



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Επίδραση της κατανάλωσης εμπλουτισμένου γιαουρτιού με αναστολείς του PAF, στα επίπεδα των ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) καθώς και στα επίπεδα του ουρικού οξέος σε φαινομενικά υγιείς εθελοντές (πειραματική μελέτη).

Πτυχιακή εργασία

Μπεχράκη Λυδία

Αθήνα, 2017



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Αντωνοπούλου Σμαραγδή (Επιβλέπουσα)

**Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας - Διατροφής, Χαροκόπειο
Πανεπιστήμιο**

Φραγκοπούλου Ελισάβετ

**Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας - Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Νομικός Τζώρτζης

**Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας - Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Ο/Η Μπεχράκη Λυδία

δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.
- 2) Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Ευχαριστίες

Για την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια Σμαραγδή Αντωνοπούλου, που προσέφερε πολύτιμη καθοδήγηση και συμβουλές κατά τη διάρκεια της συγγραφής. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την επίκουρη καθηγήτρια Ελισάβετ Φραγκοπούλου και τον επίκουρο καθηγητή Τζώρτζη Νομικό για τη συμβολή τους ως εξεταστική επιτροπή, καθώς και την υποψήφια διδάκτορα Μαρία Ντετοπούλου που παρείχε απαραίτητη βοήθεια σε κάθε στάδιο των βιοχημικών μετρήσεων. Τέλος οφείλω να ευχαριστήσω την συνάδελφο Ελευθερία Δέδε για την συνεργασία κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας και της στατιστικής ανάλυσης των αποτελεσμάτων.

Περιεχόμενα

Περίληψη	5
Abstract	6
Κατάλογος Συντμήσεων-Ακρωνυμίων	7
Εισαγωγή.....	9
Κεφ. 1: Καρδιαγγειακά Νοσήματα.....	9
1.1 Παράγοντες κινδύνου	9
Πίν. 1: Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων.	10
1.2 Εκτίμηση κινδύνου και στόχοι	10
1.3 Αθηρογένεση.....	12
Κεφ. 2: Οξειδωτικό stress.....	15
2.1 Δραστικές μορφές οξυγόνου.....	16
2.2 Εμπλοκή σε παθολογικές καταστάσεις.....	19
2.3 Παρεμβάσεις	22
2.4 Δείκτες	26
Κεφ. 3: Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων.....	27
3.1 Μεταβολισμός.....	28
3.2 Εμπλοκή σε αθηρογένεση	30
3.3 Αναστολείς	34
3.4 Παρεμβάσεις	35
3.5 Δείκτες	36
Σκοπός.....	38
Μεθοδολογία	38
Πρωτόκολλο εθελοντών.....	38
Μεθοδολογία βιοχημικών μετρήσεων	41
Μέθοδος TBARS	41
Μέθοδος ουρικού οξέος	42
Στατιστική ανάλυση	42
Αποτελέσματα	43
Συζήτηση	47
Συμπεράσματα	48
Βιβλιογραφία	49
Παράρτημα.....	53
Κατάλογος Εικόνων	53
Κατάλογος Πινάκων	53
Κατάλογος Σχημάτων	53

Περίληψη

Σκοπός: Εξετάστηκε η επίδραση της κατανάλωσης γιαουρτιού εμπλουτισμένου με αναστολείς του PAF στα επίπεδα δεικτών οξειδωτικού stress, συγκεκριμένα των ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) και του ουρικού οξέος, σε φαινομενικά υγιείς εθελοντές. Οι αναστολείς αυτοί απομονώθηκαν από τα παραπροϊόντα ελαιουργίας και αποτελούν βιολογικά δραστικά λιποειδή (Β.Δ.Λ.).

Μεθοδολογία: Οι εθελοντές (N=92) εντάχθηκαν σε 3 ομάδες, την ομάδα ελέγχου (N=30, κατανάλωνε το πολύ 1 κοινό γιαούρτι ανά 2 εβδομάδες), την ομάδα που κατανάλωνε 1 κοινό γιαούρτι την ημέρα (N=31), και την ομάδα που κατανάλωνε ένα εμπλουτισμένο γιαούρτι την ημέρα (N=31). Η παρέμβαση διήρκεσε 8 εβδομάδες και έγιναν αιμοληψίες σε τρεις χρόνους: στην αρχή, στη μέση και στο τέλος της (0, 4 και 8 εβδομάδες). Οι βιοχημικές μετρήσεις των δεικτών έγιναν σε ορό που διατηρούνταν σε κατάψυξη, και ακολούθησε στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων ως προς τον χρόνο αλλά και την διαφοροποίηση μεταξύ των τριών ομάδων παρέμβασης.

Αποτελέσματα: Οι αλλαγές στα επίπεδα των TBARS και του ουρικού οξέος κατά τη διάρκεια της παρέμβασης αποδείχθηκαν μη στατιστικά σημαντικές ($p>0,05$). Αντίστοιχα δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων, εκτός από τα επίπεδα των TBARS στην ομάδα ελέγχου που όμως μετά από διερεύνηση φάνηκε πως ήταν χαμηλότερα εξ αρχής και δεν αποτελούσαν σημαντικό εύρημα για τη μελέτη.

Συμπέρασμα: Συνολικά δεν φάνηκε να υπήρχε επίδραση του εμπλουτισμένου γιαουρτιού με αναστολείς του PAF στους δείκτες οξειδωτικού stress κατά τη συγκεκριμένη παρέμβαση.

Λέξεις κλειδιά: Οξειδωτικό stress, αναστολείς PAF, γιαούρτι, παρέμβαση

Abstract

Aim: Evaluating the effects of the consumption of yoghurt which was enriched with PAF inhibitors on two oxidative stress markers, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and uric acid, in seemingly healthy volunteers. These PAF inhibitors are known as biologically active lipids and were extracted from olive pomace produced during the production of olive oil.

Method: The volunteers (N=92) were separated randomly into 3 groups, the control group (N=30, which consumed up to 1 plain yoghurt in 2 weeks), a group which consumed 1 plain yoghurt per day (N=31), and a group which consumed 1 enriched yoghurt per day (N=31). The duration of the trial was 8 weeks and blood samples were collected 3 times, at the start, the middle and the end of the trial (0, 4 and 8 weeks). The biochemical procedures used blood serum which was stored frozen, and afterwards the results were analyzed to evaluate changes during the trial and between the different groups.

Results: Any fluctuations in the levels of TBARS and uric acid during the trial were not significant, and similarly there was no significant difference ($p>0,05$) between the groups. The only exception was the levels of TBARS in the control group, but after further analysis it was clear they were lower from the start and therefore have no bearing on the trial.

Conclusion: On the whole the consumption of enriched yoghurt with PAF inhibitors had no effect on oxidative stress markers in this trial.

Keywords: Oxidative stress, PAF inhibitors, yoghurt, trial

Κατάλογος Συντμήσεων-Ακρωνυμίων

4-HNE	4-υδροξυεπενάλη
5-HETE	5-υδροξυ-εικοσατετραενοϊκό οξύ
8oxodG	7,8-διυδρο-8-υδροξυ-2'-δεοξυγουανοσίνη
8oxoG	7,8-διυδρο-8-υδροξυ-γουανοσίνη
AA	Αραχιδονικό Οξύ
ADP	Διφωσφορική αδενοσίνη
AGEs	Τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης
apoB	Απολιποπρωτεΐνη Β
BMI/ΔΜΣ	Body Mass Index, Δείκτης Μάζας Σώματος
BSA	Αλβουμίνη βοείου ορού
CDP-χολίνη	Κυτιδίνη διφωσφοχολίνη
cPLA2	Κυτοσολική φωσφολιπάση A2
DTT	Διθειοθρεϊτόλη
EC₅₀	Αντίστοιχη συγκέντρωση για 50% συσσώρευση
EGF	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας
GPx	Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης
GSH	Γλουταθειόνη
HbA1c	Γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη
HDL	High-density lipoprotein, λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας
IC₅₀	Ανασταλτική συγκέντρωση που προκαλεί 50% αναστολή
IL	Ιντερλευκίνη
LCAT	Λεκιθίνη:χοληστερόλη ακυλοτρανσφεράση
LDL	Low-density lipoprotein, λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας
lysoPAF-AT	Λυσο-PAF ακετυλοτρανσφεράση
lyso-PC	Λυσο-φωσφατιδυλοχολίνη
MCP-1	Χημειοτακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων
MDA	Μηλονυλο-διαλδεΰδη
NADH/ NAD⁺	Νικοτιναμίδο-αδενινο- δινουκλεοτίδιο
NADPH/ NADP⁺	Νικοτιναμίδο-αδενινο-φωσφορικό δινουκλεοτίδιο

NF-κB	Μεταγραφικός παράγοντας κΒ
Nox	Οξειδάσες του NADPH
OOP	Εκχύλισμα πολικών λιπιδίων από παρθένο ελαιόλαδο
OxLDL	Οξειδωμένη LDL
PAF	Platelet Activating Factor, Παράγοντας Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων
PAF-AH	Ακετυλοϋδρολάση εξειδικευμένη για τον PAF
PAF-R	Υποδοχέας PAF
PC	Φωσφατιδυλοχολίνη
PKC	Πρωτεϊνική κινάση C
POD	Υπεροξειδάση
PON-1	Εστεράση παραοξονάση-1
PPL	Εκχύλισμα πολικών λιπιδίων από πυρηνέλαιο
PRP	Πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια
PSGL-1	Γλυκοπρωτεΐνη συνδέτης για την P-σελεκτίνη
PUFAs	Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα
ROS	Reactive oxygen species, Δραστικές μορφές οξυγόνου
SCORE	Systematic Coronary Risk Estimation
SDG	Διγλυκοζίτης της σεκοΐσολαρισιρεζινόλης
SOD	Υπεροξειδική δυσμουτάση
TBARS	Ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ
TCA	Τριχλωροξικό οξύ
TMP	Τετρα-μεθοξυ-προπάνιο
TNF-α	Παράγοντας νέκρωσης όγκων-α
UA	Ουρικό οξύ
UV	Υπεριώδης
ακετυλο-CoA	Ακετυλο-συνένζυμο A
Β.Δ.Λ.	βιολογικά δραστικά λιποειδή
ΜΔ	Μεσογειακή Δίαιτα
ΣΔ	Σακχαρώδης Διαβήτης

Εισαγωγή

Κεφ. 1: Καρδιαγγειακά Νοσήματα

Το καρδιαγγειακό σύστημα αποτελεί ζωτικό σύστημα του οργανισμού, και έχει ως βασικό στόχο την μεταφορά αερίων και θρεπτικών ουσιών με ταυτόχρονη απομάκρυνση ανεπιθύμητων ουσιών μέσω της κυκλοφορίας του αίματος. Κατά συνέπεια η εύρυθμη λειτουργία της καρδιάς και των αγγείων σχετίζεται άμεσα με την υγεία του οργανισμού. Ακόμα και σήμερα οι παθήσεις που επηρεάζουν το καρδιαγγειακό σύστημα αποτελούν μια από τις κύριες αιτίες νοσηρότητας στο Δυτικό κόσμο και την κύρια αιτία θνητότητας παγκοσμίως, παρά την πληθώρα δράσεων με στόχο την πρόληψη και αντιμετώπισή τους. (WHO, 2011)

Υπάρχουν πολλές διαφορετικές παθήσεις που επηρεάζουν την καρδιά, τα αγγεία του εγκεφάλου και τις αρτηρίες, με ποικίλες αιτιολογίες. Μια σημαντική ομάδα αυτών των παθήσεων που περιλαμβάνει την ισχαιμική νόσο της καρδιάς (στεφανιαία νόσος), το ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο και την περιφερική αρτηριοπάθεια αποδίδονται στην αθηροσκλήρωση, μια πολυπαραγοντική εκφυλιστική νόσο, η οποία μπορεί να κλιμακωθεί και να οδηγήσει στις παραπάνω επικίνδυνες καταστάσεις. (Mendis, Puska, & Norrving, 2011)

1.1 Παράγοντες κινδύνου

Η πιθανότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών προβλημάτων λόγω αθηροσκλήρωσης εξαρτάται από ορισμένους αμετάβλητους παράγοντες, και άλλους που αφορούν τον τρόπο ζωής του ατόμου και άρα είναι τροποποιήσιμοι.

Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν η ηλικία, το φύλο και οι γενετικοί-κληρονομικοί παράγοντες. Τα καρδιαγγειακά νοσήματα προσβάλλουν κατά κύριο λόγο άτομα μεγάλης ηλικίας, και η επίπτωση αυξάνεται σημαντικά μετά την ηλικία των 60 ετών. Επίσης σε πιο νέα ηλικία συχνότερα νοσούν οι άνδρες, όμως οι πιθανότητες εξισώνονται ανάμεσα στα δύο φύλα σε μεγαλύτερη ηλικία. (Mendis et al., 2011)

Ως τροποποιήσιμοι παράγοντες βασικό ρόλο παίζουν το κάπνισμα, οι ανθυγιεινές διατροφικές συνήθειες, τα χαμηλά επίπεδα φυσικής δραστηριότητας και η κατανάλωση αλκοόλ. Οι καπνιστές βρίσκονται σε σημαντικά αυξημένο κίνδυνο, ενώ ακόμα και η εισπνοή καπνού από μη καπνιστές είναι επιβλαβής. Η έγκαιρη διακοπή του καπνίσματος όμως μπορεί να μειώσει σε σημαντικό βαθμό τον κίνδυνο. (Mattias Öberg, 2010) Ο παράγοντας της φυσικής δραστηριότητας έχει επίσης ξεκάθαρη επίδραση στην υγεία του καρδιαγγειακού συστήματος,

καθώς ένας άνθρωπος που υιοθετεί καθιστικό τρόπο ζωής έχει έως και 30% αυξημένο κίνδυνο νόσου. (WHO & FAO, 2003) Πιο περίπλοκη είναι η σχέση του αλκοόλ με τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Φαίνεται πως η συστηματική κατανάλωση σε ποσότητες άνω του φυσιολογικού αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου, όμως σε μικρές ποσότητες μπορεί να έχει προστατευτική δράση. (Rehm et al., 2010) Τέλος το ανθυγιεινό διατροφικό πρότυπο που οδηγεί σε αυξημένη πιθανότητα παθήσεων του καρδιαγγειακού περιλαμβάνει υψηλή κατανάλωση αλατιού, κορεσμένων και trans λιπαρών, και χαμηλή κατανάλωση φρούτων, λαχανικών και ψαριών. (WHO & FAO, 2003)

Συχνά αναφέρονται ως ξεχωριστή υποκατηγορία ορισμένοι μεταβολικοί παράγοντες κινδύνου, οι οποίοι σχετίζονται ή απορρέουν από τις συνήθειες που αναφέρθηκαν. Πιο συγκεκριμένα η υπέρταση, η παχυσαρκία, ο σακχαρώδης διαβήτης και η υπερλιπιδαιμία είναι καταστάσεις άμεσα συνδεδεμένες με τη διατροφή και τη φυσική δραστηριότητα αλλά και αλληλένδετες μεταξύ τους (συννοσηρότητα), η ύπαρξη των οποίων αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων. (Mendis et al., 2011)

Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες	Τροποποιήσιμοι παράγοντες
Ηλικία	Κάπνισμα
Φύλο	Αλκοόλ
Γενετικό υπόβαθρο	Διατροφικές συνήθειες
	Φυσική δραστηριότητα
	Μεταβολικοί παράγοντες
	Υπέρταση
	Υπερλιπιδαιμία
	Σακχαρώδης διαβήτης
	Παχυσαρκία

Πίν. 1: Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων.

1.2 Εκτίμηση κινδύνου και στόχοι

Υπάρχουν πολλά διαφορετικά συστήματα αξιολόγησης του κινδύνου σε φαινομενικά υγιή άτομα, όμως το προτεινόμενο και ευρύτερα χρησιμοποιούμενο είναι το σύστημα SCORE (Systematic Coronary Risk Estimation) που βασίζεται σε εκτενή Ευρωπαϊκή βάση δεδομένων. Το σύστημα αυτό εξετάζει τους παράγοντες κινδύνου της ηλικίας, του φύλου, του

καπνίσματος, της συστολικής αρτηριακής πίεσης και της ολικής χοληστερόλης. Βάσει αυτών προκύπτει ένα αριθμητικό αποτέλεσμα που βοηθάει στην κατάταξη των ατόμων ως χαμηλού-μέτριου κινδύνου (SCORE <5%), υψηλού κινδύνου (SCORE ≥5% και <10%) και πολύ υψηλού κινδύνου (SCORE ≥10%).

Τα άτομα σε χαμηλό-μέτριο κίνδυνο δεν χρειάζονται σημαντική παρέμβαση πέραν συμβουλών για τις συνήθειές τους ώστε να διατηρήσουν την χαμηλή πιθανότητα εμφάνισης νόσου. Τα άτομα σε υψηλό κίνδυνο χρειάζονται συμβουλές για τις απαραίτητες αλλαγές στον τρόπο ζωής τους, και ενδέχεται να δοθεί συμπληρωματική φαρμακευτική αγωγή. Τέλος τα άτομα σε πολύ υψηλό κίνδυνο χρειάζονται συχνά φαρμακευτική αγωγή σε συνδυασμό με τις υπόλοιπες τροποποιήσεις. (Piepoli et al., 2016)

Όπως φαίνεται από το πλήθος τροποποιήσιμων παραγόντων κινδύνου, η πρόληψη είναι ιδιαίτερα σημαντική στον τομέα των καρδιαγγειακών παθήσεων. Κατά συνέπεια υπήρξε η ανάγκη καθιέρωσης ενός προτύπου στο οποίο πρέπει να στοχεύει ο πληθυσμός για να επιτύχει όσο το δυνατόν πιο περιορισμένο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακών παθήσεων.

Κάπνισμα	Αποφυγή καπνίσματος καθώς και έκθεση σε καπνό.
Διατροφή	Χαμηλή σε κορεσμένα λιπαρά. Έμφαση σε προϊόντα ολικής άλεσης, φρούτα, λαχανικά και ψάρια.
Φυσική Δραστηριότητα	Τουλάχιστον 150 λεπτά την εβδομάδα αερόβιας άσκησης μέτριας έντασης (30 λεπτά 5 ημέρες την εβδομάδα) ή 75 λεπτά την εβδομάδα έντονης αερόβιας άσκησης (15 λεπτά 5 ημέρες την εβδομάδα) ή κάποιος αντίστοιχος συνδυασμός αυτών.
Σωματικό Βάρος	BMI 20-25 kg/m ² . Περιφέρεια μέσης <94cm για τους άνδρες και <80cm για τις γυναίκες.
Αρτηριακή Πίεση	<140/90 mmHg. Ο στόχος αυτός μπορεί να διαφοροποιηθεί σε ορισμένες περιπτώσεις, π.χ. για ηλικιωμένα άτομα μπορεί να τεθεί υψηλότερος στόχος, και

	χαμηλότερος για άτομα με ΣΔ.
Διαβήτης	HbA1c<7% (<53 mmol/mol).
Λιπίδια	
LDL (κύριος στόχος)	Πολύ υψηλός κίνδυνος: <1,8 mmol/L (<70 mg/dL), ή μείωση τουλάχιστον 50% αν η αρχική τιμή είναι μεταξύ 1,8 και 3,5 mmol/L (70 και 135 mg/dL) Υψηλός κίνδυνος: <2,6 mmol/L (<100 mg/dL), ή μείωση τουλάχιστον 50% αν η αρχική τιμή είναι μεταξύ 2,6 και 5,1 mmol/L (100 και 200 mg/dL) Χαμηλός-μέτριος κίνδυνος: <3 mmol/L (<115 mg/dL).
HDL	Δεν τίθεται ως στόχος αλλά >1 mmol/L (>40 mg/dL) στους άνδρες και >1,2 mmol/L (>45 mg/dL) στις γυναίκες υποδηλώνει χαμηλότερο κίνδυνο.
Τριγλυκερίδια	Δεν τίθεται ως στόχος αλλά <1,7 mmol/L (<150 mg/dL) υποδηλώνει χαμηλότερο κίνδυνο, ενώ σε υψηλότερα επίπεδα καλό είναι να εξεταστεί η πιθανή παρουσία άλλων παραγόντων κινδύνου.

Πίν. 2: Στόχοι προς περιορισμό του κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακών παθήσεων. (Piepoli et al., 2016)

1.3 Αθηρογένεση

Η αθηροσκλήρωση είναι χρόνια πάθηση που χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση λιπιδίων και κυττάρων ιστού στα τοιχώματα των αρτηριών, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό αθηρωματικών πλακών. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται αθηρογένεση. (Lusis, 2000) Ο ακριβής μηχανισμός αθηρογένεσης είναι περίπλοκος εφόσον εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, οπότε συνεχίζει να βρίσκεται υπό διερεύνηση, όμως θεωρείται ευρέως αποδεκτό ότι η κατάσταση του ενδοθηλίου αποτελεί το σημείο έναρξης της διαδικασίας. Είναι πιθανό να παρουσιαστεί δυσλειτουργία ή βλάβη λόγω των προαναφερθέντων παραγόντων κινδύνου (Damjanov, 2009),

ενώ ορισμένα τμήματα είναι περισσότερο επιρρεπή στην αθηρογένεση λόγω της μορφής και διάταξης των κυττάρων. (Tabas, Garcia-Cardena, & Owens, 2015)

Οι βασικές θεωρίες που εξηγούν την πορεία και κλιμάκωση της αθηρογένεσης συμπληρώνοντας ή μια την άλλη εστιάζουν στην τοπική φλεγμονή, την οξείδωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL), και την κατακράτηση. (Αντωνοπούλου & Δημόπουλος, 2007)

Τα λιπίδια διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη δημιουργία αθηρωματικών πλακών. Στα ευάλωτα σημεία του ενδοθηλίου τα κύτταρα χάνουν την στεγανότητά τους και γίνονται διαπερατά από λιπίδια που βρίσκονταν στην κυκλοφορία του αίματος με τη μορφή LDL, τα οποία εναποτίθενται στον έσω χιτώνα. (Hart, Loeffler, & Kent, 2012) Αυτό οφείλεται στην απολιποπρωτεΐνη Β (apoB) που αποτελεί συστατικό τμήμα της LDL, και αλληλεπιδρά με πρωτεογλυκάνες του έσω ενδοθηλίου δημιουργώντας δεσμούς. Αποτέλεσμα είναι η κατακράτηση της LDL αλλά και άλλων λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB (θεωρία της Κατακράτησης). Η συσσώρευση αυτή εντείνεται όταν τα επίπεδα της LDL στην κυκλοφορία του αίματος είναι αυξημένα όπως σε περιπτώσεις υπερλιπιδαιμίας, αν και αυτό δεν είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την αθηρογένεση. (Lusis, 2000)

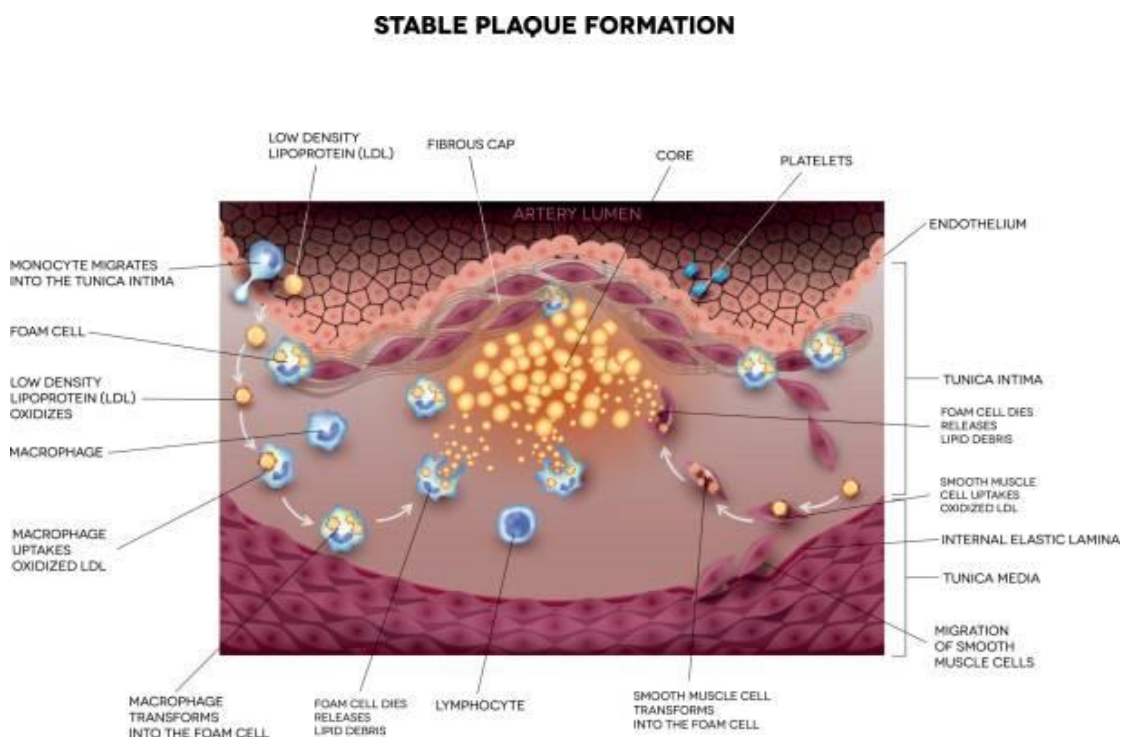
Στη συνέχεια επειδή τα μόρια LDL βρίσκονται παγιδευμένα στον εσωτερικό χιτώνα του ενδοθηλίου εκτίθενται στο οξειδωτικό stress και υφίστανται τροποποιήσεις με τις οποίες προκύπτει οξειδωμένη LDL (θεωρία της Οξείδωσης). Κατά συνέπεια παράγονται ελεύθερες ρίζες που εμποδίζουν την φυσιολογική λειτουργία του ενδοθηλίου και επιτείνουν το πρόβλημα. (Hart et al., 2012; Tabas et al., 2015) Το οξειδωτικό stress και οι μηχανισμοί με τους οποίους εμπλέκεται στην αθηρογένεση θα αναλυθούν περεταίρω στο αντίστοιχο κεφάλαιο.

Λόγω των συσσωρευμένων λιποπρωτεϊνών στο ενδοθήλιο και με τη συμβολή της οξειδωμένης LDL ξεκινάει φλεγμονώδης απόκριση, κατά την οποία τα κύτταρα του ενδοθηλίου στην προσβεβλημένη περιοχή εμφανίζουν στην επιφάνειά τους μόρια πρόσδεσης λευκοκυττάρων. Στη συνέχεια εκκρίνονται χημειοκίνες οι οποίες αλληλεπιδρούν με τους υποδοχείς χημειοκίνων στα μονοκύτταρα που έχουν δεσμευθεί, και τα καθοδηγούν στο έσω ενδοθήλιο. (Mannarino & Pirro, 2008; Usman, Ribatti, Sadat, & Gillard, 2015) Εκεί τα μονοκύτταρα διαφοροποιούνται σε μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα. Στη συνέχεια, με διαδικασία που δεν είναι απόλυτα ξεκάθαρη, τα μακροφάγα ενεργοποιούνται και εκφράζουν υποδοχείς που δεσμεύουν τις apoB-λιποπρωτεΐνες και ακολουθεί φαγοκυττάρωση, οδηγώντας στη

μετατροπή των μακροφάγων σε αφρώδη κύτταρα. Αυτά με τη σειρά τους εκκρίνουν ουσίες όπως κυτταροκίνες, πρωτεάσες και αυξητικούς παράγοντες, οι οποίες προσελκύουν επιπλέον μακροφάγα καθώς και αρτηριακά λεία μυϊκά κύτταρα.

Παράλληλα Τ-λεμφοκύτταρα διεισδύουν στην περιοχή και αναγνωρίζουν αντιγόνα που τους παρουσιάζονται από τα μακροφάγα με τη μορφή εναπομεινάντων τεμαχίων από τις λιποπρωτεΐνες που έχουν υποστεί φαγοκυττάρωση. Έτσι τα Τ-λεμφοκύτταρα διαφοροποιούνται κυρίως σε Τ βοηθητικά κύτταρα και ξεκινούν την παραγωγή ιντερφερόνης και άλλων κυτταροκινών οι οποίες παρατείνουν τη φλεγμονή δημιουργώντας ένα φαύλο κύκλο. (Moore & Tabas, 2011)

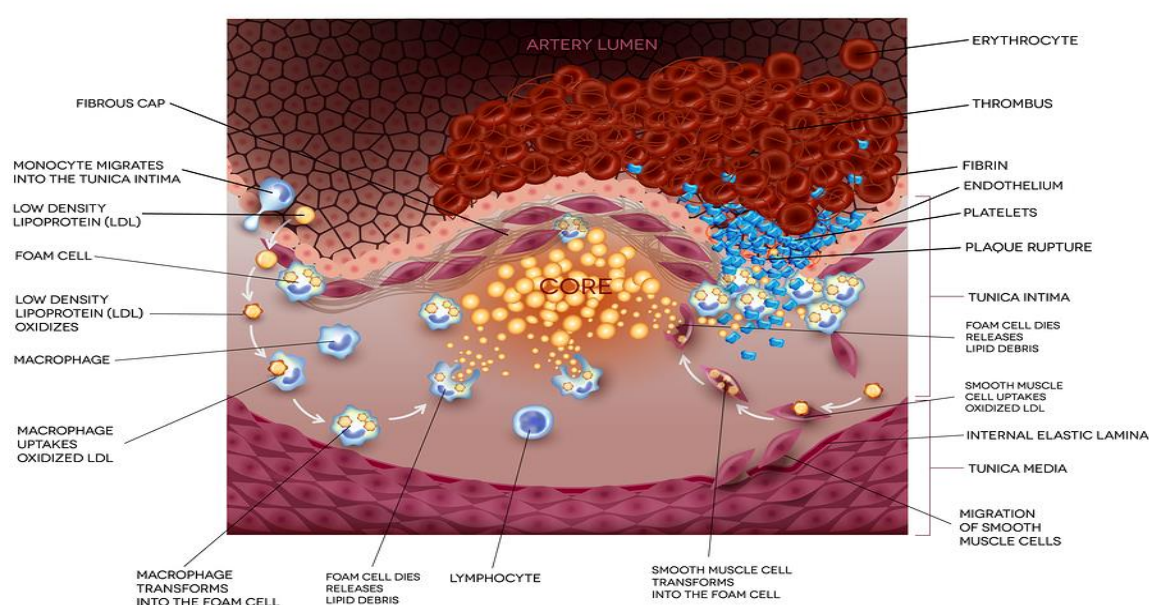
Τα λεία μυϊκά κύτταρα που προαναφέρθηκαν καταλήγουν στον έσω χιτώνα του ενδοθηλίου όπου και πολλαπλασιάζονται, δημιουργώντας σταδιακά ένα ινώδες κάλυμμα. Στο εσωτερικό αυτού τα μακροφάγα συγκροτούν τον πυρήνα, όπου όμως πεθαίνουν και συσσωρεύονται. Έτσι οι αθηρωματικές πλάκες διογκώνονται σταδιακά. Όσο το ινώδες κάλυμμα είναι συμπαγές και ακέραιο δημιουργούνται πλάκες σκληρής υφής (σταθερές πλάκες), που οδηγούν σε στένωση. (Hart et al., 2012; Usman et al., 2015)



Εικ. 1: Σταθερές αθηρωματικές πλάκες.

Όμως υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι τα μακροφάγα προκαλούν την απόπτωση λείων μυϊκών κυττάρων, ή και τη μείωση σύνθεσης κολλαγόνου το οποίο είναι απαραίτητο για τον πολλαπλασιασμό τους. (Tabas et al., 2015) Έτσι καθώς η φλεγμονώδης απόκριση εντείνεται το ινώδες κάλυμμα διαβρώνεται, οπότε η πλάκα λέγεται μαλακής υφής (ασταθής) και υπάρχει πιθανότητα να ραγεί προκαλώντας τη δημιουργία θρόμβου. Η περίπτωση αυτή χαρακτηρίζεται από υψηλό κίνδυνο καθώς η πλήρης απόφραξη αρτηρίας μπορεί να οδηγήσει σε έμφραγμα του μυοκαρδίου και ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο. (Usman et al., 2015)

UNSTABLE PLAQUE FORMATION



Εικ. 2: Ασταθείς αθηρωματικές πλάκες.

Στις διαδικασίες θρόμβωσης σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν τα αιμοπετάλια. Τα τελευταία χρόνια έχει διατυπωθεί μια θεωρία σύμφωνα με την οποία ο Παράγοντας Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF) συνδέει τις παραπάνω θεωρίες αθηρογένεσης, αποσαφηνίζοντας τα τμήματα της διαδικασίας που δεν ήταν ξεκάθαρα. (Αντωνοπούλου & Δημόπουλος, 2007) Η θεωρία αυτή θα αναλυθεί στο αντίστοιχο ξεχωριστό κεφάλαιο.

Κεφ. 2: Οξειδωτικό stress

Ο όρος οξειδωτικό stress περιγράφει καταστάσεις κατά τις οποίες μια διαταραχή στην ισορροπία των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και των αντιοξειδωτικών προκαλεί επιπτώσεις στην εσωτερική φυσιολογία του κυττάρου. Το αποτέλεσμα εξαρτάται από τη

συγκέντρωση των ROS και τα μόρια που στοχεύουν. (Cervantes Gracia, Llanas-Cornejo, & Husi, 2017)

Υπό φυσιολογικές συνθήκες οι δραστικές μορφές οξυγόνου λειτουργούν ως μόρια σηματοδότες μέσω οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων, οπότε διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε πλήθος φυσιολογικών διαδικασιών προστασίας και προσαρμογής του οργανισμού, συμπεριλαμβανομένης της καρδιακής λειτουργίας. Η συγκέντρωσή τους διακυμαίνεται ελεγχόμενα και ρυθμίζεται μέσω αντιοξειδωτικών και άλλων ενζύμων. Όμως όταν αυτή η ομοιόσταση διαταράσσεται εμφανίζεται το οξειδωτικό stress. (Burgoyne, Mongue-Din, Eaton, & Shah, 2012; Cervantes Gracia et al., 2017)

2.1 Δραστικές μορφές οξυγόνου

Οι ROS προκύπτουν στον οργανισμό ως παραπροϊόντα της κυτταρικής αναπνοής και μεταβολισμού, αλλά και από συγκεκριμένα ένζυμα που σχετίζονται με την οξειδοαναγωγική σηματοδότηση. (Burgoyne et al., 2012) Οι πιο σημαντικοί από αυτούς τους μηχανισμούς θα αναλυθούν παρακάτω.

ROS	Είδος
$\cdot O_2^-$, ανιόν υπεροξειδίου	Ελεύθερη ρίζα και ανιόν
H_2O_2 , υπεροξείδιο του υδρογόνου	Ένωση
$\cdot OH$, ρίζα υδροξυλίου	Ελεύθερη ρίζα
$ROOH$, οργανικό υπεροξείδιο	Ένωση
$RO\cdot$ και $ROO\cdot$, αλκοξυ- και υπεροξυ- ρίζες	Ελεύθερες ρίζες
$HOCl$, υποχλωριώδες οξύ	Ένωση
NO , μονοξείδιο του αζώτου	Ελεύθερη ρίζα
$ONOO^-$, υπεροξυνιτρώδες ανιόν	Ανιόν

Πίν. 3: Δραστικές μορφές οξυγόνου.

Μιτοχονδριακή αναπνευστική αλυσίδα:

Τα μιτοχόνδρια θεωρούνται έως και σήμερα η κύρια πηγή ROS στα περισσότερα είδη κυττάρων, και ιδιαίτερα σε αυτά της καρδιάς. (Cervantes Gracia et al., 2017) Το μεγαλύτερο μέρος των μορίων αυτών προκύπτουν μέσω ελεύθερων ηλεκτρονίων από την αναπνευστική αλυσίδα, κυρίως από το συνένζυμο Q στο μοριακό οξυγόνο. Αυτή η διαδικασία οδηγεί στην

παραγωγή ανιόντων υπεροξειδίου (O_2^-). (Lushchak, 2014) Στη συνέχεια μετατρέπεται, με τη δράση του ενζύμου υπεροξειδική δυσμουτάση (SOD), σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Έπειτα αυτό αντιδρά με ενδοκυττάριο σίδηρο (Fe^{2+}) προς δημιουργία των περισσότερο οξειδωτικών ριζών υδροξυλίου (OH). (Kagana et al., 2015) Ο αριθμός των ηλεκτρονίων που διαφεύγουν από την αναπνευστική αλυσίδα δεν είναι σταθερός, και για να ρυθμίζεται εντός του κυττάρου η ποσότητα ROS είναι απαραίτητη η δράση αντιοξειδωτικών συστημάτων. (Lushchak, 2014)

Οι ROS που προέρχονται από τα μιτοχόνδρια σχετίζονται στενά με δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. Στα κύτταρα του ιστού αυτού το μονοξείδιο του αζώτου (NO) είναι απαραίτητο για τη διατήρηση της φυσιολογικής λειτουργικότητας, όμως η συγκέντρωσή του μειώνεται παρουσία O_2^- λόγω της αντίδρασης μεταξύ τους. Αποτέλεσμα είναι η παραγωγή μιας ισχυρά δραστικής ένωσης, το υπεροξυνιτρώδες ανιόν ($ONOO^-$), το οποίο είναι δυνατό να προκαλέσει ανεπανόρθωτη βλάβη στα κύτταρα. Ο ενδοθηλιακός συμπαράγοντας της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου οξειδώνεται από το $ONOO^-$, και οδηγεί στην αποσύνδεση του ενζύμου. Κατά συνέπεια αντί να παράγεται NO αυξάνεται η συγκέντρωση O_2^- , δημιουργώντας έναν επιβλαβή για το κύτταρο φαύλο κύκλο. (Cervantes Gracia et al., 2017)

NADPH οξειδάσες:

Τα ένζυμα της οικογενείας των οξειδασών του NADPH (Nox) συμβάλλουν επίσης σημαντικά στην παραγωγή ROS με τη μεταφορά ηλεκτρονίων από μόρια NADPH σε τμήματα των μορίων φλαβινών και αίμης, και στη συνέχεια στο μοριακό οξυγόνο. (Burgoyne et al., 2012) Έχουν αναγνωριστεί 7 ένζυμα στην οικογένεια Nox, τα Nox1-5 και Duo1-2, από τα οποία τα Nox2 και Nox4 είναι οι βασικές μορφές στο μυοκάρδιο, ενώ τα Nox1, Nox4 και Nox5 δρουν στα λεία μυϊκά κύτταρα των αρτηριών. Κατά κανόνα τα ένζυμα Nox οδηγούν στην παραγωγή O_2^- , εξαίρεση όμως αποτελεί το Nox4 το οποίο δημιουργεί ως επί το πλείστον H_2O_2 (Cervantes Gracia et al., 2017).

Οι οξειδάσες του NADPH διαφοροποιείται από τους περισσότερους άλλους μηχανισμούς παραγωγής ROS που αναφέρονται, λόγω του ότι η παραγωγή ROS αποτελεί τη βασική λειτουργία της, και όχι απλώς παραπροϊόντα άλλων διαδικασιών. Οι ROS που προέρχονται από τις οξειδάσες του NADPH διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση φαγοκυττάρων (ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, μακροφάγα), και άρα στους μηχανισμούς προστασίας του οργανισμού από αντιγόνα. Επίσης απαραίτητη είναι η δράση τους στην

οξειδοαναγωγική σηματοδότηση η οποία ρυθμίζει τη διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την επιβίωση κυττάρων. (Burgoyne et al., 2012; Kayama et al., 2015)

Η παραγωγή Nox μπορεί να πυροδοτηθεί από πολλούς παράγοντες κινδύνου, όπως ακτινοβολία UV, κάπνισμα, υπερθερμιδικές δίαιτες, σακχαρώδη διαβήτη, υποξία, αλλά και ενδογενείς παράγοντες όπως προφλεγμονώδη μόρια, αυξητικοί παράγοντες και ορμόνες (αγγειοτενσίνη II, ινσουλίνη). (Cervantes Gracia et al., 2017)

Οξειδάση Ξανθίνης:

Η οξειδάση της ξανθίνης είναι ένα ένζυμο που συναντάται στο κυτταρόπλασμα και καταλύει την οξείδωση των υποστρωμάτων του, την ξανθίνη και την υποξανθίνη, σε ουρικό οξύ. Στην πορεία αυτή το μοριακό οξυγόνο χρησιμοποιείται ως δέκτης ηλεκτρονίου, οπότε προκύπτει O_2^- και H_2O_2 . Οι οξειδάσες της ξανθίνης και υποξανθίνης αντιδρούν αρκετά ισχυρά με το οξυγόνο ώστε να παράγονται μεγάλες ποσότητες των παραπάνω ROS, γεγονός που οδηγεί σε βλάβες του κυττάρου και αποτρέπει τη ρύθμιση των συγκεντρώσεων των ROS με αντιοξειδωτικά. Σε φυσιολογικές καταστάσεις θεωρείται πως η δράση της οξειδάση της ξανθίνης συμβάλλει στην προστασία από παθογόνους μικροοργανισμούς, όμως οι ROS που προκύπτουν συνδέονται με πιθανή δυσλειτουργία του ενδοθηλίου καθώς το O_2^- αντιδρά με NO και προκύπτει υπεροξυνιτρώδες ανιόν ($ONOO^-$), το οποίο προκαλεί κυτταρική βλάβη. (Kayama et al., 2015)

Αντίστοιχη δράση μετατροπής ξανθίνης και υποξανθίνης σε ουρικό οξύ εκτελεί και το ένζυμο αφυδρογονάση της ξανθίνης, το οποίο όμως χρησιμοποιεί το NAD^+ ως δέκτη ηλεκτρονίων. Καταστάσεις όπως υποξία, κυτταρική απόπτωση, φλεγμονή και παραγωγή ROS από άλλες πηγές όπως τα μιτοχόνδρια ή οι Nox μπορούν να πυροδοτήσουν την μετατροπή της αφυδρογονάσης της ξανθίνης σε οξειδάση της ξανθίνης. (Cervantes Gracia et al., 2017)

Λιποξυγονάσες:

Οι λιποξυγονάσες είναι μια οικογένεια ενζύμων που οξειδώνουν ελεύθερα και εστεροποιημένα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και σχηματίζουν τα αντίστοιχα υδροϋπεροξυ-παραγωγά. Από τα πιο ευρέως μελετημένα ένζυμα της ομάδας αυτής θεωρούνται η 12/15-λιποξυγονάση και η 5-λιποξυγονάση (Kayama et al., 2015) Το υπόστρωμά τους είναι το αραχιδονικό οξύ και οι μεταβολίτες που προκύπτουν διαφέρουν ανάλογα με τον άνθρακα στον οποίον δρα το κάθε ένζυμο. Οι λιποξυγονάσες ρυθμίζουν τις επαγωγικές ιδιότητες της

αγγειοτενσίνης II στις Nox των λείων μυϊκών κυττάρων, ενώ η αντίδραση του αραχιδονικού οξέος παράγει ROS στα αρτηριακά κύτταρα.

Συγκεκριμένα η κατάλυση του αραχιδονικού οξέος από την 5-λιποξυγονάση οδηγεί στο μόριο 5-HETE και ένα λευκοτριένιο. Το λευκοτριένιο κατόπιν μεταβολισμού από διάφορα άλλα ένζυμα παράγει προφλεγμονώδη μόρια που ακολούθως επικοινωνούν και ενεργοποιούν κύτταρα του ενδοθηλίου, μακροφάγα, ουδετερόφιλα, αφρώδη κύτταρα και T-λεμφοκύτταρα. Αντίστοιχα η 12/15-λιποξυγονάση σχετίζεται κι αυτή με φλεγμονή και οξειδωτικό stress, και η δραστηριότητά της χαρακτηρίζεται από οξυγόνωση μορίων LDL. (Cervantes Gracia et al., 2017)

Μυελοϋπεροξυδάση:

Το ένζυμο μυελοϋπεροξυδάση βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα σε ουδετερόφιλα, και σε μικρότερο βαθμό σε μονοκύτταρα. Όταν απελευθερώνεται ελέγχει αντιδράσεις H_2O_2 και αλογονιδίων που καταλήγουν στην παραγωγή ενώσεων όπως το υποχλωδιώδες οξύ (HOCl), αποτέλεσμα το οποίο θεωρείται πως έχει αντιβακτηριακή δράση. Όταν όμως η δραστηριότητα της μυελοϋπεροξυδάσης διαταράσσεται και αυξάνεται, οι συνέπειες είναι επιβλαβείς. Το HOCl αντιδρά κυρίως με άτομα αζώτου και θείου στην κυστεΐνη που υπάρχει στη γλουταθειόνη, και έχει τη δυνατότητα με αυτόν τον τρόπο να ενεργοποιεί ή απενεργοποιεί σημαντικά μόρια, όπως ένζυμα, τροποποιώντας την κυστεΐνη στην ενεργή περιοχή του ενζύμου. (Cervantes Gracia et al., 2017)

2.2 Εμπλοκή σε παθολογικές καταστάσεις

Ανά τα χρόνια έχουν προκύψει δεδομένα που συνδέουν το οξειδωτικό stress με πλήθος παθολογικών καταστάσεων, οι σημαντικότερες εκ των οποίων είναι οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο Σακχαρώδης Διαβήτης, ο καρκίνος, και οι εκφυλιστικές νόσοι του νευρικού συστήματος (νόσος του Πάρκινσον, νόσος Αλτσχάιμερ). Οι ακριβείς μηχανισμοί με τους οποίους συμβαίνει αυτό διαφέρουν μεταξύ των παθήσεων και σε αρκετές περιπτώσεις βρίσκεται ακόμα υπό διερεύνηση. (Valko et al., 2007)

Καρκίνος

Πλέον θεωρείται αποδεδειγμένη η συμβολή του οξειδωτικού stress στην καρκινογένεση, καθώς οι οξειδοαναγωγικές ανισορροπίες που το χαρακτηρίζουν έχουν παρατηρηθεί σε διάφορων ειδών καρκινικά κύτταρα περισσότερο απ' ό,τι σε φυσιολογικά. Ένας βασικός μηχανισμός που εμπλέκεται στην κατάσταση αυτή είναι η βλαβερή επίδραση των ROS στο DNA των κυττάρων. Ελεύθερες ρίζες όπως το υδροξύλιο, η παραγωγή των οποίων μπορεί να

υποβοηθείται από άλλους καρκινογόνους παράγοντες όπως το κάπνισμα και οι ακτινοβολίες, προκαλούν μόνιμες τροποποιήσεις στο γενετικό υλικό. Αυτό αποτελεί το πρώτο βήμα για την πυροδότηση μεταλλάξεων και καρκινογένεσης. Πιο συγκεκριμένα, προκύπτουν θραύσεις σε μια ή και στις δυο αλυσίδες του DNA, καθώς και τροποποιήσεις σε πουρίνες, πυριμιδίνες και δεοξυριβόζες. Οι βλάβες αυτές μπορούν να οδηγήσουν σε διακοπή ή επαγωγή της μεταγραφής, σε σφάλματα κατά την αντιγραφή γενετικού υλικού, και σε ασταθή κατάσταση του γονιδιώματος. (Halliwell, 2007; Valko et al., 2007)

Σε συνδυασμό με την οξειδωτικής φύσεως βλάβη του πυρηνικού DNA, στην καρκινογένεση είναι πιθανό να συμβάλει και το μιτοχονδριακό DNA κατόπιν δράσης των ROS. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου για παράδειγμα εμπλέκεται στη διαδικασία ενεργοποίησης γονιδίων που ρυθμίζουν την μιτοχονδριακή βιογένεση, την αντιγραφή και μεταγραφή του μιτοχονδριακού γονιδιώματος. (Halliwell, 2007)

Εκτός από την άμεση οξειδωτική βλάβη, οι ROS μπορεί να επηρεάζουν την καρκινογένεση και με άλλες μεθόδους μέσω οξειδοαναγωγικής σηματοδότησης. Μία από τις βασικές διαδικασίες που ρυθμίζονται με τη μεταφορά σημάτων είναι η πορεία ανάπτυξης των κυττάρων. Αναλόγως με την συγκέντρωση ROS, τη διάρκεια έκθεσης και την ποσότητα αντιοξειδωτικών στα κύτταρα, το αποτέλεσμα μπορεί να είναι αυξημένος ρυθμός πολλαπλασιασμού, διακοπή του φυσιολογικού κύκλου του κυττάρου, γήρανση, απόπτωση ή νέκρωση. (Halliwell, 2007; Valko et al., 2007) Η σχέση του οξειδωτικού stress με την καρκινογένεση γίνεται περίπλοκη μελετώντας τις αποπτωτικές ιδιότητες των ROS. Μέτρια επίπεδα ROS σε φυσιολογικά κύτταρα τείνουν να προκαλούν απόπτωση, όμως σε κάποια κακοήγη κύτταρα έχουν το αντίθετο αποτέλεσμα, αναστέλλοντας τον θάνατο των κυττάρων και εντείνοντας τον πολλαπλασιασμό τους. (Halliwell, 2007)

Σακχαρώδης Διαβήτης

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου II χαρακτηρίζεται από έλλειψη ή αντίσταση ινσουλίνης, και κατά συνέπεια μειωμένη πρόσληψη γλυκόζης στους ιστούς. Αυτό οδηγεί σε χρόνια εξωκυττάρια υπεργλυκαιμία που μπορεί να προκαλέσει βλάβη στους ιστούς με επιπλοκές όπως καρδιοπάθεια, αθηροσκλήρωση, καταρράκτη, αμφιβληστροειδοπάθεια και περιφερειακή νευροπάθεια. Το οξειδωτικό stress αποτελεί το πιθανό κύριο αίτιο που πυροδοτεί τις διαβητικές επιπλοκές. (Valko et al., 2007) Όταν ο οργανισμός αντιμετωπίζει υπεργλυκαιμία και μεταβολικές ανωμαλίες αυξάνεται η παραγωγή ROS, και ιδιαίτερα O_2^- . Έτσι

ενεργοποιούνται κάποια μονοπάτια παθογένεσης των επιπλοκών που αναφέρθηκαν: το μονοπάτι των πολυολών, η αυξημένη παραγωγή τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs), η ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C, και η υπερβολική δραστηριότητα του μονοπατιού της εξοζαμίνης. (Rochette, Zeller, Cottin, & Vergely, 2014)

Στο μονοπάτι των πολυολών, λόγω της υπεργλυκαιμίας αυξάνεται η ενδοκυττάρια γλυκόζη και η περίσσεια μετατρέπεται σε σορβιτόλη από την αναγωγή της αλδόζης. Η σορβιτόλη οξειδώνεται σε φρουκτόζη από την αφυδρογονάση της σορβιτόλης. Κατά τη διάρκεια των αντιδράσεων τα δύο ένζυμα αυτά μετατρέπουν NADPH σε NADP^+ και NAD^+ σε NADH , διαταράσσοντας την οξειδοαναγωγική ισορροπία. Επιπλέον η συσσωρευμένη σορβιτόλη σχετίζεται με βλάβη των επιθηλιακών κυττάρων.

Η πρωτεϊνική κινάση C (PKC) έχει τρεις διαφορετικές μορφές που εμπλέκονται στον Σακχαρώδη Διαβήτη, τις PKC- β , PKC- δ , και PKC- ζ . Η PKC- β μπορεί να αυξήσει την έκφραση του αυξητικού παράγοντα αγγειακού ενδοθηλίου και η PKC- δ μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρική απόπτωση.

Τα AGEs είναι τα τελικά προϊόντα της μη ενζυματικής γλυκοζυλίωσης. Το οξειδωτικό stress προκαλεί δημιουργία καρβονυλικών ενώσεων που αντιδρούν με πρωτεΐνες, οδηγώντας στην παραγωγή και συσσώρευση AGEs. Τα μόρια αυτά αλληλεπιδρούν με δομικές πρωτεΐνες και μειώνουν την ελαστικότητα των αγγείων, ενώ παράλληλα αυξάνουν τη διαπερατότητα.

Ο συνδυασμός των παραπάνω μηχανισμών συμβάλει σημαντικά στην εξέλιξη της νόσου και καταλήγει στις μικρο- και μακροαγγειοπάθειες που συχνά συνοδεύουν τον Σακχαρώδη Διαβήτη.

(Li et al., 2017)

Εκφυλιστικές νόσοι του νευρικού συστήματος

Το οξειδωτικό stress αυξάνεται κατά τη διαδικασία γήρανσης και άρα μπορεί να θεωρηθεί σημαντικός παράγοντας στην ανάπτυξη εκφυλιστικών νόσων του νευρικού συστήματος που εμφανίζονται κυρίως σε άτομα προχωρημένης ηλικίας. Έχει παρατηρηθεί σημαντική οξειδωτική βλάβη στον εγκέφαλο ασθενών με νόσο Αλτσχάιμερ, η οποία σχετίζεται με τη συσσώρευση του αμυλοειδούς- β πεπτιδίου που προκαλεί τη δημιουργία πλακών ανίας. (Valko et al., 2007) Όσον αφορά τη νόσο του Πάρκινσον, χαρακτηρίζεται από την επιλεκτική απώλεια νευρώνων στον μεσεγκέφαλο, οι οποίοι φυσιολογικά περιέχουν τον νευροδιαβιβαστή

ντοπαμίνη. Η απώλεια της ντοπαμίνης προκαλεί τα συμπτώματα της νόσου. Οι νευρώνες αυτοί είναι ευαίσθητοι στο οξειδωτικό stress, το οποίο και θεωρείται βασική αιτία της καταστροφής των κυττάρων. (Hwang, 2013)

Καρδιαγγειακές παθήσεις

Όπως προαναφέρθηκε στο αντίστοιχο κεφάλαιο, το οξειδωτικό stress που προκύπτει από συγκέντρωση ROS συμμετέχει στην εμφάνιση καρδιαγγειακών παθήσεων όπως αθηροσκλήρωση, ισχαιμική καρδιοπάθεια, υπέρταση, καρδιομυοπάθειες και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια. Οι ROS τροποποιούν φωσφολιπίδια και πρωτεΐνες οδηγώντας στην οξείδωση και υπεροξείδωση ομάδων θειόλης. Η δράση των ROS προκαλεί αλλαγές στην διαπερατότητα των μεμβρανών, διαταραχές στην διπλή στιβάδα λιποειδών, και λειτουργικές τροποποιήσεις στις κυτταρικές πρωτεΐνες. (Valko et al., 2007)

Συγκεκριμένα στην πορεία αθηρογένεσης, θεωρείται πως οι οξειδωμένες λιποπρωτεΐνες (π.χ. οξειδωμένη LDL) και οι Nox μεσολαβούν στην αύξηση του σχηματισμού O_2^- , το οποίο οδηγεί σε απόπτωση κυττάρων στον εσωτερικό χιτώνα του ενδοθηλίου. Όταν αυτό συμβαίνει σε σημείο αθηρωματικής πλάκας μπορεί σταδιακά να οδηγήσει σε ρήξη και θρόμβωση. Παράλληλα το O_2^- έχει και μια πιο έμμεση αλλά εξίσου σημαντική δράση, κατά την οποία οξειδώνει το NO των τοιχωμάτων των αγγείων προς δημιουργία $ONOO^-$, καταστρέφοντας έτσι την δυνατότητα αγγειοδιαστολής που εξαρτάται από το ενδοθήλιο. Επίσης προκαλείται υπεροξείδωση λιπαρών ή οξείδωση λιποπρωτεϊνών, γεγονός που συμβάλλει στην αθηρογένεση. (Violi, Basili, Nigro, & Pignatelli, 2009)

Ξεκάθαρη συσχέτιση υπάρχει και μεταξύ οξειδωτικού stress και υπέρτασης εφόσον έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα O_2^- και H_2O_2 σε υπερτασικούς ασθενείς. Παράλληλα παρατηρούνται μειωμένα επίπεδα αντιοξειδωτικών όπως η βιταμίνη E, η γλουταθειόνη (GSH), και η δισμουτάση του υπεροξειδίου, τα οποία υπό φυσιολογικές συνθήκες ρυθμίζουν αποτελεσματικά την συγκέντρωση ROS. Η αλληλεπίδραση μεταξύ O_2^- και NO συμμετέχει και στην υπέρταση με τον μηχανισμό που ήδη περιγράφηκε. (Valko et al., 2007)

2.3 Παρεμβάσεις

Έχουν γίνει πολλές έρευνες σχετικά με πιθανές ευεργετικές δράσεις προϊόντων στο οξειδωτικό stress, ειδικά όσον αφορά την παθογένεση των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Τα φάρμακα που αποτελούν τις βασικές επιλογές θεραπείας συμπεριλαμβάνουν τις στατίνες, τους ανταγωνιστές υποδοχέα αγγειοτενσίνης II, και τους αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου

της αγγειοτενσίνης, τα οποία έχουν όλα ξεχωριστή κύρια δράση αλλά παρουσιάζουν και αντιοξειδωτικά χαρακτηριστικά. (Kayama et al., 2015) Μέχρι τώρα όμως δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα τυχαιοποιημένων πειραμάτων που να υποστηρίζουν τη χρήση αμιγώς αντιοξειδωτικών όπως οι βιταμίνες C και E, πιθανώς λόγω της μη στοχευμένης δράσης τους, που μπορεί να αναστέλλει τόσο τις αρνητικές όσο και τις θετικές δράσεις των ROS. (Burgoyne et al., 2012) Ενδεικτικά αναφέρονται μερικά παραδείγματα παρεμβάσεων με στόχο τη μείωση του οξειδωτικού stress.

Υπάρχουν κάποια δεδομένα που υποστηρίζουν την αντιοξειδωτική δράση των ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, όμως οι μελέτες με ξεκάθαρα θετικό αποτέλεσμα τείνουν να είναι in vitro ή σε ποντίκια. (Guermouche et al., 2014; Richard, Kefi, Barbe, Bausero, & Visioli, 2008) Οι παρεμβάσεις σε ανθρώπους είναι πιο περίπλοκες και συχνά προκύπτουν αντικρουόμενα αποτελέσματα. (Amador-Licona et al., 2016)

Ερευνητικό ενδιαφέρον παρουσιάζει η πιθανή δημιουργία ενός ειδικού αναστολέα Nox. Ένας συνδυασμός αναστολέα Nox1 και Nox4 φάνηκε να έχει θετική επίδραση σε μοντέλο ηπατικής ίνωσης και υφίσταται κλινικές δοκιμές για πιθανή μελλοντική χρήση σε περιπτώσεις διαβητικής νεφροπάθειας. (Aoyama et al., 2012; Burgoyne et al., 2012)

Τέλος, μελέτη παρέμβασης εξέτασε την επίδραση της Μεσογειακής Δίαιτας με τη μορφή γρήγορου φαγητού στην αντίσταση στην οξείδωση σε πλάσμα από ασθενείς με ΣΔΙΙ και υγιή άτομα. Η επιλογή τροφίμων έγινε με βάση τις αντιοξειδωτικές τους ικανότητες in vitro. Κατά το πέρας του πειράματος υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων παρέμβασης και ελέγχου τόσο στους ασθενείς όσο και στους υγιείς ανθρώπους, υποδεικνύοντας την ευνοϊκή επίδραση της Μεσογειακής Δίαιτας στο οξειδωτικό stress. (Aronis, Antonopoulou, Karantonis, Phenekos, & Tsoukatos, 2007)

Ο πίνακας που ακολουθεί αποτελεί σύνοψη των γνωστών παρεμβάσεων που προσεγγίζουν το μοντέλο της παρούσας παρέμβασης, δηλαδή ερεύνησαν την επίδραση της κατανάλωσης κάποιας μορφής γιαουρτιού στο οξειδωτικό stress καθώς και γενικότερα στον καρδιαγγειακό κίνδυνο σε ανθρώπους.

Μελέτη	Μέθοδος	Δείκτες	Αποτελέσματα
Effects of Probiotics on Biomarkers of Oxidative Stress and	3 ομάδες, κατανάλωση για 6 εβδομάδες:	• Πρωτεϊνικά καρβονύλια • Ισοπροσταγλαδ	Υπήρξε μείωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων και

Inflammatory Factors in Petrochemical Workers: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial. (Mohammadi et al., 2015)	• 100 g/ημέρα γιαούρτι με προβιοτικά (n = 12) • 1 κάψουλα προβιοτικών την ημέρα (n = 13) • 100 g/ημέρα απλό γιαούρτι (n = 10)	ίνη • 8οxοG • hs-CRP • INF-γ	της Ισοπροσταγλαδίνης, αλλά όχι της 8οxοG και των δεικτών φλεγμονής. Μη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων.
Daily intake of vitamin D- or calcium-vitamin D-fortified Persian yogurt drink (doogh) attenuates diabetes-induced oxidative stress: evidence for antioxidant properties of vitamin D. (Nikooyeh et al., 2014)	3 ομάδες, κατανάλωση για 12 εβδομάδες: • Δύο δόσεις 250 mL /ημέρα απλό ρόφημα γιαουρτιού (n = 30) • Δύο δόσεις 250 mL /ημέρα ρόφημα γιαουρτιού εμπλουτισμένο με βιταμίνη D (n = 30) • Δύο δόσεις 250 mL /ημέρα ρόφημα γιαουρτιού εμπλουτισμένο με βιταμίνη D και ασβέστιο (n = 30)	• TBARS • OxLDL • Μυελοϋπεροξιδάση • Πρωτεϊνικά καρβονύλια • Δισμουτάση υπεροξειδίου • Τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs)	Μη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων στους δείκτες οξειδωτικού stress.
Effect of daily consumption of probiotic yogurt on oxidative stress in pregnant women: a randomized controlled clinical trial. (Asemi et al., 2012)	2 ομάδες, κατανάλωση για 9 εβδομάδες: • 200 g /ημέρα απλό γιαούρτι (n = 33) • 200 g /ημέρα γιαούρτι με προβιοτικά (n = 37)	• Αναγωγή της γλουταθειόνης • GPx • 8οxοG	Μείωση δεικτών οξειδωτικού stress στην ομάδα εμπλουτισμένου γιαουρτιού, αλλά δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων.
The effect of daily consumption of probiotic and	2 ομάδες, κατανάλωση για 2 εβδομάδες:	• Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα	Υπήρξαν αρκετές μεταβολές των δεικτών κατά τη

conventional yoghurt on oxidant and anti-oxidant parameters in plasma of young healthy women. (Fabian & Elmadfa, 2007)	• 100 g /ημέρα απλό γιαούρτι (n = 16) • 100 g /ημέρα γιαούρτι με προβιοτικά (n = 17) Άλλες 2 εβδομάδες: • 200 g /ημέρα απλό γιαούρτι • 200 g /ημέρα γιαούρτι με προβιοτικά	• Ουρικό οξύ • MDA • Καταλάση • Βιταμίνη E • Καροτενοειδή	διάρκεια της παρέμβασης αλλά δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων.
The Effects of an Olive Fruit Polyphenol-Enriched Yogurt on Body Composition, Blood Redox Status, Physiological and Metabolic Parameters and Yogurt Microflora. (Georgakouli et al., 2016)	2 ομάδες, n = 16, κατανάλωση για 2 εβδομάδες: • 400 g /ημέρα απλό γιαούρτι • 400 g /ημέρα γιαούρτι εμπλουτισμένο με πολυφαινόλες από ελιές	• Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα • TBARS • Πρωτεϊνικά καρβονύλια • Γλουταθειόνη • Καταλάση • Ολική χοληστερόλη • LDL • HDL • Τριγλυκερίδια	Στατιστικά σημαντική διαφορά υπήρξε μόνο στο δείκτη TBARS, που μειώθηκε εντός της ομάδας εμπλουτισμένου γιαουρτιού.
Isolated soya protein with standardised levels of isoflavones, cotyledon soya fibres and soya phospholipids improves plasma lipids in hypercholesterolaemia : a double-blind, placebo-controlled trial of a yoghurt formulation. (Puska, Korpelainen, Hoie, Skovlund, & Smerud, 2004)	2 ομάδες, κατανάλωση για 8 εβδομάδες: • 2 δόσεις/ημέρα απλό γιαούρτι (n = 74) • 2 δόσεις/ημέρα γιαούρτι εμπλουτισμένο με πρωτεΐνη σόγιας (n = 69)	• Ολική χοληστερόλη • LDL • HDL • Τριγλυκερίδια • Ομοκυστεΐνη	Στατιστικά σημαντική διαφορά ολικής και LDL χοληστερόλης μεταξύ των ομάδων, υπήρξε μείωση στην ομάδα εμπλουτισμένου γιαουρτιού. Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων για τους υπόλοιπους

			δείκτες.
The effect of yoghurt and its probiotics on blood pressure and serum lipid profile; a randomised controlled trial. (Ivey et al., 2015)	2 ομάδες, κατανάλωση για 4 εβδομάδες: • 200 ml/ημέρα απλό γιαούρτι (n = 20) • 200 ml/ημέρα γιαούρτι με 4 g φυτικές στανόλες (n = 20) Μεσολαβεί μια εβδομάδα, και ακολουθεί αντιστροφή των ομάδων για άλλες 4 εβδομάδες.	• Ολική χοληστερόλη • LDL • HDL • Τριγλυκερίδια	Στατιστικά σημαντική διαφορά ολικής και LDL χοληστερόλης μεταξύ των ομάδων, υπήρξε μείωση στην ομάδα γιαουρτιού με στανόλες. Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των παρεμβάσεων για την HDL και τα τριγλυκερίδια.
Randomized placebo-controlled intervention with n-3 LC-PUFA-supplemented yoghurt: effects on circulating eicosanoids and cardiovascular risk factors. (Dawczynski et al., 2013)	3 ομάδες, κατανάλωση για 10 εβδομάδες: • 125 g/ημέρα απλό γιαούρτι με φρούτα (n = 14) • 125 g/ημέρα γιαούρτι με 0,8 g ω-3 PUFA από ιχθυέλαια (n = 17) • 200 g/ημέρα γιαούρτι με 3 g ω-3 PUFA από ιχθυέλαια (n = 16)	• Ολική χοληστερόλη • LDL • HDL • Τριγλυκερίδια	Σημαντική διαφορά της HDL μεταξύ των ομάδων. Υπήρξε αύξηση με την κατανάλωση των εμπλουτισμένων γιαουρτιών, και μάλιστα μεγαλύτερη στην τρίτη ομάδα.

Πίν. 4: Παρεμβάσεις κατανάλωσης γιαουρτιού.

2.4 Δείκτες

Το πρόβλημα που προκύπτει στην αξιολόγηση των επιπέδων οξειδωτικού stress είναι ο μικρός χρόνος ημιζωής των ROS. Επειδή είναι αρκετά δύσκολο να προσδιοριστεί η ποσότητά τους, συχνά χρησιμοποιούνται ως δείκτες πιο σταθερές ενώσεις που αποτελούν παραπροϊόντα των μονοπατιών οξειδωτικού stress. Οι δείκτες που επικρατούν μπορεί να προέρχονται από την υπεροξείδωση λιπιδίων ή την οξειδωτική τροποποίηση πρωτεϊνών, ενώ μπορεί επίσης να

αξιολογηθεί η οξειδωτική βλάβη στο γενετικό υλικό (DNA/RNA) και η αντιοξειδωτική δυνατότητα του ορού. (Frijhoff et al., 2015)

Υπεροξείδωση Λιπιδίων
Μηλονουλο-διαλδεΰδη (MDA) – μέθοδος TBARS
4-υδροξυεπενάλη (4-HNE)
F ₂ -ισοπροστάνες
Οξειδωμένη LDL (OxLDL)
Οξειδωτική τροποποίηση πρωτεϊνών
3-Νιτροτυροσίνη
S-γλουταθειόνη
Πρωτεϊνικά καρβονύλια
Αντιοξειδωτικά
Καταλάση
Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx)
Δισμουτάση υπεροξειδίου (SOD)
Ουρικό Οξύ
Οξείδωση DNA/RNA
7,8-διωδρο-8-υδροξυ-2'-δεοξυγουανοσίνη (8oxodG)
7,8-διωδρο-8-υδροξυ-γουανοσίνη (8oxoG)

Πίν. 5: Δείκτες οξειδωτικού stress. (Frijhoff et al., 2015; Ho, Karimi Galougahi, Liu, Bhindi, & Figtree, 2013)

Κεφ. 3: Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων

Ο Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF, 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη) είναι ένα φωσφολιποειδές με σκελετό γλυκερόλης που εκτελεί ποικίλες δράσεις στην παθοφυσιολογία του σώματος. Αποτελεί τον πιο δραστικό μεσολαβητή φλεγμονής και ονομάστηκε λόγω της βασικής δράσης του που ανακαλύφθηκε πρώτα, την ενεργοποίηση και συσσώρευση αιμοπεταλίων. Στις ιδιότητές του αυτές οφείλεται και η εμπλοκή του PAF σε παθολογικές καταστάσεις, όπως για παράδειγμα η αθηρογένεση. Ενώ αρχικά θεωρούταν ξεχωριστό μόριο, πλέον έχει αποδειχθεί πως υπάρχει πλήθος φωσφολιπιδίων παρόμοιας δομής με τον PAF, και μπορούν να θεωρηθούν πως ανήκουν στην ίδια οικογένεια των μορίων PAF. Σε αυτή συμπεριλαμβάνονται και άλλα μόρια, με μερικώς ή

και εντελώς διαφορετική δομή, αλλά με παρόμοια λειτουργία. (Smaragdi Antonopoulou, Nomikos, Karantonis, Fragoroulou, & Demopoulos, 2008) Ο PAF και τα άλλα μόρια της οικογένειας PAF ασκούν τη δράση τους μέσω ενός ειδικού διαμεμβρανικού υποδοχέα στην μεμβράνη των κυττάρων, που ονομάζεται υποδοχέας PAF (PAF-R). (Αντωνοπούλου & Δημόπουλος, 2007)

3.1 Μεταβολισμός

Βιοσύνθεση

Ο PAF παράγεται σε φυσιολογικές καταστάσεις συνεχόμενα ή κατόπιν κατάλληλων ερεθισμάτων. Η παραγωγή του λαμβάνει χώρα σε διάφορα είδη κυττάρων που συμπεριλαμβάνουν τα αιμοπετάλια, τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα, τα μονοκύτταρα/φαγοκύτταρα, τα λεμφοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα, τα βασεόφιλα, τα ηωσινόφιλα, τα κύτταρα ιστών και του ενδοθηλίου. Ο PAF συντίθεται μέσω δύο βασικών οδών, της *de novo* βιοσύνθεσης και της πορείας αναδόμησης. Η πορεία αναδόμησης φαίνεται πως έχει σημαντική δράση στις φλεγμονώδεις αποκρίσεις του PAF ενώ η *de novo* βιοσύνθεση σχετίζεται με την διατήρηση των κατάλληλων επιπέδων PAF στους ιστούς και στο αίμα.

Η *de novo* βιοσύνθεση αποτελείται από μια συγκεκριμένη αλληλουχία σταδιακών αντιδράσεων, με πρώτο βήμα την αποφωσφορυλίωση του 1-O-αλκυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφορικού. Η ένωση αυτή αποτελεί ενδιάμεσο μεταβολίτη που προκύπτει αμέσως μετά από την δημιουργία αιθερικού δεσμού. Στη συνέχεια η ενζυματική δράση μιας ειδικής CDP-χολίνης (κυτιδίνη διφωσφοχολίνη), της ανεξάρτητης του DTT PAF-φωσφο-χολινوترανσφεράσης, μετατρέπει την 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-γλυκερόλη σε PAF.

Σε αντίθεση με την *de novo* βιοσύνθεση, η πορεία αναδόμησης περιλαμβάνει τον δομικό μετασχηματισμό προϋπαρχόντων φωσφολιπιδίων που περιέχουν χολίνη και αιθερικό δεσμό, τα οποία λειτουργούν ως δομικά συστατικά των μεμβρανών. Κατόπιν ερεθισμάτων που προκαλούν τη διέγερση του κυττάρου, το ένζυμο κυτοσολική φωσφολιπάση A2 (cPLA2) ενεργοποιείται και εμπλέκεται η δράση του με τις μεμβράνες, υδrolύοντας έτσι το λιπαρό ακυλο-τμήμα που είναι εστεροποιημένο στη θέση sn-2 των φωσφολιπιδίων της μεμβράνης. Με αυτόν τον τρόπο προκύπτουν 2-λυσωφωσφολιπίδια (lyso-PC) τα οποία στη συνέχεια λειτουργούν ως υπόστρωμα για την λυσο-PAF ακετυλοτρανσφεράση (lysoPAF-AT), ένα ένζυμο που μεταφέρει μια ακετυλομάδα από το ακετυλο-συνένζυμο A (ακετυλο-CoA) στα lyso-PC. Αποτέλεσμα της αντίδρασης αυτής είναι η σύνθεση PAF. (Nomikos, Fragoroulou, &

Antonopoulou, 2007) Τα δύο ένζυμα της πορείας αναδόμησης, η cPLA2 και η lysoPAF-AT, έχουν τη δυνατότητα να διακρίνουν τρεις διαφορετικές κατηγορίες φωσφατιδυλοχολίνης (PC) ως υπόστρωμα ανάλογα με τον χημικό δεσμό στον άνθρακα sn-1: ακυλο-PC (εστερικός δεσμός), αλκυλο-PC (αιθερικός δεσμός) και αλκενυλο-PC (δεσμός βινυλικού αιθέρα). Οι κατηγορίες αυτές διαφέρουν μεταξύ τους και στο μήκος της ανθρακικής αλυσίδας και στον βαθμό ακορεστότητας, οπότε προκύπτουν τα ποικίλα είδη μορίων PAF. (Smaragdi Antonopoulou et al., 2008)

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα λιπίδια μακριάς αλύσου στη θέση sn-2 των αλκυλοακυλογλυκεροφωσφοχολινών είναι κυρίως πολυακόρεστα (PUFAs), και μεγάλο μέρος τους αποτελείται από αραχιδονικό οξύ. Έτσι η σύνθεση PAF μέσω της οδού αναδόμησης οδηγεί στην παράλληλη απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος και άλλων εικοσανοειδών που στη συνέχεια μπορούν να μετατραπούν σε δραστικούς βιοενεργούς μεσολαβητές. Η άμεση αποακυλίωση των γλυκεροφωσfolιποειδών των μεμβρανών δεν είναι η μόνη πορεία παραγωγής 2-λυσωφωσfolιπίδια. Έχει παρατηρηθεί και η παραγωγή lyso-PAF μέσω αντίδρασης τρανσακυλίωσης μεταξύ αλκυλοακυλογλυκεροφωσφοχολίνης και ενός δέκτη λυσωφωσfolιπιδίων, χωρίς την εμπλοκή του συνενζύμου A. Η πορεία της CoA-ανεξάρτητης τρανσακυλάσης οδηγεί στην ταυτόχρονη σύνθεση PAF και κινητοποίηση του αραχιδονικού οξέος. (Nomikos et al., 2007)

Πέρα των προαναφερθέντων οδών βιοσύνθεσης, υπάρχει μια ομάδα φωσfolιποειδών παρόμοιας δομής με τον PAF που δεν παράγονται ενζυματικά, αλλά μέσω της υπεροξειδωσής των διπλών δεσμών σε PUFA εστεροποιημένα στην θέση sn-2 της ακυλο-PC και αλκυλο-PC. Η διαδικασία αυτή καταλήγει στην δημιουργία μονο- και δικαρβοξυλικά οξέα με αλυσίδες μήκους 3-9 ανθράκων, υδροξυμονοκαρβοξυλικά οξέα, και ω-οξο-καρβοξυλικά οξέα εστεροποιημένα στη θέση sn-2 της PC. Τα παραπάνω οξειδωμένα φωσfolιπίδια έχουν δράσεις αντίστοιχες με τον PAF, οι οποίες παρεμποδίζονται από ανταγωνιστές του υποδοχέα PAF. Αυτά τα μόρια οξειδωμένης PC προκύπτουν και από την οξείδωση της LDL, γεγονός που έχει μεγάλη παθοφυσιολογική σημασία. (Smaragdi Antonopoulou et al., 2008)

Καταβολισμός

Το πιο σημαντικό ένζυμο που ρυθμίζει τον περιορισμό της βιοενεργότητας του PAF και των άλλων μορίων της οικογενείας PAF είναι μια ακετυλοϋδρολάση εξειδικευμένη για τον PAF (PAF-AH). Η δράση της διασπά την βραχεία ακυλο-αλυσίδα στη θέση sn-2, σχηματίζοντας lyso-

PAF, το οποίο είναι βιολογικά ανενεργό. Η PAF-AH δεν είναι μόνο ένα μοναδικό ένζυμο, καθώς έχουν παρατηρηθεί αρκετές διαφορετικές ισομορφές της στο πλάσμα του αίματος και σε διάφορους ιστούς. Εκτός από εξωκυττάρια υπάρχει και ενδοκυττάρια, σε δύο μορφές, τις PAF-AH Ib και PAF-AH II. Εναλλακτική καταλυτική οδό αποτελεί η μετατροπή PAF σε lyso-PAF μέσω του ενζύμου CoA-ανεξάρτητη PAF τρανσακετυλάση, που μεταφέρει την ακετυλομάδα κυρίως σε λυσο-πλασμαλογόνα και άλλα λυσο-φωσfolιπίδια. Πιο συγκεκριμένα, η δράση του ενζύμου αυτού διακρίνεται σε τρεις διαφορετικές διαδικασίες: μπορεί να μεταφέρει την ακετυλομάδα από τον PAF σε λυσο-φωσfolιπίδια (TAL δράση), σε σφίγγοσίνη (TAS δράση), ή να δράσει ως ακετυλοϋδρολάση (AH δράση). (Nomikos et al., 2007)

Επιπλέον καταβολική δράση στον PAF ασκούν η φωσfolιπάση C και οι λυσοφωσfolιπάσες I και II, όμως η συνολική τους επίδραση είναι μικρή και άρα δεν θεωρείται σημαντική. Έχουν εξεταστεί και άλλες πιθανές καταβολικές πορείες, όπως η δράση δυο ενζύμων που σχετίζονται με την HDL. Το ένζυμο εστεροποίησης της χοληστερόλης λεκιθίνη:χοληστερόλη ακυλοτρανσφεράση (LCAT), που μεταφέρει την ακετυλομάδα στην lyso-PC, και η εστεράση παραοξονάση-1 (PON-1) φάνηκε να παρουσιάζουν ιδιότητες υδρόλυσης του PAF, όμως η δράση της PON-1 που παρατηρήθηκε οφειλόταν σε επιμόλυνση του δείγματος με PAF-AH. Τέλος εξετάζεται η πιθανότητα η έκκριση μιας PLA2 να έχει τη δυνατότητα υδρόλυσης και άρα απενεργοποίησης τον PAF

3.2 Εμπλοκή σε αθηρογένεση

Οι μεσολαβητικές δράσεις του PAF εκτείνονται σε πολλούς τομείς, οι οποίοι συμπεριλαμβάνουν τη φλεγμονή, την αναπαραγωγή, τη μνήμη, τον αγγειακό τόνο, την αγγειογένεση και την απόπτωση. Ο μηχανισμός ρύθμισης της μεταφοράς σημάτων ώστε να αποτρέπονται ανεπιθύμητα αποτελέσματα περιλαμβάνει τη δράση της PAF-AH, καθώς και αναστολών του PAF που εμποδίζουν τη δράση του. Όταν όμως οι μηχανισμοί αυτοί δεν επαρκούν ή δε λειτουργούν σωστά, η ανεξέλεγκτη δράση του PAF μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη παθήσεων όπως η αθηροσκλήρωση, ο καρκίνος, ο διαβήτης, οι νεφροπάθειες, τα συμπτώματα του AIDS καθώς και άλλες καταστάσεις που σχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με φλεγμονή. (Smaragdi Antonopoulou et al., 2008)

Όσον αφορά την αθηροσκλήρωση, ο PAF αποτελεί τον συνδετικό κρίκο μεταξύ των θεωριών αθηρογένεσης, δηλαδή τη φλεγμονή, την οξείδωση και την κατακράτηση, και πλέον θεωρείται πως διαδραματίζει σημαντικό ρόλο καθώς εμπλέκεται στα βασικά στάδια αθηρογένεσης.

(Αντωνοπούλου & Δημόπουλος, 2007) Το πρόβλημα ξεκινά όταν τα επίπεδα PAF στο αίμα αυξάνονται, λόγω παθοφυσιολογικών, φλεγμονωδών καταστάσεων ή οξειδωτικού stress μέσω της οξείδωσης της LDL και της υπεροξείδωσης των φωσfolιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών. Αυτές οι καταστάσεις μπορούν να προκύψουν από έλλειψη αντιοξειδωτικών και μειωμένη δραστικότητα της PAF-AH. (Demopoulos, Karantonis, & Antonopoulou, 2003) Για παράδειγμα, το κάπνισμα προκαλεί οξείδωση LDL, ενεργοποίηση αιμοπεταλίων και αυξημένα επίπεδα PAF, ενώ παράλληλα εμποδίζει την δράση της PAF-AH. Κατά συνέπεια οδηγεί στην απώλεια της ικανότητας του οργανισμού να καταστείλει την αθηρογένεση και τη φλεγμονή. (Smaragdi Antonopoulou et al., 2008)

Ο PAF προκαλεί την απελευθέρωση ROS οι οποίες οξειδώνουν μόρια LDL, και η διαδικασία αυτή συμβάλλει στα αυξημένα επίπεδα PAF. Έτσι προκύπτει ένας φαύλος κύκλος που ανατροφοδοτεί τις επιβλαβείς επιπτώσεις του PAF. Επιπλέον, η PAF-AH απενεργοποιείται σταδιακά κατά την οξείδωση της LDL, ενώ οι ROS παρεμποδίζουν τη δράση της στο πλάσμα. Φυσιολογικά η PAF-AH που βρίσκεται στην HDL προστατεύει από την παραγωγή και δραστηριότητα της οξειδωμένης LDL υδρολύοντας τα μόρια PAF.

Όπως έχει προαναφερθεί, τα αιμοπετάλια επηρεάζονται άμεσα από τον PAF ο οποίος οδηγεί στην ενεργοποίηση και συσσώρευσή τους. Στη διαδικασία αυτή μεσολαβεί η ιντεγκρίνη αIIbβ3 που δεσμεύει το ινωδογόνο, και άρα σχετίζεται με τη διαδικασία θρόμβωσης. Μετά την ενεργοποίηση απελευθερώνεται αραχιδονικό οξύ από τα φωσfolιπίδια των μεμβρανών και συντίθενται εικοσανοειδή. Στη συνέχεια εκκρίνονται χημειοκίνες, κυτοκίνες και αυξητικοί παράγοντες, διαδικασία που συμβάλλει επίσης στην φλεγμονή και τη θρόμβωση. Πιο συγκεκριμένα, τα αιμοπετάλια φέρουν τμήματα mRNA που μεταφράζονται κατόπιν κατάλληλων σημάτων. Έτσι όταν ενεργοποιούνται τα αιμοπετάλια μέσω του PAF, παράγεται ιντερλευκίνη 1β (IL-1β) η οποία οδηγεί τα επιθηλιακά κύτταρα να προσκολληθούν με πολυμορφοπύρηννα λευκοκύτταρα. Επίσης επάγει την έκφραση γονιδίων των επιθηλιακών κυττάρων που οδηγούν σε συσσώρευση μονοπύρηννων λευκοκυττάρων και σε χρόνια φλεγμονή. Με αυτόν τον τρόπο η IL-1β τροποποιεί τη λειτουργία του επιθηλίου, και συμβάλλει στην τάση για θρόμβωση και φλεγμονή. (Demopoulos et al., 2003)

Ο PAF συνεχίζει να συντίθεται από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, στην επιφάνεια των οποίων προκαλεί ένα σύστημα σημάτων που μεσολαβεί στην προσκόλληση και συσσώρευση ουδετερόφιλων μέσω της αλληλεπίδρασης της ιντεγκρίνης Mac-1 (CD11b/CD18) με την αIIbβ3

που είναι δεσμευμένη με το ινωδογόνο. Τα ουδετερόφιλα ενεργοποιούνται από τον PAF μέσω του υποδοχέα PAF. Αυτό οδηγεί στη δράση των ιντεγκρίνων β_2 (CD11/CD18) και κατά συνέπεια στην επιπλέον δέσμευση και συσσώρευση, ένταση της φλεγμονώδους απόκρισης, και παραγωγή ROS.

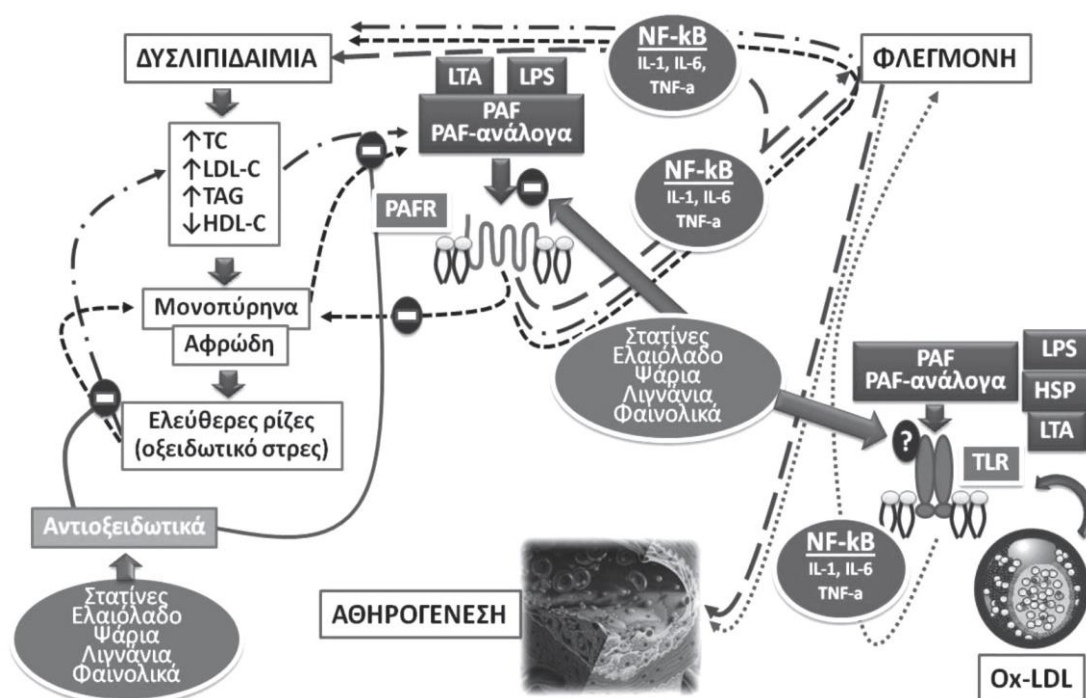
Τον υποδοχέα PAF φέρουν και τα μονοκύτταρα, οπότε ενεργοποιούνται από τον PAF και εκφράζεται η γλυκοπρωτεΐνη συνδέτης για την P-σελεκτίνη (PSGL-1). Τα μονοκύτταρα του αίματος δεσμεύονται με ενεργοποιημένα αιμοπετάλια ή κύτταρα του ενδοθηλίου που φέρουν P-σελεκτίνη, και προκύπτει σύνθεση ουσιών όπως χημειοκίνες και κυτοκίνες. Πιο συγκεκριμένα, ο PAF ενισχύει την μεταφορά του μεταγραφικού παράγοντα κB (NF- κB) στον πυρήνα μονοκυττάρων δεσμευμένων με P-σελεκτίνη, και αυξάνει τη σύνθεση παραγόντων φλεγμονής όπως η χημειοτακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων (MCP-1), η ιντερλευκίνη IL-8, και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων- α (TNF- α).

Η αυξημένη δραστηριότητα του PAF στο αίμα έχει και άμεση επίδραση στα κύτταρα του ενδοθηλίου μέσω του υποδοχέα του PAF. Έτσι προκαλεί ταχεία φλεγμονώδη απόκριση που οδηγεί σε αυξημένη διαπερατότητα του ενδοθηλίου, η οποία όπως έχει αναφερθεί αποτελεί καθοριστικό βήμα στην εκκίνηση της αθηρογένεσης. Τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν και εμφανίζουν PAF και P-σελεκτίνη στην επιφάνειά τους, προκαλώντας την χαλαρή πρόσδεση λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο μέσω της PSGL-1. Όταν και τα λευκοκύτταρα είναι ενεργοποιημένα από τον PAF που παράγεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τροποποιείται η μορφή τους και αυξάνονται οι δεσμευτικές πρωτεΐνες (ιντεγκρίνες β_2) οι οποίες ολοκληρώνουν την πρόσδεση. Στη συνέχεια, τα σταθερά πλέον δεσμευμένα λευκοκύτταρα μεταφέρονται σταδιακά στον εσωτερικό χιτώνα του ενδοθηλίου όπου συγκεντρώνονται και διαφοροποιούνται σε μακροφάγα. Λόγω της αυξημένης διαπερατότητας του δυσλειτουργικού ενδοθηλίου, μεγάλα μόρια όπως η οξειδωμένη LDL ακολουθούν την πορεία στον εσωτερικό χιτώνα του ενδοθηλίου. Όπως περιγράφηκε στη διαδικασία της αθηρογένεσης, όταν τα μόρια αυτά ανιχνεύονται και δεσμεύονται από τα μακροφάγα προκύπτουν τα χαρακτηριστικά αφρώδη κύτταρα. (Demopoulos et al., 2003)

Όσο συσσωρεύονται τα αφρώδη κύτταρα το πάχος αυτού του τμήματος του ενδοθηλίου αυξάνεται, και ο ταυτόχρονος πολλαπλασιασμός λείων μυϊκών κυττάρων οδηγεί σε ελαττωματική δομή του έσω ενδοθηλίου. Υπάρχουν στοιχεία πως ο PAF εμπλέκεται και σε αυτή τη διαδικασία προκαλώντας την μεταγραφή του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα που

συνδέεται με την ηπαρίνη (EGF) στα μονοκύτταρα μέσω της ενίσχυσης της δράσης του NF-κΒ. Ο παράγοντας αυτός συμβάλει στον πολλαπλασιασμό των λειών μυϊκών κυττάρων. (Pan, Kravchenko, & Ye, 1995) Παράλληλα, ο κύκλος δραστηριότητας του PAF διαιωνίζεται καθώς τα μακροφάγα και τα αφρώδη κύτταρα συνθέτουν κι αυτά PAF μέσω της πορείας αναδόμησης, γεγονός που οδηγεί σε επιπλέον φλεγμονώδη, αθηρογενετική και θρομβωτική επίδραση στον χώρο του έσω ενδοθηλίου. (Smaragdi Antonopoulou et al., 2008)

Οι παραπάνω διαδικασίες καταλήγουν στο ορατό αποτέλεσμα των αθηρωματικών πλακών, δηλαδή ένα ινώδες κάλυμμα από λεία μυϊκά κύτταρα και στο εσωτερικό τα συσσωρευμένα κύτταρα και λιπίδια. Οι πλάκες αυξάνουν σε μέγεθος όσο οι πορείες αθηρογένεσης συνεχίζονται, και τελικά η ροή του αίματος παρεμποδίζεται εφόσον η αρτηρία δεν μπορεί να προσαρμοστεί σε πλάκες που έχουν επεκταθεί υπερβολικά. Σε αυτό το σημείο λαμβάνει χώρα μία ακόμα δράση του PAF, ο οποίος προκαλεί την απελευθέρωση ελαστάσης, ένα ένζυμο που επιδρά στη δομή των ιστών διασπώντας την πρωτεΐνη ελαστίνη. Η διαδικασία αυτή αποτελεί σημαντική εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης καθώς ευνοεί την ρήξη αθηρωματικών πλακών. (Smaragdi Antonopoulou et al., 2008; Demopoulos et al., 2003)



Εικ. 3: Εμπλοκή του PAF στην αθηρογένεση. (Detopoulou, Demopoulos, & Antonopoulou, 2013)

Η εμπλοκή του PAF στα καρδιαγγειακά νοσήματα έχει αποδειχθεί και πειραματικά. Έχουν παρατηρηθεί υψηλά επίπεδα PAF στις στεφανιαίες αρτηρίες ασθενών με σοβαρή

αθηροσκλήρωση, ενώ η υπερέκφραση της PAF-AH έχει συσχετιστεί με την αναστολή της αθηρογένεσης. Αντίθετα η έλλειψη της PAF-AH στους ανθρώπους καθιστά τα μόρια LDL πιο ευαίσθητα σε οξείδωση, και επιτείνει τη σύνθεση δεσμευτικών μορίων από αυτά. Κατά συνέπεια η έλλειψη της PAF-AH σε ορισμένους πληθυσμούς έχει θεωρηθεί παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις όπως αγγειοπάθειες, βλάβη του μυοκαρδίου και εγκεφαλικό επεισόδιο. Επιπλέον στοιχεία για τον κρίσιμο ρόλο του PAF σε παθολογικές καταστάσεις προκύπτουν και από πειράματα σε ποντίκια με έλλειψη του υποδοχέα PAF, τα οποία παρουσιάζουν καλύτερη απόκριση στη φλεγμονή. (Smaragdi Antonopoulou et al., 2008; Demopoulos et al., 2003)

3.3 Αναστολείς

Πολλές διαφορετικές ουσίες έχουν συσχετιστεί με την αναστολή του PAF και μπορούν να διαχωριστούν σε ειδικούς και μη ειδικούς. Οι μη ειδικοί αναστολείς επιδρούν στο μονοπάτι μεταγωγής σημάτων που οφείλεται στον PAF. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτών αποτελούν αποκλειστές διαύλων ασβεστίου (βεραπαμίλη), ουσίες που ρυθμίζουν την ενδοκυττάρια συγκέντρωση ασβεστίου, αναστολείς G-πρωτεϊνών, αναστολείς πρωτεϊνικής κινάσης C (σταυροσπορίνη), αναστολείς τυροσινικής κινάσης, ρυθμιστές των επιπέδων κυκλικών νουκλεοτιδίων (προστακυκλίνη, β2 ανταγωνιστές) και αναστολείς φωσφολιπασών, κυκλοοξυγονασών και λιποξυγονασών. Αντίθετα, οι ειδικοί αναστολείς δρουν ως ανταγωνιστές του PAF για την πρόσδεσή του τον υποδοχέα PAF, και προέρχονται είτε από φυσικές πηγές είτε είναι συντεθειμένοι τεχνητά. Έχουν κατασκευαστεί ποικίλοι συνθετικοί αναστολείς PAF, αρχικά με μορφή παρόμοια του PAF, και χωρίζονται σε αυτούς που φέρουν σκελετό γλυκερόλης (CV-3988, CV-6209, TCV-6209, ONO-6240, Ro 19-3704) και σε ενώσεις όπου ο σκελετός γλυκερόλης αυτός έχει αντικατασταθεί από μια κυκλική δομή (SRI 63-073, SRI 63-441, UR-11353, CL-184,005). (Smaragdi Antonopoulou et al., 2008)

Όσον αφορά τους φυσικούς αναστολείς PAF, ευρύτερα γνωστό παράδειγμα αποτελούν ουσίες που απομονώνονται από τα φύλλα του κινέζικου δέντρου Ginkgo Biloba, και συγκεκριμένα το Ginkgolide B ή BN 52021. Εκχυλίσματα του φυτού χρησιμοποιούνται παραδοσιακά ως φάρμακο για τα αρχικά στάδια νόσου Αλτσχάιμερ, καθώς και για καρδιαγγειακές παθήσεις. Στην ίδια κατηγορία ανήκουν επίσης η καντσουρενόνη που βρίσκεται στο κινέζικο είδος πιπεριού Piper futokadsurae, η γιανγκαμπίνη από το φυτό Ocotea duckei Vattimo της Βραζιλίας, το τετραϋδροκανναβινολ-7-ικό οξύ που βρίσκεται στην κάνναβη, τα λιγνάνια από τον λιναρόσπορο με συγκεκριμένο παράδειγμα τον διγλυκοζίτη της σεκοϊσολαρισεζινόλης

(secoisolariciresinol diglucoside, SDG), οι κουμαρίνες από διάφορα φυτά, οι φαινολικές ενώσεις όπως η ελευρωπαΐνη, η τυροσόλη και η ρεσβερατρόλη, καθώς και άλλες ουσίες από φαρμακευτικά φυτά αλλά και θαλάσσιους οργανισμούς. Επιπλέον, ενώσεις όπως οι πολυφαινόλες του μαύρου τσαγιού, οι προανθοκυανιδίνες, η λουτεολίνη, η κερκετίνη, η εσπεριδίνη, η ναρινγίνη, και το ελαϊκό οξύ επιδρούν στα ένζυμα βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης του PAF, επηρεάζοντας έτσι τα επίπεδά του. (Smaragdi Antonopoulou et al., 2008; Detopoulou et al., 2013; Nomikos et al., 2007)

Φυσικοί αναστολείς του PAF έχουν παρατηρηθεί σε χαρακτηριστικά τρόφιμα της Μεσογειακής Διατροφής, κάτι που πιθανόν να σχετίζεται με τις ευεργετικές δράσεις της σε πλήθος παθήσεων με ιδιαίτερα σημαντικό παράδειγμα την πρόληψη και αντιμετώπιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Τρόφιμα που έχουν εμφανίσει την ικανότητα αναστολής του PAF αποτελούν το ελαιόλαδο, το κρασί, το γάλα, το γιαούρτι, το κρεμμύδι, το σκόρδο, τα ψάρια και το μέλι, αν και σε ορισμένες περιπτώσεις όπως τα ψάρια δεν έχει εντοπιστεί σίγουρα αν οι ευεργετικές ενώσεις σε αυτόν τον τομέα είναι τα ω-3 λιπαρά οξέα ή διαφορετικές ουσίες. Συγκεκριμένα στην περίπτωση του ελαιολάδου, κατόπιν ερευνών των σταδίων παραγωγής του, οι αναστολείς του PAF φαίνεται να βρίσκονται και στα παραπροϊόντα της ελαιουργίας. Οι βιταμίνες E και D έχουν παρουσιάσει επίσης δράση αναστολής του PAF και της αθηρογένεσης. (Detopoulou et al., 2013; Nomikos et al., 2007)

3.4 Παρεμβάσεις

Πλήθος παρεμβάσεων έχει σχεδιαστεί ανά τα χρόνια με στόχο την αναστολή του PAF και κατά συνέπεια την αντιμετώπιση καρδιαγγειακών νοσημάτων, ιδιαίτερα της διαδικασίας αθηρογένεσης. Παρακάτω παρατίθενται ορισμένα παραδείγματα που απεικονίζουν τη δράση αναστολέων του PAF που προαναφέρθηκαν.

Πείραμα σε κουνέλια που τρέφονταν με τροφή πλούσια σε χοληστερόλη (τιμές στο αίμα: 1500-2500 mg/dL) ώστε να αναπτύξουν αθηρωματικές πλάκες έδειξε πως η κατανάλωση φυσικών αναστολέων PAF από ελαιόλαδο ή παραπροϊόντα ελαιουργίας οδήγησε σε αναστολή της ανάπτυξης των πλακών, χωρίς όμως ταυτόχρονη μείωση των επιπέδων της χοληστερόλης στο αίμα των κουνελιών. (Detopoulou et al., 2013)

Το εκχύλισμα πολικών λιπιδίων από παρθένο ελαιόλαδο (OOPL) και το εκχύλισμα πολικών λιπιδίων από πυρηνέλαιο (PPL) έχουν αντιαθηροσκληρωτική επίδραση αντίστοιχη με αυτή της σιμβαστατίνης σε κουνέλια που κατανάλωναν δίαιτα πλούσια σε χοληστερόλη. Το αποτέλεσμα

αυτό εξηγείται από το ότι τα PPL προσδένονται στον υποδοχέα PAF και άρα συμπεριφέρονται ανταγωνιστικά προς τον PAF, ενώ παράλληλα έχουν ασθενή αντιοξειδωτική δράση. (Tsantila et al., 2007; Tsantila et al., 2010)

Ορισμένα πολικά λιποειδή από ιχθυέλαια, διαφορετικά από τα ω -3 λιπαρά οξέα, αναστέλλουν την συσσώρευση αιμοπεταλίων που προκαλείται από τον PAF in vitro, δηλαδή σε πλυμένα αιμοπετάλια κουνελιού. Αντίστοιχα δρουν και in vivo αναστέλλοντας τον σχηματισμό αθηρωματικών πλακών. (Nasoroulou, Nomikos, Demopoulos, & Zabetakis, 2007)

Έρευνα εστιασμένη στην κατανάλωση κρασιού υποστήριξε τα υπάρχοντα στοιχεία για την ευεργετική δράση των μικροσυστατικών του κρασιού. Παρατηρήθηκε μείωση της ευαισθησίας των αιμοπεταλίων στον PAF σε υγιείς άνδρες λόγω της κατανάλωσης κρασιού, κάτι που φαίνεται πως οφείλεται στην ύπαρξη αναστολέων του PAF στο κρασί. (Xanthoroulou et al., 2017)

Η επίδραση της Μεσογειακής Δίαιτας στη δράση του PAF αποτελεί επίσης θέμα έρευνας. Παρεμβάσεις σε ασθενείς με ΣΔΙΙ έδειξαν πως η υιοθέτηση ΜΔ πλούσια σε φυτικές ίνες, σύνθετους υδατάνθρακες και μονο- και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (δηλαδή τρόφιμα όπως ψάρια, ελαιόλαδο, φρούτα και λαχανικά) αναστέλλει τη θρόμβωση, τη φλεγμονή και την αθηρογένεση. (S. Antonoroulou et al., 2006; Karantonis et al., 2006)

Τέλος έχει μελετηθεί η επίδραση της κατανάλωσης ορισμένων μεσογειακών άγριων φυτών (*Reichardia picroides*, *Cynara cardunculus*, *Urospermum picroides*, *Chrysanthemum coronarium*) στη δραστηριότητα των αιμοπεταλίων σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο. Παρουσιάστηκε βελτίωση της ευαισθησίας των αιμοπεταλίων στον PAF, γεγονός που συνεπάγεται μειωμένο κίνδυνο θρόμβωσης, και η δράση αυτή φαίνεται πως οφείλεται στα μικροσυστατικά που περιέχουν τα φυτά. (Fragoroulou et al., 2012)

3.5 Δείκτες

Η συσσώρευση αιμοπεταλίων με διεγέρτη τον PAF σε πλυμένα αιμοπετάλια κουνελιών συνήθως μετριέται στην αρχή του πειράματος (θεωρείται ότι υπάρχει 0% αναστολή) και μετά την προσθήκη διαφόρων συγκεντρώσεων του δείγματος προς εξέταση. Έτσι υπάρχει γραμμική σχέση μεταξύ του ποσοστού αναστολής και της συγκέντρωσης του δείγματος. Από την καμπύλη που προκύπτει υπολογίζεται η συγκέντρωση που προκαλεί 50% αναστολή της δράσης του PAF στα αιμοπετάλια, η οποία ορίζεται ως IC₅₀, δηλαδή ανασταλτική συγκέντρωση

(Inhibitory Concentration) που προκαλεί 50% αναστολή. (Karantonis, Antonopoulou, & Demopoulos, 2002; Karantonis et al., 2006)

Σε ανθρώπινα δείγματα η δράση του PAF μετριέται σε πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP). Αξιολογείται η μέγιστη αναστρέψιμη ή η ελάχιστη μη αναστρέψιμη συσσώρευση αιμοπεταλίων για μόρια όπως ο PAF, το αραχιδονικό οξύ και η διφωσφορική αδενοσίνη (ADP) ώστε να εκτιμηθεί η 100% συσσώρευση. Η καμπύλη μεταξύ του ποσοστού αυτού και των διαφορετικών συγκεντρώσεων παραγόντων που δρουν στα αιμοπετάλια (PAF, AA, ADP) είναι γραμμική. Από την καμπύλη υπολογίζεται η συγκέντρωση του κάθε παράγοντα που προκαλεί 50% της μέγιστης συσσώρευσης, και ορίζεται ως EC_{50} , δηλαδή αντίστοιχη συγκέντρωση (Equivalent Concentration) για 50% συσσώρευση. (S. Antonopoulou et al., 2006; Karantonis et al., 2006; Tsantila et al., 2010)

Τέλος μπορεί να μετρηθεί και η δραστηριότητα της PAF-AH με τη μέθοδο κατακρήμνιση πρωτεϊνών του τριχλωροξικού οξέος (TCA), χρησιμοποιώντας [3H]PAF ως υπόστρωμα. Ο [3H]PAF κατακρημνίζεται ως σύμπλοκο με BSA, και τελικά μετριέται η συγκέντρωση του οξικού άλατος που προκύπτει από την ενζυματική αντίδραση. (Liarikos et al., 1994; Tsantila et al., 2007)

Σκοπός

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι η διατροφή επηρεάζει σημαντικά την πιθανότητα εμφάνισης σοβαρών νόσων, όπως αυτές του καρδιαγγειακού συστήματος. Κατά συνέπεια αποτελεί βασικό τμήμα της πρωτογενούς πρόληψης. Το πρότυπο που από πλήθος μελετών έχει αποδειχθεί αποτελεσματικότερο στην μείωση του κινδύνου είναι αυτό της Μεσογειακής Διατροφής, το οποίο συμπεριλαμβάνει έμφαση σε σύνθετους υδατάνθρακες, όσπρια, ψάρι, φρούτα και λαχανικά, και το ελαιόλαδο ως κύρια πηγή λίπους. Οι δράσεις της Μεσογειακής Διατροφής λόγω των θρεπτικών συστατικών που περιέχει είναι υπολιπιδαιμικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιθρομβωτικές και αντιοξειδωτικές, δηλαδή έχουν φανεί να μειώνουν το οξειδωτικό stress και την πιθανότητα αθηρογένεσης. (Aronis et al., 2007; Detoroulou et al., 2013)

Ο συνδυασμός των παραπάνω με τη θεωρία που συσχετίζει τον PAF με τη διαδικασία εμφάνισης αθηροσκλήρωσης οδήγησε στην έρευνα των χαρακτηριστικών τροφίμων της Μεσογειακής Διατροφής για παράγοντες αναστολής του PAF, με ιδιαίτερη έμφαση στο ελαιόλαδο. Από τα παραπροϊόντα της ελαιουργίας απομονώθηκαν βιολογικά δραστικά λιποειδή (Β.Δ.Λ.) που, όπως αποδείχθηκε πειραματικά, αναστέλλουν τη δράση του PAF. Αυτά τα συστατικά θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν στην δημιουργία εμπλουτισμένων τροφίμων με αντιαθηρογόνο δράση.

Σκοπός της μελέτης αυτής είναι η εξέταση της πιθανής επίδρασης της κατανάλωσης γιαουρτιού εμπλουτισμένου με αναστολείς του PAF, στα επίπεδα των ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) καθώς και στα επίπεδα του ουρικού οξέος σε φαινομενικά υγιείς εθελοντές.

Μεθοδολογία

Πρωτόκολλο εθελοντών

Οι εθελοντές ήταν είτε φυσιολογικού βάρους ($BMI < 25 \text{ kg/m}^2$) είτε υπέρβαροι ή παχύσαρκοι ($BMI 25-35 \text{ kg/m}^2$), και ηλικίας 35-65 ετών. Τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν τα εξής: ιστορικό καρδιαγγειακής ή άλλης φλεγμονώδους νόσου, συμπτώματα κρυολογήματος ή γρίπης, οξεία αναπνευστική λοίμωξη, οδοντικά προβλήματα και ηπατικές ή νεφρικές ασθένειες, λήψη αντιφλεγμονώδους και υπολιπιδαιμικής αγωγής σε τακτική βάση. Επιπλέον, οι εθελοντές δεν

έπρεπε να έχουν λάβει κάποιο αντιβιοτικό φάρμακο τουλάχιστον τους τελευταίους 2 μήνες, να μην ήταν έγκυες ή να είχαν γεννήσει εντός των τελευταίων 12 μηνών και τέλος να μην λάμβαναν κάποιο συμπλήρωμα διατροφής κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους.

Η εισαγωγή των εθελοντών στην μελέτη έγινε μετά από την λεπτομερή ενημέρωσή τους για τους σκοπούς της μελέτης, τις υποχρεώσεις τους και τους πιθανούς κινδύνους που απορρέουν από την συμμετοχή τους. Η εισαγωγή του κάθε εθελοντή στην μελέτη έγινε με έγγραφη συγκατάθεσή του, υπογράφοντας το Συμφωνητικό Εθελοντικής Συμμετοχής της μελέτης, έτσι όπως αυτό εγκρίθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου (αριθμός πρωτοκόλλου 40/30-10-2013). Επιπλέον, έγινε εγγραφή της μελέτης διατροφικής παρέμβασης στο ClinicalTrials.gov Protocol and results registration system I.D. NCT02259205.

Η ένταξη των εθελοντών στις τρεις ομάδες της μελέτης έγινε με τυχαιοποίηση κατά ομάδες (block randomization). Η διαδικασία έγινε ακολουθώντας τέσσερις κανόνες σε αντίστοιχες μεταβλητές οι οποίες ελέγχθηκαν, έτσι ώστε να μην υπάρχει διαφοροποίηση στις 3 ομάδες της μελέτης ως εξής:

Μεταβλητή	Επιμέρους ομάδες
Ηλικία	35-50 και 51-65 ετών
Φύλο	Άντρες και γυναίκες
Κατάσταση έμμηνου κύκλου (γυναίκες)	Πριν και μετά την εμμηνόπαυση
Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ)	<25, 25-30 και >30

Πίν. 6: Κανόνες τυχαιοποίησης για την ένταξη των εθελοντών σε ομάδες.

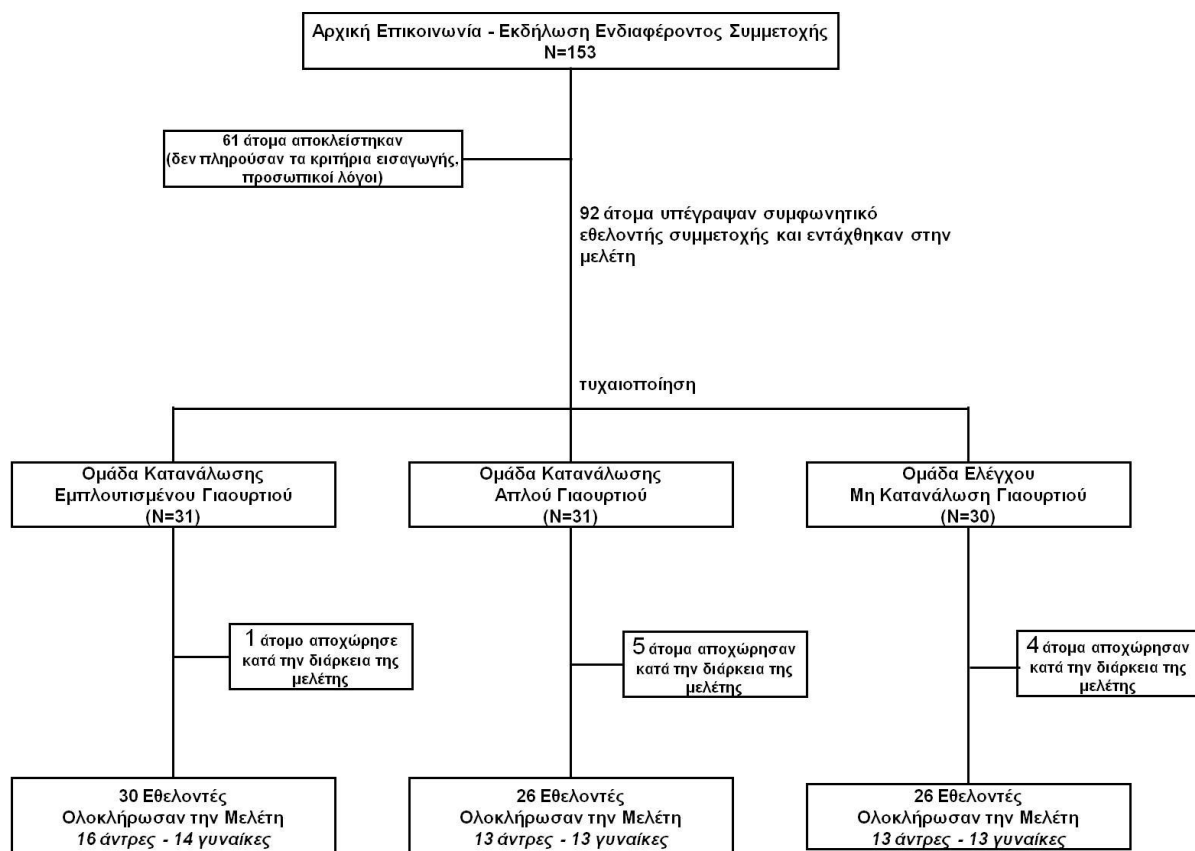
Η κατανομή των εθελοντών ως προς τις παραπάνω μεταβλητές έγινε με βάση δημοσιευμένα δεδομένα για τον ελληνικό πληθυσμό και συγκεκριμένα:

- ως προς τον Δείκτη Μάζας Σώματος, με βάση δεδομένα από την επιδημιολογική μελέτη ΑΤΤΙΚΗ.
- ως προς το φύλο, με βάση την Εθνική Απογραφή του 2011, θεωρώντας 50% άντρες και 50% γυναίκες σε κάθε ομάδα.
- ως προς την κατάσταση του έμμηνου κύκλου, αποφασίστηκε η κατανομή να είναι 50% πριν και 50% μετά την εμμηνόπαυση, έτσι ώστε να επιτευχθεί μέγιστη στατιστική ισχύς κατά τις συγκρίσεις των επιμέρους ομάδων.

- ως προς την ηλικία, αποφασίστηκε επίσης η κατανομή να είναι 50% σε κάθε επιμέρους ομάδα.

Ο συνολικός αριθμός των εθελοντών αποφασίστηκε a-priori να είναι N=100. Η ορθότητα της τυχαιοποίησης ελέγχθηκε με μη παραμετρικό έλεγχο (runs-test), όπου η πιθανότητα κάθε ομάδας (block) να μην ήταν τυχαιοποιημένη ήταν μη στατιστικά σημαντική (εύρος p 0.221-1.000).

Στο διάγραμμα που ακολουθεί παρουσιάζεται η ροή των εθελοντών κατά τη διάρκεια του έργου.



Σχ. 1: Διάγραμμα ροής εθελοντών.

Όλοι οι συμμετέχοντες ακολούθησαν τη συνήθη δίαιτά τους, με αυτούς της **ομάδας Α να καταναλώνουν το πολύ ένα κοινό (μη εμπλουτισμένο) γιαούρτι ανά δύο εβδομάδες**, αυτούς της **ομάδας Β να καταναλώνουν ένα κοινό γιαούρτι την ημέρα** και αυτούς της **ομάδας Γ να καταναλώνουν ένα γιαούρτι εμπλουτισμένο με Β.Δ.Λ. ανά ημέρα**. Το κοινό γιαούρτι της ομάδας Β περιείχε ότι και το εμπλουτισμένο χωρίς όμως τα Β.Δ.Λ. Τα γιαούρτια της ομάδας Β και Γ παρασκευάζονταν και χορηγούνταν από τη ΜΕΒΓΑΛ.

Η παρέμβαση διήρκεσε 8 εβδομάδες. Η προσκόλληση των εθελοντών στο πρωτόκολλο της μελέτης διαπιστωνόταν με 2 εικοσιτετράωρες τηλεφωνικές ανακλήσεις ανά δύο εβδομάδες, τις οποίες διεξήγαγε ειδικευμένο προσωπικό. Επιπλέον, ανά τέσσερις εβδομάδες γινόταν έλεγχος του σωματικού βάρους τους και, στην περίπτωση ανεπιθύμητης μεταβολής του, δίνονταν κατάλληλες συμβουλές από έμπειρους διαιτολόγους ώστε να επανέλθει στα αρχικά επίπεδα. Τέλος, ελήφθησαν δείγματα αίματος, ούρων κατά την έναρξη του πρωτοκόλλου, στις 4 και στις 8 εβδομάδες, και κοπράνων κατά την έναρξη του πρωτοκόλλου και στις 8 εβδομάδες.

Μεθοδολογία βιοχημικών μετρήσεων

Οι μετρήσεις έγιναν σε ορό απομονωμένο από τα δείγματα αίματος των εθελοντών. Τα δείγματα ορού διατηρούνταν σε συνθήκες κατάψυξης (-80°C).

Μέθοδος TBARS

Κατά τη διαδικασία οξειδωτικού stress παράγονται ασταθή λιποειδικά υπεροξείδια τα οποία διασπώνται κυρίως σε αλδεΐδες και σε συζευγμένα διένια. Οι ουσίες αυτές αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) και μπορούν να ανιχνευθούν φωτομετρικά. Για την ποσοτική έκφραση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε πρότυπο διάλυμα μηλονυλο-διαλδεΐδης (MDA) 200 μM που κατασκευάστηκε με υδρόλυση τετρα-μεθοξυ-προπανίου (1,1,3,3-Tetramethoxypropane, TMP) σε HCL. Το διάλυμα αυτό αραιώθηκε κατάλληλα ώστε να προκύψουν συγκεντρώσεις 0,1-0,5-1-2-2,5-3 μM σε τελικό όγκο 5 mL, για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης.

Σε σωλήνες erpendorfs προστέθηκαν:

- 200 μL φωσφορικό οξύ 0,2 M
- 25 μL BHT (5 μM)
- 100 μL ορού ή 200 μL πρότυπο διάλυμα TMP ή απεσταγμένο νερό (τυφλό). Στην περίπτωση του ορού ο όγκος συμπληρώθηκε μέχρι τα 200 μL με νερό (προσθήκη 100 μL νερού στα δείγματα)
- 25 μL θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA) 0,11 M

Οι σωλήνες αναδεύονταν και παρέμεναν σε υδατόλουτρο στους 90°C για 60 λεπτά, και στη συνέχεια ψύχονταν στους 4°C για περίπου 10 λεπτά. Ακολουθούσε προσθήκη 500 μL

βουτανόλης, έντονη ανάδευση και φυγοκέντρωση σε 12000 rpm για 10 λεπτά ώστε να διαχωριστούν οι δύο φάσεις. Στη συνέχεια παραλαμβάνονταν 450 μL από την βουτανολική φάση (πάνω φάση) και γινόταν δεύτερη φυγοκέντρωση σε 12000 rpm για 10 λεπτά. Τέλος μεταφέρονταν 200 μL σε plate προς μέτρηση της απορρόφησης στα 535 nm.

Μέθοδος ουρικού οξέος

Το ουρικό οξύ παρουσία του ενζύμου ουρικάση οξειδώνεται και παράγει H_2O_2 . Αυτό αντιδρά με φαινολικό παράγωγο και 4-αμινοφαιναζόνη, με την καταλυτική δράση του ενζύμου υπεροξειδάση (POD), και παράγεται έγχρωμο προϊόν ερυθρού χρώματος. Η αύξηση της απορρόφησης στα 510 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης ουρικού οξέος στο δείγμα.

Σε σωλήνες erpendorfs προστέθηκαν:

- 500 μL διαλύματος εργασίας (προκύπτει από τη διάλυση του ενζύμου στο ρυθμιστικό διάλυμα τα οποία παρέχονται στο kit)
- 200 μL ουρικού οξέος 8 mg/dL (στα πρότυπα) ή 200 μL απεσταγμένου νερού (στα τυφλά) ή 200 μL δείγματος ορού

Κατόπιν επώασης 5 λεπτών στους 37°C προστέθηκαν επιπλέον 500 μL απεσταγμένου νερού. Ακολουθούσε ανάδευση και τελικά φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 510 nm.

Στατιστική ανάλυση

Ο έλεγχος της κανονικότητας των παραμέτρων έγινε με τη δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov. Οι συνεχείς μεταβλητές που κατανέμονται κανονικά παρουσιάζονται ως μέσες τιμές $\pm$ τυπική απόκλιση. Οι συνεχείς μεταβλητές που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή παρουσιάζονται ως διάμεσες τιμές $\pm$ ενδοεκατοστομοριακό εύρος (25° - 75° εκατοστημόριο). Οι ποιοτικές- κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτες τιμές και σχετικές συχνότητες (%).

TBARS	Αρχή παρέμβασης (0)	4 εβδομάδες (1)	8 εβδομάδες (2)
N	86	81	81
Μέσος Όρος	$2,69 \pm 1,35$	$2,68 \pm 1,26$	$2,74 \pm 1,32$
p	0,282	0,535	0,731

Ουρικό Οξύ	Αρχή παρέμβασης (0)	4 εβδομάδες (1)	8 εβδομάδες (2)
------------	---------------------	-----------------	-----------------

N	88	83	83
Μέσος Όρος	5,06 ± 1,76	5,04 ± 1,67	4,96 ± 1,55
p	0,870	0,758	1,000

Πίν. 7: Έλεγχος της κανονικότητας των παραμέτρων.

Προκύπτει $p > 0,05$ για όλες τις μεταβλητές άρα ακολουθούν την κανονική κατανομή.

Κατά συνέπεια η σύγκριση των τιμών των εθελοντών στους δείκτες που έχουν μετρηθεί κατά την εισαγωγή τους στη παρέμβαση (χρόνος 0) ανάμεσα στις τρεις παρεμβάσεις γίνεται με one way ANOVA.

Η σύγκριση μεταξύ των χρονικών τιμών (0 εβδομάδες με 4 εβδομάδες, 0 εβδομάδες με 8 εβδομάδες) για κάθε ομάδα χωριστά γίνεται με paired t-test εφόσον τα μεγέθη ήταν κανονικά.

Τέλος ο έλεγχος της διαφοροποίησης ανάμεσα στις τρεις παρεμβάσεις γίνεται με Repeated measures ANOVA εφόσον τα μεγέθη ήταν κανονικά. Έτσι θα φανεί αν κάποια παρέμβαση διαφοροποιείται από τις άλλες δύο σε κάποιο δείκτη.

Αποτελέσματα

	TBARS 0	Ουρικό Οξύ 0
Control	2,09 ± 1,35	5,32 ± 1,70
Plain yogurt	3,04 ± 0,98	5,05 ± 1,97
Enriched yogurt	3,24 ± 1,34	5,04 ± 1,68
p	0,004	0,817

Πίν. 8: One way ANOVA, σύγκριση των τιμών ανάμεσα στις τρεις ομάδες στο χρόνο 0.

Με one way ANOVA προκύπτει για το ουρικό οξύ $p > 0,05$ άρα δεν υπήρχε διαφοροποίηση στους μέσους όρους τιμών μεταξύ των ομάδων στην αρχή της παρέμβασης. Όμως για τα TBARS ισχύει $p < 0,05$ άρα παρουσιάζεται κάποια διαφοροποίηση. Αυτή εξετάζεται με post hoc και προκύπτει πως η διαφοροποίηση παρουσιάζεται μεταξύ της ομάδας ελέγχου (control) και των δύο ομάδων παρεμβάσεων (plain yogurt, enriched yogurt) άρα πρέπει να ληφθεί υπ όψιν πως στον χρόνο 0 η ομάδα ελέγχου είχε κατά μέσο όρο χαμηλότερες τιμές.

Control

	Μέσος όρος διαφοράς	p
TBARS 0 – TBARS 1	0,082 ± 0,830	0,640
TBARS 0 – TBARS 2	0,073 ± 0,812	0,670
UA 0 – UA 1	-0,043 ± 0,877	0,814
UA 0 – UA 2	0,028 ± 1,210	0,912

Πίν. 9: Paired t-test, σύγκριση των τιμών μεταξύ των χρόνων για την ομάδα ελέγχου.

Σύμφωνα με τα paired t-test, στην ομάδα Control υπήρξε μικρή μείωση μεταξύ των χρόνων 0-1 και 0-2 στον δείκτη TBARS και των χρόνων 0-2 στο ουρικό οξύ, ενώ μεταξύ των χρόνων 0-1 του ουρικού οξέος υπήρχε μικρή αύξηση. Επειδή όμως προκύπτει $p > 0,05$ για όλα τα ζεύγη που εξετάστηκαν η διαφορά μεταξύ των τιμών δεν είναι στατιστικά σημαντική. Τα αποτελέσματα αυτά είναι αναμενόμενα για την ομάδα control.

Plain yogurt

	Μέσος όρος διαφοράς	p
TBARS 0 – TBARS 1	0,134 ± 0,604	0,311
TBARS 0 – TBARS 2	-0,052 ± 0,973	0,803
UA 0 – UA 1	0,131 ± 1,006	0,547
UA 0 – UA 2	0,139 ± 1,221	0,599

Πίν. 10: Paired t-test, σύγκριση των τιμών μεταξύ των χρόνων για την ομάδα παρέμβασης με απλό γιαούρτι.

Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα, στην ομάδα παρέμβασης με απλό γιαούρτι υπήρξε μείωση μεταξύ των χρόνων 0-1 στον δείκτη TBARS και των χρόνων 0-1 και 0-2 στο ουρικό οξύ, ενώ μεταξύ των χρόνων 0-2 των TBARS υπήρξε μικρή αύξηση. Επειδή όμως προκύπτει $p > 0,05$ για όλα τα ζεύγη που εξετάστηκαν η διαφορά μεταξύ των τιμών δεν είναι στατιστικά σημαντική.

Enriched yogurt

	Μέσος όρος διαφοράς	p
TBARS 0 – TBARS 1	0,092 ± 0,866	0,623
TBARS 0 – TBARS 2	0,048 ± 1,047	0,833
UA 0 – UA 1	-0,312 ± 0,960	0,134

UA 0 – UA 2

-0,131 ± 1,210

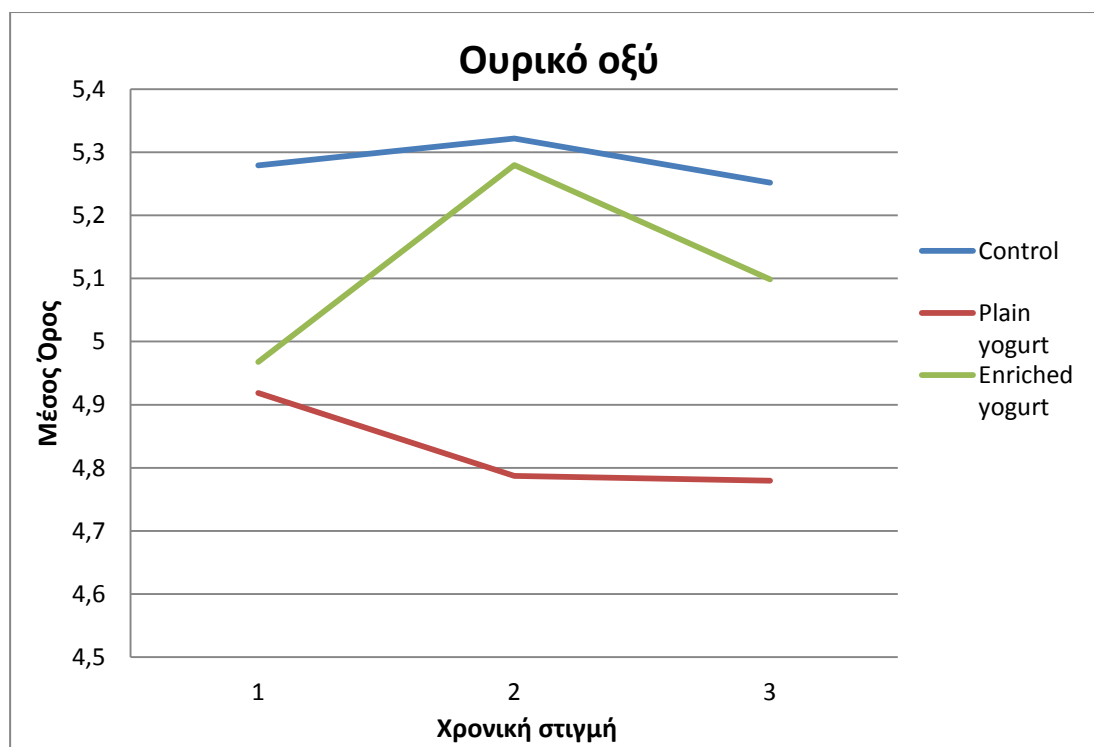
0,634

Πίν. 11: Paired t-test, σύγκριση των τιμών μεταξύ των χρόνων για την ομάδα παρέμβασης με εμπλουτισμένο γιαούρτι.

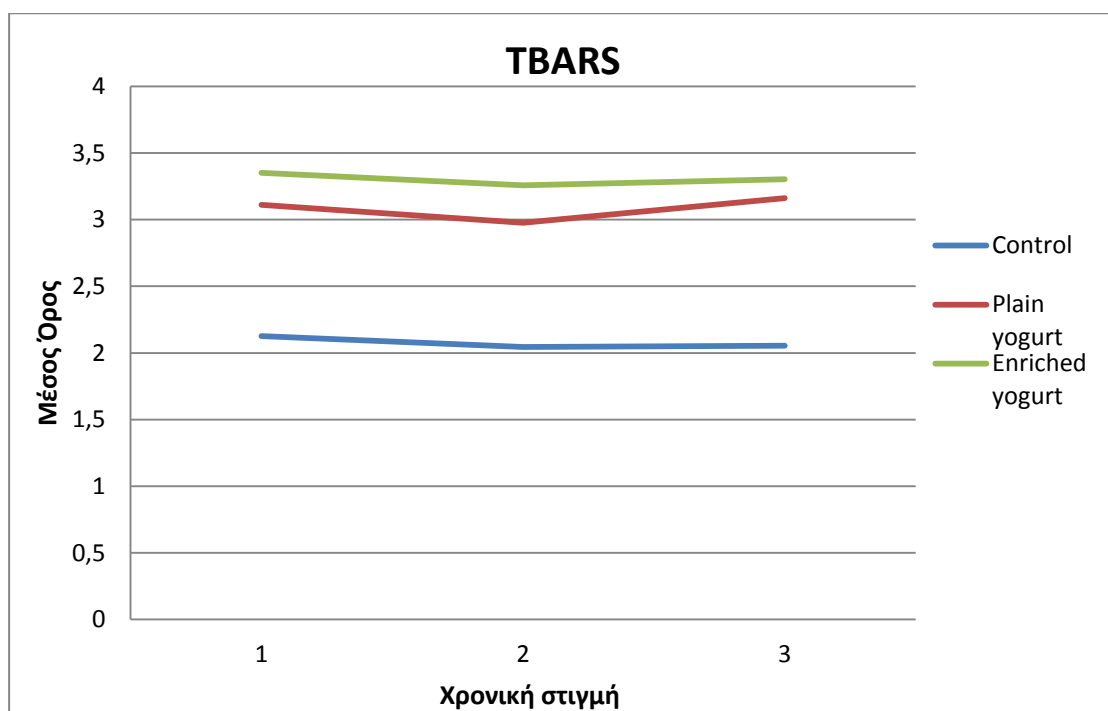
Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα, στην ομάδα παρέμβασης με εμπλουτισμένο γιαούρτι υπήρξε μικρή μείωση μεταξύ των χρόνων 0-1 και 0-2 στον δείκτη TBARS και αύξηση μεταξύ των χρόνων 0-1 και 0-2 στο ουρικό οξύ. Επειδή όμως προκύπτει $p > 0,05$ για όλα τα ζεύγη που εξετάστηκαν η διαφορά μεταξύ των τιμών δεν είναι στατιστικά σημαντική.

		Control	Plain yogurt	Enriched yogurt	
UA (N=69)	0	5,28 ± 1,72	4,92 ± 1,92	4,97 ± 1,74	$p_{\text{time}} = 0,697$
	1	5,32 ± 1,55	4,79 ± 1,68	5,28 ± 1,92	$p_{\text{time*trial}} = 0,657$
	2	5,25 ± 1,52	4,78 ± 1,67	5,10 ± 1,39	$p_{\text{trial}} = 0,618$
TBARS (N=67)	0	2,13 ± 1,36	3,11 ± 0,93	3,35 ± 1,34	$p_{\text{time}} = 0,552$
	1	2,04 ± 1,16	2,98 ± 0,77	3,26 ± 1,38	$p_{\text{time*trial}} = 0,953$
	2	2,05 ± 1,13	3,16 ± 1,24	3,30 ± 1,18	$p_{\text{trial}} = 0,001$

Πίν. 12: Repeated measures ANOVA, έλεγχος της διαφοροποίησης ανάμεσα στις τρεις παρεμβάσεις.



Σχ. 2: Μέσοι όροι τιμών ουρικού οξέος ως προς το χρόνο.

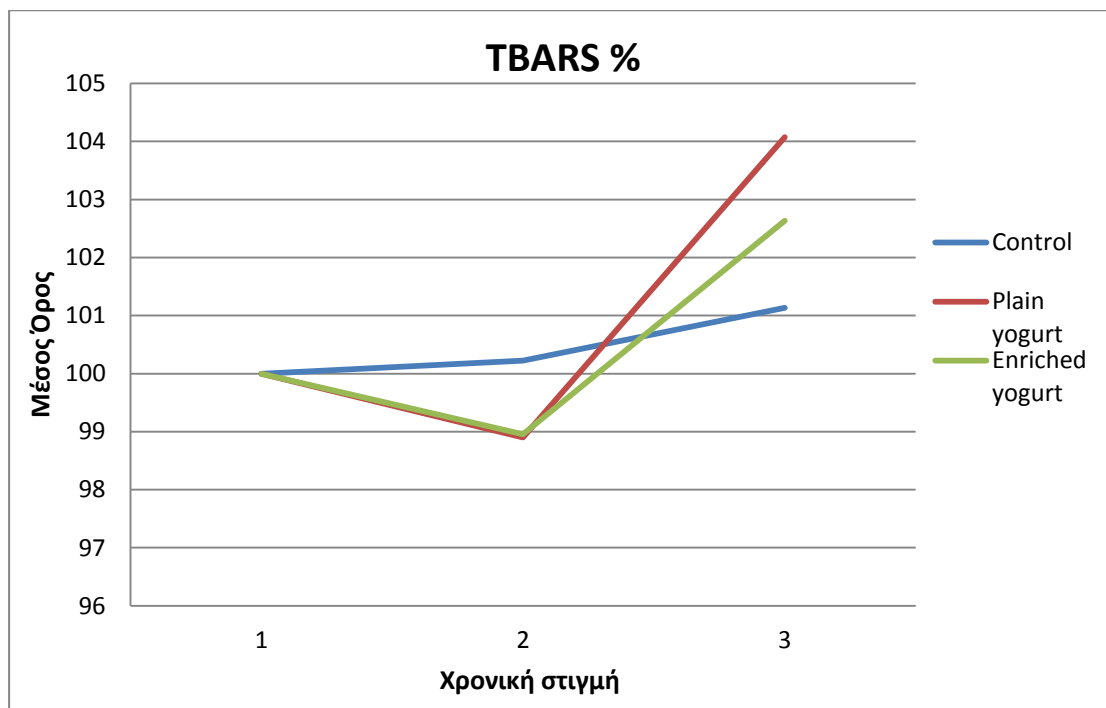


Σχ. 3: Μέσοι όροι τιμών TBARS ως προς το χρόνο.

Από τα αποτελέσματα της δοκιμασίας repeated measures ANOVA προκύπτει πως δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά του μέσου όρου μεταξύ των χρονικών στιγμών και για τους δύο δείκτες ($p_{\text{time}} > 0,05$). Επίσης δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά της σχηματικής κατανομής των τιμών ($p_{\text{time} \times \text{trial}} > 0,05$). Όσον αφορά τη διαφορά του μέσου όρου μεταξύ των παρεμβάσεων, για το ουρικό οξύ είναι μη στατιστικά σημαντική ($p_{\text{trial}} > 0,05$) ενώ για τα TBARS είναι στατιστικά σημαντική ($p_{\text{trial}} < 0,05$). Αυτό ερευνείται περεταίρω με επανάληψη του repeated measures ANOVA μετά από μετατροπή των δεδομένων σε ποσοστιαία μεταβολή από την αρχή της παρέμβασης (χρόνο 0).

	Control	Plain yogurt	Enriched yogurt	
TBARS	100	100	100	$p_{\text{time}} = 0,557$
%	100,26 ± 26,36	98,90 ± 20,15	98,96 ± 23,38	$p_{\text{time} \times \text{trial}} = 0,986$
	101,13 ± 29,00	104,07 ± 29,78	102,63 ± 25,98	$p_{\text{trial}} = 0,991$

Πίν. 13: Repeated measures ANOVA για το δείκτη TBARS ως ποσοστιαία μεταβολή από την αρχή της παρέμβασης.



Σχ. 3: Μέσοι όροι τιμών TBARS με τη μορφή ποσοστιαίας μεταβολής, ως προς το χρόνο.

Προκύπτει $p_{\text{trial}} > 0,05$ άρα τελικά δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των παρεμβάσεων.

Συζήτηση

Ο τομέας του οξειδωτικού stress παρουσιάζει ερευνητικό ενδιαφέρον λόγω της συσχέτισής του με πλήθος παθολογικών καταστάσεων, γι αυτό και η χρήση αντιοξειδωτικών ουσιών για την πρόληψη και διαχείριση νοσημάτων βρίσκεται συχνά υπό εξέταση. Από τα τρόφιμα που έχουν εξεταστεί έμφαση δίνεται στο ελαιόλαδο, τόσο αυτούσιο όσο και ως βασικό κομμάτι της Μεσογειακής Δίαιτας η οποία έχει ευεργετικές δράσεις στην υγεία. Κατά συνέπεια και τα παραπροϊόντα ελαιουργίας αποτελούν πιθανή πηγή αντιοξειδωτικών παραγόντων της μορφής βιολογικά δραστικών λιποειδών. Η παρέμβαση αυτή εστίασε στην επίδραση των Β.Δ.Λ. σε συνδυασμό με γιαούρτι στους δείκτες οξειδωτικού stress των εθελοντών.

Τα αποτελέσματα του δείκτη TBARS παρουσίασαν μια τάση μείωσης στην πρώτη μέτρηση που όμως αντιστράφηκε σε αύξηση μέχρι το τέλος της παρέμβασης. Οι διαφορές των τιμών ήταν μικρές και τα αποτελέσματα δεν θεωρούνται στατιστικά σημαντικά. Τα αποτελέσματα του ουρικού οξέος ήταν πιο απρόβλεπτα, με διαφορετικές αυξομειώσεις σε κάθε ομάδα που όμως επίσης δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Συνολικά δεν υπήρχε επίδραση της παρέμβασης εντός των ομάδων ούτε μεταξύ τους, και η μόνη στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε στην

ομάδα control στον δείκτη TBARS όπου οι τιμές ήταν χαμηλότερες από τις άλλες δυο ομάδες εξ αρχής.

Εξετάζοντας μελέτες παρόμοιας μεθόδου φαίνεται πως η κατανάλωση γιαουρτιού εμπλουτισμένου με ουσίες που ενδέχεται να έχουν αντιοξειδωτική δράση κατά κανόνα δεν έχει αποτέλεσμα στους δείκτες οξειδωτικού stress σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Μελέτη με προβιοτικά έχει δείξει ότι αυτά μπορεί να προκαλούν μείωση κάποιων δεικτών εντός της ομάδας παρέμβασης (πρωτεϊνικά καρβονύλια, ισοπροσταγλαδίνη) αλλά όχι των υπολοίπων που μετρήθηκαν (8οχοG, δείκτες φλεγμονής), και τα αποτελέσματα αυτά δεν ήταν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ομάδων. (Mohammadi et al., 2015) Σε άλλη περίπτωση παρέμβασης με προβιοτικό γιαούρτι φάνηκε μείωση στους δείκτες GPx και 8οχοG, και πάλι όμως μόνο εντός της ομάδας. (Asemi et al., 2012) Αντίστοιχη μελέτη με μικρότερη ποσότητα γιαουρτιού εμφάνισε μεταβολές σε αρκετούς δείκτες κατά τη διάρκεια της παρέμβασης (Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα, Ουρικό οξύ, MDA, καταλάση, αντιοξειδωτικές βιταμίνες) που επίσης δεν παρέμειναν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ομάδων. (Fabian & Elmadfa, 2007) Σε μία περίπτωση παρέμβασης με γιαούρτι εμπλουτισμένο με πολυφαινόλες ελιάς υπήρξε μείωση μόνο στο δείκτη TBARS ενώ μετρήθηκαν αρκετοί. Τα αποτελέσματα αυτά ήταν εντός της ομάδας που κατανάλωνε το εμπλουτισμένο γιαούρτι, δηλαδή και πάλι δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων. (Georgakouli et al., 2016)

Από τα παραπάνω προκύπτει πως ίσως και το απλό και το εμπλουτισμένο γιαούρτι επηρεάζουν τους δείκτες οξειδωτικού stress, ή χρειάζεται περισσότερη διερεύνηση των ουσιών που χρησιμοποιούνται στον εμπλουτισμό και οι δόσεις αυτών. Αντίθετα με την παρούσα μελέτη, οι περισσότερες παρεμβάσεις δεν είχαν ομάδα ελέγχου χωρίς αλλαγές στη διατροφή οπότε μπορούσε να γίνει σύγκριση μόνο μεταξύ του απλού και εμπλουτισμένου γιαουρτιού, και όχι εκτίμηση της επίδρασης του ίδιου του γιαουρτιού στους δείκτες που μετρήθηκαν. Κατά συνέπεια είναι δύσκολο να συγκριθούν και να διασταυρωθούν τα αποτελέσματα που προέκυψαν.

Συμπεράσματα

Η κατανάλωση γιαουρτιού εμπλουτισμένου με αναστολείς του PAF δεν φάνηκε να έχει επίδραση στους δείκτες οξειδωτικού stress σε φαινομενικά υγιείς ενήλικες. Το πεδίο είναι όμως ανοιχτό για περεταίρω διερεύνηση της επίδρασης του γιαουρτιού στο οξειδωτικό

stress, καθώς και την επίδραση των Β.Δ.Λ. από παραπροϊόντα της ελαιουργίας χορηγούμενα με διαφορετικές μεθόδους.

Βιβλιογραφία

- Amador-Licona, N., Diaz-Murillo, T. A., Gabriel-Ortiz, G., Pacheco-Moises, F. P., Pereyra-Nobara, T. A., Guizar-Mendoza, J. M., . . . Vazquez-Valls, E. (2016). Omega 3 Fatty Acids Supplementation and Oxidative Stress in HIV-Seropositive Patients. A Clinical Trial. *PLoS One*, 11(3), e0151637. doi: 10.1371/journal.pone.0151637
- Antonopoulou, S., Fragopoulou, E., Karantonis, H. C., Mitsou, E., Sitara, M., Rementzis, J., . . . Phenekos, C. (2006). Effect of traditional Greek Mediterranean meals on platelet aggregation in normal subjects and in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Med Food*, 9(3), 356-362. doi: 10.1089/jmf.2006.9.356
- Antonopoulou, S., Nomikos, T., Karantonis, H. C., Fragopoulou, E., & Demopoulos, C. A. (2008). PAF, a potent lipid mediator. In A. D. Tselepis (Ed.), *Bioactive Phospholipids. Role in Inflammation and Atherosclerosis*.
- Aoyama, T., Paik, Y. H., Watanabe, S., Laleu, B., Gaggini, F., Fioraso-Cartier, L., . . . Brenner, D. A. (2012). Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase in experimental liver fibrosis: GKT137831 as a novel potential therapeutic agent. *Hepatology*, 56(6), 2316-2327. doi: 10.1002/hep.25938
- Aronis, P., Antonopoulou, S., Karantonis, H. C., Phenekos, C., & Tsoukatos, D. C. (2007). Effect of fast-food Mediterranean-type diet on human plasma oxidation. *J Med Food*, 10(3), 511-520. doi: 10.1089/jmf.2006.235
- Asemi, Z., Jazayeri, S., Najafi, M., Samimi, M., Mofid, V., Shidfar, F., . . . Esmailzadeh, A. (2012). Effect of daily consumption of probiotic yogurt on oxidative stress in pregnant women: a randomized controlled clinical trial. *Ann Nutr Metab*, 60(1), 62-68. doi: 10.1159/000335468
- Burgoyne, J. R., Mongue-Din, H., Eaton, P., & Shah, A. M. (2012). Redox signaling in cardiac physiology and pathology. *Circ Res*, 111(8), 1091-1106. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.255216
- Cervantes Gracia, K., Llanas-Cornejo, D., & Husi, H. (2017). CVD and Oxidative Stress. *J Clin Med*, 6(2). doi: 10.3390/jcm6020022
- Damjanov, I. (2009). *Pathophysiology* (1st ed.). Philadelphia: Saunders/Elsevier.
- Dawczynski, C., Massey, K. A., Ness, C., Kiehntopf, M., Stepanow, S., Platzer, M., . . . Jahreis, G. (2013). Randomized placebo-controlled intervention with n-3 LC-PUFA-supplemented yoghurt: effects on circulating eicosanoids and cardiovascular risk factors. *Clin Nutr*, 32(5), 686-696. doi: 10.1016/j.clnu.2012.12.010
- Demopoulos, C. A., Karantonis, H. C., & Antonopoulou, S. (2003). Platelet activating factor ? a molecular link between atherosclerosis theories European Journal of Lipid Science and Technology Volume 105, Issue 11. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105(11), 705-716. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejlt.200300845/abstract>

- Detopoulou, P., Demopoulos, C. A., & Antonopoulou, S. (2013). Mediterranean diet in a new perspective: A Systematic review for its benefits regarding mortality and cardiovascular disease and potential protective mechanisms. *Hellenic Journal of Nutrition & Dietetics*, 4(1), 27-43.
- Fabian, E., & Elmadfa, I. (2007). The effect of daily consumption of probiotic and conventional yoghurt on oxidant and anti-oxidant parameters in plasma of young healthy women. *Int J Vitam Nutr Res*, 77(2), 79-88. doi: 10.1024/0300-9831.77.2.79
- Fragopoulou, E., Detopoulou, P., Nomikos, T., Pliakis, E., Panagiotakos, D. B., & Antonopoulou, S. (2012). Mediterranean wild plants reduce postprandial platelet aggregation in patients with metabolic syndrome. *Metabolism*, 61(3), 325-334. doi: 10.1016/j.metabol.2011.07.006
- Frijhoff, J., Winyard, P. G., Zarkovic, N., Davies, S. S., Stocker, R., Cheng, D., . . . Ghezzi, P. (2015). Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress. *Antioxid Redox Signal*, 23(14), 1144-1170. doi: 10.1089/ars.2015.6317
- Georgakouli, K., Mpesios, A., Kouretas, D., Petrotos, K., Mitsagga, C., Giavasis, I., & Jamurtas, A. Z. (2016). The Effects of an Olive Fruit Polyphenol-Enriched Yogurt on Body Composition, Blood Redox Status, Physiological and Metabolic Parameters and Yogurt Microflora. *Nutrients*, 8(6). doi: 10.3390/nu8060344
- Guermouche, B., Soulimane-Mokhtari, N. A., Bouanane, S., Merzouk, H., Merzouk, S., & Narce, M. (2014). Effect of dietary n - 3 polyunsaturated fatty acids on oxidant/antioxidant status in macrosomic offspring of diabetic rats. *Biomed Res Int*, 2014, 368107. doi: 10.1155/2014/368107
- Halliwell, B. (2007). Oxidative stress and cancer: have we moved forward? *Biochem J*, 401(1), 1-11. doi: 10.1042/BJ20061131
- Hart, M. N., Loeffler, A. G., & Kent, T. H. (2012). *Introduction to human disease : pathophysiology for health professionals* (5th ed.). Sudbury, MA: Jones & Bartlett Learning.
- Ho, E., Karimi Galougahi, K., Liu, C. C., Bhindi, R., & Figtree, G. A. (2013). Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biol*, 1, 483-491. doi: 10.1016/j.redox.2013.07.006
- Hwang, O. (2013). Role of oxidative stress in Parkinson's disease. *Exp Neurobiol*, 22(1), 11-17. doi: 10.5607/en.2013.22.1.11
- Ivey, K. L., Hodgson, J. M., Kerr, D. A., Thompson, P. L., Stojceski, B., & Prince, R. L. (2015). The effect of yoghurt and its probiotics on blood pressure and serum lipid profile; a randomised controlled trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 25(1), 46-51. doi: 10.1016/j.numecd.2014.07.012
- Karantonis, H. C., Antonopoulou, S., & Demopoulos, C. A. (2002). Antithrombotic lipid minor constituents from vegetable oils. Comparison between olive oils and others. *J Agric Food Chem*, 50(5), 1150-1160.
- Karantonis, H. C., Fragopoulou, E., Antonopoulou, S., Rementzis, J., Phenekos, C., & Demopoulos, C. A. (2006). Effect of fast-food Mediterranean-type diet on type 2 diabetics and healthy human subjects' platelet aggregation. *Diabetes Res Clin Pract*, 72(1), 33-41. doi: 10.1016/j.diabres.2005.09.003
- Kayama, Y., Raaz, U., Jagger, A., Adam, M., Schellinger, I. N., Sakamoto, M., . . . Tsao, P. S. (2015). Diabetic Cardiovascular Disease Induced by Oxidative Stress. *Int J Mol Sci*, 16(10), 25234-25263. doi: 10.3390/ijms161025234

- Li, C., Miao, X., Li, F., Wang, S., Liu, Q., Wang, Y., & Sun, J. (2017). Oxidative Stress-Related Mechanisms and Antioxidant Therapy in Diabetic Retinopathy. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 9702820. doi: 10.1155/2017/9702820
- Liapikos, T. A., Antonopoulou, S., Karabina, S. P., Tsoukatos, D. C., Demopoulos, C. A., & Tselepis, A. D. (1994). Platelet-activating factor formation during oxidative modification of low-density lipoprotein when PAF-acetylhydrolase has been inactivated. *Biochim Biophys Acta*, 1212(3), 353-360.
- Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact*, 224, 164-175. doi: 10.1016/j.cbi.2014.10.016
- Lusis, A. J. (2000). Atherosclerosis. *Nature*, 407(6801), 233-241. doi: 10.1038/35025203
- Mannarino, E., & Pirro, M. (2008). Molecular biology of atherosclerosis. *Clin Cases Miner Bone Metab*, 5(1), 57-62.
- Mattias Öberg, M. S. J., Annette Prüss-Üstün, Christian Schweizer, Alistair Woodward. (2010). *Second hand smoke: Assessing the burden of disease at national and local levels* Vol. WHO Environmental Burden of Disease Series, No. 18
- Mendis, S., Puska, P., & Norrving, B. (2011). *Global atlas on cardiovascular disease prevention and control*
- Mohammadi, A. A., Jazayeri, S., Khosravi-Darani, K., Solati, Z., Mohammadpour, N., Asemi, Z., . . . Eghtesadi, S. (2015). Effects of Probiotics on Biomarkers of Oxidative Stress and Inflammatory Factors in Petrochemical Workers: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial. *Int J Prev Med*, 6, 82. doi: 10.4103/2008-7802.164146
- Moore, K. J., & Tabas, I. (2011). Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis. *Cell*, 145(3), 341-355. doi: 10.1016/j.cell.2011.04.005
- Nasopoulou, C., Nomikos, T., Demopoulos, C. A., & Zabetakis, I. (2007). Comparison of antiatherogenic properties of lipids obtained from wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Food Chemistry*, 100(2), 560-567. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.074>
- Nikooyeh, B., Neyestani, T. R., Tayebinejad, N., Alavi-Majd, H., Shariatzadeh, N., Kalayi, A., . . . Salekzamani, S. (2014). Daily intake of vitamin D- or calcium-vitamin D-fortified Persian yogurt drink (doogh) attenuates diabetes-induced oxidative stress: evidence for antioxidative properties of vitamin D. *J Hum Nutr Diet*, 27 Suppl 2, 276-283. doi: 10.1111/jhn.12142
- Nomikos, T., Fragopoulou, E., & Antonopoulou, S. (2007). Food Ingredients and Lipid Mediators. *Current Nutrition & Food Science*.
- Pan, Z., Kravchenko, V. V., & Ye, R. D. (1995). Platelet-activating factor stimulates transcription of the heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in monocytes. Correlation with an increased kappa B binding activity. *J Biol Chem*, 270(14), 7787-7790.
- Piepoli, M. F., Hoes, A. W., Agewall, S., Albus, C., Brotons, C., Catapano, A. L., . . . Authors/Task Force, M. (2016). 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J*, 37(29), 2315-2381. doi: 10.1093/eurheartj/ehw106

- Puska, P., Korpelainen, V., Hoie, L. H., Skovlund, E., & Smerud, K. T. (2004). Isolated soya protein with standardised levels of isoflavones, cotyledon soya fibres and soya phospholipids improves plasma lipids in hypercholesterolaemia: a double-blind, placebo-controlled trial of a yoghurt formulation. *Br J Nutr*, 91(3), 393-401. doi: 10.1079/BJN20031074
- Rehm, J., Baliunas, D., Borges, G. L., Graham, K., Irving, H., Kehoe, T., . . . Taylor, B. (2010). The relation between different dimensions of alcohol consumption and burden of disease: an overview. *Addiction*, 105(5), 817-843. doi: 10.1111/j.1360-0443.2010.02899.x
- Richard, D., Kefi, K., Barbe, U., Bausero, P., & Visioli, F. (2008). Polyunsaturated fatty acids as antioxidants. *Pharmacol Res*, 57(6), 451-455. doi: 10.1016/j.phrs.2008.05.002
- Rochette, L., Zeller, M., Cottin, Y., & Vergely, C. (2014). Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochim Biophys Acta*, 1840(9), 2709-2729. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.05.017
- Tabas, I., Garcia-Cardena, G., & Owens, G. K. (2015). Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis. *J Cell Biol*, 209(1), 13-22. doi: 10.1083/jcb.201412052
- Tsantila, N., Karantonis, H. C., Perrea, D. N., Theocharis, S. E., Iliopoulos, D. G., Antonopoulou, S., & Demopoulos, C. A. (2007). Antithrombotic and antiatherosclerotic properties of olive oil and olive pomace polar extracts in rabbits. *Mediators Inflamm*, 2007, 36204. doi: 10.1155/2007/36204
- Tsantila, N., Karantonis, H. C., Perrea, D. N., Theocharis, S. E., Iliopoulos, D. G., Iatrou, C., . . . Demopoulos, C. A. (2010). Atherosclerosis regression study in rabbits upon olive pomace polar lipid extract administration. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 20(10), 740-747. doi: 10.1016/j.numecd.2009.06.008
- Usman, A., Ribatti, D., Sadat, U., & Gillard, J. H. (2015). From Lipid Retention to Immune-Mediate Inflammation and Associated Angiogenesis in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*, 22(8), 739-749. doi: 10.5551/jat.30460
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39(1), 44-84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001
- Violi, F., Basili, S., Nigro, C., & Pignatelli, P. (2009). Role of NADPH oxidase in atherosclerosis. *Future Cardiol*, 5(1), 83-92. doi: 10.2217/14796678.5.1.83
- WHO. (2011). Causes of death 2008: data sources and methods
http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/cod_2008_sources_methods.pdf
- WHO, & FAO. (2003). *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases*
- Xanthopoulou, M. N., Kalathara, K., Melachroinou, S., Arampatzi-Menenakou, K., Antonopoulou, S., Yannakoulia, M., & Fragopoulou, E. (2017). Wine consumption reduced postprandial platelet sensitivity against platelet activating factor in healthy men. *Eur J Nutr*, 56(4), 1485-1492. doi: 10.1007/s00394-016-1194-0
- Αντωνοπούλου, Σ., & Δημόπουλος, Κ. Α. (2007). Αθηρογένεση. Αναστολή σχηματισμού και υποστροφή αθηρωματικών πλακών. *Καρδιολογική Γνώμη*.

Παράρτημα

Κατάλογος Εικόνων

Εικ. 1: Σταθερές αθηρωματικές πλάκες	14
Εικ. 2: Ασταθείς αθηρωματικές πλάκες	15
Εικ. 3: Εμπλοκή του PAF στην αθηρογένεση	33

Κατάλογος Πινάκων

Πίν. 1: Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων.....	10
Πίν. 2: Στόχοι προς περιορισμό του κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακών παθήσεων	11
Πίν. 3: Δραστικές μορφές οξυγόνου	16
Πίν. 4: Παρεμβάσεις κατανάλωσης γιαουρτιού	23
Πίν. 5: Δείκτες οξειδωτικού stress.....	27
Πίν. 6: Κανόνες τυχαιοποίησης για την ένταξη των εθελοντών σε ομάδες	39
Πίν. 7: Έλεγχος της κανονικότητας των παραμέτρων.....	42
Πίν. 8: One way ANOVA, σύγκριση των τιμών ανάμεσα στις τρεις ομάδες στο χρόνο 0	43
Πίν. 9: Paired t-test, σύγκριση των τιμών μεταξύ των χρόνων για την ομάδα ελέγχου.....	44
Πίν. 10: Paired t-test, σύγκριση των τιμών μεταξύ των χρόνων για την ομάδα παρέμβασης με απλό γιαούρτι.....	44
Πίν. 11: Paired t-test, σύγκριση των τιμών μεταξύ των χρόνων για την ομάδα παρέμβασης με εμπλουτισμένο γιαούρτι.....	44
Πίν. 12: Repeated measures ANOVA, έλεγχος της διαφοροποίησης ανάμεσα στις τρεις παρεμβάσεις.....	45
Πίν. 13: Repeated measures ANOVA για το δείκτη TBARS ως ποσοστιαία μεταβολή από την αρχή της παρέμβασης	46

Κατάλογος Σχημάτων

Σχ. 1: Διάγραμμα ροής εθελοντών	40
Σχ. 2: Μέσοι όροι τιμών ουρικού οξέος ως προς το χρόνο.....	45
Σχ. 3: Μέσοι όροι τιμών TBARS ως προς το χρόνο.....	5346
Σχ. 4: Μέσοι όροι τιμών TBARS με τη μορφή ποσοστιαίας μεταβολής, ως προς το χρόνο.....	47