



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

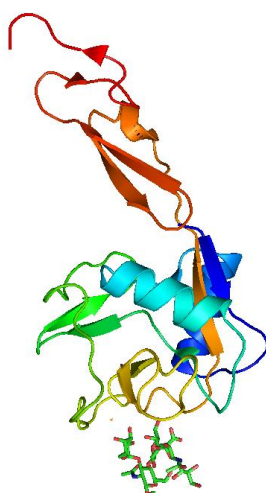
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

«Δείκτες παχυσαρκίας και επίπεδα sr-σελεκτίνης σε παιδιά και εφήβους»

Τασσιού Αικατερίνη Μαρία

214095



Αθήνα, 2019



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Καράτζη Καλλιόπη-Ζαφειρένια (Επιβλέπουσα καθηγήτρια)

Εργαστηριακό Διδακτικό Προσωπικό, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας και
Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Μανιός Ιωάννης

Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής, Χαροκόπειο
Πανεπιστήμιο

Νομικός Τζώρτζης

Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Εγώ, η Τασσιού Αικατερίνη Μαρία,

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.

*Αφιερωμένη στην οικογένεια μου,
που αποτέλεσε στήριγμα και
έμπνευση μου καθ' όλη την έως τώρα
πορεία μου.*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ την επιβλέπουσα καθηγήτρια της πτυχιακής μου εργασίας, Κα Καρατζή Καλλιόπη, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με το πρωτοποριακό αυτό θέμα, καθώς και για την πολύ καλή συνεργασία που είχαμε, λόγω της εξαιρετικής καθοδήγησης της και της εμπιστοσύνης που μου έδειξε.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης τον Κο Νομικό Τζώρτζη, ο οποίος επέβλεπε τα πειράματα που πραγματοποίησα για το ερευνητικό κομμάτι της πτυχιακής μου και με βοήθησε να νιώσω αυτοπεποίθηση όσον αφορά στην διεξαγωγή μετρήσεων εντός ενός επιστημονικού εργαστηρίου, υποδεικνύοντας μου τον τρόπο εφαρμογής του πρωτοκόλλου ELISA.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τις Διδακτορικές και Μεταδιδακτορικές φοιτήτριες του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, με τις οποίες συνυπήρχα στο εργαστήριο και με ιδιαίτερη προθυμία θέλησαν να μοιραστούν μαζί μου τη γνώση και την εμπειρία τους στη διεξαγωγή βιοχημικών πειραμάτων. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως και τον υποψήφιο Μεταδιδάκτορα Κο Σπύρο Μεθενίτη, για τις πιπέτες ακριβείας του, τις οποίες μου δάνεισε για τα πειράματα μου.

Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Κο Μανιό Ιωάννη, ο οποίος μου εμπιστεύτηκε τα δείγματα της Healthy Growth Study και μου παρείχε όλα τα δεδομένα αυτής, για την υλοποίηση του ερευνητικού μέρους της εργασίας μου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω και την οικογένεια μου που φρόντισε να έχω την απαραίτητη ησυχία, αλλά και ψυχική ηρεμία, ώστε να μπορέσω να πραγματοποιήσω τη συγγραφή της πτυχιακής μου μελέτης.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ:	8
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ:	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ:	10
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ:	11
ΕΙΣΑΓΩΓΗ:	12
1 ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΣΥΝΝΟΣΥΡΟΤΗΤΑ	
1.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ	12
1.2 ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ	12
1.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ	13
1.4 ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ	16
1.5 ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΚΑΙ ΣΥΝΟΔΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	17
2 sP – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ	
2.1 ΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	20
2.1.1 ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ ΚΑΙ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗ	23
2.1.2 ΔΕΙΚΤΕΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ	26
2.2 sP – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ – ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ	28
3 sP – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ, ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ	
3.1 ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ	33
3.2 sP – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ	36
3.3 sP – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ, ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΚΑΙ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ ΣΤΟΥΣ ΕΝΗΛΙΚΕΣ	37
3.4 sP – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ, ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΚΑΙ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ	40
ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΚΕΝΟ:	42
ΣΚΟΠΟΣ:	42
4 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ:	43
4.1 ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	43
4.2 ΔΕΙΜΑΤΟΛΗΨΙΑ-ΤΥΧΑΙΟΠΟΙΗΣΗ	44
4.3 ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	44
4.3.1 ΥΨΟΣ – ΒΑΡΟΣ	44
4.3.2 ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΙ ΜΕΣΟΥ ΒΡΑΧΙΟΝΑ, ΜΕΣΗΣ ΚΑΙ ΙΣΧΙΟΥ	45
4.3.3 ΟΡΙΣΜΟΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΚΑΙ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ	45
4.3.4 ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΛΙΠΟΥΣ	45
4.4 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΠΑΙΔΙΩΝ	46
4.4.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ	46
4.4.2 ΣΤΑΔΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΚΑΤΑ TANNER	47
4.5 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ	47
4.5.1 ΑΝΑΚΛΗΣΕΙΣ 24ΩΡΟΥ	47
4.6 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΦΥΣΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ	48
4.7 ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ	48
4.8 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ELISA	50
4.8.1 ΕΠΙΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	50
4.8.2 ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ELISA	51
4.8.3 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ	51

4.8.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ – ΠΡΟΤΟΚΟΛΛΟ ELISA	52
4.8.5 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ.....	53
4.9 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	54
5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:	55
5.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ	55
5.2 ΣΥΣΤΑΣΗ ΣΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ	57
5.3 ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ	59
5.4 ΣΤΑΔΙΟ TANNER ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ.....	60
5.5 ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ.....	61
5.6 ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ sP ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ.....	62
ΣΥΖΗΤΗΣΗ:	64
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ:	70
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:	72

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Ο Επιπολασμός της παχυσαρκίας στον ενήλικο πληθυσμό έχει αυξηθεί δραματικά τις τελευταίες δεκαετίες, δημιουργώντας μεγάλη ανησυχία λόγω των δυσμενών επιπτώσεων που έχει στην υγεία του ανθρώπου. Ακόμη πιο ανησυχητική είναι η ραγδαία αύξηση της παχυσαρκίας στα παιδιά και στους εφήβους, καθώς αποτελεί το έναυσμα για την ανάπτυξη μόνιμων αγγειακών βλαβών, οι οποίες ακολουθώντας αυξάνουν τον καρδιαγγειακό κίνδυνο κατά την ενήλικη ζωή. Στην ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης, κύριο ρόλο κατέχουν η αιμοπεταλιακή και ενδοθηλιακή ενεργοποίηση. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της σχέσης ενός δείκτη ενεργοποίησης αιμοπεταλίων και αρτηριακών ενδοθηλιακών κυττάρων, της διαλυτής μορφής της πρωτεΐνης P-σελεκτίνης (sP-σελεκτίνη), με δείκτες παχυσαρκίας σε ικανό δείγμα παιδιών και εφήβων από τέσσερις διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας.

Μεθοδολογία: Η μελέτη Healthy Growth αποτελεί μία συγχρονική (cross-sectional) επιδημιολογική μελέτη με δείγμα 2.294 παιδιά σχολικής-προεφηβικής ηλικίας (9 έως 13 ετών), από τέσσερις μεγάλες περιοχές της Ελλάδας. Στην παρούσα μελέτη προσδιορίστηκαν επιπλέον τα επίπεδα sP-σελεκτίνης πλάσματος σε 1.180 παιδιά από το παραπάνω δείγμα, με το DuoSet ELISA kit του εμπορίου (R&D SYSTEMS). Τελικά χρησιμοποιήθηκαν 1.154 παιδιά (49,5% αγόρια) με πλήρη δεδομένα σχετικά με τα ανθρωπομετρικά τους χαρακτηριστικά, τη σύσταση σώματος και ορισμένους αιματολογικούς δείκτες.

Αποτελέσματα: Στα κορίτσια, τα επίπεδα sP-σελεκτίνης είχαν στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με την κεντρική παχυσαρκία και την περίμετρο μέσης, την ύπαρξη ινσουλινοαντίστασης, το στάδιο βιολογικής ωρίμανσης Tanner και τον αριθμό αιμοπεταλίων, ανεξάρτητα από συγχυτικούς παράγοντες. Τόσο στα αγόρια, όσο και στα κορίτσια, βρέθηκε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα του δείγματος με το μέσο όγκο αιμοπεταλίων, και στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με το δείκτη οξειδωτικού στρες GPx3, ανεξάρτητα από συγχυτικούς παράγοντες.

Συμπέρασμα: Τα επίπεδα sP-σελεκτίνης, συσχετίζονται θετικά στα κορίτσια με την κεντρική παχυσαρκία και την ύπαρξη ινσουλινοαντίστασης, αναδεικνύοντας την ανάγκη για πρώιμη ανίχνευση παχύσαρκων κοριτσιών με ινσουλινοαντίσταση, ώστε να διασφαλιστεί η έγκαιρη παρέμβαση σε μικρή ηλικία και μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου στη μετέπειτα ζωή.

Λέξεις Κλειδιά: Παιδική Παχυσαρκία, Δείκτες Παχυσαρκίας, Αθηρωμάτωση, Αιμοπετάλια, sP-σελεκτίνη

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ (ABSTRACT)

Introduction: Obesity prevalence in adult population dramatically increased the past few decades, causing a huge concern due to its adverse effects on human health. The rapid increase of obesity in children and adolescents is even more alarming, as it triggers the development of permanent vascular lesions, which subsequently increase cardiovascular risk in adulthood. Platelet and endothelial activation play a major role in the development of atherosclerosis. The aim of the present study is to investigate the relationship between the soluble form of P-selectin (sP-selectin), which is a marker of platelet and arterial endothelial cell activation, and obesity markers in a numerically competent sample of children and adolescents from four different regions of Greece.

Methodology: Healthy Growth Study is a cross-sectional epidemiological study conducted in 2,294 children of school-prepuberty age (9 to 13 years old), from four major regions of Greece. In the present study, plasma levels of sP-selectin were additionally determined in 1,180 children of the above sample, with the DuoSet ELISA commercial kit (R&D SYSTEMS). Eventually, 1,154 of these children (49.5% boys), with full data on their anthropometric characteristics, body composition and specific hematological markers, were used for the study.

Results: Only in girls, sP-selectin levels had significant positive associations with central obesity and waist circumference, insulin resistance, Tanner's stage and platelet count, regardless of the confounders used. In both boys and girls, there was a significant negative association of sP-selectin plasma levels with mean platelet volume and a significant positive association with GPx3 index of oxidative stress, regardless of the confounders used.

Conclusion: sP-selectin levels in girls, are significantly associated with central obesity and insulin resistance, requiring timely detection of obese and insulin resistant young girls, in order to ensure early prevention in this age and consequently reduction of cardiovascular risk later in life.

Keywords: Childhood Obesity, Obesity Markers, Atheromatosis, Platelets, sP-selectin

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.3.1 Παράγοντες κινδύνου παχυσαρκίας	14
Πίνακας 5.1.1 Βασικά ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού	56
Πίνακας 5.2.1 Ανάλυση διακύμανσης της κατανομής του πληθυσμού της μελέτης σε κατηγορίες βάρους και κατηγορίες περιμέτρου μέσης με τα επίπεδα sP-σελεκτίνης πλάσματος, ανά φύλο	57
Πίνακας 5.2.2 Αποτελέσματα του πολυπαραγοντικού μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης που αξιολόγησε την συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης (εξαρτημένη μεταβλητή) με το ΔΜΣ, την περίμετρο μέσης, το εκατοστιαίο ποσοστό του σωματικού λίπους, το εκατοστιαίο ποσοστό του λίπους του κορμού και το σπλαχνικό λίπος (ανεξάρτητες μεταβλητές), ανά φύλο, με διόρθωση για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες	58
Πίνακας 5.3.1 Ανάλυση διακύμανσης ανάμεσα στην ύπαρξη ινσουλινοαντίστασης και τα επίπεδα sP-σελεκτίνης πλάσματος, ανά φύλο	59
Πίνακας 5.3.2 Αποτελέσματα του πολυπαραγοντικού μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης που αξιολόγησε την συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης (εξαρτημένη μεταβλητή) με το HOMA _{IR} (ανεξάρτητη μεταβλητή), ανά φύλο, με διόρθωση για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες	60
Πίνακας 5.4.1 Ανάλυση διακύμανσης του σταδίου Tanner με τα επίπεδα sP-σελεκτίνης, ανά φύλο	60
Πίνακας 5.5.1 Αποτελέσματα του πολυπαραγοντικού μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης που αξιολόγησε την συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης (εξαρτημένη μεταβλητή) με το μέσο όγκο αιμοπεταλίων και τον αριθμό αιμοπεταλίων (ανεξάρτητες μεταβλητές), ανά φύλο, με διόρθωση για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες	62
Πίνακας 5.6.1 Αποτελέσματα του πολυπαραγοντικού μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης που αξιολόγησε την συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης (εξαρτημένη μεταβλητή) με τα επίπεδα GPx3 (ανεξάρτητες μεταβλητές), ανά φύλο, με διόρθωση για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες	63

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 2.1.1.1 Εικόνα αρτηρίας κατά τη σταδιακή διαμόρφωση αθηρωματικής πλάκας	25
Εικόνα 2.2.1. Βασική δομή Ρ-σελεκτίνης.....	29
Εικόνα 2.2.2 Μετατόπιση της sP-σελεκτίνης στην επιφάνεια ενεργοποιημένου ενδοθηλιακού κυττάρου και αιμοπεταλίου	30
Εικόνα 2.2.3. Λειτουργία Ρ-σελεκτίνης/PSGL-1.....	31
Εικόνα 2.2.4 Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων, ενδοθηλιακών κυττάρων και λευκοκυττάρων και μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις.....	32

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΣΥΝΝΟΣΥΡΟΤΗΤΑ

1.1. ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Η Παχυσαρκία δεν είναι μόνο πρόβλημα εμφάνισης, υπερβάλλοντος σωματικού βάρους και εναπόθεσης λίπους, αλλά αποτελεί ένα σύνθετο σύνδρομο με σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία. Τις τελευταίες δεκαετίες παρατηρείται δραματική αύξηση του επιπολασμού της παχυσαρκίας σε παγκόσμιο επίπεδο, ο οποίος έχει πλέον διαστάσεις επιδημιολογικού φαινομένου (Bastien, Poirier, Lemieux, & Després, 2014; Ng, Fleming, Robinson, Thomson, Graetz, Margono, & Abraham, 2014). Ο Επιπολασμός του υπέρβαρου και της παχυσαρκίας παγκοσμίως, αυξήθηκε κατά 27,5% στους ενήλικες και κατά 47,1% στα παιδιά, μεταξύ 1980 και 2013. Συνολικά, ο αριθμός των υπέρβαρων και παχύσαρκων ατόμων μεταξύ των ετών αυτών αυξήθηκε από 921 εκατομμύρια σε 2,1 δισεκατομμύρια (Aronian, 2016). Απομονώνοντας τα αποτελέσματα του ενήλικου πληθυσμού, ο αριθμός των ενηλίκων με υπερβαρότητα ή παχυσαρκία, αυξήθηκε από 28,8% (95% UI: 28,4-29,3) το 1980 σε 36,9% (36,3-37,4) το 2013 στους άνδρες και από 29,8% (29,3-30,2) σε 38,0% (37,5-38,5) στις γυναίκες. Η συγκεκριμένη αύξηση παρατηρήθηκε τόσο σε αναπτυγμένες όσο και σε αναπτυσσόμενες χώρες (Ng, et al, 2014). Ωστόσο, η αύξηση αυτή της παχυσαρκίας των ενηλίκων έφτασε σε «πλατό» στις αναπτυγμένες χώρες, μένοντας σχετικά σταθερή από το 2006 (Bastien, et al, 2014; Ng, et al, 2014).

1.2. ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ

Σημαντική αύξηση στον επιπολασμό της παχυσαρκίας παρατηρήθηκε επίσης σε παιδιά και εφήβους των αναπτυγμένων χωρών. Πιο αναλυτικά, 23,8% (22,9-24,7) των αγοριών 22,6% (21,7-23,6) των κοριτσιών βρέθηκαν υπέρβαρα ή παχύσαρκα το 2013. Στις αναπτυσσόμενες χώρες, ο επιπολασμός της παχυσαρκίας σε παιδιά και εφήβους αυξήθηκε παρομοίως, από 8,1% (7,7-8,6) σε 12,9% (12,3-13,5) το 2013 στα αγόρια και από 8,4% (8,1-8,8) σε 13,4% (13,0-13,9) στα κορίτσια (Ng, et al, 2014).

Τα συνεχώς αυξανόμενα ποσοστά της παχυσαρκίας είναι ιδιαίτερα ανησυχητικά, καθώς οι αρνητικές επιπτώσεις της παχυσαρκίας ξεκινούν ήδη από την παιδική ηλικία. Συγκεκριμένα σε προοπτική μελέτη που πραγματοποιήθηκε μεταξύ 1966 και 2003, σε πληθυσμό Ιθαγενών της Αμερικής γεννημένων μεταξύ 1945 και 1984, ο αυξημένος Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) στα παιδιά συσχετίστηκε θετικά με πρώιμο θάνατο στην ενήλικη ζωή (Aronian, 2016). Σε συμφωνία

έρχεται και μία ακόμη παρόμοια έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας, στην οποία βρέθηκε επίσης στενή σχέση μεταξύ ΔΜΣ στους εφήβους και ποσοστού θνησιμότητας από οποιοδήποτε αίτιο που αξιολογήθηκε κατά την ενηλικίωση του πληθυσμού (Bastien, et al, 2014). Στον επανέλεγχο που πραγματοποιήθηκε 31,5 χρόνια μετά, ο ΔΜΣ πάνω από το 95^ο τεταρτημόριο κατά την εφηβεία προέβλεψε αυξημένο ποσοστό θνησιμότητας στους ενήλικες, κατά 80% στους άνδρες και σχεδόν 100% στις γυναίκες σε σύγκριση με ενήλικες που είχαν ΔΜΣ μεταξύ 25^{ου} και 75^{ου} τεταρτημορίου κατά την εφηβεία (Bastien, et al, 2014). Σε εφήβους με λιγότερο αυξημένο ΔΜΣ, μεταξύ 85^{ου} και 95^{ου} τεταρτημορίου, αυτός συσχετίστηκε με 30% αύξηση του ποσοστού θνησιμότητας από οποιοδήποτε αίτιο κατά την ενηλικίωση. Τα αυξημένα αυτά ποσοστά θνησιμότητας σε ενήλικες που ήταν υπέρβαροι ή παχύσαρκοι ως παιδιά, παρατηρήθηκαν ανεξάρτητα από το ΔΜΣ τους κατά τον επανέλεγχο μετά την ενηλικίωση (Bastien, et al, 2014).

Είναι σημαντικό να τονισθεί ότι η παχυσαρκία στην εφηβεία είναι ισχυρός προγνωστικός δείκτης εμφάνισης στεφανιαίας νόσου κατά την ενήλικη ζωή, ανεξάρτητα από την διατήρηση της παχυσαρκίας (Desideri, De Simone, Iughetti, Rosato, Iezzi, Marinucci, ... & Ferri, 2005). Επιπλέον, όπως ήδη αναφέρθηκε, ενήλικες που ήταν υπέρβαροι ή παχύσαρκοι ως παιδιά, παρουσιάζουν αυξημένο ποσοστό θνησιμότητας σε σχέση με ενήλικες που είχαν φυσιολογικό βάρος κατά την παιδική και εφηβική ηλικία, ανεξάρτητα του παρόντος ΔΜΣ (Bastien, et al, 2014). Επομένως, η παχυσαρκία στην παιδική ηλικία ίσως αποτελεί το έναυσμα για την ανάπτυξη μόνιμων αγγειακών βλαβών, οι οποίες ακολουθώντας αυξάνουν τον καρδιαγγειακό κίνδυνο κατά την ενήλικη ζωή (Desideri, et al, 2005).

1.3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Η ακριβής αιτία του υπέρβαρου και της παχυσαρκίας δεν είναι γνωστή, ωστόσο φαίνεται πως είναι αποτέλεσμα μιας σύνθετης σχέσης μεταξύ βιολογικών, ψυχοκοινωνικών και συμπεριφορικών παραγόντων που συμπεριλαμβάνουν το γενετικό υπόβαθρο, την κοινωνικοοικονομική κατάσταση, και πολιτισμικές επιρροές. Κάποιοι από τους παράγοντες κινδύνου που έχουν συσχετιστεί με την ανάπτυξη παχυσαρκίας είναι μικροοργανισμοί, επιγενετικές επιδράσεις, η αυξανόμενη ηλικία μητρότητας, η υψηλότερη γονιμότητα, η μειωμένη διάρκεια ύπνου, ενδοκρινικές διαταραχές, η ιατρογενής νοσηρότητα από φαρμακευτική παρέμβαση, ενδομήτρες και κληρονομικές επιρροές (Aronian, 2016). Μερικά παραδείγματα συγκεκριμένων παραγόντων κινδύνου παχυσαρκίας δίνονται στον πίνακα 1.3.1.

Πίνακας 1.3.1 Παράγοντες κινδύνου παχυσαρκίας (Aronian, 2016).

ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ ΑΙΤΙΑ	ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗ ΑΙΤΙΑ	
Γενετικά <u>Μονογονιδιακές διαταραχές</u> Μετάλλαξη του υποδοχέα της μελανοκορτίνης – 4 Έλλειψη λεπτίνης Έλλειψη προ-οπιομελανοκορτίνης <u>Σύνδρομα</u> Prader – Willi Bardet – Biedl Cohen Alstrom Froehlich	Νευρολογικά Εγκεφαλικός τραυματισμός Εγκεφαλικός όγκος Συνέπειες κρανιακής ακτινοβολίας Υποθαλαμική παχυσαρκία Ενδοκρινικά Υποθυρεοειδισμός Σύνδρομο Cushing Έλλειψη αυξητικής ορμόνης Ψευδοϋποπαραθυρεοειδισμό Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών στις γυναίκες	Ψυχολογικά Κατάθλιψη Διατροφικές διαταραχές Επαγόμενα από φάρμακα Τρικυκλικά αντικαταθλιπτικά Αντισυλληπτικά χάπια Αντιψυχωσικά Αντισπασμωδικά Γλυκοκορτικοειδή Σουλφονουλourίες Γλιταζόνες β - Αποκλειστές

Το ανθρώπινο μικροβίωμα, τα βακτήρια οι ιοί τα ακάρεα και οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί στο εσωτερικό και την επιφάνεια του σώματος συχνά επηρεάζουν την παθοφυσιολογία του με διάφορους τρόπους, συμπεριλαμβανομένου της μεταβολής της μεταβολικής λειτουργίας. Σύμφωνα με έρευνες η φυσιολογική εντερική μικροχλωρίδα μπορεί να αυξήσει την διατροφική ενεργειακή κατανάλωση, ενώ ένα «παχύσαρκο μικροβίωμα» οδηγεί σε υψηλότερη εναπόθεση σωματικού λίπους σε σχέση με ένα «νορμοβαρές μικροβίωμα» (Aronian, 2016).

Είναι ενδιαφέρον να αναφερθούμε στους μη τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου που μπορούν να οδηγήσουν στην παχυσαρκία ήδη από την παιδική η εφηβική ηλικία. Οι σημαντικότεροι από αυτούς είναι γενετικές μεταβλητές, η εθνικότητα, το φύλο η εναπόθεση λίπους των γονέων, το βάρος γέννησης και ο χρόνος ή ο βαθμός ωρίμανσης του εμβρύου (Jelalian, Hart, Mehlenbeck, Lloyd-Richardson, Kaplan, Flynn-O'Brien, & Wing, 2008). Ωστόσο, το βάρος γέννησης μπορεί να θεωρηθεί και τροποποιήσιμος παράγοντας στην περίπτωση του Σακχαρώδους Διαβήτη Κύησης, καθώς αυτός οδηγεί σε αυξημένο βάρος γέννησης, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις αυτό μπορεί να αποφευχθεί, με πρόληψη ή έγκαιρη αντιμετώπισή του

από τη μητέρα (Kipping, Jago, & Lawlor, 2008). Η εμφάνιση παχυσαρκίας μπορεί να οφείλεται και σε πολυμορφισμούς γονιδίων, αφού έχουν εντοπισθεί 12 περιοχές γονιδίων που σχετίζονται με προδιάθεση παχυσαρκίας. Η γενετική επίδραση στο ΔΜΣ και στο ποσοστό σωματικού λίπους βρέθηκε ισχυρή. Έρευνες μονοζυγωτικών και διζυγωτικών διδύμων καταλήγουν ότι η παχυσαρκία είναι σε μεγάλο βαθμό γενετικά προκαθορισμένη, ενώ ο βαθμός παχυσαρκίας καθορίζεται από το περιβάλλον (Aronian, 2016).

Σημαντικός επίσης μη τροποποιήσιμος παράγοντας που συσχετίζεται με αυξημένα ποσοστά παχυσαρκίας στην παιδική και ενήλικη ζωή είναι το χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο του οικογενειακού περιβάλλοντος (Kipping, et al, 2008). Παιδιά που αναπτύσσονται σε περιοχές υψηλότερου κοινωνικοοικονομικού επιπέδου έχουν καλύτερη πρόσβαση σε εγκαταστάσεις φυσικής δραστηριότητας και η απασχόληση με αυτές τουλάχιστον 5 φορές την εβδομάδα συνδέεται με μειωμένο ποσοστό παχυσαρκίας στην εφηβεία (Aronian, 2016). Τόσο κατά την παιδική και εφηβική ηλικία και κατ' επέκταση στην ενήλικη ζωή η υπερβάλλουσα ενεργειακή πρόσληψη και το μειωμένο επίπεδο φυσικής δραστηριότητας είναι δύο απ' τους σημαντικότερους τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου παχυσαρκίας (Aronian, 2016). Το υπερβάλλον σωματικό βάρος μπορεί να οδηγήσει στο υπέρβαρο και στη συνέχεια στην παχυσαρκία. Η αφθονία τροφής και η ευκολία πρόσβασης σε αυτή στον ανεπτυγμένο κόσμο σε συνδυασμό με την τάση των ανθρώπων στις σύγχρονες κοινωνίες προς την καθιστική ζωή προδιαθέτει την αύξηση του σωματικού βάρους.

Η παχυσαρκία στα παιδιά και στους εφήβους είναι ισχυρά συνυφασμένη με διατροφικές συνήθειες και συμπεριφορές που σχετίζονται με το ισοζύγιο ενέργειας, όπως η κατανάλωση ενεργειακά πυκνών τροφίμων (Moschonis, Kalliora, Costarelli, Papandreou, Koutoukidis, Lionis, ...& Manios, 2014). Στους εφήβους, η κατανάλωση εύγευστων τροφίμων, συνήθως με υψηλή περιεκτικότητα κορεσμένων λιπαρών και απλών σακχάρων, σε μεγάλες ποσότητες είναι ιδιαίτερα συχνή (Zampelas, 2003). Συγκεκριμένα, η κατανάλωση ροφημάτων που περιέχουν ζάχαρη σχετίζεται με 1,6 φορές αύξηση κινδύνου ανάπτυξης παχυσαρκίας για κάθε ζαχαρούχο ρόφημα που καταναλώνεται ημερησίως (Aronian, 2016). Επίσης, η υπερκατανάλωση αυτή ροφημάτων και τροφών υψηλού γλυκαιμικού δείκτη και πλούσιων σε λιπαρά αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη παχυσαρκίας στην εφηβεία ή και στη μετέπειτα ζωή (Zampelas, 2003; Σάββα, Τορναρίτης, & Επιφανίου-Σάββα, 2000). Συγκεκριμένα, η συχνότητα κατανάλωσης γευμάτων από ταχυφαγείο που έχει συσχετιστεί με υψηλότερο κίνδυνο παχυσαρκίας σε όλες τις ηλικίες είναι τουλάχιστον 3 την εβδομάδα (Siddarth, 2013).

Η φυσική δραστηριότητα καθορίζει τη συνολική ενεργειακή δαπάνη και επομένως η μειωμένη φυσική δραστηριότητα θεωρείται καθοριστικός παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση υπέρβαρου, παχυσαρκίας και συνοδών νοσημάτων σε παιδιά και ενήλικες (Siddarth, 2013). Στους εφήβους η μείωση της συμμετοχής σε αθλήματα λόγω υποχρεώσεων και η παράλληλη αύξηση της πρόσληψης τροφής οδηγεί στην αύξηση του σωματικού βάρους, ενώ υπάρχουν έγκυρα δεδομένα για τη θετική επίδραση της επαρκούς φυσικής δραστηριότητας στη μείωση της παχυσαρκίας (Zampelas, 2003; Σάββα, et al, 2000). Στον αντίποδα, καθιστικές δραστηριότητές όπως τα βιντεοπαιχνίδια και η τηλεθέαση, σχετίζονται με χαμηλά επίπεδα ενεργειακής δαπάνης και αύξηση της εναπόθεσης λίπους στα παιδιά. Συνοψίζοντας, ποικίλες μελέτες καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η μειωμένη φυσική δραστηριότητα και οι αυξημένες καθιστικές συμπεριφορές συσχετίζονται με συνολική αύξηση της παχυσαρκίας στα παιδιά αλλά και στους ενήλικες (Siddarth, 2013).

Όσον αφορά στους παράγοντες κινδύνου που αναφέρθηκαν παραπάνω, είναι σημαντικό να εξηγήσουμε ότι ουσιαστικά αποτελούν παράγοντες κινδύνου για τη χρόνια διαταραχή του ισοζυγίου ενέργειας η οποία τελικά οδηγεί στην παχυσαρκία (Φλωράκης, Κατσίκης, Καρκανάκη, Χατζηδημητρίου, Ζουρνατζή, & Πανίδης, 2009).

1.4. ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Η Παχυσαρκία ορίζεται με βάση το Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ), ο οποίος είναι το πιο διαδεδομένο και ευρέως χρησιμοποιούμενο ανθρωπομετρικό εργαλείο για την εκτίμηση και κατάταξη της παχυσαρκίας στους ενήλικες (Aronian, 2016; Bastien, et al, 2014). Ο δείκτης αυτός, προκύπτει από τη διαίρεση του βάρους σε κιλά (kg) με το ύψος εις το τετράγωνο, σε μέτρα εις το τετράγωνο (m^2) (Aronian, 2016). Τα άτομα με ΔΜΣ μικρότερο από $18,5 \text{ kg/m}^2$ θεωρούνται λιποβαρή, ενώ φυσιολογικού βάρους είναι ο ΔΜΣ από $18,5 \text{ kg/m}^2$ έως $24,9 \text{ kg/m}^2$ (Bastien, et al, 2014). Ένας ενήλικας θεωρείται υπέρβαρος όταν έχει ΔΜΣ $25,0$ έως $29,9 \text{ kg/m}^2$, ενώ θεωρείται παχύσαρκος όταν έχει ΔΜΣ $30,0 \text{ kg/m}^2$ ή υψηλότερο (Aronian, 2016). Η παχυσαρκία στη συνέχεια κατηγοριοποιείται σε 3 βαθμίδες, 1^{ου} βαθμού, όταν ο ΔΜΣ είναι από 30 kg/m^2 έως $34,9 \text{ kg/m}^2$, 2^{ου} βαθμού, όταν ο ΔΜΣ είναι από 35 kg/m^2 έως $39,9 \text{ kg/m}^2$ και 3^{ου} βαθμού, όταν ο ΔΜΣ ξεπερνά τα 40 kg/m^2 . Η Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία πρότεινε την περαιτέρω κατηγοριοποίηση του ΔΜΣ υψηλότερου από 40 kg/m^2 δεδομένης της εξάπλωσης της νοσογόνου παχυσαρκίας και σύστησε την παχυσαρκία 4^{ου} βαθμού, με ΔΜΣ υψηλότερο ή ίσο του 50 kg/m^2 και 5^{ου} βαθμού, με ΔΜΣ υψηλότερο ή ίσο του 60 kg/m^2 (Bastien, et al, 2014). Σε παιδιά και

εφήβους, 2 έως 18 ετών δεν χρησιμοποιείται ο ΔΜΣ αλλά μία ποσοστιαία κλίμακα με τεταρτημόρια και ειδικές καμπύλες πληθυσμού ή πρότυπες καμπύλες, κατάλληλες για το φύλο και την ηλικία των παιδιών και των εφήβων (Aronian, 2016). Στον ανήλικο πληθυσμό, το φυσιολογικό βάρος ορίζεται όταν ο ΔΜΣ βρίσκεται μεταξύ 25^{ου} και 84^{ου} τεταρτημορίου, το υπέρβαρο ορίζεται όταν ο ΔΜΣ είναι μεταξύ 85^{ου} και 94^{ου} τεταρτημορίου, ενώ η παχυσαρκία όταν βρίσκεται στο 95^ο τεταρτημόριο ή υψηλότερα (Aronian, 2016; Bastien, Poirier, Lemieux, & Després, 2014).

Ο ΔΜΣ σχετίζεται αρκετά καλά με το ποσοστό σωματικού λίπους στο γενικό πληθυσμό και έχει μικρή συσχέτιση με το ύψος. Επομένως, όταν ένα άτομο είναι παχύσαρκο, σύμφωνα με εκτίμηση που προκύπτει από μέσο όρο μετρήσεων έχει ποσοστό λίπους υψηλότερο από 25% στους άνδρες και υψηλότερο από 35% στις γυναίκες (Φλωράκης, et al, 2009). Ωστόσο, ο ΔΜΣ δε λαμβάνει υπόψη στην εξίσωση του το ακριβές ποσοστό και την κατανομή του σωματικού λίπους, επομένως άτομα που ξεφεύγουν από το μέσο όρο μπορεί να ταξινομηθούν εσφαλμένα, ειδικά σε ΔΜΣ υψηλότερο από 30 kg/m² (Bastien, et al, 2014). Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται εναλλακτικοί δείκτες, απόλυτης και σχετικής συσσώρευσης κοιλιακού λίπους για τον προσδιορισμό της παχυσαρκίας, όπως η αυξημένη περιφέρεια μέσης (Waist) και ο αυξημένος λόγος περιφέρειας μέσης – περιφέρειας ισχύων (Hip) (Waist to Hip ratio: WHR) και περιφέρειας μέσης – ύψους (Waist to Height ratio) (Bastien, et al, 2014; Ng, et al, 2014).

1.5. ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΚΑΙ ΣΥΝΟΔΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Οι δυσμενείς συνέπειες της παχυσαρκίας στην υγεία του ανθρώπου έχουν απασχολήσει σε μεγάλο βαθμό τους επιστήμονες υγείας και συνεχώς διεξάγονται νέες έρευνες σχετικά με αυτές, με τα αποτελέσματα τους να προστίθενται στα ήδη υπάρχοντα ή να τα αναιρούν. Μεγάλες μελέτες που έχουν διεξαχθεί, έχουν δείξει πως ελλοχεύουν πολλοί κίνδυνοι για την υγεία όσο αυξάνεται ο ΔΜΣ πάνω από 23 kg/m², συγκεκριμένα για καρδιαγγειακή νόσο, καρκίνο, διαβήτη, οστεοαρθρίτιδα και χρόνια νεφρική νόσο (Ng, et al, 2014). Κάθε χρόνο, 28 χιλιάδες άτομα παγκοσμίως πεθαίνουν από τις επιπτώσεις του υπέρβαρου και της παχυσαρκίας (Bastien, et al, 2014). Η πλειοψηφία όμως των θανάτων που αποδίδονται στο υπέρβαρο και την παχυσαρκία είναι θάνατοι από καρδιαγγειακά (Ng, et al, 2014). Η παχυσαρκία στο σύνολό της, έχει συσχετιστεί με υψηλό ποσοστό θνησιμότητας, ωστόσο ο κίνδυνος παρουσιάζει διαστρωμάτωση ανάλογα με το βαθμό παχυσαρκίας. Σε πρόσφατη μετα-ανάλυση που πραγματοποιήθηκε σε 2,88 εκατομμύρια άτομα, όλοι οι βαθμοί παχυσαρκίας συνδυαστικά συσχετίστηκαν με

αυξημένο ποσοστό θνησιμότητας. Ωστόσο, όταν οι βαθμοί παχυσαρκίας αναλύθηκαν ξεχωριστά, αυξημένος κίνδυνος θνησιμότητας συσχετίστηκε με την παχυσαρκία 2^{ου} και 3^{ου} βαθμού αλλά όχι με την παχυσαρκία 1^{ου} βαθμού (Bastien, et al, 2014).

Σε αρκετές μελέτες έχει τεκμηριωθεί ότι ο αυξημένος ΔΜΣ είναι σημαντικά συνδεδεμένος τόσο στους άντρες όσο και στις γυναίκες και με άλλες εκδηλώσεις της καρδιαγγειακής νόσου εκτός από τον αιφνίδιο θάνατο, όπως η στηθάγχη, το έμφραγμα του μυοκαρδίου, και η καρδιακή ανεπάρκεια. Σύμφωνα με προοπτική μελέτη, οι παχύσαρκοι ασθενείς, βρίσκονται σε διπλάσιο κίνδυνο για ανάπτυξη καρδιακής ανεπάρκειας σε σχέση με νορμοβαρή άτομα. Σημειώνεται συγκεκριμένα 5% αύξηση του κινδύνου για τους άνδρες και 7% για τις γυναίκες για κάθε μονάδα αύξησης του ΔΜΣ, μετά από προσαρμογή για τους εδραιωμένους παράγοντες κινδύνου, υποδεικνύοντας άμεση συσχέτιση μεταξύ υπερβάλλοντος σωματικού λίπους και καρδιακής δυσλειτουργίας (Bastien, et al, 2014).

Ο αυξημένος ΔΜΣ συσχετίζεται επίσης με την ανάπτυξη παραγόντων κινδύνου για καρδιαγγειακά, όπως η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, η ινσουλινοαντίσταση και ο σακχαρώδης διαβήτης, με συνέπεια την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων όπως η στεφανιαία νόσος και το ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο (Bastien, et al, 2014). Πέρα από την επιδείνωση των παραγόντων κινδύνου για καρδιαγγειακά που προκαλεί η παχυσαρκία, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και την υποκλινική φλεγμονή στους παχύσαρκους ασθενείς, φαίνεται να σχετίζεται με την υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών επεισοδίων σε αυτούς. Επομένως, αν και η ανάπτυξη των συνοδών νοσημάτων που προαναφέρθηκαν είναι ανάλογη του ΔΜΣ, η ίδια η παχυσαρκία θεωρείται ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για τα καρδιαγγειακά (Bastien, et al, 2014). Σύμφωνα με συστηματικές μελέτες μόνο το 31% του κινδύνου στεφανιαίας νόσου και το 8% του κινδύνου θανάτου από αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο που σχετίζονται με την παχυσαρκία διαμεσολαβούνται από την αυξημένη αρτηριακή πίεση και χοληστερόλη αντίστοιχα. Επομένως μέρος, αλλά όχι η πλειονότητα του καρδιαγγειακού κινδύνου που οφείλεται στην παχυσαρκία, μπορεί να μειωθεί με φαρμακοθεραπεία για την αυξημένη αρτηριακή πίεση και χοληστερόλη. Ακόμη και με επιθετική φαρμακοθεραπεία, εάν δεν στοχεύσουμε στην καταπολέμηση της ίδιας της υπερβαρότητας και παχυσαρκίας, με μείωση του σωματικού βάρους, αυτές θα συνεχίσουν να αυξάνονται μαζί με τις σημαντικές επιπτώσεις τους στην υγεία του ανθρώπου (Ng, et al, 2014).

Παρόλο που η παχυσαρκία όπως ορίζεται από το ΔΜΣ επηρεάζει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο, είναι σημαντικό να ληφθούν υπόψη από τους κλινικούς επιστήμονες και άλλοι δείκτες εναπόθεσης λίπους για τον προσδιορισμό του κινδύνου ενός ασθενή. Ο ορισμός της παχυσαρκίας αποκλειστικά από το ΔΜΣ παρουσιάζει κάποιους περιορισμούς όσον αφορά στην πρόβλεψη της θνησιμότητας από καρδιαγγειακά (Bastien, et al, 2014). Μεταξύ των ασθενών με καρδιαγγειακά, έχει παρατηρηθεί ότι οι υπέρβαροι ή ελαφρώς παχύσαρκοι ασθενείς έχουν καλύτερη έκβαση όσον αφορά στη θνησιμότητα από καρδιαγγειακά και στη συνολική θνησιμότητα, με μια παράδοξη συσχέτιση μεταξύ ΔΜΣ και επιβίωσης (Bastien, et al, 2014). Ακόμη και με χειρότερη κατάσταση υγείας, χαμηλότερη προσκόλληση σε υγιεινό τρόπο ζωής, αυξημένη συννοσηρότητα και παράγοντες κινδύνου, αυτοί οι ασθενείς φαίνεται να παρουσιάζουν καλύτερη πρόγνωση από τους καρδιαγγειακούς ασθενείς φυσιολογικού βάρους. Η αιτία για την παράδοξη αυτή παρατήρηση δεν είναι απόλυτα ξεκάθαρη, αλλά η εξήγηση πιθανότατα βρίσκεται στην κατανομή του λίπους (Bastien, et al, 2014).

Για παράδειγμα, δείκτες απόλυτης και σχετικής συσσώρευσης κοιλιακού λίπους για τον προσδιορισμό της παχυσαρκίας, όπως η αυξημένη περιφέρεια μέσης (Waist Circumference: WC) και ο αυξημένος λόγος περιφέρειας μέσης – περιφέρειας ισχύων (Hip) (Waist to Hip ratio: WHR) και περιφέρειας μέσης έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου, καρδιακή ανεπάρκεια και συνολική θνησιμότητα σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο (Bastien, et al, 2014). Επιπλέον μελέτες επιβεβαιώνουν ότι σημειώνεται αυξημένη θνησιμότητα σε καρδιαγγειακούς ασθενείς με κοιλιακή παχυσαρκία, ενώ η συγκεκριμένη συσχέτιση παραμένει ισχυρή μετά την εξαίρεση του σακχαρώδη διαβήτη και της υπέρτασης στην πολυπαραγοντική ανάλυση. Το γεγονός αυτό αναδεικνύει την καίρια σημασία της κοιλιακής παχυσαρκίας σαν ανεξάρτητο παράγοντα για θνησιμότητα από κάθε αίτιο σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο (Bastien, et al, 2014). Η αύξηση τόσο στην WC όσο και στον WHR προβλέπει την αύξηση του κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο σε άνδρες και γυναίκες. Πιο συγκεκριμένα, 1 εκ. αύξηση στην WC και 0,01 μονάδα αύξηση στον WHR συσχετίζεται αντίστοιχα με 2% και 5% αύξηση του κινδύνου για μελλοντικές εκβάσεις της καρδιαγγειακής νόσου (Bastien, et al, 2014).

Πραγματικά, όπως αποδεικνύουν τα παρακάτω δεδομένα τα υπέρβαρα και παχύσαρκα άτομα ενδέχεται να παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στον κίνδυνο καρδιαγγειακών νοσημάτων ανάλογα με την κατανομή λίπους τους (Bastien, et al, 2014). Ο υπερβάλλον κοιλιακός, σπλαχνικός λιπώδης ιστός, ανεξαρτήτως του ΔΜΣ, έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση

διαβητογόνων και αθηρογόνων ανωμαλιών όπως η ινσουλινοαντίσταση, τα αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων και απολιποπρωτεΐνης Β, η χαμηλή HDL - «καλή χοληστερόλη» και η αυξημένη αναλογία LDL – «κακή χοληστερόλη» και HDL, λιπιδαιμικές ανωμαλίες που χαρακτηρίζονται συνολικά ως αθηρογόνος δυσλιπιδαιμία (Bastien, et al, 2014). Στον αντίποδα, τα χαμηλά επίπεδα κοιλιακού, σπλαχνικού λιπώδους ιστού και η υποδόρια παχυσαρκία, συσχετίζονται με χαμηλό κίνδυνο διαταραγμένου μεταβολικού προφίλ. Υπάρχουν λοιπόν εύλογα αποδεικτικά στοιχεία ότι η συσσώρευση τοπικού πάχους είναι πολύ πιο σημαντική για την πρόβλεψη του κινδύνου καρδιαγγειακών νοσημάτων από τη συνολική αυξημένη εναπόθεση λίπους ενός ατόμου. Επομένως, εκτός από το ΔΜΣ που είναι ανθρωπομετρικός δείκτης της συνολικής εναπόθεσης λίπους, χρειάζεται να μετρούνται επιπλέον δείκτες της κατανομής του λίπους, όπως η WC ο WHR και ο λόγος WC – ύψους για την διάκριση των υψηλότερου κινδύνου για καρδιαγγειακά ατόμων (Bastien, et al, 2014). Καρδιομεταβολικές μελέτες απεικόνισης που διεξήχθησαν πρόσφατα σε μεγάλες κλινικές έρευνες κοορτής, έδειξαν πως το υπερβάλλον σπλαχνικό λίπος συνοδευόμενο από υπερβάλλουσα έκτοπη εναπόθεση λίπους, όπως το υπερβάλλον καρδιακό, ηπατικό και ενδοθωρακικό λίπος έχει συσχετιστεί σημαντικά με καρδιακές και μεταβολικές ανωμαλίες και η συσχέτιση αυτή βρέθηκε ανεξάρτητη από την ποσότητα του συνολικού ή υποδόριου λιπώδους ιστού (Bastien, et al, 2014).

Η παχυσαρκία λοιπόν έχει πολυάριθμες επιπτώσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα. Η χρόνια συσσώρευση υπερβάλλοντος σωματικού λίπους οδηγεί σε ποικίλες μεταβολικές αλλαγές, αυξάνοντας τον επιπολασμό των παραγόντων κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο, ενώ επηρεάζει και συστήματα που ελέγχουν τη φλεγμονή (Bastien, et al, 2014). Επιπλέον, η παχυσαρκία επάγει ποικιλία δομικών προσαρμογών, μεταβολών στη δομή και τη λειτουργία του καρδιαγγειακού (Bastien, et al, 2014). Εκτός από τη συμβολή της παχυσαρκίας σαν ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακά, αυτή προάγει μεταβολές και σε άλλους ενδιάμεσους παράγοντες κινδύνου, όπως η δυσλιπιδαιμία, η υπέρταση, η αντίσταση στη γλυκόζη, η κατάσταση φλεγμονής, η αποφρακτική άπνοια ύπνου και η προθρομβωτική κατάσταση, καθώς πιθανότατα και πολλούς άλλους άγνωστους μηχανισμούς (Bastien, et al, 2014).

2. sP – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ

2.1. ΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η Αθηροσκλήρωση είναι μία χρόνια, φλεγμονώδης αρτηριακή νόσος και η κύρια αιτία του αγγειακού θανάτου (Herrington, Lacey, Sherliker, Armitage, & Lewington, 2016; Ross, 1999). Οι

υψηλές συγκεντρώσεις χοληστερόλης και ιδίως της LDL χοληστερόλης, είναι από τους κυριότερους παράγοντες εμφάνισης αθηροσκλήρωσης και η διαδικασία της αθηρωμάτωσης θεωρείται πως είναι κυρίως αποτέλεσμα της συσσώρευσης των λιπών στο εσωτερικό των αρτηριακών τοιχωμάτων (Ross, 1999). Οι λιπαρές ραβδώσεις στα αρτηριακά τοιχώματα σταδιακά εξελίσσονται σε αθήρωμα και χαρακτηριστικές πλάκες. Η οξεία ρήξη των αθηρωματικών πλακών προκαλεί τοπική θρόμβωση, οδηγώντας σε μερική ή ολική απόφραξη της προσβεβλημένης αρτηρίας. Οι κλινικές επιπτώσεις των αθηρωματικών πλακών εξαρτώνται από την περιοχή που βρίσκονται, το βαθμό και την ταχύτητα της αγγειακής απόφραξης (Herrington, et al, 2016). Οι αθηρωματικές αλλοιώσεις αποτελούν μια σειρά από εξαιρετικά εξειδικευμένες κυτταρικές και μοριακές αποκρίσεις που μπορούν καλύτερα να περιγραφούν συνολικά με τον όρο φλεγμονώδης νόσος (Ross, 1999). Η έννοια της αθηροσκλήρωσης ως φλεγμονώδης νόσος υποστηρίζεται από το εύρημα ότι υπάρχουν άφθονα κύτταρα του ανοσοποιητικού στις αθηροσκληρωτικές αλλοιώσεις, τα οποία παράγουν κυτοκίνες και ιδίως προφλεγμονώδεις κυτοκίνες (Frostegård, 2013).

Οι αθηρωματικές αλλοιώσεις εμφανίζονται κυρίως στο εσωτερικό μεγάλου και μεσαίου μεγέθους ελαστικών και μυϊκών αρτηριών, ιδίως στα σημεία που διακλαδίζονται τα αγγεία και μπορεί να οδηγήσουν σε ισχαιμία της καρδιάς, του εγκεφάλου ή των άκρων που οδηγούν στο έμφραγμα (Frostegård, 2013; Ross, 1999). Ο λόγος συχνότερης εμφάνισης των αλλοιώσεων στα σημεία αυτά των αρτηριών πιθανόν σχετίζεται με τη φύση της ροής του αίματος, αφού τα σημεία που εκτίθενται σε κανονική τάση διάτμησης, προστατεύονται από αθηροπροστατευτικά γονίδια που εκφράζονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα (Frostegård, 2013). Οι αλλοιώσεις αυτές μπορεί να υπάρχουν καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής ενός ατόμου, μάλιστα, η πιο πρώιμη μορφή αλλοιώσεων που ονομάζονται λιπαρές ραβδώσεις, είναι συχνές στα βρέφη και τα παιδιά. Πρόκειται για καθαρά φλεγμονώδεις αλλοιώσεις, που αποτελούνται αποκλειστικά από μακροφάγα που προέρχονται από μονοκύτταρα και T λεμφοκύτταρα. Σε άτομα με υπερχοληστερολαιμία, πριν από την εισροή των κυττάρων αυτών πραγματοποιείται εξωκυτταρική εναπόθεση άμορφων και μεμβρανικών λιπιδίων (Ross, 1999). Η αθηροσκλήρωση βρίσκεται σε λανθάνουσα κατάσταση για αρκετά χρόνια και συχνά συνυπάρχει σε περισσότερα από ένα αγγειακά συστήματα (Herrington, et al, 2016). Μέσω της μελέτης της αρτηριακής φλεγμονής είναι δυνατή η απόκτηση γνώσεων σχετικά με την αθηρωματική διαδικασία (Ross, 1999).

Πολυάριθμες παθοφυσιολογικές παρατηρήσεις σε ανθρώπους και ζώα οδήγησαν στη διαμόρφωση της υπόθεσης «απάντηση στο τραύμα» της αθηροσκλήρωσης, η οποία προτείνει την ενδοθηλιακή αποδυνάμωση ως πρώτο βήμα προς την αθηροσκλήρωση. Η πιο πρόσφατη διατύπωση της υπόθεσης αυτής δίνει έμφαση στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία παρά στην αποδυνάμωση του ενδοθηλίου (Ross, 1999). Ανεξάρτητα απ' τη διαδικασία που λαμβάνει χώρα, κάθε χαρακτηριστική αλλοίωση της αθηροσκλήρωσης αντιπροσωπεύει διαφορετικό στάδιο της χρόνιας φλεγμονώδους διαδικασία εντός της αρτηρίας. Η διαδικασία αυτή εάν αφεθεί ανεξέλεγκτη και προχωρήσει, οδηγεί σε εκτεταμένες και σύνθετες αθηρωματικές αλλοιώσεις (Ross, 1999). Στις πιθανές αιτίες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας που οδηγεί σε χαρακτηριστική απάντηση συγκεκριμένων αρτηριών, την αθηροσκλήρωση, συμπεριλαμβάνονται η υψηλή και τροποποιημένη LDL χοληστερόλη, οι ελεύθερες ρίζες που προκύπτουν κυρίως από το κάπνισμα, η υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, γενετικές μεταλλάξεις, οι υψηλές συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης πλάσματος, λοιμώδεις μικροοργανισμοί όπως ο ιός του έρπητα και τα χλαμύδια, ακόμη και ο συνδυασμός αυτών ή άλλων παραγόντων (Ross, 1999).

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που προκύπτει από το τραύμα οδηγεί σε αντισταθμιστικές αποκρίσεις οι οποίες μεταβάλουν τις φυσιολογικές ομοιοστατικές ιδιότητες του ενδοθηλίου (Ross, 1999). Η ενεργοποίηση του ενδοθηλίου με την έκφραση μορίων προσκόλλησης φαίνεται να είναι πρώιμο γεγονός στην αθηροσκλήρωση (Frostedgård, 2013). Στη φάση αυτή, οι διάφορες μορφές τραυματισμού αυξάνουν την δυνατότητα προσκόλλησης μονοκύτταρων λευκοκυττάρων όπως μονοκύτταρα και T – κύτταρα και αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο, καθώς και την διαπερατότητά του σε αυτά, με αποτέλεσμα αυτά αφού προσκολληθούν να εισβάλλουν στο εσωτερικό του (Frostedgård, 2013; Ross, 1999). Αν και λιγότερο σύνηθες από την ύπαρξη των παραπάνω κυττάρων στις αλλοιώσεις, μπορεί να υπάρχουν επίσης δενδριτικά κύτταρα, ιστικά κύτταρα, ουδετερόφιλα και B – κύτταρα (Frostedgård, 2013). Επιπλέον, το τραύμα επάγει προπηκτικές έναντι των αντιπηκτικών ιδιοτήτων του ενδοθηλίου καθώς και την παραγωγή αγγειοδραστικών μορίων, κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων (Ross, 1999).

Εάν η φλεγμονώδης απάντηση δεν εξουδετερωθεί ή δεν απομακρυνθούν οι παράγοντες που την προκάλεσαν, αυτή θα διαιωνιστεί (Ross, 1999). Σε αυτή την περίπτωση, η φλεγμονώδης απάντηση θα διεγείρει τη φαινοτυπική αλλαγή, τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό λείων μυϊκών κυττάρων που συναντώνται επίσης στις αλλοιώσεις, τα οποία θα εισέλθουν στην περιοχή της φλεγμονής σχηματίζοντας ενδιάμεσης τάξης αλλοιώσεις (Frostedgård, 2013; Ross, 1999). Στη συνέχεια οι αλλοιώσεις αυτές οδηγούν στην πάχυνση των αρτηριακών τοιχωμάτων,

η οποία αντισταθμίζεται με βαθμιαία διαστολή, έως ότου τελικά ο αυλός παραμένει άκαμptos, φαινόμενο γνωστό ως «αναδιαμόρφωση» (Ross, 1999). Όσον αφορά στα φλεγμονώδη κύτταρα, κοκκιοκύτταρα σπανίως εμφανίζονται κατά τη διάρκεια οποιασδήποτε φάσης της αθηρογένεσης. Αντιθέτως, η φλεγμονώδης απάντηση διαμεσολαβείται από μακροφάγα προερχόμενα από μονοκύτταρα και εξειδικευμένες υποκατηγορίες T – λεμφοκυττάρων για κάθε στάδιο της νόσου (Ross, 1999).

Όπως συζητήθηκε, η παρατεταμένη φλεγμονή έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των μακροφάγων και των λεμφοκυττάρων, τα οποία μεταναστεύουν από το αίμα εντός των αλλοιώσεων όπου πολλαπλασιάζονται (Ross, 1999). Η ενεργοποίηση των κυττάρων αυτών οδηγεί στην απελευθέρωση υδρολυτικών ενζύμων, προφλεγμονοδών κυτοκινών, χημειοκινών και αυξητικών παραγόντων που επάγουν επιπλέον βλάβες και τελικά την εστιακή νέκρωση τους (Frostegård, 2013; Ross, 1999). Με τον τρόπο αυτό, επαναλαμβανόμενοι κύκλοι συσώρευσης μονοπύρηνων κυττάρων, μετανάστευσης και πολλαπλασιασμού λείων μυϊκών κυττάρων και σχηματισμού λιπώδη ιστού προκαλούν περεταίρω διεύρυνση και αναδιάρθρωση της εκάστοτε αλλοίωσης, μέχρι που αυτή καλύπτεται από ένα ινώδες κάλυμμα που τελικά σκεπάζει έναν πυρήνα λιπιδίων και νεκρωμένου ιστού και αποτελεί μια προχωρημένη και σύνθετη αλλοίωση (Ross, 1999). Όταν η αρτηρία δεν μπορεί πλέον να αντισταθμίσει την πάχυνση με διαστολή, τότε η αλλοίωση, που έχει πλέον τη μορφή αθηρωματικής πλάκας, οδηγείται σε ρήξη (Frostegård, 2013; Ross, 1999). Τότε, το προθρομβωτικό υλικό αναμένεται να εισβάλει στον αυλό της αρτηρίας, παρεμποδίζοντας τη ροή του αίματος και επάγοντας την καρδιαγγειακή νόσο (Frostegård, 2013; Ross, 1999).

2.1.1. ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ ΚΑΙ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗ

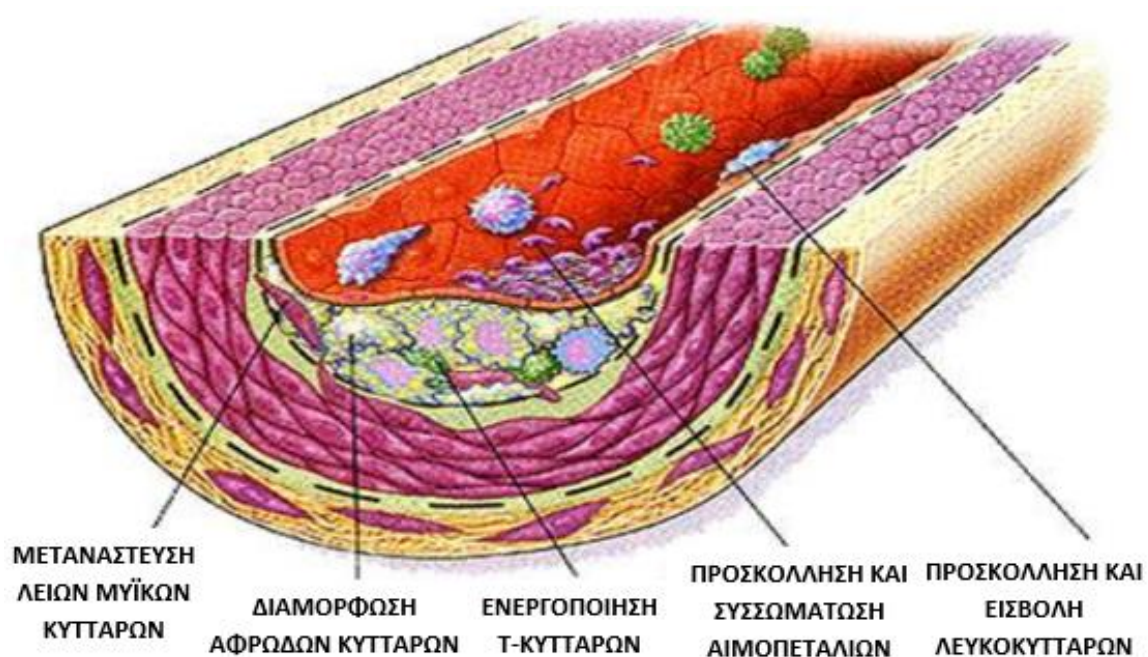
Τα αιμοπετάλια είναι εξειδικευμένα κύτταρα του αίματος τα οποία παίζουν κεντρικούς ρόλους σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις αιμόστασης, φλεγμονής, μετάστασης όγκου, επούλωσης πληγών και άμυνας ξενιστή (Jurk, & Kehrel, 2005). Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων είναι κρίσιμη για την αιμοπεταλιακή λειτουργία, η οποία περιλαμβάνει μια σύνθετη αλληλεπίδραση μορίων προσκόλλησης και σηματοδότησης (Jurk, et al, 2005). Η αθηροσκλήρωση είναι μία από τις παθολογικές καταστάσεις όπου τα αιμοπετάλια είναι κρίσιμοι διαμεσολαβητές των οξέων επιπλοκών της που προκαλούν ισχαιμικά επεισόδια απειλητικά για τη ζωή κυρίως στα τελευταία στάδια της νόσου (Fuentes, Fuentes, Andrés, Pello, de Mora, & Palomo, 2013). Επιπλέον, τα αιμοπετάλια αποτελούν βασικούς παράγοντες ανάπτυξης φλεγμονής κατά τον σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας μέσω της

αλληλεπίδρασής τους με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα ανοσοκύτταρα στο τραυματισμένο τοίχωμα του αγγείου (Fuentes, et al, 2013; Westrick, & Fredman, 2015).

Στα πρωταρχικά στάδια της αθηροσκλήρωσης, τα φλεγμονώδη λευκοκύτταρα του αίματος αλληλεπιδρούν με το τραυματισμένο ενδοθήλιο σε περιοχές πλούσιες σε συσσωματώματα αιμοπεταλίων (Fuentes, et al, 2013). Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και οι διεργασίες συσσωμάτωσης των αιμοπεταλίων που ακολουθούν παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης, πιθανώς μέσω της υπέρογκης ποσότητας μορίων που απελευθερώνονται κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων (εικόνα 2.1.1.1) (Badimon, Suades, Fuentes, Palomo, & Padró, 2016). Πιο συγκεκριμένα, τα μικροσωματίδια φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στα αρχικά στάδια της αθηροκληρωτικής διαδικασίας, καθώς διευκολύνουν τις διαδικασίες επικοινωνίας και προσκόλλησης μεταξύ του αίματος και του αγγειακού τοιχώματος, συμβάλλοντας έτσι στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης και στην αγγειακή βλάβη που εμφανίζεται στις φλεγμονώδεις διαταραχές (Badimon, et al, 2016).

Εκτός των μικροσωματιδίων, στην αθηροσκλήρωση, κεντρικός είναι και ο ρόλος των λευκοκυττάρων, ειδικά των μονοκυττάρων και των T – λεμφοκυττάρων (Kaplan, & Jackson, 2011). Οι έρευνες δείχνουν ότι τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια τα οποία είναι προσκολλημένα στο ενδοθήλιο που φλεγμαίνει μπορεί να ενισχύσουν τη προσέλκυση, την ενεργοποίηση και τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων, ενισχύοντας έτσι τις φλεγμονώδεις διεργασίες της αθηροσκλήρωσης (εικόνα 2.1.1.1) (Westrick, et al, 2015; Kaplan, et al, 2011). Η μετανάστευση των λευκοκυττάρων στα συνδεδεμένα με ενδοθηλιακά κύτταρα αιμοπετάλια είναι μια συντονισμένη διαδικασία πολλαπλών σταδίων που περιλαμβάνει διαμεσολαβούμενη από P-σελεκτίνη πρόσδεση και κύλιση, ακολουθούμενη από σταθερή προσκόλληση διαμεσολαβούμενη από β2 ιντεγκρίνη (Kaplan, et al, 2011). Επιπρόσθετα, η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων με επακόλουθη αποκοκκίωση τους, οδηγεί στην απελευθέρωση πολυάριθμων χημειοκινών που αποθηκεύονται στα α-κοκκία των αιμοπεταλίων. Οι χημειοκίνες αυτές είτε απελευθερώνονται στην κυκλοφορία είτε παρουσιάζονται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων όπου εξυπηρετούν πολυάριθμες βιολογικές δραστηριότητες, καθοριστικές για την αθηροσκλήρωση (Kaplan, et al, 2011).

Εικόνα 2.1.1.1 Εικόνα αρτηρίας κατά τη σταδιακή διαμόρφωση αθηρωματικής πλάκας.



Καίριος είναι επίσης ο ρόλος των αιμοπεταλίων στην αναδιαμόρφωση του αγγειακού τοιχώματος, η οποία προκαλείται από τη χρόνια φλεγμονή που προηγείται της οξείας φάσης της νόσου. Η εν λόγω αναδιαμόρφωση πραγματοποιείται με διαφοροποίηση και πολλαπλασιασμού των αγγειακών κυττάρων ελεγχόμενη από τα αιμοπετάλια (Fuentes, et al, 2013). Στα τελευταία στάδια της νόσου, τα αιμοπετάλια εκκρίνουν αρκετά φλεγμονώδη μόρια, ακόμη και χωρίς να σχηματίζουν συσσωματώματα. Τα μόρια αυτά επιδεινώνουν τη φλεγμονή και επάγουν τη μεταβολή της νόσου από χρόνια σε οξεία, η οποία χαρακτηρίζεται από αυξημένη αστάθεια της αθηροσκληρωτικής αλλοίωσης που έχει ως αποτέλεσμα τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας και τη θρόμβωση (Fuentes, et al, 2013).

Παρόλο που λίγες μελέτες έχουν συγκρίνει τη λειτουργία των αιμοπεταλίων σε υγιή παιδιά και ενήλικες, τα διαθέσιμα στοιχεία δείχνουν ότι, εκτός από τα νεογνά, η λειτουργία των αιμοπεταλίων είναι παρόμοια σε υγιή παιδιά και ενήλικες (Bonduel, Frontroth, Hepner, Sciuccati, & Feliu-Torres, 2007). Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, τα οποία στη συνέχεια συμμετέχουν σε μηχανισμούς αθηρογένεσης, είναι ένας από τους πιθανούς μηχανισμούς με τους οποίους η παιδική παχυσαρκία συμβάλλει στον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο (Gawaz, Neumann, Dickfeld, Koch, Laugwitz, Adelsberger, ... & Brand, 1998). Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι η παχυσαρκία αυξάνει τον μέσο όγκο αιμοπεταλίων καθώς και το μέγεθος τους (Özkan, Khosroshahi, Serin, Özdemir, Kılıç, Ekim, ... & Domur, 2015; Desideri, et al, 2005). Και οι δυο παράμετροι αποτελούν δείκτες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και μπορούν να συσχετιστούν

με την αθηροσκλήρωση (Berger, Eraso, Xie, Sha, & Mohler III, 2010). Επομένως, θα μπορούσαμε να υποθέσουμε, συνδυάζοντας τα παραπάνω δεδομένα, ότι η σχετιζόμενη με την παχυσαρκία ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μπορεί να συμβεί κατά την παιδική ηλικία και να συμβάλλει στον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών επιπλοκών στην μετέπειτα ζωή. Ωστόσο, δεν υπάρχουν ισχυρά ερευνητικά δεδομένα που να αποδεικνύουν την παραπάνω συσχέτιση (Desideri, et al, 2005).

2.1.2. ΔΕΙΚΤΕΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, η δράση των αιμοπεταλίων συνδέεται πρωτίστως με την διαδικασία της αιμόστασης, δηλαδή τη διαδικασία πήξης του αίματος (Gremmel, Frelinger III, & Michelson, 2016). Παρά το δυναμικό ρόλο που διαδραματίζουν τα αιμοπετάλια σε αυτή τη διαδικασία, συνήθως παραμένουν σε αδρανή κατάσταση και ενεργοποιούνται μόνο όταν ένα αιμοφόρο αγγείο έχει υποστεί βλάβη. Η βλάβη στο αιμοφόρο αγγείο καθιστά την υποενδοθηλιακή επιφάνεια του αγγειακού τοιχώματος πρωταρχικό στόχο δράσης των αιμοπεταλίων, όπου ξεκινούν τη διαδικασία της αιμόστασης (Gremmel, et al, 2016). Υπάρχουν διάφορα προ-θρομβωτικά διεγερτικά, γνωστά ως αγωνιστές αιμοπεταλίων, τα οποία προάγουν την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στις υποενδοθηλιακές επιφάνειες (Ghoshal, & Bhattacharyya, 2014). Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, τα αιμοπετάλια μεταβάλουν τη μορφή τους, απελευθερώνουν εκκριτικά κοκκία και βαθμιαία σχηματίζουν αιμοπεταλιακά συσσωματώματα, καθώς προσκολλώνται το ένα στο άλλο (Roka-Moya, Bilous, Zhernossekon, & Grinenko, 2014). Επομένως, η κύρια δραστηριότητά τους εξακολουθεί να αφορά στην ελαχιστοποίηση της απώλειας αίματος (Ghoshal, et al, 2014).

Οι δείκτες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων είναι τα κοκκία, οι κυτταροκίνες και τα μόρια προσκόλλησης όπως επίσης και η ίδια η συσσώρευση αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων (Roka-Moya, et al, 2014). Τα αιμοπετάλια περιέχουν τουλάχιστον τρεις διαφορετικούς τύπους κοκκίων, ο οποίοι μπορεί να είναι α-κοκκία, πυκνά κοκκία και λυσοσώματα (Yun, Sim, Goh, Park, & Han, 2016). Οι μεσολαβητές που αποθηκεύονται στα κοκκία περιλαμβάνουν παράγοντες πήξης και αγγειογένεσης, μόρια προσκόλλησης, κυτοκίνες και χημειοκίνες. Τα α-κοκκία βρίσκονται σε μεγάλη αφθονία στα αιμοπετάλια, αφού περιέχονται περίπου 50 – 80 α-κοκκία ανά αιμοπετάλιο (Yun, et al, 2016). Στα περιεχόμενα των α-κοκκίων συμπεριλαμβάνονται συγκολλητικές γλυκοπρωτεΐνες όπως η P-σελεκτίνη, το ινωδογόνο και ο παράγοντας Von Willebrand, παράγοντες πήξης, μιτογόνοι παράγοντες, αγγειογενετικοί παράγοντες, ινωδολυτικοί αναστολείς, ανοσοσφαιρίνες, ειδικές για τη μεμβράνη των κοκκίων πρωτεΐνες,

όπως η P-σελεκτίνη και η CD63 και διάφορες χημειοκίνες, όπως οι PF4 (CXCL4) και RANTES (Yun, et al, 2016). Τα πυκνά κοκκία έχουν αποθηκευμένα ποικίλα αιμοστατικώς ενεργά, μη πρωτεϊνικά μόρια, τα οποία εκκρίνονται κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Πρόκειται για κατεχολαμίνες όπως η σεροτονίνη και η ισταμίνη, ADP, ATP και ασβέστιο (Yun, et al, 2016). Τέλος, τα λυσοσώματα των αιμοπεταλίων, περιέχουν γλυκοσιδάσες, όξινες πρωτεάσες και κατιονικές πρωτεΐνες που έχουν βακτηριοκτόνο δράση (Yun, et al, 2016).

Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια απελευθερώνουν διάφορες χημειοκίνες όπως οι CXCL1, PF4 (CXCL4), CXCL5, CXCL7, IL-8 (CXCL8), CXCL12, CCL3 και RANTES. Οι χημειοκίνες αυτές επιδρούν στη ρύθμιση της μετακίνησης των λευκοκυττάρων, της μετανάστευσης από τα αγγεία στους ιστούς και άλλων προφλεγμονωδών λειτουργιών όπως η φαγοκυττάρωση και η παραγωγή ROS (Yun, et al, 2016). Η προφλεγμονώδης κυτοκίνη ιντερλευκίνη-1β, η οποία απελευθερώνεται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, έχει βρεθεί πως διαδραματίζει εξίσου σημαντικό ρόλο στην αγγειακή φλεγμονή (Yun, et al, 2016). Τα αιμοπετάλια εκφράζουν επίσης πολλά μόρια προσκόλλησης που διευκολύνουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ αιμοπεταλίων, λευκοκυττάρων και ενδοθηλίου (Yun, et al, 2016). Μεταξύ αυτών είναι η P-σελεκτίνη, η οποία κατέχει κύριο ρόλο στη σύνδεση αιμόστασης και φλεγμονής και εκφράζεται σε μεγάλα ποσά (Yun, et al, 2016). Σημαντικές είναι επίσης οι ιντεγκρίνες, οι οποίες περιλαμβάνουν μια μεγάλη οικογένεια ετεροδιμερών διαμεμβρανικών υποδοχέων που σχηματίζονται από μη ομοιοπολικό συνδυασμό διαφορετικών αλυσίδων α και β (β1 και β3 ιντεγκρίνες, α5β1, α6β1, αΒβ3) (Yun, et al, 2016). Αυτή η πολύπλοκη σειρά μορίων προσκόλλησης επιτρέπει στα αιμοπετάλια ή και τα διευκολύνει να δεσμεύονται σε έναν αριθμό διαφορετικών κυτταρικών και δομικών στόχων, υπό συνθήκες διατμήσεως (Yun, et al, 2016).

Τέλος, η αλληλεπίδραση μεταξύ αιμοπεταλίων, λευκοκυττάρων και ενδοθηλίου μπορεί να συμβεί με διάφορους τρόπους. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια συνδέονται με τα λευκοκύτταρα μέσω της P-σελεκτίνης, των GP IIb / IIIa και CD40L (Yun, et al, 2016). Εκτός του ότι χρησιμεύουν ως πλατφόρμα στην οποία μπορούν να προσκολληθούν λευκοκύτταρα, τα αιμοπετάλια έχουν επίσης την ικανότητα να ρυθμίζουν την έκφραση και την ενεργοποίηση μορίων προσκόλλησης σε άλλους κυτταρικούς τύπους όπως τα ουδετερόφιλα, τα μονοκύτταρα, τα λεμφοκύτταρα και το ενδοθήλιο (Yun, et al, 2016). Τα συσσωματώματα αιμοπεταλίων-ουδετερόφιλων και αιμοπεταλίων-μονοκυττάρων έχουν ανιχνευθεί στο αίμα των ανθρώπων με μια ποικιλία ασθενειών και τώρα θεωρούνται ως ένας από τους πιο ευαίσθητους δείκτες που σχετίζονται με την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων (Yun, et al, 2016).

Συμπερασματικά, ο ρόλος των αιμοπεταλίων δεν περιορίζεται μόνο στη διαδικασία της αιμόστασης. Τα τελευταία χρόνια, τα αιμοπετάλια έχουν αναδειχθεί ως σημαντικοί δείκτες για την παθοφυσιολογία νόσων, κυρίως χρόνιας φύσης (Ghoshal, et al, 2014). Η δραστηριότητα των αιμοπεταλίων στην παθογένεια διαφορετικών ασθενειών, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από ορισμένους βιολογικά ενεργούς δείκτες όπως οι CD36, CD41, CD42a, CD42b και CD61, οι οποίοι περιλαμβάνουν μερικούς ενεργούς επιφανειακούς υποδοχείς και εκκριτικά προϊόντα των αιμοπεταλίων (Ghoshal, et al, 2014). Η έκφραση και η σηματοδότηση των δεικτών αυτών, τείνει να διαφοροποιείται από τα αιμοπετάλια ανάλογα με τη διάγνωση και την πρόγνωση της εκάστοτε ασθένειας, προσφέροντας ένα ευρύ φάσμα διερεύνησης της εξέλιξης της. Συγκεκριμένα, όντας σημαντικοί φλεγμονώδεις δείκτες, τα αιμοπετάλια παίζουν σημαντικό ρόλο στην αθηροσκλήρωση και τις καρδιαγγειακές διαταραχές που συσχετίζονται με τον διαβήτη τύπου 2, τη βιολογία των όγκων καθώς και την αλλεργική φλεγμονή, ενώ η θρομβίνη, ένας αγωνιστής που απελευθερώνεται από τα αιμοπετάλια, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη φλεγμονή, την αγγειογένεση και την εμβρυϊκή ανάπτυξη (Ghoshal, et al, 2014).

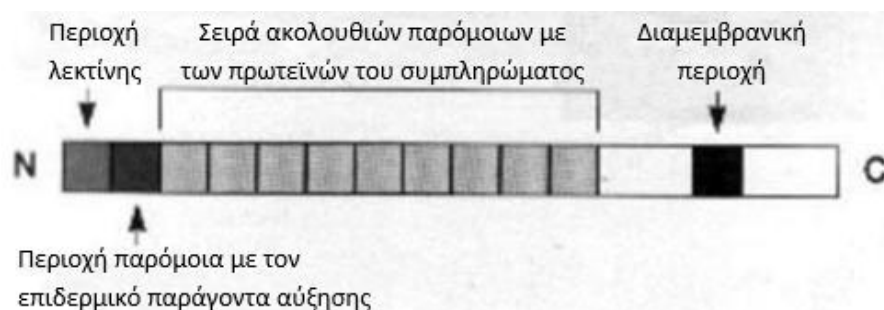
2.2. sP – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ – ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Τις τελευταίες δεκαετίες η σχέση αλληλεξάρτησης μεταξύ φλεγμονής και θρόμβωσης απασχόλησε ιδιαίτερα την κοινότητα των επιστημόνων υγείας, και έπειτα από εκτεταμένες έρευνες αναγνωρίζεται πλέον ότι η φλεγμονή, και ιδίως η στρατολόγηση λευκοκυττάρων, επηρεάζει άμεσα τη θρόμβωση, η οποία αποτελεί προφλεγμονώδες γεγονός (André, 2004). Η στενή αυτή συσχέτιση οφείλεται εν μέρει στην P-σελεκτίνη, η οποία είναι λειτουργική όχι μόνο όταν εκφράζεται στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων και ενδοθηλιακών κυττάρων, αλλά και όταν καλύπτεται, παίρνοντας τη διαλυτή της μορφή, η οποία καλείται sP-σελεκτίνη (André, 2004). Τα διαφορετικά διαμερίσματα του οργανισμού στα οποία συναντάται η P-σελεκτίνη (αιμοπετάλια, ενδοθηλιακά κύτταρα, πλάσμα), διαδραματίζουν διαφορετικούς σχετικούς ρόλους στην αιμόσταση, τις αγγειακές παθήσεις και τα πιθανά θεραπευτικά οφέλη που μπορούν να επιτευχθούν μέσω του συγκεκριμένου μορίου (André, 2004).

Η P-σελεκτίνη (CD62P, πρωτεΐνη μεμβράνης κοκκίων 140 ή εξαρτώμενη από την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων πρωτεΐνη εξωτερικής μεμβράνης κοκκίων), εκφράζεται κατά βάση στα α-κοκκία των αιμοπεταλίων και στα σωμάτια Weibel Palade των ενδοθηλιακών κυττάρων, σε μία διαλυτή μορφή που εντοπίζεται στο πλάσμα (André, 2004; Ley, 2003). Πρόκειται για την μεγαλύτερη από τις γνωστές σελεκτίνες, με μοριακό βάρος 140 κιλοντόντους (André, 2004). Η

P-σελεκτίνη εσωτερικής μεμβράνης είναι τύπου 1 μεμβρανική πρωτεΐνη, η οποία περιέχει μια N-τελική περιοχή C-τύπου λεκτίνης που ακολουθείται από ένα μοτίβο (πρότυπο) παρόμοιο με τον επιδερμικό παράγοντα αύξησης, μία σειρά εννέα όμοιων ακολουθιών που μοιάζουν με εκείνες των πρωτεϊνών του συμπληρώματος, μία διαμεμβρανική περιοχή και μια C-τελική κυτταροπλασματική ουρά, όπως φαίνεται στην εικόνα 2.2.1 (Charalaboroulos, 2008; André, 2004). Η κυκλοφορούσα στον ορό διαλυτή P-σελεκτίνη, που είναι λειτουργικά ενεργός, είναι λίγο μικρότερη από την επιφανειακή P-σελεκτίνη, προφανώς λόγω αποκοπής μικρού τμήματος του αρχικού μορίου, συνήθως της διαμεμβρανικής περιοχής (Charalaboroulos, 2008; Polgar, Matuskova, & Wagner, 2005).

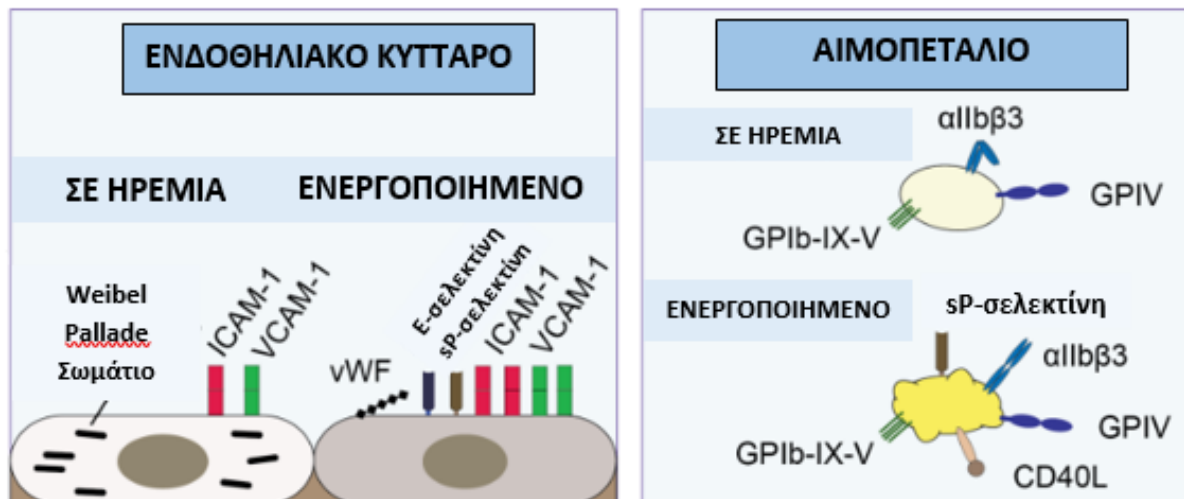
Εικόνα 2.2.1. Βασική δομή P-σελεκτίνης (Charalaboroulos, 2008).



Ιδιαίτερου ενδιαφέροντος είναι οι η αναδιανομή της P-σελεκτίνης στα αιμοπετάλια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η P-σελεκτίνη έχει μία κοκκίωδη θέση σε κάθε έναν από αυτούς τους τύπους κυττάρων και βρίσκεται αρχικά στα α-κοκκία των αιμοπεταλίων ή στα σωμάτια Weibel Palade των ενδοθηλιακών κυττάρων (André, 2004). Στη συνέχεια η P-σελεκτίνη μετατοπίζεται στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων ή ενδοθηλιακών κυττάρων αντίστοιχα (εικόνα 2.2.2), ως απόκριση σε μια ποικιλία φλεγμονωδών παραγόντων όπως η θρομβίνη, η ισταμίνη, οι παράγοντες του συμπληρώματος, οι ελεύθερες ρίζες και οι κυτταροκίνες (Charalaboroulos, 2008; Ley, 2003). Η P-σελεκτίνη απομακρύνεται ταχύτατα από την επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων, μετά την έκφρασή της και έτσι είναι άμεσα διαθέσιμη για τη μεσολάβηση σε πρώιμες φάσεις των αντιδράσεων λευκοκυττάρων με ενδοθηλιακά κύτταρα (Charalaboroulos, 2008; André, 2004). Στη διαλυτή της πλέον μορφή, ως sP-σελεκτίνη, εντοπίζεται στο πλάσμα έπειτα από θρομβωτικά γεγονότα και μπορεί να ακολουθήσει τη δική της φυσιολογική δραστηριότητα (André, 2004). Αντιθέτως, η P-σελεκτίνη που εκφράζεται στη μεμβράνη των ενεργοποιημένων ενδοθηλιακών κυττάρων θεωρούνταν ότι ανακυκλώνεται πλήρως επιστρέφοντας πίσω στο κύτταρο. Ωστόσο, μια πρόσφατη έρευνα υποστηρίζει ότι ένα

μικρότερο μέρος της sP-σελεκτίνης που εντοπίζεται στο πλάσμα μπορεί να είναι, εκτός από αιμοπεταλιακής, και ενδοθηλιακής προέλευσης (André, 2004).

Εικόνα 2.2.2 Μετατόπιση της sP-σελεκτίνης στην επιφάνεια ενεργοποιημένου ενδοθηλιακού κυττάρου και αιμοπεταλίου (Arman, Payne, Ponomarev, & Brill, 2015).



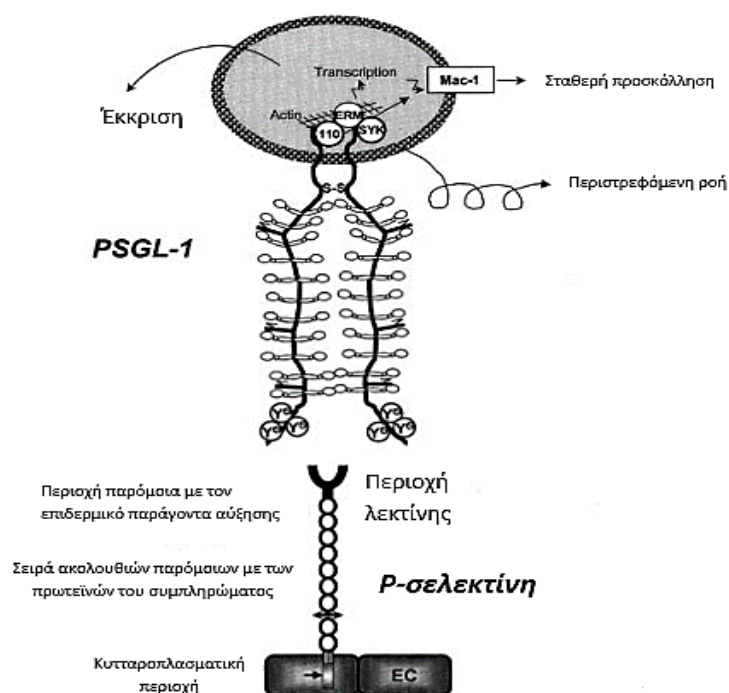
ICAM-1: Intercellular Adhesion Molecule 1 – γλυκοπρωτεΐνη που εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα, **VCAM-1:** Vascular Cell Adhesion Molecule 1 – πρωτεΐνη με λειτουργία μορίου προσκόλλησης, **vWF:** von Willerbrand factor – γλυκοπρωτεΐνη του αίματος που εμπλέκεται στην αιμόσταση, **GPIb-IX-V:** Glycoprotein Ib-IX-V Receptor Complex – σύμπλεγμα μεμβρανικού υποδοχέα που είναι λειτουργικός αποκλειστικά στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, **GPIV:** Glycoprotein IV – πρωτεΐνη εσωτερικής μεμβράνης, **αIIbβ3:** αιμοπεταλιακή ιντεγκρίνη αIIbβ3 – υποδοχέας αιμοπεταλίων, **CD40L:** CD40 Ligand – πρωτεϊνικός προσδέτης που εκφράζεται στα T κύτταρα

Ο κύριος προσδέτης για την P-σελεκτίνη, ο PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1), είναι μία ομοδιμερής βλεννίνη (240 κιλοντάτονς ομοδιμερές, αποτελούμενο από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες, 120 κιλοντάτονς η κάθε μία) η οποία εκφράζεται κατά βάση σε όλα σχεδόν τα λευκοκύτταρα και εντοπίζεται κυρίως στις άκρες των μικρολαχνών (André, 2004). Ο PSGL-1 είναι ο μόνος προσδέτης σελεκτινών που έχει χαρακτηριστεί τόσο εκτεταμένα, σε μοριακό, κυτταρικό και λειτουργικό επίπεδο (Ley, 2003). Εν συντομία, η λειτουργία του υποδοχέα του PSGL-1 εξαρτάται από δύο εξειδικευμένες μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις. Η πρώτη συνίσταται από την παραγωγή O-γλυκανών, προσδεδεμένων σε κατάλοιπα θρεονίνης στο αμινοτελικό άκρο του PSGL-1 και περιλαμβάνει α(1,3) φουκοζυλίωση και α(2,3) σιαλυλίωση. Η δεύτερη αφορά στη θείωση τριών καταλοίπων τυροσίνης στην περιοχή των O-γλυκανών (André, 2004).

Ο μηχανισμός με τον οποίο η δέσμευση του εξωκυττάριου τμήματος του PSGL-1 από την P-σελεκτίνη προάγει ενδοκυτταρική μεταγωγή σήματος, έχει ιδιαίτερη σημασία για την κατανόηση της λειτουργίας P-σελεκτίνης/PSGL-1 η οποία παρουσιάζεται στην εικόνα 2.2.3 (André, 2004). Πολλαπλά κατάντη γεγονότα σηματοδότησης προκύπτουν κατά τη δέσμευση του PSGL-1 με τη συμμετοχή της κυτταροπλασματικής του ουράς (André, 2004). Σημαντικό είναι ότι πυροδοτεί λειτουργική μεταρρύθμιση της β2-ιντεγκρίνης, η οποία μεσολαβεί την προσέλκυση

και συγκράτηση φλεγμονοδών κυττάρων (André, 2004). Γεγονός σηματοδότησης είναι και η αναδιαμόρφωση του κυτταρικού σκελετού, η οποία οδηγεί σε ανακατανομή του PSGL-1 στην επιφάνεια του κυττάρου, κατά την ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων, με την πρόσδεση της κυτταροπλασματικής περιοχής του PSGL-1 στην ακτίνη του κυτταρικού σκελετού να παίζει κρίσιμο ρόλο στην κύλιση των λευκοκυττάρων προς την P-σελεκτίνη (André, 2004). Τέλος, δεν μπορεί να παραληφθεί η ενδοκυτταρική σηματοδότηση, η οποία, οδηγεί στην απελευθέρωση κυτοκινών με σημαντικές επιπτώσεις στην αθηροσκληρωτική διαδικασία. Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα της P-σελεκτίνης που εκτίθεται στα αιμοπετάλια και μεσολαβεί την πρόσδεση μονοκυττάρων, ενώ η απελευθερούμενη από τα αιμοπετάλια RANTES πυροδοτεί περαιτέρω έκκριση χημειοκινών από τα ίδια μονοκύτταρα (André, 2004).

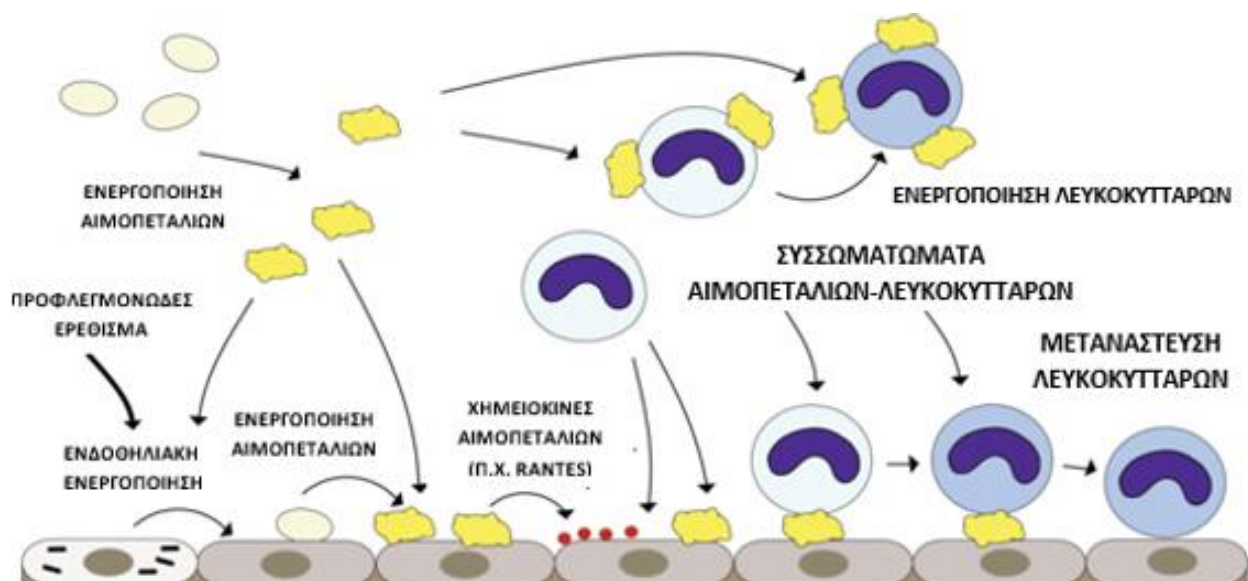
Εικόνα 2.2.3. Λειτουργία P-σελεκτίνης/PSGL-1 (André, 2004).



Η ανακάλυψη του κρίσιμου ρόλου που διαδραματίζει η εκφραζόμενη από τα αιμοπετάλια P-σελεκτίνη στην διαμόρφωση του θρόμβου, οδήγησε στη διεξαγωγή μια σειράς μελετών που αναφέρονται στη σχέση της με τη φλεγμονή, τη θρόμβωση και την πήξη στην περιοχή του αρτηριακού τραυματισμού. Η P-σελεκτίνη μετατοπίζεται στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων τα οποία ενσωματώνονται σε έναν αναπτυσσόμενο θρόμβο, ενισχύοντας τη στρατολόγηση κυκλοφορούντων λευκοκυττάρων (André, 2004). Ενδιαφέρον παρουσιάζει η ομοιότητα της έκφρασης της P-σελεκτίνης σε έναν αναπτυσσόμενο θρόμβο *in vivo*, σε περιοχές αρτηριακού τραυματισμού, με το μοτίβο που ακολουθεί η έκφραση του κολλαγόνου (André,

2004). Υπάρχουν δύο τρόποι με τους οποίους η εκφραζόμενη στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων/προσκολλημένων αιμοπεταλίων P-σελεκτίνη μπορεί να επηρεάσει τη θρόμβωση και την πήξη (André, 2004). Πρώτον, η P-σελεκτίνη υποστηρίζει αλληλεπιδράσεις αιμοπεταλίου-αιμοπεταλίου, άμεσα ή έμμεσα, προωθώντας την εναπόθεση ινώδους που είναι σημαντική για τη σταθεροποίηση του θρόμβου (Polgar, et al, 2005; André, 2004). Δεύτερον, η εμφάνιση της P-σελεκτίνης στην επιφάνεια του θρόμβου είναι καίρια για τη στρατολόγηση λευκοκυττάρων (André, 2004; Ley, 2003). Όπως προαναφέρθηκε η έκφραση της P-σελεκτίνης στα αιμοπετάλια προωθεί τη στρατολόγηση λευκοκυττάρων, ιδίως μονοκυττάρων, με αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση του θρόμβου (André, 2004; Ley, 2003). Επιπροσθέτως με την εμφάνιση της στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων υποστηρίζει την πρόσδεση κυκλοφορούντων προ-πηκτικών μικροσωματιδίων, μονοκυτταρικής προέλευσης (André, 2004; Ley, 2003). Πρόσφατη συγχρονική μελέτη της θρόμβωσης, αποκάλυψε ότι τα μικροσωματίδια αυτά, τα οποία είναι πλούσια πηγή του θρομβωτικού στοιχείου του αίματος που ονομάζεται ιστικός παράγοντας (TF), προσδένονται στην P-σελεκτίνη μέσω του PSGL-1 και συμβάλλουν στην ανάπτυξη του θρόμβου και στο σχηματισμό ινώδους στις τραυματισμένες αρτηρίες (André, 2004; Ley, 2003). Τέλος, στο πλαίσιο των αθηροσκληρωτικών αλλοιώσεων, η αιμοπεταλιακή P-σελεκτίνη είναι απαραίτητη για αποτελεσματική αλληλεπίδραση με μονοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα (εικόνα 2.2.4) (Ley, 2003).

Εικόνα 2.2.4 Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων, ενδοθηλιακών κυττάρων και λευκοκυττάρων και μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις (Arman, et al, 2015).



Τόσο η μεμβρανική, όσο και η διαλυτή μορφή της P-σελεκτίνης, είναι αγωνιστές των διαδικασιών θρόμβωσης/φλεγμονής (André, 2004). Τα επίπεδα sP-σελεκτίνης σε ασθενείς με

Θρομβωτικές διαταραχές και πολυμορφισμούς της P-σελεκτίνης παρακολουθούνται, καθώς συνήθως είναι αυξημένα, και ενδέχεται να αποτελέσουν νέα μέθοδο πρόβλεψης μελλοντικών καρδιαγγειακών εκβάσεων, όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου και το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (Polgar, et al, 2005; André, 2004). Οι παθολογικοί κίνδυνοι που σχετίζονται με την P-σελεκτίνη είναι πολλοί, όπως η συμμετοχή της στην διαμόρφωση των αθηρωματικών πλακών, στην υπερπηκτικότητα του αίματος και στο προφλεγμονώδες προφίλ (André, 2004). Συγκεκριμένα, υψηλά επίπεδα sP-σελεκτίνης στο πλάσμα παρουσιάζονται σε ασθένειες που σχετίζονται με τη θρόμβωση, όπως η στεφανιαία νόσος, ο σακχαρώδης διαβήτης, η υπέρτασης και η αρτηριακή μαρμαρυγή (Polgar, et al, 2005). Ωστόσο, ο ρόλος της P-σελεκτίνης επεκτείνεται πέρα από τη θρόμβωση και την αθηροσκλήρωση (André, 2004). Η P-σελεκτίνη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση δρεπανοκυττάρων σε ενδοθηλιακά κύτταρα, υπό στατικές συνθήκες και συνθήκες ροής. Η P-σελεκτίνη εμπλέκεται επίσης στην στρατολόγηση των ηωσινόφιλων στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων στο άσθμα (André, 2004).

Αν και η ενδεχόμενη χρήση PSGL-1 αναστολέων για την πρόληψη της επαναστένωσης και της αθηροσκλήρωσης αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη στρατηγική, αδιαμφισβήτητα δεν αποτελεί ιδανική στρατηγική (André, 2004). Πολυάριθμοι μοριακοί στόχοι που επηρεάζουν δραματικά τη θρόμβωση και τη αθηροσκλήρωση έχουν αναγνωριστεί έως τώρα με τη χρήση γενικά τροποποιημένων ποντικών (André, 2004). Η απόλυτη παρεμπόδιση του σχηματισμού, ακόμη και η υποχώρηση της αθηρωματικής πλάκας, έχει συσχετιστεί με μεμονωμένο γενετικό χειρισμό (André, 2004). Δεν είναι δυνατόν όμως να μην αναγνωριστεί ότι η P-σελεκτίνη είναι ένα από τα μόρια με τα μεγαλύτερα εύρη βιολογικών δραστηριοτήτων που βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος και ότι η τροποποίηση της αλληλεπίδρασης PSGL-1/P-σελεκτίνης αποτελεί πολλά υποσχόμενη στρατηγική που θα μπορούσε να επηρεάσει τις διαδικασίες θρόμβωσης και φλεγμονής. Παρόλα αυτά είναι άκρως απαραίτητη η περαιτέρω κλινική διερεύνηση στον άνθρωπο (André, 2004).

3. sP – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ, ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ

3.1. ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ ΚΑΙ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ

Η αθηροσκλήρωση είναι μία εκφυλιστική διαδικασία η οποία μπορεί να ξεκινήσει από πολύ νεαρή ηλικία και εξελίσσεται προοδευτικά κατά τη διάρκεια της ζωής (Bastien, et al, 2014). Πρόκειται για την κύρια αιτία της καρδιαγγειακής νόσου και κατ' επέκταση του εμφράγματος του μυοκαρδίου, της καρδιακής ανεπάρκειας, του αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου και της

διαλείπουσας χωλότητας (Frostegård, 2013). Η πρόοδος της αθηρωματικής διαδικασίας σχετίζεται με την ηλικία και το αρσενικό φύλο, ωστόσο πολλές χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις όπως η παχυσαρκία, ο διαβήτης, η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία και η επιβλαβής συνήθεια του καπνίσματος μπορεί να επισπεύσουν την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης (Bastien, et al, 2014; Frostegård, 2013). Οι εκτεταμένες αλλαγές στον τρόπο ζωής, η υιοθέτηση σωστών υγιεινοδιαιτητικών συμπεριφορών και η χρήση θεραπειών για τους συγκεκριμένους παράγοντες κινδύνου είναι οι κύριες αιτίες δραματικής μείωσης της αγγειακής θνησιμότητας στις χώρες υψηλού εισοδήματος. Προκειμένου να σημειωθεί μείωση της αγγειακής θνησιμότητας και σε λιγότερο επιφανή έθνη, χρειάζονται μεγάλες προσπάθειες για την εξάλειψη των κύριων τροποποιήσιμων παραγόντων κινδύνου αθηροσκλήρωσης, ιδίως του καπνίσματος και της αναδυόμενης επιδημίας της παχυσαρκίας (Herrington, et al, 2016). Ωστόσο, παρά τις αλλαγές στον τρόπο ζωής και τη χρήση φαρμακολογικών προσεγγίσεων για τη μείωση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης του πλάσματος, η καρδιαγγειακή νόσος εξακολουθεί να αποτελεί την κυριότερη αιτία θανάτου στις ΗΠΑ, την Ευρώπη και το μεγαλύτερο μέρος της Ασίας (Ross, 1999).

Προοπτικές μελέτες παρατήρησης, τυχαιοποιημένες δοκιμές και πειράματα Μενδελικής τυχαιοποίησης απέδειξαν ότι η πλεονάζουσα εναπόθεση λίπους αυξάνει πολλούς από τους τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου για αθηροσκλήρωση όπως είναι ο σακχαρώδης διαβήτης, η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία και η χρόνια νεφρική νόσος (Herrington, et al, 2016). Η παχυσαρκία επηρεάζεται από τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας, λόγω αύξησης της ενεργειακής δαπάνης, αλλά και τα επηρεάζει, καθώς τα παχύσαρκα άτομα ενδέχεται να έχουν δυσκολίες στην άθληση, ακόμη και στην κίνηση. Η φυσική δραστηριότητα συσχετίζεται αντίστροφα τόσο με το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο όσο και με την ισχαιμική καρδιοπάθεια, αν και οι διάφορες μελέτες που το αποδεικνύουν διαφέρουν ως προς τον προσδιορισμό και τον τρόπο μέτρησης της φυσικής δραστηριότητας. Επομένως, τα επιστημονικά δεδομένα που στηρίζουν την μορφή και την εγκυρότητα των παραπάνω συσχετίσεων, δεν είναι επαρκή (Herrington, et al, 2016).

Η κεντρική παχυσαρκία έχει αποδειχθεί ότι συνοδεύεται από πιο εκτεταμένες λιπαρές ραβδώσεις σε αορτικό επίπεδο και αυξημένες αλλοιώσεις στις δεξιές στεφανιαίες αρτηρίες αγοριών και νεαρών ανδρών. Επιπλέον, η σοβαρή παχυσαρκία στην παιδική ηλικία είναι ανεξάρτητα συνδεδεμένη με την πάχυνση των αρτηριακών τοιχωμάτων και την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Επομένως, η παχυσαρκία αυτή καθαυτή είναι δυνατόν να προάγει το

σχηματισμό αθηρωματικών πλακών από τις πρώτες φάσεις της ζωής (Desideri, et al, 2005). Μάλιστα, η παχυσαρκία στην εφηβεία είναι ισχυρός παράγοντας πρόβλεψης στεφανιαίας νόσου στην ενήλικη ζωή, όπως υποστηρίζεται βάσει δύο μεγάλων προοπτικών μελετών σε παχύσαρκα παιδιά (2-14 ετών) και εφήβους (13-18 ετών), με επανεξέταση σε 57 και 13 χρόνια αντίστοιχα (Gunnell, Frankel, Nanchahal, Peters, & Davey Smith, 1998; Must, Jacques, Dallal, Bajema, & Dietz, 1992). Σε νεαρούς ενήλικες, η παχυσαρκία κατά την διάρκεια των προηγούμενων χρόνων της ζωής τους συσχετίστηκε θετικά με την ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης, όπως αυτή υπολογίζεται βάσει του πάχους του έσω – μέσου καρωτιδικού χιτώνα, σε προοπτική μελέτη που δημοσιεύτηκε το 2004, η οποία παρακολούθησε πληθυσμό 513 ατόμων επανεξετάζοντάς τον έξι φορές, από την ηλικία των 4 έως των 35 ετών (Freedman, Dietz, Tang, Mensah, Bond, Urbina, ... & Berenson, 2004). Το ευρήματα αυτά υποστηρίζουν την ιδέα πιθανής ύπαρξης αθροιστικής καρδιαγγειακής επίδρασης της παιδικής παχυσαρκίας σε καρδιαγγειακές εκβάσεις στην ενήλικη ζωή (Desideri, et al, 2005; Freedman, et al, 2004). Από παθοφυσιολογική άποψη, στα νεαρά άτομα με σπλαχνική παχυσαρκία φαίνεται να έχουν διεισδύσει περισσότερα μακροφάγα στις αθηρωματικές τους αλλοιώσεις. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι τα νεαρά παχύσαρκα άτομα είναι περισσότερο ευάλωτα στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία σε σχέση με τα νορμοβαρή (Bastien, et al, 2014). Εκτός της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, η πρώιμη αθηροσκλήρωση στην παχυσαρκία συσχετίζεται επίσης με αυξημένη αντίσταση στη ροή του αίματος στα αιμοφόρα αγγεία και φλεγμονή (Bastien, et al, 2014).

Σύμφωνα με τα παραπάνω, γνωστά παθοφυσιολογικά μονοπάτια συνδέουν την παχυσαρκία με τη διαδικασία που οδηγεί στην επιτάχυνση της αθηροσκλήρωσης, εμπλέκοντας τόσο τη φλεγμονή όσο και μεταβολές στον μεταβολισμό των λιπιδίων. Η παθοφυσιολογία της παχυσαρκίας, σε αντίθεση με την αθηρωματική διαδικασία, συμπεριλαμβάνει ελεύθερα λιπαρά οξέα και τριγλυκερίδια, παρά LDL χοληστερόλη (Bastien, et al, 2014). Στην παχυσαρκία, το χρόνια θετικό ενεργειακό ισοζύγιο επάγει τη συσσώρευση διαιτητικών λιπαρών οξέων στο λιπώδη ιστό μέχρι που η χωρητικότητα του φτάνει σε κορεσμό, οδηγώντας στην μετακίνηση των λιπών και έπειτα αποθήκευση τους σε άλιπους φυσιολογικά ιστούς, όπως το συκώτι, οι μυς και ενδοκοιλιακή ή σπλαχνική αποθήκευση τους. Αυτού του είδους η μετακίνηση των λιπών και η έκτοπη εναπόθεση τους συνεπάγεται μια συνδυαστική κατάσταση φλεγμονής και ινσουλινοαντίστασης (Bastien, et al, 2014). Επιπλέον, οι αδιποκίνες, προφλεγμονώδεις παράγοντες που εκκρίνονται από τον λιπώδη ιστό, εμπλέκονται επίσης σε διαδικασίες που διαμορφώνουν την αθηρωματική πλάκα και προωθούν την αθηροσκλήρωση, όπως η

ενδοθηλιακή αγγειοκινητική δυσλειτουργία, η υπερπηκτικότητα και η δυσλιπιδαιμία (Bastien, et al, 2014).

3.2. sP – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Όπως εκτενέστερα αναφέρθηκε παραπάνω, πρόσφατες εκτιμήσεις υποδεικνύουν ότι η κεντρική παχυσαρκία στο γενικό πληθυσμό έχει υψηλό επιπολασμό, μεταξύ 40 και 60% (Rallidis, Kolomvotsou, Lekakis, Farajian, Vamvakou, Dagres, ... & Zampelas, 2017). Υπάρχουν επίσης έγκυρα δεδομένα ότι η κοιλιακή παχυσαρκία σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου και σακχαρώδους διαβήτη, ενώ θεωρείται ότι ο φαινότυπος της παχυσαρκίας σχετίζεται με ισσουλινοαντίσταση, ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, λιπιδαιμικές διαταραχές, υψηλό φλεγμονώδες φορτίο και διαταραχές της πήξης του αίματος (Rallidis, et al, 2017). Η κύρια αιτία της καρδιαγγειακής νόσου είναι η αθηροσκλήρωση (Frostegård, 2013). Η αθηρωματική διαδικασία ουσιαστικά ξεκινάει από την παιδική ηλικία, κατά την εμφάνιση της λιπώδους διήθησης στο αγγειακό σύστημα (Glowinska, Urban, Peczynska, & Florys, 2005; Ross, 1999). Η ασυμπτωματική φάση της νόσου διαρκεί αρκετές δεκαετίες, γεγονός που δίνει την ευκαιρία εντοπισμού της νόσου πριν την εμφάνιση κλινικών συμπτωμάτων, καθορισμού των ατόμων υψηλού κινδύνου και εφαρμογής κατάλληλων στρατηγικών πρόληψης (Glowinska, et al, 2005). Οι παράγοντες κινδύνου για αθηροσκλήρωση που εμφανίζονται κατά την παιδική ηλικία επάγουν έκτοτε αθηροσκληρωτικές μεταβολές στα αγγειακά τοιχώματα (Glowinska, et al, 2005). Η παχυσαρκία αυτή καθαυτή είναι δυνατόν να προάγει το σταδιακό σχηματισμό αθηρωματικών πλακών από τις πρώτες φάσεις της ζωής, ωστόσο η διαδικασία της αθηρωμάτωσης επιταχύνεται σε παιδιά που συνυπάρχουν πολλαπλοί παράγοντες κινδύνου για τη νόσο (Desideri, et al, 2005; Glowinska, et al, 2005). Είναι νευραλγικής σημασίας να βρεθούν μη επεμβατικές μέθοδοι για την εξασφάλιση έγκυρης ανίχνευσης των νεαρών ατόμων υψηλού κινδύνου κατά τη διάρκεια της μακράς προσυμπτωματικής φάσης της νόσου, κατά τη διάρκεια της οποίας οι ενδοθηλιακές αλλοιώσεις είναι απολύτως αντιστρεπτές (Glowinska, et al, 2005).

Η ενεργοποίηση και η έκφραση κυτταρικών μορίων προσκόλλησης, όπως η sP-σελεκτίνη, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση αθηρωματικών αλλοιώσεων και την επακόλουθη ανάπτυξη στεφανιαίας νόσου (Miller, & Carruccio, 2006). Η sP-σελεκτίνη, θεωρείται κυρίως δείκτης ενεργοποίησης αιμοπεταλίων, αν και κάποιοι συγγραφείς τη θεωρούν επίσης δείκτη ενεργοποίησης του ενδοθηλίου (Glowinska, et al, 2005). Έχει βρεθεί ότι τα άτομα με υπέρταση έχουν αυξημένα επίπεδα P-σελεκτίνης, γεγονός που πιθανόν οφείλεται στην

αιμοπεταλιακή δυσλειτουργία στα άτομα αυτά. Επιπλέον, έχουν περιγραφεί σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις P-σελεκτίνης σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο, ηλικίας πάνω από 55 ετών (Glowinska, et al, 2005). Η σχέση μεταξύ των μορίων προσκόλλησης και τους δείκτες παχυσαρκίας, σε πληθυσμούς διαφόρων εθνικοτήτων, δεν είναι ξεκάθαρη. Σε συγχρονική μελέτη που διεξήχθη μεταξύ 1994 και 1996 στο Νότιο Λονδίνο, σε υπέρβαρους, ηλικίας 40-59 ετών, διαφόρων εθνικοτήτων, παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης, όπως μετρήθηκε με ELISA kit του εμπορίου, με το ΔΜΣ, τη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, τα τριγλυκερίδια και την ινσουλίνη νηστείας ορού, ενώ παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση με τον WHR και την HDL χοληστερόλη, καμία από αυτές ωστόσο δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p \leq 0,005$) (Miller, et al, 2006).

3.3 sP – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ, ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΚΑΙ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ ΣΤΟΥΣ ΕΝΗΛΙΚΕΣ

Φαίνεται πως ο λιπώδης ιστός αποτελεί καθοριστικό παράγοντα χαμηλού επιπέδου εμμένουσας φλεγμονώδους κατάστασης σε υπέρβαρα άτομα, η οποία είναι συνδεδεμένη με αυξημένο κίνδυνο για αθηροσκλήρωση (Kvasnicka, Kvasnicka, Ceska, & Vrablik, 2003). Ως αποτέλεσμα αυτής έρχεται η αύξηση των μορίων προσκόλλησης, συμπεριλαμβανομένου της sP-σελεκτίνης (Kvasnicka, et al, 2003). Σε κλινική μελέτη ασθενών-μαρτύρων που πραγματοποιήθηκε το 2003, βρέθηκε ότι οι υπέρβαροι ενήλικες με συνυπάρχουσα συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία (υπερχοληστερολαιμία και υπερτριγλυκεριδαιμία), η οποία αποτελεί επίσης σημαντικό παράγοντα κινδύνου αθηροσκλήρωσης, είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα sP-σελεκτίνης ($p < 0,001$), η οποία μετρήθηκε ως δείκτης φλεγμονής, και συνολικά αυξημένο επίπεδο φλεγμονώδους απάντησης, όπως προσδιορίστηκε από επιπρόσθετους δείκτες φλεγμονής, συγκριτικά με τους υπέρβαρους μη υπερλιπιδαιμικούς ενήλικες που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Στην ομάδα των ατόμων με υπερλιπιδαιμία η sP-σελεκτίνη συσχετίστηκε άμεσα και στατιστικά σημαντικά με τη συνολική χοληστερόλη ($R=0,45$, $p < 0,05$), την LDL χοληστερόλη ($R=0,51$, $p < 0,0001$) και τα τριγλυκερίδια ($R=0,65$, $p < 0,0001$). Στην ίδια ομάδα, ο ΔΜΣ συσχετίστηκε άμεσα και στατιστικά σημαντικά με τα τριγλυκερίδια ($R=0,68$, $p < 0,0001$) και το ινωδογόνο ($R=0,37$, $p < 0,05$). Η διαφορά αυτή μεταξύ της των δύο ομάδων πιθανόν υποδηλώνει ότι η συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία συσχετίζεται ανεξάρτητα με την επαγωγή της φλεγμονώδους απάντησης (Kvasnicka, et al, 2003).

Ποικίλες προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες αναφέρουν ότι τα υψηλά επίπεδα δεικτών φλεγμονής στο αίμα, όπως τα διαλυτά κυτταρικά μόρια προσκόλλησης και άλλοι φλεγμονώδεις δείκτες, συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο μελλοντικών καρδιαγγειακών εκβάσεων, των οποίων η κύρια αιτία είναι η αθηρωμάτωση (Kvasnicka, et al, 2003). Εκτιμάται μάλιστα ότι η αύξηση της φλεγμονώδους αντίδρασης μπορεί να οριστεί ως δείκτης εκτίμησης για την πιθανή αθηροσκληρωτική επιβάρυνση πριν τις θεραπείες μείωσης των λιπιδίων σε υπέρβαρους ασθενείς με συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία. Τα αποτελέσματα αυτά ενδέχεται να παρέχουν τη βάση για την ανάπτυξη νέων ιδεών για την παθογένεια της αθηροσκληρωτικής νόσου της υπερλιπιδαιμίας και της παχυσαρκίας (Kvasnicka, et al, 2003).

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, η sP-σελεκτίνη αποτελεί δείκτη ενεργοποίησης αιμοπεταλίων, ενώ η ενεργοποίηση αιμοπεταλίων είναι αναπόσπαστο κομμάτι της έναρξης της αθηρωματικής διαδικασίας (De Pergola, Pannacciulli, Coviello, Scarangella, Di Roma, Caringella, ... & Giorgino, 2008). Σε συγχρονική μελέτη ασθενών-μαρτύρων που διεξήχθη σε υπέρβαρες και παχύσαρκες γυναίκες, 18-55 ετών και δημοσιεύτηκε το 2006, βρέθηκε ότι οι υπέρβαρες και παχύσαρκες γυναίκες είχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις sP-σελεκτίνης νηστείας στο πλάσμα, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου φυσιολογικού βάρους ($p < 0,05$). Οι συγκεντρώσεις sP-σελεκτίνης συσχετίστηκαν θετικά και στατιστικά σημαντικά με το ΔΜΣ, το δείκτη ινσουλινοαντίστασης HOMA ($HOMA_{IR}$), τη συστολική και διαστολική πίεση, την ινσουλίνη νηστείας, τα τριγλυκερίδια και τα επίπεδα του αναστολέα του ενεργοποίηση του πλασμινογόνου 1 ($PAI-1$) στο πλάσμα. Ωστόσο, όταν πραγματοποιήθηκε ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης, με την P-σελεκτίνη ως εξαρτημένη μεταβλητή και όλες τις υπόλοιπες παραμέτρους ως ανεξάρτητες μεταβλητές, η P-σελεκτίνη δεν διατήρησε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με καμία από αυτές, ακόμη και όταν ο ΔΜΣ αντικαταστάθηκε από τον WHR ή όταν ο $HOMA_{IR}$ αντικαταστάθηκε από τις συγκεντρώσεις της γλυκόζης και της ινσουλίνης νηστείας του πλάσματος. Το αποτέλεσμα αυτό υποδηλώνει ότι ένας συνδυασμός παραμέτρων και όχι μεμονωμένοι παράγοντες, ευθύνεται για τα υψηλότερα επίπεδα sP-σελεκτίνης σε ασθενείς με παχυσαρκία ή και/ή μεταβολικό σύνδρομο (De Pergola, 2008).

Συνολικά, οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με τη σχέση των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα με την παχυσαρκία και την αθηρωμάτωση, παρείχαν αμφιλεγόμενα αποτελέσματα (De Pergola, 2008). Σε μελέτη ασθενών-μαρτύρων, το 1994, βρέθηκαν υψηλότερα επίπεδα sP-σελεκτίνης σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, τα οποία διατρέχουν υψηλό κίνδυνο θρόμβωσης, σε σύγκριση με την ομάδα των μη διαβητικών,

ανεξαρτήτως του γλυκαιμικού ελέγχου (Steiner, Reinhardt, Krammer, Ernst, & Blann, 1994). Μεμονωμένη κλινική μελέτη ασθενών-μαρτύρων, το 2005, έδειξε στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα της πρωτεΐνης αυτής σε ομάδα ενηλίκων με νοσογόνο παχυσαρκία, συγκριτικά με τους νορμοβαρείς της ομάδας ελέγχου, ενώ σε άλλη αντίστοιχη μελέτη σε γυναίκες, το 2002, δεν βρέθηκαν διαφορές στα επίπεδα sP-σελεκτίνης του πλάσματος μεταξύ παχύσαρκων ασθενών και ομάδας ελέγχου (Vázquez, Pazos, Berrazueta, Fernández-Escalante, García-Unzueta, Freijanes, & Amado, 2005; Ziccardi, Nappo, Giugliano, Esposito, Marfella, Cioffi, ... & Giugliano, 2002). Εντούτοις, η μείωση του σωματικού βάρους, οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα και στις δύο παραπάνω μελέτες (Vázquez, et al, 2005; Ziccardi, et al, 2002).

Σε μελέτη παρέμβασης με εξάμηνη διατροφική θεραπεία που στόχευε στην απώλεια βάρους, σε άτομα με ΔΜΣ > 35 kg/m² και δημοσιεύτηκε το 2019, η απώλεια βάρους οδήγησε, ομοίως με τις μελέτες που προαναφέρθηκαν, σε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων sP-σελεκτίνης ορού ($p < 0,05$), η οποία συνδέεται με τον PSGL-1 στα λευκοκύτταρα (López-Domènech, et al, 2019). Στην ίδια έρευνα, παραδόξως παρατηρήθηκε αύξηση του PSGL-1 ($p < 0,05$) με την απώλεια βάρους, γεγονός που υποδεικνύει ότι η αποδέσμευση της πρωτεΐνης απ' την επιφάνεια των κυττάρων είναι μέρος της διαδικασίας απενεργοποίησης (López-Domènech, Martínez-Herrera, Abad-Jiménez, Morillas, Escribano-López, Díaz-Morales, ... & Rocha, 2019). Μείωση των δεικτών της αρτηριακής φλεγμονής, και συγκεκριμένα 11,7% μείωση της sP-σελεκτίνης ($p < 0,05$), παρατηρήθηκε και σε μελέτη παρέμβασης δύο μηνών με Μεσογειακή διατροφή σε ενήλικα άτομα με κοιλιακή παχυσαρκία και αυξημένο WHR, με παράλληλη μείωση αυτού και του ΔΜΣ, η οποία δημοσιεύτηκε το 2017 (Rallidis, et al, 2017). Ωστόσο, κατά τη σύγκριση της ομάδας παρέμβασης με την ομάδα ελέγχου δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη μείωση των δεικτών αυτών αρτηριακής φλεγμονής, συμπεριλαμβανομένης της sP-σελεκτίνης (Rallidis, et al, 2017). Αντίστοιχα, στη μελέτη των υπέρβαρων και παχύσαρκων γυναικών που αναφέρθηκε παραπάνω, η sP-σελεκτίνη, αν και υψηλότερη στην ομάδα μελέτης, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, μετά από ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης, δεν διατήρησε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με καμία από τις γενικές, ανθρωπομετρικές, μεταβολικές, ορμονικές και προθρομβωτικές παραμέτρους (De Pergola, 2008).

Συνοψίζοντας λοιπόν, η sP-σελεκτίνη είναι σύμφωνα με την πλειονότητα των μελετών υψηλότερη σε υπέρβαρα και παχύσαρκα άτομα, τα οποία αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου

για αθηροσκλήρωση, σε σχέση με νορμοβαρή. Εάν και η συγκεκριμένη πρωτεΐνη συσχετίζεται με την αντίσταση στην ινσουλίνη και σχετικές μεταβολικές και προθρομβωτικές παραμέτρους, η αυξημένη εναπόθεση σωματικού λίπους, η ινσουλινοαντίσταση και οι σχετικές μεταβολικές παράμετροι που προαναφέρθηκαν δεν είναι ανεξάρτητες μεταβλητές πρόβλεψης των συγκεντρώσεων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα (De Pergola, 2008).

3.4 sP – ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ, ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΚΑΙ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ

Η λήψη διαστάσεων επιδημίας της παιδικής παχυσαρκίας τα τελευταία χρόνια, την καθιστά μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας στις Δυτικές χώρες, λόγω των πιθανών επιπτώσεων αυτής στη μετέπειτα ζωή, συμπεριλαμβανομένης της καρδιαγγειακής νόσου, η οποία επάγεται κατά κύριο λόγο από την αθηρωμάτωση. Η εμφάνιση παραγόντων κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου εξαιτίας της παχυσαρκίας, έχει τεκμηριωθεί στους ενήλικες, αποδεικνύεται πλέον και στα παχύσαρκα παιδιά (Desideri, et al, 2005). Ωστόσο, και η παιδική παχυσαρκία αυτή καθεαυτή πυροδοτεί την ανάπτυξη μόνιμων αρτηριακών αλλοιώσεων και κατ' επέκταση επιδεινώνει την καρδιαγγειακή λειτουργία κατά την ενηλικίωση, ανεξάρτητα με την εδραίωση επιπλέον παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου (Desideri, et al, 2005). Η αύξηση των ενδοθηλιακών μορίων προσκόλλησης παίζει καθοριστικό ρόλο στα πρωταρχικά αυτά στάδια της αθηρογένεσης, επιτρέποντας την προσκόλληση λευκοκυττάρων και μονοκυττάρων στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και την διαενδοθηλιακή τους μετανάστευση (Desideri, et al, 2005). Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια συμμετέχουν επίσης στα πρώτα στάδια της αθηρωμάτωσης, μεταβάλλοντας τις χημειοστατικές ιδιότητες και τις ιδιότητες προσκόλλησης των ενδοθηλιακών κυττάρων (Desideri, et al, 2005).

Για τη διερεύνηση της υπόθεσης ότι η επαγόμενη από την παιδική παχυσαρκία ενεργοποίηση των αρτηριακών ενδοθηλιακών κυττάρων και αιμοπεταλίων, αυξάνει τον κίνδυνο αθηρωμάτωσης και κατ' επέκταση τον καρδιαγγειακό κίνδυνο στα επόμενα στάδια της ζωής, πραγματοποιήθηκε κλινική έρευνα ασθενών-μαρτύρων σε Καυκάσιο πληθυσμό παιδιών σχολικής ηλικίας (10-13 ετών). Τον πληθυσμό της έρευνας αποτέλεσαν 40 παχύσαρκα παιδιά, ενώ της ομάδα ελέγχου 40 παιδιά φυσιολογικού βάρους (Desideri, et al, 2005). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, που δημοσιεύτηκαν το 2005, στην ομάδα των παχύσαρκων παιδιών φάνηκε να υπάρχει σημαντική ενεργοποίηση ενδοθηλιακών κυττάρων σύμφωνα με τους σχετικούς δείκτες που μετρήθηκαν αλλά και αιμοπεταλίων, καθώς σημειώθηκαν υψηλότερα

επίπεδα sP-σελεκτίνης ($p < 0,001$) και άλλων δεικτών ενεργοποίησης αιμοπεταλίων στο πλάσμα, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Αν και αποδείχθηκε ότι η αυξημένη εναπόθεση λίπους είναι ο κύριος παράγοντας που οδηγεί στην ενεργοποίηση του ενδοθηλίου και των αιμοπεταλίων που παρατηρήθηκε στα παχύσαρκα παιδιά, λόγω απουσίας συγχυτικών παραγόντων, ή και εξαιτίας απουσίας υπέρβαρων παιδιών στον επιλεγμένο πληθυσμό μελέτης, η ενεργοποίηση αυτή δεν κατάφερε να συσχετιστεί στατιστικά σημαντικά με το επίπεδο της εναπόθεσης λίπους, όπως αυτή ταξινομείται με βάση το σχετικό ΔΜΣ, το ΔΜΣ και τον WHR. Στα παχύσαρκα παιδιά ενδιαφέρουσα ήταν επίσης η αρνητική συσχέτιση που βρέθηκε μεταξύ των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα και της HDL χοληστερόλης ($R = -0,419$, $p = 0,007$) (Desideri, et al, 2005). Για να προσδιοριστεί εάν τα ευρήματα αυτά θα οδηγήσουν σε ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης και αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών εκβάσεων στα παχύσαρκα αυτά παιδιά κατά την ενήλικη ζωή, απαιτείται διεξαγωγή προοπτικών μελετών (Desideri, et al, 2005).

Σε μία άλλη συγχρονική μελέτη ασθενών-μαρτύρων που πραγματοποιήθηκε σε παιδιά και εφήβους και τα αποτελέσματα της δημοσιεύτηκαν επίσης το 2005, μετρήθηκε μεταξύ άλλων παραμέτρων η συγκέντρωση της sP-σελεκτίνης (Glowinska, et al, 2005). Ο πληθυσμός μελέτης αποτελούνταν από τέσσερις υποομάδες παιδιών και εφήβων (8-20 ετών): α) παχύσαρκοι, β) παχύσαρκοι με υπέρταση, γ) με υπέρταση, δ) με σακχαρώδη διαβήτη, ενώ η ομάδα ελέγχου από υγιή, μη παχύσαρκα παιδιά και εφήβους (11-19 ετών). Η μέση συγκέντρωση sP-σελεκτίνης των τεσσάρων υποομάδων μελέτης συνδυαστικά, δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά με τα επίπεδα της ομάδας ελέγχου. Σε καμία από τις επιλεγμένες υποομάδες ασθενών, όταν μελετήθηκαν ξεχωριστά, τα επίπεδα sP-σελεκτίνης δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά με αυτά της ομάδας ελέγχου (Glowinska, et al, 2005). Στα παχύσαρκα παιδιά με συνυπάρχουσα υπέρταση, η sP-σελεκτίνη συσχετίστηκε θετικά με τη συστολική αρτηριακή πίεση ($R = 0,38$, $p = 0,038$), ενώ στα υπερτασικά παιδιά η sP-σελεκτίνη εκτός από τη συστολική αρτηριακή πίεση ($R = 0,5$, $p = 0,011$) συσχετίστηκε θετικά και με την LDL χοληστερόλη ($R = 0,42$, $p = 0,04$). Κατά την αξιολόγηση της sP-σελεκτίνης στις τέσσερις υποομάδες ασθενών, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών τους (Glowinska, et al, 2005).

Συνοψίζοντας, η παράλληλη παρακολούθηση των επιπέδων μορίων προσκόλλησης, μπορεί να δώσει πιο ακριβείς και αναλυτικές πληροφορίες στην πρόβλεψη του κινδύνου μελλοντικών καρδιαγγειακών εκβάσεων σε νεαρούς ασθενείς με εδραιωμένους παράγοντες κινδύνου για αθηρωμάτωση και καρδιαγγειακά, σε σχέση με τη χρήση των συμβατικών μεθόδων πρόβλεψης μεμονωμένα (Glowinska, et al, 2005). Τέλος, αυξημένα επίπεδα μορίων προσκόλλησης

παρατηρούνται και σε παιδιά με οικογενειακό ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου, γεγονός που ενισχύει τις προσδοκίες για δυνατότητα χρήσης της παρακολούθησής τους ως συνδυαστική μέθοδο πρόβλεψης μελλοντικών καρδιαγγειακών εκβάσεων (Glowinska, et al, 2005).

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΚΕΝΟ

Τα τελευταία χρόνια έχει παρουσιαστεί ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την παιδική παχυσαρκία, ως παράγοντα κινδύνου για αθηρωμάτωση και καρδιαγγειακή νόσο και έχουν διεξαχθεί πολυάριθμες μελέτες με πολύ ενδιαφέροντα και σημαντικά αποτελέσματα για την επιστημονική κοινότητα. Η τάση αυτή σχετίζεται πιθανότατα με τα συνεχώς αυξανόμενα ποσοστά της παχυσαρκίας κατά την παιδική και εφηβική ηλικία, η οποία έχει πλέον λάβει διαστάσεις επιδημίας, αλλά και την επιτακτική ανάγκη πρόληψης των προβλημάτων υγείας, εξαιτίας του υπέρβαρου, της παχυσαρκίας και των επιπλοκών της, στη μετέπειτα ζωή. Οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε παιδιά και εφήβους όσον αφορά στα επίπεδα sP-σελεκτίνης και τη διερεύνηση της σχέσης αυτών με την παχυσαρκία, είναι περιορισμένες σε αριθμό και μικρές σε μέγεθος όσον αφορά στο δείγμα που εξετάζουν. Επιπλέον εάν και σε αυτές αποδεικνύεται ότι η sP-σελεκτίνη είναι αυξημένη σε υπέρβαρα και παχύσαρκα παιδιά, μετά από μία εκτεταμένη αναζήτηση στην υπάρχουσα βιβλιογραφία είναι αμφίβολο εάν κάποια έχει καταφέρει να αποδείξει την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής συσχέτισης με κάποιον από τους δείκτες παχυσαρκίας.

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της πιθανής συσχέτισης των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα, ως δείκτη ενεργοποίησης αιμοπεταλίων, με δείκτες παχυσαρκίας, σε ένα μεγάλο δείγμα παιδιών και εφήβων ηλικίας 9-13 ετών, από διάφορες περιοχές της Ελλάδας.

4. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

4.1 ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η μελέτη Healthy Growth αποτελεί μία συγχρονική (cross-sectional) επιδημιολογική μελέτη που επιπλέον συνδυάζει την αναδρομική συλλογή πληροφοριών από παιδιά σχολικής-προεφηβικής ηλικίας (9 έως 13 ετών) και τους γονείς τους. Η μελέτη ξεκίνησε το Μάιο του 2007, αρχικά με την εφαρμογή ενός πιλοτικού σταδίου με στόχο τον ποιοτικό έλεγχο των παρατηρήσεων και του τρόπου συλλογής τους. Μετά την ολοκλήρωση του σταδίου αυτού ακολούθησε το δεύτερο κυρίως στάδιο της μελέτης συλλογής των δεδομένων. Η επιλογή των υπό μελέτη σχολείων πραγματοποιήθηκε μετά από τη λήψη σχετικής έγκρισης από το Τμήμα Αγωγής Υγείας και Περιβαλλοντικής Αγωγής του Υπουργείου Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων και μετά την γνωμοδότηση του Τμήματος Ερευνών Τεκμηρίωσης και Εκπαιδευτικής Τεχνολογίας του Παιδαγωγικού Ινστιτούτου. Επιπλέον, έγκριση για τη διεξαγωγή της μελέτης ελήφθη από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

Στη μελέτη κλήθηκαν να συμμετάσχουν 77 τυχαία επιλεγμένα δημοτικά σχολεία, τεσσάρων μεγάλων περιοχών της Ελλάδας (Αθήνα, Θεσσαλονίκη, Κρήτη και Αργίριο). Μετά την θετική ανταπόκριση των σχολείων που επιλέχθηκαν για να συμμετάσχουν στη μελέτη, όλοι οι γονείς ή κηδεμόνες των παιδιών που φοιτούν στις Ε΄ και ΣΤ΄ τάξεις των σχολείων αυτών έλαβαν ένα εκτενές ενημερωτικό γράμμα που περιέγραφε αναλυτικά τους σκοπούς, τα στάδια και τις μετρήσεις που θα λάμβαναν χώρα στα πλαίσια της μελέτης. Όσοι γονείς ή κηδεμόνες συναίνεσαν για την συμμετοχή του παιδιού τους στην μελέτη έπρεπε να υπογράψουν και να επιστρέψουν στην ερευνητική ομάδα του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου το σχετικό συμφωνητικό εθελοντικής συμμετοχής που υπήρχε στο τέλος του ενημερωτικού γράμματος. Από τα 4.145 παιδιά, υπογεγραμμένα έντυπα συγκατάθεσης συλλέχθηκαν για 2.655 παιδιά (ποσοστό ανταπόκρισης: 64,1%). Από αυτά τα 2.655 παιδιά, πλήρη κοινωνικοοικονομικά, δημογραφικά, περιγεννητικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά συλλέχθηκαν για 2.294 παιδιά. Στη μελέτη αυτή, χρησιμοποιήθηκαν 1.154 παιδιά (49,5% αγόρια) με πλήρη δεδομένα σχετικά με τα ανθρωπομετρικά τους χαρακτηριστικά, την αξιολόγηση της αρτηριακής τους πίεσης (ΑΠ), το στάδιο βιολογικής ωρίμανσης Tanner, τη διατροφική τους αξιολόγηση, τη φυσική τους δραστηριότητα και ορισμένους αιματολογικούς δείκτες που σχετίζονται με τα αιμοπετάλια και την ενεργοποίησή τους. Οι μετρήσεις αυτές είχαν ήδη πραγματοποιηθεί από τους ερευνητές της

μελέτης Healthy Growth, ενώ στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε επιπλέον η μέτρηση της sP-σελεκτίνης σε δείγμα πλάσματος των παιδιών.

4.2 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ-ΤΥΧΑΙΟΠΟΙΗΣΗ

Η δειγματοληψία των σχολείων ήταν τυχαία, πολυσταδιακή (multi-stage sampling) και διαστρωματοποιημένη (stratified) με βάση το μέσο επίπεδο εκπαίδευσης (χρόνια εκπαίδευσης) του ενήλικου πληθυσμού ηλικίας 30-64 ετών, καθώς και του αριθμού του μαθητικού πληθυσμού ηλικίας 9 έως 13 ετών που φοιτούσαν στα σχολεία των συγκεκριμένων περιοχών.

4.3 ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Σε όλες τις περιοχές που διεξήχθη η μελέτη χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια εξεταστικά όργανα και ή ίδια μεθοδολογία μετρήσεων (Lohman, Roche, & Martorell, 1988). Τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ακριβή, αλλά φορητά, ώστε να μεταφέρονται εύκολα στα σχολεία όπου πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις. Οι μετρήσεις και η καταγραφή των τιμών πραγματοποιήθηκαν από δύο καλά εκπαιδευμένα μέλη της ερευνητικής ομάδας, τα οποία κατείχαν ρόλο κύριου και του βοηθού ερευνητή, αντίστοιχα. Ο ρόλος του βοηθού ερευνητή ήταν να βοηθά στη σωστή τοποθέτηση των υποκειμένων στα όργανα μέτρησης, ενώ ο κύριος ερευνητής κατέγραφε τις μετρήσεις. Οι ανθρωπομετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν είναι οι ακόλουθες:

4.3.1. ΥΨΟΣ-ΒΑΡΟΣ

Το σωματικό βάρος των παιδιών μετρήθηκε με ψηφιακή ζυγαριά (Seca Alpha, Model 770) με ακρίβεια ± 10 γρ. Τα υποκείμενα της μελέτης ζυγίστηκαν χωρίς να φορούν υποδήματα και με την ελάχιστη δυνατή ένδυση. Το ύψος μετρήθηκε με τα υποκείμενα σε όρθια θέση, χωρίς υποδήματα και κρατώντας τους ώμους σε χαλαρή θέση, με τα χέρια να κρέμονται ελεύθερα από τους ώμους και το κεφάλι προσανατολισμένο σε οριζόντιο επίπεδο (Frankfurt plane). Η μέτρηση του ύψους έγινε με τη χρήση αναστημόμετρου (Leicester Height Measure, Invicta Plastics Ltd, Oadby, UK), με ακρίβεια 0,1 εκ. Από τις παραπάνω μετρήσεις ύψους και βάρους, προσδιορίστηκε τελικά ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) των εξεταζόμενων με τη διαίρεση του το βάρους τους σε κιλά (kg) με το τετράγωνο του ύψους τους σε μέτρα (m^2).

4.3.2. ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΙ ΜΕΣΟΥ ΒΡΑΧΙΟΝΑ, ΜΕΣΗΣ ΚΑΙ ΙΣΧΙΟΥ

Οι μετρήσεις των περιμέτρων του δεξιού μέσου βραχίονα, της μέσης και του ισχίου πραγματοποιήθηκαν με μία μη-εκτατή ταινία (Hoechstmass, Germany) με ακρίβεια $\pm 0,1$ εκ., με το υποκείμενο σε όρθια θέση, με τα χέρια του να κρέμονται ελεύθερα στο πλάι του σώματος από τους ώμους και τα πόδια ενωμένα. Πιο συγκεκριμένα, η περίμετρος του δεξιού μέσου βραχίονα μετρήθηκε στο μέσο της απόστασης του δεξιού βραχίονα μεταξύ του ακρωμίου και του ωλέκρανου. Η περίμετρος της μέσης μετρήθηκε με τη κοιλιά χαλαρή στο τέλος μίας ελαφριάς εκπνοής και μετά τη τοποθέτηση της ταινίας σε οριζόντιο επίπεδο γύρω από την πιο στενή περιοχή της μέσης και παράλληλα με το δάπεδο, στο επίπεδο του ομφαλού και στο μέσο της απόστασης μεταξύ της τελευταίας νόθας πλευράς και της υπερλαγώνιας ακρολοφίας. Η περίμετρος του ισχίου μετρήθηκε μετά τη τοποθέτηση της ταινίας σε οριζόντιο επίπεδο γύρω από τους γοφούς παράλληλα με το δάπεδο στο σημείο της μέγιστης περιφέρειας γύρω από το ισχίο.

4.3.3. ΟΡΙΣΜΟΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΚΑΙ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Τα παιδιά που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη κατηγοριοποιήθηκαν ως ελλιποβαρή, υπέρβαρα ή παχύσαρκα, σύμφωνα με τις “κατωφλικές” τιμές του ΔΜΣ, τις ανάλογες με την ηλικία και το φύλο των παιδιών όπως ορίζονται από το Διεθνές Σώμα, International Obesity Task Force (IOTF) (Cole, Flegal, Nicholls, & Jackson, 2007; Cole, Bellizzi, Flegal, & Dietz, 2000). Επίσης, για τον ορισμό της κεντρικής παχυσαρκίας, χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια της Διεθνούς Ομοσπονδίας Διαβητικών, προσαρμοσμένα για παιδιά και εφήβους. Συγκεκριμένα, ως κεντρική παχυσαρκία ορίστηκε η περιφέρεια μέσης ίση ή υψηλότερη 90^{ης} εκατοστιαίας θέσης (Fernández, Redden, Pietrobelli, & Allison, 2004).

4.3.4. ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΛΙΠΟΥΣ

Η μέτρηση του ποσοστού σωματικού λίπους πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της βιοηλεκτρικής εμπέδησης και συγκεκριμένα με το μοντέλο Akkern BIA 101, ενώ για τον υπολογισμό του σπλαχνικού λίπους χρησιμοποιήθηκε ο αναλυτής κοιλιακού λίπους της εταιρίας Tanita και συγκεκριμένα το μοντέλο Viscan AB-140. Κατά την μέτρηση αυτή μεταφέρεται μια μικρή ποσότητα ηλεκτρικού ρεύματος μεταξύ των περιοχών κοντά στον ομφαλό και το νωτιαίο μυελό στο ύψος του ομφαλού και καταγράφεται η τάση που δημιουργείται στην πλευρική κοιλιακή χώρα. Οι συμμετέχοντες έλαβαν οδηγίες, ώστε να

απέχουν από οποιαδήποτε πρόσληψη τροφής ή υγρού καθώς και από οποιαδήποτε μορφή εντατικής άσκησης για 4 ώρες πριν από την επικείμενη μέτρηση. Επίσης, κατά την διάρκεια της εξέτασης τους ζητήθηκε να μην φορούν κανένα μεταλλικό αντικείμενο. Οι αξιολογήσεις υλοποιήθηκαν με τους μαθητές να βρίσκονται ξαπλωμένοι σε μη αγωγίμη επιφάνεια, σε θερμοκρασία δωματίου. Το ποσοστό σωματικού λίπους υπολογίστηκε από τις τιμές αντίστασης και αντίδρασης, με τη χρήση έγκυρων εξισώσεων που αφορούν σε προεφηβικό πληθυσμό. Συγκεκριμένα, οι εξισώσεις που χρησιμοποιήθηκαν για αυτόν τον υπολογισμό είναι αυτές που παρουσιάζονται παρακάτω (Nielsen, Dencker, Ward, Linden, Thorsson, Karlsson, & Heitmann, 2007).

Για τα κορίτσια:

$$FFM = -7,13(\pm 2,79) + Ht^2 / R^{*}0,66(\pm 0,07) + Xc^{*}0,07(\pm 0,02) + Ht^{*}0,06(\pm 0,03) + Wt^{*}0,06(\pm 0,03)$$

Για τα αγόρια:

$$FFM = -0,86(\pm 3,40) + Ht^2 / R^{*}0,46(\pm 0,07) + Xc^{*}0,04(\pm 0,02) + Ht^{*}0,05(\pm 0,03) + Wt^{*}0,14(\pm 0,04)$$

4.4 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΠΑΙΔΙΩΝ

4.4.1. ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

Η συστολική (ΣΑΠ) και διαστολική (ΔΑΠ) αρτηριακή πίεση αίματος μετρήθηκαν στο δεξί βραχίονα, από εξειδικευμένο ιατρό, με τους συμμετέχοντες σε καθιστή θέση και μετά από παραμονή πέντε λεπτών σε κατάσταση ηρεμίας, σε ήρεμο περιβάλλον με ήπια θερμοκρασία. Η μέτρηση της αρτηριακής πίεσης προηγήθηκε οποιασδήποτε άλλης διαδικασίας που ενδεχομένως να προκαλούσε πόνο ή άγχος στο παιδί, όπως για παράδειγμα η αιμοληψία, ενώ από την προηγούμενη ημέρα της μέτρησης υπήρχε ενημέρωση των συμμετεχόντων να αποφύγουν ορισμένες δραστηριότητες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν το αποτέλεσμα της μέτρησης (Prineas, Ostchega, Carroll, Dillon, & McDowell, 2007). Οι μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης του αίματος πραγματοποιήθηκαν με ένα έγκυρο ηλεκτρονικό πιεσόμετρο Omron M6 Blood Pressure Monitor (Omron Healthcare Europe BV, Hoofddorp), καθώς και με ένα μανομετρικό πιεσόμετρο (ERKA) (Altunkan, Ilman, Kayatürk, & Altunkan, 2007). Τέλος, από το ηλεκτρονικό πιεσόμετρο πραγματοποιήθηκε και καταγραφή των καρδιακών παλμών του κάθε παιδιού.

4.4.2. ΣΤΑΔΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΚΑΤΑ TANNER (Η ΣΤΑΔΙΟ TANNER)

Το στάδιο της βιολογικής ωρίμανσης κατά Tanner αποτελεί πιο ενδεικτικό δείκτη της ωρίμανσης του παιδιού σε σύγκριση με την ημερολογιακή του ηλικία. Καθώς το στάδιο της βιολογικής ωρίμανσης ενός παιδιού καθορίζει τις απαιτήσεις του σε θρεπτικά συστατικά και επηρεάζει σημαντικά ορμονικές και μεταβολικές πορείες, η αξιολόγηση του κρίνεται πολύ σημαντική ιδιαίτερα σε μια μεταβατική ηλικία, όπως η προεφηβική. Η αξιολόγηση του σταδίου κατά Tanner έγινε σε πέντε στάδια (Tanner Stage 1 έως 5) σύμφωνα με τη σχετική μεθοδολογία (Tanner, 1955). Πιο συγκεκριμένα, στα κορίτσια το στάδιο κατά Tanner εκτιμήθηκε ανάλογα με το βαθμό της ανάπτυξης του μαστού και από την τριχοφυΐα του εφηβαίου, ενώ στα αγόρια ανάλογα με το βαθμό της ανάπτυξης του πέους και όρχεων και της σχετικής τριχοφυΐας. Η εκτίμηση πραγματοποιήθηκε οπτικά από εξειδικευμένο και καλά εκπαιδευμένο παιδίατρο.

4.5 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

4.5.1. ΑΝΑΚΛΗΣΕΙΣ 24ΩΡΟΥ

Η αξιολόγηση των διατροφικών συνηθειών των εξεταζόμενων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της τεχνικής της ανάκλησης 24-ώρου. Συγκεκριμένα σε κάθε εξεταζόμενο πραγματοποιήθηκαν 3 ανακλήσεις 24-ώρου, και συγκεκριμένα δύο ανακλήσεις καθημερινής και μία Σαββατοκύριακου και ειδικότερα Κυριακής. Όλα τα μέλη της ερευνητικής ομάδας που διεξήγαγαν τις συνεντεύξεις-ανακλήσεις ήταν κατάλληλα εκπαιδευμένα για να ελαχιστοποιηθούν τα σφάλματα καταγραφής της διαιτητικής πρόσληψης. Κατά τη διάρκεια των ανακλήσεων 24-ώρου ζητήθηκε από τα υποκείμενα της μελέτης να ανακαλέσουν τον τύπο και την ποσότητα των τροφίμων και ροφημάτων που κατανάλωσαν την προηγούμενη ημέρα με χρονική διαδοχή, δηλαδή από τη στιγμή που ξύπνησαν το πρωί έως την ίδια χρονική στιγμή την επόμενη ημέρα. Για να βελτιωθεί η ακρίβεια κατά τη περιγραφή των καταναλισκόμενων τροφίμων, αλλά και κατά την εκτίμηση της προσλαμβανόμενης ποσότητας χρησιμοποιήθηκαν προπλάσματα τροφίμων (Dairy Food Council, ΗΠΑ), καθώς και μεζούρες οικιακής χρήσης (κούπες, κουταλάκια του γλυκού και κουτάλια της σούπας κτλ).

Η ανάλυση των στοιχείων που συλλέχθηκαν από τις ανακλήσεις 24-ώρου έγιναν με τη χρήση του λογισμικού διατροφικής ανάλυσης Nutritionist V (First Databank, San Bruno, CA), η βάση του οποίου εμπλουτίστηκε εκτενώς ώστε να περιλαμβάνει την ακριβή συγκέντρωση σε μακρο- και μικρο-θρεπτικά συστατικά για μία ευρεία γκάμα σύνθετων επεξεργασμένων τροφίμων που είναι διαθέσιμα στην ελληνική αγορά, καθώς και ελληνικών συνταγών, πληροφορίες οι οποίες στην πλειοψηφία τους έχουν προκύψει από χημικές αναλύσεις των εν λόγω τροφίμων και συνταγών (Trichoroulou, & Georga, 2004).

4.6 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΦΥΣΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ

Το επίπεδο της φυσικής δραστηριότητας των εξεταζόμενων, εκτιμήθηκε με τη χρήση ενός ερωτηματολογίου. Το ερωτηματολόγιο ήταν σύντομο και ζητήθηκε από τους εξεταζόμενους να συμπληρώσουν το είδος και την ένταση των δραστηριοτήτων που πραγματοποίησαν, με χρονική σειρά και κατά τη διάρκεια τριών ημερών της ίδιας εβδομάδας (δύο καθημερινών και μίας Κυριακής). Οι δραστηριότητες που καταγράφηκαν από τα παιδιά ταξινομήθηκαν σε 4 επίπεδα έντασης, χρησιμοποιώντας τα Μεταβολικά ισοδύναμα (Metabolic Equivalents: METs).

Τα 4 επίπεδα έντασής είναι:

1. Ελαφριάς έντασης δραστηριότητες: 0-4 METs
2. Μέτριας έντασης δραστηριότητες: 4-7 METs
3. Υψηλής έντασης δραστηριότητες: 7-10 METs
4. Πολύ υψηλής έντασης δραστηριότητες: > 10 METs

4.7 ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

Μετά από μία 12ωρη ολονύχτια νηστεία λήφθηκαν δείγματα φλεβικού αίματος από τους συμμετέχοντες νωρίς το πρωί της επόμενης ημέρας (από 8:15 έως 10:00 π.μ.). Εκπαιδευμένο ιατρικό και νοσηλευτικό προσωπικό πραγματοποίησε φλεβοκεντήσεις για τη συλλογή συνολικά 23 mL αίματος από το κάθε παιδί. Μέρος του αίματος συλλέχθηκε σε δοκιμαστικούς σωλήνες χωρίς αντιπηκτικό και διατηρήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για δύο ώρες, όπου αφέθηκε να πήξει, για να πραγματοποιηθεί διαχωρισμός και παραλαβή του ορού.

Η φυγοκέντρηση για το διαχωρισμό των δειγμάτων ορού και πλάσματος πραγματοποιήθηκε στο χώρο του σχολείου στα 4.000 rpm για 10 λεπτά της ώρας με τη χρήση μιας φορητής φυγοκέντρου (Hermle Z200A, Wehingen, Germany). Ειδικά για τα δείγματα του πλάσματος, η φυγοκέντρηση των δειγμάτων του αίματος πραγματοποιήθηκε μέσα στα επόμενα 10 λεπτά

από τη χρονική στιγμή της φλεβοκέντησης, με στόχο τη μείωση του χρόνου δράσης των πρωτεολυτικών και γλυκολυτικών ενζύμων. Ένα μέρος του ορού (1,5 mL) και του πλάσματος (0,5 mL) χρησιμοποιήθηκαν απευθείας για βιοχημικές αναλύσεις, ενώ τα εναπομείναντα δείγματα ορού και πλάσματος διαμοιράστηκαν σε πλαστικά σωληνάκια (Errendorfs), σε ποσότητα 0,5 mL στο καθένα και αποθηκεύτηκαν σε βαθιά κατάψυξη θερμοκρασίας -80°C. Η αποθήκευση των δειγμάτων ορού έγινε στο «Εργαστήριο Διατροφής και Μεταβολισμού» του Χαροκοπέιου Πανεπιστήμιου.

Μεταξύ των ποικίλων βιοχημικών προσδιορισμών που πραγματοποιήθηκαν στα παραπάνω δείγματα είναι ο προσδιορισμός της Ολικής Χοληστερόλης, της HDL – χοληστερόλης και των Τριγλυκεριδίων (TGL) με Ενζυματική Χρωματομετρική μέθοδο. Τα επίπεδα της LDL – χοληστερόλης υπολογίστηκαν από τη χρήση της εξίσωσης Friedewald ($LDL = \text{Ολική χοληστερόλη} - HDL - TGL/5$, όταν $TGL < 500 \text{ mg/dL}$). Επίσης πραγματοποιήθηκε βιοχημικός προσδιορισμός της Γλυκόζης πλάσματος (G_F) με τη χρήση φωτομετρικής μεθόδου (Roche Diagnostics SA, Vasilia, Swiss). Όλοι οι ανωτέρω προσδιορισμοί πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν.

Επιπλέον, στα παραπάνω δείγματα, πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός της γλυκόζης πλάσματος και της ινσουλίνης. Οι ανωτέρω προσδιορισμοί πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν. Η αρχή της βιοχημικής μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της γλυκόζης είναι η Ενζυματική Χρωματομετρική Μέθοδος, ενώ της ινσουλίνης η Ανοσοχημιοφωταύγεια. Για την εκτίμηση της ινσουλινοαντίστασης χρησιμοποιήθηκε το ομοιοστατικό μοντέλο εκτίμησης HOMA-IR $[(\text{Γλυκόζη Νηστείας (mM)} * \text{Ινσουλίνη Νηστείας (mM)})/22.5]$. Η ινσουλινοαντίσταση στα παιδιά ορίστηκε όταν ο δείκτης HOMA-IR ήταν υψηλότερος από 3,16 (Keskin, Kurtoglu, Kendirci, Atabek, & Yazici, 2005).

Για τον προσδιορισμό ορισμένων αιματολογικών δεικτών χρησιμοποιήθηκε το ένα από τα δύο δείγματα ολικού αίματος των 2,6 ml με την χρήση του αυτόματου αιματολογικού αναλυτή Cell-Dyn 1700® (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA). Συγκεκριμένα, σε αυτό προσδιορίστηκε ο αριθμός και ο τύπος των λευκών αιμοσφαιρίων (WBC), ο αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC), η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης (Hgb), ο αιματοκρίτης (Hct), ο Μέσος Όγκος Ερυθρών Αιμοσφαιρίων (MCV), η Μέση Συγκέντρωση Αιμοσφαιρίνης (MCH), η Μέση Συγκέντρωση της Αιμοσφαιρίνης ανά Ερυθρό Αιμοσφαίριο (MCHC), το εύρος κατανομής των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RDW), ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων (MPV) και ο αριθμός των αιμοπεταλίων (PLT). Το δεύτερο δείγμα ολικού αίματος των 2,6 ml θα αποθηκεύτηκε στους -80°C.

Στα δείγματα αίματος που λήφθηκαν προσδιορίστηκε ακόμη, η λεπτίνη, η αδιπονεκτίνη, η CRP και η IL-6. Τα επίπεδα της λεπτίνης στον ορό προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας την τεχνική της σάντουιτς ELISA (BioVendor, Brno, Czech Republic), ενώ ο προσδιορισμός των επιπέδων της αδιπονεκτίνης στον ορό έγινε με τη μέθοδο της ELISA με χρήση των αντιδραστηρίων R&D systems. Τα επίπεδα ορού της ιντερλευκίνης-6 (IL-6) προσδιορίστηκαν με τη χρήση της υψηλής ευαισθησίας για την IL-6 Quantikine HS ενζυμικής ανοσοπροσροφητικής δοκιμασίας (ELISA) με αντιδραστήρια R&D Systems (Minneapolis, USA). Τέλος, τα επίπεδα της CRP προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας το Quantikine ELISA (R&D Systems) αντιδραστήριο.

Σε μεταπτυχιακή διατριβή που έγινε μεταγενέστερα στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, η οποία χρησιμοποίησε τα δείγματα της μελέτης Healthy Growth, προσδιορίστηκε επίσης η δραστικότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) στο πλάσμα, με έμμεσο τρόπο, μέσω μιας συζευγμένης αντίδρασης με την αναγωγή της γλουταθειόνης (Glutathione Reductase, GR). Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε με κλασσική φασματοφωτομετρική μέθοδο σε φασματοφωτόμετρο μικροπλακιδίων (Wendel, 1980).

4.8 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ELISA

4.8.1 ΕΠΙΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Από τα 2.294 διαφορετικά δείγματα πλάσματος που συλλέχτηκαν από τα παιδιά, την περίοδο που διεξήχθη η μελέτη, εντοπίστηκαν όσα υπήρχαν αποθηκευμένα σε erpendorfs, στους καταψύκτες του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου (στους -80°C και -60°C) και πραγματοποιήθηκε οργάνωση τους σε cryoboxes και δημιουργία ηλεκτρονικού χάρτη για τη θέση τους μέσα στους καταψύκτες. Τα δείγματα πλάσματος που οργάνωθηκαν από τον Νοέμβριο του 2018 έως τον Φεβρουάριο του 2019, ανέρχονται στα 2.800, από τα οποία τα οποία 1.607 ήταν μοναδικά. Ωστόσο, δεν υπήρχαν για καθένα από αυτά τα δείγματα δεδομένα για όλες τις μεταβλητές των οποίων ήταν επιθυμητό να διερευνηθεί η σχέση με την sP-σελεκτίνη. Έτσι τα δείγματα πλάσματος που αντιστοιχούν σε κωδικούς παιδιών με ελλιπή δεδομένα δεν συμπεριλήφθηκαν στις μετρήσεις. Πραγματοποιήθηκε επιπλέον μείωση του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε τελικά, ώστε να μπορέσει να γίνει ο προσδιορισμός της sP-σελεκτίνης σε αντιπροσωπευτικό δείγμα, αλλά με τα διαθέσιμα αντιδραστήρια, και κατ' επέκταση πόρους του Πανεπιστημίου, για τη συγκεκριμένη

ερευνητική πτυχιακή μελέτη. Ο τρόπος επιλογής του τελικού δείγματος έγινε με τυχαίο αποκλεισμό 350 κωδικών από τους μοναδικούς που εντοπίστηκαν. Ο αποκλεισμός όμως, από κάθε έναν από τους 24 συνδυασμούς που προκύπτουν από τα δύο φύλα (αρσενικό - θηλυκό), τις τρεις κατηγορίες βάρους (φυσιολογικό – υπέρβαρο – παχύσαρκο) και τις τέσσερις περιοχές της Ελλάδας (Αθήνα, Θεσσαλονίκη, Κρήτη, Αγρίνιο) έγινε ανάλογα με το ποσοστό του συνόλου που καταλάμβανε η κάθε μία από αυτές, ώστε τελικά αφαιρέθηκε διαφορετικός αριθμός αλλά ίσο ποσοστό παιδιών από κάθε συνδυασμό. Ο τρόπος αυτός αποκλεισμού επιλέχθηκε με σκοπό να είναι το τελικό δείγμα (1.180 μοναδικοί κωδικοί), στο οποίο προσδιορίστηκε η sP-σελεκτίνη τυχαίο και αντιπροσωπευτικό.

4.8.2 ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ELISA

Το DuoSet ELISA kit του εμπορίου (R&D SYSTEMS) που χρησιμοποιήθηκε είναι κατάλληλο την ανάπτυξη του «σάντουιτς» ELISA για την μέτρηση, φυσικής και ανασυνδυασμένης, ανθρώπινης P-σελεκτίνης. Το διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε για την αραιώση των δειγμάτων (Reagent Diluent: RD) είναι κατάλληλο για την πλειονότητα των υπερκείμενων κυτταρικής καλλιέργειας, των δειγμάτων πλάσματος ή ορού. Η επιλογή και χρήση συγκεκριμένου RD δύναται να μεταβάλει την απόδοση μιας ανοσοδοκιμής. Επιλέγοντας το βέλτιστο RD για σύνθετα υποστρώματα όπως ο ορός ή το πλάσμα, πιθανότατα βελτιώνεται η απόδοση της συγκεκριμένης δοκιμής. Το συγκεκριμένο kit περιείχε επαρκή υλικά για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της sP-σελεκτίνης στον αριθμό δειγμάτων πλάσματος της μελέτης Healthy Growth που χρησιμοποιήθηκαν τελικά στη μελέτη αυτή. Για την αποφυγή της σπατάλης των αντιδραστηρίων ήταν απαραίτητη η προετοιμασία των διαλυμάτων όπως περιγράφονται στις οδηγίες χρήσης του kit, η διεξαγωγή της δοκιμασίας σύμφωνα με το Γενικό πρωτόκολλο ELISA και τέλος η χρήση των προτεινόμενων από τους κατασκευαστές του kit microplates, ρυθμιστικών διαλυμάτων (buffers), διαλυμάτων για αραιώσεις, υποστρωμάτων και διαλυτών (Human P-Selectin, Product Datasheet, R&D Systems).

4.8.3 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την πραγματοποίηση των πειραμάτων προσδιορισμού της συγκέντρωσης της sP-σελεκτίνης, σε δείγματα πλάσματος παιδιών

από τη μελέτη Healthy Growth, είναι τα παρακάτω, όπως προτείνονται από τους κατασκευαστές του ELISA kit που χρησιμοποιήθηκε (Human P-Selectin, Product Datasheet, R&D Systems):

- 15 microplates με 96 πηγαδάκια το κάθε ένα και διαφανή καλυπτικά αυτοκόλλητα
- Διάλυμα PBS: 137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 8,1 mM Na₂HPO₄, 1,5 mM KH₂PO₄, pH 7,2-7,4, φιλτραρισμένο με 0,2 μm
- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσεων (Wash Buffer): 0,05% Tween 20 σε PBS, pH 7,2-7,4
- RD: 1% σε BSA, pH 7,2-7,4, φιλτραρισμένο με 0,2 μm
- Διάλυμα υποστρωμάτων (substrate solution): 1:1 αναλογία, αντιδραστήριο χρώσης A (H₂O₂) και αντιδραστήριο χρώσης B (Τετραμεθυλο-βενζιδίνη)
- Διάλυμα στάσης λύσης (stop solution): 2 N H₂SO₄

4.8.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ – ΠΡΟΤΟΚΟΛΛΟ ELISA

Προετοιμασία Plate

1. Διάλυση Δεσμευτικού Αντισώματος (Capture Antibody) στη συγκέντρωση εργασίας, σε PBS, χωρίς πρωτεΐνη φορέα και άμεση προσθήκη 100 μL αραιωμένου Capture Antibody σε κάθε ένα από τα 96 πηγαδάκια του plate. Κάλυψη του plate και επώαση όλη τη νύχτα σε θερμοκρασία δωματίου.
2. Απόρριψη του περιεχομένου του plate το επόμενο πρωί και πραγματοποίηση πλύσης με Wash Buffer, επαναλαμβάνοντας τη διαδικασία άλλες δύο φορές, έως την ολοκλήρωση συνολικά τριών πλύσεων με 400 μL Wash Buffer σε κάθε κελί, με πολυπιπέτα. Καλό στέγνωμα του plate από υπολείμματα Wash Buffer με χτύπημα σε καθαρό χαρτί κουζίνας.
3. Προσθήκη 300 μL RD σε κάθε πηγαδάκι του plate, κάλυψη του και επώαση για τουλάχιστον 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου.
4. Επανάληψη των πλύσεων του βήματος 2 μετά την πάροδο της επώασης, ώστε το plate να είναι έτοιμο για την προσθήκη του προτύπου ανασυνδυασμένης P-σελεκτίνης (Standard) και των δειγμάτων (Human P-Selectin, Product Datasheet, R&D Systems).

Διαδικασία πειραματικής δοκιμής

1. Προσθήκη 100 μL τυφλού (RD: 2 πηγαδάκια), Standard (8.000 pg/mL, 4000 pg/mL, 2000 pg/mL, 1000 pg/mL, 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL: 2 πηγαδάκια με κάθε

- αραιώση) ή δειγμάτων (1%: 80 πηγαδάκια) διαλυμένων σε RD. Κάλυψη του plate το ειδικό αυτοκόλλητο και επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου.
2. Επανάληψη των πλύσεων του βήματος 2 της Προετοιμασίας του plate μετά την πάροδο της επώασης.
 3. Προσθήκη 100 μ L Αντισώματος Ανίχνευσης (Detection Antibody), διαλυμένου σε RD, σε κάθε πηγαδάκι. Κάλυψη του plate με καινούριο αυτοκόλλητο και επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου.
 4. Επανάληψη των πλύσεων του βήματος 2 της Προετοιμασίας του plate μετά την πάροδο της επώασης.
 5. Προσθήκη 100 μ L Στρεπταβιδίνης (Streptavidin-HRP) σε συγκέντρωση εργασίας, σε όλα τα πηγαδάκια. Κάλυψη του plate και επώαση για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, σε σκοτεινό περιβάλλον.
 6. Επανάληψη των πλύσεων του βήματος 2 της Προετοιμασίας του plate μετά την πάροδο της επώασης.
 7. Προσθήκη 100 μ L Substrate Solution σε κάθε πηγαδάκι. Κάλυψη του plate και επώαση για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, σε σκοτεινό περιβάλλον.
 8. Προσθήκη 50 μ L Stop Solution σε κάθε ένα από τα πηγαδάκια. Απαλή κίνηση του plate για ομοιόμορφη ανάμειξη των περιεχομένων του.
 9. Προσδιορισμός της οπτικής πυκνότητας, απορρόφησης, κάθε πηγαδιού το συντομότερο δυνατόν, με χρήση φασματοφωτόμετρου ανάγνωσης microplate, στα 450 nm και επιπλέον στα 570 nm, για τη διόρθωση πιθανών οπτικών ατελειών στο plate. Η πραγματοποίηση της ανάγνωσης μόνο στα 450 nm, χωρίς διόρθωση, μπορεί να οδηγήσει σε θετικό σφάλμα και μειωμένη ακρίβεια αποτελεσμάτων (Human P-Selectin, Product Datasheet, R&D Systems).

4.8.5 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Για την μετάφραση των μετρήσεων απορρόφησης των plates σε συγκέντρωση sP-σελεκτίνης στα αρχικά δείγματα πλάσματος του αίματος των παιδιών της μελέτης Healthy Growth που χρησιμοποιήθηκαν πραγματοποιήθηκε εκτενής επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Αρχικά δημιουργήθηκαν πρότυπες καμπύλες, με χρήση των απορροφήσεων από τις διαδοχικές αραιώσεις του Standard P-σελεκτίνης, για κάθε plate ξεχωριστά. Στις τιμές αυτές απορρόφησης στα 450 nm πραγματοποιήθηκε διόρθωση, με αφαίρεση των αντίστοιχων τιμών στα 570 nm. Έπειτα υπολογίστηκε ο Μ.Ο. των απορροφήσεων των δύο σειρών διαδοχικών αραιώσεων που τοποθετήθηκε σε κάθε plate

και αφαιρέθηκε από το Μ.Ο. απορρόφησης κάθε διαδοχικής αραιώσης η απορρόφηση του τυφλού διαλύματος που χρησιμοποιήθηκε. Τέλος, για να προκύψουν γραμμικές πρότυπες καμπύλες λογαριθμήθηκαν τόσο οι 7 διαδοχικές συγκεντρώσεις του Standard που αποτέλεσαν τον άξονα των x , όσο και οι Μ.Ο. (απορρόφησης κάθε αραιώσης) – τυφλό που αποτέλεσαν τον άξονα των y της πρότυπης καμπύλης κάθε plate. Η ίδια διαδικασία επεξεργασίας που πραγματοποιήθηκε για τις απορροφήσεις των διαφόρων αραιώσεων του Standard, πραγματοποιήθηκε και για τις απορροφήσεις των δειγμάτων. Οι λογάριθμοι των άγνωστων συγκεντρώσεων υπολογίστηκαν με επίλυση της εξίσωσης της πρότυπης καμπύλης ως προς x με y ίσο με το λογάριθμο της διορθωμένης απορρόφησης του δείγματος. Με απολογαρίθμηση και αναγωγή στο αρχικό, μη αραιωμένο, δείγμα, προέκυψαν οι συγκεντρώσεις sP-σελεκτίνης των δειγμάτων πλάσματος των παιδιών της μελέτης Healthy Growth, σε ng/mL.

4.9 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 21.0 (SPSS: Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Σε όλους τους στατιστικούς ελέγχους το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε ως $p \leq 0,05$. Οι κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως σχετικές συχνότητες (%), ενώ οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος όρος (Μ.Ο.) $\pm$ τυπική απόκλιση (Τ.Α.). Πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης (analysis of variance, ANOVA) για τη σύγκριση των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα στις 3 κατηγορίες βάρους του πληθυσμού της μελέτης (Λιποβαρείς & Φυσιολογικού Βάρους, Υπέρβαροι, Παχύσαρκοι), στις 2 κατηγορίες περιμέτρου μέσης (Φυσιολογική, Κεντρική Παχυσαρκία), στα επίπεδα ινσουλίνης (Φυσιολογικά, Ινσουλινοαντίσταση) και στα 5 στάδια βιολογικής ωρίμανσης κατά Tanner (Στάδιο 1, Στάδιο 2, Στάδιο 3, Στάδιο 4, Στάδιο 5). Για την αξιολόγηση πιθανής συσχέτισης των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των παιδιών του δείγματος με το ΔΜΣ, την περίμετρο μέσης, το σωματικό λίπους (%), το λίπους του κορμού (%), το σπλαχνικό λίπος, το δείκτη ινσουλινοαντίστασης $HOMA_{IR}$, το μέσο όγκο αιμοπεταλίων, τον αριθμό αιμοπεταλίων, το δείκτη οξειδωτικού στρες $GPx3$ και τους δείκτες φλεγμονής λεπτίνη, αδιπονεκτίνη, CRP και IL6, πραγματοποιήθηκε πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση με διόρθωση για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες (Στάδιο Tanner και μέση ημερήσια θερμιδική πρόσληψη). Τα αποτελέσματα της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης παρουσιάζονται ως $B \pm$ Τυπικό Σφάλμα (Τ.Σ.).

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

Στον ακόλουθο πίνακα (5.1.1), παρουσιάζονται τα βασικά ανθρωπομετρικά, βιοχημικά και διατροφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης Healthy Growth που μελετήθηκε στη συγκεκριμένη πτυχιακή, συνολικά και ανά φύλο. Το σύνολο του τελικού δείγματος αποτέλεσαν 1.154 παιδιά σχολικής ηλικίας, Ε΄ και ΣΤ΄ τάξη Δημοτικού, ηλικίας 9-13 ετών, εκ των οποίων 571 ήταν αγόρια και 583 ήταν κορίτσια. Στον πίνακα 5.1.1. βλέπουμε ότι η περίμετρος μέσης του πληθυσμού είναι κατά μέσο όρο $73,13 \pm 10,92$ cm, ενώ ο μέσος όρος των επιπέδων sP-σελεκτίνης $57,84 \pm 40,59$ ng/mL. Επιπλέον παρουσιάζεται η κατανομή του πληθυσμού της μελέτης σε κατηγορίες βάρους, ανά φύλο, ανάλογα με το δείκτη μάζας σώματος των παιδιών. Το μεγαλύτερο ποσοστό αυτών και στα δύο φύλα, είναι φυσιολογικού βάρους, ενώ μόλις το 13,8 % των αγοριών και 10,3 % των κοριτσιών είναι παχύσαρκα. Στη συνέχεια, παρουσιάζεται η κατανομή του πληθυσμού της μελέτης, ανάλογα με την παρουσία ή μη κεντρικής παχυσαρκίας και ανάλογα με την παρουσία ή μη ινσουλινοαντίστασης, ανά κατηγορία φύλου. Τέλος, φαίνεται η κατανομή του πληθυσμού της μελέτης στα πέντε στάδια ωρίμανσης κατά Tanner, ανά κατηγορία φύλου.

Πίνακας 5.1.1 Βασικά ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ			
	ΣΥΝΟΛΟ (N=1.154)	ΑΓΟΡΙΑ (N=571)	ΚΟΡΙΤΣΙΑ (N=583)
	M.O.±T.A.	M.O.±T.A.	M.O.±T.A.
Ηλικία (έτη)	11,37±0,56	11,39±0,56	11,36±0,57
Κατηγορία Βάρους		(%)	(%)
Λιποβαρείς & Φυσιολογικού Βάρους		55,7	59,9
Υπέρβαροι		30,5	29,8
Παχύσαρκοι		13,8	10,3
	M.O.±T.A.	M.O.±T.A.	M.O.±T.A.
Περίμετρος Μέσης (cm)	73,13±10,92	73,40±11,22	72,87±10,62
Περίμετρος Μέσης		(%)	(%)
Φυσιολογική		85,4	85,4
Κεντρική Παχυσαρκία		14,6	14,6
	M.O.±T.A.	M.O.±T.A.	M.O.±T.A.
Λιπώδης Μάζα (kg)	14,5±7,66	14,34±7,84	14,66±7,48
Λιπώδης Μάζα (%)	29,65±9,05	29,09±9,18	30,22±8,89
Σπλαχνικό Λίπος Κορμού (%)	23,22±8,08	20,09±7,28	25,99±7,73
ΣΑΠ (mmHg)	113,00±12,59	113,00±12,51	113,00±12,68
ΔΑΠ (mmHg)	70,08±8,50	69,78±8,25	70,37±8,74
sP-σελεκτίνη (ng/mL)	57,84±40,59	58,79±41,58	56,78±38,42
Μέσος όγκος αιμοπεταλίων: mpv (mc³)	9,77±1,35	9,75±1,39	9,79±1,32
Δείκτης Ινσουλινοαντίστασης: HOMA_{IR}	2,78±1,88	2,53±1,97	3,03±1,75
IR HOMA		(%)	(%)
Φυσιολογικό		78,0	63,9
Ινσουλινοαντίσταση		22,0	36,1
	M.O.±T.A.	M.O.±T.A.	M.O.±T.A.
Γλυκόζη Νηστείας Πλάσματος (mmol/L)	5,05±0,58	5,09±0,61	5,00±0,54
Ολική Χοληστερόλη (mg/dL)	166,16±31,65	167,52±32,41	164,83±30,85
HDL Χοληστερόλη (mg/dL)	57,59±14,71	58,76±15,23	56,45±14,11
LDL Χοληστερόλη (mg/dL)	95,69±27,52	96,82±29,00	94,59±25,98
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	64,37±29,40	59,73±28,09	68,89±29,95
Tanner Stage		(%)	(%)
Στάδιο 1		40,0	19,6
Στάδιο 2		44,3	41,2
Στάδιο 3		12,6	27,4
Στάδιο 4		2,9	10,1
Στάδιο 5		0,2	1,7

5.2 ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΣΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ

Όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (5.2.1), δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα sP-σελεκτίνης ανάλογα με την κατηγορία βάρους των παιδιών, σε κανένα από τα δύο φύλα. Όσον αφορά στην κατηγοριοποίηση με βάση την περίμετρο μέσης, τα επίπεδα sP-σελεκτίνης παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την κατηγορία περιμέτρου μέσης, μόνο στα κορίτσια του δείγματος, όπως φαίνεται στον πίνακα 5.2.1.

Πίνακας 5.2.1 Ανάλυση διακύμανσης της κατανομής του πληθυσμού της μελέτης σε κατηγορίες βάρους και κατηγορίες περιμέτρου μέσης με τα επίπεδα sP-σελεκτίνης πλάσματος, ανά φύλο.

sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ						
ΑΓΟΡΙΑ				ΚΟΡΙΤΣΙΑ		
Κατηγορία Βάρους	N	M.O.±T.A.	P-value	N	M.O.±T.A.	P-value
Λιποβαρείς & Φυσιολογικού Βάρους	318	60,24±44,02	0,298	349	56,20±38,06	0,341
Υπέρβαροι	174	59,16±40,63		174	55,59±38,05	
Παχύσαρκοι	79	52,12±32,26		60	63,63±41,48	
Περίμετρος Μέσης						
Φυσιολογική Περίμετρος Μέσης	487	59,85±43,26	0,157	496	54,54±37,59	0,001
Κεντρική Παχυσαρκία	83	52,85±29,60		85	69,40±41,28	

Όταν ελέγχθηκε ύπαρξη συσχέτισης των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των παιδιών με το ΔΜΣ, την περίμετρο μέσης, το εκατοστιαίο ποσοστό του σωματικού λίπους, το εκατοστιαίο ποσοστό του λίπους του κορμού και το σπλαχνικό λίπος ξεχωριστά, ανά φύλο, στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση βρέθηκε μόνο μεταξύ επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των κοριτσιών και της περιμέτρου μέσης. Η συσχέτιση αυτή παρέμεινε στατιστικά σημαντική από τη διόρθωση για συγχυτικούς παράγοντες (πίνακας 5.2.2.).

Πίνακας 5.2.2 Αποτελέσματα του πολυπαραγοντικού μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης που αξιολόγησε την συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης (εξαρτημένη μεταβλητή) με το ΔΜΣ, την περίμετρο μέσης, το εκατοστιαίο ποσοστό του σωματικού λίπους, το εκατοστιαίο ποσοστό του λίπους του κορμού και το σπλαχνικό λίπος (ανεξάρτητες μεταβλητές), ανά φύλο, με διόρθωση για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες.

sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ				
ΑΓΟΡΙΑ			ΚΟΡΙΤΣΙΑ	
ΜΟΝΤΕΛΟ 1				
	B±T.Σ.	P-value	B±T.Σ.	P-value
ΔΜΣ (kg/m²)	-0,54±0,44	0,220	0,30±0,43	0,485
Περίμετρος Μέσης (cm)	-0,13±0,17	0,439	0,43±0,18	0,014
Σωματικό λίπος (%)	0,05±0,19	0,776	0,22±0,18	0,226
Λίπος Κορμού (%)	0,06±0,38	0,881	-0,02±0,31	0,949
Σπλαχνικό Λίπος	-0,93±0,68	0,172	0,37±0,99	0,710
ΜΟΝΤΕΛΟ 2				
ΔΜΣ (kg/m²)	-0,63±0,46	0,170	0,80±0,44	0,067
Περίμετρος Μέσης (cm)	-0,15±0,18	0,383	0,65±0,18	<0,001
Σωματικό λίπος (%)	0,02±0,19	0,929	0,33±0,18	0,069
Λίπος Κορμού (%)	0,07±0,40	0,862	0,11±0,30	0,714
Σπλαχνικό Λίπος	-0,90±0,70	0,203	0,80±0,98	0,418

ΜΟΝΤΕΛΟ 1: Δεν έγινε καμία διόρθωση

ΜΟΝΤΕΛΟ 2: Διόρθωση για το Στάδιο Tanner και τη Μέση Ημερήσια Θερμιδική Πρόσληψη

5.3 ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ

Το δείγμα της μελέτης, κατηγοριοποιήθηκε στη συνέχεια ανάλογα με τα επίπεδα ινσουλίνης των εθελοντών, σε φυσιολογικούς (με φυσιολογικά επίπεδα ινσουλίνης στο αίμα) και με ινσουλινοαντίσταση (με υψηλά επίπεδα ινσουλίνης στο αίμα) και έγινε συσχέτιση των κατηγοριών αυτών με τα επίπεδα sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των παιδιών, ξεχωριστά για αγόρια και κορίτσια, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (5.3.1). Σε κανένα από τα δύο φύλα ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης ανάλογα με την αντίσταση ή όχι στην ινσουλίνη.

Πίνακας 5.3.1 Ανάλυση διακύμανσης ανάμεσα στην ύπαρξη ινσουλινοαντίστασης και τα επίπεδα sP-σελεκτίνης πλάσματος, ανά φύλο.

sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ						
ΑΓΟΡΙΑ				ΚΟΡΙΤΣΙΑ		
Επίπεδα Ινσουλίνης	N	M.O.±T.A.	P-value	N	M.O.±T.A.	P-value
Φυσιολογικά επίπεδα ινσουλίνης	440	58,65±40,63	0,652	370	54,63±35,26	0,100
Ινσουλινοαντίσταση	123	60,57±45,39		209	60,11±43,50	

Έπειτα, πραγματοποιήθηκε έλεγχος για την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των παιδιών που αποτέλεσαν το δείγμα της μελέτης και του δείκτη ινσουλινοαντίστασης $HOMA_{IR}$, ανά φύλο. Βρέθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων sP-σελεκτίνης μόνο στο πλάσμα των κοριτσιών και του δείκτη ινσουλινοαντίστασης $HOMA_{IR}$, η οποία παρέμεινε στατιστικά σημαντική και αφού προστέθηκαν στο μοντέλο το στάδιο Tanner και η ημερήσια θερμιδική πρόσληψη (kcal/day) ως συγχυτικοί παράγοντες (πίνακας 5.3.2).

Πίνακας 5.3.2 Αποτελέσματα του πολυπαραγοντικού μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης που αξιολόγησε την συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης (εξαρτημένη μεταβλητή) με το HOMA_{IR} (ανεξάρτητη μεταβλητή), ανά φύλο, με διόρθωση για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες.

sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ				
ΑΓΟΡΙΑ			ΚΟΡΙΤΣΙΑ	
ΜΟΝΤΕΛΟ 1				
	B±T.Σ.	P-value	B±T.Σ.	P-value
HOMA _{IR}	0,58±0,89	0,515	2,39±0,91	0,009
ΜΟΝΤΕΛΟ 2				
HOMA _{IR}	0,48±0,92	0,599	2,93±0,90	0,001

ΜΟΝΤΕΛΟ 1: Δεν έγινε καμία διόρθωση

ΜΟΝΤΕΛΟ 2: Διόρθωση για το Στάδιο Tanner και τη Μέση Ημερήσια Θερμιδική Πρόσληψη

5.4 ΣΤΑΔΙΟ TANNER ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ

Στον πίνακα που ακολουθεί (5.4.1), παρουσιάζεται η συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης πλάσματος με το στάδιο βιολογικής ωρίμανσης Tanner των παιδιών, από την οποία φαίνεται να υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του σταδίου Tanner και των επιπέδων sP-σελεκτίνης μόνο στα κορίτσια.

Πίνακας 5.4.1 Ανάλυση διακύμανσης του σταδίου Tanner με τα επίπεδα sP-σελεκτίνης, ανά φύλο.

sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ						
ΑΓΟΡΙΑ				ΚΟΡΙΤΣΙΑ		
Tanner Stage	N	M.O.±T.A.	P-value	N	M.O.±T.A.	P-value
Στάδιο 1	223	59,58±40,75	0,938	114	70,44± 34,77 ^{a, b}	<0,001
Στάδιο 2	246	59,93±44,76		240	57,72± 39,45 ^a	
Στάδιο 3	70	56,20±36,56		160	52,66± 39,98 ^b	
Στάδιο 4	16	65,59±32,80		59	39,62± 26,96 ^a	
Στάδιο 5	1	61,37		10	45,73±35,95	
a,b: μέσοι όροι με το ίδιο σύμβολο έχουν μεταξύ τους στατιστικά σημαντικές διαφορές (p < 0,05)						

5.5 ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ

Στο κεφάλαιο αυτό πραγματοποιήθηκε έλεγχος της συσχέτισης των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των παιδιών της μελέτης με το μέσο όγκο αιμοπεταλίων. Η συσχέτιση αυτή ελέγχθηκε ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Τα αποτελέσματα δείχνουν πως υπάρχει στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης πλάσματος και στα δύο φύλα με το μέσο όγκο αιμοπεταλίων. Η συσχέτιση αυτή παρέμεινε στατιστικά σημαντική ακόμη και μετά την προσθήκη στο μοντέλο του σταδίου Tanner και της ημερήσιας θερμιδικής πρόσληψης ως συγχυτικούς παράγοντες, όπως παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα (5.5.1). Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε έλεγχος της συσχέτισης των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των παιδιών της μελέτης με τον αριθμό αιμοπεταλίων. Η συσχέτιση αυτή ελέγχθηκε ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μόνο στα κορίτσια παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης πλάσματος με τον αριθμό αιμοπεταλίων, η οποία παρέμεινε σημαντική και μετά από διόρθωση για συγχυτικούς παράγοντες. Τα αποτελέσματα αυτά φαίνονται επίσης στον παρακάτω πίνακα (5.5.1).

Πίνακας 5.5.1 Αποτελέσματα του πολυπαραγοντικού μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης που αξιολόγησε την συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης (εξαρτημένη μεταβλητή) με το μέσο όγκο αιμοπεταλίων και τον αριθμό αιμοπεταλίων (ανεξάρτητες μεταβλητές), ανά φύλο, με διόρθωση για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες.

sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ				
ΑΓΟΡΙΑ			ΚΟΡΙΤΣΙΑ	
ΜΟΝΤΕΛΟ 1				
	B±T.Σ.	P-value	B±T.Σ.	P-value
Μέσος Όγκος Αιμοπεταλίων: mpv (mcm³)	-5,66±1,25	<0,001	-4,78±120	<0,001
Αριθμός Αιμοπεταλίων: plt (103/mm³)	0,01±0,03	0,766	0,05±0,03	0,071
ΜΟΝΤΕΛΟ 2				
Μέσος Όγκος Αιμοπεταλίων: mpv (mcm³)	-5,73±1,30	<0,001	-4,13±1,20	0,001
Αριθμός Αιμοπεταλίων: plt (103/mm³)	0,01±0,03	0,715	0,05±0,03	0,047

ΜΟΝΤΕΛΟ 1: Δεν έγινε καμία διόρθωση

ΜΟΝΤΕΛΟ 2: Διόρθωση για το Στάδιο Tanner και τη Μέση Ημερήσια Θερμιδική Πρόσληψη

5.6 ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΩΝΗΣ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗΣ

Μερικές από τις αιματολογικές μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στον πληθυσμό της μελέτης αφορούν στους δείκτες οξειδωτικού στρες και φλεγμονής. Συγκεκριμένα μετρήθηκε ο δείκτης οξειδωτικού στρες υπεροξειδάση της γλουταθειόνης 3 (GPx3) και δείκτες φλεγμονής όπως η λεπτίνη, η αδιπονεκτίνη η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) και η ιντερλευκίνη 6 (IL6). Όταν ελέγχθηκε ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των παιδιών και καθενός από τους παραπάνω παράγοντες ξεχωριστά, ανά φύλο, στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση βρέθηκε αποκλειστικά μεταξύ επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των παιδιών και του GPx3 και στα δύο φύλα. Η συσχέτιση αυτή παρέμεινε στατιστικά σημαντική και μετά την προσθήκη συγχυτικών παραγόντων (πίνακας 5.6.1).

Πίνακας 5.6.1 Αποτελέσματα του πολυπαραγοντικού μοντέλου γραμμικής παλινδρόμησης που αξιολόγησε την συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης (εξαρτημένη μεταβλητή) με τα επίπεδα GRx3 (ανεξάρτητες μεταβλητές), ανά φύλο, με διόρθωση για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες.

sP-ΣΕΛΕΚΤΙΝΗ				
ΑΓΟΡΙΑ			ΚΟΡΙΤΣΙΑ	
ΜΟΝΤΕΛΟ 1				
	B±T.Σ.	P-value	B±T.Σ.	P-value
Επίπεδα GRα3 (μg/mL)	752,47±124,15	<0,001	734,61±110,54	<0,001
Επίπεδα Λεπτίνης (ng/mL)	0,05±0,24	0,822	0,18±0,18	0,304
Επίπεδα Αδιπονεκτίνης (μg/mL)	0,03±0,53	0,960	-0,47±0,48	0,335
Επίπεδα CRP (ng/mL)	-0,001±0,001	0,587	0,001±0,001	0,414
Επίπεδα IL6 (pg/mL)	-0,59±2,36	0,803	0,19±1,73	0,912
ΜΟΝΤΕΛΟ 2				
Επίπεδα GRα3 (μg/mL)	783,89±128,07	<0,001	685,45±111,29	<0,001
Επίπεδα Λεπτίνης (ng/mL)	0,04±0,24	0,858	0,25±0,17	0,156
Επίπεδα Αδιπονεκτίνης (μg/mL)	-0,05±0,54	0,932	-0,55±0,48	0,249
Επίπεδα CRP (ng/mL)	-0,001±0,001	0,556	0,000±0,001	0,833
Επίπεδα IL6 (pg/mL)	-0,74±2,38	0,756	-0,25±1,69	0,881

ΜΟΝΤΕΛΟ 1: Δεν έγινε καμία διόρθωση

ΜΟΝΤΕΛΟ 2: Διόρθωση για το Στάδιο Tanner και τη Μέση Ημερήσια Θερμιδική Πρόσληψη

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες, με το φαινόμενο της παιδικής παχυσαρκίας να έχει λάβει πλέον επιδημιολογικές διατάσεις, η επιστημονική κοινότητα κλινικών επιστημόνων αναζητεί νέα δεδομένα για τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς της νόσου, τις αναστρέψιμες και μη επιπτώσεις της που ξεκινούν σταδιακά από τη νευραλγική αυτή ηλικία και το κατά πόσο επηρεάζουν τον κίνδυνο εμφάνισης χρόνιων νοσημάτων στη μετέπειτα ζωή. Σημαντικός επίσης έχει βρεθεί ο κίνδυνος ανάπτυξης αθηροσκλήρωσης και κατ' επέκταση καρδιαγγειακών νοσημάτων και των εκβάσεων αυτών, σε ενήλικες που υπήρξαν παχύσαρκοι ως παιδιά. Είναι ελάχιστες οι κλινικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί με σκοπό να εξετασθεί εάν κάποιοι πρώιμοι δείκτες αθηρωμάτωσης, όπως είναι οι δείκτες ενεργοποίησης αιμοπεταλίων, οι οποίοι επάγουν την προσκόλληση, την ενεργοποίηση και την συσσωμάτωση τους και οι οποίοι είναι αυξημένοι σε υπέρβαρους και παχύσαρκους ενήλικες, είναι επίσης αυξημένοι κατά την παιδική και εφηβική ηλικία, όταν το βάρος ή το σωματικό λίπος είναι υψηλότερο από το φυσιολογικό. Η συγκεκριμένη μελέτη πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση της συσχέτισης της sP-σελεκτίνης, ως δείκτη ενεργοποίησης αιμοπεταλίων και του ενδοθηλίου, με δείκτες παχυσαρκίας σε παιδιά και εφήβους. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι υπήρχε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης μόνο των κοριτσιών με την περίμετρο μέσης, το στάδιο βιολογικής ωρίμανσης Tanner, την ύπαρξη ινσουλινοαντίστασης ($HOMA_{IR}$) και τον αριθμό αιμοπεταλίων, ανεξάρτητα από συγχυτικούς παράγοντες. Επίσης, βρέθηκε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης με το μέσο όγκο αιμοπεταλίων και στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με το δείκτη οξειδωτικού στρες $GPx3$, και στα δύο φύλα, ανεξάρτητα από συγχυτικούς παράγοντες.

Σύσταση Σώματος και sP-σελεκτίνη

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε έλεγχος για πιθανή συσχέτιση ανάμεσα στα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και τη σύσταση σώματος των παιδιών με τα επίπεδα sP-σελεκτίνης στο πλάσμα, ξεχωριστά για τα δύο φύλα. Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα με τις κατηγορίες ΔΜΣ ή το ως συνεχή μεταβλητή, με το εκατοστιαίο ποσοστό του σωματικού λίπους, το εκατοστιαίο ποσοστό του λίπους το κορμού και το σπλαχνικό λίπος. Ωστόσο, βρέθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων sP-σελεκτίνης μόνο των κοριτσιών με την ύπαρξη κεντρικής παχυσαρκίας ($p=0,001$) και την περίμετρο μέσης ως συνεχούς μεταβλητής, ανεξάρτητα από το στάδιο Tanner και τη μέση ημερήσια θερμιδική πρόσληψη ($p<0,001$). Τα αποτελέσματα της παρούσας είναι σε συμφωνία

με κλινική μελέτη ασθενών-μαρτύρων που πραγματοποιήθηκε το 2004, σε παιδιά και εφήβους (μέσης ηλικίας 15 ετών), με παχυσαρκία, υπέρταση και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1, πραγματοποιήθηκε σύγκριση των επιπέδων διαφόρων διαλυτών μορίων προσκόλλησης και σελεκτινών, που μετρήθηκαν με ανοσοενζυμική μέθοδο αντίστοιχη με αυτή που χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη μας, μεταξύ των τεσσάρων ομάδων ασθενών (παχυσαρκία – παχυσαρκία και υπέρταση – υπέρταση – σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1) και της ομάδας ελέγχου (υγιή παιδιά, φυσιολογικού σωματικού βάρους) (Glowinska, et al, 2005). Το συνολικό δείγμα ήταν μικρό και δεν πραγματοποιήθηκε διαχωρισμός στα δύο φύλα για τη στατιστική ανάλυση. Τα επίπεδα sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των παιδιών δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ασθενών και της ομάδας ελέγχου, ενώ τα επίπεδα sE-σελεκτίνης σημαντικά αυξημένα στις ομάδες ασθενών σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (Glowinska, et al, 2005). Σε μία δεύτερη κλινική μελέτη ασθενών-μαρτύρων που διεξήχθη σε μικρό πληθυσμό παχύσαρκων παιδιών (με μέσο όρο ηλικίας 10 έτη), το 2005, ελέγχθηκε αν υπάρχει ενδοθηλιακή ενεργοποίηση και ενεργοποίηση αιμοπεταλίων στα παιδιά αυτά, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου που αποτέλεσαν παιδιά φυσιολογικού βάρους (Desideri, et al, 2005). Μεταξύ άλλων μορίων προσκόλλησης μετρήθηκαν τα επίπεδα sP-σελεκτίνης, ως δείκτη ενεργοποίησης του αρτηριακού ενδοθηλίου και των αιμοπεταλίων. Η στατιστική ανάλυση έδειξε στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα sP-σελεκτίνης, sE-σελεκτίνης και άλλων μορίων προσκόλλησης στα παχύσαρκα παιδιά, συγκριτικά με τα νορμοβαρή. Στη συγκεκριμένη μελέτη, η ενδοθηλιακή και αιμοπεταλιακή ενεργοποίηση αποδόθηκε στην ίδια την παχυσαρκία, παρά στα επίπεδα σωματικού και σπλαχνικού λίπους, καθώς δε βρέθηκε συσχέτιση των διαλυτών δεικτών ενδοθηλιακής και αιμοπεταλιακής ενεργοποίησης με το επίπεδο υπερβαρότητας, όπως προσδιορίστηκε από το ΔΜΣ και το σχετικό ΔΜΣ ή με το σπλαχνικό λίπος, όπως προσδιορίστηκε από την περιφέρεια μέσης, στα παχύσαρκα παιδιά (Desideri, et al, 2005). Το συμπέρασμα της μελέτης ήταν πως υπάρχει όντως πρώιμη ενδοθηλιακή και αιμοπεταλιακή ενεργοποίηση στα παχύσαρκα παιδιά, με τα αυξημένα επίπεδα sP-σελεκτίνης να αποτελούν έναν από τους δείκτες της (Desideri, et al, 2005). Οι φυλοεξαρτώμενες σχέσεις που βρέθηκαν στην παρούσα μελέτη, μεταξύ επιπέδων sP-σελεκτίνης, κεντρικής παχυσαρκίας και περιμέτρου μέσης, χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης, καθώς δε φαίνεται να υπάρχουν άλλες μελέτες στα παιδιά ή στους ενήλικες που αποδεικνύουν την ύπαρξη διαφορετικών συσχετίσεων ανάμεσα στα φύλων για τις συγκεκριμένες μεταβλητές.

Ινσουλινοαντίσταση και sP-σελεκτίνη

Κατά τον έλεγχο της σχέσης των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα τους δείγματος της μελέτης μας με την ύπαρξη ινσουλινοαντίστασης, ξεχωριστά στα δύο φύλα, δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ τους. Ωστόσο όταν ελέγχθηκε η σχέση των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο δείγμα με την ινσουλινοαντίσταση όπως ορίζεται από το δείκτη $HOMA_{IR}$, ξεχωριστά για τα δύο φύλα, βρέθηκε ότι στα κορίτσια τα επίπεδα sP-σελεκτίνης στο πλάσμα έχουν στατικά σημαντική θετική συσχέτιση με το δείκτη αυτό, ακόμη και μετά την προσθήκη στο μοντέλο του σταδίου Tanner και της ημερήσιας θερμιδικής πρόσληψης ως συγχυτικούς παράγοντες ($p=0,001$). Σε κλινική μελέτη ασθενών-μαρτύρων που προαναφέρθηκε προηγουμένως, η οποία διεξήχθη σε μικρό πληθυσμό παχύσαρκων παιδιών (με μέσο όρο ηλικίας 10 έτη), το 2005, βρέθηκε ότι τα παχύσαρκα παιδιά είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ινσουλίνης νηστείας και ινσουλινοαντίσταση, όπως προσδιορίστηκε από το $HOMA_{IR}$, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου ($p<0,001$) (Desideri, et al, 2005). Στα παχύσαρκα παιδιά, τα επίπεδα sP-σελεκτίνης ήταν επίσης στατιστικά σημαντικά υψηλότερα συγκριτικά με της ομάδας ελέγχου ($p<0,001$). Ωστόσο, όταν τα παχύσαρκα παιδιά κατηγοριοποιήθηκαν σε τεταρτημόρια με βάση το $HOMA_{IR}$, τα επίπεδα sP-σελεκτίνης και οι υπόλοιποι δείκτες ενδοθηλιακής και αιμοπεταλιακής ενεργοποίησης, δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τεταρτημόριων (Desideri, et al, 2005). Η ινσουλινοαντίσταση αποτελεί παρόλα αυτά πολύ σημαντικό παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου με δυνατότητα επιρροής της ενδοθηλιακής λειτουργίας και την προαθηρογόνο φλεγμονή, ανεξάρτητα με την παχυσαρκία. Σύμφωνα με αυτό, έχει αποδειχθεί στο παρελθόν ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία σχετίζεται με δείκτες ινσουλινοαντίστασης στα παιδιά, αν και στη συγκεκριμένη μελέτη δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης με το $HOMA_{IR}$ (Desideri, et al, 2005). Στην παρούσα μελέτη, η φυλοεξαρτώμενη σχέση που βρέθηκε μεταξύ των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των κοριτσιών και του $HOMA_{IR}$, δεν έχει φανεί σε παρόμοιες μελέτες, επομένως το εύρημα αυτό χρειάζεται επίσης πιο εκτεταμένη διερεύνηση.

Δείκτης Βιολογικής Ωρίμανσης Tanner και sP-σελεκτίνη

Μελετώντας τη σχέση του δείκτη βιολογικής ωρίμανσης Tanner με τα επίπεδα sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των παιδιών του δείγματος της μελέτης μας, ξεχωριστά στα δύο φύλα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ($p<0,001$) της sP-σελεκτίνης και του σταδίου

Tanner, στον πληθυσμό των κοριτσιών. Όταν πραγματοποιήθηκε επιμέρους σύγκριση των σταδίων Tanner στο δείγμα των κοριτσιών, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των σταδίων 1, 2 και 4 ($p < 0,001$) και μεταξύ του σταδίου 1 και 3 ($p < 0,001$). Ο λόγος που δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του σταδίου 5 και οποιουδήποτε άλλου σταδίου, πιθανότατα οφείλεται στο μικρό αριθμό κοριτσιών τους δείγματος της μελέτης που βρίσκονται στο στάδιο αυτό ωρίμανσης. Εφόσον δεν παρατηρήθηκε η ίδια συσχέτιση στα αγόρια, φαίνεται πως υπάρχει φυλοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ των επιπέδων sP-σελεκτίνης και της βιολογικής ωρίμανσης, γεγονός που μας κάνει να αναρωτηθούμε ποιος μπορεί να είναι ο ρόλος των ορμονών του γυναικείου φύλου στη σχέση αυτή. Σε κλινική μελέτη ασθενών-μαρτύρων που πραγματοποιήθηκε σε πληθυσμό εγκύων γυναικών το 1997, παρατηρήθηκαν μειωμένα επίπεδα sP-σελεκτίνης στην ομάδα των εγκύων σε σχέση με την ομάδα ελέγχου που αποτελούνταν από γυναίκες με ανεπιθύμητη ωοθηκεκτομή λόγω καλοήθους νόσου (Marek, Kvasnicka, Marková, Umlaufová, & Zivný, 1997). Στη συνέχεια παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της sP-σελεκτίνης και των οιστρογόνων, τα οποία είναι ιδιαίτερα αυξημένα κατά την εγκυμοσύνη, στον πληθυσμό της μελέτης. Η μείωση των κυτταρικών μορίων προσκόλλησης, όπως η sP-σελεκτίνη, κατά την εγκυμοσύνη, είναι μία πιθανή εξήγηση για την ευεργετική επίδραση των υψηλών επιπέδων οιστρογόνων στην ανάπτυξη των αθηροσκληρωτικών αρτηριακών αλλοιώσεων (Marek, et al, 1997). Στη δική μας μελέτη, όσο αυξάνεται το στάδιο βιολογική ωρίμανσης Tanner, παρατηρείται μείωση των επιπέδων sP-σελεκτίνης στα κορίτσια. Θα ήταν ιδιαίτερα δελεαστικό λοιπόν να υποθέσουμε, ότι όσο τα κορίτσια ωριμάζουν, πλησιάζοντας την αναπαραγωγική ηλικία και αυξάνονται τα επίπεδα των οιστρογόνων τους, μειώνονται τα επίπεδα sP-σελεκτίνης, λόγω κάποιας αντίστοιχης αρνητικής συσχέτισης μεταξύ τους, με αυτή των ενήλικων εγκύων γυναικών της προαναφερθείσας μελέτης.

Δείκτες ενεργοποίησης αιμοπεταλίων και sP-σελεκτίνη

Στην παρούσα μελέτη σε ότι αφορά στο μέσο όγκο αιμοπεταλίων, βρέθηκε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα του δείγματος αγοριών και κοριτσιών και αυτού, ανεξάρτητη του σταδίου Tanner και της μέσης ημερήσιας ενεργειακής πρόσληψης ($p \leq 0,001$). Το γεγονός αυτό μοιάζει παράδοξο καθώς οι δύο δείκτες ενεργοποίησης αιμοπεταλίων, θα ήταν αναμενόμενο να συσχετίζονται θετικά, εφόσον βρίσκονται παράλληλα αυξημένοι κατά την αιμοπεταλιακή ενεργοποίηση. Μάλιστα, σε κλινική μελέτη ασθενών-μαρτύρων που πραγματοποιήθηκε σε υγείες ενήλικες, το 2003, όταν η ομάδα

μελέτης (υγιείς με μεγάλο μέγεθος αιμοπεταλίων) και η ομάδα ελέγχου (υγιείς με φυσιολογικό μέγεθος αιμοπεταλίων) μελετήθηκαν ξεχωριστά, στην ομάδα μελέτης βρέθηκε θετική συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης και του mrvn ($p < 0,05$) (Breimo, & Østerud, 2003). Όταν έγινε έλεγχος για τη ίδια σχέση μετά την ένωση των δύο ομάδων, υπήρξε μία θετική συσχέτιση, αλλά οριακά δεν ήταν πλέον στατιστικά σημαντική ($p = 0,06$) (Breimo, et al, 2003). Σε μια ακόμη κλινική μελέτη ασθενών-μαρτύρων με ομάδα μελέτης ενήλικες (μέσης ηλικίας 61 ετών) με χαμηλή στεφανιαία αιματική ροή και ομάδα ελέγχου ενήλικες με φυσιολογική στεφανιαία αιματική ροή (μέσης ηλικίας 63 ετών), στην πλειονότητα άνδρες, η οποία δημοσιεύτηκε το 2009, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα sP-σελεκτίνης και mrvn στην ομάδα της μελέτης ($p < 0,001$) και στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση των επιπέδων sP-σελεκτίνης και του mrvn στην ομάδα αυτή ($p < 0,001$) (Celik, Yuksel, Bugan, Iyiso, Celik, Demirkol, ... & Isik, 2010). Επομένως, τα ευρήματα της μελέτης μας έρχονται σε αντίθεση με τα έως τώρα υπάρχοντα δεδομένα στους ενήλικες. Χρειάζεται λοιπόν περαιτέρω διερεύνηση στα παιδιά, για να διαπιστώσουμε εάν όντως για κάποιο λόγο υπάρχει διαφοροποίηση από τους ενήλικες στη σχέση αυτή. Όσον αφορά τη συσχέτιση της sP-σελεκτίνης με τον αριθμό αιμοπεταλίων, βρέθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μόνο στα κορίτσια ($p = 0,047$). Το αποτέλεσμα αυτό φαίνεται λογικό, εξάλλου η P-σελεκτίνη εκφράζεται κυρίως στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων και αφού μετατραπεί σε sP-σελεκτίνη εντοπίζεται στο πλάσμα (André, 2004). Ωστόσο μένει να εξετάσουμε για ποιο λόγο παρατηρείται ξανά φυλοεξαρτώμενη σχέση που αφορά στα κορίτσια.

Δείκτες οξειδωτικού στρες, δείκτες φλεγμονής και sP-σελεκτίνη

Όταν πραγματοποιήθηκε έλεγχος της σχέσης μεταξύ των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο δείγμα των παιδιών και δεικτών οξειδωτικού στρες όπως ο GPx3 και φλεγμονής όπως τα επίπεδα λεπτίνης, αδιπονεκτίνης, CRP και IL6, βρέθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων sP-σελεκτίνης και του GPx3 στα αγόρια και στα κορίτσια ($p < 0,001$ για όλες τις συσχετίσεις), ανεξάρτητη του σταδίου Tanner και της μέσης ημερήσιας ενεργειακής πρόσληψης. Ωστόσο, δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων sP-σελεκτίνης και κάποιου από τους δείκτες φλεγμονής. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα προηγούμενων ερευνών θα περίμενε κανείς να βρεθεί αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων sP-σελεκτίνης και του GPx3. Σε μία κλινική μελέτη ασθενών-μαρτύρων που πραγματοποιήθηκε σε νεαρούς ενήλικες και παιδιά και δημοσιεύτηκε το 2006, βρέθηκε ότι ένας απλότυπος του γονιδίου GPx3 που μειώνει τη μεταγραφική του δραστηριότητα, μεταβάλλει την

έκφρασή του, την αντιθρομβωτική και αντιοξειδωτική δραστηριότητα του στο πλάσμα, είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για αρτηριακό ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, σε παιδιά και νεαρούς ενήλικες (Voetsch, Jin, Bierl, Benke, Kenet, Simioni, ... & Loscalzo, 2007). Η έλλειψη του GPx3 και των αντιθρομβωτικών του ιδιοτήτων, επάγει την ενεργοποίηση και συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων και κατ' επέκταση την αθηρωματική διαδικασία και έτσι να αυξάνει τον κίνδυνο για τέτοιου είδους καρδιαγγειακές εκβάσεις (Voetsch, et al, 2007). Στις διαδικασίες αυτές ωστόσο, η sP-σελεκτίνη αναμένεται αυξημένη, ως δείκτης ενεργοποίησης αιμοπεταλίων και υπό το πρίσμα αυτό, εάν και η συγκεκριμένη μελέτη δε μέτρησε τα επίπεδα sP-σελεκτίνης στα παιδιά, τα αποτελέσματα της φαίνεται να μην είναι σύμφωνα με της παρούσας μελέτης. Άλλη μία έρευνα που πραγματοποιήθηκε με πειράματα in vivo σε ποντίκια, που δημοσιεύτηκε το 2011, έδειξε ότι τα ποντίκια με έλλειψη GPx3 είχαν μειωμένο χρόνο αιμορραγίας και υψηλότερα επίπεδα sP-σελεκτίνης, συγκριτικά με τα ποντίκια που είχαν φυσιολογικά επίπεδα GPx3 (Jin, Mahoney, Anderson, Ottaviano, Croce, Leopold, ... & Loscalzo, 2011). Επιπρόσθετα, ιστολογικές απεικονίσεις των ποντικών έδειξαν συγκριτικά αυξημένο ποσοστό πλούσιων σε αιμοπετάλια θρόμβων και αποφραγμένων αγγείων στα ποντίκια με έλλειψη GPx3, γεγονός που απέδειξε ότι η έλλειψη GPx-3 έχει ως αποτέλεσμα μια προθρομβωτική κατάσταση και αγγειακή δυσλειτουργία η οποία προάγει την εξαρτώμενη από τα αιμοπετάλια αρτηριακή θρόμβωση (Jin, et al, 2011). Η θετική συσχέτιση που βρέθηκε μεταξύ των επιπέδων sP-σελεκτίνης και του GPx3 στη δική μας μελέτη, αντιτίθεται στα αποτελέσματα των παραπάνω μελετών, επομένως είναι απαραίτητο να διεξαχθούν επιπλέον μελέτες στο άνθρωπο και συγκεκριμένα στα παιδιά για τη διερεύνηση της σχέσης αυτής.

Πλεονεκτήματα & Περιορισμοί της Μελέτης

Η συγκεκριμένη μελέτη αποτελεί μία από τις ελάχιστες κλινικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε παιδιά και εφήβους, με σκοπό τη διερεύνηση της συσχέτισης της sP-σελεκτίνης, ως δείκτη ενεργοποίησης αιμοπεταλίων και του ενδοθηλίου, με δείκτες παχυσαρκίας. Οι περιορισμένες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε παιδιά και εφήβους στο πλαίσιο αυτό, χρησιμοποίησαν δείγμα πληθυσμού, περίπου ένα δέκατο σε μέγεθος, συγκριτικά με την παρούσα μελέτη. Στην μελέτη αυτή, χρησιμοποιήθηκε δείγμα πλάσματος 1.154 παιδιών, αγοριών και κοριτσιών 9-13 ετών, από την επιδημιολογική μελέτη Healthy Growth Study, που σύλλεξε εθελοντές από τέσσερεις μεγάλες περιοχές της Ελλάδας (Αθήνα, Θεσσαλονίκη, Κρήτη, Αργίλιο), το 2007, γεγονός που ενισχύει το κύρος των αποτελεσμάτων. Επιπλέον, η πληθώρα των δεδομένων που έχουν συλλεγεί στη μελέτη Healthy Growth Study,

έδωσε τη δυνατότητα να ελεγχθούν οι συσχετίσεις της sP-σελεκτίνης με ποικίλους δείκτες παχυσαρκίας και άλλους σχετικούς παράγοντες, όπως το ΔΜΣ, την περίμετρο μέσης, το σωματικό λίπος (%), το λίπος κορμού (%), το σπλαχνικό λίπος, το δείκτη ινσουλινοαντίστασης HOMA^{IR}, το μέσο όγκο και αριθμό αιμοπεταλίων, το δείκτη οξειδωτικού stress GRx3 και τη λεπτίνη, την αδιπονεκτίνη, τη CRP και την IL6 ως δείκτες φλεγμονής, οι οποίες ως επί τω πλείστω δεν έχουν ελεγχθεί στα παιδιά ή και στους εφήβους. Ωστόσο, λόγω της συγχρονικής φύσης της μελέτης, καμία από τις συσχετίσεις που βρέθηκαν δεν μπορούμε να ισχυριστούμε ότι αποτελεί αιτιολογική σχέση. Επομένως οι παράγοντες που βρέθηκε ότι επηρεάζουν τα επίπεδα sP-σελεκτίνης, δεν αποτελούν αιτιολογικούς παράγοντες. Τέλος, χρειάζεται να σημειωθεί ότι δεν χρησιμοποιήθηκε άλλη μέθοδος κλινικής εκτίμησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας των παιδιών, πέρα από την αιματολογική εξέταση.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η συγκεκριμένη μελέτη αποτελεί, την πρώτη Ελληνική και τη μεγαλύτερη, όσον αφορά στο μέγεθος του δείγματος, κλινική μελέτη που έχει έως σήμερα πραγματοποιηθεί σε παιδιά και εφήβους για τον έλεγχο της σχέσης των επιπέδων sP-σελεκτίνης στο πλάσμα, με δείκτες παχυσαρκίας. Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι η κεντρική παχυσαρκία στα κορίτσια, συσχετίζεται θετικά με τα επίπεδα sP-σελεκτίνης στο πλάσμα, ανεξάρτητα με το στάδιο Tanner και την ημερήσια θερμιδική πρόσληψη. Το γεγονός αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό καθώς στις μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε παιδιά δεν έχει βρεθεί τέτοιου είδους συσχέτιση. Ωστόσο δε βρέθηκε συσχέτιση του ΔΜΣ και του επιπέδου λίπους, σωματικού και σπλαχνικού με τα επίπεδα sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των παιδιών. Πέρα όμως από τους δείκτες παχυσαρκίας βρέθηκαν και άλλες ενδιαφέρουσες φυλοεξαρτώμενες συσχετίσεις, όπως η θετική συσχέτιση του δείκτη ινσουλινοαντίστασης HOMA_{IR} και του αριθμού αιμοπεταλίων, με τα επίπεδα sP-σελεκτίνης στο πλάσμα των κοριτσιών. Οι δείκτες αυτοί σχετίζονται με τη χρόνια φλεγμονώδη κατάσταση που χαρακτηρίζει την παχυσαρκία και επομένως η συσχέτιση τους με τα επίπεδα sP-σελεκτίνης σε ανήλικο πληθυσμό, αποτελεί πρωτοφανές και σημαντικό εύρημα. Ο δείκτης ενεργοποίησης αιμοπεταλίων mpv συσχετίστηκε αρνητικά, ενώ ο δείκτης οξειδωτικού στρες GRx3 θετικά, με τα επίπεδα sP-σελεκτίνης στο συνολικό δείγμα των παιδιών. Οι δυο αυτές συσχετίσεις αντιτίθενται στα αποτελέσματα που έχουν βρεθεί σε αντίστοιχες κλινικές μελέτες στους ενήλικες, δίνοντας το έναυσμα για περαιτέρω διερεύνηση αυτών σε παιδιά και εφήβους. Συνοψίζοντας, φαίνεται ότι τα επίπεδα sP-σελεκτίνης, η οποία αποτελεί δείκτη ενεργοποίησης αιμοπεταλίων, σχετίζονται σημαντικά στα κορίτσια με την κεντρική παχυσαρκία και την ύπαρξη

ινσουλινοαντίστασης, κάνοντας επιτακτική την ανάγκη πρώιμης ανίχνευσης παιδιών και εφήβων κοριτσιών με παχυσαρκία και ινσουλινοαντίσταση προκειμένου να γίνει έγκαιρη πρόληψη και μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου στη μετέπειτα ζωή.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Altunkan, S., Ilman, N., Kayatürk, N., & Altunkan, E. (2007). Validation of the Omron M6 (HEM-7001-E) upper-arm blood pressure measuring device according to the International Protocol in adults and obese adults. *Blood pressure monitoring*, 12(4), 219-225.
- André, P. (2004). P-selectin in haemostasis. *British journal of haematology*, 126(3), 298-306.
- Apovian, C. M. (2016). Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. *Am J Manag Care*, 22(7 Suppl), s176-85.
- Arman, M., Payne, H., Ponomaryov, T., & Brill, A. (2015). Role of platelets in inflammation. In *The Non-Thrombotic Role of Platelets in Health and Disease*. IntechOpen.
- Badimon, L., Suades, R., Fuentes, E., Palomo, I., & Padró, T. (2016). Role of platelet-derived microvesicles as crosstalk mediators in atherothrombosis and future pharmacology targets: a link between inflammation, atherosclerosis, and thrombosis. *Frontiers in pharmacology*, 7, 293.
- Bastien, M., Poirier, P., Lemieux, I., & Després, J. P. (2014). Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. *Progress in cardiovascular diseases*, 56(4), 369-381.
- Berger, J. S., Eraso, L. H., Xie, D., Sha, D., & Mohler III, E. R. (2010). Mean platelet volume and prevalence of peripheral artery disease, the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999–2004. *Atherosclerosis*, 213(2), 586-591.
- Bonduel, M., Frontroth, J. P., Hepner, M., Sciuccati, G., & Feliu-Torres, A. (2007). Platelet aggregation and adenosine triphosphate release values in children and adults. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 5(8), 1782-1783.
- Breimo, E. S., & Østerud, B. (2003). Studies of biological functions in blood cells from individuals with large platelets. *Platelets*, 14(7-8), 413-419.
- Celik, T., Yuksel, U. C., Bagan, B., Iyisoy, A., Celik, M., Demirkol, S., ... & Isik, E. (2010). Increased platelet activation in patients with slow coronary flow. *Journal of thrombosis and thrombolysis*, 29(3), 310-315.
- Charalabopoulos, K. A. (2008). Adhesion molecules; novel tools in the cancer jigsaw. *Archives of Hellenic Medicine* (suppl. 2), 7-35.
- Cole, T. J., Bellizzi, M. C., Flegal, K. M., & Dietz, W. H. (2000). Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *Bmj*, 320(7244), 1240.

- Cole, T. J., Flegal, K. M., Nicholls, D., & Jackson, A. A. (2007). Body mass index cut offs to define thinness in children and adolescents: international survey. *Bmj*, 335(7612), 194.
- De Pergola, G., Pannacciulli, N., Coviello, M., Scarangella, A., Di Roma, P., Caringella, M., ... & Giorgino, R. (2008). sP-selectin plasma levels in obesity: association with insulin resistance and related metabolic and prothrombotic factors. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 18(3), 227-232.
- Desideri, G., De Simone, M., Iughetti, L., Rosato, T., Iezzi, M. L., Marinucci, M. C., ... & Ferri, C. (2005). Early activation of vascular endothelial cells and platelets in obese children. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(6), 3145-3152.
- Fernández, J. R., Redden, D. T., Pietrobelli, A., & Allison, D. B. (2004). Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. *The Journal of pediatrics*, 145(4), 439-444.
- Freedman, D. S., Dietz, W. H., Tang, R., Mensah, G. A., Bond, M. G., Urbina, E. M., ... & Berenson, G. S. (2004). The relation of obesity throughout life to carotid intima-media thickness in adulthood: the Bogalusa Heart Study. *International journal of obesity*, 28(1), 159.
- Frostegård, J. (2013). Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease. *BMC medicine*, 11(1), 117.
- Fuentes Q, E., Fuentes Q, F., Andrés, V., Pello, O. M., de Mora, J. F., & Palomo G, I. (2013). Role of platelets as mediators that link inflammation and thrombosis in atherosclerosis. *Platelets*, 24(4), 255-262.
- Gawaz, M., Neumann, F. J., Dickfeld, T., Koch, W., Laugwitz, K. L., Adelsberger, H., ... & Brand, K. (1998). Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation*, 98(12), 1164-1171.
- Ghoshal, K., & Bhattacharyya, M. (2014). Overview of platelet physiology: its hemostatic and nonhemostatic role in disease pathogenesis. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Glowinska, B., Urban, M., Peczynska, J., & Florys, B. (2005). Soluble adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1) and selectins (sE selectin, sP selectin, sL selectin) levels in children and adolescents with obesity, hypertension, and diabetes. *Metabolism*, 54(8), 1020-1026.
- Gremmel, T., Frelinger III, A. L., & Michelson, A. D. (2016, April). Platelet physiology. In *Seminars in thrombosis and hemostasis* (Vol. 42, No. 03, pp. 191-204). Thieme Medical Publishers.
- Gunnell, D. J., Frankel, S. J., Nanchahal, K., Peters, T. J., & Davey Smith, G. (1998). Childhood obesity and adult cardiovascular mortality: a 57-y follow-up study based on the Boyd Orr cohort. *The American journal of clinical nutrition*, 67(6), 1111-1118.

Herrington, W., Lacey, B., Sherliker, P., Armitage, J., & Lewington, S. (2016). Epidemiology of atherosclerosis and the potential to reduce the global burden of atherothrombotic disease. *Circulation research*, 118(4), 535-546.

Human P-Selectin/CD62P DuoSet: Product Datasheet, *R&D Systems, a bio-technique brand*

Jelalian, E., Hart, C. N., Mehlenbeck, R. S., Lloyd-Richardson, E. E., Kaplan, J. D., Flynn-O'Brien, K. T., & Wing, R. R. (2008). Predictors of attrition and weight loss in an adolescent weight control program. *Obesity*, 16(6), 1318-1323.

Jin, R. C., Mahoney, C. E., Anderson, L., Ottaviano, F., Croce, K., Leopold, J. A., ... & Loscalzo, J. (2011). Glutathione peroxidase-3 deficiency promotes platelet-dependent thrombosis in vivo. *Circulation*, 123(18), 1963-1973.

Jurk, K., & Kehrel, B. E. (2005, August). Platelets: physiology and biochemistry. In *Seminars in thrombosis and hemostasis* (Vol. 31, No. 04, pp. 381-392). Copyright© 2005 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA.

Kaplan, Z. S., & Jackson, S. P. (2011). The role of platelets in atherothrombosis. *ASH Education Program Book*, 2011(1), 51-61.

Keskin, M., Kurtoglu, S., Kendirci, M., Atabek, M. E., & Yazici, C. (2005). Homeostasis model assessment is more reliable than the fasting glucose/insulin ratio and quantitative insulin sensitivity check index for assessing insulin resistance among obese children and adolescents. *Pediatrics*, 115(4), e500-e503.

Kipping, R. R., Jago, R., & Lawlor, D. A. (2008). Obesity in children. Part 1: Epidemiology, measurement, risk factors, and screening. *Bmj*, 337, a1824.

Kvasnicka, T., Kvasnicka, J., Ceska, R., & Vrablik, M. (2003). Increase of inflammatory state in overweight adults with combined hyperlipidemia. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 13(4), 227-231.

Ley, K. (2003). The role of selectins in inflammation and disease. *Trends in molecular medicine*, 9(6), 263-268.

Lohman, T. G., Roche, A. F., & Martorell, R. (1988). *Anthropometric standardization reference manual* (Vol. 177, pp. 3-8). Champaign, IL: Human kinetics books.

López-Domènech, S., Martínez-Herrera, M., Abad-Jiménez, Z., Morillas, C., Escribano-López, I., Díaz-Morales, N., ... & Rocha, M. (2019). Dietary weight loss intervention improves subclinical atherosclerosis and oxidative stress markers in leukocytes of obese humans. *International Journal of Obesity*, 1.

Marek, J., Kvasnicka, J., Marková, M., Umlaufová, A., & Zivný, J. (1997). Effect of estrogens on cell adhesion molecules in thrombophilic states associated with high blood estrogen levels. *Casopis lekaru ceskych*, 136(15), 468-472.

- Miller, M. A., & Cappuccio, F. P. (2006). Cellular adhesion molecules and their relationship with measures of obesity and metabolic syndrome in a multiethnic population. *International journal of obesity*, 30(8), 1176.
- Moschonis, G., Kalliora, A. C., Costarelli, V., Papandreou, C., Koutoukidis, D., Lionis, C., ... & Manios, Y. (2014). Identification of lifestyle patterns associated with obesity and fat mass in children: the Healthy Growth Study. *Public health nutrition*, 17(3), 614-624.
- Must, A., Jacques, P. F., Dallal, G. E., Bajema, C. J., & Dietz, W. H. (1992). Long-term morbidity and mortality of overweight adolescents: a follow-up of the Harvard Growth Study of 1922 to 1935. *New England journal of medicine*, 327(19), 1350-1355.
- Ng, M., Fleming, T., Robinson, M., Thomson, B., Graetz, N., Margono, C., & Abraham, J. P. (2014). Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The lancet*, 384(9945), 766-781.
- Nielsen, B. M., Dencker, M., Ward, L., Linden, C., Thorsson, O., Karlsson, M. K., & Heitmann, B. L. (2007). Prediction of fat-free body mass from bioelectrical impedance among 9-to 11-year-old Swedish children. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 9(4), 521-539.
- Özkan, E. A., Khosroshahi, H. E., Serin, H. İ., Özdemir, Z. T., Kılıç, M., Ekim, M., ... & Domur, E. (2015). The evaluation of carotid intima-media thickness and mean platelet volume values and correlation with cardiac functions in obese children. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(12), 22557.
- Polgar, J., Matuskova, J., & Wagner, D. D. (2005). The P-selectin, tissue factor, coagulation triad. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 3(8), 1590-1596.
- Prineas, R. J., Ostchega, Y., Carroll, M., Dillon, C., & McDowell, M. (2007). US demographic trends in mid-arm circumference and recommended blood pressure cuffs for children and adolescents: data from the National Health and Nutrition Examination Survey 1988–2004. *Blood pressure monitoring*, 12(2), 75-80.
- Rallidis, L. S., Kolomvotsou, A., Lekakis, J., Farajian, P., Vamvakou, G., Dargès, N., ... & Zampelas, A. (2017). Short-term effects of Mediterranean-type diet intervention on soluble cellular adhesion molecules in subjects with abdominal obesity. *Clinical nutrition ESPEN*, 17, 38-43.
- Roka-Moya, Y. M., Bilous, V. L., Zhernoshekov, D. D., & Grinenko, T. V. (2014). Novel aspects of platelet aggregation. *Biopolymers and cell*, (30, № 1), 10-15.
- Ross, R. (1999). Atherosclerosis—an inflammatory disease. *New England journal of medicine*, 340(2), 115-126.
- Siddarth, D. (2013). Risk factors for obesity in children and adults. *Journal of Investigative Medicine*, 61(6), 1039-1042.

- Steiner, M., Reinhardt, K. M., Krammer, B., Ernst, B., & Blann, A. D. (1994). Increased levels of soluble adhesion molecules in type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus are independent of glycaemic control. *Thrombosis and haemostasis*, 72(06), 979-984.
- Tanner, J. M. (1955). Growth at adolescence. *Growth at adolescence*.
- Trichopoulou, A., & Georga, K. (2004). Composition tables of foods and Greek dishes. 3rd. Athens: Editors Parisianou.
- Vázquez, L. A., Pazos, F., Berrazueta, J. R., Fernández-Escalante, C., García-Unzueta, M. T., Freijanes, J., & Amado, J. A. (2005). Effects of changes in body weight and insulin resistance on inflammation and endothelial function in morbid obesity after bariatric surgery. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(1), 316-322.
- Voetsch, B., Jin, R. C., Bierl, C., Benke, K. S., Kenet, G., Simioni, P., ... & Loscalzo, J. (2007). Promoter polymorphisms in the plasma glutathione peroxidase (GPx-3) gene: a novel risk factor for arterial ischemic stroke among young adults and children. *Stroke*, 38(1), 41-49.
- Wendel, A. (1980). Glutathione peroxidase. *Enzymatic basis of detoxication*, 1, 333-353.
- Westrick, R., & Fredman, G. (2015). Platelets: context-dependent vascular protectors or mediators of disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 35(7), e25-e29.
- Yun, S. H., Sim, E. H., Goh, R. Y., Park, J. I., & Han, J. Y. (2016). Platelet activation: the mechanisms and potential biomarkers. *BioMed research international*, 2016.
- Zampelas, A. (2003), Διατροφή στα Στάδια της Ζωής. *Ιατρικές εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης*
- Ziccardi, P., Nappo, F., Giugliano, G., Esposito, K., Marfella, R., Cioffi, M., ... & Giugliano, D. (2002). Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation*, 105(7), 804-809.
- Σάββα, Σ., Τορναρίτης, Μ., & Επιφανίου-Σάββα, Μ. (2000). Παιδική παχυσαρκία και Καρδιαγγειακά νοσήματα. *Ιατρική Κύπρου*, 17, 20-26.
- Φλωράκης, Δ., Κασίκης, Η., Καρκανάκη, Α., Χατζηδημητρίου, Δ., Ζουρνατζή, Β., & Πανίδης, Δ. (2009). Παχυσαρκία Ι: Ορισμός, ταξινόμηση, αιτιολογία, παθοφυσιολογία. *Ελληνική Μαιευτική και Γυναικολογία*, 299-308.