

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**ΟΞΕΙΑ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΟΚΚΙΝΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ
ΜΕ ΑΛΚΟΟΛ Ή ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛ
ΣΕ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ**

**Υπεύθυνοι Καθηγητές: Β. Σταυρινός
Α. Ζαμπέλας
Γ. Μπόσκου**

Επιμέλεια: Φέλλιου Γεωργία

ΑΘΗΝΑ 2002

ΠΤΥ
ΦΕΛ

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

ΟΞΕΙΑ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΟΚΚΙΝΟΥ ΚΡΑΣΙΟΥ ΜΕ ΑΛΚΟΟΛ Ή ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛ ΣΕ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ

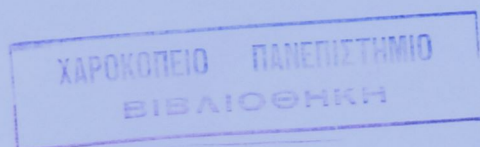
Υπεύθυνοι Καθηγητές: Β. Σταυρινός

Α. Ζαμπέλας

Γ. Μπόσκου

Επιμέλεια: Φέλλιου Γεωργία

ΑΘΗΝΑ 2002



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει τα τελευταία χρόνια πως η κατανάλωση 30-50 γραμμαρίων αλκοόλ την ημέρα, συνδέεται με μείωση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου, εμφράγματος του μυοκαρδίου καθώς και της θνησιμότητας που συνοδεύει τις ασθένειες αυτές. Αν και έχουν περιγραφεί διάφοροι μηχανισμοί οι οποίοι ενδεχομένως εμπλέκονται ή υπεισέρχονται στον τρόπο δράσης του οίνοπνεύματος, όπως η αύξηση της HDL, η μείωση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και η αύξηση της ινωδολύσης, αρκετοί ερευνητές αποδίδουν αυτή την ευεργετική δράση στο κρασί και όχι στα άλλα αλκοολούχα ποτά. Μάλιστα, η πειραματική σύγκριση της επίδρασης διαφόρων τύπων κρασιού στη λειτουργία του ενδοθελίου, κατέδειξε πως το κόκκινο κρασί που ωριμάζει σε ξύλινα και συγκεκριμένα δρύινα βαρέλια και όχι τα άλλα είδη κρασιού είναι αυτό που παρουσιάζει ευεργετική δράση έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η επίδραση αυτή ίσως οφείλεται στη μεγαλύτερη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών ουσιών στο κόκκινο κρασί σε σύγκριση με τα άλλα είδη κρασιού.

Οι διάφορες πολυφαινόλες που βρίσκονται στο κόκκινο κρασί, έχουν συσχετισθεί με μείωση του κινδύνου εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου μέσω διάφορων μηχανισμών όπως η μείωση της επιδεκτικότητας της LDL σε οξειδώσεις, ή μείωση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων αλλά και η βελτίωση της λειτουργίας του ενδοθελίου. Η τελευταία αυτή δράση των συστατικών του κόκκινου κρασιού έχει ιδιαίτερη σημασία καθώς τα τελευταία χρόνια αυξάνεται σταδιακά η αποδοχή της υπόθεσης ότι η δυσλειτουργία του ενδοθελίου παίζει μείζονα ρόλο στην εμφάνιση και εξέλιξη της αθηρωματικής διαδικασίας και της στεφανιαίας νόσου γενικότερα.

Μέχρι σήμερα έχουν γίνει διάφορες μελέτες *in vitro* που εξετάζουν την επίδραση του κρασιού ή συγκεκριμένων αντιοξειδωτικών ουσιών σε καλλιεργημένα ενδοθηλιακά κύτταρα και ελάχιστες *in vivo* μελέτες. Επίσης μόνο δύο μελέτες ερευνούν την άμεση επίδραση του κρασιού στη λειτουργία του ενδοθελίου, οι οποίες όμως χρησιμοποιούν δείγμα υγιών ατόμων.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της οξείας επίδρασης του κόκκινου κρασιού με αλκοόλ ή χωρίς αλκοόλ σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω μια σειρά ανθρώπων, χωρίς την βοήθεια των οποίων θα ήταν αδύνατη η εκπόνηση της παρούσας πτυχιακής μελέτης. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή μου κύριο Α. Ζαμπέλα, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, για την ανάθεση της συγκεκριμένης πτυχιακής μελέτης και για την αμέριστη βοήθεια και καθοδήγησή του για την πραγματοποίηση αυτής.

Επίσης θερμές ευχαριστίες στην ιατρική ομάδα του Αγγειολογικού Εργαστηρίου του Νοσοκομείου «Αλεξάνδρα» που αποτελείται από τους: Κο Χ. Παπαμιχαήλ, Κο Κ. Ασναουρίδη, Κο Ε. Καράτζη, για τη θερμή φιλοξενία τους στο νοσοκομείο «Αλεξάνδρα», την πολύτιμη βοήθεια τους στην εύρεση του δείγματος της έρευνας και την άποψη συνεργασία τους.

Επίσης οφείλω να ευχαριστήσω θερμά τον κύριο Ν Ανδρικόπουλο, Καθηγητή του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας Διατροφής, για τη δυνατότητα που μας έδωσε να εργασθούμε στο Εργαστήριο της Χημείας προκειμένου να ολοκληρωθεί η παρούσα μελέτη που αφορούσε την παρασκευή του κρασιού χωρίς αλκοόλ καθώς και τις ποιοτικές και ποσοτικές αναλύσεις των δυο ειδών κρασιών. Επίσης οφείλω να ευχαριστήσω θερμά τον κύριο Γ. Μπόσκου, Λέκτορα του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας Διατροφής, για την πολύτιμη βοήθεια του κατά την οργάνωση και εκπόνηση του πειραματικού εκείνου μέρους της μελέτης που αφορούσε την παρασκευή του κρασιού που χρησιμοποιήθηκε στην διάρκεια του πειράματος. Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Τ. Χίου, διδάσκουσα του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας- Διατροφής για την εποικοδομητική συνεργασία της.

Ακόμη θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον κύριο Β.Σταυρινό, Καθηγητή του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής και την κυρία Μ. Σιπαρά, διδάσκουσα του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας- Διατροφής για την ανεκτίμητη βοήθεια τους στον τομέα της στατιστικής ανάλυσης των πειραματικών αποτελεσμάτων της μελέτης αυτής προκειμένου να εξαχθούν σημαντικά συμπεράσματα.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κυρία Π. Καράτζη για την πολύτιμη βοήθεια και την άποψη συνεργασία της στην διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας πτυχιακής μελέτης

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

Apo	: απολιποπρωτεΐνη, (apolipoprotein)
IDL	: λιποπρωτεΐνη ενδιάμεσης πυκνότητας (intermediate density lipoprotein)
HDL	: λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας, (high density lipoprotein)
CM	: χυλομικρά, (chylomicron)
VLDL	: λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας, (very low density lipoprotein)
LDL	: λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας, (low density lipoprotein)
CETP	: πρωτεΐνη μεταφοράς εστέρων της χοληστερόλης (cholesteryl ester transfer protein)
LPL	: λιποπρωτεϊνική λιπάση, (lipoprotein lipase)
LCAT	: λεκιθίνο χοληστερίνο ακυλτρανσφεράση
TF	: ιστικός παράγοντας, (tissue factor)
TG	: τριγλυκερίδιο, (triglyceride)
IL	: ιντερλευκίνη, (interleukin)
Lp (a)	: λιποπρωτεΐνη α, (lipoprotein a)
CRP	: C αντιδρώσα πρωτεΐνη, (C reactive protein)
NO	: μονοξείδιο του αζώτου
ELAM-1	: ενδοθηλιακό μόριο σύνδεσης των λευκοκυττάρων τύπου 1 (endothelial leukocyte adhesion molecule-1)
ICAM-1	: διακυτταρικό συνδετικό μόριο-1 (intracellular adhesion molecule-1)
VCAM-1	: αγγειακό συνδετικό μόριο -1, (vascular cell adhesion molecule-1)
MM-LDL	: ελαφρά τροποποιημένη LDL, (minimally modified LDL)
PAI-1	: αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, (plasminogen activator inhibitor)
bFGF	: βασικός αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών, (basic fibroblast growth factor)
PDGF	: αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων, (platelet delivered growth factor)
M-CSF	: παράγοντας διέγερσης των αποικιών μακροφάγων, (monocyte

ΣΥΝΤΟΜΟΓΜΕΣ (colony stimulating factor)3

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ3

GM-CSF : παράγοντας διέγερσης των αποικιών κοκκιοκυττάρων-
μακροφάγων, (gramulocyte monocyte colony stimulating factor)5

EDRF : ενδοθηλιογενής αγγειοχαλαρωτικός παράγοντας, (endothelial
cell derived relaxing factor)8

EDCF : ενδοθηλιογενής αγγειοσυσπαστικός παράγοντας, (endothelium
derived constricting factor)9

MnSOD : δισμουτάση του υπεροξειδίου του μαγγανίου, (manganese
superoxide dismutase)10

NF-κΒ : πυρηνικός παράγοντας -κΒ, (nuclear factor-κΒ)13

TNF-α : παράγοντας νέκρωσης των όγκων, (tumor necrosis factor)14

t-PA : ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tissue plasminogen
activator)15

1.3.2. Αποικοπυτταίνες Β15

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗ16

2.1. Έξοχη16

2.2. Θρόμβος αθηρογένεση16

2.3. Παράγοντες κινδύνου20

2.4. Στεφανόδη Αρθρίτις27

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο ΑΡΤΗΡΙΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗ, ΘΡΟΜΒΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ
ΣΤΕΦΑΝΟΔΗ ΑΡΘΡΙΤΙΣ28

3.1. Έξοχη28

3.2. Αθηρογένεση και η συμμετοχή των λιπιδίων29

3.2.1. Ρόλος οξειδωμένων LDL29

3.2.2. Ρόλος των οξείων λιποπρωτεϊνών31

3.3. Φλεγμονώδης αντίδραση στην πορεία της αθηρογένεσης31

3.3.1. Οξειδωμένα LDL και οξειδωμένο33

3.3.2. Εξελικτική καταπολέμηση στην πορεία της αθηρογένεσης36

3.3.3. Πορεία θρομβογένεσης38

3.4. Αθηροκλήρωση και εγκεφαλική αγγειακή συστήματα38

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο ΝΟΣΗΛΕΙΑΚΗ ΑΞΙΑ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΙΤΕΛΕΙΑ1

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ2

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	3
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	5
ΕΝΟΤΗΤΑ 1:	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1° ΠΕΨΗ ΚΑΙ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΛΠΩΝ	8
1.1 Εισαγωγή	8
1.2 Πέψη λιπών	8
1.3 Απορρόφηση λιπιδίων	9
1.4 Λιποπρωτεΐνες	9
1.4.1 Χυλομκρά	10
1.4.2 VLDL	12
1.4.3 LDL	13
1.4.4 HDL	14
1.5 Απολιποπρωτεΐνες	14
1.5.1 Απολιποπρωτεΐνες A	15
1.5.2 Απολιποπρωτεΐνες B	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2° ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗ	16
2.1 Εισαγωγή	16
2.2 Θεωρίες αθηρογένεσης	18
2.3 Παράγοντες κινδύνου	20
2.4 Σακχαρώδης Διαβήτης	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3° ΑΡΤΗΡΙΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗ, ΘΡΟΜΒΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ	
ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΣ	28
3.1 Εισαγωγή	28
3.2 Αθηρογένεση και η συμμετοχή των λιπιδίων	29
3.2.1 Ρόλος οξειδωμένης LDL	29
3.2.2 Ρόλος των άλλων λιποπρωτεϊνών	31
3.3 Φλεγμονώδεις αντιδράσεις στην πορεία της αθηρογένεσης	
3.3.1 Οξειδωμένη LDL και ενδοθήλιο	33
3.3.2 Εμπλοκή κυτταροκινών στην πορεία της αθηρογένεσης	36
3.3.3 Πορεία θρομβογένεσης	38
3.4 Αθηροσκλήρωση και εμπλοκή ανοσοποιητικού συστήματος	
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4° ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΙΤΑ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ	
ΝΟΣΗΜΑΤΑ	40
4.1 Χαρακτηριστικά μεσογειακής διατροφής	40

4.1.2	Γαλλικό παράδοξο	41
4.2	Κρασί: χημική σύσταση	41
4.2.1	Νερό	42
4.2.2	Σάκχαρα και πολυσακχαρίτες	42
4.2.3	Αιθανόλη	42
4.2.4	Οξέα	43
4.2.5	Πολυφαινόλες	43
4.3	Αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών	46
4.3.1	Μηχανισμός δράσης αντιοξειδωτικών ουσιών	46
4.3.2	Βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών στο πλάσμα	47
4.3.3	Σχέση κατανάλωσης κρασιού και HDL	50
4.3.4	Αντιθρομβωτική δράση πολυφαινολών	50
4.3.5	Βελτιωτική δράση κρασιού στο ενδοθήλιο	53
4.3.6	Κρασί και ινσουλinoαντοχή	55
4.3.7	Αλκοόλ και TG	55
4.3.8	Επίδραση του κρασιού στους παράγοντες πήξης του του αίματος	55
ΕΝΟΤΗΤΑ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ		57
2.1	Επιλογή ασθενών	57
2.2	Σχεδιασμός έρευνας	58
2.3	Μετρήσεις δειγμάτων αίματος	59
2.4	Υπέρηχοι αγγείων	59
2.5	Προετοιμασία κρασιού	60
2.6	Προσδιορισμός αλκοολικού βαθμού	60
2.7	Οργανοληπτική εξέταση	61
2.8	Απομάκρυνση πολυφαινολικών συστατικών	62
2.9	Προσδιορισμός συγκέντρωσης ολικών πολυφαινολών	63
2.10	Αέρια χρωματογραφία (GC)	63
2.11	Υγρή χρωματογραφία (HPLC)	65
2.12	Στατιστική ανάλυση	67
ΕΝΟΤΗΤΑ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ		68
ΕΝΟΤΗΤΑ 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ		80
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ		83

1.1 Εισαγωγή

Μια από τις τρεις κύριες κατηγορίες θρεπτικών συστατικών, εκτός από τους υδατάνθρακες και τις πρωτεΐνες είναι και τα λιπίδια. Η συμβολή των λιπιδίων στον ανθρώπινο οργανισμό είναι σημαντική, αφού είναι απαραίτητα για την ζωή, καθώς συμμετέχουν στην παραγωγή και αποθήκευση ενέργειας και σε πολλές άλλες λειτουργίες όπως είναι η σύνθεση των στεροειδών ορμονών.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των λιπών της διαίτας είναι τα τριγλυκερίδια ή ουδέτερα λίπη. Τα τριγλυκερίδια είναι τριεστέρες της γλυκερόλης με λιπαρά οξέα κυρίως μακράς αλύσου. Σε μικρότερο ποσοστό στην τροφή βρίσκονται τα φωσφολιπίδια, η χοληστερόλη και οι εστέρες της χοληστερόλης (1)

1.2 Πέψη λιπιδίων

Στην τυπική διατροφή του ανθρώπου καθημερινά το προσλαμβανόμενο λίπος από τις τροφές αποτελεί περίπου το 40% της συνολικής πρόσληψης θερμίδων. Επειδή όμως τα λίπη, λόγω της χημικής τους δομής είναι αδιάλυτα στο νερό και επομένως και στα υδατικά υγρά του οργανισμού όπως είναι το αίμα και τα πεπτικά υγρά, η διαλυτοποίηση και απορρόφησή τους γίνεται με τη βοήθεια των χολικών αλάτων.

Ένα πολύ μικρό ποσοστό της πέψης των λιπών ξεκινά να διασπάται στον στόμαχο. Ουσιαστικά όμως η πέψη των λιπών συντελείται στο λεπτό έντερο. Το πρώτο βήμα στην πέψη του λίπους είναι η διάσπαση των λιποσφαιρίων σε μικρότερου μεγέθους σταγονίδια, ώστε τα πεπτικά ένζυμα που δεν είναι λιποδιαλυτά να μπορούν να επιδράσουν πάνω στις επιφάνειες τους. Η διαδικασία αυτή που συντελείται στο δωδεκαδάκτυλο ονομάζεται γαλακτωματοποίηση του λίπους και πραγματοποιείται με την επίδραση των χολικών αλάτων που εκκρίνονται στη χολή από το ήπαρ. Στο δωδεκαδάκτυλο η πέψη των γαλακτοματοποιημένων λιπών συνεχίζεται με τη δράση της παγκρεατικής λιπάσης, η οποία απομακρύνει λιπαρά οξέα από τη θέση 1 των τριγλυκεριδίων σχηματίζοντας 2,3 διγλυκερίδια. Στην συνέχεια η παγκρεατική λιπάση απομακρύνει από τα 2,3 διγλυκερίδια λιπαρά οξέα από τη θέση 3 με αποτέλεσμα τα τελικά προϊόντα της παγκρεατικής λιπάσης να είναι λιπαρά οξέα και τα 2 μονογλυκερίδια. Η πέψη των εστέρων της χοληστερόλης γίνεται με τη δράση της παγκρεατικής εστεράσης της χοληστερόλης, η οποία υδρολύει τους εστέρες

της χοληστερόλης σε ελεύθερη χοληστερόλη και λιπαρό οξύ. Όσον αφορά τα φωσφολιπίδια η διάσπασή τους γίνεται από τη φωσφολιπάση A_2 (2)

1.3 Απορρόφηση λιπιδίων

Εφόσον γίνει η πέψη των λιπιδίων της τροφής ακολουθεί στην συνέχεια η σύνδεση των 2 μονογλυκεριδίων, των λιπαρών οξέων, της χοληστερόλης, λυσολεκθίνης και άλλων φωσφολιπιδίων με τα χολικά άλατα προς σχηματισμό μικκυλίων (σφαιρικά σωματίδια). Ο σχηματισμός των μικκυλίων είναι απαραίτητος για την απορρόφηση των λιπών, διότι οι αντιδράσεις της πέψης που αναφέρθηκαν παραπάνω είναι αντιστρεπτές. Επιπλέον ο σχηματισμός των μικκυλίων επιτρέπει λόγω της σύνθεσης τους την επαφή των προϊόντων της πέψης με τις μικρολάχνες του εντέρου. Τα προϊόντα πέψης των λιπιδίων προκειμένου να περάσουν στα κύτταρα του εντέρου θα πρέπει προηγουμένως να διαπεράσουν την ήρεμη λεπτή στοιβάδα νερού, η οποία αν και λεπτή θα αποτελούσε αδιαπέραστο εμπόδιο, οπότε τα μικκύλια δρουν ως μεταφορείς των φωσφολιπιδίων, της χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων στα εντεροκύτταρα ολοκληρώνοντας τη φάση της απορρόφησης των λιπών. (1)

Στο εσωτερικό των εντερικών κυττάρων τα προϊόντα της πέψης των λιπών ανασυντίθενται σε τριγλυκερίδια. Τα τριγλυκερίδια μαζί με τη χοληστερόλη, φωσφολιπίδια και απολιποπρωτεΐνη B-48 σχηματίζουν τα χυλομικρά. Τα χυλομικρά στην συνέχεια μέσω του λεμφικού συστήματος περνούν στην κυκλοφορία. Τα λιπαρά οξέα βραχέας αλύσου τα οποία είναι πιο υδατοδιαλυτά απορροφούνται απευθείας προς το αίμα της πυλαίας φλέβας (1,2).

1.4 Λιποπρωτεΐνες

Οι λιποπρωτεΐνες αποτελούνται από μόρια λιπιδίων τα οποία είναι συνδεδεμένα με πρωτεΐνες. Όπως έχει ήδη αναφερθεί τα λιπίδια είναι υδρόφοβα οπότε είναι μη διαλυτά σε υδατικό περιβάλλον. Επομένως ο βασικός ρόλος των λιποπρωτεϊνών είναι η μεταφορά των λιπιδίων στον ανθρώπινο οργανισμό προκειμένου να ικανοποιούνται οι ανάγκες των κυττάρων σε λιπίδια.

Οι λιποπρωτεΐνες είναι σφαιρικοί σχηματισμοί στον πυρήνα των οποίων βρίσκονται συγκεντρωμένα τα υδρόφοβα μόρια (τριγλυκερίδια, εστέρες της χοληστερόλης), ενώ εξωτερικά βρίσκονται τα περισσότερο πολικά μόρια όπως οι πρωτεΐνες, τα φωσφολιπίδια και η ελεύθερη χοληστερόλη (1).

Οι λιποπρωτεΐνες ανάλογα με τη φυσική και χημική τους σύσταση διακρίνονται σε διάφορες κατηγορίες. Οι διάφοροι τύποι λιποπρωτεϊνών είναι οι εξής: τα χυλομικρά (CM), που συντίθενται στο έντερο, οι λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL), που συντίθενται στο ήπαρ, οι λιποπρωτεΐνες ενδιάμεσης πυκνότητας (IDL) που προέρχονται από το μεταβολισμό των VLDL, οι λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL) και οι λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (HDL) (1)

1.4.1 Χυλομικρά

Τα χυλομικρά είναι οι μεγαλύτερες σε μέγεθος λιποπρωτεΐνες και οι πιο πλούσιες σε τριγλυκερίδια αλλά ταυτόχρονα έχουν τη μικρότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. Ο βασικός ρόλος των χυλομικρών είναι η μεταφορά των λιπών της τροφής από το λεπτό έντερο στους περιφερικούς ιστούς και στο ήπαρ.

Οι εστέρες της χοληστερόλης και τα λίπη της τροφής όπως αναφέρθηκε στις προηγούμενες παραγράφους πέπτονται και απορροφώνται από τα κύτταρα του λεπτού εντέρου ως 2-μονογλυκερίδια και χοληστερόλη. Στα κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου τα λιπαρά οξέα και η χοληστερόλη επαναστεροποιούνται σε τριγλυκερίδια και εστεροποιημένη χοληστερόλη αντίστοιχα. Τα τριγλυκερίδια αυτά, οι εστέρες της χοληστερόλης και τα φωσφολιπίδια ενώνονται με την απολιποπρωτεΐνη B-48, η οποία συντίθενται στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο του εντερικού κυττάρου. Με μια περαιτέρω επεξεργασία στο σύστημα Golgi η απολιπρωτεΐνη B-48 γλυκοζυλιώνεται και τα χυλομικρά μεταφέρονται στην επιφάνεια του κυττάρου με σκοπό να εκκριθούν στη λεμφική κυκλοφορία και στην συνέχεια να περάσουν στην κυκλοφορία του αίματος μέσω του θωρακικού πόρου.

Τα χυλομικρά καθώς εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος αλληλεπιδρούν του αίματος αλληλεπιδρούν με άλλες λιποπρωτεΐνες. Κυρίως αλληλεπιδρούν με τις HDL από τις οποίες προσλαμβάνουν απολιποπρωτεΐνες C (apo C), κυρίως apo C-II. Τα χυλομικρά προσλαμβάνουν επίσης και απολιποπρωτεΐνη E. Η απολιποπρωτεΐνη E μπορεί να προέρχεται από τις HDL ή συντίθενται στο ήπαρ ή στο έντερο αλλά και σε άλλους ιστούς όπως τον εγκέφαλο, στο νεφρό και στους πνεύμονες.

Ένας σημαντικός μηχανισμός ο οποίος παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών και στον οποίο συμμετέχουν τα χυλομικρά είναι το φαινόμενο της ουδέτερης

ανταλλαγής λιπιδίων (neutral lipid exchange). Μέσω αυτής της οδού τριγλυκερίδια μεταφέρονται από τα χυλομικρά στις HDL με ταυτόχρονη ανταλλαγή εστέρων της χοληστερόλης που μετακινούνται από τις HDL προς τα χυλομικρά. Για κάθε μόριο εστέρα της χοληστερόλης που μεταφέρεται από τις HDL, ένα μόριο τριγλυκεριδίου μεταφέρεται στην αντίθετη κατεύθυνση. Η μεταφορά των εστέρων της χοληστερόλης γίνεται με τη δράση της πρωτεΐνης μεταφοράς των εστέρων της χοληστερόλης CETP (cholesteryl-ester transfer protein).

Όταν στο χυλομικρό προσκολληθεί η απολιποπρωτεΐνη C-II που προέρχεται από τις HDL, ενεργοποιείται η λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL). Επομένως κατά τη διάρκεια παραμονής των χυλομικρών στην κυκλοφορία του αίματος τα τριγλυκερίδια των χυλομικρών υδρολύονται σε λιπαρά οξέα και γλυκερόλη από την LPL, η οποία βρίσκεται στο αγγειακό ενδοθήλιο κυρίως του λιπώδους ιστού, αλλά και του σκελετικού και καρδιακού μυός. Τα λιπαρά οξέα εισέρχονται στα κύτταρα όπου εστεροποιούνται και εναποθηκεύονται ή χρησιμοποιούνται προς παραγωγή ενέργειας. Κατά τη διάρκεια αυτής της διεργασίας τα χυλομικρά μικραίνουν σε μέγεθος ενώ αυξάνονται σε πυκνότητα λόγω αυξημένης συγκέντρωσης χοληστερόλης στο μορίο τους. Καθώς αυξάνεται η ποσότητα χοληστερόλης στα χυλομικρά σταματά και η περαιτέρω υδρόλυση των τριγλυκεριδίων τους από την LPL. Καθώς ο πυρήνας των χυλομικρών μειώνεται σε μέγεθος ελεύθερη χοληστερόλη, φωσφολιπίδια και απολιποπρωτεΐνη C μεταφέρονται στις HDL με αποτέλεσμα τη δημιουργία κατάλοιπων των χυλομικρών. Οι απολιποπρωτεΐνες B-48 και E παραμένουν στα κατάλοιπα των χυλομικρών.

Τα κατάλοιπα των χυλομικρών αναγνωρίζονται από τους υποδοχείς τις apo E οι οποίοι βρίσκονται μόνο στο ήπαρ καθώς και από τους υποδοχείς B-100/E, οι οποίοι βρίσκονται στα περισσότερα κύτταρα του σώματος. Στο ήπαρ τα τριγλυκερίδια των καταλοίπων των χυλομικρών υδρολύονται περαιτέρω από το ένζυμο ηπατική λιπάση και στην συνέχεια τα υδρολύόμενα κατάλοιπα προσκολλούνται στους υποδοχείς των apo E. Η διαφορά στα δύο διαφορετικά είδη των υποδοχέων των καταλοίπων των χυλομικρών είναι ότι η apo C-III μπορεί να εμποδίσει την πρόσληψη των καταλοίπων των χυλομικρών από το ήπαρ, αφού περιβάλλει την αναγνωρίσιμη από τον υποδοχέα περιοχή της apo E. Θεωρητικά τα κατάλοιπα των χυλομικρών μπορούν να προσροφηθούν και από τον υποδοχέα των απολιποπρωτεϊνών B-100/E. Αυτού όμως του είδους η προσρόφηση είναι πολύ μικρής έκτασης διότι ο βαθμός δέσμευσης των καταλοίπων των χυλομικρών είναι μεγαλύτερος μέσω του ηπατικού υποδοχέα και επίσης υπάρχει ανταγωνισμός με τις LDL για τον υποδοχέα των απολιποπρωτεϊνών B-100/E, των οποίων η συγκέντρωση είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή

των καταλοίπων τόσο στον όρο του αίματος, αλλά πολύ περισσότερο στα υγρά των ιστών. Επίσης ο ηπατικός υποδοχέας της αρο E δεν επηρεάζεται από μηχανισμό ανάδρασης όπως ο υποδοχέας αρο B-100/E.

Η μεταβολική πορεία των χυλομικρών που περιγράφηκε παραπάνω ονομάζεται και εξωγενής μεταφορά του λίπους, λόγω του ότι με αυτό τον τρόπο γίνεται μεταφορά του λίπους της τροφής (3).

1.4.2 Λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL)

Οι VLDL συντίθενται στο ήπαρ και εκκρίνονται στην κυκλοφορία του αίματος. Είναι μικρότερες σε μέγεθος από τα χυλομικρά αλλά είναι και αυτές πλούσιες σε τριγλυκερίδια. Το ήπαρ παραλαμβάνει λιπαρά οξέα από τα υπολείμματα των χυλομικρών, ενώ ταυτόχρονα έχει την ικανότητα να μετατρέπει το πλεόνασμα των θερμίδων από τους υδατάνθρακες, τις πρωτεΐνες, αλκοόλ της τροφής σε λιπαρά οξέα τα οποία εστεροποιούνται σε τριγλυκερίδια (1). Τα τριγλυκερίδια αυτά μαζί με την προσθήκη εστέρων της χοληστερόλης, φωσφολιπίδια, ελεύθερης χοληστερόλης, αρο E και αρο B-100 το ήπαρ επιτυγχάνει την σύνθεση και απελευθέρωση των VLDL λιποπρωτεϊνών.

Οι VLDL εκκρίνονται από το ήπαρ σε διαφορετικά μεγέθη, ως $VLDL_1$ και $VLDL_2$ (4). Το μέγεθος τους καθορίζεται από την περιεκτικότητά τους στα τριγλυκερίδια που βρίσκονται διαθέσιμα στον οργανισμό. Έτσι οι μεγάλοι μεγέθους και πλούσιες σε τριγλυκερίδια $VLDL_1$ εκκρίνονται όταν παρατηρείται αυξημένη ενδογενής παραγωγή τριγλυκεριδίων. Η παραγωγή των $VLDL_1$ στην συνέχεια μεταβολίζονται σε μικρά και πυκνά μόρια LDL που θεωρούνται ιδιαίτερα αθηρογόνα. Οι $VLDL_2$ είναι μικρότερου μεγέθους και φτωχές σε τριγλυκερίδια και μεταβολίζονται προς μεγάλα και λιγότερο πυκνά μόρια LDL, τα οποία δεν θεωρούνται τόσο αθηρογόνα όσο τα μικρά και πυκνά μόρια LDL.

Το φαινόμενο της ουδέτερης ανταλλαγής των λιπιδίων παρατηρείται και στις VLDL. Έτσι τριγλυκερίδια μεταφέρονται από τις VLDL στις HDL, ενώ συγχρόνως λαμβάνει χώρα κατά την αντίθετη κατεύθυνση μεταφορά εστέρων της χοληστερόλης. Οπότε με αυτό τον τρόπο εμπλουτίζονται οι VLDL με χοληστερόλη και οι HDL με τριγλυκερίδια. Τέλος η LPL υδρολύει τα TG των VLDL με αποτέλεσμα να οδηγεί σε συρρίκνωση του μορίου της VLDL και τον σχηματισμό των IDL (λιποπρωτεΐνη ενδιάμεσης πυκνότητας) (3).

Στην συνέχεια ένα μέρος των IDL μέσω της σύνδεσης των apo B -100 και Apo E με κυτταρικούς υποδοχείς της LDL των ηπατικών κυττάρων απομακρύνονται από την κυκλοφορία . Τα υπόλοιπα μόρια των IDL μέσω της δράσης της HL μετατρέπονται σε λιποπρωτεΐνες LDL, που αποτελούν τους κύριους μεταφορείς χοληστερόλης στο πλάσμα και παραμένουν στην κυκλοφορία. Η πορεία μεταβολισμού των VLDL ονομάζεται ενδογενής μεταφορά λιπιδίων, διότι ξεκινά και τελειώνει στο ήπαρ (3).

1.4.3 Λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL)

Οι LDL αποτελούνται από τριγλυκερίδια, φωσφολιπίδια και απολιποπρωτεΐνες apo B 100. Από όλα τα λιπίδια σε μεγαλύτερη αναλογία βρίσκεται η χοληστερόλη.

Βασικός ρόλος της LDL είναι η μεταφορά της χοληστερόλης του πλάσματος στα κύτταρα για να χρησιμοποιηθεί για διάφορες λειτουργίες όπως π.χ. για τη δημιουργία των μεμβρανών, την σύνθεση των στεροειδικών ορμονών κ.α

Οι LDL εισέρχονται στα κύτταρα των ιστών για την εναπόθεση της χοληστερόλης που μεταφέρουν κυρίως μέσω των LDL υποδοχών ή υποδοχείς apoB/E. Οι υποδοχείς όμως apo B/E υπόκεινται σε μηχανισμούς ανάδρασης και η χοληστερόλη που απελευθερώνεται από τη λυσοσωματική πέψη των πλούσιων σε χοληστερόλη και περιεχόντων απολιποπρωτεΐνη E λιποπρωτεϊνών ανταγωνίζεται την έκφρασή τους. Οπότε γι' αυτό το λόγο υπάρχει και δεύτερος τρόπος που εξασφαλίζει την είσοδο των LDL στο κύτταρο χωρίς να είναι απαραίτητη η δράση υποδοχέα, λόγω του ότι η σύσταση της LDL είναι παρόμοια με αυτή των κυτταρικών μεμβρανών. Μέσω αυτής της οδού, η χοληστερόλη είναι δυνατόν να εισέρχεται ανεξέλεγκτα στο κύτταρο χωρίς να υπεισέρχεται σε μηχανισμό ανάδρασης. Η εισροή των LDL μέσω αυτής της οδού επηρεάζεται μόνο από την εξωκυτταρική συγκέντρωση χοληστερόλης. Επίσης στην οξειδωμένη μορφή, η οξειδωμένη LDL μπορεί να εισχωρήσει ανεξέλεγκτα σε κύτταρα τα οποία κατέχουν «καθαριστές υποδοχείς», διότι αυτού του είδους οι υποδοχείς δεν υπόκεινται σε μηχανισμούς ανάδρασης . Αυτή η τελευταία οδός λαμβάνει χώρα στο ενδοθήλιο και όχι στην κυκλοφορία του αίματος, διότι όπως θα αναφερθεί πιο αναλυτικά στο τρίτο κεφάλαιο οι αντιοξειδωτικές ουσίες παρεμποδίζουν την οξείδωση της LDL (3).

1.4.4 Λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (HDL)

Οι HDL είναι οι μικρότερες των λιποπρωτεϊνών και είναι υπεύθυνες για τη μεταφορά χοληστερόλης από τα περιφερειακά κύτταρα στο ήπαρ προς απέκκριση υπό την επίδραση του ενζύμου LCAT. Το ένζυμο αυτό είναι υπεύθυνο για την εστεροποίηση της χοληστερόλης, η οποία προέρχεται από τα περιφερειακά κύτταρα. Η εστεροποίηση αυτή συμβαίνει στην επιφάνεια των HDL και η εστεροποιημένη μορφή της χοληστερόλης μεταφέρεται και εναποτίθεται στον πυρήνα των HDL. Γι'αυτό το λόγο, τυχόν υψηλά επίπεδα στο αίμα θεωρούνται αρνητικός προδιαθεσικός παράγοντας αναπτύξεως στεφανιαίας νόσου. Οι λιποπρωτεΐνες αυτές συντίθενται στο λεπτό έντερο και στο ήπαρ και εκκρίνονται στην κυκλοφορία του αίματος υπό την μορφή δισκίων τα οποία είναι πλούσια σε φωσφολιπίδια και πρωτεΐνη (κυρίως απολιποπρωτεΐνες A-I και A-II). Η απορρόφηση χοληστερόλης από τα περιφερειακά κύτταρα έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του μεγέθους τους και τη δημιουργία των HDL₃ ($d = 1.125 - 1.21 \text{ gr/ml}$), ενώ περαιτέρω αύξηση του μεγέθους έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία των HDL₂ ($d = 1.063 - 1.125 \text{ g/ml}$). Η μεταβολική οδός μεταφοράς χοληστερόλης από τα περιφερειακά κύτταρα στο ήπαρ και στο οποίο υπεισέρχεται η HDL, ονομάζεται «αντίστροφο σύστημα μεταφοράς χοληστερόλης» (reverse cholesterol system). Κατ'αυτόν τον τρόπο η χοληστερόλη μεταφέρεται στο ήπαρ όπου ή απεκκρίνεται στη χολή ή επαναδημιουργεί λιποπρωτεΐνες (1, 3).

1.4 Απολιποπρωτεΐνες 2

1.5 Απολιποπρωτεΐνες

Οι απολιποπρωτεΐνες (apo) είναι πρωτεΐνες που παίζουν σημαντικό ρόλο στη μεταφορά των λιποπρωτεϊνών. 26

Με τον όρο απολιποπρωτεΐνες (apo) χαρακτηρίζονται τα μόρια των πρωτεϊνών που συνδέονται με τα λιπίδια για την σύνθεση των λιποπρωτεϊνών. 27

Ο ρόλος των apo είναι πολύ σημαντικός διότι :

- A) είναι υπεύθυνες για την κυκλοφορία των λιπών μέσα στο υδατικό περιβάλλον του αίματος προκειμένου τα λίπη να χρησιμοποιηθούν για τις ανάγκες του οργανισμού του ανθρώπου.
- B) λειτουργούν ως ενεργοποιητές ενζυμικών αντιδράσεων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπών. Για παράδειγμα η δράση της λιπάσης που υδρολύει τα TG που περιέχονται στις λιποπρωτεΐνες ενεργοποιείται από την apo C-II
- Γ) σε μερικές περιπτώσεις οι απολιποπρωτεΐνες είναι απαραίτητες για την αναγνώριση των λιποπρωτεϊνών από τους κυτταρικούς υποδοχείς π.χ. οι apo E και apo B100 που βρίσκονται στις VLDL (1).

Οι πιο σημαντικές απολιποπρωτεΐνες που συμμετέχουν στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών αναφέρονται στην συνέχεια :

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

1.5.1 Απολιποπρωτεΐνες Α

Οι κύριες απολιποπρωτεΐνες των HDL είναι οι Α απολιποπρωτεΐνες (apo A) και ονομάζονται έτσι διότι αρχικά οι HDL ονομάζονταν α λιποπρωτεΐνες. Στον άνθρωπο υπάρχουν 2 κύριες μορφές απολιποπρωτεϊνών Α, η Α-I και η Α-II, εκ των οποίων η Α-I βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση.

Απολιποπρωτεΐνη Α-I : Η απολιποπρωτεΐνη Α-I συντίθεται στο έντερο και στο ήπαρ και εκκρίνεται μαζί με την apo A-II και φωσφολιπίδια, υπο τη μορφή δισκίων τα οποία ονομάζονται αρτιγέννητες HDL. Εκτός του ρόλου της στη δομή της HDL, η apo A-I δρα επίσης σαν ενεργοποιητής της LCAT. Το μεγαλύτερο μέρος της apo A-I βρίσκεται στις HDL του ορού του αίματος και του εξωαγγειακού υγρού των ιστών και συγκεντρωσή της είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή της apo B των LDL.

Απολιποπρωτεΐνη Α-II : Η apo A-II βρίσκεται και αυτή σε υψηλά επίπεδα στον ορό του αίματος και στα υγρά των ιστών. Συντίθεται στο έντερο και στο ήπαρ και ο ρόλος της δεν είναι ακόμη πλήρως διευκρινισμένος (3).

1.5.2 Απολιποπρωτεΐνες Β

Οι απολιποπρωτεΐνες Β παίζουν σημαντικό ρόλο στη μεταφορά των λιποπρωτεϊνών. Σε περιπτώσεις στις οποίες τα επίπεδα των LDL είναι αυξημένα, η συγκέντρωση της Apo B είναι επίσης αυξημένη ακόμα και όταν δεν παρουσιάζεται υπερχοληστερολαιμία (3).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 °

ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗ

2.1 Εισαγωγή

Στα καρδιαγγειακά νοσήματα περιλαμβάνονται τα εγκεφαλικά αγγειακά επεισόδια, η ανάπτυξη γάγγραινας στα κάτω άκρα αλλά και η στεφανιαία νόσος.

Η στεφανιαία νόσος, η σοβαρότερη μορφή των καρδιαγγειακών νοσημάτων, αποτελεί την πρώτη αιτία θανάτου στις Η.Π.Α και στο μεγαλύτερο μέρος των εκβιομηχανισμένων δυτικών κοινωνιών. Η στεφανιαία νόσος προκαλείται από σοβαρής μορφής αρτηριοσκλήρυνση, ενώ η αντιμετώπιση της είναι αρκετά πολύπλοκη διαδικασία, δεδομένου πως είναι μια πολυπαραγοντική νόσος και για να αντιμετωπισθεί αποτελεσματικά πρέπει να ληφθούν υπόψη όλοι οι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη της.

Η αρτηριοσκλήρυνση είναι μια κατάσταση που προσβάλλει της μεγάλου και μέσου μεγέθους αρτηρίες σχεδόν κάθε ανθρώπου τουλάχιστον στις κοινωνίες όπου τα πλούσια σε χοληστερόλη είδη της διατροφής είναι άφθονα και φθηνά. Η διαταραχή αυτή αρχίζει από την παιδική ηλικία και σε απουσία επιβαρυντικών παραγόντων εξελίσσεται αργά μέχρι τη γεροντική ηλικία κατά την οποία είναι πλέον πολύ εκτεταμένη.

Η σημασία της αρτηριοσκλήρυνσης των στεφανιαίων αρτηριών έγκειται στο γεγονός πως είναι υπεύθυνες για τους περισσότερους θανάτους στις ανεπτυγμένες χώρες. Η σταδιακή εξέλιξη του αθηρώματος στο εσωτερικό των αγγείων, έχει σαν αποτέλεσμα την συρρίκνωση της διαμέτρου του αυλού των αρτηριών και τελικά την απόφραξή τους. Κατά συνέπεια η ύπαρξη και η εξέλιξη της αρτηριοσκλήρωσης οδηγεί τελικά σε αρτηριακή ανεπάρκεια των άκρων, διαταραχή της νεφρικής λειτουργίας, ισχαιμικό επεισόδιο, στηθάγχη και στεφανιαία νόσο, ενώ στην περίπτωση που αποκολληθεί τμήμα από την αθηρωματική πλάκα (θρόμβος) είναι δυνατόν να προκαλέσει έμφραγμα του μυοκαρδίου ή αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και αιφνίδιο θάνατο (5).

Όσον αφορά τη μορφολογία της αθηροσκλήρωσης χαρακτηρίζεται από την εναπόθεση λιποειδικών μορίων και τον σχηματισμό αθηρωματικών πλακών κάτω από τον έσω χιτώνα των αρτηριών. Αυτές οι πλάκες περιέχουν ιδιαίτερα μεγάλες ποσότητες χοληστερόλης και

φωσφολιπιδίων . Χρόνια εναπόθεση λιπιδίων έχει σαν αποτέλεσμα τη διάρρηξη των λείων μυϊκών κυττάρων, την έναρξη εναπόθεσης και εξωκυτταρικών λιπιδίων και ινώδους ιστού και ανάπτυξη αθηρωματικής πλάκας. Σε μεταγενέστερο στάδιο της νόσου μαζί με τα λιποειδή γίνεται και εναπόθεση ασβεστίου οπότε σχηματίζονται ασβεστοποιημένες πλάκες. Όταν συμβαίνουν τα παραπάνω φαινόμενα παρατηρείται προοδευτικά σκλήρυνση των αρτηριών και η πάθηση ονομάζεται αρτηριοσκλήρυνση (3).

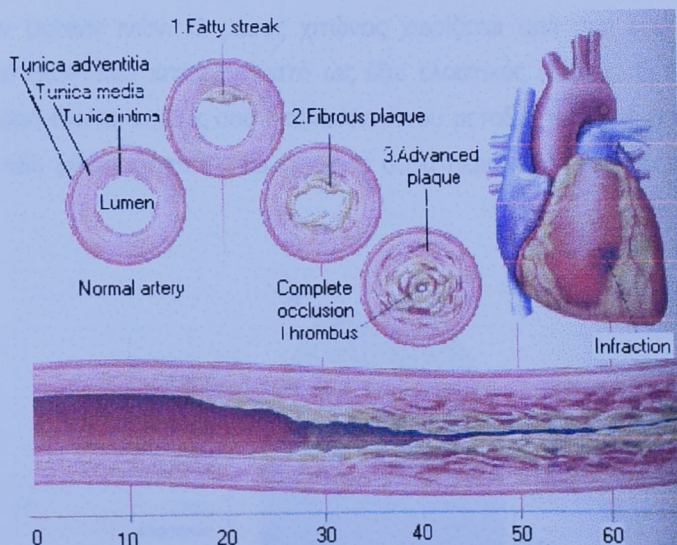
Καθώς οι αθηρωματικές πλάκες αυξάνουν σε μέγεθος έχουν την τάση να συγχωνεύονται και να προκαλούν την καταστροφή των κυτταρικών τοιχωμάτων. Πολλές φορές επίσης οι αθηρωματικές πλάκες προεξέχουν από τον έσω χιτώνα μέσα στον αυλό του αγγείου, οπότε η τραχύτητα της επιφάνειάς τους προκαλεί τον σχηματισμό θρόμβων αίματος με συνέπεια την θρόμβωση ή την εμβολή. Είναι γνωστό πως κάθε ανώμαλη ενδοθηλιακή επιφάνεια (συνέπεια είτε αρτηριοσκλήρυνσης, είτε λοίμωξης, είτε τραυματισμού) τείνει να βάλει σε κίνηση τη διαδικασία πήξης του αίματος με επακόλουθο τη δημιουργία παθολογικών πηγμάτων αίματος που ονομάζονται θρόμβοι. Τα αιμοπετάλια όταν έρχονται σε επαφή με ενδοθηλιακά κύτταρα που έχουν υποστεί βλάβη παρουσιάζουν αμέσως δραστική μεταβολή των χαρακτηριστικών τους. Αρχίζουν να διογκώνονται, παίρνουν ακανόνιστο σχήμα, παρουσιάζουν πολλές ακτινοειδείς προεκβολές της επιφάνειάς τους, γίνονται κολλώδη και προσκολλώνται στις κολλαγόνες ίνες και εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες ενζύμων και ADP που προκαλούν τον σχηματισμό μέσα στο πλάσμα θρομβοξάνης A₂. Η ADP και η θρομβοξάνη δρουν με την σειρά τους και στα γειτονικά αιμοπετάλια τα οποία και ενεργοποιούν. Με αυτόν τον τρόπο πραγματοποιείται μια συνεχής διαδικασία ενεργοποίησης όλο και περισσότερων αιμοπεταλίων που αθροίζονται και σχηματίζουν τον αιμοπεταλιακό θρόμβο. Μετά τον σχηματισμό του αιμοπεταλιακού θρόμβου, αυτός είναι δυνατόν να αποσχιστεί από το σημείο ανάπτυξης του και λόγω της συνεχούς ροής του αίματος να μεταφερθεί και να αποφράξει ιδιαίτερα τα αγγεία της καρδιάς, των πνευμόνων (πνευμονική εμβολή), του εγκεφάλου (εγκεφαλικό επεισόδιο) (2,3).

Κατά τη διάρκεια της εξέλιξης της νόσου οι βλάβες διακρίνονται στις πρώιμες, στις ινώδεις πλάκες και τέλος στις προχωρημένου τύπου βλάβες. Οι λιπώδεις ταινίες αποτελούν την πρωϊμότερη βλάβη της αρτηριοσκλήρυνσης. Σχηματίζονται από πολύ νωρίς στη ζωή του ανθρώπου, από την παιδική ακόμη ηλικία. Οι λιπώδεις ταινίες ή ραβδώσεις αποτελούνται από λιποειδή και λιποπρωτεΐνες συσσωρευμένα στα αφρώδη κύτταρα που προέρχονται από μακροφάγα. Τα αφρώδη κύτταρα εντοπίζονται στον έσω χιτώνα του αγγείου, κάτω από το ανέπαφο ενδοθήλιο σχηματίζοντας την χαρακτηριστική λιπώδη ταινία. Συνήθως οι λιπώδεις

ταινίες δεν προκαλούν στένωση του αυλού των αρτηριών και συνεπώς δεν διαταράσσουν την αιμάτωση των διαφόρων ιστών και οργάνων. Σε αυτό το στάδιο η κατάσταση είναι ασυμπτωματική και θεωρείται αναστρέψιμη (5).

Σε μεταγενέστερο στάδιο στις ίδιες θέσεις που βρίσκονταν οι λιπώδεις γραμμώσεις είναι δυνατόν να εμφανιστούν οι ινώδεις πλάκες. Οι ινώδεις πλάκες εμφανίζονται περίπου στο τέλος της τρίτης δεκαετίας της ζωής του ανθρώπου και είναι δυνατόν να δημιουργήσουν στένωση του αυλού της αρτηρίας. Οι ινώδεις πλάκες αποτελούνται από μακροφάγα, λεμφοκύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα και άφθονο ινώδη συνδετικό ιστό (κολλαγόνο). Η επιφάνεια καλύπτεται από αποπλατυσμένα λεία μυϊκά κύτταρα. Σε αυτό το στάδιο θεωρείται πως η αναστροφή της αλλοίωσης είναι δύσκολο να συμβεί.

Τέλος σε προχωρημένο στάδιο παρατηρείται συχνά αιμορραγία και εναπόθεση ασβεστίου και νέκρωση του ιστού, συσσώρευση αιμοπεταλίων και σχηματισμός θρόμβου, ο οποίος είναι δυνατόν να προκαλέσει αύξηση της βλάβης. Επιπλέον τμήματα της αθηρωματικής πλάκας είναι δυνατόν να αποσπασθούν και να προκαλέσουν εμβολές σε αγγεία οπότε η ανεπαρκής λειτουργία κάποιων οργάνων λόγω μειωμένης αιμάτωσης γίνεται εμφανής (3).



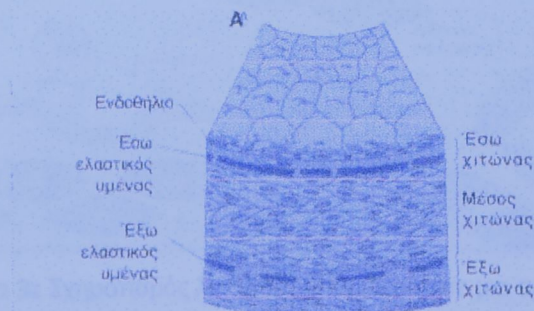
Σχήμα 1: Διαδικασία ανάπτυξης της αθηροσκλήρωσης (9)

2.2 Θεωρίες αθηρογένεσης

Η αθηροσκλήρωση είναι νόσος πολυπαραγοντική γι' αυτό τα αίτια δημιουργίας της αποτελούν αντικείμενο διερεύνησης πολλών επιστημονικών ερευνών. Οι θεωρίες που

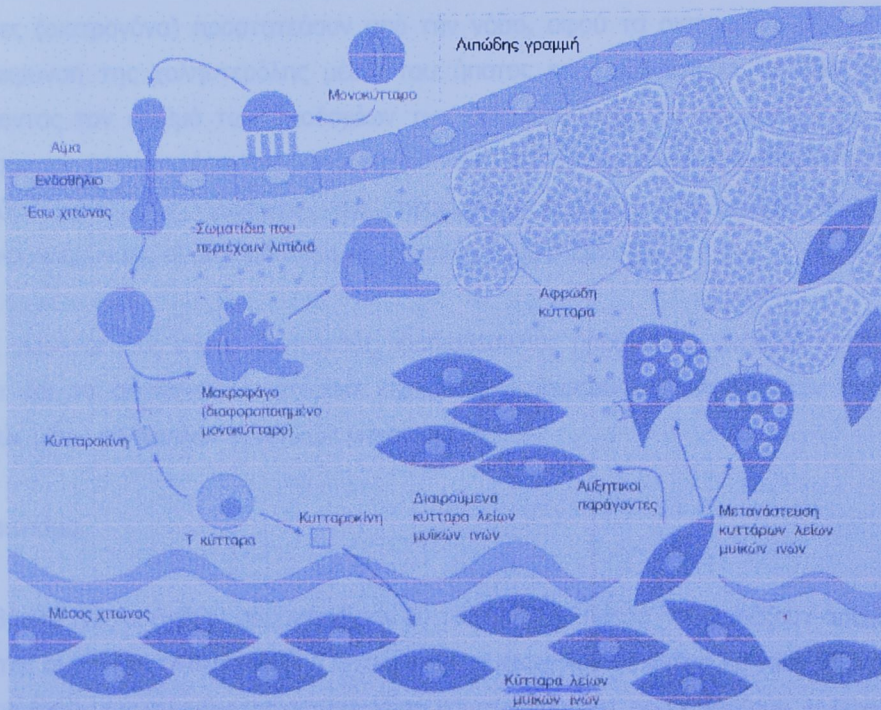
επικρατούν σήμερα για την αιτιολογία της αθηρογένεσης είναι τρεις : α) απόκριση σε τραυματισμό (response to injury) β) θεωρία τροποποιημένης λιποπρωτεΐνης και γ) ανοσολογική υπόθεση (αυτοάνοση αντίδραση έναντι των πρωτεϊνών του stress hsp).

Σύμφωνα με την πρώτη θεωρία, της « απόκρισης σε τραυματισμό», η αγγειακή βλάβη που χαρακτηρίζει την αθηροσκλήρωση αποτελεί απάντηση του αγγειακού τοιχώματος στον τραυματισμό από διάφορους παράγοντες που επηρεάζουν την ακεραιότητα του και δεν επιτρέπουν την ομαλή του λειτουργία. Ως αιτίες τραυματισμού του ενδοθηλίου μπορούν να θεωρηθούν η υπερλιπιδαιμία, η υπέρταση, το κάπνισμα, ο σακχαρώδης διαβήτης. Σε κάποιες άλλες περιπτώσεις αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου, ομοκυστεΐνης ή τοξίνες έχουν ενοχοποιηθεί ως παράγοντες άμεσου τραυματισμού του ενδοθηλίου. Για την κατανόηση του τραυματισμού του ενδοθηλίου θεωρείται σκόπιμο να γίνει προηγουμένως μια διασαφήνιση της δομής του αρτηριακού τοιχώματος. Η δομή μιας φυσιολογικής αρτηρίας είναι η εξής : αποτελείται από τρεις χιτώνες , τον έσω χιτώνα ο οποίος έρχεται σε άμεση επαφή με το αρτηριακό αίμα, το μέσο χιτώνα και τον έξω χιτώνα (σχήμα 2). Ο έσω χιτώνας αποτελείται από ένα λεπτό στρώμα ενδοθηλιακών κυττάρων. Ανάμεσα στον έσω και το μέσο χιτώνα παρεμβάλλεται ο έσω ελαστικός υμένας. Στον μέσο χιτώνα παρατηρούνται πολλαπλά στρώματα λείων μυϊκών ινών. Ο μέσος χιτώνας χωρίζεται από τον έξω χιτώνα με ένα ασυνεχές πέταλο ελαστικού ιστού, γνωστό ως έξω ελαστικός υμένας. Ο έξω χιτώνας της αρτηρίας τέλος αποτελείται κυρίως από ίνες κολλαγόνου μεταξύ των οποίων παρεμβάλλονται ινοβλάστες και λεία μυϊκά κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά περιβάλλονται από πρωτεογλυκάνες (5).



Σχήμα 2: Δομή μιας φυσιολογικής αρτηρίας (5)

Η βλάβη- τραυματισμός του ενδοθηλιακού τοιχώματος συνεπάγεται την έκφραση από τα ενδοθηλιακά κύτταρα μιας σειράς γεγονότων όπως : παραγωγή μορίων προσκόλλησης μονοκυττάρων και T- λεμφοκυττάρων από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, μετανάστευση μονοκυττάρων εντός του τοιχώματος και μετατροπή τους σε μακροφάγα και συσσώρευση αιμοπεταλίων. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων δημιουργεί μικροθρόμβους και την απελευθέρωση από αυτά και τα μακροφάγα αυξητικών παραγόντων και κυτταροκινών, οι οποίοι ευνοούν με την σειρά τους την περαιτέρω συσσώρευση μακροφάγων καθώς και την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων. Τα μακροφάγα αρχίζουν να φαγοκυττώνουν κυρίως LDL λιποπρωτεΐνες και μάλιστα την οξειδωμένη μορφή αυτών και μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. Τα αφρώδη κύτταρα σχηματίζουν κατά μήκος της αρχικής θέσης της ενδοθηλιακής βλάβης μια λιπώδη γραμμή. Αυτές οι γραμμώσεις είναι χαρακτηριστικές της εξελισσόμενης αθηροσκλήρωσης (5).



Σχήμα 3: Σχηματισμός λιπώδους γράμμωσης σε μια αρτηρία (5)

2.3 Παράγοντες κινδύνου

Πλήθος επιδημιολογικών μελετών έχουν αναγνωρίσει την συμβολή παραγόντων τόσο γενετικών όσο και περιβαλλοντικών στην δημιουργία, εκδήλωση και εξέλιξη της

αθηροσκλήρωσης. Όσοι περισσότεροι είναι οι παράγοντες που συνυπάρχουν σε ένα άτομο τόσο αυξάνονται οι πιθανότητες εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου σε αυτό το άτομο. Τέλος όσον αφορά τους παράγοντες κινδύνου είναι σκόπιμο να αναφερθεί πως η βαρύτητα του καθενός στην εμφάνιση και εξέλιξη της νόσου είναι διαφορετική. Πιο συγκεκριμένα οι παράγοντες κινδύνου αναφέρονται στην συνέχεια (6).

1) Επίδραση του φύλου, κληρονομικότητα

Η στεφανιαία νόσος είναι η σοβαρότερη νόσος από το σύνολο των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Ο κύριος λόγος προβληματισμού και ανησυχίας είναι το γεγονός ότι η αθηροσκλήρωση είναι υπεύθυνη για το 40% των θανάτων των μεσήλικων ανδρών και η δεύτερη αιτία θανάτου στις γυναίκες μετά τον καρκίνο. Φαίνεται δηλ πως το ανδρικό φύλο αποτελεί παράγοντα προδιάθεσης για την ανάπτυξη καρδιαγγειακών. Αντίθετα οι γυναικείες ορμόνες (οιστρογόνα) προστατεύουν από την νόσο, αφού τα οιστρογόνα προάγουν την απομάκρυνση της χοληστερόλης μέσω του ήπατος και μειώνουν τα επίπεδα της LDL, αυξάνοντας τον αριθμό των υποδοχέων των LDL στο ήπαρ. Τα υψηλότερα δε επίπεδα οιστρογόνων στην κυκλοφορία κατά τη διάρκεια του γυναικείου αναπαραγωγικού κύκλου εξηγούν γιατί στις γυναίκες της προεμμηνόπαυσιακής ηλικίας η εξέλιξη της αρτηριοσκλήρωσης είναι βραδύτερη σε σχέση με τους άνδρες (5,7).

Τέλος φαίνεται πως στους αρνητικούς προδιαθεσικούς παράγοντες ανάπτυξης της νόσου ανήκει και το οικογενειακό ιστορικό ισχαιμικής καρδιοπάθειας, εγκεφαλικών επεισοδίων πιθανώς μέσω πολλαπλών γενετικών μηχανισμών.

2) Κάπνισμα

Έχει βρεθεί πως οι άνδρες που καπνίζουν 20 τσιγάρα την ημέρα παρουσιάζουν αύξηση κατά 70% της συχνότητας θανάτου από ισχαιμία του μυοκαρδίου σε σχέση με τους μη καπνιστές. Αύξηση αυτής της συχνότητας παρατηρείται και στις γυναίκες που καπνίζουν. Η διακοπή του καπνίσματος ελαττώνει τον κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου. Στις βλαπτικές επιδράσεις του καπνίσματος περιλαμβάνονται η βλάβη του ενδοθηλίου, λόγω της υποξίας που προκαλείται από το μονοξείδιο του άνθρακα ενώ είναι δυνατόν να συμμετέχουν και άλλοι παράγοντες. Διακοπή του καπνίσματος επιβραδύνει την εμφάνιση αρτηριοσκλήρωσης (5).

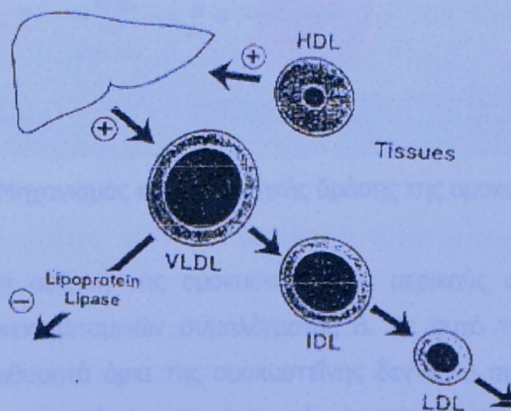
3) Υπέρταση

5) Ομοιοστάση

Η αύξηση της αρτηριακής πίεσης προκαλεί αύξηση των διασμητικών τάσεων που ασκούνται στο ενδοθήλιο, οπότε μπορεί να προκαλέσει βλάβη των ενδοθηλιακών κυττάρων και αίτια ανάπτυξης αθηροσκλήρωσης. Οπότε και η υπέρταση αποτελεί επίσης παράγοντα κινδύνου αθηροσκλήρωσης, ο οποίος όμως είναι αναστρέψιμος διότι η αντιυπερτασική θεραπεία μειώνει την συχνότητα τόσο των εγκεφαλικών επεισοδίων, όσο και των εμφραγμάτων του μυοκαρδίου (5).

4) Παχυσαρκία

Η παχυσαρκία, κεντρικού τύπου κυρίως, φαίνεται να μπορεί να αποτελέσει παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση και την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης, λόγω του ότι η παχυσαρκία σχετίζεται άμεσα με την υπερχοληστερολαιμία, υπερτριγλυκεριδαιμία, υπέρταση και διαβήτη, παράγοντες δηλαδή που σχετίζονται με υψηλό κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα μέσω προχωρημένης αθηροσκλήρωσης. Στις περισσότερες περιπτώσεις στην παχυσαρκία παρατηρείται ινσουλινοαντοχή, οπότε η λιποπρωτεϊνική λιπάση δεν διεγείρεται από την ινσουλίνη και αυξάνει η κυκλοφορία των ελεύθερων λιπαρών οξέων (Σχήμα 4). Επομένως για την παραγωγή ενέργειας των κυττάρων χρησιμοποιείται η περίσσεια των ελεύθερων λιπαρών οξέων και όχι η γλυκόζη, με αποτέλεσμα την υπερέκκριση ινσουλίνης και τέλος την ανάπτυξη ινσουλινοαντοχής. Επιπλέον η περίσσεια των ελεύθερων λιπαρών οξέων οδηγεί σε αύξηση της σύνθεσης VLDL και TG και την παραγωγή μικρών και πυκνών LDL (5, 8).

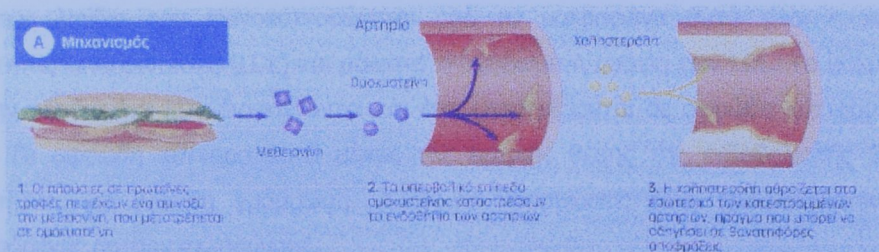


Σχήμα 4: Σχηματισμός LDL (8)

5) Ομοκυστεΐνη

Τελευταίες μελέτες και μάλιστα σε εντυπωσιακό αριθμό, έδειξε πως υπάρχει θετική συσχέτιση στις υψηλές συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης και καρδιαγγειακών νοσημάτων. Όλα τα άτομα παράγουν ομοκυστεΐνη, αλλά κανονικά μετατρέπονται σε μη επιβλαβή αμινοξέα. Τρεις βιταμίνες (φολικό οξύ, B6, B12) διευκολύνουν τη μετατροπή αυτή. Εάν η μετατροπή επιβραδύνεται λόγω γενετικής ανωμαλίας ή ανεπάρκειας βιταμινών τα επίπεδα ομοκυστεΐνης αυξάνουν και ενισχύουν τις καταστρεπτικές επιδράσεις της χοληστερόλης στον αυλό των αρτηριών. Στο σχήμα 5 που ακολουθεί φαίνεται ο καταστρεπτικός μηχανισμός της δράσης της ομοκυστεΐνης. Το πρότυπο της ομοκυστεΐνης φαίνεται να συμβάλει ικανοποιητικά στην ερμηνεία γιατί μερικά άτομα με κανονικά έως χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης προσβάλλονται από καρδιαγγειακά νοσήματα.

Έρευνες δείχνουν πως η αυξημένη συγκέντρωση ομοκυστεΐνης προκαλεί συγκόλληση αιμοπεταλίων, σχηματισμό θρόμβων και εκφυλισμό των λείων μυϊκών κυττάρων του τοιχώματος των αρτηριών. Χρόνια έκθεση σε αυξημένες συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης μπορεί να προκαλέσει ουλές, πάχυνση του τοιχώματος των αρτηριών και ενίσχυση της χοληστερόλης στην έναρξη του καταστροφικού της έργου. Βρέθηκε πως άνθρωποι με αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης διατρέχουν 4.5 φορές μεγαλύτερο στατιστικό κίνδυνο να εμφανίσουν καρδιαγγειακά νοσήματα σε σχέση με άτομα με κανονικά επίπεδα.



Σχήμα 5: Μηχανισμός καταστρεπτικής δράσης της ομοκυστεΐνης (9)

Η αιτία που προκαλεί αύξηση της ομοκυστεΐνης σε μερικούς ανθρώπους φαίνεται να σχετίζεται με ανεπάρκεια βιταμινών συμπλέγματος Β. Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθεί πως τα επιθυμητά όρια της ομοκυστεΐνης δεν είναι σαφώς ορισμένα. Παρόλα αυτά αρκετά δεδομένα ενισχύουν την πρακτική να καταναλώνονται αρκετές ποσότητες βιταμινών συμπλέγματος Β, αλλά και φολικού οξέος (9).

6) Lp (a)

Το 1960 ανακαλύφθηκε μια νέα λιποπρωτεΐνη που η δομή της ήταν πολύ κοντινή με αυτή της LDL. Αυτή η λιποπρωτεΐνη ονομάστηκε λιποπρωτεΐνη α (Lp a). Αποτελείται από ένα μόριο LDL που είναι συνδεδεμένο με μια γλυκοπρωτεΐνη μεγάλου μοριακού βάρους που είναι γνωστή ως απολιποπρωτεΐνη α (apo a). Η apo a στην Lpa συνδέεται με το μόριο της LDL και συγκεκριμένα με την Apo B μέσω δισουλφιδικού δεσμού. Η ισχυρή δομική ομολογία (παρόμοια αλληλουχία αμινοξέων) της Lpa με το πλασμινογόνο εξηγεί και το γεγονός πως πλήθος επιδημιολογικών μελετών έχουν χαρακτηρίσει την Lpa ως ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης. Η παρεμπόδιση της ινωδολύσης ίσως είναι ένας μηχανισμός που εξηγεί την συμμετοχή της Lpa στην αθηροσκλήρωση. Τέλος έχει προταθεί πως η θετική συσχέτιση Lpa και αθηροσκλήρωσης οφείλεται στην σύνδεση ινωδογόνου με το τμήμα της Lpa που μοιάζει με το ινωδογόνο με αποτέλεσμα μεταφορά χοληστερόλης στις περιοχές πρόσφατου τραυματισμού του αγγείου (6,10).

7) C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)

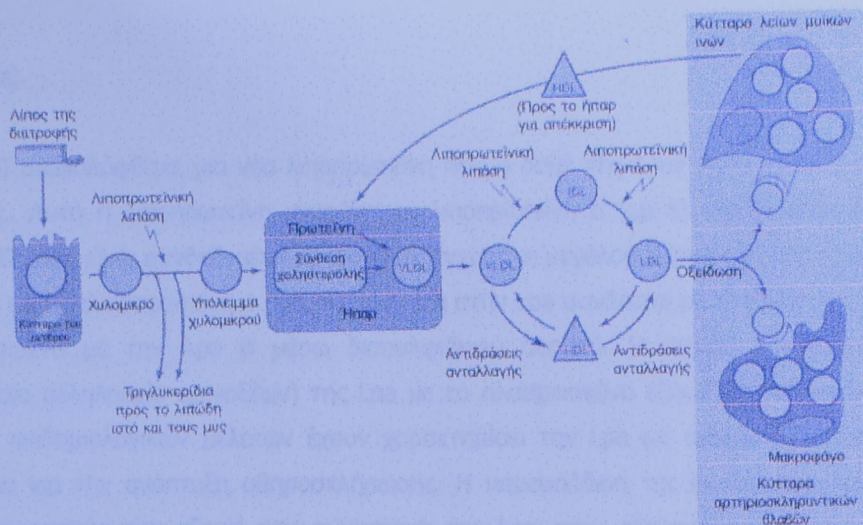
Τα τελευταία χρόνια ερευνητές υποστηρίζουν πως η CRP, μια από τις πιο γνωστές πρωτεΐνες οξείας φάσης, αποτελεί δείκτη ανάπτυξης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Έρευνες έχουν δείξει πως σε ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου έχουν εντοπισθεί αυξημένα επίπεδα CRP. Η έκκριση της CRP γίνεται από τα ηπατοκύτταρα μετά από ιστική βλάβη ή φλεγμονώδη απάντηση, οπότε αυξημένα επίπεδα CRP που παρατηρούνται σε ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου ή ασταθή στηθάγχη μπορούν να ερμηνευθούν ως μια απάντηση στη φλεγμονή του ενδοθηλίου. Η έκκριση της CRP από τα ηπατοκύτταρα προάγεται από τις ιντερλευκίνες IL-1 και IL-6. Ένας μηχανισμός που εξηγεί πως η CRP αποτελεί παράγοντα κινδύνου αθηροσκλήρωσης είναι ο εξής : Θεωρείται πως η CRP τροποποιεί τη λειτουργία των T-λεμφοκυττάρων, ενισχύει τη δραστηριότητα των φαγοκυττάρων και διεγείρει την παραγωγή αυξητικών παραγόντων από τα μονοκύτταρα. Φαίνεται δηλαδή πως η CRP συνδέεται με μηχανισμούς που σχετίζονται με αθηροσκληρωτικές αλλοιώσεις των αρτηριακών τοιχωμάτων (5,11).

8) Υπερλιπιδαιμία

Ένας από τους σπουδαιότερους παράγοντες κινδύνου είναι η υπερλιπιδαιμία. Η αύξηση συγκεντρώσεων χοληστερόλης ορού και ιδιαίτερα της LDL-C έχει βρεθεί από πλήθος επιδημιολογικών ερευνών, αλλά και κλινικών μελετών πως σχετίζεται με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Σε αυτό το σημείο πρέπει να επισημανθεί πως ο κίνδυνος στεφανιαίας νόσου αυξάνει ακόμη περισσότερο στην περίπτωση που τα μόρια της LDL είναι μικρά και πυκνά.

Είναι προφανές ότι η συσσώρευση των λιπιδίων στα αφρώδη κύτταρα είναι καθοριστικό γεγονός για την εξέλιξη της αρτηριοσκληρωτικής βλάβης, ενώ έχει αποδειχθεί ότι η μείωση των επιπέδων χοληστερόλης του πλάσματος επιβραδύνει αυτή την εξέλιξη.

Εφόσον τα λιπίδια είναι σχετικώς μη διαλυτές ουσίες και γι'αυτό η μεταφορά τους γίνεται με τη βοήθεια των περισσότερο διαλυτών ουσιών, των λιποπρωτεϊνών. Στο εντερικό επιθήλιο υπό την επίδραση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης τα χυλομικρά απελευθερώνουν τα TG στις λιποαποθήκες και στους μυς. Τα υπολείμματα χυλομικρών που απομένουν μετά την απομάκρυνση των TG, προσλαμβάνονται από το ήπαρ. Το ήπαρ συνθέτει επίσης χοληστερόλη που ενσωματώνεται με ειδικές πρωτεΐνες ώστε να σχηματίζονται οι VLDL. Οι VLDL εισέρχονται στην συνέχεια στην κυκλοφορία και με τη δράση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης αποδίδουν TG στους ιστούς, με αποτέλεσμα τη μετατροπή τους σε IDL και LDL λιποπρωτεΐνες που είναι πλούσιες σε χοληστερόλη. Οι HDL λιποπρωτεΐνες προσλαμβάνουν μόρια χοληστερόλης από τις VLDL, τις LDL και τους ιστούς και τα μεταφέρουν πίσω στο ήπαρ. Με τον τρόπο αυτό οι HDL διατηρούν τη χοληστερόλη του πλάσματος και των ιστών σε χαμηλά επίπεδα. Τα χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων στο πλάσμα έχουν σαν αποτέλεσμα μειωμένη εναπόθεση οξειδωμένης χοληστερόλης στις αρτηριοσκληρωτικές βλάβες και επομένως την επιβράδυνση της εξέλιξης των βλαβών.



Σχήμα 6: Μεταβολισμός λιπιδίων σε σχέση με την ανάπτυξη αρτηριοσκληρυντικών βλαβών (5)

Σύμφωνα με τη θεωρία των χημικώς τροποποιημένων λιποπρωτεϊνών (ελαφρά οξειδωμένη-τροποποιημένη LDL), η ελαφρά οξειδωμένη LDL δρα σαν χημειοτακτικός παράγοντας που προσελκύει μονοκύτταρα τα οποία μπορούν να προσκολληθούν στο ενδοθήλιο, να μεταναστεύσουν στον υποενδοθηλιακό χώρο και να μετατραπούν σε αφρώδη μακροφάγα, προωθώντας την ανάπτυξη των λιπαρών γραμμώσεων οπότε και την αθηρογένεση (12).

Τέλος σύμφωνα με την Τρίτη θεωρία, τα πρώτα στάδια της αθηροσκλήρωσης είναι ανοσολογικής φύσεως. Οι Georg Wick et al προτείνουν πως η αθηροσκλήρωση είναι αυτοάνοση αντίδραση έναντι των πρωτεϊνών του stress (hsp 60), οι οποίες εκφράζονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, όταν αυτά υπόκεινται σε αυξημένο αιμοδυναμικό stress. Επίσης υποστηρίζουν πως και τα T- κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος είναι υπεύθυνα για την έκφραση των hsp 60 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αυτό το στάδιο φλεγμονώδους αντίδρασης παρουσία και άλλων παραγόντων κινδύνου (κάπνισμα, παχυσαρκία, υπέρταση) μπορεί να οδηγήσει σε αθηροσκλήρωση, αν και σε παιδική ηλικία είναι αναστρέψιμο (12).

9) Ινδογόνο

Το ινδογόνο είναι πρωτεΐνη οξείας φάσης και παίζει σημαντικό ρόλο στο σύστημα πήξης-ινωδόλυσης. Έχει βρεθεί, όπως και η C αντιδρώσα πρωτεΐνη ότι αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου αθηροσκλήρωσης, εφόσον μπορεί να αλληλεπιδράσει με τα

ενδοθηλιακά κύτταρα και να τα ενεργοποιήσει. Ο μηχανισμός δράσης του φαίνεται να είναι η εισροή του στις αθηρωματικές πλάκες, η αύξηση της γλοιότητας του πλάσματος, η αύξηση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων και η μείωση της θρομβόλυσης (5).

2.4 Σακχαρώδης διαβήτης

Σε αυτό το σημείο κρίνεται σκόπιμο να αναφερθεί πως σύμφωνα με τα καινούρια δεδομένα ο διαβήτης θεωρείται ισοδύναμος με την στεφανιαία νόσο και όχι παράγοντας κινδύνου. Έρευνες έδειξαν πως σε σύγκριση με τους μη διαβητικούς η συχνότητα εμφράγματος του μυοκαρδίου στους διαβητικούς είναι αυξημένη κατά 2 φορές. Η αυξημένη συχνότητα αρτηριοσκλήρυνσης που παρατηρείται στους διαβητικούς αποδίδεται στην αντίσταση στην ινσουλίνη, στην παχυσαρκία, στην υπερτριγλυκεριδαιμία και στην υπερχοληστερολαιμία (5).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3°

ΑΡΤΗΡΙΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗ, ΘΡΟΜΒΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΣ

3.1 Εισαγωγή

Προτού γίνει αναφορά στην επίδραση του κόκκινου κρασιού στη λειτουργικότητα του ενδοθηλίου κρίνεται σκόπιμο σε αυτό το κεφάλαιο να γίνει μία περιγραφή των μηχανισμών που συμμετέχουν στη διαδικασία της αθηρογένεσης.

Τα τελευταία χρόνια παρά το γεγονός πως ακόμη υπάρχουν σχετικές διαφωνίες όσον αφορά το εναρκτήριο αίτιο της αρτηριοσκλήρυνσης έχουν γίνει σημαντικά βήματα στην αναγνώριση των διαφόρων τύπων κυττάρων, μορίων και της ποικιλίας των μηχανισμών που εμπλέκονται στην αθηρογένεση.

Τα κύτταρα που εμπλέκονται στην παθογένεση των αθηρωματικών αλλοιώσεων είναι τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα λεία μυϊκά κύτταρα, τα μονοκύτταρα/μακροφάγα, αιμοπετάλια και τα Τ-λεμφοκύτταρα. Πιο συγκεκριμένα η βλάβη του ενδοθηλίου οδηγεί στην έκφραση από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των μορίων πρόσφυσης των αγγειακών κυττάρων. Μέσω αυτών των μορίων, τα μονοκύτταρα προσκολλώνται στο ενδοθήλιο και στην συνέχεια εισέρχονται στην υποενδοθηλιακή περιοχή. Εκεί μετατρέπονται σε λιπιδιοφάγα/μακροφάγα. Το κυριότερο λιπίδιο που φαγοκυτταρώνεται από τα μακροφάγα αυτά είναι η χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL) και μάλιστα η οξειδωμένη μορφή των LDL. Τα μακροφάγα από την οξειδωμένη LDL διογκώνονται και έτσι μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα (foam cells). Τα αφρώδη κύτταρα κατά μήκος της αρχικής θέσης της ενδοθηλιακής βλάβης, σχηματίζουν μια λιπώδη γράμμωση. Αυτές οι γραμμώσεις είναι χαρακτηριστικές της εξελισσόμενης αρτηριοσκλήρυνσης.

Τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών που βρίσκονται στην περιοχή της αρχικής βλάβης, διεγείρονται και μετακινούνται από το μέσο χιτώνα προς τον έσω. Εκεί πολλαπλασιάζονται και εναποθέτουν κολλαγόνο και άλλα μόρια της θεμέλιας ουσίας συμβάλλοντας στην αύξηση του όγκου της βλάβης. Τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών προσλαμβάνουν επίσης την οξειδωμένη LDL με αποτέλεσμα να μετατρέπονται και αυτά σε αφρώδη κύτταρα. Τέλος στο παραμορφωμένο, πεπαχυσμένο τοίχωμα της αρτηρίας εναποτίθεται ασβέστιο, σχηματίζοντας μια εύθραυστη πλάκα.

Τα Τ κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος εκκρίνουν τουλάχιστον έναν από τους παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για τη μετατροπή των μονοκυττάρων σε μακροφάγα. Επιπλέον τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών και τα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν αυξητικούς παράγοντες και κυτταροκίνες που συμμετέχουν στη διαδικασία μετανάστευσης και πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Προϋπόθεση για τη μετατροπή ενός μονοκυττάρου σε λιπιδιοφάγο μακροφάγο είναι η έκφραση στην επιφάνεια του μονοκυττάρου ενός εξειδικευμένου τύπου υποδοχέα των οξειδωμένων μορίων LDL, γνωστού ως υποδοχέας εκκαθαριστής (scavenger receptor). Η έκφραση αυτών των υποδοχέων γίνεται κατόπιν διέγερσης των μονοκυττάρων από τον παράγοντα που διεγείρει τις αποικίες των μακροφάγων και που εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών των αγγείων. Όταν σχηματισθούν τα συμπλέγματα οξειδωμένων μορίων LDL-υποδοχέα αυτά μεταφέρονται στο εσωτερικό του κυττάρου και ο μεν υποδοχέας ανακυκλώνεται προς τη μεμβράνη, τα δε λιπίδια αποθηκεύονται στο εσωτερικό του κυττάρου.

Είναι προφανές ότι η συσσώρευση των λιπιδίων στα αφρώδη κύτταρα είναι ένα καθοριστικό γεγονός για την εξέλιξη της αρτηριοσκληρωτικής βλάβης ενώ έχει αποδειχθεί ότι η μείωση της χοληστερόλης επιβραδύνει αυτή την εξέλιξη (5).

3.2 Αθηρογένεση και η συμμετοχή των λιπιδίων

3.2.1 ρόλος της οξειδωμένης LDL

Φυσιολογικά οι λιποπρωτεΐνες που κυκλοφορούν στο αίμα εισέρχονται σε άμεση επαφή με το τοίχωμα των αρτηριών και το διαπερνούν διαμέσου του ενδοθηλίου φτάνοντας στον έσω και στην συνέχεια στο μέσο χιτώνα. Οι ινοβλάστες και τα λεία μυϊκά κύτταρα διαθέτουν LDL υποδοχείς, με τη βοήθεια των οποίων γίνεται η δέσμευση των LDL λιποπρωτεϊνών και η μεταφορά τους στο εσωτερικό των κυττάρων ώστε στην συνέχεια να γίνει η αποδέσμευση της χοληστερόλης και να χρησιμοποιηθεί για τις διάφορες ανάγκες των κυττάρων.

Η σχέση της αύξησης της χοληστερόλης και χοληστερόλης των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL-C) με την στεφανιαία νόσο είναι πλέον γνωστή, εφόσον ο αριθμός των υποδοχέων παύει να ρυθμίζει ικανοποιητικά τα επίπεδα αυτών των λιποπρωτεϊνών. Μολονότι όμως ο αθηρογόνος ρόλος των υψηλών επιπέδων της LDL είναι γενικά αποδεκτός, δεν εξηγεί

εξ ολοκλήρου τη διαφορά στο ρυθμό ανάπτυξης στεφανιαίας νόσου σε άτομα με τα ίδια επίπεδα χοληστερόλης, χωρίς την επιπρόσθετη παρουσία άλλων παραγόντων κινδύνου. Άλλωστε, έχει επίσης παρατηρηθεί ότι άτομα με στεφανιαία νόσο παρουσίαζαν φυσιολογικά επίπεδα LDL. Αυτή η παρατήρηση ενισχύει την άποψη ότι σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη στεφανιαίας νόσου παίζει ο ρυθμός οξειδωσης του μορίου της LDL (13).

Ο ρυθμός οξείδωσης της LDL εξαρτάται από την κατάσταση του κυττάρου και την παρουσία οξειδωτικών ουσιών.

Η οξειδωμένη LDL παίζει σημαντικό ρόλο στη δημιουργία αφρωδών κυττάρων από τα μακροφάγα και λεία μυϊκά κύτταρα. Η οξείδωση της LDL γίνεται παρουσία ελεύθερων ριζών οξυγόνου, οι οποίες οξειδώνουν τα περιεχόμενα στην LDL ακόρεστα λιπαρά οξέα, οδηγώντας με αυτό τον τρόπο αφενός μεν στη δημιουργία υπεροξειδίων των λιπιδίων και αφετέρου στον σχηματισμό μιας μεγάλης ποικιλίας τοξικών προϊόντων όπως οι αλδεύδες (14).

Η οξείδωση της LDL εξαρτάται από την κατάσταση του κυττάρου και την παρουσία οξειδωτικών ουσιών.

Η οξείδωση της LDL ευνοείται από όλα τα κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος, ενδοθηλιακά, μακροφάγα και λεία μυϊκά κύτταρα. Ο τρόπος με τον οποίο τα κύτταρα αυτά αναπτύσσουν τις κατάλληλες συνθήκες οξείδωσης δεν είναι εύκολο να προσδιοριστεί. Σε γενικές γραμμές η οξείδωση της LDL δεν ευνοείται στο πλάσμα γιατί α) τα επίπεδα Cu^{++} και Fe^{++} που είναι απαραίτητα για τον σχηματισμό ελεύθερων ριζών είναι χαμηλά β) τα επίπεδα αντιοξειδωτικών στην κυκλοφορία του αίματος είναι υψηλά και γ) το ήπαρ αναλαμβάνει την απομάκρυνση ενός σημαντικού μέρους της οξειδωμένης LDL.

Η οξείδωση της LDL εξαρτάται από την κατάσταση του κυττάρου και την παρουσία οξειδωτικών ουσιών.

Υπεύθυνες για την οξείδωση είναι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (O_2^- , OH^- , NO^-) με κυριότερο εκπρόσωπο το ανιόν υπεροξειδίου (O_2^-) το οποίο εκκρίνεται μεσοκυττάρια από τα ίδια τα κύτταρα και οδηγεί στην σύνθεση υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και ρίζας υδροξυλίου (OH^-).

Η οξείδωση της LDL εξαρτάται από την κατάσταση του κυττάρου και την παρουσία οξειδωτικών ουσιών.

Με αυτό τον τρόπο αρχίζει η οξείδωση της LDL στον εσωτερικό χιτώνα και οδηγεί αρχικά στη δημιουργία της ελαφρά τροποποιημένης LDL (minimally modified LDL, MM-LDL). Σε αυτή τη φάση η MM-LDL δεν αναγνωρίζεται από τους «καθαριστές» υποδοχείς, αλλά μπορεί να οδηγήσει συγκριτικά με τη γηγενή LDL σε 5 φορές μεγαλύτερη δέσμευση μονοκυττάρων από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ακόμα κι όταν η συγκέντρωσή της είναι πολύ μικρότερη της γηγενούς LDL. Συγκεκριμένα, η MM-LDL διεγείροντας τα ενδοθηλιακά κύτταρα, προκαλεί μια σημαντική αύξηση στην παραγωγή και έκκριση μορίων προσκόλλησης και χημειοελκτικών παραγόντων μονοκυττάρων. Στον υποενδοθηλιακό χώρο τα μονοκύτταρα μετατρέπονται σε μακροφάγα και εκφράζουν τους καθαριστές-υποδοχείς στην επιφάνειά τους. Η έκφραση των καθαριστών-υποδοχέων ρυθμίζεται από μια κυτταροκίνη, την ιντερλευκίνη IL-4, η οποία

απελευθερώνεται από τα T- λεμφοκύτταρα (T- cells). Η κυτταροκίνη αυτή προκαλεί επίσης την έκφραση της 15- λιποξυγενάσης. Η 15-λιποξυγενάση συνεισφέρει στην οξειδωτική τροποποίηση της LDL μέσω του ενδοκυττάριου σχηματισμού υδροπεροξειδίων των λιπιδίων στα μακροφάγα και ίσως και σε ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα.

Ο μηχανισμός που είναι υπεύθυνος για την οξείδωση του μορίου της LDL περιλαμβάνει μία πρώτη φάση ή φάση της υστέρησης (lag phase), κατά την οποία η οξείδωση της LDL καθυστερεί μέχρι την πλήρη κατανάλωση των ενδογενών αντιοξειδωτικών της. Στη αυτή τη φάση αρχικά καταναλώνεται η βιταμίνη E (α- και γ-τοκοφερόλη) και στην συνέχεια τα καροτενοειδή. Η δεύτερη φάση ή φάση πολλαπλασιασμού (propagation phase) περιλαμβάνει γρήγορο πολλαπλασιασμό των οξειδωμένων LDL. Ο πολλαπλασιασμός αυτός αρχίζει αμέσως μετά την πρώτη φάση, μετατρέποντας τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα της LDL σε υπεροξειδία λιπιδίων. Τέλος η τρίτη φάση ή η φάση της αποικοδόμησης (decomposition phase) καταλήγει στον σχηματισμό μαλονοδιαλδεύδης και άλλων προϊόντων, από την αποικοδόμηση των υδροπεροξειδίων.

Κατά τη διάρκεια οξείδωσης της LDL τα συστατικά του μορίου της υφίστανται ορισμένες μετατροπές. Η χοληστερόλη οξειδώνεται προς σχηματισμό οξυστερόλης, η φωσφατιδυλοχολίνη μετατρέπεται σε λυσοφωσφατιδυλοχολίνη, ενώ τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα καταλήγουν σε σχηματισμό αλδευδών όπως είναι η μαλονο-υδροξυνονενάλη. Τα προϊόντα αυτά λόγω της μεγάλης κυτταροτοξικότητάς τους προάγουν την επιτάχυνση της ανάπτυξης της αθηρωματικής βλάβης. Επιπλέον η ομοιοπολική σύνδεση της μαλονοδιαλδεύδης με την απολιποπρωτεΐνη B100 καθιστά την οξειδωμένη LDL αναγνωρίσιμη από τους καθαριστές-υποδοχείς και όχι από τους υποδοχείς E/B100 (13, 14).

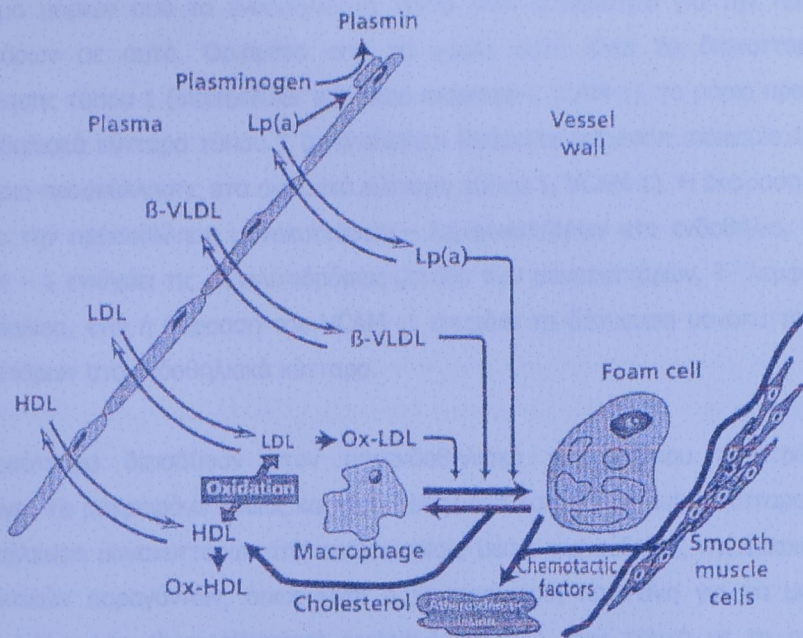
3.2.2 Ο ρόλος των άλλων λιποπρωτεϊνών

Από διάφορες μελέτες φαίνεται πως η LDL δεν είναι η μόνη λιποπρωτεΐνη που μπορεί να προκαλέσει ενδοθηλιακό τραυματισμό, εφόσον και άλλα λιποπρωτεϊνικά μόρια μπορούν να αποτελέσουν αιτία αθηρογένεσης. Πιο συγκεκριμένα, μια τροποποιημένη μορφή της VLDL λιποπρωτεΐνης, η β-VLDL μπορεί να δεσμευθεί από τα μακροφάγα προς σχηματισμό αφρωδών κυττάρων σε μικρότερο όμως βαθμό σε σχέση με τις oxLDL. Η β-VLDL είναι μια λιποπρωτεΐνη πλούσια σε εστέρες της χοληστερόλης και όχι σε τριγλυκερίδια όπως η φυσιολογική μορφή της VLDL και εμφανίζεται στο πλάσμα των ατόμων που πάσχουν από υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου III

Εκτός όμως από τις β-VLDL ιδιαίτερα αθηρογόνα είναι και τα κατάλοιπα των χυλομικρών. Η απομάκρυνση των τριγλυκεριδίων και ο εμπλουτισμός με χοληστερόλη των καταλοίπων των χυλομικρών κατά την ουδέτερη ανταλλαγή λιπιδίων, έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση του μεγέθους αυτών των λιποπρωτεϊνών και τη δημιουργία άλλων αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών, αφού και αυτές μπορούν να εισχωρήσουν στα αρτηριακά τοιχώματα και να εναποθέσουν εκεί τη χοληστερόλη την οποία περιέχουν. Επομένως όσο περισσότερο χρόνο παραμένουν τα χυλομικρά στην κυκλοφορία του αίματος, τόσο περισσότερο παραμένουν ανεβασμένα τα τριγλυκερίδια στο στάδιο νηστείας αλλά πολύ περισσότερο στο μεταγευματικό στάδιο και κατ'έπекταση, τόσο περισσότερο αυξάνει η απορρόφηση χοληστερόλης από τα περιφερειακά κύτταρα (3, 6)

Από την στιγμή που ο Berg ανακάλυψε την λιποπρωτεΐνη α (Lpa) πλήθος ερευνών ανακάλυψε μια ισχυρή θετική συσχέτιση ανάμεσα στα αυξημένα επίπεδα της Lpa και της αθηρογένεσης. Η επίδραση της Lpa στην ανάπτυξη των καρδιαγγειακών νοσημάτων δεν είναι πλήρως ξεκαθαρισμένη. Μια από τις θεωρίες αθηρογένεσης της Lpa υποστηρίζει πως ο μηχανισμός δράσης της είναι η μείωση της ινοδύλωσης μέσω του ανταγωνισμού μετατροπής του πλασμινογόνου σε πλασμίνη. Τέλος η Lpa παρεμποδίζει την δράση του παράγοντα TGF-β ο οποίος είναι ο παράγοντας ανάπτυξης που παρεμποδίζει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων με αποτέλεσμα η Lpa να ευνοεί τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων και να θεωρείται ανεξάρτητος παράγοντας στην έναρξη της αθηρογένεσης (10).

Τέλος η HDL λιποπρωτεΐνη, μέσω του μηχανισμού της αναστροφής μεταφοράς χοληστερόλης, μπορεί να απομακρύνει μόρια χοληστερόλης από τα υπερφορτωμένα σε εστέρες χοληστερόλης μακροφάγα και έτσι να αναστείλει τον σχηματισμό αθηρώματος (6).



Σχήμα 7: Λράση κάθε λιποπρωτεΐνης στην πορεία της αθηρογένεσης (6)

3.3 φλεγμονώδεις αντιδράσεις στην πορεία της αθηρογένεσης

3.3.1 οξειδωμένη LDL και ενδοθήλιο

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στην αγγειακή λειτουργία, ελέγχοντας την συσσώρευση αιμοπεταλίων, την πήξη του αίματος και την ινοδύλωση. Πρόκειται για μεταβολικά ενεργά κύτταρα, τα οποία αλληλεπιδρώντας με το αίμα και τους υποκείμενους ιστούς λειτουργούν ως προ- αλλά και αντι-θρομβωτικές ενδιάμεσες επιφάνειες, ενώ συγχρόνως απελευθερώνουν παράγοντες απαραίτητους για τη διατήρηση του αγγειακού τόνου. Η έναρξη του σχηματισμού της αθηροσκληρωτικής περιοχής περιλαμβάνει μεταβολή της δομής και λειτουργίας του ενδοθηλίου, από όπου στην συνέχεια διεισδύουν λιποπρωτεΐνες από την κυκλοφορία του αίματος στον υποενδοθηλιακό χώρο. Η δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων είναι ενδεχομένως το αποτέλεσμα αυξημένης ενδοκυτταρικής δραστηριότητας κυττάρων που είναι εκτεθειμένα σε αθηρογόνες συγκεντρώσεις της LDL (13).

Ένα από τα προϊόντα οξειδωσης στο μόριο της LDL, η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη οδηγεί στο σχηματισμό μορίων από το ενδοθήλιο τα οποία είναι απαραίτητα για την προσκόλληση μονοκυττάρων σε αυτό. Ορισμένα από τα μόρια αυτά είναι το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης τύπου 1 (intercellular adhesion molecule-1 ICAM-1), το μόριο προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα τύπου 1 (endothelium leukocyte adhesion molecule 1, ELAM-1), και το μόριο προσκόλλησης στα αγγειακά κύτταρα τύπου 1, VCAM-1). Η έκφραση του ICAM-1 προάγει την προσκόλληση μονοκυττάρων – λεμφοκυττάρων στο ενδοθήλιο, η έκφραση του ELAM – 1 ενισχύει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μονοκυττάρων, T- λεμφοκυττάρων και ενδοθηλίου, ενώ η έκφραση του VCAM -1 επιτείνει τη δέσμευση μονοκυττάρων και T- λεμφοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Τα μονοκύτταρα διεισδύουν στον υποενδοθηλιακό χώρο, όπου μετατρέπονται σε μακροφάγα. Τα μακροφάγα καθώς και τα ενδοθηλιακά και τα λεία μυϊκά κύτταρα, αυξάνουν την προσέλκυση μονοκυττάρων της κυκλοφορίας, μέσω της αύξησης της έκκρισης ειδικών χημειοελκτικών παραγόντων, όπως είναι η χημειοελκτική πρωτεΐνη για τα μονοκύτταρα τύπου 1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1), ενώ τελικά με τη συσσώρευση λιπιδίων στο εσωτερικό τους μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. Η σύνθεση της MCP-1 διεγείρεται από την οξειδωμένη LDL.

Η βλάβη του ενδοθηλίου διεγείρει την έκκριση κυτταροκινών (TNF- α , IL-1), από διάφορους τύπους κυττάρων, όπως είναι τα αφρώδη μακροφάγα και τα λεία μυϊκά κύτταρα, την απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων από τα κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος και την ταχεία συσσώρευση αιμοπεταλίων στο σημείο της βλάβης. Φυσικό επακόλουθο των παραπάνω διεργασιών είναι ο πολλαπλασιασμός και η μετακίνηση των λείων μυϊκών κυττάρων από το λείο μυϊκό προς τον υποενδοθηλιακό χιτώνα. Οι κυριότεροι από τους αυξητικούς παράγοντες που εκκρίνονται κατά τη διεργασία αυτή είναι ο βασικός αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (basic fibroblast growth factor, bFGF), ο οποίος εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και συντελεί στον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων καθώς και ο αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων (platelet-derived growth factor, PDGF) ο οποίος ενεργεί στα λεία μυϊκά κύτταρα διευκολύνοντας την μετακίνηση τους από το μυϊκό προς τον υποενδοθηλιακό χιτώνα. Επιπρόσθετα ο bGFG προκαλεί την έκφραση των «καθαριστών» υποδοχέων, μέσω των οποίων τα λεία μυϊκά κύτταρα προσλαμβάνουν με ταχύ ρυθμό οξειδωμένη LDL και μετατρέπονται σε αφρώδη . Την έκφραση των «καθαριστών» υποδοχέων στα μακροφάγα αυξάνει και ο παράγοντας διέγερσης των αποικιών μακροφάγων (mono-cyte colony stimulating factor, M-CSF). Ο παράγοντας αυτός

και ο παράγοντας διέγερσης των αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (granulocyte-monocyte colony stimulating factor, GM-CSF) εκκρίνονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα ύστερα από ενεργοποίηση από την οξειδωμένη LDL και η κύρια λειτουργία τους είναι ο πολλαπλασιασμός των μακροφάγων. Επιπλέον αυτής της λειτουργίας, ο M-CSF επάγει την έκφραση των «καθαριστών» υποδοχέων στην επιφάνεια των μακροφάγων οδηγώντας σε αυξημένη προσρόφηση LDL και αυξημένο σχηματισμό αφρωδών κυττάρων. Στο σημείο αυτό η πιθανότερη κατάληξη των αφρωδών κυττάρων της αθηρωματικής περιοχής είναι η νέκρωσή τους, η διάρρηξή τους και η απελευθέρωση κυτταροτοξικών προϊόντων τους, τα οποία υπόκεινται στη δράση των πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες είναι λυσοσωματικά ένζυμα που ανήκουν στην τάξη των μεταλλοπρωτεϊνών, εκκρίνονται από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα και εκτός των άλλων ευθύνονται και για τη διάσπαση του κολλαγόνου που παράγεται από τα λεία μυϊκά κύτταρα της πλάκας ευοδώνοντας την περαιτέρω ανάπτυξη της αθηρωμάτωσης. Η απελευθέρωση των παραπάνω κυτταροτοξικών προϊόντων οφείλεται στη μη γρήγορη απομάκρυνση των νεκρωτικών αφρωδών κυττάρων- μέσω της φαγοκύττωσης- λόγω της ελλιπούς ικανότητας γειτονικών μακροφάγων να λειτουργούν ως «καθαριστές».

Στην συνέχεια, η επαφή του περιεχομένου της πλάκας με το αίμα πυροδοτεί τον σχηματισμό του θρόμβου και τη μείωση της διαμέτρου του αυλού της αρτηρίας. Μάλιστα, η περιεχόμενη στο αρτηριακό τοίχωμα οξειδωμένη LDL επάγει την αγγειοσυστολή μέσω απενεργοποίησης του ενδοθηλιογενούς αγγειοχαλαρωτικού παράγοντα (endothelial cells derived-relaxing factor, EDRF), μετά την απελευθέρωσή του από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Πιθανολογείται πως υπεύθυνα για την απενεργοποίηση του EDRF είναι τα λιπιδιακά συστατικά της οξειδωμένης LDL (π.χ. λυσοφωσφατιδυλοχολίνη), χωρίς όμως να έχει διευκρινιστεί η χημική φύση της μεταξύ τους αλληλεπίδρασης. Ο EDRF είναι ουσία με έντονη αγγειοδιασταλτική επίδραση που ελέγχει τη διάμετρο του αυλού σε σχέση με τη ροή του αίματος, ενώ αναστέλλει την προσκόλληση και συγκόλληση αιμοπεταλίων. Παρουσιάζει ιδιότητες παρόμοιες με αυτές του μονοξειδίου του αζώτου (NO), που σχηματίζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα από την L-αργινίνη και πιθανότατα η ενεργή μορφή του EDRF ταυτίζεται όχι με το NO, αλλά με ουσίες που περιέχουν NO, όπως είναι οι νιτροζοθειόλες (nitrosothiols). Όταν όμως το ενδοθήλιο δυσλειτουργεί όπως συμβαίνει στην περιοχή της αθηρωματικής πλάκας, η σύνθεση του NO παρεμποδίζεται και κυρίως αυξάνει ο ρυθμός αποικοδόμησής του από τις οξειδωμένες LDL μορφές. Με τον τρόπο αυτό ευοδώνεται η αγγειοσύσπαση των περιοχών που γειτονεύουν με τη βλάβη, ενώ συγχρόνως ευνοείται η προσκόλληση των αιμοπεταλίων. Επιπλέον η λυσολεκθίνη της οξειδωμένης LDL επάγει την σύνθεση ενός ενδοθηλιογενούς αγγειοσυσπαστικού παράγοντα (endothelium-derived constricting factor EDCF), της

ενδοθηλίνης-1, η οποία προκαλεί έντονη αγγειοσυστολή και θεωρείται δείκτης ενεργοποίησης του ενδοθηλίου. Τέλος η οξειδωμένη LDL ευοδώνει τις αθηρογόνες διεργασίες αυξάνοντας τα επίπεδα του ελεύθερου ασβεστίου ενδοκυτταρικά, στα λεία μυϊκά κύτταρα τα οποία με την σειρά τους οδηγούν σε υπερτροφία και αυξημένη κυτταρική μετακίνηση.

Υπάρχουν ενδείξεις ότι όταν τα επίπεδα πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών (χυλομικρά, λιποπρωτεΐνες πολύ χαμηλής πυκνότητας VLDL), είναι αυξημένα στο πλάσμα, τα τριγλυκερίδια αυτά υδρολύονται από τη λιποπρωτεϊνική λιπάση του ενδοθηλίου, με αποτέλεσμα ένας μεγάλος αριθμός ελεύθερων λιπαρών οξέων να προκαλεί βλάβη στο ενδοθήλιο και να επιτρέπει το πέρασμα των καταλοίπων αυτών των λιποπρωτεϊνών στο αρτηριακό τοίχωμα (5, 13).

3.3.2 Εμπλοκή κυτταροκινών στην πορεία της αθηρογένεσης

Πρόσφατες μελέτες έχουν υποδείξει ότι μηχανισμοί αρτηριακής βλάβης, λόγω οξειδωτικού stress, δεν περιλαμβάνουν μόνο άμεση καταστροφή των κυτταρικών μεμβρανών ή μακρομορίων αλλά επίσης επάγουν την έκφραση γονιδίων συμπεριλαμβανομένων αυτών που κωδικοποιούν μόρια προσκόλλησης. Ο πυρηνικός παράγοντας (nuclear transcription factor - κB), θεωρείται ο κύριος μεταγραφικός παράγοντας ο οποίος κάτω από συνθήκες οξειδωτικού stress, επιταχύνει την ανάπτυξη αθηρωματικής πλάκας. Συγκεκριμένα, ο NF-κB ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την σύνθεση των ELAM-1 και VCAM-1, τα οποία στην συνέχεια προσελκύουν μονοκύτταρα και λευκοκύτταρα από την κυκλοφορία του αίματος στις επιφάνειες των ενδοθηλιακών κυττάρων. Πάντως ο ρόλος του NF-κB στο ενδοθηλιακό κύτταρο δεν είναι μόνο προ-αθηρωματικός. Η ενεργοποίηση του NF-κB, μέσω του παράγοντα νέκρωσης των όγκων-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α) επάγει επίσης και προστατευτικούς μηχανισμούς έναντι του οξειδωτικού stress, όπως είναι η διέγερση της έκφρασης του γονιδίου ενός αντιοξειδωτικού ενζύμου, της δισμουτάσης του υπεροξειδίου του μαγγανίου (manganese superoxide dismutase, MnSOD). Το ένζυμο αυτό είναι ένζυμο των μιτοχονδρίων και «καθαρίζει» ρίζες ανιόντων υπεροξειδίου. Ο NF-κB ενεργοποιείται από πολλούς παράγοντες, όπως κυτταροκίνες (TNF, IL-1), ιοί, MM-LDL και υπεροξειδίο του υδρογόνου.

Οι κυτταροκίνες παράγονται από κύτταρα που περιέχονται στην αθηρωματική πλάκα όπως είναι τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα, τα λευκοκύτταρα και τα μακροφάγα. Ο TNF-α,

η ιντερλευκίνη-1 (interleukin-1, IL-1) και η ιντερφερόνη γ (INF- γ) θεωρούνται ως οι τρεις βασικότερες κυτταροκίνες που σχετίζονται άμεσα με τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και αυξάνουν την προσκολλητικότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων με λευκοκύτταρα, μονοκύτταρα, λεμφοκύτταρα κ.α. Ο TNF- α ενεργοποιεί φλεγμονώδεις αντιδράσεις, που περιλαμβάνουν σύνθεση μορίων προσκόλλησης (ELAM-1, ICAM-1, VCAM-1) και άλλων κυτταροκινών. Επίσης ο TNF- α επάγει οξειδωτικό stress στα ενδοθηλιακά κύτταρα, μειώνει τα επίπεδα της γλουταθειόνης, αυξάνει το ενδοκυττάριο ασβέστιο και διεγείρει την οξείδωση της LDL. Η IL-1, όπως και ο TNF- α , ενεργοποιεί επίσης φλεγμονώδεις αντιδράσεις που περιλαμβάνουν σύνθεση μορίων προσκόλλησης (ELAM-1, ICAM-1, VCAM-1), ενώ η ιντερφερόνη δεν επάγει την έκφραση του ELAM-1. Πάντως, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, μετά από ενεργοποίηση τους από την IL-1, τον TNF και την βακτηριακή ενδοτοξίνη (lipopolysaccharide, LPS), εκκρίνουν και έναν παρεμποδιστή της προσκόλλησης λευκοκυττάρων, την IL-8, η οποία είναι απαραίτητη για την προστασία του ενδοθηλίου έναντι της αθρόας προσκόλλησης ουδετερόφιλων σε αυτό. Η IL-8 αποτελεί βέβαια αντικείμενο έντονης ερευνητικής μελέτης, γιατί εκτός των άλλων χαρακτηρίζεται και ως χημειοελκτικός παράγοντας ουδετερόφιλων (neutrophil chemotactic factor, NCF), με αποτέλεσμα η ιδιότητά της αυτή να έρχεται σε αντιπαράθεση με την παραπάνω δράση της (5,13). Οι δράσεις των IL-1 και του TNF- α παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί :

Πίνακας: Κύριες δράσεις των IL-1 και TNF- α στο ενδοθήλιο

Αύξηση προσκόλλησης λευκοκυττάρων (ELAM-1, ICAM-1, VCAM-1)

Αύξηση της θρομβογεννητικότητας

Αύξηση ιστικού παράγοντα

Αύξηση του παρεμποδιστή του tPA

Αύξηση της σύνθεσης της PGI₂

Αύξηση της σύνθεσης του PDGF

Μορφολογικές μεταβολές

Αγγειογένεση

Διέγερση έκκρισης κυτταροκινών (IL-1, IL-6, NCF (IL-8), MCP-1)

Η INF- γ , εκτός του ρόλου της στην σύνθεση μορίων προσκόλλησης, θεωρείται ότι συμμετέχει και στο μετασχηματισμό των λείων μυϊκών κυττάρων προς αφρώδη κύτταρα, προάγοντας την εξέλιξη του αθηρώματος. Πιο αναλυτικά, η πρόσληψη της χοληστερόλης και η ενδοκυττάρια εναπόθεση της υπό μορφή λιποσταγόνας στα λεία μυϊκά κύτταρα

κατευθύνεται από προϊόντα έκκρισης των μακροφάγων, όπως από την INF- γ , μέσω επίδρασής της στην έκφραση των υποδοχέων-καθαριστών των λείων μυικών κυττάρων (13).

3.3.3 Πορεία θρομβογένεσης

Η έκθεση του τραυματισμένου ενδοθηλίου σε ορισμένα είδη κυτταροκινών έχει σαν αποτέλεσμα τη διέγερση του μηχανισμού πήξης του αίματος, μέσω διάφορων οδών.

Η οξειδωμένη LDL μειώνει την παρεμπόδιση που ασκεί το ενδοθήλιο στην προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων μέσω της παρεμπόδισης της σύνθεσης EDRF/NO. Η αντιπηκτική ικανότητα του ενδοθηλίου μπορεί να μειωθεί περαιτέρω, μέσω της παρεμπόδισης από την ox LDL της ενεργοποίησης της πρωτεΐνης C (αντιπηκτική πρωτεΐνη που δρα απενεργοποιώντας τους παράγοντες Va και VIIIa καθώς και τον αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου 1 (PAI -1)), ίσως μέσω αύξησης των επιπέδων του ιστικού παράγοντα (TF).

Ο TF πιστεύεται πως είναι ο κύριος ενεργοποιητής της διαδικασίας της πήξης, ο οποίος ενεργοποιεί τον παράγοντα VII, έναν από τους εναρκτήριοις παράγοντες της πήξης. Η έκθεση του τραυματισμένου ενδοθηλίου στις κυτταροκίνες έχει σαν αποτέλεσμα την διέγερση του μηχανισμού πήξης μέσω της αύξησης της σύνθεσης του TF στην επιφάνεια του ενδοθηλίου. Στην συνέχεια ο TF μεταφέρεται στο αίμα, σχηματίζοντας σύμπλεγμα με μια μερικώς ενεργή μορφή του FVII και οδηγεί τελικά στον σχηματισμό της θρομβίνης.

Επίσης η ox LDL μειώνει την ινωδόλυση αυξάνοντας τα επίπεδα του PAI -1. Πιο συγκεκριμένα η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη που βρίσκεται στην οξειδωμένη LDL επάγει την σύνθεση του PAI -1, ενώ η οξυστερόλη παρεμποδίζει την σύνθεση του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (t PA) στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τέλος η IL -1 καθώς ο TNF- α ενισχύουν τη δραστηριότητα του ιστικού παράγοντα στα ενδοθηλιακά κύτταρα θέτοντας σε λειτουργία το μηχανισμό σχηματισμού θρόμβου (13).

3. 4 Αθηροσκλήρωση και εμπλοκή ανοσοποιητικού συστήματος

Τα τελευταία χρόνια οι ενδείξεις που θέλουν το ανοσοποιητικό σύστημα να εμπλέκεται στην πορεία της αθηρογένεσης είναι ισχυρές (14,15,16,17). Πλήθος μελετών που πραγματοποιήθηκαν τόσο στον άνθρωπο, όσο και σε πειραματόζωα που εμφάνιζαν αθηροσκληρωτικές βλάβες, διαπιστώθηκε η παρουσία αυτοαντισωμάτων έναντι των ox LDL.

Μάλιστα τα επίπεδα της anti-ox LDL ήταν χαμηλά στα πρώτα στάδια της αθηρογένεσης (16), ενώ ανοσοποίηση πειραματόζων με ox LDL ανέστειλε την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης (17).

Τα κυτταρικά συστατικά της αθηρωματικής πλάκας (λεία μυικά κύτταρα, μακροφάγα, T-λεμφοκύτταρα) μετά την ενεργοποίηση τους από την ox LDL εκκρίνουν παράγοντες συμπεριλαμβανομένων και των κυτταροκινών. Η αλληλεπίδραση κυτταροκινών –ενδοθηλίου φαίνεται πως επηρεάζει το ανοσοποιητικό σύστημα. Στην περίπτωση αυτή κυρίαρχο ρόλο παίζει η INF- γ , η οποία δρα σαν παράγοντας ενεργοποίησης μακροφάγων και επιδρά καθοριστικά στην επίδραση των T- λεμφοκυττάρων. Επιπλέον η INF- γ δρα συνεργιστικά με τον TNF- α για την σύνθεση ELAM-1 και ICAM- 1.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΙΤΑ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

4.1 Χαρακτηριστικά της μεσογειακής διατροφής

Ο όρος Μεσογειακή διατροφή περιλαμβάνει ένα σύνολο διαιτητικών προτύπων που επικρατούσαν στην Κρήτη και σε άλλες περιοχές της Ελλάδας, καθώς και αρκετών άλλων περιοχών γύρω από τη Μεσόγειο, όπως για παράδειγμα της Νότιας Ιταλίας, Γαλλίας κλπ, στις αρχές της δεκαετίας του '60, μετά το τέλος του II Παγκοσμίου Πολέμου.

Η επιλογή των παραπάνω διαιτητικών προτύπων που περιλαμβάνονται στον ευρύτερο όρο Μεσογειακή δίαιτα έγινε με βάση τα εξής κριτήρια :

- A) φαίνεται πως τα διατροφικά πρότυπα γύρω από την περιοχή της Μεσογείου σχετικά με τη βιοδιαθεσιμότητα της τροφής και τη διαιτητική πρόσληψη έχουν πολλά κοινά σημεία
- B) τα διατροφικά πρότυπα της Μεσογειακής διατροφής σχετίζονται με χαμηλούς ρυθμούς εμφάνισης χρόνιων παθήσεων και αυξημένο προσδόκιμο επιβίωσης παρά την περιορισμένη παροχή ιατρικών υπηρεσιών της εποχής εκείνης.(18)

Τα γενικά χαρακτηριστικά της Μεσογειακής διατροφής στις αρχές της δεκαετίας του '60 ήταν τα εξής :

- Ελαιόλαδο ως βασική πηγή λίπους
- Ελάχιστη κατανάλωση γλυκών και κατεργασμένων τροφίμων
- Υψηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών
- Υψηλή κατανάλωση οσπρίων, ζυμαρικών και δημητριακών
- Μέτρια κατανάλωση γαλακτοκομικών
- Λίγες φορές το μήνα κατανάλωση πουλερικών, ψαριών, κόκκινου κρέατος σε μικρές ποσότητες
- Μέτρια κατανάλωση κρασιού ως συνοδευτικό των γευμάτων

Για την πλήρη κατανόηση αυτού του μοντέλου διατροφής σχεδιάστηκε η μεσογειακή πυραμίδα. Στην πυραμίδα αυτή δίνονται σχηματικά οι αναλογίες των τροφικών ομάδων που συμμετέχουν στη διαμόρφωση του διατροφικού μοντέλου της Μεσογειακής διατροφής.(19)

Τα τελευταία 40 χρόνια παρατηρήθηκε αυξημένο ενδιαφέρον για την παραδοσιακή μεσογειακή διατροφή, λόγω του γεγονότος πως πολλές, πρόσφατες, μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες, όπως η έρευνα των Επτά Χωρών, Lyon Diet Heart, αποδεικνύουν τη θετική σχέση της μεσογειακής διατροφής και της μικρότερης επίπτωσης σε καρδιαγγειακά νοσήματα και άλλες χρόνιες παθήσεις, π.χ. νεοπλάσματα (18).

4.1.2 Γαλλικό παράδοξο

Το κόκκινο κρασί και τα συστατικά του αποτελούν παράγοντες ιδιαίτερου ενδιαφέροντος από την ιδιαιτερότητα που παρατηρήθηκε σε μια μελέτη. Αυτό το αξιοπερίεργο φαινόμενο ονομάστηκε «Γαλλικό παράδοξο». Πιο συγκεκριμένα στη Γαλλία (Ν. Γαλλία περιοχή της Τουλούζης) παρατηρήθηκε αυξημένη κατανάλωση λίπους. Πολλές είναι οι μελέτες που αποδεικνύουν μια θετική συσχέτιση ανάμεσα στην αυξημένη πρόσληψη λιπαρών και μάλιστα κορεσμένων λιπαρών και καρδιαγγειακών παθήσεων. Ωστόσο αυτή η περιοχή της Γαλλίας έχει πολύ χαμηλή συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων σε σύγκριση με άλλες περιοχές. Αυτό το φαινόμενο αποδίδεται στην αυξημένη κατανάλωση κρασιού που παρατηρείται σε αυτή την περιοχή της Γαλλίας (20-30 g αλκοόλ που προέρχεται από την κατανάλωση κόκκινου κρασιού) (20).

4.2 Κρασί: χημική σύσταση

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει τα τελευταία χρόνια ότι η κατανάλωση 30-50 g αλκοόλ την ημέρα, συνδέεται με μείωση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου, εμφράγματος του μυοκαρδίου καθώς και της θνησιμότητας που συνοδεύει τις ασθένειες αυτές (21,22).

Αν και έχουν περιγραφεί αρκετοί μηχανισμοί οι οποίοι ενδεχομένως εμπλέκονται ή υπεισέρχονται στον τρόπο δράσης του οινοπνεύματος, όπως η αύξηση της HDL, μείωση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και αύξηση της ινωδολύσης (23), αρκετοί ερευνητές αποδίδουν αυτή την ευεργετική δράση στο κρασί και όχι στα άλλα αλκοολούχα ποτά (24). Αυτό ίσως οφείλεται στα ιδιαίτερα συστατικά του κρασιού και όχι τόσο στη δράση του αλκοόλ αυτή καθ' αυτή. Το γεγονός αυτό γίνεται περισσότερο κατανοητό από μελέτες που εξέτασαν την επίδραση του κρασιού χωρίς αλκοόλ στους παράγοντες κινδύνου της αθηρογένεσης. Διαπιστώθηκε πως τα αποτελέσματα ήταν καλύτερα μετά την κατανάλωση κρασιού χωρίς αλκοόλ σε σύγκριση με κρασί με αλκοόλ και άλλα αλκοολούχα ποτά (25, 26). Οπότε γεννάται το ερώτημα της διερεύνησης των συστατικών του κρασιού.

4.2.1 Νερό

Το νερό είναι το κυρίαρχο συστατικό του κρασιού και η παρουσία του είναι σημαντική για τον καθορισμό των θεμελιωδών συστατικών του. Το νερό αποτελεί ένα απαραίτητο συστατικό σε πολλές χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα τόσο κατά τη ζύμωση του κρασιού, όσο και κατά την ωρίμανση του. Τέλος διάφορα άλλα συστατικά του κρασιού (είτε περισσότερα είτε λιγότερα διαλυτά) βρίσκονται διαλυμένα στο νερό.

4.2.2 Σάκχαρα και πολυσακχαρίτες

Τα κύρια σάκχαρα που απαντώνται στα σταφύλια είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη. Τα σάκχαρα αυτά είναι απαραίτητα για τη διαδικασία παραγωγής του κρασιού. Στους ξηρούς οίνους η συγκέντρωση των σακχάρων είναι χαμηλή και δεν γίνονται αντιληπτά στη γεύση. Αν η συγκέντρωση είναι μεγαλύτερη από 1% τότε γίνονται αντιληπτά. Όμως σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθεί πως τα σάκχαρα αυτά γίνονται αντιληπτά στη γεύση παρουσία και άλλων παραγόντων του κρασιού π.χ ποσοστό αλκοόλ, τανινών, οξέων. Στα πολύ γλυκά κρασιά, η συγκέντρωση των σακχάρων μπορεί να είναι και πάνω από 10%. Τέλος η συγκέντρωση των πολυσακχαριτών στο κρασί είναι πολύ μικρή και η συμβολή τους στη γεύση του κρασιού θεωρείται μηδαμινή.

4.2.3 Αιθανόλη

Η αιθυλική αλκοόλη ή αιθανόλη είναι η αλκοόλη που βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στο κρασί. Η συγκέντρωση της αιθανόλης στο κρασί μπορεί να κυμαίνεται από 10-15%. Μερικοί από τους παράγοντες που καθορίζουν την παραγωγή της αιθανόλης είναι τα σάκχαρα, η θερμοκρασία κλπ.

Η αιθανόλη παίζει σημαντικό ρόλο στην ωρίμανση του κρασιού, στον καθορισμό του χρώματος και της γεύσης του. Επίσης η αιθυλική αλκοόλη δρα σαν διαλύτης κατά την απομάκρυνση των χρωστικών και των ταννινών. Τέλος η αιθανόλη επηρεάζει το ποσό και τον τύπο των αρωματικών συστατικών που παράγονται κατά την ζύμωση, ενώ συμβάλλει στην διαλυτοποίηση των συστατικών που παράγονται κατά τη ζύμωση και την ωρίμανση του κρασιού σε ξύλινα βαρέλια.

4.2.4 Οξέα

Τα οξέα που απαντώνται στο κρασί διακρίνονται σε 2 κατηγορίες : στα πτητικά οξέα και στα μη πτητικά οξέα. Τα πτητικά οξέα απομακρύνονται αμέσως με την απόσταξη. Στα πτητικά οξέα ανήκει το ακετοξικό οξύ. Τα μη πτητικά οξέα καθορίζουν το pH του κρασιού. Στα μη πτητικά οξέα ανήκουν το οξαλικό οξύ, το γαλακτικό, το φουμαρικό, κιτρικό και ταρταρικό οξύ.

4.2.5 Πολυφαινόλες

Με τον όρο πολυφαινόλες χαρακτηρίζεται μια μεγάλη ομάδα φαινολικών ενώσεων, οι οποίες ανήκουν σε διαφορετικές κατηγορίες. Οι πολυφαινόλες αποτελούν κυκλικά παράγωγα του βενζολίου που περιέχουν μία ή περισσότερες ομάδες υδροξυλίου ενωμένες με το δακτύλιο του βενζολίου. Οι 2 κύριες κατηγορίες των φαινολικών συστατικών του κρασιού είναι τα φλαβονοειδή (flavonoids) και τα μη φλαβονοειδή (non flavonoids).

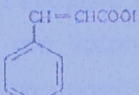
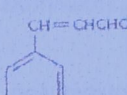
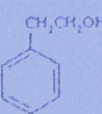
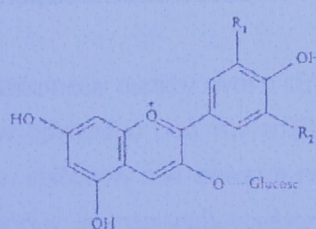
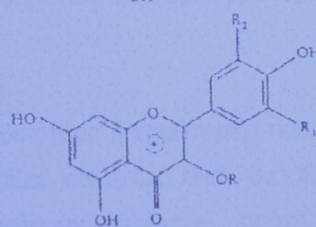
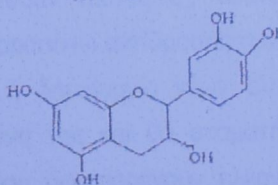
Στα φλαβονοειδή ανήκουν οι φλαβονόλες (οι κυριότεροι εκπρόσωποι των οποίων είναι η κουερσετίνη, η καιμπφερόλη, μυρισετίνη κλπ.), οι φλαβόνες (με σημαντικότερο εκπρόσωπο την απιγενίνη), καθώς και μικρότερες ομάδες όπως για παράδειγμα οι φλαβανόλες-3 (με κυριότερους εκπροσώπους την κατεχίνη, επικατεχίνη, γαλλοκατεχίνη κλπ), οι ανθοκυανίνες (πχ κυανιδίνη, δελφινιδίνη, πετουδίνη, πεοδίνη, μαλβινιδίνη), ταννίνες, ισοφλαβανόλες και τέλος και οι ισοφλαβόνες.

Στα μη φλαβονοειδή ανήκουν τα βενζοϊκά οξέα (πχ βενζοϊκό οξύ, γαλλικό οξύ) και τα κινναμωμικά οξέα (πχ p-κουμαρικό οξύ, φερουλικό οξύ, καφεϊκό οξύ), καθώς και παράγωγα της βενζαλδεύδης και της κινναμωμικής αλδεύδης που βρίσκονται σε οίνους που έχουν παραμείνει για παλαίωση σε δρύινο βαρέλι. Επιπλέον στα μη φλαβονοειδή ανήκει και η τυροσόλη. Τέλος στις πολυφαινόλες ανήκουν και τα στιλβένια και τα γλυκολυλιωμένα παράγωγά τους. Ο πιο αντιπροσωπευτικός τύπος των στιλβενίων είναι η ρεσβερατρόλη (27).

Η παρουσία των πολυφαινολών στο κρασί επηρεάζει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του (εμφάνιση, γεύση, άρωμα), ενώ ταυτόχρονα επιδεικνύουν και αντιμικροβιακές ιδιότητες. Έχει παρατηρηθεί πως το κόκκινο κρασί έχει αυξημένη συγκέντρωση πολυφαινολών σε σχέση με το λευκό κρασί (28). Αυτή η διαφορά οφείλεται στον τρόπο παρασκευής που ακολουθείται στο κάθε είδος με αποτέλεσμα η συγκέντρωση των πολυφαινολών να είναι δεκαπλάσια σε σχέση με το λευκό κρασί. Πιο συγκεκριμένα οι πολυφαινόλες είναι παρούσες στο μεγαλύτερο ποσοστό τους στη φλούδα, τους μίσχους και στα γίγαρτα του σταφυλιού.

Κατά την παρασκευή του κόκκινου κρασιού η φλούδα και οι σπόροι και τα κοτσάνια («τσιπούρα») έρχονται σε επαφή με τον μούστο, ενώ για να φτιαχτούν τα λευκά κρασιά ο μούστος απομακρύνεται από τον φλοιό και τους σπόρους, οπότε και η συγκέντρωση των πολυφαινολών είναι μεγαλύτερη στο κόκκινο κρασί (27).

Πολυφαινόλες κρασιού

Μη Φλαβονοειδή	Χημικός τύπος	Παραδείγματα
Βενζοϊκό οξύ		Βενζοϊκό οξύ Γαλλικό οξύ
Βενζαλδεΰδη		Βενζαλδεΰδη Βανιλίνη
Κινναμικό οξύ		Ρ-κουμαρικό οξύ Φερούλικό οξύ Καφεϊκό οξύ
Κινναμωμική αλδεΰδη		
Τυροσόλη		Τυροσόλη
Φλαβονοειδή		
Φλαβονόλης		Κουερσετίνη Καμπερόλη Μυριστίνη
Ανθοκυανίνες		Κυανιδίνη Δελαφινιδίνη Γιτσουδίνη Πικοδίνη Μελανιδίνη
Φλαβεν-3-όλης		Κατεχίνη Επικατεχίνη

Μάλιστα η πειραματική σύγκριση της επίδρασης διαφορετικών τύπων κρασιού στη λειτουργία του ενδοθηλίου, κατέδειξε πως το κόκκινο κρασί που ωριμάζει σε ξύλινα βαρέλια και όχι τα άλλα είδη κρασιού, είναι αυτό που παρουσιάζει ευεργετική δράση έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων (28). Η επίδραση αυτή ίσως οφείλεται στη μεγαλύτερη συγκέντρωση των πολυφαινολών στο κόκκινο κρασί σε σχέση με τα άλλα είδη κρασιού. (29)

4.3 Αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών

Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί ένα αυξημένο ενδιαφέρον για τις πολυφαινόλες που βρίσκονται στο κρασί και δεν ανήκουν στα θρεπτικά συστατικά. Το αυξημένο αυτό ενδιαφέρον οφείλεται στο γεγονός πως οι πολυφαινόλες που βρίσκονται στο κόκκινο κρασί έχουν συσχετισθεί με μείωση του κινδύνου εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου. (30, 31, 32)

Ένας από τους μηχανισμούς δράσης των πολυφαινολών που σχετίζονται με μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών.

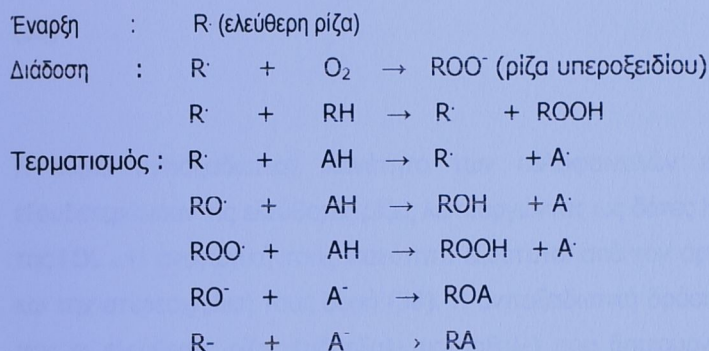
4.3.1 Μηχανισμός δράσης αντιοξειδωτικών ουσιών

Ένας γενικός ορισμός των αντιοξειδωτικών ουσιών είναι ο εξής : αντιοξειδωτικές ουσίες είναι οι ουσίες που προστατεύουν τον οργανισμό από την επιβλαβή επίδραση των ελεύθερων ριζών και του ενεργού οξυγόνου, επίδραση που φαίνεται πως σχετίζεται με την εμφάνιση του γήρατος και χρόνιων νοσημάτων συμπεριλαμβανομένων των καρδιαγγειακών και των διαφόρων νεοπλασιών (19).

Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται κάθε άτομο ή χημική ρίζα που έχει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Οι ελεύθερες ρίζες συνήθως είναι ασταθείς ενώσεις και αναζητούν άλλα ηλεκτρόνια για να δημιουργήσουν ζεύγος e^- , οπότε οξειδώνουν άλλα μόρια, κυρίως μακρομόρια. Αποτέλεσμα της παραπάνω αντίδρασης των ελεύθερων ριζών με τα μακρομόρια ή διάφορα άλλα μόρια είναι η δημιουργία νέων ελεύθερων ριζών (διάδοση). Έτσι, η αντίδραση συνεχίζεται από μόνη της και θα σταματήσει όταν όλες οι ελεύθερες ρίζες, αντιδράσουν προς προϊόντα που δεν παρέχουν πλέον νέες ελεύθερες ρίζες. Κατά την οξείδωση (στάδιο διάδοσης) κάθε σχηματιζόμενη ρίζα αντιδρά με το ουδέτερο μόριο (πχ μακρομόριο) και δίνει νέα ρίζα. Όμως παρουσία αντιοξειδωτικών παραγόντων συμβαίνει το εξής : ο αντιοξειδωτικός παράγοντας έχει την τάση να αποδώσει ένα e^- , οπότε αυτό το e^- το

αποδίδει στον οξειδωτικό παράγοντα (ελεύθερη ρίζα) με επακόλουθο να προφυλάσσονται τα πιθανά μόρια-στόχοι των ελεύθερων ριζών (19,33).

Η αλληλουχία των αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα κατά την οξείδωση μπορεί να παραστεί ως εξής :



4.3.2 Βιοδιαθεσιμότητα πολυφαινολών στο πλάσμα

Η βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών στο πλάσμα του αίματος δεν είναι πλήρως μελετημένη (35). Είναι σημαντικό να γνωρίζουμε τη βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών διότι το διατροφικό τους πλεονέκτημα επηρεάζεται από το ποσοστό μεταβολισμού τους στο γαστρεντερικό σωλήνα. Η απορρόφηση και ο μεταβολισμός τους εξαρτάται 1) από τη χημική τους δομή (δακτύλιος βενζολίου ή παράγωγο φλαβονών) 2) το μέγεθος του μορίου τους, 3) το βαθμό πολυμερισμού τους, 4) τη διαλυτότητά τους, 5) το βαθμό γλυκοζυλίωσης και τέλος της σύζευξή τους με άλλα φαινολικά συστατικά (35).

Από τις περιορισμένες σε αριθμό μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί φαίνεται πως η περιεκτικότητα του πλάσματος σε άθικτες πολυφαινόλες είναι συνήθως μικρή, ενώ σε μεγαλύτερο ποσοστό βρίσκονται οι μεταβολίτες τους (35,36). Ωστόσο υπάρχει πληθώρα μελετών που υποστηρίζει πως οι πολυφαινόλες έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση (35,37).

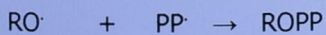
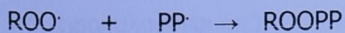
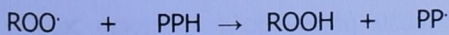
Πιο συγκεκριμένα τα φλαβονοειδή ανήκουν στα πιο ισχυρά αντιοξειδωτικά επειδή έχουν ένα από τα παρακάτω δομικά στοιχεία, τα οποία εμπλεκονται στην αντιοξειδωτική δράση :α) έναν 2-3 διπλό δεσμό σε συζυγία με την 4 οξο ομάδα β) ομάδες υδροξυλίου (OH) στις θέσεις 3 και 5 γ) μια ο-διφαινολική ομάδα στο Β δακτύλιο (35).

Η κουερσετίνη είναι μια φλαβονόλη που συνδυάζει όλα τα παραπάνω χαρακτηριστικά, οπότε και αποτελεί το πιο ισχυρό από τα φυσικά αντιοξειδωτικά.

Επιπλέον η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινόλων σχετίζεται άμεσα με το βαθμό υδροξυλίωσης τους και μειώνεται με τη γλυκοζυλίωση (γλυκοζυλιωμένα φαινολικά συστατικά δεν είναι αντιοξειδωτικά, ενώ τα μη γλυκοζυλιωμένα επιδεικνύουν αντιοξειδωτική δράση) (35)

Η κύρια αντιοξειδωτική ικανότητα των πολυφαινόλων είναι η ικανότητα τους να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες λειτουργώντας ως δότες H/e, μειώνοντας την οξείδωση της LDL. Η αναγωγική τους ικανότητα εξαρτάται από τον αριθμό των ομάδων υδροξυλίου και την στερεοχημική τους δομή (38). Η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινόλων σημαίνει πως οι ελεύθερες ρίζες (υδροξυλ- υπεροξυλ-) που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της οξείδωσης των λιπαρών οξέων δέχονται ένα άτομο υδρογόνου από το μόριο των πολυφαινόλων και μετατρέπονται σε μη ριζικά μόρια λιπαρών οξέων, ενώ οι ίδιες οι πολυφαινόλες μετατρέπονται σε ελεύθερες ρίζες. Όμως αυτές οι ελεύθερες φαινολικές ρίζες είναι σχετικά σταθερές οπότε αποτρέπουν την έναρξη νέων αλυσιδωτών αντιδράσεων (35)

Η αλληλουχία των αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα κατά την εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών των λιπαρών οξέων από τις πολυφαινόλες μπορεί να παρουσιαστεί ως εξής:



$ROO^{\cdot}, RO^{\cdot}, PP^{\cdot}$ = ελεύθερες ρίζες

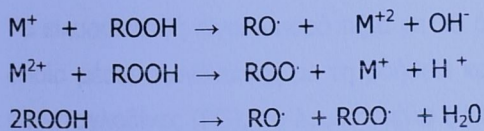
$ROOH, ROH, ROOPP, ROPP$ = μη ριζικές ενώσεις

PPH = πολυφαινόλες

Οπότε μέσω του παραπάνω μηχανισμού εξουδετέρωσης των ελεύθερων ριζών οι πολυφαινόλες εμποδίζουν την οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στις LDL (39).

Ένας άλλος τρόπος μέσω του οποίου οι πολυφαινόλες έχουν την δυνατότητα να συμβάλλουν στην προστασία των λιπών από την οξείδωση είναι η ικανότητα τους να αναγεννούν την βιταμίνη Ε. Η α-τοκοφερόλη επιτελεί σημαντικό ρόλο στην εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών και στην προστασία των λιπών από την οξείδωση σε μια αντίδραση κατά την οποία η ίδια μετατρέπεται σε ελεύθερη ρίζα. Οι πολυφαινόλες έχουν την ικανότητα να αναγεννούν τη βιταμίνη Ε, προσλαμβάνοντας οι ίδιες το e^- της ελεύθερης ρίζας (34,35). Τα φλαβονοειδή είναι τα πιο λιποφιλικά από τα φυσικά αντιοξειδωτικά μετά την α-τοκοφερόλη. Η α-τοκοφερόλη φαίνεται να εντοπίζεται στη λιπιδική μεμβράνη μέσα στη διπλοστοιβάδα των φωσφολιπιδίων, ενώ αντίθετα τα φλαβονοειδή στις πολικές πλευρές της διπλοστοιβάδας. Οπότε οι ελεύθερες ρίζες θα δεσμευθούν πιο εύκολα από τα φλαβονοειδή που βρίσκονται συγκεντρωμένα στην μεμβράνη επιφάνειας της LDL, παρά από την α-τοκοφερόλη που είναι στο μέσο της διπλοστοιβάδας εγκλωβισμένη. Επομένως με αυτό τον τρόπο προστατεύεται η κατανάλωση των λιποφιλικών α-τοκοφερολών και καθυστερεί η οξείδωση των λιπών που περιέχονται στις LDL. Κατεχίνες και επικατεχίνες έχει βρεθεί πως είναι ισχυροί περιοριστές της οξείδωσης της LDL σε σχέση με την α-τοκοφερόλη.

Επιπλέον ορισμένα μεταλλικά ιόντα πχ. Fe και Cu προκαλούν σχηματισμό νέων ριζών, δρώντας σαν προοξειδωτικά μέσω των αντιδράσεων Fenton και Hober Weiss (33, 35)



Όμως ορισμένα φλαβονοειδή μέσω των καρβοξυλικών και υδροξυλικών ομάδων τους σχηματίζουν χημικά σύμπλοκα με αυτά αναστέλλοντας τη δημιουργία των ελεύθερων ριζών που προκαλούνται από το Fe και το Cu. (35).

Τέλος ένας άλλος μηχανισμός δράσης των πολυφαινολών μέσω του οποίου εκδηλώνεται η αντιοξειδωτική τους δράση είναι η αύξηση της παραοξυγενάσης (paraoxonase) (40). Το κόκκινο κρασί φαίνεται πως αυξάνει την παραοξυγενάση. Η παραοξυγενάση είναι ένζυμο που κυκλοφορεί συνδεδεμένο με την HDL και μεταβολίζει τα οξειδωμένα λίπη σε μη τοξικά προϊόντα (34, 40) καθώς επίσης προστατεύει τα ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα από την προσκόλληση των μονοκυττάρων που επιφέρει η ελαφρά οξειδωμένη LDL. (34).

4.3.3 Σχέση κατανάλωσης κρασιού και HDL χοληστερόλης

Επιδημιολογικές μελέτες επισημαίνουν πως η κατανάλωση αλκοόλ και συγκεκριμένα κόκκινου κρασιού μειώνουν την πιθανότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων (41,42). Ένας πιθανός μηχανισμός μέσω του οποίου εξηγείται αυτή η προστατευτική δράση του κόκκινου κρασιού στα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι η αύξηση της HDL χοληστερόλης (43).

Κατανάλωση 30- 50 g αλκοόλ από υγιή νορμολιπιδαιμικά άτομα παρατηρήθηκε μια αύξηση στις HDL₃ λιποπρωτεΐνες. Σύμφωνα με αυτή την έρευνα η αύξηση της HDL ίσως οφείλεται στην αύξηση των apo I και apo II απολιποπρωτεϊνών. Όμως η αύξηση των apo I και apo II δεν είναι πλήρως διευκρινισμένο που οφείλεται. Ίσως η αύξηση της οφείλεται α) σε μειωμένο καταβολισμό της apo I λόγω κατανάλωσης αλκοόλ β) σε αύξηση της σύνθεσης και της απελευθέρωσης apo I από τα ηπατικά κύτταρα πάλι λόγω κατανάλωσης αλκοόλ (43,44). Σε κάποιες άλλες μελέτες τα επίπεδα της HDL παρουσίαζαν αύξηση μετά τη μέτρια κατανάλωση αλκοόλ (2-3 ποτήρια αλκοόλ) σε σχέση με την υπερβολική λήψη αλκοόλ (πάνω από 3 ποτήρια την ημέρα) και αποχής από το αλκοόλ (λιγότερο από 1 ποτήρι το μήνα) (45).

4.3.4 Αντιθρομβωτική δράση των πολυφαινολών

Τα εικοσανοειδή είναι λιπαρά οξέα με 20 άτομα άνθρακα όπως το αραχιδονικό οξύ, από το οποίο μέσω οξυγόνωσης με τη βοήθεια κατάλληλων ενζύμων (οξυγονάσες) προκύπτουν οι προσταγλαδίνες (PG), τα λευκοτριένια (LT) και οι θρομβοξάνες (TX). Από το αραχιδονικό οξύ μέσω της κυκλοοξυγενάσης δημιουργούνται οι προσταγλαδίνες και οι θρομβοξάνες ενώ από το αραχιδονικό οξύ μέσω της λιποοξυγενάσης δημιουργούνται τα λευκοτριένια. Η θρομβοξάνη A₂ προκαλεί την συσώρευση των αιμοπεταλίων και είναι ισχυρός αγγειοσυσταλτικός παράγοντας. Η προσταγλαδίνη PGI₂ έχει αγγειοσυσταλτικές ιδιότητες καθώς και δράση παρεμπόδισης των αιμοπεταλίων. Το λευκοτριένιο LT₄ παρουσιάζει προφλεγμονώδεις βιολογικές δράσεις, δηλαδή προκαλεί την χημιοταξία και ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων και την ενεργοποίηση συσώρευσης των αιμοπεταλίων. Επίσης οι θρομβοξάνες A₃ που παράγονται από το εικοσανοπεντανοϊκό οξύ (EPA) είναι λιγότερο ισχυροί συσσωρευτές των αιμοπεταλίων και προκαλούν μικρότερου βαθμού αγγειοσυστολή από αυτές που παράγονται από το αραχιδονικό οξύ. (1,3). Τέλος το λευκοτριένιο LT₅ το οποίο παράγεται από το EPA είναι λιγότερο δραστικό, ενώ η προσταγλαδίνη PGI₃ προκαλούν αγγειοδιαστολή και μείωση της συσώρευσης των αιμοπεταλίων.

Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στις φλεγμονώδεις αντιδράσεις του ενδοθηλίου που εμπλέκονται στην αθηρογένεση είναι πλέον γνωστές και έχουν παρουσιαστεί αναλυτικά σε προηγούμενο κεφάλαιο. Επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν πως το κρασί επιβραδύνει τη διαδικασία συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και μπλοκάρει την σύνθεση των εικοσανοειδών (46).

Ανθρώπινα αιμοπετάλια έδειξαν ελαττωμένη ικανότητα συσσώρευσης μετά την κατανάλωση χυμό σταφυλιού, ενώ ο χυμός πορτοκαλιού και γκρέιπ φρουτ δεν είχαν κανένα αποτέλεσμα (47).

Ανθρώπινα αιμοπετάλια *in vitro* περιορίστηκαν με την επίδραση του κόκκινου κρασιού. Αυτή η αντιθρομβωτική δράση του κόκκινου κρασιού οφείλεται κατά ένα μέρος στο αλκοόλ του κρασιού παρά το γεγονός πως η κύρια δράση του αλκοόλ φαίνεται να είναι η συσσώρευση των αιμοπεταλίων η οποία προέρχεται από την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C από το κολλαγόνο και τη θρομβίνη από την αιθανόλη. Οπότε σε αυτό σημείο πρέπει να αναφερθεί πως τα φαινορικά συστατικά του κρασιού και κυρίως του κόκκινου κρασιού είναι αυτά που έχουν την κύρια αντιθρομβωτική δράση. Παρατηρήθηκε σε *in vitro* μελέτη πως η κουερσετίνη και η ρεσβερατρόλη περιόρισαν την συνάθροιση των αιμοπεταλίων μέσω περιορισμού του ADP και της θρομβοξάνης σε ποσότητες πολύ μικρότερες σε σχέση με την αιθανόλη, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλουν την σύνθεση της θρομβοξάνης A_2 από το αραχιδονικό οξύ. Επίσης η κουερσετίνη και σε μικρότερο ρυθμό η *trans* ρεσβερατρόλη αναστέλλει τη δράση της λιποοξυγενάσης με αποτέλεσμα να εμποδίζεται ο σχηματισμός των λευκοτριενίων μέσω αραχιδονικού (48).

Ο μηχανισμός δράσης της κουερσετίνης και της ρεσβερατρόλης παρά το γεγονός πως επιφέρουν το ίδιο αποτέλεσμα δεν φαίνεται να είναι ακριβώς ο ίδιος. Η *trans* ρεσβερατρόλη εμποδίζει τη δράση της φωσφολιπάσης C μέσω της αναστολής της θρομβοξάνης A_2 , ενώ η κουερσετίνη εμποδίζει τη δράση της φωσφολιπάσης C μέσω της αναστολής της θρομβίνης (49,50,51).

Επιπλέον παρατηρήθηκε πως τα αυξημένα επίπεδα c AMP καταστέλλουν την απάντηση των αιμοπεταλίων σε προ-αθηρωματικούς παράγοντες. Αυτό σημαίνει πως ίσως η αύξηση της δράσης της c AMP στα αιμοπετάλια να αποτελεί έναν άλλο πιθανό μηχανισμό δράσης που εξηγεί την ευεργετική δράση του κόκκινου κρασιού στα καρδιαγγειακά νοσήματα. Οι Beretz et al έδειξαν πως η κουερσετίνη και η κατεχίνη ανήκουν στους πιο ισχυρούς αναστολείς της c AMP φωσφοδιεστεράσης, αυξάνοντας την συγκέντρωση της c AMP. (27).

Η φωσφολιπάση A2 (PLA2) είναι το ένζυμο κλειδί, το οποίο ελευθερώνει το αραχιδονικό οξύ από τις μεμβράνες των αιμοπεταλίων. Δηλαδή τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης των αιμοπεταλίων περιέχουν αραχιδονικό οξύ από το οποίο στην συνέχεια προέρχεται η σύνθεση των εικοσανοειδών (πχ θρομβοξάνη A2, ή LT4, PGI2), όπως αναφέρθηκε και παραπάνω. Οπότε βρέθηκε πως η κουερσετίνη μπλοκάρει τη δράση της PLA2 μειώνοντας με αυτό τον τρόπο τους παράγοντες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (27).

Τα τελευταία χρόνια γίνεται όλο και περισσότερο αποδεκτό πως όσο μικρότερη είναι η ταχύτητα ροής του αίματος δια μέσω ενός αγγείου τόσο μεγαλύτερη είναι η διάρκεια επαφής των LDL και των μονοκυττάρων με το ενδοθήλιο των αγγείων γεγονός που αυξάνει την πιθανότητα προσκόλλησης τους στο ενδοθήλιο και τελικής εισόδου τους στον υποενδοθηλιακό χώρο. Προς αυτή την κατεύθυνση (της αύξησης της διαμέτρου των αγγείων και της αύξησης της ταχύτητας ροής του αίματος) φαίνεται να στοχεύει η παραγωγή του μονοξειδίου του αζώτου που παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και είναι μια από τις πιο ισχυρές αγγειοδιασταλτικές ουσίες (5).

Πρόσφατες μελέτες δείχνουν πως τόσο η πρόσληψη κόκκινου κρασιού (με αλκοόλ και χωρίς αλκοόλ) όσο και άλλων αλκοολούχων ποτών φαίνεται πως αυξάνουν τη βασική διάμετρο του αγγείου. Όμως μόνο η κατανάλωση κόκκινου κρασιού με αλκοόλ και χωρίς αλκοόλ αύξησε τη διάμετρο της βραχιόνιου αρτηρίας μετά υπεραιμικής ροής (Flow-mediated vasodilatation, FMD). Μάλιστα η κατανάλωση του κρασιού χωρίς αλκοόλ αύξησε πιο γρήγορα το FMD (μέσα σε 30 λεπτά μετά την κατανάλωση του ενώ το κρασί με αλκοόλ μέσα σε 2 ώρες). Άλλη μελέτη πάλι δείχνει πως η κατανάλωση κόκκινου κρασιού με αλκοόλ δεν έφερε κανένα αποτέλεσμα στο FMD, σε αντίθεση με την κατανάλωση κόκκινου κρασιού χωρίς αλκοόλ (26, 52). Από την παραπάνω περιγραφή ενισχύεται η άποψη πως οι πολυφαινόλες του κόκκινου κρασιού είναι υπεύθυνες για τη θετική αυτή επίδραση στο FMD.

Είναι γνωστό πως το μονοξείδιο του αζώτου (NO) παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και είναι μια από τις ισχυρές αγγειοδιασταλτικές ουσίες. Το NO παράγεται από την αργινίνη μέσω της συνθετάσης του NO. Στην συνέχεια το NO που παράγεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα διαχέεται στις γειτονικές λείες μυϊκές ίνες των αγγείων και ενεργοποιεί την cGMP. Η cGMP (κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη) προκαλεί χάλαση των λείων μυϊκών ινών των αγγείων προωθώντας την αγγειοδιαστολή (5).

Κάποια είδη κρασιού, χυμοί σταφυλιών και αποστάγματα από φλούδες σταφυλιών (grape skin extracts) βρέθηκε πως χαλάρωσαν κάποια λεία μυϊκά κύτταρα από άθικτες αορτές ποντικών, αλλά δεν παρατηρήθηκε κανένα αποτέλεσμα όταν το ενδοθήλιο είχε απομακρυνθεί. Η κουερσετίνη και το ταννικό οξύ που απαντώνται στο φλοιό των σταφυλιών προκαλέσαν χαλάρωση του ενδοθηλίου. Επίσης παρατηρήθηκε πως η συστολή που προκαλείται από την φαινυλεφρίνη (phenylephrine) μειώνεται κατά την έκθεση των αορτικών δακτυλίων στα αποστάγματα του φλοιού των σταφυλιών. Επιπλέον βρέθηκε πως τα grape skin extracts αυξάνουν τα επίπεδα της cGMP (53).

Ο μηχανισμός μέσω του οποίου το cGMP αυξάνει μέσω της επίδρασης του κρασιού και των grape skin extracts δεν είναι ξεκάθαρος, αλλά φαίνεται να σχετίζεται με τη διέγερση της σύνθεσης του NO από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ίσως το κρασί και ο χυμός του σταφυλιού να εμποδίζουν τη μείωση των βασικών επιπέδων NO με το να εμποδίζουν την αποδόμηση του NO από τα υπεροξειδία που δημιουργούνται κατά την οξειδωση των λιπαρών οξέων, ή ίσως μπλοκάρουν τη διάσπαση των βασικών επιπέδων cGMP με το να περιορίζουν τη δράση της κυκλικής νουκλεοτιδικής φωσφοδιεστεράσης (53).

Τέλος το NO θεωρείται πως περιορίζει σε σημαντικό βαθμό την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο μέσω μείωσης της ενεργοποίησης της γλυκοπρωτεΐνης IIb / IIIa των αιμοπεταλίων, οπότε και μείωση της έκκρισης του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF), ο οποίος δρα χημειοτακτικά για την συγκέντρωση κυττάρων του λείου μυϊκού ιστού, ινοβλαστών και παραγωγής ελαστίνης και κολλαγόνου με αποτέλεσμα την ανάπτυξη ινώδους τμήματος της αθηρωματικής πλάκας (54,55).

4.3.5 Βελτιωτική δράση του κρασιού στο ενδοθήλιο

Τα τελευταία χρόνια ιδιαίτερη σημασία έχει δοθεί στο γεγονός πως η δράση των συστατικών του κόκκινου κρασιού φαίνεται να βελτιώνει τη λειτουργία του ενδοθηλίου (56).

Αυτή η δράση των συστατικών του κόκκινου κρασιού έχει ιδιαίτερη σημασία, καθώς τα τελευταία χρόνια αυξάνεται σταδιακά η αποδοχή της υπόθεσης ότι η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου παίζει μείζονα ρόλο στην εμφάνιση και εξέλιξη της αθηρωματικής διαδικασίας και της στεφανιαίας νόσου γενικότερα (57,58).

Μέχρι σήμερα έχουν γίνει διάφορες μελέτες *in vitro* που εξετάζουν την επίδραση του κρασιού ή συγκεκριμένων αντιοξειδωτικών ουσιών του κρασιού σε καλλιεργημένα ενδοθηλιακά κύτταρα (7, 59) και ελάχιστες *in vivo* μελέτες (52).

Από τη μελέτη της επίδρασης των αντιοξειδωτικών ουσιών του κόκκινου κρασιού σε καλλιεργημένα ενδοθηλιακά κύτταρα φαίνεται πως η ρεσβερατρόλη έχει δομή παρόμοια με τα οιστρογόνα και πως ανταγωνίζεται τον υποδοχέα των οιστρογόνων. Ο υποδοχέας των οιστρογόνων βρίσκεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και η σύνδεση του ιστικού παράγοντα (TF) με τα οιστρογόνα επιδεικνύει μειωμένη αθηρογενετική δράση με το να μειώνει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων. Η παρόμοια δράση της ρεσβερατρόλης με τα οιστρογόνα είναι η πιθανή εξήγηση ενός από τους μηχανισμούς δράσης του κόκκινου κρασιού που εμποδίζει την αθηρογένεση. Ταυτόχρονα άλλες μελέτες *in vitro* δείχνουν πως η ρεσβερατρόλη μπορεί να επιφέρει μείωση στην έκφραση του ιστικού παράγοντα από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μονοκύτταρα αποτελώντας έναν ακόμα πιθανό μηχανισμό μέσω του οποίου το κόκκινο κρασί όπως δείχνουν και οι επιδημιολογικές μελέτες συμβάλλει στη μείωση εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων (7).

Ακόμη βρέθηκε πως τα φαινορικά συστατικά του κρασιού τροποποιούν την ενδοθηλιακή έκφραση των συγκολλητικών παραγόντων τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στην πορεία της αθηρογένεσης. Η ρεσβερατρόλη βρέθηκε πως περιορίζει τους ICAM και VCAM, τα οποία προωθούν την προσκόλληση των μακροφάγων στο ενδοθήλιο τα οποία εμπλέκονται στην πορεία της αθηρογένεσης και μείωση του παράγοντα ενεργοποίησης προσκόλλησης των κοκκιοκυττάρων μέσω της μείωσης της δράσης του παράγοντα TNF- α. (60,61)

Όπως αναφέρθηκε και στο τρίτο κεφάλαιο η οx LDL, οι κυτταροκίνες όπως η IL-1 και ο TNF- α παράγοντας μπορούν να ενεργοποιήσουν τη δράση του NF- κB παράγοντα. Μελέτες *in vitro* (62) έδειξαν πως επώαση μονοκυττάρων με VLDL παρουσία ρεσβερατρόλης είχε σαν αποτέλεσμα περιορισμό της δράσης του NF-κB παράγοντα, εξηγώντας την θετική επίδραση του κόκκινου κρασιού χωρίς αλκοόλ έναντι των άλλων αλκοολούχων ποτών στα καρδιαγγειακά νοσήματα.

Ταυτόχρονα το γαλλικό οξύ που περιέχεται σε αρκετά μεγάλες ποσότητες στα κόκκινα κρασιά φαίνεται να περιορίζει και αυτό τη δράση του TNF- κ B παράγοντα, οπότε παρατηρείται μείωση της προσκόλλησης λευκοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα. (63).

4.3.6 Κρασί και ινσουλινοαντοχή

Ινσουλινοαντοχή είναι η κατάσταση που σχετίζεται με την αδυναμία των ιστών του ανθρώπινου οργανισμού να ανταποκριθεί φυσιολογικά στη δράση της ινσουλίνης με αποτέλεσμα υπερινσουλιναιμία και δυσανοχή στη γλυκόζη. Η ινσουλινοαντοχή συνδέεται με δυσλιπιδαιμία, υπέρταση παχυσαρκία κεντρικού τύπου που οδηγούν τελικά στην αθηρογένεση (8)

Διάφορες επιδημιολογικές μελέτες που ασχολήθηκαν με την ευεργετική δράση του κρασιού στον ανθρώπινο οργανισμό καταλήγουν στο συμπέρασμα πως η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ μείωσε την ινσουλινοαντοχή τόσο μεταξύ των ανδρών όσο και μεταξύ των γυναικών, μειώνοντας τους παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης αθηρογένεσης (64,65)

4.3.7 Αλκοόλ και αύξηση TG

Η αιθυλική αλκοόλη περιέχεται τόσο στο κρασί όσο και σε άλλα αλκοολούχα ποτά. Η αιθανόλη απορροφάται αμέσως κατά μήκος ολόκληρου του γαστρεντερικού σωλήνα και μεταφέρεται χωρίς καμία αλλαγή στο ήπαρ. Στο ήπαρ μετατρέπεται σε ακεταλδεύδη και στην συνέχεια σε ακετόνη, όπου η ακετόνη μετατρέπεται σε ακετυλοσυνένζυμο Α , το οποίο μέσω β -οξείδωσης μετατρέπεται σε λιπαρά οξέα, τα οποία μετατρέπονται σε TG, με αποτέλεσμα αύξηση των TG των VLDL. Πράγματι οι περισσότερες έρευνες δείχνουν αύξηση των TG μετά την κατανάλωση αλκοόλ. Η οξείδωση της αιθανόλης στο ήπαρ γίνεται μέσω της αλκοολικής αφυδρογονάσης (ADH), μικροσωμικού συστήματος οξείδωσης (P450) και της καταλάσης. Κατά την οξείδωση της αιθανόλης στο ήπαρ σε ακετόνη, το 70-80% της ακετόνης μεταφέρεται στους περιφερικούς ιστούς (πχ μυς) όπου οξειδώνεται σε CO_2 αναστέλλοντας την χρήση των μη εστεροποιημένων λιπαρών οξέων ως ενέργεια από τους ιστούς αυτούς καθώς επίσης αναστέλλει την λιπολυση των TG από το λιπώδη ιστό και ένα μέρος της οξείδωσης των υδατανθράκων (1,66)

4.3.8 Επίδραση του κρασιού στους παράγοντες πήξης του αίματος

Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου συνδέεται με αύξηση του PAI -1 και μείωση του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου με αποτέλεσμα μείωση της ινωδολύσης και αύξηση πιθανότητας δημιουργίας θρόμβων. Επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν μια αντίστροφη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και καρδιαγγειακών νοσημάτων μέσω αύξηση της ινωδολύσης. Πράγματι σε μια μελέτη φαίνεται πως μετά τη κατανάλωση αλκοόλ

παρατηρήθηκε αύξηση του t PA (67). Σε άλλη έρευνα το κύριο εύρημα ήταν η αύξηση των επιπέδων του t PA μετά την κατανάλωση αλκοόλ τόσο ανάμεσα στους άνδρες όσο και ανάμεσα στις γυναίκες (68) ενώ επιβεβαιώθηκε όπως και σε άλλες μελέτες μείωση του ινοδογώνου που αποτελεί έναν από τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη στεφανιαίας νόσου.

ΕΝΟΤΗΤΑ 2:ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Επιλογή ασθενών

Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 15 άρρενες ασθενείς της θεραπευτικής κλινικής του Π.Γ.Ν. «Αλεξάνδρα», που είχαν διαγνωσμένη στεφανιαία νόσο. Η επιλογή των ασθενών του δείγματος γινόταν στο Νοσοκομείο «Αλεξάνδρα», μετά από μελέτη του ιατρικού ιστορικού του ασθενούς και μέτρηση ύψους, βάρους και αρτηριακής πίεσης. Ο μέσος όρος ηλικίας τους ήταν 52,4 έτη και το βάρος τους ήταν φυσιολογικό ($B.M.I < 30 \text{ kg/m}^2$). Στο σύνολο τους οι ασθενείς του δείγματος είχαν κατά μέσο όρο $B.M.I. = 28,33 \pm 1,8$. Κανένας από τους ασθενείς δεν δήλωσε κατανάλωση αλκοόλ μεγαλύτερη από 30 γραμμάρια αιθανόλης την ημέρα (1-2 ποτήρια κρασί), ενώ όσοι δήλωσαν καπνιστές δεν ξεπερνούσαν τα 20 τσιγάρα την ημέρα. Επίσης πρέπει να σημειωθεί πως κατά την επιλογή του δείγματος αποκλείστηκαν οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη καθώς και οι ασθενείς που λάμβαναν αντιοξειδωτικές ουσίες ή βιταμίνες με τη μορφή συμπληρωμάτων. Τέλος όλοι οι ασθενείς είχαν φυσιολογική πίεση.

Όλοι οι ασθενείς της έρευνας εμφάνιζαν αυξημένες τιμές λιπιδίων στο αίμα τους. Για την αξιολόγηση των ατόμων χρησιμοποιήθηκαν οι εξής παράμετροι: ολική χοληστερόλη αίματος, τριγλυκερίδια, LDL, και HDL χοληστερόλη (πίνακας I)

Πίνακας Ι

Χαρακτηριστικά δείγματος πριν την παρέμβαση

Παράμετροι	N	Μέσος	Τυπική απόκλιση
Ηλικία (έτη)	15	52,4	9,74
BMI (kg/m ²)	15	28,3320	1,8058
Χοληστερόλη (mg/dl)	15	223,1333	42,2795
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	15	172,1333	69,2943
HDL (mg/dl)	15	38,7333	10,7668
LDL (mg/dl)	15	150,3733	33,6613
FMD (%)	15	2,3713	2,2740

2.2 Σχεδιασμός έρευνας

Πρόκειται για μια απλή, τυφλή, διασταυρούμενη, τυχαιοποιημένη έρευνα η οποία πραγματοποιήθηκε σε δυο διαφορετικές ημέρες με την παρεμβολή μιας εβδομάδας μεταξύ τους. Το πρωί της κάθε ημέρας οι ασθενείς προσέρχονταν στο αγγειολογικό εργαστήριο στις 08.30, μετά από 12 ώρες νηστεία και 12 ώρες αποχή από το κάπνισμα και χωρίς τη λήψη των φαρμάκων τους. Εκεί γινόταν τοποθέτηση ενδοφλέβιου καθετήρα από τον οποίο γινόταν λήψη 20 mL αίματος νηστείας (7.5mL για μέτρηση λιπιδίων και παραγόντων του ενδοθηλίου, 3mL για τη μέτρηση παραγόντων πήξης, 3mL για τη μέτρηση ομοκυστεΐνης και 6mL για τη δημιουργία τράπεζας DNA των συγκεκριμένων ασθενών και περαιτέρω έλεγχο διαφόρων πολυμορφισμών). Επιπλέον σε αυτή τη φάση της νηστείας γινόταν μέτρηση της αρτηριακής πίεσης και υπέρηχος αρτηριών. Στην συνέχεια δινόταν στους ασθενείς ένα ποτήρι με 250 mL κόκκινο κρασί (Μπουτάρη GRAND RESERVE, 1996) ή 250 mL του ίδιου κόκκινου κρασιού από το οποίο όμως προηγουμένως είχε αφαιρεθεί το αλκοόλ, μαζί με μια φέτα λευκό ψωμί για τοστ (30γρμ.) και 30γρμ. άπαχο τυρί (cottage cheese με 4% λιπαρά) και τα οποία έπρεπε να καταναλωθούν σε 10 λεπτά. Στην συνέχεια γίνονταν υπέρηχοι αρτηριών, μετρήσεις αρτηριακής πίεσεως και αιμοληψίες (από 15mL η καθεμία) στα 30, 60 και 90 λεπτά μετά τη λήψη του κρασιού. Έτσι, στο τέλος του πειράματος οι

ασθενείς είχαν ολοκληρώσει 2 εργαστηριακές ημέρες ο καθένας, από τις οποίες στη μία είχαν καταναλώσει κόκκινο κρασί με αλκοόλ και στην άλλη το ίδιο κόκκινο κρασί από το οποίο είχε αφαιρεθεί το αλκοόλ. Η σειρά με την οποία δόθηκαν τα δύο είδη κρασιού ήταν τυχαία και οι ασθενείς δεν γνώριζαν την ποιότητα του κρασιού που καταλάωναν κάθε φορά. Επίσης σε κάθε μια από τις δύο εργαστηριακές ημέρες, λαμβανόταν ανάκληση 24ωρου, προκειμένου να προσδιοριστεί εάν κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής του πειράματος υπήρχε διαφοροποίηση στην πρόσληψη αντιοξειδωτικών ουσιών από τη διατροφή τους.

2.3 Μετρήσεις δειγμάτων αίματος

Σε κάθε μία αιμοληψία λαμβάνονταν 7.5 mL αίματος σε μονοβέτες που δεν περιείχαν αντιπηκτική ουσία, από την οποία παραλαμβάνονταν ορό για τη μέτρηση των λιπιδίων και των παραγόντων του ενδοθηλίου, 3mL σε μονοβέτες που περιείχαν κιτρικό νάτριο ως αντιπηκτικό για την παραλαβή πλάσματος και τον προσδιορισμό παραγόντων πήξης και τέλος 3 mL σε σωληνάρια που περιείχαν EDTA αντιπηκτικό για την παραλαβή πλάσματος και τον προσδιορισμό ομοκυστεΐνης. Επίσης στην πρώτη αιμοληψία λαμβάνονταν και 2 σωληνάρια των 3 mL με EDTA για την μετέπειτα απομόνωση του DNA και τη δημιουργία τράπεζας DNA. Τα σωληνάρια με τα δείγματα αίματος, φυγοκεντρούνταν στις 3000 rpm για 10 λεπτά με τη φυγόκεντρο LABWARE K 80 και παραλαμβάνονταν ο υπερκείμενος ορός ή πλάσμα, το οποίο στην συνέχεια φυλασσόταν στους -80°C . Από τον προσλαμβανόμενο ορό έγιναν προσδιορισμοί της ολικής χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων, των HDL, LDL, των απολιποπρωτεϊνών apo A I και B, ενώ από το πλάσμα έγινε μέτρηση του ινωδογόνου. Οι μετρήσεις των δειγμάτων για ολική χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, HDL, LDL, και apo A I και B έγιναν μια φορά μετά το τέλος της έρευνας και όχι μετά από κάθε αιμοληψία. Αντίθετα οι μετρήσεις του ινωδογόνου γίνονταν μετά την κάθε μέτρηση. Οι προσδιορισμοί της ολικής χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων, των HDL και LDL έγιναν σε βιοχημικό αναλυτή ALCYON με standard αντιδραστήρια της Abbot USA, με ενζυματική μέθοδο. Οι apo A-I και apo B προσδιορίστηκαν με νεφελομετρία. Το ινωδογόνο προσδιορίστηκε με βιοχημικό αναλυτή COATRON 2 (βιοτεχνολογία Ελλάδα) με αντιδραστήρια TECLOT FIB (W. KAOLIN της TECO MEDICAL INSTRUMENT, GERMANY)

2.4 Υπέρηχοι αγγείων

Από τους υπέρηχους των αρτηριών του δεξιού βραχίονα γινόταν προσδιορισμός του καρδιακού ρυθμού, της ροής του αίματος, της διαστολής του ενδοθηλίου (FMD) και του

πάχους του ενδοθηλίου (IMT) τόσο κατά την ηρεμία όσο και μετά την υπεραιμία. Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο ο ασθενής ξαπλώνει ακίνητος και γίνονταν όλες οι βασικές μετρήσεις του υπέρηχου των αγγείων (καρδιακός ρυθμός, αιματική ροή, βασική διάμετρος αγγείου, και πάχος ενδοθηλίου) στην ηρεμία. Στην συνέχεια γινόταν μια ειδική περιδέρηση στο δεξιό βραχίονα για 3 λεπτά. Μετά την άρση της περιδέρησης όπου προκαλούταν υπεραιμία στην βραχιόνια αρτηρία, η οποία καταγραφόταν, επαναλαμβάνονταν οι μετρήσεις του καρδιακού ρυθμού, της αιματικής ροής και της διαμέτρου του αγγείου) και καταγράφονταν οι διαφοροποιήσεις ηρεμίας και υπεραιμίας, οι οποίες είναι χαρακτηριστικές για την ενδοθηλιακή λειτουργία. Οι μετρήσεις αυτές έγιναν με τη βοήθεια ενός υπέρηχου αρτηριών 7MHz, του Acuson 128XP, Mountain View, California. Η αύξηση της διαμέτρου της βραχιόνιας αρτηρίας μετά από υπεραιμική ροή είναι μέθοδος διαδεδομένη, αξιόπιστη και αναίμακτη. Βασίζεται στην παρατήρηση ότι η αύξηση της διαμέτρου κατά την υπεραιμική ροή εξαρτάται από τη βιοδιαθεσιμότητα του NO και κατ' επέκταση της λειτουργικότητας του ενδοθηλίου. Οι φυσιολογικές τιμές της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία στα περισσότερα εργαστήρια κυμαίνονται από 7-10%, ενώ τιμές <5% θεωρούνται γενικά ως παθολογικές (69).

2.5 Προετοιμασία κρασιού

Η αφαίρεση του αλκοόλ από το κρασί έγινε με μερική συμπύκνωση με τη μέθοδο της λυοφιλλίωσης. Συγκεκριμένα 125 mL από κόκκινο κρασί (Μπουτάρης, GRANDE RESERVE, 1996), τοποθετήθηκαν σε φιάλες κενού της μάρκας AFORA. Οι φιάλες πωματίστηκαν και τοποθετήθηκαν για 8-24h στην κατάψυξη. Στην συνέχεια οι φιάλες κενού με το κατεψυγμένο κρασί τοποθετήθηκαν στα ακροφύσια συσκευής λυοφιλλίωσης Cryodos 45, (Telstar, Spain) και έγινε συμπύκνωση υπό κενό 1mbar στους -50 °C για 6h. Μετά την συμπύκνωση έγινε τοποθέτηση του περιεχομένου της φιάλης κενού σε ογκομετρικό κύλινδρο των 200mL και συμπληρώθηκε με πόσιμο νερό μέχρι τα 125mL. Το παραπάνω προϊόν συλλέχθηκε σε φιάλες κρασιού που πωματίστηκαν σε ατμόσφαιρα αζώτου (N₂). Οι φιάλες αυτές συντηρήθηκαν στην κατάψυξη -20 °C μέχρι να χρησιμοποιηθούν.

2.6 Προσδιορισμός αλκοολικού βαθμού

Στο κρασί, πριν και μετά τη λυοφιλλίωση και μετά έγινε προσδιορισμός του αλκοολικού του βαθμού.

- 1) Αρχικά μια φιάλη με κόκκινο κρασί (όνομα κρασιού) ψύχεται στους 15 °C και μεταφέρθηκαν 250mL κρασιού σε σφαιρική φιάλη-βραστήρα των 500 mL συσκευής απόσταξης.
- 2) Στην συνέχεια στο βραστήρα προστέθηκαν 2-3 τεμάχια ελαφρόπετρας και συνδέθηκε σε διάταξη απόσταξης. Το όλο έφθασε σε βρασμό με ήπια φλόγα. Σημειώθηκε η θερμοκρασία βρασμού και όταν άρχισε η απόσταξη το απόσταγμα συλλέχθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 250 mL. Όταν απέσταξαν τουλάχιστον τα 2/3 του υγρού η απόσταξη σταμάτησε.
- 3) Τέλος η ογκομετρική φιάλη με το απόσταγμα ψύχθηκε σε ροή νερού βρύσης όσο το δυνατόν πλησιέστερα στους 15 °C και στην συνέχεια συμπληρώθηκε αποσταγμένο νερό μέχρι της χαραγής των 250 mL. Το περιεχόμενο της ογκομετρικής φιάλης τοποθετήθηκε σε ογκομετρικό κύλινδρο των 250mL και μετρήθηκαν οι αλκοολικοί βαθμοί του κρασιού με αλκοολόμετρο (κλίμακας Gay Lussac). Τα κρασί πριν τη λυοφιλλίωση περιείχε 12 βαθμούς αλκοόλης, ενώ μετά την λυοφιλλίωση το κρασί περιείχε ≤ 1 βαθμό αλκοόλης.

2.7 Οργανοληπτική Εξέταση

Μετά την παρασκευή του κρασιού χωρίς αλκοόλ πραγματοποιήθηκε οργανοληπτική εξέταση του κρασιού χωρίς αλκοόλ ως προς τα ίδια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του αρχικού κρασιού για να διαπιστωθεί αν υπήρχε σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δυο ποτά.

Επιλέχθηκαν 16 εθελοντές, υγιείς ενήλικες, οι οποίοι δεν είχαν αποστροφή προς τον οίνο, ούτε ήταν αλκοολικοί. Η οργανοληπτική εξέταση έγινε σε ουδέτερο εργαστηριακό χώρο, όπου δεν υπήρχαν αντικείμενα ή οσμές που να επηρεάζουν τους εξεταστές. Ο κάθε εξεταστής εισερχόταν μόνος του στο εργαστήριο όπου υπήρχε μόνο ο παρασκευαστής που του έδινε τα δείγματα και τις οδηγίες για την συμπλήρωση των ερωτηματολογίων. Ο κάθε εθελοντής έκανε τις ακόλουθες δοκιμές:

- **Δοκιμή Α: (duo trio):** υπήρχαν δυο ποτηράκια με κανονικό κρασί και ένα χωρίς αλκοόλ. Σε κάθε εξεταστή είχε δοθεί ένα μπουκάλι με νερό, ένα ποτήρι και ένα πτυελοδοχείο για το ξέπλυμα του στόματος. Τα ποτηράκια ήταν κωδικοποιημένα με τυχαίους κωδικούς. Ο εξεταστής έπρεπε να αναγνωρίσει ποια από τα τρία ποτηράκια μοιάζουν μεταξύ τους.

• **Δοκιμή Β: (duo trio):** σε αυτή τη δοκιμή υπήρχαν δύο ποτήρια με κρασί χωρίς αλκοόλ και ένα ποτήρι με κανονικό κρασί. Η δοκιμή έγινε ως άνω.

• **Δοκιμή Γ:** Σε κάθε εξεταζόμενο δόθηκαν δυο ποτήρια (ένα με κανονικό κρασί και ένα χωρίς αλκοόλ). Ο εξεταζόμενος έπρεπε για το κάθε ένα να βαθμολογήσει σύμφωνα με την προτίμηση του σε ηδονική κλίμακα (από το 1 έως το 9), τα εξής χαρακτηριστικά: χρώμα, άρωμα, γλυκιά γεύση, ξινή γεύση και πικρή γεύση. (βλ στο παράρτημα το σχετικό φύλλο οργανοληπτικής εξέτασης).

2.8 Απομάκρυνση πολυφαινολικών συστατικών

Για τη δέσμευση των πολυφαινολών του κρασιού εφαρμόστηκε εκχύλιση στερεάς φάσης (solid phase extraction, SPE). Για την κατακράτηση των πολυφαινολών χρησιμοποιήθηκε στήλη SPE C₁₈ (ISOLUTE, IST, UK). Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

• Μέσα από στήλη SPE C₁₈ πέρασαν 6 (2x3) mL κανονικού κρασιού με αλκοόλ. Η στήλη τοποθετήθηκε μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα και το όλο φυγοκεντρήθηκε (1000 rpm, 10 min)B σε φυγόκεντρο για να επιταχυνθεί η δίοδος του κρασιού από το υλικό της στήλης.

• Από τα 6 ml του δείγματος τα 2 mL περίπου εξατμίστηκαν υπό ρεύμα N₂.

• Για να παραληφθούν οι πολυφαινόλες του δείγματος, από την στήλη SPE C₁₈ πέρασαν 6 (2x3)mL διαλύματος 4% THF (Tetrahydrofuran for chromatography, Merck, Germany)/MeOH(HPLC grade, SOS, France) με φυγοκέντρηση (1000 rpm, 10 min) και παραλήφθηκαν τα φαινολικά συστατικά του δείγματος.

• Το διάλυμα των φαινολικών συστατικών εξατμίστηκε με ρεύμα N₂ και προστέθηκε 1 Ml διαλύματος MeOH. Με αυτό τον τρόπο το δείγμα ήταν έτοιμο να περάσει από χρωματογραφία HPLC αναστρόφου φάσεως με βαθμιδωτή έκλουση.

• Η παραπάνω διαδικασία ακολουθήθηκε και για το λυοφιλλωμένο κρασί.

• Από το προκύπτον διάλυμα παραλήφθηκαν 0.1mL για τον προσδιορισμό των ολικών πολυφαινολών με την αντίδραση Folin- Ciocalteu.

2.9 Προσδιορισμός συγκέντρωσης ολικών πολυφαινολών

Η συγκέντρωση τόσο του κρασιού όσο και του κρασιού στο οποίο αφαιρέθηκε το αλκοόλ σε πολυφαινόλες, υπολογίσθηκε με την αντίδραση Folin Ciocalteu. Για τον σκοπό αυτό τα 0.1mL από τα διαλύματα που παρασκευάστηκαν στην παράγραφο 2.9 αναμείχθηκαν με 5mL νερού και με 0.5mL αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu (Merck, Germany) σε μια ογκομετρική φιάλη των 10mL. Μετά από 3 λεπτά με μικροπιπέτα του 1mL μεταφέρθηκε στη φιάλη 1mL κορεσμένου διαλύματος Na_2CO_3 (Sodium Dicarboxate, SDS, France). Το περιεχόμενο αναδεύτηκε και αραιώθηκε με νερό μέχρι τη χαραγή της ογκομετρικής φιάλης. Στην συνέχεια 0.1 mL του μεθανολικού διαλύματος αναμείχθηκε με 5mL νερό μέχρι τη χαραγή της ογκομετρικής φιάλης.

Η μέτρηση της απορρόφησης των διαλυμάτων που παρασκευάστηκαν με την αντίδραση Folin Ciocalteu μετρήθηκε μετά από μια ώρα σε φασματοφωτόμετρο (UV-Vis, UNICON) διπλής δέσμης στα 725 nm ως προς δείγμα μάρτυρα. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των πολυφαινολών έγινε με αναφορά σε πρότυπη καμπύλη καφεϊκού οξέος (SIGMA, Germany) ($y = 0,0127x - 0.0307$ $R_2 = 0,998$) Η παραλαβή και ο προσδιορισμός των ολικών πολυφαινολών πραγματοποιήθηκε τόσο για το κανονικό κρασί όσο και για το κρασί χωρίς αλκοόλ.

Επίσης η ποιοτική σύγκριση των δύο κρασιών έγινε με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) με πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης και με αέρια χρωματογραφία (GC), ώστε να γίνει ταυτοποίηση μεγάλου αριθμού από τις αντιοξειδωτικές ουσίες που περιέχουν και να αναγνωρισθούν τυχόν διαφοροποιήσεις ανάμεσα στα δύο είδη κρασιών.

2.10 Αέρια χρωματογραφία (GC)

Ο αέριος χρωματογράφος που χρησιμοποιήθηκε κατασκευάστηκε από την εταιρεία Hewlett Packard, σειρά HP 6890, Mass Selective Detector.

Τα βασικά όργανα και μέρη του συγκροτήματος GC που χρησιμοποιήθηκε ήταν:

1. Οι φιάλες των αερίων της κινητής φάσης (He) και των αερίων καύσης για τον ανιχνευτή FID (H_2 και αέρας).
2. Ο θάλαμος της εισαγωγής του δείγματος ή εγχυτής δείγματος (σύριγγα μεγέθους 10μL, ενώ ο όγκος της έγχυσης ήταν 1μL.
3. Ο αυτόματος δειγματολήπτης 100 θέσεων.

4. Ο ανιχνευτής φασματογραφίας μάζας (auxiliary detector, MSD), η θερμοκρασία του οποίου ήταν ρυθμισμένη στους 280 °C.
5. Η τριχοειδής στήλη ανάλυσης μέσα στο θάλαμο θέρμανσης με στοιχεία:
 HP-19091Z-413
 HP-1 Methyl Siloxane (μη πολική)
 Μέγιστη θερμοκρασία: 325°C
 Η στήλη έχει μήκος 30m, διάμετρο 320μm και πάχος φιλμ επικάλυψης 0.25μm.
6. Ο φούρνος με τους θερμοστάτες για τη ρύθμιση της θερμοκρασίας του φούρνου.

Η θερμοκρασία του φούρνου μεταβάλλεται με σταδιακή άνοδο ως εξής:

Oven ramp	°C/min	Next °C	Hold min	Run time
Initial		70	1.00	1.00
Ramp 1	2.00	135	10.00	43.50
Ramp 2	4.00	220	20.00	74.75
Ramp 3	3.50	270	0	109.04
Ramp 4 (off)	-	-	-	-

7. Ο υπολογιστής ή ολοκληρωτής για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Ο καταγραφέας με τον οποίο καταγράφεται το αποτέλεσμα του διαχωρισμού, το χρωματογράφημα, επί χάρτου. Τα στοιχεία του λογισμικού που χρησιμοποιήθηκε είναι:

Enhanced Chem Station

G 1701 AA Version A.03.00

Hewlett Packard 1996

Σε υπολογιστή HP Vectra Xn.

Για την ανάλυση των προτύπων διαλυμάτων (0.4ml) που παρασκευάστηκαν στην παράγραφο 2.9 στον αέριο χρωματογράφο, πραγματοποιήθηκε η σιλιλίωση τους. Τα σιλιλιωτικά μέσα που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

A) Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA),

$\text{CF}_3\text{C}[\text{N}(\text{Si}(\text{CH}_3)_3)]\text{OSi}(\text{CH}_3)_3$, με MB=257.40,

Catalog No. 39485-8, της εταιρείας Aldrich Chemical Company.

B) Trimethylchlorosilan (TMCS),

$\text{C}_3\text{H}_9\text{ClSi}$, με MB = 108.64,

Art.2333, της εταιρείας Merck.

Για την εξάτμιση των διαλυτών στα διάφορα στάδια της προετοιμασίας των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε N_2 , της εταιρείας Αεροσκόπιο.

Επιπλέον, για την προετοιμασία των προτύπων διαλυμάτων και των δειγμάτων των πολυφαινολών χρησιμοποιήθηκαν:

- α) Γυάλινες πιπιλέτες Pasteur.
- β) Πλαστικά μπλε και κίτρινα tips.
- γ) Δοκιμαστικοί σωλήνες των 15mL με βιδωτό πώμα.
- δ) Vials του 1.5mL με βιδωτό καπάκι και μπλε septum.

Διαδικασία σιλιλίωσης

Από τα διαλύματα εργασίας των πολυφαινολών μεταφέρθηκαν 0.5mL σε νέους δοκιμαστικούς σωλήνες και ακολούθησε εξάτμιση του διαλύτη σε ρεύμα N_2 μέχρι ξηρού. Το τελευταίο στάδιο στην προετοιμασία των προτύπων διαλυμάτων για την εισαγωγή τους στον αεριοχρωματογράφο περιλαμβάνει την προσθήκη των σιλιλιωτικών μέσων (200μL BSTFA και 100μL TMCS). Οι δοκιμαστικοί σωλήνες με τα σιλιλιωμένα δείγματα τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο , ρυθμισμένο στους 80 °C για 45 λεπτά. Τέλος τα σιλιλιωμένα δείγματα των πολυφαινολών μεταφέρθηκαν σε vials και τοποθετήθηκαν στον αυτόματο δειγματολήπτη του αεριοχρωματογράφου.

2.11 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)

Τα 0.5 mL των διαλυμάτων που παρασκευάστηκαν στην παράγραφο 2.9, περαιτέρω κατεργασία αναλύθηκαν με HPLC χρωματογραφία (70).

Τα βασικά όργανα και μέρη του υγροχρωματογράφου που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

1. Οι φιάλες των υγρών διαλυτών της κινητής φάσης. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν οι αδρανείς διαλύτες (υδατικό διάλυμα ορθοφωσφορικού οξέος με $pH= 3$, CH_3CN , CH_3OH , $CH_3CH(OH)CH_3$.
2. Ο θάλαμος της εισαγωγής του δείγματος.
3. Η στήλη ανάλυσης με χαρακτηριστικά:
C18 Nucleosil 120 (5μm) (120 x 4mm).
4. Οι αντλίες πίεσης (pumps) για τη ροή των διαλυτών με την πολυβαλβίδα ανάμειξης και προγραμματισμού ροής των διαλυτών και τα ηλεκτρονικά μέρη για τη ρύθμιση τους.

Πρόγραμμα βαθμιδωτής Έκλουσης (Gradient).

Χρόνος (min)	% A	% B	% C	% D
0	70,0	17,5	12,5	0
35	0	58,3	41,7	0
45	0	58,3	41,7	0
51	0	23,4	16,6	60,0
56	0	23,4	16,6	60,0
60	0	58,3	41,7	0
65	70,0	17,5	12,5	0
70	70,0	17,5	12,5	0

A = υδατικό διάλυμα ορθοφωσφορικού οξέος με pH=3

B = CH_3CN (ακετονιτρίλιο)

C = CH_3OH (μεθανόλη)

D = $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ (ισοπροπανόλη)

5. Ο ανιχνευτής UV-Vis (280, 214, 295, 254 nm), Fluorescence ($\lambda_{\text{ex}} = 295 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 330 \text{ nm}$) για την ανίχνευση των διαχωρισμένων συστατικών του δείγματος.
6. Ο ολοκληρωτής για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων.
7. Ο ηλεκτρονικός υπολογιστής για την καταγραφή του χρωματογραφήματος.

2.12 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της έρευνας έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα Minitab, της Minitab Ltd, Inc, U.K. Χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης και το ολικό εμβαδόν κάτω από την καμπύλη (TAUC). Με τη βοήθεια των paired t-tests ανάμεσα στα TAUC στα 30, 60 και 90 λεπτά της δοκιμασίας, έγινε η σύγκριση των τιμών των μεταβλητών στα 30, 60 και 90 λεπτά της δοκιμασίας, με την αρχική τιμή που αντιστοιχεί στη μέτρηση νηστείας. Η διαδικασία αυτή είχε ως σκοπό να αποδειχθεί τυχόν αλλαγή των μετρούμενων μεταβλητών που να οφείλεται στην κατανάλωση είτε του κανονικού κρασιού είτε του κρασιού χωρίς αλκοόλ, των οποίων τη δράση μελετά η παρούσα έρευνα. Το επίπεδο σημαντικότητας καθορίστηκε και στους δύο ελέγχους το 5% ($p\text{-value} < 0,005$).

Αλκοόλ	12% αλκοόλ	≤ 1% αλκοόλ
Συζησία		

2.2 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων οργανοληπτικής εξέτασης

Με την χρήση του στατιστικού πακέτου Excel έγινε η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της οργανοληπτικής εξέτασης.

Τα αποτελέσματα για κάθε μία από τις δοκιμασίες ήταν τα εξής:

- Βρέθηκε πως υπήρχαν 6 σωστές απαντήσεις στην δοκιμή Α και 60 λάθος απαντήσεις.
- Επίσης προέκυψε πως στην δοκιμή Β υπήρχαν 6 σωστές απαντήσεις και 9 λάθος απαντήσεις.
- Συνολικά μόνο 3 άτομα είχαν σωστή απάντηση και στη δοκιμή Α και στη δοκιμή Β.
- Από την στατιστική ανάλυση προέκυψε πως υπήρχαν 6 άτομα που είχαν λάθος και τη δοκιμή Α και τη δοκιμή Β.
- Επιπλέον βρέθηκε πως υπήρχαν 3 άτομα που είχαν σωστή τη δοκιμή Α και 6 άτομα που είχαν λάθος τη δοκιμή Β.
- Επίσης βρέθηκε πως 3 άτομα είχαν λάθος τη δοκιμή Β και μία σωστή δοκιμή Β.
- Τέλος βρέθηκε πως 3 άτομα είχαν λάθος τη δοκιμή Α και σωστή τη δοκιμή Β.

Τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής εξέτασης που αφορούν το χρώμα, το άρωμα, τη γεύση και την ξινή γεύση παρουσιάζονται στο πίνακα που ακολουθεί.

ΕΝΟΤΗΤΑ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Σύγκριση αλκοολικού βαθμού.

Στο κρασί πριν και μετά τη λυοφιλλίωση έγινε προσδιορισμός του αλκοολικού βαθμού. Τα αποτελέσματα της μέτρησης του αλκοολικού βαθμού φαίνονται στον πίνακα που ακολουθεί.

Πίνακας 3.1

	Κόκκινο κρασί	Κόκκινο κρασί λυοφιλλίωσης
Αλκοολικοί βαθμοί	12% αιθανόλη	$\leq 1\%$ αιθανόλη

3.2 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων οργανοληπτικής εξέτασης

Με την χρήση του στατιστικού πακέτου Excell έγινε η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της οργανοληπτικής εξέτασης.

Τα αποτελέσματα για κάθε μια από τις δοκιμασίες ήταν τα εξής:

- Βρέθηκε πως υπήρχαν 6 σωστές απαντήσεις στην δοκιμή Α και μια λάθος απαντήσεις.
- Επίσης προέκυψε πως στην δοκιμή Β υπήρχαν 6 σωστές απαντήσεις και 9 λάθος απαντήσεις.
- Συνολικά μόνο 3 άτομα είχαν απαντήσει σωστά και στη δοκιμή Α και στη δοκιμή Β.
- Από την στατιστική ανάλυση προέκυψε πως υπήρχαν 6 άτομα που είχαν λάθος και τη δοκιμή Α και τη δοκιμή Β.
- Επιπλέον βρέθηκε πως υπήρχαν 3 άτομα που είχαν σωστή τη δοκιμή Α και 6 άτομα που είχαν λάθος τη δοκιμή Β.
- Επίσης βρέθηκε πως 3 άτομα είχαν λάθος τη δοκιμή Β και μία σωστή δοκιμή Β.
- Τέλος βρέθηκε πως 3 άτομα είχαν λάθος τη δοκιμή Α και σωστή τη δοκιμή Β.

Τα αποτελέσματα της οργανοληπτικής εξέτασης που αφορούσε το χρώμα, το άρωμα, την γλυκιά γεύση, την ξινή γεύση παρουσιάζονται στο πίνακα που ακολουθεί.

ΗΔΟΝΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ 1-9

	Μέσος	Τυπική απόκλιση
Χρώμα		
Δείγμα Α (κόκκινο κρασί λυοφιλ.)	6.9	± 1.18
Δείγμα Β (κόκκινο κρασί κανονικό)	7.3	± 1.24
Άρωμα		
Δείγμα Α (κόκκινο κρασί λυοφιλ.)	5.5	± 1.83
Δείγμα Β (κόκκινο κρασί κανονικό)	6.6	± 1.82
Γλυκό		
Δείγμα Α (κόκκινο κρασί λυοφιλ.)	5.7	± 1.99
Δείγμα Β (κόκκινο κρασί κανονικό)	6.4	± 1.82
Ξινό		
Δείγμα Α (κόκκινο κρασί λυοφιλ.)	6.1	± 1.24
Δείγμα Β (κόκκινο κρασί κανονικό)	6.5	± 1.7

3.3 Σύγκριση αποτελεσμάτων ολικής συγκέντρωσης πολυφαινολών

Η μέτρηση της απορρόφησης των διαλυμάτων που παρασκευάστηκαν με την αντίδραση Folin Ciocalteu μετρήθηκε μετά από μια ώρα σε φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης στα 725 nm ως προς δείγμα μάρτυρα (blank). Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των πολυφαινολών έγινε με αναφορά σε πρότυπη καμπύλη καφεϊκού οξέος ($\gamma = 0,0127x - 0.0307$, $R_2 = 0,9982$). Η παραλαβή και ο προσδιορισμός των ολικών πολυφαινολών πραγματοποιήθηκε τόσο για το κανονικό κρασί όσο και για το κρασί χωρίς αλκοόλ και η επεξεργασία έδωσε τα παρακάτω αποτελέσματα.

Πίνακας 3.3

	Κόκκινο Κρασί	Κόκκινο Κρασί λυοφιλλίωσης
Συνολική συγκέντρωση πολυφαινολών	65,8188 μg καφεϊκού οξέος	65,0393 μg καφεϊκού οξέος

3.4 Μέτρηση του χρόνου κατακράτησης των προτύπων διαλυμάτων πολυφαινολών με CGC χρωματογραφία.

Τα vials των σιλιλιωμένων προτύπων διαλυμάτων των πολυφαινολών εισήχθησαν στον αυτόματο δειγματολήπτη του αεριοχρωματογράφου και έγινε ο προσδιορισμός του χρόνου κατακράτησης (Retention time-Rt) και του σιλιλιωμένου μοριακού βάρους για την κάθε φαινολική ένωση. Ως χρόνος κατακράτησης θεωρείται το χρονικό σημείο της κάθε κορυφής από τον χρόνο μηδέν της έναρξης της ανάλυσης και είναι χαρακτηριστικό για κάθε συστατικό.

Η τιμή του χρόνου κατακράτησης του κάθε συστατικού, σε συνδυασμό με το μοριακό βάρος της ένωσης, αποτελούν έμμεση ταυτοποίηση της συγκεκριμένης ουσίας, για καθορισμένες συνθήκες και είδος ανάλυσης. Επομένως η μετέπειτα ανάλυση των δειγμάτων με εσωτερικό πρότυπο βασίζεται στην σύγκριση του χρόνου κατακράτησης και του μοριακού βάρους του άγνωστου συστατικού με τις αντίστοιχες γνωστές τιμές μιας πρότυπης φαινολικής ουσίας.

3.5 Μέτρηση του χρόνου κατακράτησης των προτύπων διαλυμάτων πολυφαινολών με HPLC χρωματογραφία

Τα 0.5 ml διαλύματος που παρελήφθησαν μέσω της διαδικασίας της εκχύλισης στερεής φάσης (SPE), χωρίς περαιτέρω κατεργασία εισήχθησαν στον αυτόματο δειγματολήπτη του υγροχρωματογράφου και έγινε προσδιορισμός του χρόνου κατακράτησης για την κάθε φαινολική ένωση. Ως χρόνος κατακράτησης θεωρείται το χρονικό σημείο της κάθε κορυφής από τον χρόνο μηδέν της έναρξης της ανάλυσης και είναι χαρακτηριστικό για κάθε συστατικό.

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την ανάλυση των δειγμάτων.

	Ολικό Εμβαδόν Total areas (AU× sec)
Κρασί (SPE C ₁₈)	7,55
Κρασί λυοφυλλιωμένο (SPE C ₁₈)	7,37

Η διαφορά των δύο τιμών του εμβαδού ανάμεσα στο κρασί (SPE C₁₈) και στο λυοφυλλιωμένο κρασί (SPE C₁₈) είναι 0.179 mAU× sec

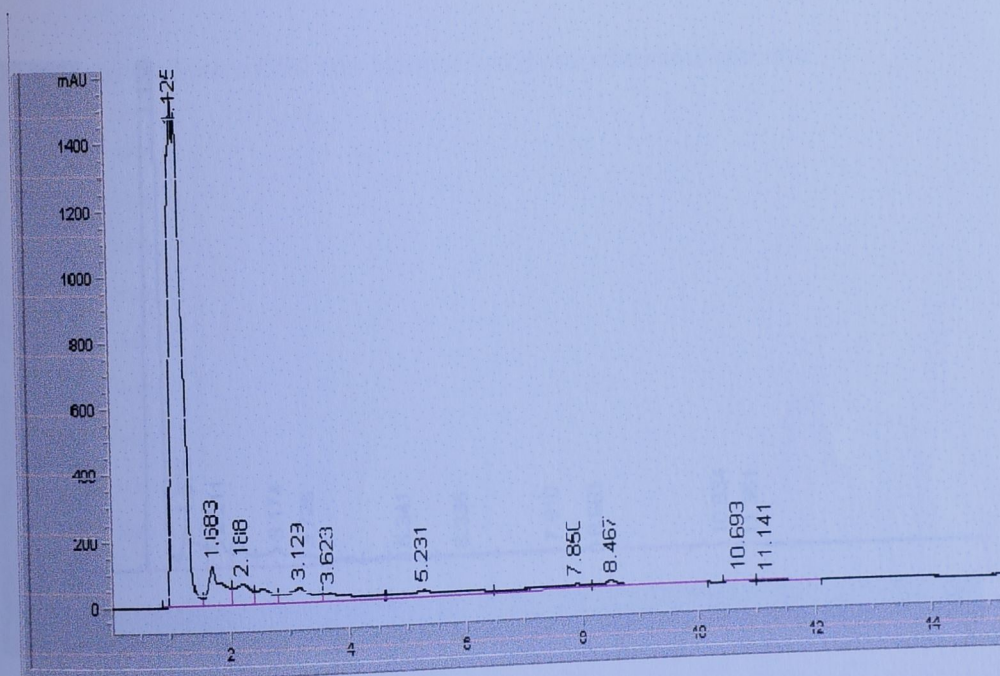
	Ολικό εμβαδόν Total areas (AU× sec)
Έκλουσμα κρασιού (SPE C ₁₈) THF/MeOH	1,41
Έκλουσμα κρασιού λυοφυλλιωμένου (SPE C ₁₈) THF/MeOH	1,48

Η διαφορά των δυο τιμών του εμβαδού ανάμεσα στο έκλουσμα κρασιού (SPE C₁₈) THF/MeOH και στο έκλουσμα κρασιού λυοφυλλιωμένου (SPE C₁₈) είναι 0.064 mAU× sec. Στην συνέχεια παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα από την ανάλυση των δειγμάτων. Από τα παραπάνω αποτελέσματα φαίνεται πως δεν υπάρχουν ουσιαστικές διαφορές στην ποσότητα και ποιότητα των πολυφαινολών του κρασιού και του λυοφυλλιωμένου κρασιού.

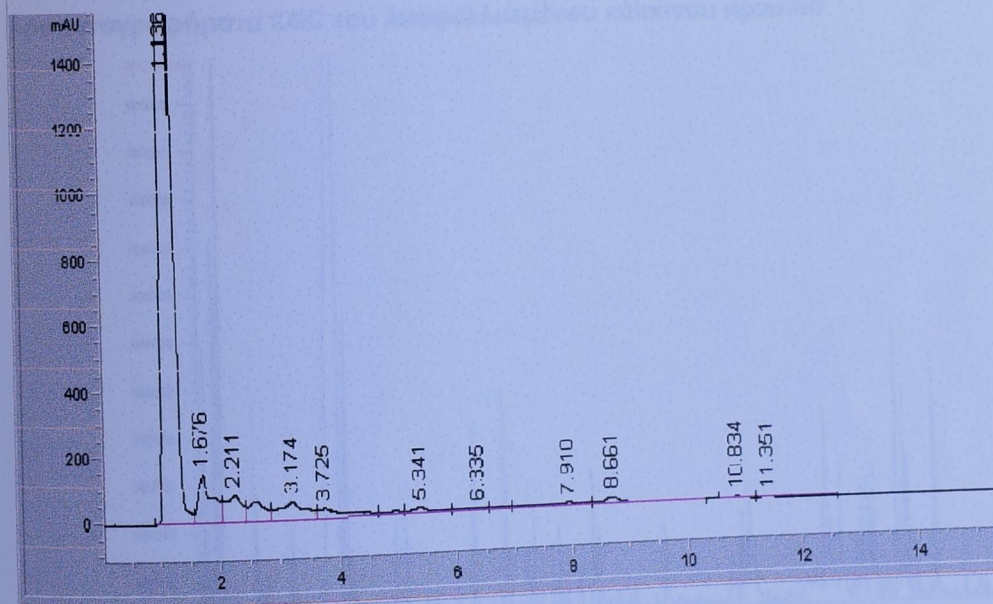
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ HPLC

Χρωματογράφημα HPLC του λυφιλλωμένου κόκκινου κρασιού

Χρωματογράφημα HPLC του κόκκινου κρασιού

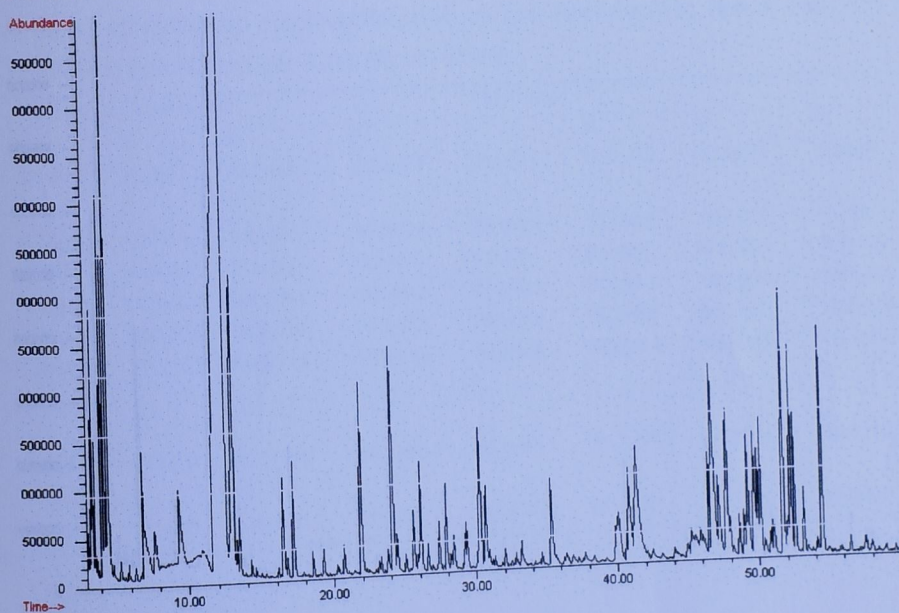


Χρωματογράφημα HPLC του λυοφιλλιωμένου κόκκινου κρασιού



ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ CGC

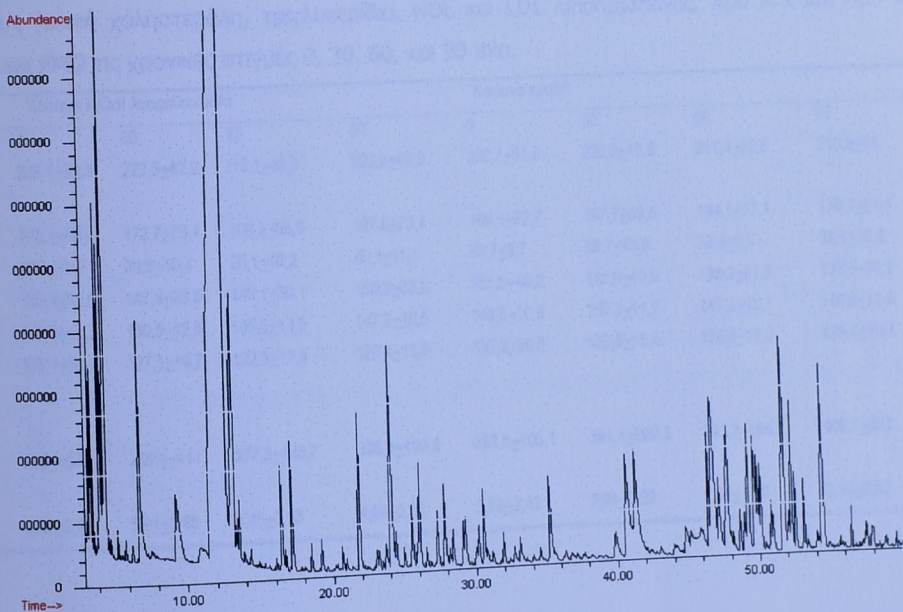
Χρωματογραφήματα CGC του λυοφυλλιωμένου κόκκινου κρασιού



2.5 Επίδραση του κόκκινου κρασιού και του κρασιού χωρίς οξείδια στις αναλύσεις

Στον πίνακα που ακολουθεί φαίνεται η επίδραση του κόκκινου κρασιού και του κρασιού χωρίς οξείδια στην ολική χοληστερόλη, λιποπρωτεΐνες, σκωληστερόλη, γλυκόζη και 15 σημαντικές ουσίες του δείγματος.

Χρωματογραφήματα CGC του κόκκινου κρασιού



3.6 Επίδραση του κόκκινου κρασιού και του κρασιού χωρίς αλκοόλ στις παραμέτρους

Στον πίνακα που ακολουθεί φαίνεται η επίδραση του κόκκινου κρασιού και του κρασιού χωρίς αλκοόλ στην ολική χοληστερόλη, λιποπρωτεΐνες, απολιποπρωτεΐνες, ινωδογόνο, FMD των 15 στεφανιαίων ασθενών του δείγματος.

Πίνακας 3.4.2

Πίνακας 3.6.1 Η επίδραση του κόκκινου κρασιού και του κόκκινου κρασιού χωρίς αλκοόλ στις παραμέτρους (ολική χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, HDL και LDL λιποπρωτεΐνες, Apo A I και Apo B, ινωδογόνο και FMD τις χρονικές στιγμές 0, 30, 60, και 90 min.

Παράμετροι	Κόκκινο κρασί λυοφιλιωμένο				Κόκκινο κρασί			
	0	30	60	90	0	30	60	90
Ολική χοληστερ. (mg/dl)	223,1 $\pm$ 42,3	222,5 $\pm$ 42,2	219,1 $\pm$ 40,9	223,9 $\pm$ 40,9	230,1 $\pm$ 51,6	220,9 $\pm$ 45,6	211,4 $\pm$ 32,8	210,9 $\pm$ 34
TG (mg/dl)	172,1 $\pm$ 69,3	172,7 $\pm$ 73,1	169,3 $\pm$ 65,8	167,8 $\pm$ 73,4	199,1 $\pm$ 92,7	197,7 $\pm$ 89,5	184,1 $\pm$ 87,1	176,7 $\pm$ 84,1
HDL (mg/dl)	38,7 $\pm$ 10,7	39,9 $\pm$ 10,4	39,1 $\pm$ 10,2	40,1 $\pm$ 11,1	38,7 $\pm$ 8,7	38,7 $\pm$ 10,0	38,4 $\pm$ 9,7	38,1 $\pm$ 10,2
LDL (mg/dl)	150,4 $\pm$ 33,6	147,9 $\pm$ 33,5	146,1 $\pm$ 30,1	150,3 $\pm$ 33,2	151,5 $\pm$ 49,2	142,6 $\pm$ 40,9	136,3 $\pm$ 31,6	137,5 $\pm$ 30,1
ApoA-I (mg/dl)	149,3 $\pm$ 11,7	150,5 $\pm$ 12,5	145,5 $\pm$ 14,5	147,7 $\pm$ 13,5	149,5 $\pm$ 10,9	150,3 $\pm$ 11,2	147,2 $\pm$ 12,1	146,6 $\pm$ 12,9
Apo B (mg/dl)	125,1 $\pm$ 14,7	127,1 $\pm$ 16,7	122,5 $\pm$ 17,6	125,4 $\pm$ 13,5	133,3 $\pm$ 39,5	123,5 $\pm$ 15,4	124,4 $\pm$ 17,2	123,4 $\pm$ 19,4
Ινωδογόνο (mg/dl)	399 $\pm$ 154	366,9 $\pm$ 111	377,8 $\pm$ 148,7	390,6 $\pm$ 136,8	357,5 $\pm$ 105,1	391,4 $\pm$ 202,3	393,2 $\pm$ 194,7	406,7 $\pm$ 222
FMD (%)	2,37 $\pm$ 2,27	5,01 $\pm$ 3,85	4,45 $\pm$ 3,03	4,80 $\pm$ 2,02	3,83 $\pm$ 2,43	2,81 $\pm$ 2,22	1,51 $\pm$ 1,80	3,14 $\pm$ 2,92

Στον πίνακα που ακολουθεί φαίνονται το total area και το incremental area under the curve, όλων των παραμέτρων μετά την κατανάλωση κόκκινου κρασιού και κρασιού χωρίς αλκοόλ.

Πίνακας 3.6.2

Total και incremental area under the curve, όλων των παραμέτρων μετά την παρέμβαση
(μέσος± τυπική απόκλιση)

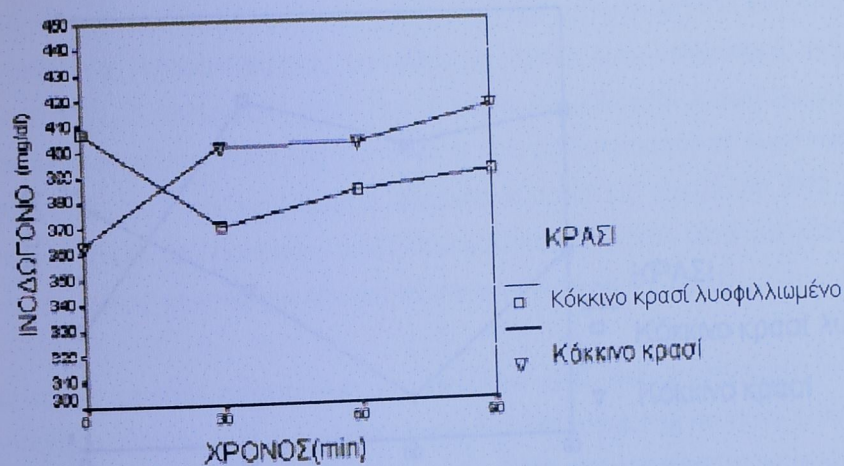
Παράμετροι	Κόκκινο κρασί λυοφιλιωμένο		Κόκκινο κρασί	
	TAUC	IAUC	TAUC	IAUC
Ολική	19116±4651,6	-966±2155,6	19236,4±2976,8	-563,6±2092,7
χοληστερόλη(mg/dl)				
TG (mg/dl)	14681±6399,5	-811±3093,5	16989,6±7842,7	-592,5±2976,7
HDL (mg/dl)	3396±1025,7	-90±392	3457,5±873,5	-75±424,5
LDL (mg/dl)	12789,4±3465,4	-744,2±1278,9	12381±2865	-437,6±1837
Apo A – I (mg/dl)	12769±1946,4	-665±1769,8	13341,4±1034,4	-364,3±339,3
Apo B (mg/dl)	10779,7±2052,6	-477,2±1297,9	11289±1423,5	-723,7±3233,6
Ινοδωγόνο (mg/dl)	33499±12042,9	-2411±6554,3 ^a	35000±15761	2828±8624,2 ^a
FMD (%)	391,6±198,5 ^b	178,2±262,6 ^c	234,2±150,9 ^b	-110,3±147,4 ^c

HDL: λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας, LDL: λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας, Apo A – I: απολιποπρωτεΐνη A – I, Apo B: απολιποπρωτεΐνη B, FMD: αύξηση διαμέτρου της βραχιόνιας αρτηρίας μετά από υπεραιμική ροή.

a: $p < 0,035$, b: $p < 0,010$, c: $p < 0,0004$

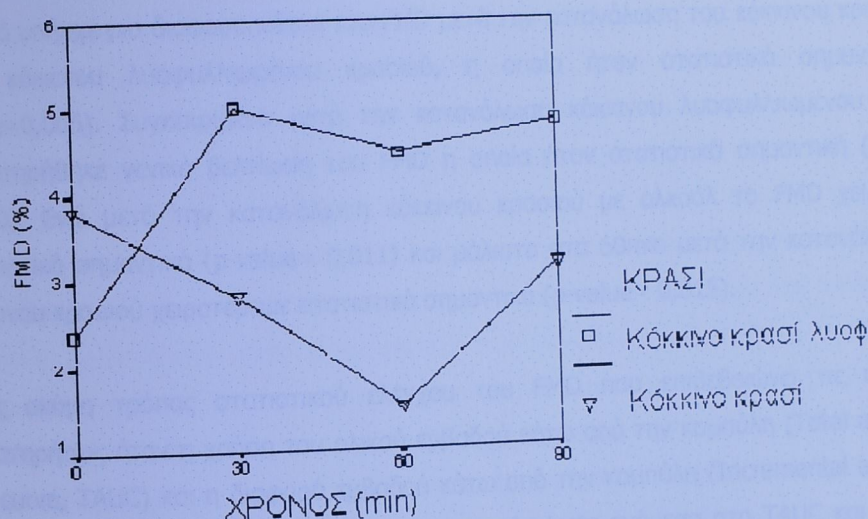
Πίνακας 3.6.3

Επίδραση του κόκκινου κρασιού και του κόκκινου κρασιού λυοφιλλιωμένου στο ινοδαγόνιο των 15 στεφανιαίους ασθενείς του δείγματος



Πίνακας 3.6.4

Επίδραση του κόκκινου κρασιού και του κόκκινου κρασιού λυοφιλλωμένου στο FMD των 15 στεφανιαίους ασθενείς του δείγματος



ΕΝΟΤΗΤΑ 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων μέσω ανάλυσης διακύμανσης επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (repeated measures) οδήγησε σε κάποια χρήσιμα συμπεράσματα. Βρέθηκε πως γενικά υπήρχε μια διαφοροποίηση του FMD μετά την κατανάλωση του κόκκινου κρασιού και του κόκκινου λυοφυλλιωμένου κρασιού, η οποία ήταν στατιστικά σημαντική (p -value=0,006). Συγκεκριμένα μετά την κατανάλωση κόκκινου λυοφυλλιωμένου κρασιού παρατηρήθηκε γενική βελτίωση του FMD η οποία ήταν στατιστικά σημαντική (p -value=0,030). Ενώ μετά την κατανάλωση κόκκινου κρασιού με αλκοόλ το FMD χειροτέρεψε στατιστικά σημαντικά (p -value= 0,011) και μάλιστα στα 60min μετά την κατανάλωση του κόκκινου κρασιού χειροτέρεψε στατιστικά σημαντικά (p -value= 0,015).

Ένας ακόμη τρόπος στατιστικού ελέγχου του FMD που επιβεβαιώνει τις παραπάνω παρατηρήσεις ήταν η χρήση του ολικού εμβαδού κάτω από την καμπύλη (Total area under the curve, TAUC) και η διαφορά εμβαδού κάτω από την καμπύλη (Incremental area under the curve, IAUC). Πράγματι με την χρήση paired t-tests ανάμεσα στο TAUC και του IAUC παρατηρήθηκε μια βελτίωση του FMD μετά την κατανάλωση του κόκκινου κρασιού λυοφυλλιωμένου η οποία ήταν στατιστικά σημαντική (p -value_{TAUC} 0,0004, μονόπλευρός έλεγχος). Αντίθετα το κόκκινο κρασί είχε αρνητική επίδραση στο FMD. Τα συμπεράσματα της επίδρασης του κόκκινου κρασιού λυοφυλλιωμένου στο FMD έρχονται σε συμφωνία με παρόμοιες έρευνες που έχουν γίνει (26,52). Συγκεκριμένα στην έρευνα των Hasimoto et al παρατηρήθηκε αύξηση του FMD στα 30min μετά την κατανάλωση του κόκκινου κρασιού λυοφυλλιωμένου. Επίσης σε αυτή την έρευνα παρατηρήθηκε βελτίωση του FMD και μετά την κατανάλωση κόκκινου κρασιού, 2h μετά την κατανάλωση του, γεγονός που έρχεται σε αντίθεση με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης. Συνολικά οι έρευνες που έχουν διεξαχθεί για την επίδραση του κόκκινου κρασιού και του κόκκινου κρασιού λυοφυλλιωμένου στο FMD είναι περιορισμένες. Πάντως το γεγονός πως το FMD μετά την κατανάλωση του κόκκινου κρασιού λυοφυλλιωμένου, αυξήθηκε μπορεί να ερμηνευθεί λόγω της διαφορετικής απορρόφησης των δύο ειδών του κόκκινου κρασιού (κόκκινου κρασιού και κόκκινου κρασιού λυοφυλλιωμένου) (26).

Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός δράσης μέσω του οποίου παρατηρείται η αύξηση του FMD είναι ίσως η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών και ίσως όχι τόσο η δράση της αιθανόλης. Επιπλέον από τις διάφορες μελέτες in vitro της επίδρασης του κρασιού ή συγκεκριμένων αντιοξειδωτικών του κρασιού σε καλλιεργημένα ενδοθηλιακά κύτταρα (7,59)

και ελάχιστες *in vivo* (26,52) φαίνεται πως οι πολυφαινόλες εμποδίζουν τη μείωση των βασικών επιπέδων NO, επιδρώντας βελτιωτικά στο ενδοθήλιο.

Ακόμη θα πρέπει να αναφερθεί πως οι διαφοροποιήσεις που παρατηρήθηκαν στα αποτελέσματα της επίδρασης του κόκκινου κρασιού στο FMD στην έρευνα των Hashimoto et al (26) και στην παρούσα μελέτη ίσως να οφείλεται στο γεγονός πως η μέτρηση του FMD στην παρούσα μελέτη έγινε μέχρι τα 90 min ενώ στην έρευνα των Hashimoto et al έγινε μέτρηση μέχρι τα 120min. Ίσως αν η μέτρηση του FMD γινόταν και στην παρούσα μελέτη στα 120min μετά την κατανάλωση του κόκκινου κρασιού τα αποτελέσματα ήταν διαφορετικά.

Τέλος το γεγονός πως παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις στα αποτελέσματα της επίδρασης του κόκκινου κρασιού στο FMD στην παρούσα μελέτη σε σχέση με την επίδραση του κόκκινου κρασιού στο FMD στην έρευνα των Hashimoto et al ίσως οφείλεται στη διαφορετικότητα του δείγματος. Συγκεκριμένα στην παρούσα έρευνα το δείγμα ήταν άνδρες με διαγνωσμένη στεφανιαία νόσο, σε αντίθεση με το δείγμα των υγιών ανδρών της έρευνας των Hashimoto et al. Αυτή η παράμετρος θα πρέπει να ληφθεί υπόψη, ίσως στους στεφανιαίους ασθενείς να ισχύει διαφορετικός μηχανισμός δράσης των συστατικών του κόκκινου κρασιού και του κόκκινου κρασιού λυοφυλλιωμένου. Ωστόσο θα πρέπει να διεξαχθούν περαιτέρω έρευνες για την επιβεβαίωση αυτού του συμπεράσματος.

Επίσης θα πρέπει να σημειωθεί πως η επίδραση του κόκκινου κρασιού και του κόκκινου κρασιού λυοφυλλιωμένου στις παραμέτρους ολική χοληστερόλη, HDL, LDL, Apo A και Apo B και τριγλυκερίδια ήταν παρόμοια χωρίς να σημειωθούν στατιστικά σημαντικές μεταβολές. Ο λόγος για τον οποίο δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά συμπεράσματα όσον αφορά τα τριγλυκερίδια ίσως είναι ο εξής: Το γεύμα που δόθηκε μαζί με την κατανάλωση του κόκκινου κρασιού και του κόκκινου κρασιού λυοφυλλιωμένου δεν ήταν ιδιαίτερα υψηλό σε λιπαρά (30γραμμ ψωμί του τοστ και 30γραμμ τυρί cottage 4% λιπαρά). Είναι γνωστό πως τα τριγλυκερίδια αυξάνονται σημαντικά μετά από ένα ιδιαίτερα λιπαρό γεύμα (69), οπότε η χαμηλή πρόσληψη λιπαρών μπορεί να είναι ο λόγος που δεν παρατηρήθηκε αύξηση των τριγλυκεριδίων.

Ακόμα δεν θα πρέπει να παραληφθεί να αναφερθεί πως και οι λιποπρωτεΐνες HDL, LDL και οι απολιποπρωτεΐνες Apo A-I και Apo B δεν μεταβάλλονται άμεσα. Σε αυτό το σημείο κρίνεται σκόπιμο να αναφερθεί πως η οξεία επίδραση του κρασιού καθώς και του αλκοόλ στις HDL και Apo A και Apo B σε ανθρώπους και συγκεκριμένα σε στεφανιαίους ασθενείς δεν έχουν πραγματοποιηθεί. Σε μια έρευνα που έγινε σε πιθήκους (70) παρατηρήθηκε πως η κατανάλωση αλκοόλ για μεγάλο χρονικό διάστημα (18 μήνες) αύξησε την HDL και την Apo A-I, ίσως μέσω μείωσης του ρυθμού καταβολισμού τους. Εφόσον όμως οι έρευνες που

έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα με αντικείμενο την επίδραση του κρασιού ή του αλκοόλ στις λιποπρωτεΐνες και απολιποπρωτεΐνες του ανθρώπου είναι ελάχιστες, δεν είναι δυνατή η εκτεταμένη σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας.

Το αποτέλεσμα της στατιστικής ανάλυσης του ινοδογώνου με την χρήση των paired t-tests στα TAUC και IAUC με μονόπλευρο έλεγχο δείχνει πως το κόκκινο κρασί αυξάνει το ινοδογώνο στατιστικά σημαντικά ($p\text{-value}=0,035$). Δυστυχώς μέχρι σήμερα οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί με αντικείμενο την άμεση επίδραση του κρασιού ή του κρασιού χωρίς αλκοόλ στο ινοδογώνο είναι ελάχιστες με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατή η σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας. Οι περισσότερες έρευνες μετρούν την επίδραση του αλκοόλ και του κρασιού στην ινοδύλωση μέσω μέτρησης του παράγοντα πήξης VII, του PAI-1 ή του tPA (73). Παρόλ' αυτά σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες παρατηρείται μια αντίστροφη σχέση της χρόνιας μέτριας κατανάλωσης αλκοόλ και κυρίως κρασιού (1-2 ποτήρια ημερησίως) και καρδιαγγειακών νοσημάτων μέσω αύξησης ινοδύλωσης (72). Με άλλα λόγια φαίνεται πως η πλήρης αποχή από το αλκοόλ καθώς και η υπερβολική κατανάλωση του αλκοόλ (>60γραμμ αιθανόλης την ημέρα) συνδέεται με αύξηση του συστήματος της πήξης (74). Σε άλλη έρευνα (68) το κύριο εύρημα ήταν η αύξηση των επιπέδων του t-PA μετά την κατανάλωση αλκοόλ τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες, γεγονός που επιβεβαιώνει την ινοδωλυτική δράση του αλκοόλ.

Από τις παραπάνω παρατηρήσεις κατανοεί κανείς πως μια ανάλογη έρευνα με μεγαλύτερο δείγμα θα παρουσίαζε μεγάλο ενδιαφέρον, προκειμένου να διαπιστωθεί η άμεση επίδραση τόσο του αλκοόλ όσο και του λυοφιλιωμένου κρασιού στο ινοδογώνο και στο FMD ασθενών με διαγνωσμένη στεφανιαία νόσο. Τα συμπεράσματα που είναι δυνατό να προκύψουν από αυτή είναι βέβαιο πως θα συμβάλλουν κατά πολύ στην αντιμετώπιση της στεφανιαίας νόσου που σήμερα απασχολεί μια μεγάλη πλειοψηφία του σύγχρονου κόσμου

5.2.36

9. Katsouris A, Katsouris TK, Katsouris T, Katsouris TS. *Antioxidant Effects of Red Wine*. *Antioxidants*. 2020;9(12):2203.

10. Peto J, Tezzon F, Lippert H, et al. *Antioxidant Effects of Red Wine*. *Antioxidants*. 2020;9(12):2203.

11. Peto J, Tezzon F, Lippert H, et al. *Antioxidant Effects of Red Wine*. *Antioxidants*. 2020;9(12):2203.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Groff, Advanced nutrition and human metabolism, Third edition
2. Gyton, Φυσιολογία του ανθρώπου, Πέμπτη έκδοση, Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα 1998
3. διατροφή και μεταβολισμός 1 , σημειώσεις Ζαμπέλα, Αθήνα 1998
4. Gerunian K, Pinson J.B, and Weart C.W. The triglyceride connection in atherosclerosis
Ann of Pharmacology, 1992;26:1109-1117
5. McPhee S, Μουτσόπουλος Χ, Παθολογική Φυσιολογία, Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα 2000
- 5^ο) Helmut O, Steinberg, Robert Monestel, Ginger Hook, Cronin J, Johnson A, Elevated Circulating Free Fatty Acid Level Impair Endothelium- Dependent Vasodilation, J Clin Invest 1997 Sept; 100 (5) : 1230-1239
6. Jeffrey M, Hoeg, Lipoproteins and atherogenesis, Endocrinology and Metabolism Clinics of North America, 1998 Sept; 27 (3) : 569-583
7. Katsuya Iijima, Masao Yoshizumi, Masayoshi Hashimoto et al, Red wine polyphenols inhibit proliferation of vascular smooth muscle cells and downregulate expression of Cyclin A gene, Circulation 2000; 101: 805-811
8. Ralph A. Defronzo, Insulin Resistance, Hyperinsulinemia and coronary Artery Disease: A complex Metabolic Web, Journal of Cardiovascular Pharmacology 1992 ;20 (Suppl 11) : S1-S 16
9. Κλεισούρας Β, Φυσιολογία της άσκησης, Τόμος 2^{ος}, Δεύτερη έκδοση, Ιατρικές εκδόσεις Πασχαλίδη, Αθήνα 2001
10. Shun Ishibashi, Lipoprotein (a) and Atherosclerosis, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001;21:1-2
11. WS Weintraub, D.G Harisson , C-Reactive protein, inflammation and atherosclerosis, European Heart Journal 2000;21: 958-960

12. Georg Wick, Georg Schett, Albert Amberger, Roman Kleindienst, Qingbo Xu, Is atherosclerosis an immunologically mediated disease? *Immunology Today* 1995; 16 (1):27-33
13. Th Giapappa, A Zampelas, The effect of antioxidant vitamins on cardiovascular diseases, A Critical Review, *Medicine* 2000; 77 (6) : 519-532
14. Joseph L, Witzum, The oxidation Hypothesis of atherosclerosis, *Free Radicals and Antioxidants* 1994; Sept 344 793-795
15. Uyemura K, Demer L, Steven C, Castley Dennis Julien et al, Cross-regulatory Roles of Interleukin (IL)-12 and IL-10 in Atherosclerosis, *J Clin Invest* 1996; May 9(97): 2130-2138
16. Wick G, Kleindiest R, Schett G, Amberger A, et al Role of heat shock protein 65/65 in the pathogenesis of atherosclerosis, *Int Arch Allergy Immunol* 1995 May-June;107 (1-3):130-1
17. Ameli S, Hultgardh-Nilsson A, Regnstrom J, Calara F, Yano J, Cercek B, Shuh P, Nilson J, Effect of immunization with omologus LDL and oxidazed LDL on early atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits, *Atherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 1996;16:1074-1079
18. Δ. Τριχόπουλος, Β Καλαποθάκη, Ε Πετρίδου, Προληπτική ιατρική και δημόσια υγεία Αθήνα 2000, Εκδόσεις Ζήτα
19. Δ. Τριχόπουλος, Β Καλαποθάκη, Ε Πετρίδου, Προληπτική ιατρική και Δημόσια Υγεία, Αθήνα 2000, Εκδόσεις Ζητα, Αθήνα 2000
20. S Renaud, M De Lorgeril, Wine, alcohol and the French paradox for Coronary heart disease, *The Lancet* 1992 June;339:1523-26
21. Flesch M, Rosenkranz S, Erdmann E, Bohm M, Alcohol and the risk of myocardial infarction, *Basic Res Cardiol* 2001; 96:128-135
22. Alfred A, De Lorimier, Alcohol, Wine and Health, *Am J Surg* 2000; 180: 357-361

23. Salovainen MJ, Y.A. Kesaniemi Effects of alcohol on lipoproteins in relation to coronary heart disease, *Curr Opin Lipidol* 1995;6:243-50
24. M. Foppa, F Danni Fuchs, Bruce B. Duncan, Alcohol and Atherosclerosis, *Arg Bras Cardiol* 2001; 76 (2), 171-6
25. Mauro Serafini, Giuseppe Maiani, Anna Ferro-Luzzi, Alcohol-Free Red Wine Enhances Plasma Antioxidant Capacity in Humans, *J Nutr* 1998; 128: 1003-1007
26. Masayoshi Hashimoto, Seungbum Kim, Masato Eto, Katsuya Iijima, Junya Ako, Masao Yoshizumi et al, Effect of Acute Intake of Red Wine On Flow- Mediated Vasodilatation of the Brachial Artery, *The American Journal of Cardiology* 2001 Dec; 88: 1457-1460
27. Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM, Wine as a biological fluid: production and the role in disease prevention, *J Clin Lab Anal* 1997;11:287-313
28. Flesch M, Schwarz A, Bohm M, Effects of red and white wine on endothelium-dependent vasorelaxation of rat aorta and human coronary arteries, *Am J Physiol* 1998; 275: H1183-H1190
29. M.G.L.Hertog, D. Kromhout, C Aravanis, H.Blackburn et al, Flavonoid Intake and Long-term Risk of Coronary Heart Disease and Cancer In the Seven Countries Study, *Arch Intern Med* 1995; 155: 381-386
30. Knekt P. Jarvisen R, Reunanen A, et al Flavonoid intake and coronary mortality in Finland : a cohort study *BMJ* 1996 ;312 : 478-481
31. Rimm EB, Katan MB Ascherio A, et al Relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals, *Ann Intern Med* 1996;125:384-389
32. Hertog M, Feskens E, Kromhout D, Antioxidant flavonols and coronary heart disease risk *Lancet* 1997;349-369
33. Δ. Μπόσκου, Χημεία τροφίμων, Εκδόσεις Γαργατάνη, Θεσσαλονίκη 1997

34. Catherine V. De Whalley, Sara M Rankin, J.Robin S.Hoult et al, Flavonoids inhibit the oxidative Modification of low density lipoproteins by macrophages, *Biochemical Pharmacology* 1990; 39(11):1743-1750
35. Laura Bravo, Polyphenols : Chemistry, Dietary Sources, Metabolism and Nutritional Significance, *Nutrition Reviews* 1998 Nov; 56(11): 317-333
36. Ivor E.Dreosti, Antioxidant Polyphenols in Tea, Cocoa, and Wine, *Nutrition* 2000; 16(7/8) : 692-693
37. Ira J.Goldberg, L.Mosca, M.R.Piano, E.A.Fisher, Wine and your Heart, *Circulation* 2001; 103:472-475
38. B.Fuhrman, M.Aviram, Flavonoids protect LDL from oxidation and attenuate atherosclerosis, *Current Opinion in Lipidology* 2001; 12:41-48
39. S. V. Nigdikar, N.R.Williams, B.A. Griffin, A.N.Howard, Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo, *Am J Clin Nutr* 1998;68: 256-65
40. Martijn S, van der Gaag, Arie Van Tol, Leo M. Scheek, Richard W. James, et al, Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity; a diet- controlled, randomised intervention study in middle-aged men, *Atherosclerosis* 1999 Dec; 147 (2) : 405-410
41. Michael H. Criqui, Alcohol and coronary heart disease : consistent relationship and public health implications, *Clinica Chemica Acta* 1996 ;246:51-57
42. E.B.Rimm, P.Williams, K.Fosher, M.Criqui, M. J.Stampfer, Moderate alcohol intake and lower risk of coronary heart disease: meta-analysis of effects on lipids and haemostatic factors, *BMJ* 1999 Dec 1999; 319:1523-1528
43. E.R. De Oliveira e Silva, D.Foster, Monnie McGee Harper, C.E. Seidman, J.D.Smith, Jan L. Breslow et al, Alcohol Consumption Raises HDL Cholesterol Levels By Increasing the Transport Rate of Apolipoproteins A-I and A-II, *Circulation* 2000; 102: 2347-2352

44. M. Nishiwaki, T. Ishikawa, T. Ito, H. Shige, K. Tomiyasu, K. Nakajima et al, Effects of alcohol on lipoprotein lipase, hepatic lipase, cholesteryl ester transfer protein and lecithin: cholesterol acyltransferase in high-density lipoprotein cholesterol elevation, *Atherosclerosis* 1994; 111: 99-109
45. J.M. Gaziano, J.E. Buring, J.L. Breslow, S.Z. Goldhaber, B.R. Rosner, et al, Moderate alcohol intake increased levels of high-density lipoprotein and its subfractions and decreased risk of myocardial infarction, *N. Engl. J. Med* 1993; 329: 1829-34
46. S.C. Renaud, Jean -Claude Ruf, Effects of alcohol on platelet functions, *Clin Chimica Acta* 1996; 246: 77-89
47. J.G. Keevil, Hashim E. Et al, Grape Juice, But Not Orange Juice or Grapefruit Juice Inhibits Human Platelet Aggregation, *J. Nutr.* 2000; 130: 53-56
48. S. D. Wollin, P. J.H. Jones, Alcohol, Red wine and Cardiovascular Disease, *J. Nutr.* 2001; 131: 1401-1404
49. Cecil R, Pace-Asciak, Susan Hahn, E.P. Diamandis, G. Soleas, D.M. Goldberg, The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis : Implications for protection against coronary heart disease, *Clin Chimica Acta* 1995; 235: 207-219
50. L. Fremont, Biological effects of resveratrol, Minireview, *Life Sciences* 2000; 66 (8): 663-673
51. G.J. Soleas, E.P. Diamandis, D.M. Goldberg, Resveratrol : a molecule whose time has come? And gone? *Clinical Biochemistry* 1997; 30(2) : 91-113
52. S. Agewall, S. Wright, R.N. Doughty, G.A. Whalley. M. Duxbury, N. Sharpe, Does a glass of red wine improve endothelial function, *European Heart Disease* 2000; 21: 74-78
53. D.F. Fitzpatrick, S.L. Hirschfield, R.G. Coffey, Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products, *Am J Physiol* 1993; 265: H774-H778

54. J.E.Freedman, J.Loscalzo, M.R.Barnard, C.Alpert, J.F.Keaney, et al, Nitric Oxide Released from Activated Platelets Inhibits Platelet Recruitment, *J Clin Invest* 1997;100(2): 350-356
55. D.Rein, T.G.Paglieroni, D.A.Pearson, T.Wun et al Cocoa and Wine Polyphenols Modulate Platelet Activation and Function, *J.Nutr.*2000;130:2120S- 2126S
56. P.L.Zock, M.B. Katan, Diet, LDL oxidation and coronary artery disease, *Am J Nutr* 1998;68: 759-60
57. Medical News and perspectives, Endothelial Dysfunction plays a dynamic role in coronary artery disease, *JAMA* 1999 Feb; 263(6): 789-788
58. Editorial, Is endothelial function or dysfunction a systemic affair ? *European Heart Journal* 2000;21: 10-11
59. J.E.Freedman, C.Parker III, L.Li, A.Perlman, B.Frei et al , Select Flavonoid And Whole Juice From Purple Grapes Inhibit Platelet Function and Enhance Nitric Oxide Release, *Circulation* 2001;103: 2792-2798
60. U.R.Pendurhti, J.T.Williams, V.M.Rao, Resveratrol, a Polyphenolic compound found in Wine inhibits Tissue factor expression in vascular cells, *Arterioscle Thromb Vasc Biol* 1999;19: 419-426
61. M.E.Ferrero, A.AE.Bertelli, A.Fulgenzi, F.Pellegata, et al, Activity in vitro of resveratrol on granulocyte and monocyte adhesion to endothelium. *Am J Clin Nutr* 1998;68: 128-14
62. L.M.Blanco-Colio, M.Valderrama, L.A. Alvarez-Sala, C.Bustos et al Red wine intake prevents nuclear factor - κ B Activation in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Healthy Volunteers During Postprandial Lipemia, *Circulation* 2000;102 (90): 1020-1032
63. T.Murase, N.Kume, T.Hase, Y.Shibuya, et al Gallates Inhibit Cytokine -Induced Nuclear Translocation of NF- κ B and Expression of Leukocyte Adhesion Molecules in Vascular Endothelial cells.

64. S.Kiechl, J.Willeit, W.Poewe, et al Insulin sensitivity and regular alcohol consumption : large, prospective cross sectional population study (Bruneck study) , BMJ 1996 Octob;313: 1040-1044
65. F. Facchini, Y-D Ida Chen, G.M.Reaven, Light-to-Moderate Alcohol intake is Associated With Enhanced Insulin Sensitivity. Diabetes Care 1994;17(2): 115-119
66. S.Q.Siler, R.A.Neese, M.K.Hellerstein Denovo lipogenesis, lipid kinetics and whole body lipid balances in humans after acute alcohol consumption Am J of Clin Nutr ;70 (5):928
67. P.M.Ridker, D.E.Vaughan, M.J.Stampfer,, R.J.Glynn et al Association of moderate alcohol consumption and plasma concentration of endogenous Tissue- type Plasminogen Activator JAMA 1994 ;272(12) : 929-933
68. A.J.Lee, P.A.Flanagan, A.Rumley, F.G.R.Fowkers et al Relationship Between alcohol intake and tissue plasminogen Activator Antigen and other Haemostatic Factors in the General population, Fbrinolysis 1995;8:49-54
69. Ι. Λεκάκης, Η αρτηριοσκλήρυνση των περιφερικών αρτηριών στη διάγνωση και πρόγνωση της στεφανιαίας νόσου, Καρδιολογικά θέματα 2001,787-792
70. N.K.Andrikopoylos et al. HPLC Analysis of Phenolic Antioxidants, Tocopherols and Triglycerides, JAOCS June 1991, Vol 6 359-364
71. LUC. Djousse, R. Curtis Ellison, et al. Acute effects of a high-fat meal with and without red wine on endothelial function in healthy subjects. Am J. Cardiol 1999;84:660-664
72. Jerome L. Hojnacki et al. Alcohol delays clearance of lipoproteins from the circulation. Metabolism 1992; Vol 41, No 11 (November):1151-1153
73. Kenneth J. Mukamal, Praveen P. Jadhan et al. Alcohol consumption and hemostatic factors. Analysis of the Framingham Offspring Cohort. Circulation 2001;104:1367-1373
74. Louise I. Mennen, Beverley Balkau, et al. Fibrinogen. A possible link between alcohol consumption and cardiovascular disease? Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999;19:887-

ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΗ
 ΟΝΟΜΑ
 ΠΑΤΡΩΝΥΜΟ

Συμπληρώστε τα στοιχεία τα οποία είναι απαραίτητα για την εξέταση:



Αντιγράψτε τα αποτελέσματα της παραδομένης εξέτασης με τη σειρά που είναι στην παρακάτω ερώτηση:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Ερώτη	Απάντη	Ερώτη	Απάντη	Ερώτη	Απάντη

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Ερώτη	Απάντη	Ερώτη	Απάντη	Ερώτη	Απάντη

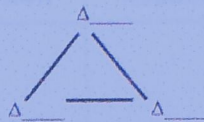
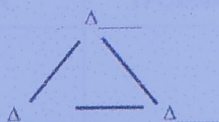
ΔΙΑΓΩΝΙΣΜΟΣ ΓΕΥΣΗΣ

ΠΡΟΤΥΠΟ ΓΥΜΝΑΣΙΟ

ΛΥΚΕΙΟ ΑΡΧΑΓΕΩΡΓΙΟΥ

ΕΠΩΝΥΜΟ
 ΟΝΟΜΑ
 ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ

Σημειώστε με κύκλο τα διαλύματα με παρόμοια γεύση.



Αναφέρατε την προτίμησή σας σημειώνοντας τον αριθμό του δείγματος στη παρακάτω κλίμακα.

1	2	3	4	5	6	7	8	9

Δ _____

χρώμα	άρωμα	γλυκό	ξινό	πικρό

Δ _____

χρώμα	άρωμα	γλυκό	ξινό	πικρό

[illegible]

NTT DEN
616.864

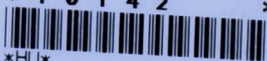
10,42

6168

BIBΛΙΟΘΗΚΗ

Υπ.Βιβ/κης Χαροκοπέλου Παν/μίου.9549169-

*** 1 0 1 4 2 ***



HU

