόλωσης του DPH και της σύστασης των λιπιδίων σε λιποπρωτεΐνες που απομονώθηκαν από διάφορες ομάδες.

	Ομάδα ελέγχου (n=26)	NIDDM (n=14)	IDDM (n=12)
VLDL			
TG/πρωτεΐνη	-0,52 ^a	-0,11	-0,06
TG/PL	-0,48 ^β	-0,61 ^β	-0,59 ^β
C/TG	0,48 ^β	0,39	0,40
LDL			
TG/πρωτεΐνη	-0,51 ^a	-0,04	-0,12
TG/PL	-0,49 ^a	-0,62 ^β	-0,61 ^β
C/TG	0,47 ^β	0,20	0,22
HDL			
TG/πρωτεΐνη	-0,58 ^a	-0,07	-0,13
TG/PL	-0,56 ^a	-0,56 ^β	-0,57 ^β
C/TG	0,41 ^β	0,23	0,19

Παρουσιάζεται ο συντελεστής συσχέτισης r

TG, Τριγλυκερίδια; PL, φωσφολιπιδιό; C, χοληστερόλη.

^a p<0,01^β p<0,05

- μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ της φθορισμομετρικής εκπόλωσης και της αναλογίας τριγλυκερίδια/φωσφολιποειδή στις VLDL, LDL και HDL και των τριών ομάδων που μελετήθηκαν.
- μια σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ της φθορισμομετρικής εκπόλωσης και της αναλογίας τριγλυκερίδια/πρωτεΐνη στις VLDL, LDL και HDL της ομάδας ελέγχου
- θετική συσχέτιση μεταξύ της αναλογίας χοληστερόλη/τριγλυκερίδια και της φθορισμομετρικής εκπόλωσης στις VLDL, LDL και HDL της ομάδας ελέγχου. Δεν παρατηρήθηκαν άλλες συσχετίσεις.

Όσον αφορά τα αιμοπετάλια παρατηρήθηκε υψηλότερη ρευστότητα και αυξημένη συγκέντρωση φωσφολιποειδών στις μεμβράνες των αιμοπεταλίων των διαβητικών ασθενών σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (πίνακας 20.5). Το περιεχόμενο της μεμβράνης των αιμοπεταλίων σε χοληστερόλη ήταν παρόμοιο στις τρεις ομάδες που μελετήθηκαν.

Πίνακας 20.5

	Ελέγχου (n=26)	NIDDM (n=14)	IDDM (n=12)
Διαπερατότητα (P)	0,219±0,005	0,176±0,006 ^a	0,178±0,007 ^a
Χοληστερόλη μεμβράνης (nmol/mg πρωτεΐνης)	123,2±5,4	126,4±6,7	129,8±8,3
Φωσφολιποειδή μεμβράνης (nmol/mg πρωτεΐνης)	161,3±6,7	198,2±5,4 ^a	196,8±5,0 ^a

Παρουσιάζονται η μέση τιμή ± στατιστική διακύμανση

^a p<0,01

Όπως είναι γνωστό, τα αιμοπετάλια δεν μπορούν να βιοσυνθέσουν τα λιποειδή της μεμβράνης και είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε αλλαγές των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος. Ωστόσο, στην παρούσα έρευνα εμφανίστηκαν αλλαγές στη ρευστότητα της μεμβράνης μόνο στην LDL των NIDDM ασθενών ενώ σύνθετες ήταν οι αλλαγές αυτές για τις άλλες λιποπρωτεΐνες. Αυτό ίσως να εξηγείται από την διαφορετική τοποθέτηση του DPH στις διάφορες λιποπρωτεΐνες. Μια από τις κύριες αιτίες της τροποποιημένης ρευστότητας των λιποπρωτεϊνών είναι το υψηλό περιεχόμενο τριγλυκεριδίων σε σχέση με τα φωσφολιποειδή στις VLDL, LDL και HDL των διαβητικών. Καθώς, μάλιστα, έχει αποδειχθεί ότι η LDL διαβητικών ασθενών αυξάνει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων λόγω θρομβίνης, μπορεί να υποθέσει κανείς ότι η μη φυσιολογική αλληλεπίδραση μεταξύ LDL και αιμοπεταλίων οφείλεται στην υψηλότερη ρευστότητα της επιφάνειας της λιποπρωτεΐνης (LDL) που παρατηρήθηκε στους NIDDM ασθενείς. Παρόλα αυτά, τα αιμοπετάλια των IDDM ασθενών παρουσίασαν αυξημένη ρευστότητα υπό την παρουσία της LDL δείχνοντας καμία αλλαγή στις επιφανειακές φυσικοχημικές αναλογίες της

μεμβράνης τους. Έτσι συμπεραίνει κανείς ότι η συσχέτιση μεταξύ ανωμαλιών των λιποπρωτεϊνών και τροποποιήσεων στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων δεν εξηγείται από αλλαγές στη ρευστότητα της LDL. Είναι απαραίτητη περισσότερη έρευνα για να εξακριβωθεί ο ρόλος των λιποπρωτεϊνών στην τροποποίηση της λειτουργίας των αιμοπεταλίων στον σακχαρώδη διαβήτη.

Στην επόμενη έρευνα μελετήθηκε η σχέση μεταξύ των επιπέδων χοληστερόλης στο αίμα και της σύστασης των λιποειδών των αιμοπεταλίων. Πρόκειται για τη μελέτη των Y. Levy, Y. Gimpel, L. Abutbul, E. Hochgraf και U. Cogan το 1994.

Τρεις ομάδες ατόμων συμμετείχαν στην έρευνα:

- 13 άτομα (6 γυναίκες και 7 άντρες) με υπερχοληστερολαιμία, μέσης ηλικίας 40 ± 9 ετών, και χοληστερόλη αίματος $9,17 \pm 2,15$ mmol/l
- 5 άτομα (1 γυναίκα και 4 άντρες) με υποχοληστερολαιμία, μέσης ηλικίας 37 ± 11 ετών, και χοληστερόλη αίματος $3,29 \pm 1,01$ mmol/l και
- 11 άτομα (7 γυναίκες και 4 άντρες) ως ομάδα ελέγχου, μέσης ηλικίας 45 ± 13 ετών και χοληστερόλη αίματος $5,49 \pm 0,89$ mmol/l

Παραλήφθηκε το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια μετά από 14ωρη νηστεία. Τα λιποειδή των αιμοπεταλίων εκχυλίστηκαν με χλωροφόρμιο-μεθανόλη και υπολογίστηκαν τα φωσφολιποειδή, η χοληστερόλη και η πρωτεΐνη. Για να υπολογιστεί η αναλογία φωσφατιδυλοχολίνη/σφιγγομυελίνη, τα εκχυλίσματα λιποειδών των αιμοπεταλίων διαχωρίζονταν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και ακολουθούσε προσδιορισμός φωσφόρου στα διαχωρισμένα κλάσματα.

Στον πίνακα 21.1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της έρευνας.

Πίνακας 21.1

Σύνθεση σε λιποειδή των αιμοπεταλίων ανάλογα με την χοληστερόλη του αίματος

Ομάδα	C	PL	C/PL	PC/SM
YX (n=13)	$0,22 \pm 0,04^*$	$0,30 \pm 0,04$	$0,74 \pm 0,06^*$	$1,76 \pm 0,18^*$
ΥΠΟΧ (n=5)	$0,15 \pm 0,02^*$	$0,30 \pm 0,04$	$0,53 \pm 0,06^*$	$0,80 \pm 0,18^*$
ΦΕ (n=11)	$0,18 \pm 0,01$	$0,31 \pm 0,03$	$0,59 \pm 0,04$	$2,04 \pm 0,18$

* $p < 0,01$ συγκρινόμενο με τους ΦΕ, όλα τα αποτελέσματα σε μέσες τιμές $\pm$ SD

YX: Υπερχοληστεριναιμία, ΥΠΟΧ: Υποχοληστερολαιμία, ΦΕ: φυσιολογικοί έλεγχοι

C και PL: Χοληστερόλη και φωσφολιποειδή σε $\mu\text{mol/mg}$ πρωτεΐνης

C/PL και PC/SM: παριστούν μοριακούς λόγους

Ενώ το περιεχόμενο φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων έμεινε σταθερό, το περιεχόμενο χοληστερόλης αντικατόπτριζε τη χοληστερόλη αίματος. Έτσι, η έρευνα αποδεικνύει ότι η σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων εξαρτάται από το επίπεδο χοληστερόλης στο αίμα. Η υπερχοληστερολαιμία συνοδεύεται από αυξημένο περιεχόμενο

χοληστερόλης των αιμοπεταλίων, ενώ η υποχοληστερολαιμία μειωμένο. Με τον ίδιο τρόπο επηρεάστηκε και η αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή. Η αύξησή τους στους υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς είναι πιθανά υπεύθυνη για αλλαγές στις δυναμικές αναλογίες της μεμβράνης των αιμοπεταλίων επηρεάζοντας τις διαδικασίες που οδηγούν σε συσσώρευση. Το ίδιο ισχύει και για τη μείωση της αναλογίας χοληστερόλη/φωσφολιποειδή.

Μείωση παρατηρήθηκε και στην αναλογία φωσφατιδυλοχολίνη/ σφιγγομυελίνη στις δύο ομάδες των ατόμων με υπο- και υπερχοληστερολαιμία. Γνωρίζοντας ότι η σφιγγομυελίνη συντελεί στην ακαμψία της μεμβράνης ενώ η φωσφατιδυλοχολίνη στη ρευστότητα, η μείωση της αναλογίας τους αναμένεται να προκαλέσει αύξηση της ρευστότητας της μεμβράνης των αιμοπεταλίων.

Οι λόγοι των αλλαγών στη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων λόγω χοληστερόλης δεν είναι ξεκάθαροι. Όποιος, όμως, και να 'ναι ο μηχανισμός, είναι φανερό ότι οι ακραίες συγκεντρώσεις χοληστερόλης στο αίμα μπορεί να επηρεάσουν την αιμόσταση. Προγραμματίζεται περισσότερη έρευνα προκειμένου να συσχετιστεί η συγκέντρωση της χοληστερόλης με τις δυναμικές αναλογίες και ενζυματικές λειτουργίες των αιμοπεταλίων.

Τη ρευστότητα της μεμβράνης των αιμοπεταλίων, το περιεχόμενό της σε λιποειδή καθώς και το κυτοπλασματικό περιεχόμενο ασβεστίου των αιμοπεταλίων ατόμων με αγγειακή αθηροσκληρωματική νόσο (A.A.N.) μελέτησαν οι ερευνητές G. Caimi, R. Lo Presti, M. Montana, B. Canino, G. Ventimiglia, A. Catania και A. Sarno το 1994.

23 άτομα (12 άντρες και 11 γυναίκες, μέσης ηλικίας $58 \pm 5,1$ ετών) με A.A.N. και 20 υγιή άτομα (12 άντρες, 8 γυναίκες ηλικίας 24-44 ετών) συμμετείχαν στην έρευνα. Οι ασθενείς είχαν τις ακόλουθες εργαστηριακές εξετάσεις:

- γλυκόζη αίματος: $90 \pm 13,06$ mg/dl
- χοληστερόλη ορού: $203,29 \pm 31,14$ mg/dl
- τριγλυκερίδια ορού: $123,00 \pm 51,23$ mg/dl

χωρίς σακχαρώδη διαβήτη ή δυσλιπιδαιμία.

Μετά από συλλογή αίματος 12ωρης ολονύκτιας νηστείας, παραλήφθηκε το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια. Η ρευστότητα της μεμβράνης υπολογίστηκε με φθορισμομετρική ανίχνευση του TMA-DPH χρησιμοποιώντας ένα spectrophotofluorimeter. Με φθορισμομετρική ανίχνευση του Fura 2-AM υπολογίστηκε και το περιεχόμενο του κυτοπλασματικού Ca^{+2} των αιμοπεταλίων. Τα ολικά λιποειδή εκχυλίστηκαν με τη μέθοδο Folch's και διαχωρίστηκαν σε ουδέτερα λιποειδή και φωσφολιποειδή με χρωματογραφία

στήλης. Ο διαχωρισμός των ολικών λιποειδών που εκχυλίστηκαν έγινε με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας. Στα διαχωρισμένα κλάσματα φωσφολιποειδών έγινε προσδιορισμός φωσφόρου με τη μέθοδο Hess και Derr. Η συγκέντρωση της ολικής χοληστερόλης βρέθηκε με την Bhandaru τεχνική.

Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής τυγχάνει να είναι και τα συμπεράσματά της:

- Η Α.Α.Ν. σχετίζεται με μείωση της ρευστότητας της μεμβράνης των αιμοπεταλίων σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (πίνακας 22.1).
- Η αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή, η συγκέντρωση των διαχωρισμένων φωσφολιποειδών και του κυτοπλασματικού Ca^{+2} δεν διαφέρει ανάμεσα στις δύο ομάδες (πίνακας 2).
- Στα υγιή άτομα ο βαθμός εκπόλωσης του TMA – DPH σχετίζεται θετικά με την φωσφατιδυλοσερίνη και αρνητικά με τη φωσφατιδυλοχολίνη.
- Σε ασθενείς με Α.Α.Ν. ο βαθμός εκπόλωσης του TMA – DPH δεν σχετίζεται με καμία από τις παραμέτρους του πίνακα 22.2.

Πίνακας 22.1

Μέσοι $\pm$ S.D. του βαθμού εκπόλωσης TMA – DPH σε φυσιολογικά και άτομα με ΑΑΝ

	Φυσιολογικοί	ΑΑΝ
p (TMA – DPH)	0,304 $\pm$ 0,045	0,341 $\pm$ 0,025*
	<0,001	

Πίνακας 22.2

Μέσοι $\pm$ S.D. της C/PL της μεμβράνης των αιμοπεταλίων, τα εξατομικευμένα φωσφολιποειδή και το κυτοπλασματικό περιεχόμενο των αιμοπεταλίων σε Ca^{+2}

	Φυσιολογικοί	ΑΑΝ
C/PL	0,632 $\pm$ 0,089	0,638 $\pm$ 0,187
PC %	39,12 $\pm$ 3,26	38,40 $\pm$ 4,07
SM %	19,27 $\pm$ 2,34	20,95 $\pm$ 3,48
PS %	13,62 $\pm$ 2,42	14,47 $\pm$ 2,96
PE %	27,79 $\pm$ 2,61	26,26 $\pm$ 2,68
Κυτοπλασματικό Ca^{2+} (335nm/385nm)	2,285 $\pm$ 0,541	2,368 $\pm$ 0,421

C=Χοληστερόλη PL=Φωσφολιποειδή PC=Φωσφατιδυλοχολίνη SM=Σφιγγομυελίνη

PS=Φωσφατιδυλοσερίνη PE=Φωσφατιδυλαθανολαμίνη

Συμπερασματικά τα ευρήματα της έρευνας αυτής αποδεικνύουν μια ανωμαλία της microrheology των αιμοπεταλίων: είναι όμως απαραίτητη περισσότερη έρευνα για να διαλευκανθεί αυτή η τροποποίηση των αιμοπεταλίων στην Α.Α.Ν.

Τέλος, μελετήθηκε η ρευστότητα της μεμβράνης των αιμοπεταλίων, το λιποειδικό περιεχόμενό της, καθώς και το περιεχόμενο του πλάσματος σε λιποειδή καθώς και ο συχετισμός αυτών των παραμέτρων-σε λιποειδή σε 4 ομάδες ασθενών σε σακχαρώδη διαβήτη, αγγειακή αθηροσκληρωτική νόσο (Α.Α.Ν.), Α.Α.Ν. με σακχαρώδη διαβήτη και

υπερταση. Πρόκειται για την έρευνα των G. Caimi, R. Lo Presti, M. Montana, B. Canino, A. Serra και A. Catania το 1996.

Συμμετείχαν οι ακόλουθες ομάδες:

- 1) 24 άτομα με σακχαρώδη διαβήτη (μέσης ηλικίας $40,62 \pm 20,30$ ετών, 12 με ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη και 12 με μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη)
- 2) 23 άτομα (μέσης ηλικίας $58,1 \pm 5,1$ ετών) με A.A.N.
- 3) 21 άτομα (μέσης ηλικίας $61,14 \pm 7,97$ ετών) με A.A.N. και με μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη
- 4) 24 άτομα (μέσης ηλικίας $45,8 \pm 10,4$ ετών) με υπέρταση
- 5) 20 υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου)

Αίμα συλλέχθηκε μετά από ολονύκτια νηστεία και παραλήφθηκε το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια. Η ρευστότητα της μεμβράνης υπολογίστηκε με φθορισμομετρική ανίχνευση του TMA – DPH. Τα ολικά λιποειδή εκχυλίστηκαν με τη μέθοδο Folch και διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία στήλης σε ουδέτερα λιποειδή και φωσφολιποειδή. Για τα ουδέτερα λιποειδή το περιεχόμενο της χοληστερόλης (που ήταν κυρίως ελεύθερη χοληστερόλη) υπολογίστηκε με τη μέθοδο Bhandaru. Ενώ για τα φωσφολιποειδή το περιεχόμενο αυτό υπολογίστηκε με τη μέθοδο Hess και Derg. Ο ποσοτικός προσδιορισμός διαχωρισμένων φωσφολιποειδών της μεμβράνης των αιμοπεταλίων έγινε μετά από χρωματογραφία λεπτής στιβάδας με υπολογισμό του P.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής, στην ομάδα 1 η ρευστότητα της μεμβράνης των αιμοπεταλίων δεν διαφέρει μεταξύ διαβητικών και υγιών ατόμων (πίνακας 23.1).

Πίνακας 23.1

Μέσοι $\pm$ S.D. της ρευστότητας της μεμβράνης των αιμοπεταλίων (εκφρασμένη ως βαθμός εκπόλωσης του TMA – DPH) και των παραμέτρων των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε φυσιολογικούς και διαβητικούς

	Φυσιολογικοί	Διαβητικοί
TMA – DPH	$0,304 \pm 0,045$	$0,300 \pm 0,023$
C/PL (μοριακός λόγος)	$0,634 \pm 0,089$	$0,654 \pm 0,092$
PC %	$39,19 \pm 3,26$	$41,95 \pm 3,88^*$
SM %	$19,27 \pm 2,35$	$19,56 \pm 2,69$
PS %	$13,62 \pm 2,42$	$11,58 \pm 2,48^{**}$
PE %	$27,79 \pm 2,61$	$26,89 \pm 3,20$

* $p < 0,05$ σε σχέση με τους φυσιολογικούς

** $p < 0,01$ σε σχέση με τους φυσιολογικούς

C=Χοληστερόλη, PL=Φωσφολιποειδή SM=Σφιγγομυελίνη PS=Φωσφατιδυλσερίνη PC=Φωσφατιδυλχολίνη PE=Φωσφατιδυλαιθανολαμίνη

Το ίδιο ισχύει για την αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή. Αντίθετα, η φωσφατιδυλχολίνη είναι σημαντικά αυξημένη στους διαβητικούς και η

φωσφατιδυλσερίνη μειωμένη. Στους διαβητικούς ο βαθμός εκπόλωσης του TMA – DPH δε συσχετίζεται με την αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή, τα φωσφολιποειδή ή τα λιποειδή του πλάσματος. Στη δεύτερη ομάδα (πίνακας 23.2) μειώθηκε η ρευστότητα της μεμβράνης στους ασθενείς με A.A.N.

Πίνακας 23.2

Μέσοι $\pm$ S.D. της ρευστότητας της μεμβράνης των αιμοπεταλίων (εκφρασμένη ως βαθμός εκπόλωσης του TMA – DPH) και των παραμέτρων των λιπιδίων των αιμοπεταλίων σε φυσιολογικά και άτομα με AAN

	Φυσιολογικοί	Άτομα με AAN
TMA – DPH	0,304 $\pm$ 0,045	0,342 $\pm$ 0,025**
C/PL (μοριακός λόγος)	0,634 $\pm$ 0,089	0,638 $\pm$ 0,187
PC %	39,19 $\pm$ 3,26	38,31 $\pm$ 4,07
SM %	19,27 $\pm$ 2,35	20,95 $\pm$ 3,48
PS %	13,62 $\pm$ 2,42	14,47 $\pm$ 2,96
PE %	27,79 $\pm$ 2,61	26,26 $\pm$ 2,68

** p<0,01 σε σχέση με τους φυσιολογικούς

Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ ασθενών με A.A.N. και υγιών ατόμων όσον αφορά τις άλλες παραμέτρους. Στην ομάδα 3 (πίνακας 23.3) παρατηρήθηκε μια μείωση της ρευστότητας της μεμβράνης των αιμοπεταλίων στους ασθενείς με A.A.N. και μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη. Καμία άλλη παράμετρος δεν παρουσίασε διαφορά μεταξύ των ασθενών της ομάδας 3 και των υγιών ατόμων. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η ανεξήγητη αρνητική συσχέτιση μεταξύ του βαθμού εκπόλωσης του TMA – DPH και της σφιγγομυελίνης στους ασθενείς αυτής της ομάδας καθώς η τελευταία συνεισφέρει στην ακαμψία της μεμβράνης των αιμοπεταλίων. Αντίθετα, ο βαθμός εκπόλωσης του TMA – DPH συσχετίζεται θετικά με την αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή.

Πίνακας 23.3

Μέσοι $\pm$ S.D. της ρευστότητας της μεμβράνης των αιμοπεταλίων (εκφρασμένη ως βαθμός εκπόλωσης του TMA – DPH) και των παραμέτρων των λιπιδίων των αιμοπεταλίων σε φυσιολογικούς και άτομα με AAN και NIDDM

	Φυσιολογικοί	Άτομα με AAN και NIDDM
TMA – DPH	0,304 $\pm$ 0,045	0,361 $\pm$ 0,023***
C/PL (μοριακός λόγος)	0,634 $\pm$ 0,089	0,693 $\pm$ 0,200
PC %	39,19 $\pm$ 3,26	40,32 $\pm$ 6,19
SM %	19,27 $\pm$ 2,35	19,98 $\pm$ 3,65
PS %	13,62 $\pm$ 2,42	13,73 $\pm$ 3,34
PE %	27,79 $\pm$ 2,61	25,93 $\pm$ 3,28

*** p<0,001 σε σχέση με τους φυσιολογικούς

C=Χοληστερόλη, PL=Φωσφολιποειδή SM=Σφιγγομυελίνη PS=Φωσφατιδυλσερίνη PC=Φωσφατιδυλχολίνη PE=Φωσφατιδυλαθανολαμίνη

Στην ομάδα 4 (πίνακας 23.4) δεν παρατηρήθηκε διαφορά όσον αφορά τη ρευστότητα της μεμβράνης μεταξύ υγιών ατόμων και υπερτασικών. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η αύξηση της αναλογίας χοληστερόλη/φωσφολιποειδή γνωρίζοντας ότι κάτι

τέτοιο κάνει τα αιμοπετάλια πιο ευαίσθητα στη θρομβίνη. Από τα φωσφολιπιδειδή της μεμβράνης μόνο η φωσφατιδυλοχολίνη αυξήθηκε ελαφρώς. Τέλος, ο βαθμός εκπόλωσης του TMA – DPH στους υπερτασικούς συσχετίζεται αρνητικά με τη φωσφατιδυλοχολίνη, θετικά με τη σφιγγομυελίνη και αρνητικά με τα τριγλυκερίδια στο πλάσμα.

Πίνακας 23.4

Μέσοι $\pm$ S.D. της ρευστότητας της μεμβράνης των αιμοπεταλίων (εκφρασμένη ως βαθμός εκπόλωσης του TMA – DPH) και των παραμέτρων των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε φυσιολογικούς και υπερτασικούς

	Φυσιολογικοί	Υπερτασικοί
TMA – DPH	0,304 $\pm$ 0,045	0,289 $\pm$ 0,044
C/PL (μοριακός λόγος)	0,634 $\pm$ 0,089	0,745 $\pm$ 0,161**
PC %	39,19 $\pm$ 3,26	41,70 $\pm$ 4,12*
SM %	19,27 $\pm$ 2,35	18,87 $\pm$ 3,51
PS %	13,62 $\pm$ 2,42	12,65 $\pm$ 3,38
PE %	27,79 $\pm$ 2,61	26,56 $\pm$ 2,71

* p<0,05 σε σχέση με τους φυσιολογικούς

** p<0,01 σε σχέση με τους φυσιολογικούς

Σύμφωνα με την εκτίμηση των αποτελεσμάτων της έρευνας αυτής, η ρευστότητα της μεμβράνης των αιμοπεταλίων δεν εξαρτάται από το περιεχόμενο αυτής σε λιποειδή ή το περιεχόμενο του πλάσματος σε λιποειδή παρά τις αντικρουόμενες συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν σε κάθε ομάδα που μελετήθηκε.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μετά από τη μελέτη διαφόρων παραμέτρων που επηρεάζουν τη λειτουργία των αιμοπεταλίων παρατηρήθηκαν τα ακόλουθα δεδομένα:

- Βρέθηκαν διακυμάνσεις στο περιεχόμενο λιπαρών οξέων των αιμοπεταλίων και αυξημένη αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή σε σχέση με την ηλικία
- Η σύσταση σε λιπαρά οξέα των φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων στα παιδιά δοσφόρων ηλικιών είναι υψίστης σημασίας γιατί η πήξη ελέγχεται από τα φωσφολιποειδή με μη συγκεκριμένο τρόπο.
- Δεν αποκλείεται η πιθανότητα ότι οι αλλαγές στη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων είναι υπεύθυνες για τη γένεση της βλάβης των αποθηκευμένων αιμοπεταλίων, ενώ
- Τα τμήματα που ελευθερώνονται από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια μπορεί να παίζουν κάποιο ρόλο στη συγκέντρωση λιποειδών ανάμεσα στα κύτταρα που σχηματίζουν θρόμβο.

Όσον αφορά τη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε υγιή άτομα, τα συμπεράσματα είναι ότι:

- Η φωσφατιδυλοχολίνη είναι το φωσφολιποειδές που βρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία ενώ η φωσφατιδυλοσερίνη και ο φωσφατιδυλοϊνολίτης στη μικρότερη.
- Η φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη είναι η πλουσιότερη πηγή αραχιδονικού οξέος.
- Τα αποσπασμένα λιποειδή των αιμοπεταλίων αντιπροσωπεύουν το 47,2% της μεμβράνης και η πρωτεΐνη το 52,5%.
- Η αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή ήταν 0.53 και
- Τα λιπαρά οξέα και φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων διαμορφώνονται κατά τη διάρκεια κυτταρικού σχηματισμού με εξαίρεση τη φωσφατιδυλοχολίνη, όπου η ενσωμάτωση ολόκληρων μορίων φωσφολιποειδών από το πλάσμα μπορεί να είναι ένας πιθανός μηχανισμός που λειτουργεί για την ανανέωσή τους.

Από τη μελέτη της επίδρασης της διατροφής στη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων ανακύπτει ότι τα γλυκεροφωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων αντικατοπτρίζουν το περιεχόμενο κορεσμένων και μονοακόρεστων λιπαρών οξέων της διατροφής χωρίς να ισχύει το ίδιο για τα πολυακόρεστα. Έτσι η ανάλυση των λιπαρών οξέων των φωσφολιποειδών των αιμοπεταλίων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να υπολογιστεί η πρόσληψη με τη δίαιτα trans-C 18:1. Σύμφωνα δε με πιο πρόσφατα

δεδομένα, η διαιτητική πρόσληψη ιχθυελαίων αυξάνει τα επίπεδα εικοσαπεντανοϊκού και δοκοσαεξανοϊκού στα φωσφολιποειδή των αιμοπεταλίων.

Όσον αφορά την επίδραση της διατροφής στη λειτουργία των αιμοπεταλίων, συμπεραίνει κανείς ότι μια δίαιτα χαμηλή σε λίπος, πλούσια σε ελαιόλαδο, με χαμηλή πολυακόρεστα/κορεσμένα αναλογία έχει καλύτερο αποτέλεσμα στη λειτουργία των αιμοπεταλίων από μια δίαιτα πλούσια σε πολυακόρεστα. Πιο πρόσφατα δεδομένα έδειξαν ότι είναι πιθανό μια δίαιτα με υψηλό περιεχόμενο 18:3 n-3 και χαμηλή αναλογία 18:2/18:3 να έχει αντιθρομβωτικό αποτέλεσμα. Συγκρίνοντας την αντιθρομβωτική επίδραση διαφόρων ιχθυελαίων προκύπτει ότι ο συνδυασμός ελαίου από μπακαλιάρο με ελαιόλαδο στη δίαιτα αλλά και το έλαιο φάλαινας παρουσιάζουν το καλύτερο αντιθρομβωτικό αποτέλεσμα.

Γνωρίζοντας, τέλος, την αθηρωγόνο δράση του PAF στα αγγεία, βρέθηκε ότι ο πρόδρομος του αλκυλακυλ-GPC αυξήθηκε σημαντικά στους ιστούς κυρίων οργάνων με τη διαιτητική χορήγηση δι-ακετυλο-αλκυλογλυκερόλης σε αρουραίους.

Εξετάζοντας τη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε παθολογικές καταστάσεις, ως συμπέρασμα θεωρούνται οι απαντήσεις στις ακόλουθες ερωτήσεις:

- αλλάζει η σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων σε κάθε παθολογική κατάσταση;
- πώς εξηγείται αυτή η αλλαγή και τι συνέπειες μπορεί να έχει;

Η επίδραση της αλλαγής της σύστασης των λιποειδών των αιμοπεταλίων στη μείωση της συσσώρευσής τους σε ασθένειες του ήπατος απαιτεί περισσότερη διερεύνηση. Το ίδιο και η υπόθεση ότι η μειωμένη διαθεσιμότητα αραχιδονικού οξέος εξηγεί αυτή τη μείωση. Αντίθετα, τα αυξημένα επίπεδα αραχιδονικού οξέος στο φωσφατιδυλοϊνositide είναι ένας πιθανός μηχανισμός που εξηγεί την υπερλειτουργία των αιμοπεταλίων και την αυξημένη παραγωγή θρομβοξάνης στην υπερλιπιδαιμία. Η υπερχοληστερολαιμία σχετίζεται με αυξημένο περιεχόμενο χοληστερόλης των αιμοπεταλίων χωρίς σημαντικές αλλαγές στη ρευστότητα της μεμβράνης. Αντίθετα, στην υπερτριγλυκεριδαμία παρατηρείται μια αλλαγή στις δυναμικές αναλογίες της μεμβράνης (σχέση που χρειάζεται εκτενέστερη έρευνα). Κάθε τέτοια αλλαγή επηρεάζει τη λειτουργία των αιμοπεταλίων γνωρίζοντας, για παράδειγμα, ότι στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων η χοληστερόλη, τα γλυκολιπίδια και οι γλυκοπρωτεΐνες λειτουργούν ως υποδοχείς απάντησης σε συσσωρευτικές ουσίες αναστολείς ή παράγοντες πήξης. Παρόλα αυτά, δεν γνωρίζουμε αν το αποτέλεσμα της αλλαγής στη λειτουργία των αιμοπεταλίων είναι θετικό (μείωση της συσσώρευσης) ή αρνητικό (αύξηση της συσσώρευσης). Πιο πρόσφατα δεδομένα για την υπο- και υπερχοληστερολαιμία έδειξαν ότι ακραίες συγκεντρώσεις χοληστερόλης στο αίμα

μπορεί να επηρεάσουν την αιμόσταση. Μια δομική ανωμαλία της μεμβράνης των αιμοπεταλίων (αυξημένη χοληστερόλη και αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή) συνοδεύει την προεκλαμψία. Η εμπλοκή της μεμβράνης των αιμοπεταλίων επιβεβαιώνει το ρόλο της κυτταρικής καταστροφής για το ξεκίνημα και την ανάπτυξη των ασθενειών της υπέρτασης στην εγκυμοσύνη. Βρέθηκε αυξημένη ρευστότητα μεμβράνης και αυξημένα φωσφολιποειδή στα αιμοπετάλια διαβητικών ατόμων, ενώ χρειάζεται να γίνει περισσότερη έρευνα για να εξακριβωθεί ο ρόλος των λιποπρωτεϊνών στην τροποποίηση της λειτουργίας των αιμοπεταλίων σ' αυτή την ασθένεια. Τέλος, στην πιο πρόσφατη έρευνα παθολογικών καταστάσεων βρέθηκε ότι α) η φωσφατιδυλοχολίνη είναι σημαντικά αυξημένη και η φωσφατιδυλοσερίνη μειωμένη σε διαβητικούς ασθενείς β) καμία αλλαγή δεν υπάρχει στη σύσταση των λιποειδών των αιμοπεταλίων ασθενών με αγγειακή αθηρωματική νόσο (AAN) ή (AAN) και σακχαρώδη διαβήτη γ) αυξήθηκε η αναλογία χοληστερόλη/φωσφολιποειδή στα αιμοπετάλια υπερτασικών ασθενών κάνοντας τα αιμοπετάλια πιο ευαίσθητα στη θρομβίνη και άρα στη συσσώρευση και δ) η ρευστότητα της μεμβράνης των αιμοπεταλίων στις παραπάνω περιπτώσεις δεν εξαρτάται από το περιεχόμενο αυτής σε λιποειδή ή το περιεχόμενο του πλάσματος σε λιποειδή.

Αυτά είναι τα πιο πρόσφατα ευρήματα που καθορίζουν το επίπεδο αλληλεξάρτησης των αιμοπεταλίων με την εκάστοτε παθολογική κατάσταση. Οποιαδήποτε ερωτήματα που έχουν μείνει αναπάντητα χρήζουν εκτενέστερης έρευνας.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ ΚΕΙΜΕΝΟΥ, ΠΙΝΑΚΩΝ ΚΑΙ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

PC	: φωσφατιδυλοχολίνη
PE	: φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη
PI	: φωσφατιδυλοϊνositης
SM, SPH, SP, SPM	: σφιγγομυελίνη,
PS	: φωσφατιδυλοσερίνη
L-PC	: λυσοφωσφατιδυλοχολίνη (λυσολεκθίνη)
Ch, C	: χοληστερόλη
Ph, P	: φωσφολιποειδή
FC	: ελεύθερη χοληστερόλη
FFA	: ελεύθερα λιπαρά οξέα
AA	: αραχιδονικό οξύ
DMA	: διμεθυλική ακετάλη
ALD	: αλδεΐδη
MDA	: μαλονδιαλδεΐδη
TXA ₂	: θρομβοξάνη A ₂
TXB ₂	: θρομβοξάνη B ₂
6-κετο-PGF _{1α}	: 6-κέτο-προσταγλανδίνη GF _{1α}
c – AMP	: κυκλικό AMP
ΥΛ	: υπερλιπιδαιμικοί
IDDM	: ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης
NIDDM	: μη ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης
AAN	: αγγειακή αθηρωματική νόσος
SE	: τυπικό σφάλμα
SD	: τυπική απόκλιση
SEM	: τυπικό σφάλμα μέσου
Σχήμα διακετυλο- ακυλο-γλυκερόλης	: $ \begin{array}{c} \text{CH}_2 - \text{O} - \text{R} \\ \\ \text{CH} - \text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 - \text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{CH}_3 \end{array} $

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) Κ.Α. Δημόπουλος, Μαθήματα Βιοχημείας, 1993, σελ. 131-143
- (2) Α. Τρακατέλλη, Βιοχημεία, Εκδοτικός Οίκος Αφών Κυριακίδη, 1987, σελ. 295-307
- (3) Mathews van Holde, Biochemistry, 1990, σελ. 299-307
- (4) Tom Brody, Nutritional Biochemistry, 2nd ed., 1999, σελ. 322
- (5) Groff, Gropper, Hunt, Advanced Nutrition and Human Metabolism, 2nd ed., σελ. 116-117, 126, 127
- (6) Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Παιδών «Παν. & Αγλαΐα Κυριακού», Σεμινάριο Αιμοπετάλιο, 1998, σελ. 36-99
- (7) D. Prisco, P.G. Rogasi, M. Matucci, R. Paniccia, R. Abbate, G.F. Gensini, G.G.N. Serneri, Age Related Changes in Platelet Lipid Composition, Thrombosis Research 44; 427-437, 1986
- (8) B. Podolsak, G. Peter and J. Öller, Correlations between Age-dependent Protein and Lipid Concentrations in Plasma and Platelet Functions in Children, Eur. J. Pediatr. 132-21-35 (1979)
- (9) M.A. Hamid, T.J. Kunicki, R. H. Aster, Lipid Composition of Freshly Prepared and Stored Platelet Concentrates Blood, Vol. 55, No1 (January), 1980
- (10) S.I. Skarlatos, L.M. Amende, F.-F.C. Chao, E.J. Blanchette-Hackie, W. Gamble, H.S. Kruth, Biochemical Characterization of Isolated Cholesterol – Phospholipid Particles Continuously Released from Rat and Human Platelets After Activation, Laboratory Investigation, Vol. 59, No 3, p. 344, 1988
- (11) K. Hiramatsu, H. Nozaki, S. Arimori, Lipid Content of Human Platelets Quantitated by Thin-Layer Chromatography in Combination with Flame Ionization Detection, Journal of Chromatography – Biochemical Applications, 182 (1980) 301-309
- (12) F.A. Yedoah, R.K. Adosraku, A. Nicolaou, W.A. Gibbons, Proton nuclear magnetic resonance lipid profiling of intact platelet membranes, Ann. Clin. Biochem 1995; 32: 392 – 398
- (13) R. García-Guerra, J.A. García-Domínguez, J. González-Rodríguez, A new look at the lipid composition of the plasma membrane of human blood platelets relative to the GP IIb/IIIa (integrin αIIbβ3) content, platelets (1996) 7, 195-205
- (14) D. Prisco, R. Paniccia, B. Bandinelli, M. Filippini, I. Francalanci, T. Brunelli, B. Giusti, R. Abbate, Relationship between plasma and platelet phospholipid fatty acid composition in healthy subjects, Platelets (1996), 7, 69-73

- (15) C.R. Sirtori, Tremoli E., Gatti E., et al. Controlled evaluation of fat intake in the Mediterranean diet: comparative activities of olive oil and corm oil on plasma lipids and platelets in high-risk patients, *Am. J. Clin. Nutr.* 1986; 44: 635-42
- (16) R.M. Dougherty, C. Galli, A. Ferro-Luzzi, J.M. Iacono, Lipid and phospholipid fatty acid composition of plasma, red blood cells and platelets and how they are affected by dietary lipids: a study of normal subjects from Italy, Finland and the USA, *Am. J. Clin. Nutr.* 1987; 45: 443-455
- (17) M.L. Blank, E.A. Cress, Z.L. Smith, F.Snyder, Dietary Supplementation with Ether-Linked Lipids and Tissue Lipid Composition, *LIPIDS*, Vol. 26, No 2 (1991)
- (18) J.K. Chan, B.E. McDonald, J.M. Gerrard, V.M. Bruce, B.J. Weaver, B.J. Holub, Effect of Dietary α -Linolenic Acid and its Ratio to Linoleic Acid on Platelet and Plasma Fatty Acids and Trombogenesis, *LIPIDS*, Vol. 28, No 9 (1993)
- (19) R.R. Mensink, G. Hornstra, The proportion of trans monounsaturated fatty acids in serum triacyl-glycerols or platelet phospholipids as an objective indicator of their short-term intake in healthy men. *British Journal of Nutrition* (1995), 73: 605-612
- (20) H. Roche, M.J. Gibney, The Effect of Consumption of Fish Oil-Enriched Spreadable Fats on Platelet Phospholipid Fatty Acid Composition in Human Volunteers, *J. Vitam. Nutr. Res.* 1994; 64 (3): 237-242
- (21) E.Vognild, E.O. Elvevoll, J. Brox, R.L. Olsen, H. Barstad, M. Aursand, B.J. Osterud, Effects of Dietary Marine Oils and Olive Oil on Fatty Acid Composition, Platelet Membrane Fluidity, Platelet Responses, and Serum Lipids in Healthy Humans, *LIPIDS*, Vol. 33, No 4 (1998)
- (22) J.S. Owen, R.A. Hutton, R.C. Day, K.R. Bruckdorfer, N.McIntyre, Platelet lipid composition and platelet aggregation in human liver disease. *Journal of Lipid Research*, Vol. 22, 1981
- (23) N. Chetty, N.H. Naran, Platelet hyperactivity in hyperlipidaemia with specific reference to platelet lipids and fatty acid composition, *Clinica Chimica Acta*, 213 (1992) 1-13
- (24) K.H. Le Quan Sang, M. Mazeaud, C. Astarie, V. Duranthon, F. Driss, M-A Devynck, Plasma Lipids and Platelet Membrane Fluidity in Essential Hypertension, *Thrombosis and Haemostasis*, 1993; 69 (1): 70-76
- (25) G.G. Garzetti, A.L. Tranquilli, A.M. Cugini, L. Mazzanti, N. Cester, C. Romanini, Altered Lipid composition, Increased Lipid Peroxidation and Altered Fluidity of the

Membrane as Evidence of Platelet Damage in Preeclampsia, *Obstet. Gynecol.* Vol. 81, No3, 1993

- (26) R.A. Rabini, G. Ferretti, R. Galassi, M. Taus, G. Curatola, A. Tangorra, P. Fumelli, L. Mazzanti, Modified Fluidity and Lipid Composition in Lipoproteins and Platelet Membranes from Diabetic Patients, *Clinical Biochemistry*, Vol. 27, 1994
- (27) Y. Levy, Y. Gimpel, L. Abutbul, E. Hochgraf, U. Cogan, An Abnormal Platelet Membrane Lipid Composition in Patients with Low and High Blood Cholesterol, *Platelets*, 5(3): 175-176, 1994
- (28) G. Caimi, R. Lo Presti, M. Montana, B. Canino, G. Ventimiglia, A. Catania, A. Sarno, Platelet membrane fluidity, platelet membrane lipid pattern and platelet cytosolic Ca^{+2} content in subjects with vascular atherosclerotic disease, *Clinical Hemorheology*, Vol. 14, No 3, 393-399, 1994
- (29) G. Gaimi, R. Lo Presti, M. Montana, B. Canino, A. Serra, A. Catania, Platelet Membrane fluidity and platelet membrane lipid pattern in several clinical conditions, *Clinical Hemorheology*, Vol. 16, No 2, 177-185, 1996.

**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

Υπερ.Βιβ/κης Χαροκόπειου Παν/μίου.954916

* 4 9 7 9 *



HJ

