

Αθήνα, 2003

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή μου κύριο Α. Ζαμπέλα, για την καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε καθ' όλη τη διάρκεια της διαμόρφωσης και ολοκλήρωσης της παρούσας πτυχιακής μελέτης. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές κύριους Β. Σταυρινό και Γ. Μπόσκου για την υποστήριξή τους, καθώς και για τις πολύτιμες συμβουλές τους στο σχεδιασμό της έρευνας και στη σωστή διεξαγωγή της. Ακόμη, θερμά ευχαριστώ τον κύριο Ν. Ανδρικόπουλο και την κυρία Τ. Χίου, για την καθοδήγησή τους στη χημική ανάλυση και επεξεργασία των κρασιών, καθώς και για τις πολύτιμες συμβουλές τους για την άρτια εκτέλεση των αναλύσεων.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Χ. Παπαμιχαήλ, επιμελητή Α, του Π.Γ.Ν.Α. «Αλεξάνδρα», για την άψογη συνεργασία του και για τη φιλοξενία του στο αγγειολογικό εργαστήριο του νοσοκομείου, καθώς και τους γιατρούς κύριο Κ. Αζναουρίδη και κύριο Μ. Καρατζή για την πολύτιμη βοήθειά τους.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Α. Γκρίλλα και την κυρία Χ. Ματσούκα για την ανεκτίμητη βοήθειά τους μετρήσεις των δειγμάτων και των προσδιορισμό των λιπιδίων και του ινωδογόνου.

Ευχαριστώ, ακόμη τον κύριο Γ. Δεδούση και τις κυρίες Μ. Πρασά και Σ. Σώκαρη για την πολύτιμη βοήθειά τους στη δημιουργία τράπεζας DNA.

Τέλος, θερμές ευχαριστίες αξίζουν στην κυρία Μ. Σιταρά, για την ανεκτίμητη καθοδήγησή της και τη μεγάλη προθυμία που επέδειξε για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της έρευνας.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	4
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	6
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	11
<i>ΔΕΙΓΜΑ</i>	<i>11</i>
<i>ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΕΡΕΥΝΑΣ</i>	<i>11</i>
<i>ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΙΜΑΤΟΣ</i>	<i>12</i>
<i>ΥΠΕΡΗΧΟΙ ΑΓΓΕΙΩΝ</i>	<i>12</i>
<i>ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΚΡΑΣΙΟΥ</i>	<i>13</i>
<i>ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ</i>	<i>17</i>
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	188
1. <i>FMD.....</i>	<i>188</i>
ΣΧΗΜΑ 1	18
ΠΙΝΑΚΑΣ 2	221
2. <i>Ινωδογόνο</i>	<i>22</i>
3. <i>Λιπίδια, λιποπρωτεΐνες, απολιποπρωτεΐνες</i>	<i>23</i>
ΠΙΝΑΚΑΣ 3	24
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	25
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	29
ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΣΘΕΝΟΥΣ.....	36
ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ.....	39
DEALCOHOLIZED RED WINE IMPROVES ENDOTHELIAL FUNCTION AND DECREASES FIBRINOGEN LEVELS OF PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE	41

Περίληψη

Η παρούσα έρευνα έχει ως σκοπό τη διερεύνηση της οξείας επίδρασης του κόκκινου κρασιού και των επιμέρους συστατικών του (αλκοόλ, αντιοξειδωτικές ουσίες), στη λειτουργικότητα του ενδοθηλίου, ασθενών οι οποίοι έχουν εκδηλώσει στεφανιαία νόσο. Παρά το γεγονός ότι τα τελευταία 20-30 χρόνια έχει καταγραφεί μεγάλος αριθμός επιδημιολογικών μελετών που συσχετίζει τη χρόνια κατανάλωση μέτριας ποσότητας κόκκινου κρασιού με μειωμένο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου, είναι πολύ λίγες οι έρευνες που ασχολούνται με την οξεία δράση του κρασιού και των συστατικών του. Επίσης, είναι ελάχιστες οι έρευνες που μελετούν την οξεία επίδραση του κρασιού στη λειτουργία του ενδοθηλίου, το οποίο σήμερα θεωρείται ότι παίζει τον πιο καθοριστικό ρόλο στην εκδήλωση και εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου.

Στη μελέτη θα χρησιμοποιηθούν 15 ασθενείς με στεφανιαία νόσο, οι οποίοι σε δύο διαφορετικές εργαστηριακές ημέρες θα καταναλώσουν 250ml κόκκινου κρασιού ή 250ml κρασιού από το οποίο έχει αφαιρεθεί το αλκοόλ. Με τις κατάλληλες εξετάσεις και αιμοληψίες θα γίνουν μετρήσεις στο αίμα και στο ενδοθήλιό τους τόσο πριν την πόση του κρασιού όσο και 30, 60 και 90 λεπτά μετά από αυτή.

Από τα αποτελέσματα αναμένεται να προκύψουν συμπεράσματα για την οξεία δράση του κρασιού και των συστατικών του σε διάφορους παράγοντες του αίματος (λιπίδια, παράγοντες πήξης, παράγοντες του ενδοθηλίου) και στη λειτουργία του ενδοθηλίου. Επίσης, μπορεί να γίνει σύγκριση της οξείας με τη χρόνια δράση του κρασιού και των συστατικών του, ενώ ταυτόχρονα είναι δυνατό να προκύψουν κάποια συμπεράσματα σχετικά με το αν η ευεργετική δράση του κόκκινου κρασιού οφείλεται στο αλκοόλ που περιέχει ή στα υπόλοιπα συστατικά του.

Εισαγωγή

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει τα τελευταία χρόνια, ότι η κατανάλωση 20-30 γραμμαρίων αλκοόλ τη μέρα, συνδέεται με μείωση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου, εμφράγματος του μυοκαρδίου, καθώς και της θνησιμότητας που συνοδεύει τις ασθένειες αυτές[1,2]. Αν και έχουν περιγραφεί διάφοροι μηχανισμοί οι οποίοι ενδεχομένως εμπλέκονται ή υπεισέρχονται στον τρόπο δράσης του οινοπνεύματος, όπως η αύξηση της HDL, η μείωση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και η αύξηση της ινωδολύσης[3], αρκετοί ερευνητές αποδίδουν αυτή την ευεργετική δράση στο κρασί και όχι στα άλλα αλκοολούχα ποτά[4]. Μάλιστα, η πειραματική σύγκριση της επίδρασης διαφόρων τύπων κρασιού στη λειτουργία του ενδοθηλίου, κατέδειξε ότι το κόκκινο κρασί που ωριμάζει σε ξύλινα βαρέλια και όχι τα άλλα είδη κρασιού είναι αυτό που παρουσιάζει ευεργετική δράση έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων[5]. Η επίδραση αυτή, είναι πιθανό να οφείλεται στη μεγαλύτερη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών ουσιών στο κόκκινο κρασί σε σύγκριση με τα άλλα είδη κρασιού[6].

Οι διάφορες πολυφαινόλες που βρίσκονται στο κόκκινο κρασί, έχουν συσχετισθεί με μείωση του κινδύνου εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου[7-9] με διάφορους μηχανισμούς όπως η μείωση της επιδεκτικότητας της LDL σε οξειδώσεις, ή μείωση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων[10], αλλά και η βελτίωση της λειτουργίας του ενδοθηλίου[11]. Η τελευταία αυτή δράση των συστατικών του κόκκινου κρασιού έχει ιδιαίτερη σημασία, καθώς τα τελευταία χρόνια αυξάνεται σταδιακά η αποδοχή της υπόθεσης ότι η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου παίζει μείζονα ρόλο στην εμφάνιση και εξέλιξη της αθηρωματικής διαδικασίας και της στεφανιαίας νόσου γενικότερα.

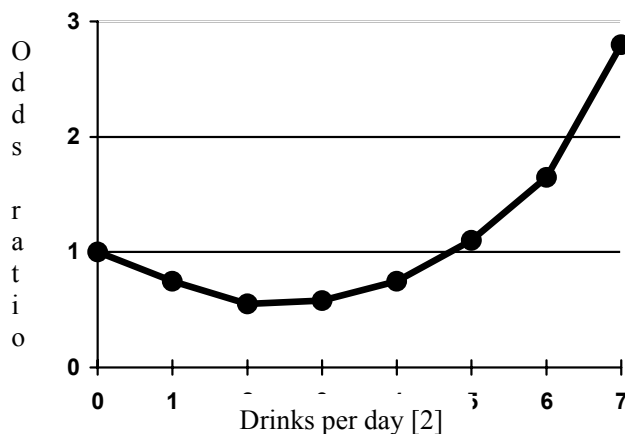
Μέχρι σήμερα έχουν γίνει διάφορες μελέτες *in vitro* που εξετάζουν την επίδραση του κρασιού, ή συγκεκριμένων αντιοξειδωτικών ουσιών αυτού σε καλλιιεργημένα ενδοθηλιακά κύτταρα[12-15] και ελάχιστες *in vivo* μελέτες[16-17]. Στις έρευνες αυτές διαφαίνεται ότι τόσο το κόκκινο κρασί, όσο και μεμονωμένα οι διάφορες αντιοξειδωτικές ουσίες του, επηρεάζουν θετικά την ενδοθηλιακή λειτουργία. Εύλογα λοιπόν, δημιουργείται το ερώτημα σχετικά με το ποια είναι η οξεία επίδραση του κόκκινου κρασιού ή των συστατικών του στην ενδοθηλιακή

λειτουργία in vivo, και με ποιους μηχανισμούς επιτυγχάνεται αυτή. Μόνο δύο μελέτες ερευνούν την οξεία επίδραση του κρασιού και των συστατικών του στη λειτουργία του ενδοθηλίου, σε δείγμα υγιών ατόμων, και στις οποίες προκύπτει ότι πιθανότατα τα διάφορα συστατικά του κρασιού πέραν του αλκοόλ βελτιώνουν την ενδοθηλιακή λειτουργία[18-19]. Απομένει λοιπόν να ελεγχθεί εάν σημειώνεται βελτίωση της λειτουργίας του ενδοθηλίου και σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο και εάν η βελτίωση αυτή μπορεί να αποδοθεί στο αλκοόλ ή στις αντιοξειδωτικές ουσίες του κρασιού. Επίσης, είναι πολύ σημαντικό να διερευνηθεί εάν η οξεία επίδραση του κρασιού στους παράγοντες κινδύνου της στεφανιαίας νόσου (λιπίδια, παράγοντες πήξης) είναι το ίδιο ευεργετική όσο και η επίδρασή του σε χρόνια βάση [2, 20, 21].

Επομένως ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της οξείας επίδρασης του κόκκινου κρασιού και του κόκκινου κρασιού χωρίς αλκοόλ, στη λειτουργικότητα του ενδοθηλίου, στα λιπίδια, σε παράγοντες πήξης και σε παράγοντες του ενδοθηλίου ασθενών που έχουν εκδηλώσει στεφανιαία νόσο.

Πρόλογος

Εδώ και αρκετά χρόνια, οι επιστήμονες έχουν συμπεράνει ότι η κατανάλωση αλκοόλ και ο κίνδυνος θανάτου από διάφορα αίτια έχει σχήμα U (U – shaped curve), καθώς η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ αυξάνει τον κίνδυνο θανάτου συγκριτικά με τη μέτρια κατανάλωση (περίπου 20-30 γραμμάρια αιθανόλης/ ημέρα), ενώ τα άτομα με μέτρια κατανάλωση αλκοόλ, έχουν μικρότερη θνησιμότητα συγκριτικά με αυτούς που απέχουν πλήρως από τη χρήση αλκοόλ[2].



Η εξήγηση του φαινομένου αυτού αποδίδεται στο γεγονός ότι μέτρια κατανάλωση αλκοόλ έχει συσχετισθεί με μειωμένο κίνδυνο θανάτου από καρδιαγγειακά νοσήματα[22], καθώς θεωρείται ότι άτομα με κατανάλωση 1-2 ποτών καθημερινά, έχουν αποκτήσει ένα είδος προστασίας έναντι της στεφανιαίας νόσου.

Το φαινόμενο αυτό διερευνήθηκε αρχικά εξαιτίας του λεγόμενου «γαλλικού παράδοξου», σύμφωνα με το οποίο οι Γάλλοι αν και έχουν διατροφή 3 φορές περίπου πιο πλούσια σε κορεσμένα λιπαρά και υψηλότερα επίπεδα χοληστερόλης και αρτηριακής πίεσης, παρουσιάζουν 2,5 φορές μειωμένο κίνδυνο θανάτου από στεφανιαία νόσο[23]. Γύρω από το ενδιαφέρον αυτό ζήτημα, έχουν γίνει πολυάριθμες μελέτες προκειμένου να εξηγηθεί το φαινόμενο

αυτό. Αν και χρειάζονται ακόμη αρκετές έρευνες πάνω στο συγκεκριμένο αντικείμενο, δεν είναι λίγες οι μελέτες που δείχνουν ότι το «γαλλικό αυτό παράδοξο», μπορεί να συσχετισθεί με την αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ στη Γαλλία [23,24].

Οι μηχανισμοί με τους οποίους θεωρείται ότι το αλκοόλ ασκεί προστατευτική δράση ενάντια στη στεφανιαία νόσο, σχετίζονται πρωτίστως με την επίδρασή του στις λιποπρωτεΐνες. Πιο συγκεκριμένα, μέτρια κατανάλωση αλκοόλ οδηγεί σε αύξηση της HDL λιποπρωτεΐνης και της απολιποπρωτεΐνης A-I και είναι πιθανό να σχετίζεται και με μείωση της συγκέντρωσης Lp (a) στο αίμα[25,34]. Επίσης, έχει βρεθεί πως μέτρια κατανάλωση αλκοόλ οδηγεί σε μείωση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων [24,26], ενώ σημαντική δράση του αλκοόλ έχει παρατηρηθεί στους αιμοστατικούς παράγοντες του αίματος [27]. Πιο αναλυτικά, σύμφωνα με τις αναλύσεις της έρευνας Framingham, αλλά και με βάση άλλες μελέτες, κατανάλωση 2-3 ποτών την ημέρα οδηγεί σε μείωση των επιπέδων ινωδογόνου και αύξηση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου [28,30], γεγονός που βοηθάει στη μείωση του σχηματισμού θρόμβων και της απόφραξης των αγγείων.

Θα πρέπει να σημειωθεί πως για αρκετά χρόνια και μέχρι σήμερα, υπάρχει μια έντονη διαμάχη στον επιστημονικό χώρο, σχετικά με το αν το κρασί ή κάποιο άλλο αλκοολούχο ποτό είναι εκείνο που τελικά οδηγεί σε μειωμένο κίνδυνο θανάτου από στεφανιαία νόσο, ή με άλλα λόγια αν το αλκοόλ ή κάποιες άλλες ουσίες που περιέχονται στα αλκοολούχα ποτά, είναι εκείνες που ασκούν προστατευτική δράση. Αν και δεν έχουν προκύψει κάποια ασφαλή συμπεράσματα ως προς το είδος του ποτού που υπερέχει έναντι των άλλων ενάντια στη στεφανιαία νόσο, επιδημιολογικές έρευνες έχουν δείξει σε αρκετές περιπτώσεις ότι το κόκκινο κρασί συσχετίζεται αρνητικά με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου και όχι τα άλλα αλκοολούχα ποτά (μπύρα, λευκό κρασί, κονιάκ)[31,32]. Αν σκεφτεί κανείς ότι το κόκκινο κρασί εκτός από αλκοόλ περιέχει και εκατοντάδες άλλες ουσίες (φλαβονοειδή, ανθοκυανίνες, πολυφαινόλες), είναι πιθανό η ευεργετική δράση του κόκκινου κρασιού να οφείλεται στις διάφορες ουσίες που περιέχει και όχι μόνο στο αλκοόλ [33].

Η υπόθεση ότι τα διάφορα είδη πολυφαινόλων και άλλων αντιοξειδωτικών ουσιών που βρίσκονται στο κόκκινο κρασί ή και σε άλλες τροφές, ίσως οδηγούν

στη μείωση του κινδύνου θανάτου από στεφανιαία νόσο, επιβεβαιώνεται εν μέρει από κάποιες επιδημιολογικές μελέτες. Στις μελέτες αυτές, όπως είναι η μελέτη των 7 χωρών, προκύπτει το συμπέρασμα ότι η μέτρια κατανάλωση φλαβονοειδών συσχετίζεται αρνητικά με τη θνησιμότητα από στεφανιαία νόσο [35,36], γεγονός που υποδηλώνει ότι όχι μόνο το αλκοόλ, αλλά και τα υπόλοιπα συστατικά του κρασιού ενέχονται σε μηχανισμούς προστατευτικούς για τη νόσο αυτή.

Πειραματικές μελέτες που έγιναν προκειμένου να διερευνηθεί η δράση των πολυφαινολών και να γίνει κατανοητός κάποιος μηχανισμός δράσης τους, απέδωσαν πολύ σημαντικά συμπεράσματα σχετικά με την επίδραση της κατανάλωσης πολυφαινολών στον οργανισμό. Πιο αναλυτικά βρέθηκε ότι η κατανάλωση κρασιού χωρίς αλκοόλ είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της HDL στο αίμα, που όπως είναι γνωστό αποτελεί έναν προστατευτικό παράγοντα στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης[37]. Ένας δεύτερος μηχανισμός που αποδεικνύει την ευεργετική δράση των αντιοξειδωτικών ουσιών του κόκκινου κρασιού είναι η μείωση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων. Η δράση αυτή έχει μελετηθεί από έρευνες σε ανθρώπους, τόσο *in vitro* [15,38] σε καλλιεργημένα αιμοπετάλια, όσο και *in vivo* [39] σε υγιείς ανθρώπους οι οποίοι μετά από κατανάλωση χυμού από σταφύλια για 1 εβδομάδα σημείωσαν μείωση στην ικανότητα συσσώρευσης των αιμοπεταλίων τους. Το γεγονός αυτό έρχεται σε αντιδιαστολή με την κατανάλωση χυμού από πορτοκάλια ή γκρέιπ – φρουτ που αν και περιέχουν κάποιες αντιοξειδωτικές ουσίες δεν οδήγησαν στα ίδια ευεργετικά αποτελέσματα [39]. Επίσης, η κατανάλωση αντιοξειδωτικών ουσιών στα τρόφιμα [40] και ειδικότερα των ουσιών που βρίσκονται στο κόκκινο κρασί [41,42], βρέθηκε ότι μειώνουν την οξειδωση της LDL λιποπρωτεΐνης, αυξάνοντας το χρόνο που μεσολαβεί μέχρι την οξειδωσή της στον οργανισμό (*lag time*). Τέλος, πολύ σημαντικός μηχανισμός για την ευεργετική δράση των αντιοξειδωτικών ουσιών του κρασιού είναι η ενεργοποίηση της έκκρισης μονοξειδίου του αζώτου (NO) που αποτελεί τον κυριότερο ίσως αγγειοδιασταλτικό παράγοντα. Σε μελέτες *in vivo*, όπου δόθηκε χυμός από σταφύλια σε υγιείς ανθρώπους, παρατηρήθηκε βελτίωση της λειτουργικότητας του ενδοθηλίου μέσω της αύξησης της διαστολής του (*flow mediated dilatation – FMD*) και αύξησης της έκκρισης NO [15,16,49]. Επίσης, σε

αντίστοιχα πειράματα in vitro όπου χρησιμοποιήθηκαν δακτύλιοι αρτηριών από κουνέλια [43], ή επίμυες [44,45], παρατηρήθηκε ότι η προσθήκη κατάλληλης ποσότητας πολυφαινόλων κρασιού οδήγησε στην αύξηση της έκκρισης NO και για πρώτη φορά αποδεικνύεται πειραματικά ότι η κύρια δράση των ουσιών αυτών είναι η ενεργοποίηση του μηχανισμού έκκρισης NO και όχι η προστασία της διάσπασής του από ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, όπως πιστευόταν στο παρελθόν [45]. Ο τελευταίος αυτός μηχανισμός έχει ιδιαίτερη σημασία διότι σήμερα πλέον θεωρείται ότι το ενδοθήλιο των αγγείων παίζει ένα δυναμικό ρόλο στη στεφανιαία νόσο και η ομαλή λειτουργία ή δυσλειτουργία του αποτελεί ένα σημαντικό δείκτη της έκτασης και της εξέλιξης της αθηρωμάτωσης [46]. Επομένως, όλοι εκείνοι οι παράγοντες που επηρεάζουν την ενδοθηλιακή λειτουργία μας δίνουν σημαντικές πληροφορίες για το σύνολο σχεδόν της νόσου.

Από όλες τις παραπάνω μελέτες γίνεται κατανοητό ότι η μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού προσφέρει ευεργετικά αποτελέσματα ως προς τον κίνδυνο εμφάνισης ή θανάτου από στεφανιαία νόσο, τόσο εξαιτίας του αλκοόλ που περιέχει, όσο και εξαιτίας των διαφόρων αντιοξειδωτικών του ουσιών με διάφορους μηχανισμούς. Όμως, το μεγαλύτερο μέρος των ερευνών εξετάζει τη σχέση κρασιού, αλκοόλ και αντιοξειδωτικών με τη στεφανιαία νόσο είτε με επιδημιολογικές, είτε με προοπτικές, είτε με παρεμβατικές μελέτες μεγάλης διάρκειας. Λίγες είναι οι μελέτες εκείνες που εξετάζουν εάν όλοι οι παραπάνω μηχανισμοί ισχύουν και στην οξεία φάση της κατανάλωσης κρασιού, καθώς υπάρχουν διαφοροποιήσεις της οξείας και της μακροχρόνιας δράσης του κρασιού σε κάποιους παράγοντες, όπως είναι για παράδειγμα οι παράγοντες πήξης [47]. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με την υπόθεση ότι άτομα που καταναλώνουν αλκοόλ περιστασιακά έχουν αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης κάποιου επεισοδίου μέχρι και 12 ώρες μετά από μεγάλη κατανάλωση αλκοόλ [48], κινεί το ενδιαφέρον για τη μελέτη της οξείας επίδρασης τόσο του κρασιού, όσο και των επιμέρους συστατικών του, στο ενδοθήλιο, στα λιπίδια και σε παράγοντες πήξης.

Από τις λίγες μελέτες που έχουν γίνει πάνω στην οξεία δράση του κρασιού, φαίνεται ότι το κρασί μεταγευματικά είτε δεν επηρεάζει [17], είτε βελτιώνει τη διαστολή του ενδοθηλίου [50]. Μόνο δύο είναι μέχρι σήμερα οι έρευνες που μελετούν την οξεία επίδραση των αντιοξειδωτικών ουσιών του

κόκκινου κρασιού [18,19]. Και στις δύο έρευνες φαίνεται ότι τόσο το κόκκινο κρασί με αλκοόλ, όσο και το κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλ βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία μέσω αύξησης του FMD, γεγονός που υποδηλώνει ότι πιθανότατα οι αντιοξειδωτικές ουσίες του κρασιού και όχι η αιθανόλη είναι αυτές που δρουν ευεργετικά στο ενδοθήλιο. Και οι δύο όμως αυτές μελέτες χρησιμοποιούν δείγμα υγιών ανθρώπων, ενώ μέχρι σήμερα καμία μελέτη δεν έχει γίνει σχετικά με τη δράση των πολυφαινολών στα αγγεία σταφνιαίων ασθενών.

Έστερα από όλα αυτά εύλογα προκύπτουν κάποια πολύ σημαντικά ερευνητικά ερωτήματα:

1. ποια είναι η οξεία επίδραση του κρασιού στα λιπίδια, στους παράγοντες πήξης και στο ενδοθήλιο στεφνιαίων ασθενών
2. ποια είναι η οξεία επίδραση των αντιοξειδωτικών ουσιών του κρασιού στα λιπίδια, στους παράγοντες πήξης και στο ενδοθήλιο στεφνιαίων ασθενών
3. διαφέρει η οξεία από τη χρόνια δράση του κρασιού και των πολυφαινολών
4. η επίδραση τόσο του κρασιού, όσο και των αντιοξειδωτικών του, είναι ίδια ή διαφορετική ανάμεσα σε υγιής και σε στεφνιαίους ασθενείς
5. η όποια επίδραση του κρασιού στο αίμα και στο ενδοθήλιο των ασθενών οφείλεται στο αλκοόλ ή στα επιμέρους συστατικά του

Έστερα από όλα αυτά γίνεται πλέον κατανοητό ότι είναι πολύ σημαντικός ο σχεδιασμός έρευνας που να ασχολείται με την οξεία δράση του κρασιού και των επιμέρους συστατικών του σε στεφνιαίους ασθενείς, μελετώντας τόσο παράγοντες του αίματος, όσο και παράγοντες και λειτουργία του ενδοθηλίου τους.

Μεθοδολογία

Δείγμα

Στη μελέτη αυτή θα χρησιμοποιηθούν 15 άρρενες ασθενείς της θεραπευτικής κλινικής του Π.Γ.Ν «Αλεξάνδρα», που έχουν διαγνωσμένη στεφανιαία νόσο. Οι ασθενείς αυτοί θα πρέπει να είναι ηλικίας μεταξύ 35 και 70 ετών. Ακόμη θα αποκλείονται από την έρευνα άτομα παχύσαρκα (B.M.I. πάνω από 30kg/m^2), καθώς και καπνιστές με ημερήσια κατανάλωση μεγαλύτερη από 20 τσιγάρα την ημέρα. Επίσης, όσοι συμμετέχουν στη μελέτη θα πρέπει να έχουν ήπια κατανάλωση αλκοόλ, δηλαδή να μην ξεπερνούν τα 30 γραμμάρια αιθανόλης την ημέρα (1-2 ποτήρια κρασί). Από τη μελέτη εξαιρούνται επίσης άτομα που πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη. Τέλος, απορρίπτονται από την έρευνα οι ασθενείς εκείνοι οι οποίοι λαμβάνουν είτε ως μέρος της θεραπείας τους, είτε ως ατομική συνήθεια, αντιοξειδωτικές ουσίες και βιταμίνες με τη μορφή συμπληρωμάτων.

Σχεδιασμός έρευνας

Η επιλογή των ασθενών θα γίνει στο Νοσοκομείο «Αλεξάνδρα», μετά από μελέτη του ιατρικού ιστορικού του ασθενούς και μέτρηση του ύψους και του βάρους τους. Η μελέτη θα πραγματοποιηθεί σε δύο διαφορετικές, διαδοχικές εργαστηριακές ημέρες. Το πρωί της κάθε ημέρας οι ασθενείς θα προσέρχονται στο αγγειολογικό εργαστήριο στις 08.30, μετά από 12 ώρες νηστεία και 12 ώρες αποχή από το κάπνισμα και χωρίς τη λήψη των φαρμάκων τους. Εκεί θα τοποθετείται ενδοφλέβιος καθετήρας από τον οποίο θα ληφθούν 20ml αίματος νηστείας (7,5ml για μέτρηση λιπιδίων και παραγόντων του ενδοθηλίου, 3ml για τη μέτρηση παραγόντων πήξης, 3ml για τη μέτρηση ομοκυστεΐνης και 6ml για τη δημιουργία τράπεζας DNA των συγκεκριμένων ασθενών και περαιτέρω έλεγχο διαφόρων πολυμορφισμών). Επίσης, θα μετρηθεί η αρτηριακή πίεση και θα γίνει υπέρηχος αρτηριών. Στη συνέχεια θα δοθεί στους ασθενείς ένα ποτήρι με 250ml κόκκινου κρασιού ή 250ml κόκκινου κρασιού από το οποίο έχει αφαιρεθεί το αλκοόλ, μαζί με 1 φέτα λευκό ψωμί για τοστ (30γρ) και 30γρ. άπαχο τυρί (cottage cheese με 4% λιπαρά) και τα οποία θα πρέπει να καταναλώνουν σε 10 λεπτά.

Στη συνέχεια θα γίνουν υπέρηχοι αρτηριών, μετρήσεις αρτηριακής πίεσεως και αιμοληψίες (από 15ml η καθεμία) στα 30, 60 και 90 λεπτά μετά τη λήψη του κρασιού. Έτσι, στο τέλος του πειράματος, οι ασθενείς θα έχουν ολοκληρώσει 2 εργαστηριακές ημέρες ο καθένας, από τις οποίες στη μία θα έχουν καταναλώσει κανονικό κόκκινο κρασί και στην άλλη το ίδιο κόκκινο κρασί από το οποίο έχει αφαιρεθεί το αλκοόλ. Η σειρά με την οποία θα δοθούν τα δύο είδη κρασιού θα είναι τυχαία και οι ασθενείς δεν θα γνωρίζουν την ποιότητα του κρασιού που καταναλώνουν κάθε φορά. Επίσης, σε κάθε μία από τις δύο εργαστηριακές ημέρες, θα λαμβάνεται από τους ασθενείς ανάκληση 24ώρου, προκειμένου να προσδιορισθεί εάν διαφοροποιείται κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής του πειράματος η πρόσληψη αντιοξειδωτικών ουσιών από τη διατροφή τους.

Μετρήσεις δειγμάτων αίματος

Σε κάθε μία αιμοληψία λαμβάνονται 7.5 ml αίματος σε μονοβέτες που δεν περιέχουν αντιπηκτική ουσία, από την οποία παραλαμβάνουμε ορό για τη μέτρηση των λιπιδίων και των παραγόντων του ενδοθηλίου, 3 ml σε μονοβέτες που περιέχουν κιτρικό νάτριο ως αντιπηκτικό για την παραλαβή πλάσματος και τον προσδιορισμό παραγόντων πήξης, και 3 ml σε σωληνάρια που περιέχουν EDTA αντιπηκτικό, για την παραλαβή πλάσματος και τον προσδιορισμό ομοκυστεΐνης. Επίσης στην πρώτη αιμοληψία λαμβάνονται και 2 σωληνάρια των 3 ml με EDTA για την μετέπειτα απομόνωση του DNA και τη δημιουργία τράπεζας DNA. Τα σωληνάρια με τα δείγματα αίματος, φυγοκεντρούνται στις 3000 rpm για 10 λεπτά και παραλαμβάνεται ο υπερκείμενος ορός ή πλάσμα, το οποίο στη συνέχεια φυλάσσεται στους -80°C . Από τον προσλαμβανόμενο ορό θα γίνουν προσδιορισμοί της γλυκόζης, της ολικής χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων, των HDL, LDL, των απολιποπρωτεϊνών Apo A I και B, και παραγόντων του ενδοθηλίου (ICAM -1, VCAM-1, E-σελεκτίνη), ενώ από το πλάσμα θα γίνει μέτρηση του ινωδογόνου και της ομοκυστεΐνης.

Υπέρηχοι αγγείων

Από τους υπέρηχους των αρτηριών του δεξιού βραχίονα, θα προσδιορισθεί ο καρδιακός ρυθμός, η ροή του αίματος, η διαστολή του ενδοθηλίου(FMD) και το πάχος του ενδοθηλίου(IMT) τόσο κατά την ηρεμία, όσο

και μετά την υπεραιμία. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή [51], ο ασθενής ξαπλώνει ακίνητος και γίνονται όλες οι βασικές μετρήσεις του υπέρηχου των αγγείων (καρδιακός ρυθμός, αιματική ροή, βασική διάμετρος αγγείου και πάχος ενδοθηλίου) στην ηρεμία. Στη συνέχεια, γίνεται μία ειδική περιόδεση στο δεξιό βραχίονα για 3 λεπτά. Μετά την άρση της περιόδεσης όπου προκαλείται υπεραιμία στη βραχιόνια αρτηρία, την οποία μελετάμε, επαναλαμβάνονται οι μετρήσεις του καρδιακού ρυθμού, την αιματικής ροής και της διαμέτρου του αγγείου) και καταγράφονται οι διαφοροποιήσεις ηρεμίας και υπεραιμίας, οι οποίες είναι χαρακτηριστικές για την ενδοθηλιακή λειτουργία. Οι μετρήσεις αυτές θα γίνουν με τη βοήθεια ενός υπέρηχου αρτηριών 7MHz, του Acuson 128 XP, Mountain View, California).

Προετοιμασία κρασιού

Η αφαίρεση του αλκοόλ από το κρασί, γίνεται με λυοφιλλίωση. Το κόκκινο κρασί τοποθετείται ανά 125 ml σε ειδικές φιάλες λυοφιλλίωσης στη συσκευή λυοφιλλίωσης Cryodos 45, Telstar, Spain, για 6 ώρες, όπου και γίνεται συμπύκνωση. Μαζί με την απομάκρυνση του νερού γίνεται δυνατή και η απομάκρυνση της αιθανόλης που είναι διαλυμένη σ' αυτό. Μετά την πάροδο των 6 ωρών, το συμπυκνωμένο κρασί που έχει προκύψει, συμπληρώνεται μέχρι τον αρχικό όγκο με εμφιαλωμένο νερό, τοποθετείται σε γυάλινες φιάλες κρασιού και πριν αυτό σφραγισθεί, αφαιρείται ο ατμοσφαιρικός αέρας με την προσθήκη αέριου αζώτου. Στη συνέχεια το λυοφιλλιωμένο αυτό κρασί, το οποίο περιέχει 1 βαθμό αλκοόλης, φυλάσσεται στην κατάψυξη στους -20° C, μέχρι τη χρησιμοποίησή του.

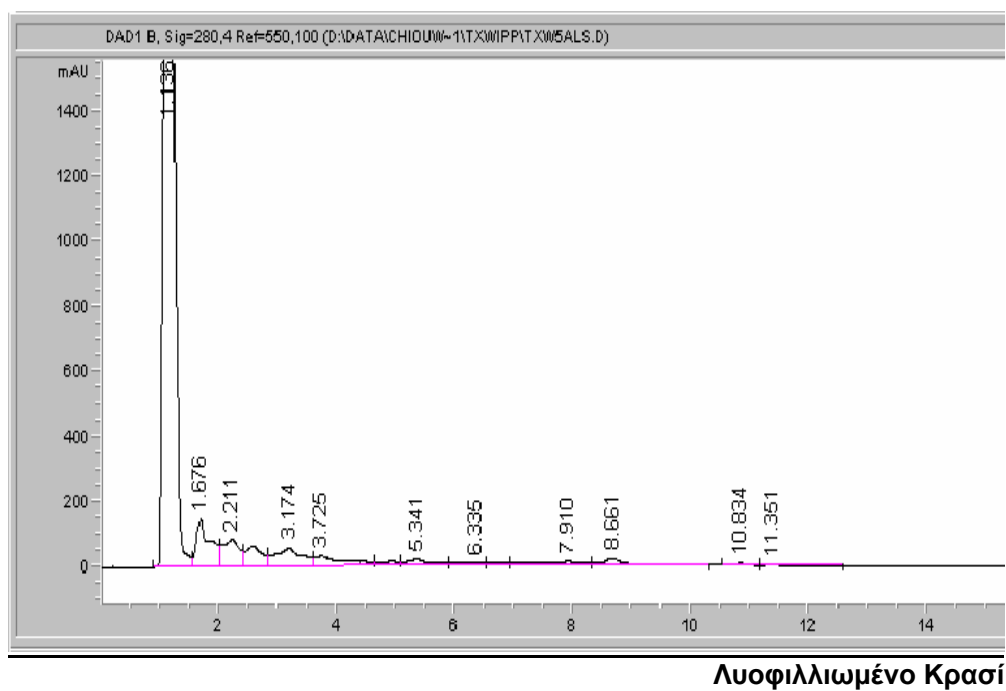
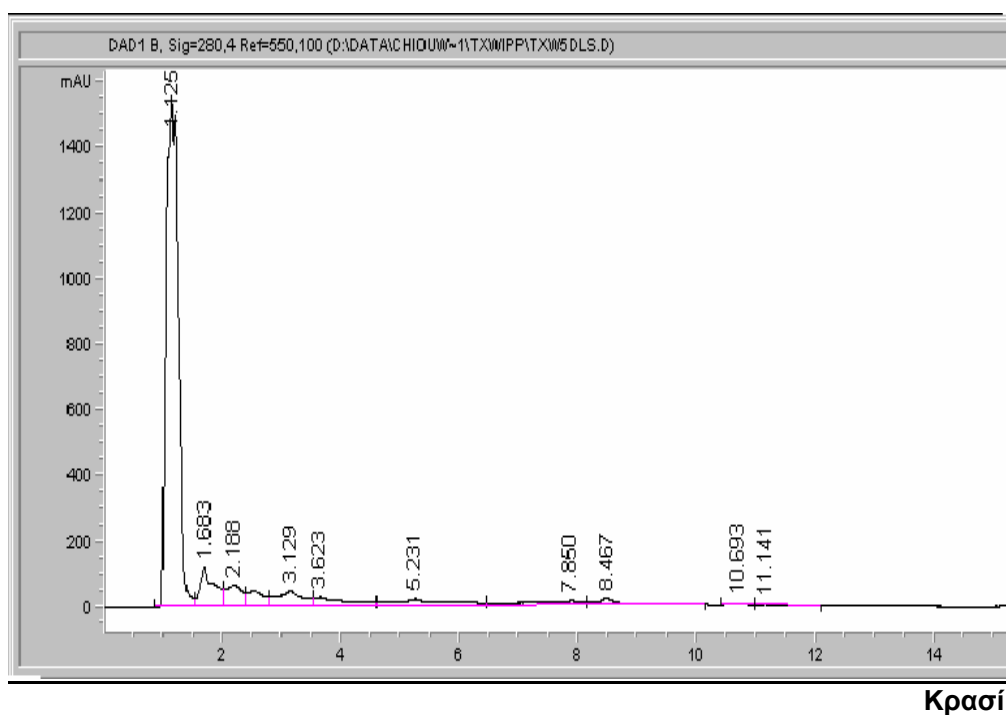
Η περιεκτικότητα τόσο του κρασιού όσο και του κρασιού στο οποίο αφαιρέθηκε το αλκοόλ σε αντιοξειδωτικές ουσίες, μετριέται με τη μέθοδο Folin – Ciocalteau, προκειμένου να διερευνηθεί κατά πόσο διαφέρουν ποσοτικά τα δύο είδη κρασιού σε αντιοξειδωτικές ουσίες. Επίσης, η ποιοτική σύγκριση των δύο κρασιών γίνεται με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) με πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης [52] και με αέρια χρωματογραφία (GC), ώστε να γίνει ταυτοποίηση μεγάλου αριθμού από τις αντιοξειδωτικές ουσίες που περιέχουν και να αναγνωριστούν τυχόν διαφοροποιήσεις ανάμεσα στα δύο είδη κρασιών.

Τέλος με τριγωνικές οργανοληπτικές δοκιμές εξετάζεται η γεύση, το χρώμα και το άρωμα των δύο κρασιών, προκειμένου να διαπιστωθεί εάν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Οι οργανοληπτικές αυτές δοκιμές περιλαμβάνουν δύο κύριες δοκιμασίες. Στην πρώτη, ο εθελοντής καλείται να δοκιμάσει τρία δείγματα κρασιού σε τρία ίδια ποτήρια τα οποία είναι κωδικοποιημένα με τυχαίους κωδικούς και να προσπαθήσει να προσδιορίσει ποια από τα τρία δείγματα μοιάζουν μεταξύ τους. Στη συνέχεια επαναλαμβάνει την ίδια διαδικασία με τρία νέα δείγματα κρασιού. Στα δείγματα αυτά περιέχονται είτε δύο ποτήρια με κρασί και ένα με λυοφιλλιωμένο κρασί, είτε δύο ποτήρια με λυοφιλλιωμένο κρασί και ένα με κανονικό κρασί. Στη δεύτερη δοκιμασία, ο εθελοντής δοκιμάζει δύο δείγματα, ένα κανονικό κρασί και ένα λυοφιλλιωμένο και καλείται να βαθμολογήσει το καθένα με βάση την προτίμησή του, ως προς το χρώμα, το άρωμα και τη γεύση (γλυκό, πικρό, ξινό). Σκοπός αυτών των ελέγχων είναι να φανεί εάν είναι σε θέση ο λήπτης των κρασιών αυτών να ανιχνεύσει την ποιότητα του κρασιού που δοκιμάζει και ιδιαίτερα, εάν είναι σε θέση να ανιχνεύσει την έλλειψη αλκοόλ. Με αυτό τον τρόπο πιστοποιείται ότι η μελέτη που θα πραγματοποιηθεί θα είναι τυφλή για το δείγμα των ασθενών.

Η πρώτη επεξεργασία του κρασιού και η μέτρηση: των αλκοολικών βαθμών μετά τη λυοφιλλίωση, της ολικής συγκέντρωσης πολυφαινόλων (folin – ciocalteu), καθώς και οι τριγωνικές δοκιμασίες έδωσαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

	Κρασί	Κρασί λυοφιλλίωσης
Αλκοολικοί βαθμοί	12% αιθανόλη	1% αιθανόλη
Συνολική συγκέντρωση φαινόλων	658,188 μg / 100ml καφεϊκού οξέος	650,393 μg / 100ml καφεϊκού οξέος
Τριγωνικές δοκιμασίες	19 λανθασμένες / 30 11 σωστές / 30	

Ακόμη, η ανάλυση με HPLC της σύστασης των δύο ειδών κρασιού σε πολυφαινόλες, έδωσε τα παρακάτω υδατογραφήματα, τα οποία είναι ενδεικτικά για το είδος των πολυφαινολών που ανιχνεύονται στα δείγματα αυτά, καθώς και για την ομοιότητα της σύστασής τους μετά την επεξεργασία απομάκρυνσης του αλκοόλ.



Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας θα πραγματοποιηθεί με το στατιστικό πρόγραμμα Minitab, της Minitab Ltd, Inc, U.K. Όλες οι τιμές των διαφόρων μεταβλητών του πειράματος θα μετατραπούν σε λογαρίθμους, προκειμένου να γίνει δυνατή η εξάλειψη των διαφορετικών τιμών εκκίνησης ανάμεσα στους ασθενείς του δείγματος. Με τη βοήθεια των paired – t tests θα γίνει η σύγκριση των τιμών των μεταβλητών στα 30, 60 και 90 λεπτά της δοκιμασίας, με την αρχική τιμή που αντιστοιχεί στη μέτρηση νηστείας. Επίσης, με 2 – sample – t tests θα γίνει η σύγκριση των τιμών των μεταβλητών στις 4 διαφορετικές χρονικές στιγμές του πειράματος, ανάμεσα στις δύο διαφορετικές εργαστηριακές ημέρες. Το επίπεδο σημαντικότητας και στους δύο αυτούς ελέγχους θα είναι το 5% ($p - value < 0,05$). Τέλος, με προσδιορισμό του εμβαδού κάτω από την καμπύλη για κάθε μεταβλητή, θα προσδιοριστεί η επίδραση της ύπαρξης ή μη αλκοόλ στο ποτό του πειράματος, σε κάθε μία από τις μετρούμενες μεταβλητές.

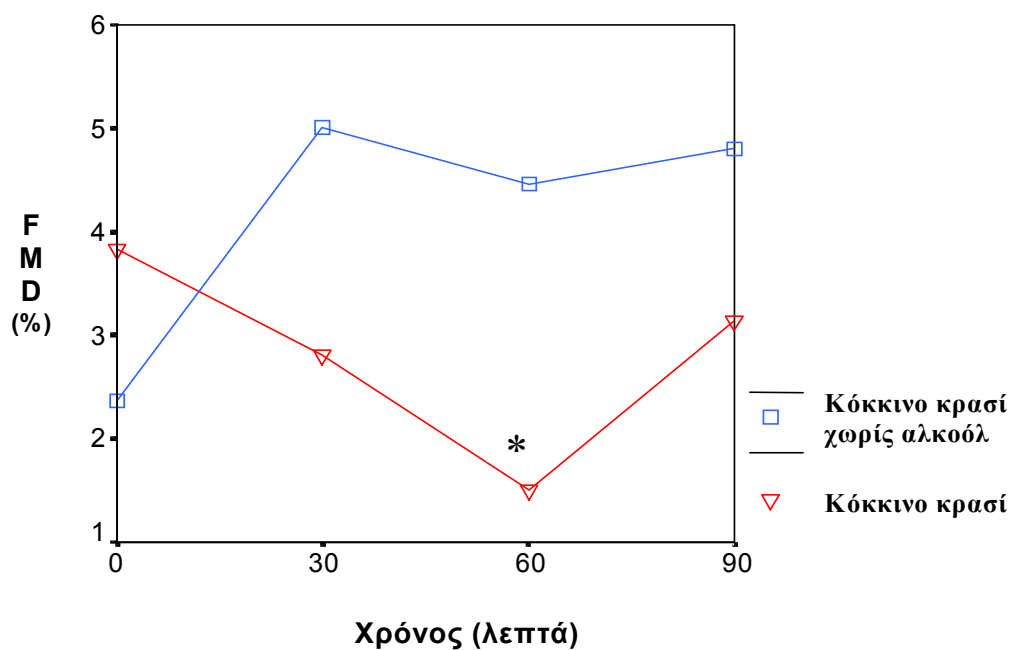
Αποτελέσματα

1. FMD

Η επίδραση του κόκκινου κρασιού με ή χωρίς αλκοόλ στη βασική διάμετρο του αγγείου και στη διάμετρο κατά την υπεραιμία, στην αιματική ροή ηρεμίας και υπεραιμίας και στη διαστολή του αγγείου κατά την υπεραιμία (FMD) παρατίθεται στον πίνακα 1.

Η απόκριση της ενδοθηλιακής λειτουργίας μετά την κατανάλωση του κόκκινου κρασιού και του κόκκινου κρασιού χωρίς αλκοόλ, δίνεται στο σχήμα 1.

Σχήμα 1



*p= 0,015

Πίνακας 1

ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ ΧΩΡΙΣ ΑΛΚΟΟΛ					ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ			
ΧΡΕΤΕΣ	0	30	60	90	0	30	60	90
διάμετρος (mm)	4,6 $\pm$ 0,9	4,8 $\pm$ 0,8	4,7 $\pm$ 0,8	4,7 $\pm$ 0,8	4,6 $\pm$ 0,8	4,9 $\pm$ 0,8†	4,9 $\pm$ 0,8‡	4,9 $\pm$ 0,8
σε α (mm)	4,7 $\pm$ 0,9	5 $\pm$ 0,8	4,9 $\pm$ 0,9	4,9 $\pm$ 0,8	4,7 $\pm$ 0,8	5,1 $\pm$ 0,8	5 $\pm$ 0,8	5 $\pm$ 0,8
αιματική (min ⁻¹)	120,3 $\pm$ 87,9	123,9 $\pm$ 65,5	136,2 $\pm$ 54,7	144,5 $\pm$ 111,7	73,4 $\pm$ 33,9	131,9 $\pm$ 88,2	112,2 $\pm$ 72,9	100,6 $\pm$ 52,8
ροή σε α	213,5 $\pm$ 127,4	275,6 $\pm$ 139,8	193,6 $\pm$ 62,7	288,5 $\pm$ 151,7	223,8 $\pm$ 107,1	265,4 $\pm$ 111,8	278,1 $\pm$ 124,9	296 $\pm$ 145,6
	2,37 $\pm$ 2,27	5 $\pm$ 3,84	4,45 $\pm$ 3,03	4,8 $\pm$ 2,01	3,82 $\pm$ 2,42	2,81 $\pm$ 2,22	1,51 $\pm$ 1,8*	3,14 $\pm$ 2,92

*P= 0,015

†P= 0,037, ‡P= 0,047 σε σχέση με την κατανάλωση κρασιού χωρίς αλκοόλ

Όπως προκύπτει και από τον πίνακα, η κατανάλωση κόκκινου κρασιού έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της βασικής διαμέτρου του αγγείου, η οποία διαρκεί μέχρι και 60 λεπτά μετά την κατανάλωση. Η αύξηση αυτή είναι στατιστικά σημαντική συγκρινόμενη με τις αντίστοιχες τιμές του αγγείου (30 και 60 λεπτά) μετά την πρόσληψη κρασιού χωρίς αλκοόλ ($p=0,037$ και $p=0,047$) και είναι αναμενόμενη, καθώς οφείλεται στη δράση του αλκοόλ και παρατηρείται σε όλες τις αντίστοιχες έρευνες που μελετούν την οξεία δράση του κρασιού. Επίσης, δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στην αιματική ροή υπεραιμίας ανάμεσα στις δύο δοκιμασίες κατανάλωσης κανονικού και μερικά λυοφιλλιωμένου κόκκινου κρασιού. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με το ότι η υπεραιμία προκαλείται τεχνητά, καταδεικνύει ότι η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε επαναλήφθηκε με ακρίβεια στις δύο δοκιμασίες και δεν επηρέασε με τον οποιονδήποτε τρόπο τα αποτελέσματα.

Η απόκριση ύστερα από την κατανάλωση του κάθε κρασιού, είναι στατιστικά σημαντική σε σχέση με τις αρχικές τιμές νηστείας ($p=0,03$ για την κατανάλωση λυοφιλλιωμένου κρασιού και $p=0,011$ για την κατανάλωση κόκκινου κρασιού), γεγονός που υποδεικνύει ότι τόσο οι αντιοξειδωτικές ουσίες, όσο και το οινόπνευμα του κρασιού επηρεάζουν το FMD. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση του κόκκινου κρασιού παρατηρήθηκε μείωση στη διαστολή του αγγείου, η οποία έφτασε σε επίπεδα στατιστικής σημαντικότητας 60 λεπτά μετά την κατανάλωσή του ($p=0,015$).

Η διαφορετική απόκριση της ενδοθηλιακής λειτουργίας στα δύο είδη κρασιού δίνεται και από το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη απόκρισής, στον πίνακα 2, όπου το FMD μετά την κατανάλωση κόκκινου κρασιού διαφέρει στατιστικά σημαντικά από το FMD μετά την κατανάλωση κόκκινου κρασιού χωρίς αλκοόλ ($p=0,01$ στο ολικό εμβαδόν και $p=0,0004$ στο επιμέρους εμβαδόν).

Πίνακας 2

Ολικό και επιμέρους εμβαδόν κάτω από την καμπύλη για όλες τις μεταβλητές μετά την κατανάλωση κόκκινου κρασιού και λυοφιλλιωμένου κόκκινου κρασιού.

	Λυοφιλλιωμένο κόκκινο κρασί		Κόκκινο κρασί	
	Ολικό εμβαδόν	Επιμέρους εμβαδόν	Ολικό εμβαδόν	Επιμέρους εμβαδόν
Ολ.χοληστερόλη (mg/dl*min)	19116±4652	-966±2156	19236±2977	564±2093
Τριγλυκερίδια (mg/dl*min)	14681±6400	-811±3094	16990±7843	593±2977
HDL(mg/dl*min)	3396±1026	-90±392	3458±874	-75±425
LDL(mg/dl*min)	12789±3465	744±1279	12381±2865	-438±1837
Apo A – I (mg/dl*min)	12769±1946	-665±1770	13341±1034	-364±339
ApoB(mg/dl*min)	10780±2053	477±1298	11289±1424	724±3234
Ινωδογόνο (mg/dl*min)	33499±12043	2411±6554*	35000±15761	2828±8624*
FMD (100*min ⁻¹)	392±199†	178±263‡	234±151†	110±147‡

HDL: λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας, LDL: λιποπρωτεΐνη χαμηλής

πυκνότητας, Apo A – I: απολιποπρωτεΐνη A – I, Apo B: απολιποπρωτεΐνη B,

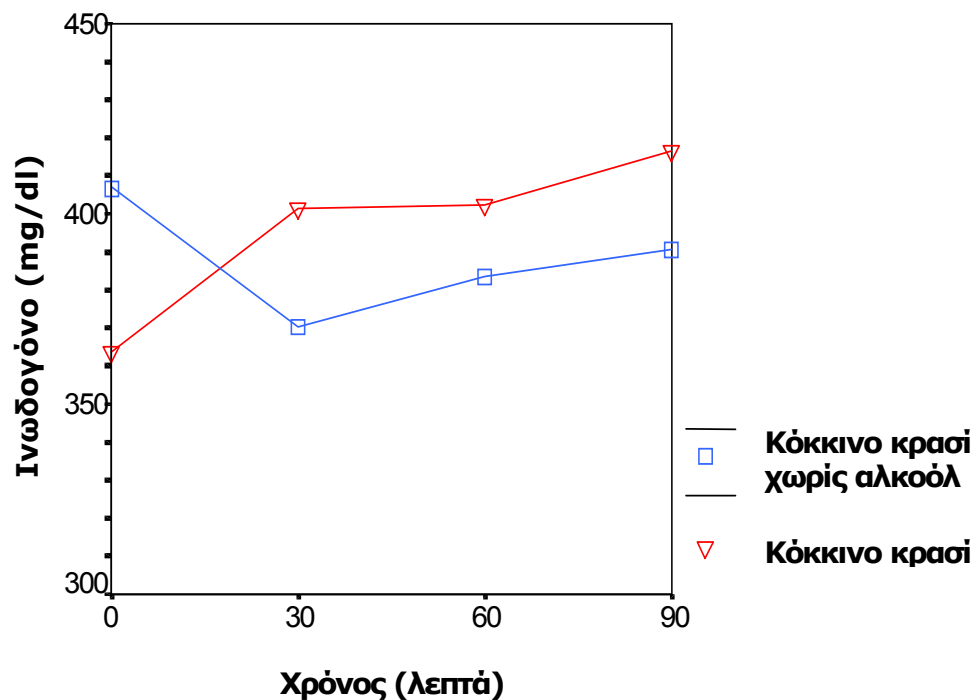
FMD: διαστολή αγγείου στην υπεραιμία

*: p= 0,035, †: p= 0,010, ‡: p= 0,0004

2. Ινωδογόνο

Ανάλογα αποτελέσματα παρατηρούνται και στο ινωδογόνο, όπου η συνολική απόκριση στην κατανάλωση των δύο ειδών κρασιού είναι διαφορετική και παρατίθεται στο σχήμα 2, καθώς μετά την πρόσληψη του κόκκινου κρασιού το ινωδογόνο αυξάνεται, ενώ το λυοφιλλιωμένο κρασί οδηγεί σε μείωσή του.

Σχήμα 2



Επίσης, σύμφωνα με τον πίνακα 2, τα επιμέρους εμβαδά που προκύπτουν από την καμπύλη απόκρισης του ινωδογόνου μετά την κατανάλωση του κόκκινου κρασιού και του λυοφιλλιωμένου κρασιού διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($p=0,035$).

3. Λιπίδια, λιποπρωτεΐνες, απολιποπρωτεΐνες

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές μετά από την κατανάλωση του κόκκινου κρασιού ή του λυοφιλιωμένου κόκκινου κρασιού στα λιπίδια, τις λιποπρωτεΐνες και τις απολιποπρωτεΐνες των ασθενών του δείγματος. Τα αποτελέσματα αυτά φαίνονται στον πίνακα 3 που ακολουθεί.

Πίνακας 3

ΛΥΟΦΙΛΛΙΩΜΕΝΟ ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ					ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ				P
ΠΡΟΣΤΗΤΕΣ	0	30	60	90	0	30	60	90	
Σύνολο	223,1±42,3	222,5±42,2	219,1±40,9	223,9±40,9	230,1±51,6	220,9±45,6	211,4±32,8	210,9±34	NS
Είδος	172,1±69,3	172,7±73,1	169,3±65,8	167,8±73,4	199,1±92,7	197,7±89,5	184,1±87,1	176,7±84,1	NS
ΠΙ)	38,7±10,7	39,9±10,4	39,1±10,2	40,1±11,1	38,7±8,7	38,7±10,0	38,4±9,7	38,1±10,2	NS
ΠΙ)	150,4±33,6	147,9±33,5	146,1±30,1	150,3±33,2	151,5±49,2	142,6±40,9	136,3±31,6	137,5±30,1	NS
A-I	149,3±11,7	150,5±12,5	145,5±14,5	147,7±13,5	149,5±10,9	150,3±11,2	147,2±12,1	146,6±12,9	NS
ΠΙ/dl)	125,1±14,7	127,1±16,7	122,5±17,6	125,4±13,5	133,3±39,5	123,5±15,4	124,4±17,2	123,4±19,4	NS

399±154	366,9±111	377,8±148,7	390,6±136,8	357,5±105,1	391,4±202,3	393,2±194,7	406,7±222	NS
---------	-----------	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------	-----------	----

DL: λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας, LDL: λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας, Apo A – I: απολιποπρωτεΐνη A – I, Apo B: απολιποπρωτεΐνη B

Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη η οξεία κατανάλωση κόκκινου κρασιού από ασθενείς που πάσχουν από στεφανιαία νόσο, οδήγησε στην επιδείνωση της ενδοθηλιακής τους λειτουργίας και κατά συνέπεια σε παροδική μείωση του FMD. Από την άλλη πλευρά, όταν οι ίδιοι ασθενείς κατανάλωσαν το ίδιο κόκκινο κρασί από το οποίο είχε αφαιρεθεί το αλκοόλ, σημειώθηκε αύξηση του FMD στην οξεία φάση, γεγονός που φανερώνει βελτίωση της ενδοθηλιακής τους λειτουργίας.

Τα συμπεράσματα που προκύπτουν από τα παραπάνω αποτελέσματα είναι ιδιαίτερα σημαντικά, καθώς φαίνεται ότι η γνωστή ευεργετική δράση του κόκκινου κρασιού, είναι πιθανό να οφείλεται στην πληθώρα των αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχει και όχι στο αλκοόλ. Μάλιστα, είναι πιθανό ότι η ύπαρξη αλκοόλ μπορεί να εμποδίζει με κάποιο μηχανισμό τη δράση των αντιοξειδωτικών, γεγονός που θα μπορούσε να εξηγεί την επιδείνωση του FMD μετά από την κατανάλωση του κόκκινου κρασιού. Η επίδραση του αλκοόλ στην βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών του κρασιού είναι ένα ερώτημα χωρίς σαφή απάντηση, καθώς κάποιες έρευνες θεωρούν ότι η αιθανόλη βοηθά στην καλύτερη διαλυτοποίηση των αντιοξειδωτικών ουσιών και στην καλύτερη απορρόφησή τους [41,53], ενώ άλλες συμπεραίνουν ότι η αιθανόλη μειώνει την απορρόφησή τους [54,55,33]. Τα αποτελέσματά της παρούσας έρευνας έρχονται σε συμφωνία με τη δεύτερη ομάδα ερευνών, καθώς η ύπαρξη αιθανόλης και πολυφαινολών στο ίδιο ποτό οδήγησε σε μείωση της δράσης τους και μάλιστα τα αποτελέσματα στο αγγείο ήταν δυσμενή συγκριτικά με τη δράση των αντιοξειδωτικών ουσιών του κρασιού χωρίς την ύπαρξη αλκοόλ.

Ένα ακόμη συμπέρασμα που προκύπτει είναι το γεγονός ότι στους στεφανιαίους ασθενείς είναι πιθανό να διαφοροποιείται ή οξεία από τη χρόνια δράση του κόκκινου κρασιού και των συστατικών του στην ενδοθηλιακή λειτουργία. Πιο συγκεκριμένα, είναι γνωστό ότι η καθημερινή κατανάλωση 1-2 ποτηριών κόκκινου κρασιού οδηγεί σε βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας [19,49]. Φαίνεται όμως ότι η οξεία δράση του κόκκινου κρασιού διαφέρει από

τη χρόνια στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο, καθώς όπως φαίνεται το κόκκινο κρασί στην οξεία φάση οδηγεί σε μια παροδική μείωση του FMD.

Από την άλλη πλευρά η βελτίωση της λειτουργικότητας του ενδοθηλίου μετά από την κατανάλωση του λυοφιλιωμένου κόκκινου κρασιού, έρχεται σε συμφωνία με αρκετές *in vitro* μελέτες σε δακτυλίους αρτηριών [43-45]. Σύμφωνα με τις έρευνες αυτές συγκεκριμένες αντιοξειδωτικές ουσίες του κρασιού (ρεσβερατρόλη και κουερσετίνη), οδηγούν το ενδοθήλιο σε έκκριση NO και κατά συνέπεια σε διαστολή του. Το κόκκινο κρασί που χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη ήταν πλούσιο σε αυτές τις ουσίες, οι οποίες διατηρήθηκαν σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις και μετά την απομάκρυνση της αιθανόλης. Επομένως είναι πιθανό ότι οι ουσίες αυτές στο λυοφιλιωμένο κρασί έδρασαν αμέσως μετά την πρόσληψη του κρασιού στο ενδοθήλιο και προκάλεσαν τη βελτίωση της λειτουργίας του.

Από την άλλη πλευρά, στην περίπτωση του ινωδογόνου, η κατανάλωση του κόκκινου κρασιού οδήγησε σε αύξηση των επιπέδων του, ενώ όταν από το κρασί αυτό αφαιρέθηκε η αιθανόλη, η πρόσληψή του προκάλεσε τη μείωσή του. Τα αποτελέσματα αυτά συνηγορούν στην υπόθεση ότι η ευεργετική δράση του κόκκινου κρασιού σε οξεία φάση και σε δείγμα στεφανιαίων ασθενών, είναι πιθανό να οφείλεται κυρίως στις αντιοξειδωτικές του ουσίες και όχι στο αλκοόλ.

Επίσης, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων επιβεβαιώνει ως ένα βαθμό την υπόθεση ότι το αλκοόλ είναι πιθανό να επηρεάζει αρνητικά την ευεργετική δράση των αντιοξειδωτικών ουσιών, καθώς και στην περίπτωση του ινωδογόνου, η ύπαρξη αλκοόλ στο ίδιο ποτό με τις πολυφαινόλες ανέτρεψε τη δράση τους. Παράλληλα, είναι φανερό το γεγονός ότι στους στεφανιαίους ασθενείς διαφέρει η οξεία από τη χρόνια επίδραση του κόκκινου κρασιού ως προς τα επίπεδα του ινωδογόνου. Είναι γνωστό ότι η καθημερινή κατανάλωση κόκκινου κρασιού οδηγεί σε μείωση των επιπέδων του ινωδογόνου [28,30]. Αντίθετα, στην παρούσα έρευνα, η οξεία δράση του κόκκινου κρασιού προκάλεσε την αύξηση του ινωδογόνου, γεγονός που κάνει σαφή την ανάγκη σχεδιασμού νέων ερευνών που να μελετούν αυτή τη διάσταση ανάμεσα στην οξεία και τη χρόνια επίδρασή του.

Συμπερασματικά, μπορεί να παρατηρήσει κανείς ότι παρά το γεγονός ότι είναι ερευνητικά αποδεδειγμένη η ευεργετική δράση του κόκκινου κρασιού

μετά από συστηματική κατανάλωση 1-2 ποτηριών κάθε ημέρα, η επίδρασή του σε οξεία φάση προκάλεσε αρνητικά αποτελέσματα σε στεφανιαίους ασθενείς αυξάνοντας το ινωδογόνο και μειώνοντας το FMD. Είναι φανερό ότι οι μεταβολές αυτές αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης κάποιου οξέος στεφανιαίου συνδρόμου αμέσως μετά την κατανάλωση 2 ποτηριών κόκκινου κρασιού.

Η κατανάλωση μεγάλης ποσότητας κρασιού ή άλλων αλκοολούχων ποτών σε μία ημέρα και όχι η κατανάλωση μικρότερων ποσοτήτων σε καθημερινή βάση, είναι ένα φαινόμενο που συνηθίζουν αρκετοί στεφανιαίοι ασθενείς οι οποίοι συχνά παρερμηνεύουν τις οδηγίες για την ευεργετική χρήση του κόκκινου κρασιού. Όμως, αν δεχτούμε τα αποτελέσματα την παρούσας έρευνας, γίνεται εύκολα αντιληπτό το γεγονός ότι αμέσως μετά από μεγάλη κατανάλωση του κρασιού και για τουλάχιστον 2 ώρες, πιθανότατα αυξάνεται ο κίνδυνος εμφάνισης κάποιου οξέος στεφανιαίου συνδρόμου, φαινόμενο το οποίο έχει περιγραφεί και σε παλαιότερες μελέτες [47-48] .

Τέλος, γίνεται φανερό ότι είναι απαραίτητο να ακολουθήσουν και άλλες έρευνες που να εξετάζουν την οξεία δράση του κόκκινου κρασιού και άλλων αλκοολούχων ποτών σε στεφανιαίους ασθενείς και να συγκρίνουν την οξεία με τη χρόνια δράση τους, προκειμένου να προκύψουν χρήσιμα συμπεράσματα σχετικά με την ποσότητα και το ρυθμό κατανάλωσης ποτών από ασθενείς με στεφανιαία νόσο.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Flesch M., Rosenkranz S., Erdmann E., Böhm M. Alcohol and the risk of myocardial infarction. *Basic Res Cardiol*, 2001; 96: 128-135.
2. de Lorimier A. Alcohol, wine and health. *Am J Surg*, 2000; 180: 357-361.
3. Salovainen MJ., Kesäniemi YA. Effects of alcohol on lipoproteins in relation to coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol*, 1995; 6: 243-50.
4. Foppa M., Fuchs F., Duncan B. Alcohol and Atherosclerosis. *Arq Bras Cardiol*, 2001; 76(2): 171-6.
5. Flesch M., Schwarz A., Böhm M. Effects of red wine on endothelium-dependent vasorelaxation of rat aorta and human coronary arteries. *Am J Physiol*, 1998; 275(44): H1183-H1190.
6. Hertog MGL, Kromhout D., Aravanis C., Blackburn H., Buzina R., Finanza F., Giampaoli S., Jansen A., Menotti A., Nedeljkovic S., Pekkarinen M., Simic BS., Toshima H., Feskens E., Hollman CH., Katan MB. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the Seven Countries Study. *Arch Intern Med*, 1995; 155: 381-386.
7. Knekt P., Järvisen R., Reunanen A., Maatela J. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *BMJ*, 1996; 312: 478-481.
8. Rimm EB., Katan MB., Ascherio A., Stampfer MJ., Willett WC. Relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals. *Ann Intern Med*, 1996; 125: 384-389.
9. Hertog M., Feskens E., Kromhout D. Antioxidant flavonols and coronary heart disease risk. *Lancet*, 1997; 349-369.
10. Russo P., Tedesco I., Russo M., Venezia A., Cicala C. Effects of de-alcoholated red wine and its phenolic fractions on platelet aggregation. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2001; 11(1): 25-9.
11. Giugliano D. Dietary antioxidants for cardiovascular prevention. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2000; 10(1): 38-44.
12. Katsuya I., Masao Y., Masayoshi H., Seungbun K., Masato E., Junya A., Yi-Qiang L., Noriko S., Kazuaki H., Koichi N., Kenji T., Yasuyoshi Q. Red

- wine polyphenols inhibit proliferation of vascular smooth muscle cells and downregulate expression of cyclin A gene. *Circulation*, 2000; 101: 805-811.
13. Pendurthi U., Williams T., Vijaya M. Resveratrol, a polyphenolic compound found in wine, inhibits tissue factor expression in vascular cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999; 19: 419-426.
 14. Diebolt M., Bucher B., Andriantsitohaina R. Wine polyphenols decrease blood pressure, improves vasodilation and induce gene expression. *Hypertension*, 2001; 38(2): 159-65.
 15. Freedman J., Parker C., Li L., Perlman J., Frei B., Ivanov V., Deak L., Iafrafi M., Folts J. Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibit platelet function and enhance nitric oxide release. *Circulation*, 2001; 103: 2792-2798.
 16. Stein J., Keevil J., Wiebe D., Aeschlimann S., Folts J. Purple grape juice improves endothelial function and reduces the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 1999; 100: 1050-1055.
 17. Djousse L., Ellison C., McLennan C., Cupples L., Lipinska I., Tofler G., Gokce N., Vita J. Acute effects of a high-fat meal with and without red wine on endothelial function in healthy subjects. *Am J Cardiol*, 1999; 84: 660-665.
 18. Agewall S., Wright S., Doughty R., Whalley G., Duxbury M., Sharpe N. Does a glass of wine improve endothelial function? *Eur Heart J*, 2000; 21: 74-78.
 19. Masayoshi H, Seungbum K, Masato E, Katsuya L, Junya A, Masao Y, Masahiro A, Kazuo K, Hiroshige I, Kazyaki H, Kanji T, Yasuyoshi O. Effect of acute intake of red wine on Flow Mediated Vasodilation of the brachial artery. *Am J Cardiol*, 2001; 88: 1457 – 59.
 20. Daluz P, Coimbra S. Alcohol and atherosclerosis. *An Acad Bras Ci*, 2001;73(1): 51-55.
 21. Goldberg I, Mosca L, Piano M, Fisher E. Wine and your heart. *Circulation*, 2001;103: 472-475.
 22. Marmot M, Brunner E. Alcohol and cardiovascular disease: the status of the U shaped curve. *BMJ*, 1991; 303: 565-568.

23. Criqui M, Ringel B. Does diet of alcohol explain the French paradox? *Lancet*, 1994; 344: 1719-23.
24. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*, 1992; 339: 1523-26.
25. Frohlich J. Effects of alcohol on plasma lipoprotein metabolism. *Clinica Chimica Acta*, 1996; 246: 39-49.
26. Pikaar N, Wedel M, van der Beek E, van Dokkum W, Kempen H, Kluit C, Ockhuizen T, Hermus R. Effects of moderate alcohol consumption on platelet aggregation, fibrinolysis, and blood lipids. *Metabolism*, 1987; 36(6): 538-543.
27. Mukamal K, Jadhav P, D'Agostino R, Massaro J, Mittleman M, Lipinska I, Sutherland P, Matheney T, Levy P, Wilson P, Ellison C, Silbershatz H, Muller J, Tofler G. Alcohol consumption and haemostatic factors. Analysis of the Framingham offspring cohort. *Circulation*, 2001; 104: 1367-1373.
28. Marquez – Vidal P, Montaye M, Haas B, Bingham A, Evans A, Juhan – Vague I, Ferrieres J, Luc G, Ammouyel P, Arveiler D, Yarnell J, Ruidavets J, Scabarin P, Ducimetiere P. Relationships between beverage and cardiovascular risk factor levels in middle – aged men, the PRIME study. *Atherosclerosis*, 2001; 157: 431-440.
29. Mennen L, Balkau B, Vol S, Caces E, Eschwege E. Fibrinogen. A possible link between alcohol consumption and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999; 19: 887-892.
30. Lee A, Flanagan A, Rumley F, Fowkes G, Lowe G. Relationship between alcohol intake and tissue plasminogen activator antigen and other haemostatic factors in the general population. *Fibrinolysis*, 1995; 8: 49-54.
31. Nanji A, French S. Alcoholic beverages and coronary heart disease. *Atherosclerosis*, 1986; 60: 197-198.
32. Renaud S, Gueguen R, Gerard S, Salamon R. Wine, beer, and mortality in middle – aged men from eastern France. *Arch Intern Med*, 1999; 159: 1865-1870.

33. Soleas G, Diamandis E, Goldberg D. Wine as a biological fluid: history, production and role in disease prevention. *Journal of Laboratory Analysis*, 1997; 11: 287-313.
34. Rimm E, Williams P, Fosher K, Criqui M, Stampfer M. Moderate alcohol intake and lower risk of coronary heart disease: meta – analysis of effects on lipids and haemostatic factors. *BMJ*. 1999; 319: 1523-8.
35. Hertog M, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F, Giampaoli S, jansen A, Menotti A, Nedeljkovic S, Pekkarinen M, Simic B, Toshima H, Feskens E, Hollman P, Katan M. Flavonoid intake and long term risk of coronary heart disease and cancer in the Seven Countries Study. *Arch Intern Med*, 1995; 155: 381-386.
36. Rimm E, Katan M, Ascherio A, Stampfer M, Willett W. Relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals. *Ann Intern Med*, 1996; 125: 384-389.
37. Vinson J, Teufel K, Wu N. Red wine, dealcoholized red wine and especially grape juice inhibit atherosclerosis in a hamster model. *Atherosclerosis*, 2001; 156: 67-72.
38. Pace – Asciak C, Hahn S, Diamandis E, Soleas G, Goldberg D. The red wine phenolics trans – resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: Implication for protection against coronary heart disease. *Clinica Chimica Acta*, 1995; 235: 207-219.
39. Keevil G, Osman H, Reed J, Folts J. Grape juice, but not orange juice or grapefruit juice inhibits human platelet aggregation. *J Nutr*, 2000; 130: 53-56.
40. de Whalley C, Rankin S, Hoult R, Jessup W, Leake D. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochemical Pharmacology*, 1990; 39(11): 1743-1750.
41. Ngdigar S, Wolliams N, Grffin B, Howard A. Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low – density lipoproteins to oxidation. *Am J Clin Nutr*, 1998; 68: 258-65.
42. Frankel E, Kanner J, German J, Parks E, Kinsella J. Inhibition of oxidation of human low – density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet*, 1993; 341: 454-57.

43. Burns J, Gardner P, O' Neil J, Crawford S, Morecroft I, McPhail D, Lister C, Matthews D, Maclean M, Lean M, Duthie G, Grozier. Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity, and phenolic content of red wines. *J Agric Chem*, 2000; 48: 220-230.
44. Fitzpatrick D, Hirschfield S, Goffrey R. Endothelium – dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am J Physiol*, 1993; 265: H774-H778.
45. Andriambeloson E, Kleschyov A, Muller B, Beretz A, Stoclet J, Andriantsitohaina R. Nitric oxide production and endothelium – dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta. *British J Pharmacol*, 1997; 120: 1053-1058.
46. Endothelial dysfunction plays dynamic role in coronary artery disease. *JAMA*, 1990; 263(6): 789-790.
47. van de Wiel A, van Golde P, Kraaijenhagen R, von dem Borne P, Bouma B, Hart H. Acute inhibitory effect of alcohol on fibrinolysis. *Eur J Clin Invest*, 2001; 31(2): 164-170.
48. Hendricks H, Veenstra J, Velthuis E, Shaafsma G, Kluft C. Effect of moderate dose of alcohol with evening meal on fibrinolytic factors. *BMJ*, 1994; 308:1003-1006.
49. Chou E, Keevil J, Aeschlimann S, Wiebe D, Folts J, Stein J. Effect of ingestion of purple grape juice on endothelial function in patients with coronary heart disease. *Am J Cardiol*, 2001; 88(1): 553-555.
50. Cuevas A, Guasch V, Castillo O, Irribarra V, Mizon C, San Martin A, Strobel P, Perez D, Germain A, Leighton F. A high fat diet induces and red wine counteracts endothelial dysfunction in human volunteers. *Lipids*, 2000; 35: 143-148.
51. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-1115
52. Andrikopoulos N, Brueschweiler H, Taeschler C. Analysis of phenolic antioxidants, tocopherols and triglycerides. *J Am Oil Chem Soc*, 1991; 68: 359.

53. Serafini M, Maiami G, Ferro – Luzzi A. Effect of ethanol on red wine tannin – protein (BSA) interactions. J Agric Food Chem, 1997; 45: 3148 – 3151.
54. Hollman P. Bioavailability of flavonoids. European Journal of Clinical Nutrition, 1997; 51(suppl 1): S66 – S69.
55. Bravo L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. Nutrition Reviews, 1998: 317 – 333.

Παράρτημα

Στοιχεία Ασθενούς

Ημερομηνία: _____

Επώνυμο: _____ Όνομα: _____

Τηλέφωνο: _____

Ηλικία: _____ Ύψος: _____ Βάρος: _____

B.M.I.: _____ Επίπεδο δραστηριότητας: _____

Οικογενειακό ιστορικό:

Παράγοντες κινδύνου:

	ΝΑΙ	ΟΧΙ
Υπέρταση	☐	☐
Υπερλιπιδαιμία	☐	☐
Κάπνισμα	☐	☐
Διαβήτης	☐	☐

Καταναλώνετε αλκοόλ; Πόσο; _____

Καρδιαγγειακές νόσοι:

	ΝΑΙ	ΟΧΙ
Έμφραγμα του μυοκαρδίου	☐	☐
Στηθάγχη	☐	☐
Παροδικό Ισχαιμικό Επεισόδιο	☐	☐
Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο	☐	☐
Διαλείπουσα χωλότητα	☐	☐

Φαρμακευτική Αγωγή:

B – αναστολείς

Διουρητικά

Ανταγωνιστές Ca

Νιτρώδη

A – MEA

Αντιαιμοπεταλιακά

Υπολιπιδαιμικά χάπια

Βιταμίνες/Αντιοξειδωτικά

Ημερομηνία:

_____ [Δοκιμασία: _____]

	Νηστεία	30'	60'	90'
Γλυκόζη (mg/dl)				
TC (mg/dl)				
TG (mg/dl)				
HDL – C (mg/dl)				
LDL – C (mg/dl)				
Apo A I (mg/dl)				
Apo B (mg/dl)				
Ινωδογόνο(mg/dl)				

Ημερομηνία:

_____ [Δοκιμασία: _____]

	Νηστεία	30'	60'	90'
Γλυκόζη (mg/dl)				
TC (mg/dl)				
TG (mg/dl)				
HDL – C (mg/dl)				
LDL – C (mg/dl)				
Apo A I (mg/dl)				
Apo B (mg/dl)				
Ινωδογόνο(mg/dl)				

Ημερομηνία: _____ [Δοκιμασία:
_____]

ΝΗΣΤΕΙΑ		30'		60'		90'		NTG
B. TAV	H. TAV	B. TAV	H. TAV	B. TAV	H. TAV	B. TAV	H. TAV	N. TAV
B. diam	H. diam	B. diam	H. diam	B. diam	H. diam	B. diam	H. diam	N. diam
B. flow	H. flow	B. flow	H. flow	B. flow	H. flow	B. flow	H. flow	N. flow
B. HR	H. HR	B. HR	H. HR	B. HR	H. HR	B. HR	H. HR	N. HR
B. BP	H. BP	B. BP	H. BP	B. BP	H. BP	B. BP	H. BP	N. BP

Ημερομηνία: _____ [Δοκιμασία:
_____]

ΝΗΣΤΕΙΑ		30'		60'		90'		NTG
B. TAV	H. TAV	B. TAV	H. TAV	B. TAV	H. TAV	B. TAV	H. TAV	N. TAV
B. diam	H. diam	B. diam	H. diam	B. diam	H. diam	B. diam	H. diam	N. diam
B. flow	H. flow	B. flow	H. flow	B. flow	H. flow	B. flow	H. flow	N. flow
B. HR	H. HR	B. HR	H. HR	B. HR	H. HR	B. HR	H. HR	N. HR
B. BP	H. BP	B. BP	H. BP	B. BP	H. BP	B. BP	H. BP	N. BP

IMT :

RCCA:

RCB:

RICA:

RFA:

ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ :

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ:

ΕΠΙΠΕΔΟ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ:

ΗΛΙΚΙΑ:

ΥΨΟΣ:

ΗΜΕΡΟΜ.										
ΒΑΡΟΣ										
ΛΙΠΟΣ										

ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

ΙΑΤΡΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

Γνωστές ασθένειες ή διαταραχές :

Φάρμακα που λαμβάνονται ή συμπληρώματα διατροφής :

ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

Τρόφιμα που δεν καταναλώνονται καθόλου :

Τρόφιμα που συνήθως προτιμώνται :

Αλλεργίες σε τρόφιμα :

ΤΡΟΦΙΜΑ ΠΟΥ ΚΑΤΑΝΑΛΩΘΗΚΑΝ ΤΟ 24ωρο

ΩΡΑ	ΤΡΟΦΙΜΟ	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ :

.....

.....

.....

.....

.....

Dealcoholized red wine improves endothelial function and decreases fibrinogen levels of patients with coronary artery disease

Kalliopi Karatzi MSc, Christos Papamichael MD*, Konstantinos Aznaouridis MD*,
Emmanouil Karatzis MD*, John Lekakis MD*, Charis Matsouka MD*, George Boskou
PhD, Antonia Chiou PhD, Marietta Sitara MSc, Feliou Giorgia Bsc, Dimitrios
Kontoyiannis MD*, Antonis Zampelas PhD, Myron Mavrikakis MD*

Comment [MK1]: Ονομα
πατρός

Comment [MK2]: Ονομα
πατρός

Department of Nutrition and Dietetics, Harokopio University, Athens, Greece.

*Department of Clinical Therapeutics, Alexandra University Hospital, Athens,
Greece.

Address for correspondence :

Papamichael Christos MD

Department of Clinical Therapeutics, Alexandra University Hospital, Athens, Greece.
Xanthipou 3, Cholargos, 15561, Athens, Greece

Tel + 3 210 6536409

Fax + 3 210 7770473

e-mail popikaratzi@yahoo.com

Abstract

Background Several epidemiological and prospective studies have suggested that moderate alcohol consumption reduces the risk of cardiovascular disease. Red wine is thought to have a beneficial effect among other alcoholic beverages, probably because of its high concentration of phenolic substances. Although long-term effect of moderate consumption of red wine is well investigated, there is little knowledge upon the acute effect of red wine or its antioxidant constituents on endothelial function and haemostatic factors, especially in patients with coronary artery disease.

Methods and Results Fifteen male adults with angiographically documented CAD ingested 250 ml of red wine or 250 ml of dealcoholized red wine on two different days, in a cross – over design. Blood samples were collected for further analysis of fibrinogen and blood lipid levels and flow mediated dilation (FMD) was determined before consumption of each beverage and at the following 30, 60 and 90 minutes. FMD was significantly higher following ingestion of dealcoholized red wine, than drinking red wine containing alcohol ($p=0.0004$). Fibrinogen levels were increased following red wine ingestion, and decreased following dealcoholized red wine consumption ($p=0.035$). Blood lipid levels were unaltered.

Conclusions Acute ingestion of red wine without alcohol caused an improvement in FMD and a decrease in fibrinogen levels in CAD patients. On the other hand, alcohol containing red wine decreased FMD and increased fibrinogen levels. The acute effect of red wine on endothelial function may be different than its long-term effect and it could be attributed to its antioxidant substances, rather than its alcohol content.

Key words: endothelial function, FMD, red wine, antioxidants, coronary artery disease

Introduction

Results from epidemiological studies have shown that alcohol is related with death from all causes with a U – shaped curve [1,2]. The shape of the curve is mainly due to low death rate from coronary heart disease among moderate drinkers [3]. Several epidemiological studies have concluded that consumption of 20 – 30 gr of alcohol per day has a beneficial effect on CAD [4,5]. Although there is no clear evidence that one type of alcoholic beverage is more protective than another [6-7], there are numerous studies suggesting that red wine shows a stronger inverse correlation with CAD [8-9]. Polyphenols which are important components of red wine, reduce the risk of CAD by several mechanisms, including reduced LDL susceptibility to oxidation [10], reduced platelet aggregation [11-13], increased fibrinolytic activity [14] and increased vasorelaxing activity by increased nitric oxide (NO) production [12, 15-18].

Several studies, investigating the long – term effects of wine and its constituents on endothelial function, showed that there is a significant improvement of flow – mediated dilation (FMD), after regular consumption [19 - 20]. These data are in accordance with *in vitro* studies, which showed that in the acute phase, red wine polyphenols quercetin and tannic acid, cause vasorelaxation in aortic rings [15-18]. However, there is little knowledge regarding the acute effects of red wine or its constituents *in vivo*. Only two studies [21,22] have tested the acute effect of red wine and dealcoholized red wine in healthy subjects, and both suggested that there is a remarkable increase in FMD after ingestion of 500 ml or 250 ml of dealcoholized red wine respectively. These findings suggest that some antioxidant substances are responsible for the improvement in endothelial function of healthy subjects after red wine consumption.

In addition, wine consumption is associated with low fibrinogen levels [14]. However, a significant decrease in fibrinolytic activity has been observed directly after alcohol intake [23-24], which may partly explain the increased incidence of myocardial infarction even 12 hours after alcohol ingestion [24]. These observations suggest that there might be a differential effect of alcohol acutely, compared with its long-term consumption.

Since there are no studies investigating the acute effect of red wine and its antioxidant constituents, on endothelial function and fibrinogen levels in patients with CAD, the purpose of this study is to assess the acute effects of red wine and dealcoholized red wine, on the above parameters in patients with CAD.

Methods

Subjects

Fifteen male subjects, with angiographically documented CAD, who were admitted at the Department of Clinical Therapeutics, “Alexandra” University Hospital, Athens, Greece, were recruited for the study. Their average age was 52.4 ± 9.74 years and their BMI was average 28.33 kg/m^2 (Table 1). Patients with diabetes mellitus, and those who were taking antioxidant vitamin supplementation, were excluded from the study. Their alcohol use was in accordance with the recommendations (20-30 gr alcohol/day) and all participants were smoking 2-10 cigarettes per day. All patients gave their informed consent before entering the study.

Experimental protocol

The study protocol was double – blinded, cross - over and comprised of two study days. On the first day, patients were instructed to attend at the Vascular Laboratory of Alexandra Hospital, after a 12 hour fast. No cigarette smoking and no

medication were allowed 12 hours prior to the study. After the initial blood sample collection and ultrasound measurement, subjects were randomly allocated to drink either a glass of 250 ml of red wine, or 250 ml of dealcoholized red wine and to consume 1 slice of white bread (30 gr) and 30 gr of cottage – cheese (4% fat) for 15 minutes. Blood samples collection and ultrasound measurements were repeated 30, 60 and 90 minutes following the meal. The second day an identical set of measurements were repeated for each subject according to the study protocol, except that the subjects who at the first examination had to drink dealcoholized red wine, received red wine with alcohol and *vice versa*. All patients were allowed to consume the typical hospital diet, according to their condition. They were encouraged not to change their diet and 24 – hour recalls were reviewed to assure dietary compliance. The study design was approved by the Local Scientific Committee.

Blood sample collection

Blood samples were collected for determination of serum total cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol, LDL cholesterol, apolipoproteins A – I and B and plasma fibrinogen. Aliquots of blood were collected at each time point. From each blood sample, 3 ml were aliquoted in a vacutainer, containing NC as a coagulant, for plasma collection and fibrinogen determination and 7.5 ml in another vacutainer for serum separation. The blood samples were centrifuged 30 minutes after collection, at 3,500 rpm for 10 minutes using a bench centrifuge. The obtained serum, or plasma was further aliquoted and stored at -80°C for further analysis.

Flow mediated dilatation measurement

FMD was assessed to all patients by B-Mode high resolution ultrasound imaging (Acuson 128xp, California, USA). The method to examine endothelial function has been described previously [25]. Each patient proceeded in a quiet room with a temperature controlled at 20-25⁰C. After resting in supine position for 10 minutes, a 7.0 MHz linear array transducer was used to obtain measurements from the right brachial artery in a specific anatomic point. Diameter of the artery was measured at end-diastole, using electronic calipers, by two independent observers who were unaware of the study phase. After resting measure, a cuff fitted 8cm distal to the brachial artery and near the wrist [26] was inflated at 250-300mmHg, altering arterial flow for 4 minutes. Then it was deflated increasing arterial flow (reactive hyperemia). Brachial artery was scanned continuously for 90 sec after cuff deflation. All this procedure was repeated 30, 60 and 90 min after ingestion of either dealcoholized or containing alcohol red wine after randomization in two different days. FMD was countered as the percent change of artery's diameter (endothelial dependent vasodilation). 10 minutes after the last scan a second resting scan was recorded. Afterwards, 0.4 mg of glyceryle trinitrate was administered sublingually 4 min later, a last scan was performed in order to measure endothelial independent vasodilation.

Measurement of lipid and fibrinogen levels

Total cholesterol was measured using a cholesterol oxidase and a cholesterol esterase enzymic procedure [27-28]. Serum triglyceride levels were measured using lipoprotein lipase enzymic procedure, and HDL was determined directly with an enzymic colorimetric method that incorporated cholesterol oxidase and cholesterol esterase. Finally, apolipoproteins A – I and B were measured using a turbidimetric

method. All determinations were carried out using an ALCYON 300/300i Analyser, Abbott, USA, and standard reagents (Abbott, USA). LDL-C concentration was calculated through the Friedwald formula: $LDL-C = T-C - (triglycerides/5) - HDL-C$. Fibrinogen was measured using a Coatron II Analyzer, Biotechnology, Greece, with a thrombin induced enzymic method and a standard reagent, Teclot Fib (w. Kaolin), of TECO Medical Instruments, Germany.

Wine preparation

A 12% alcoholic degree red wine (Grand Reserve 1996, Boutaris, Greece) was used in the experiment. Dealcoholized red wine, containing less than 1% of alcohol, was prepared with lyophilization of the red wine at -50°C and at 1 mb pressure for 6 hours, using Cryodos 45 (Telstar, Spain). The concentrated red wine ($\pm 50\%$) was then diluted with tap water until it reached the initial volume. The concentration of total antioxidants in experiment's wine, was estimated by the Folin – Ciocalteu procedure, using a UVIKON, spectrophotometer, 931, Kontron Instruments (Milan, Italy) and expressing results as micrograms of caffeic acid per 100 milliliter. A Hewlett – Packard Model 1050 UV-DAD/FLD with Autosampler (California, USA), and a Hewlett – Packard Model 6890 with MS detector and Autosampler (California, USA), was used for High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) [29] and Gas Chromatography (GC/MSD) respectively, for the determination of specific antioxidants in red wine with and without alcohol. Finally, duo – trio tests and a hedonic scale was used for organoleptic examination in order to test whether dealcoholized red wine could be well – accepted by the subjects who would consume it, and whether it could be recognized compared with regular red wine.

Statistical Analysis

Data are expressed as mean $\pm$ SD, in the text, figures and tables. Data, which were not normally distributed, were transformed in log units. Analysis of variance for repeated measures was used to evaluate changes, by the two different red wine beverages, for fasting and postprandial conditions. Total areas under the response curves (TAUC) and incremental areas under the curves (IAUC) were also used for evaluation of the variables' response to red wine and dealcoholized red wine consumption. The comparisons of TAUCs and IAUCs for the two beverages took place, using Students paired t – test. A value of $p < 0.05$ was regarded as statistically significant. All statistical analyses were performed using statistical software SPSS 10 for Windows.

Results

All patients completed the study without any dissatisfaction and no acute alcohol related problems.

The phenol content of the original red wine and red wine after alcohol extraction was similar (658 μ g/ 100ml of caffeic acid vs 650 μ g/ 100ml of caffeic acid respectively). In addition, the polyphenol profiles of the two beverages, according to HPLC and GC analysis, was very similar. Finally, from the duo - trio test evaluation 12 out of 15 panelists could not distinguish beverages. The hedonic scale evaluation, showed no significant difference of color, flavor and taste (sweet, bitter and sour) between the two wines.

The effect of the two beverages on FMD over time was significantly different ($p=0.006$), according to analysis of variance for repeated measures. FMD showed a significant improvement following dealcoholized red wine ingestion ($p=0.03$). On the

other hand, when red wine containing alcohol was consumed, an increase in the basal artery diameter was observed (Table 2) due to alcohol content, and at the same time, a decline of FMD ($p=0.011$) was also noticed. Impairment of FMD reached statistical significance 60 minutes after wine ingestion ($p=0.015$) (Figure 1). The total and the incremental areas under the curves for FMD were statistically different (Table 3), with $p=0.01$ and $p=0.0004$ respectively. Endothelial independent vasodilation was not statistically significant different following the two wines ingestion.

Acute red wine consumption was associated with increased fibrinogen levels, while red wine without alcohol, caused a reduction in plasma fibrinogen concentration. Comparison of incremental area under the response curves, reached statistical significance ($p=0.035$) (Figure 2).

Total cholesterol, triglyceride levels, HDL, LDL, apo A – I, and apo B concentration, were unaltered following ingestion of both wines (Table 4).

Discussion

In the present study, acute consumption of dealcoholized red wine caused a significant improvement in FMD and a significant reduction of fibrinogen levels. On the other hand, acute ingestion of red wine containing alcohol caused a significant impairment of endothelial function and a significant elevation of fibrinogen levels. This is the first study to test the acute effect of red wine and its phenolic constituents in CAD patients, and it is in accordance with previous *in vivo* experiments in healthy individuals [21,22], that attribute red wine's beneficial effects on its antioxidant substances. Improvement of FMD after dealcoholized red wine consumption is in accordance with most *in vitro* and *in vivo* studies. There are several *in vitro* experiments in rat aortic rings [16,18] and in human vascular cells [12,15,17], showing that acute response to red wine polyphenols, leads to an increased secretion

of nitric oxide (NO) with a subsequent vasorelaxation. In addition, our results confirm previous *in vivo* studies, where there was a beneficial short-term effect of dealcoholized red wine on endothelial function, in healthy subjects [21,22]. In the present study, acute consumption of dealcoholized red wine may be hypothesized that it leads to absorption of polyphenols, and subsequently an increase in NO production and an improvement of FMD.

On the other hand, red wine ingestion (12% alcohol) caused a quite opposite effect. There was no improvement in endothelial function, and 60 minutes after consumption there was a significant decrease in FMD. The basal brachial diameter increased after red wine consumption. Therefore it is likely that FMD showed a smaller value than it would ordinarily have. However, these findings are not in accordance with previous *in vivo* studies [21,22], where there was a delayed improvement of FMD and at the same time a significant increase in basal brachial diameter was reported as well. The main difference between these studies and ours is that we examined the acute effect of red wine in patients with CAD with impaired endothelial function instead of healthy individuals. It is also very important the fact that we used a high-risk group of subjects and therefore, we continued our measurements 90 minutes following the meal. FMD showed a rebound at the last measurement (90 minutes) and it is possible that FMD would improve at a later stage [21].

Red wine contains alcohol, as well as polyphenols. In the present study it was observed that wine polyphenols improve FMD, but in the presence of polyphenols and alcohol at the same beverage, impairment in FMD was noticed. Our findings suggest that somehow alcohol impairs polyphenol action, for at least 90 minutes after consumption. A possible explanation for this phenomenon is polyphenol

bioavailability. There are controversial results regarding polyphenol absorption: on the one hand, there are studies suggesting that alcohol in red wine improves their bioavailability reducing tannic acid precipitation [32,33], and on the other hand there is consideration that alcohol impairs polyphenol absorption [34 – 36].

Several epidemiological studies [37,38] have concluded that long term alcohol consumption is associated with decreased fibrinogen concentration in the general population, with an optimal consumption reaching 7 – 21 drinks per week [30]. This beneficial effect is correlated with alcoholic beverages, as well as with antioxidant substances found in some drinks, especially in red wine. Both *in vitro* and *ex vivo* studies [14,31] concluded that alcohol causes an increase in plasminogen and tissue plasminogen activator levels, while red wine phenolics (resveratrol) inhibit expression of tissue factor, with a direct decrease in thrombus formation. Interestingly, the short term effect of alcohol on fibrinogen is not always in accordance with its well established long term regular consumption. Experimental studies looking at the acute effect of alcohol on fibrinolysis, showed either no significant change, or a significant reduction [23,24]. According to these studies, consumption of 40 gr of alcohol causes impairment in fibrinolysis, which persists 5 hours post ingestion. This means that although long term drinking may increase fibrinolysis, acute alcohol consumption reduces fibrinolysis and increases the risk of developing an acute coronary syndrome. In the present study, red wine containing alcohol and dealcoholized red wine had a quite different effect. The alcohol-containing beverage increased fibrinogen levels, which is in accordance with the previous *in vivo* studies in healthy individuals [23-24]. On the other hand, wine polyphenols decreased fibrinogen concentration, which partly reduces the risk of a CAD event. These observations suggest that alcohol may inhibit the favorable effect of polyphenols on fibrinogen. In previous studies [23-24],

it was observed that fibrinolysis initially decrease in the postprandial state and then returns to baseline levels approximately 5 hours following red wine consumption. However, 13 hours postprandially, fibrinolysis was found to be higher than the fasting levels. This mechanism may partly explain the different long and short term effect of wine consumption.

More research is necessary to study the mechanisms by which alcohol impairs polyphenol favorable action, and much attention should be given to the increased risk of a CAD patient immediately after red wine consumption, which is a common and rather significant part of his therapy, considering the fact that peripheral circulation that we assessed in the present study is closely related with endothelial function in the coronary arteries [39].

In conclusion, our results indicate that there is an improvement in FMD and a reduction in fibrinogen levels following dealcoholized red wine ingestion and quite the opposite effect after red wine containing alcohol. These findings suggest, that there is a significant differentiation between short and long term effect of red wine and between acute response of healthy individuals and CAD patients in red wine consumption. Finally, we can speculate that much of the red wine beneficial acute effects can be attributed to its antioxidant substances and not solely to its alcohol content.

Acknowledgements

We would like to thank Boutaris Ltd, Greece for the provision of the red wine.

References

1. Flesch M., Rosenkranz S., Erdmann E., Böhm M. Alcohol and the risk of myocardial infarction. *Basic Res Cardiol*, 2001; 96: 128-135.
2. de Lorimier A. Alcohol, wine and health. *Am J Surg*, 2000; 180: 357-361.
3. Marmot M, Brunner E. Alcohol and cardiovascular disease: the status of the U shaped curve. *BMJ*, 1991; 303: 565-568.
4. Daluz P, Coimbra S. Alcohol and atherosclerosis. *An Acad Bras Ci*, 2001;73(1): 51-55.
5. Goldberg I, Mosca L, Piano M, Fisher E. Wine and your heart. *Circulation*, 2001;103: 472-475.
6. Renaud S, Gueguen R, Gerard S, Salamon R. Wine, beer, and mortality in middle – aged men from eastern France. *Arch Intern Med*, 1999; 159: 1865-1870.
7. Rimm E, Klatsky A, Grobbee D, Stampfer M. Review of moderate alcohol consumption and reduced risk of coronary heart disease: is the effect due to beer, wine, or spirits? *BMJ*, 1996; 312: 731 – 736.
8. Nanji A, French S. Alcoholic beverages and coronary heart disease. *Atherosclerosis*, 1986; 60: 197-198.
9. Truelsen T, Gronbaek M, Schnohr P, Boysen G. Intake of beer, wine and spirits and risk of stroke. The Copenhagen City Heart Study. *Stroke*, 1998; 29: 2467 – 2472.
10. Frankel E, Kanner J, German J, Parks E, Kinsella J. Inhibition of oxidation of human low – density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet*, 1993; 341: 454-57.

11. Keevil G, Osman H, Reed J, Folts J. Grape juice, but not orange juice or grapefruit juice inhibits human platelet aggregation. *J Nutr*, 2000; 130: 53-56.
12. Freedman J., Parker C., Li L., Perlman J., Frei B., Ivanov V., Deak L., Iafrazi M., Folts J. Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibit platelet function and enhance nitric oxide release. *Circulation*, 2001; 103: 2792-2798.
13. Pace – Asciak C, Hahn S, Diamandis E, Soleas G, Goldberg D. The red wine phenolics trans – resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: Implication for protection against coronary heart disease. *Clinica Chimica Acta*, 1995; 235: 207-219.
14. Pendurthi U., Williams T., Vijaya M. Resveratrol, a polyphenolic compound found in wine, inhibits tissue factor expression in vascular cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999; 19: 419-426.
15. Leikert J, Rathel T, Wohlfart P. Red wine polyphenols enhance endothelial nitric oxide synthase expression and subsequent nitric oxide release from endothelial cells. *Circulation*, 2002; 106: 1614 – 1617.
16. Andriambeloson E, Kleschyov A, Muller B, Beretz A, Stoclet J, Andriantsitohaina R. Nitric oxide production and endothelium – dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta. *British J Pharmacol*, 1997; 120: 1053-1058.
17. Man – Yin Chan M, Mattiacci J, Hwang H, Shah A. Synergy between ethanol and grape polyphenols quercetin and resveratrol in the inhibition of the inducible nitric oxide synthase pathway. *Biochemical Pharmacology*, 2000; 60: 1539 – 1548.
18. Wollny T, Aiello L, di Tommaso D, Bellavia V, Rotilio D, Donati M – B, de Gaetano G, Lacoviello L. Modulation of haemostatic function and prevention of

- experimental thrombosis by red wine in rats: a role for increased nitric oxide production. *British Journal of Pharmacology*, 1999; 127: 747 – 755.
19. Stein J., Keevil J., Wiebe D., Aeschlimann S., Folts J. Purple grape juice improves endothelial function and reduces the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 1999; 100: 1050-1055.
 20. Chou E, Keevil J, Aeschlimann S, Wiebe D, Folts J, Stein J. Effect of ingestion of purple grape juice on endothelial function in patients with coronary heart disease. *Am J Cardiol*, 2001; 88(1): 553-555.
 21. Masayoshi H, Seungbum K, Masato E, Katsuya L, Junya A, Masao Y, Masahiro A, Kazuo K, Hiroshige I, Kazyaki H, Kanji T, Yasuyoshi O. Effect of acute intake of red wine on Flow Mediated Vasodilation of the brachial artery. *Am J Cardiol*, 2001; 88: 1457 – 59.
 22. Agewall S., Wright S., Doughty R., Whalley G., Duxbury M., Sharpe N. Does a glass of wine improve endothelial function? *Eur Heart J*, 2000; 21: 74-78.
 23. van de Wiel A, van Golde P, Kraaijenhagen R, von dem Borne P, Bouma B, Hart H. Acute inhibitory effect of alcohol on fibrinolysis. *Eur J Clin Invest*, 2001; 31(2): 164-170.
 24. Hendricks H, Veenstra J, Velthuis E, Shaafsma G, Kluft C. Effect of moderate dose of alcohol with evening meal on fibrinolytic factors. *BMJ*, 1994; 308:1003-1006.
 25. Celermajer DS., Sorensen KE., Gooch VM. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*, 1992; 340: 1111-15.

26. Anderson EA., Mark AL. Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans. *Circulation*, 1989; 79: 93-100.
27. Allain C, Poon L, Chan C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem*, 1974; 20: 470 – 5.
28. Roeschlau P, Bernt E, Gruber W. Enzymatic determination of total cholesterol in serum. *Clin Chem Clin Biochem*, 1974; 12: 226 – 229.
29. Andrikopoulos N, Brueschweiler H, Taeschler C. Analysis of phenolic antioxidants, tocopherols and triglycerides. *J Am Oil Chem Soc*, 1991; 68: 359.
30. Mukamal K, Jadhav P, D' Agostino R, Massaro J, Mittleman M, Lipinska I, Sutherland P, Matheney T, Levy P, Wilson P, Ellison C, Silbershatz H, Muller J, Tofler G. Alcohol consumption and haemostatic factors. Analysis of the Framingham offspring cohort. *Circulation*, 2001; 104: 1367-1373.
31. Pikaar N, Wedel M, van der Beek E, van Dokkum W, Kempen H, Kluft C, Ockhuizen T, Hermus R. Effects of moderate alcohol consumption on platelet aggregation, fibrinolysis, and blood lipids. *Metabolism*, 1987; 36(6): 538-543.
32. Serafini M, Maiami G, Ferro – Luzzi A. Effect of ethanol on red wine tannin – protein (BSA) interactions. *J Agric Food Chem*, 1997; 45: 3148 – 3151.
33. Ngdigar S, Wolliams N, Grffin B. Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low – density lipoproteins to oxidation. *Am J Clin Nutr*, 1998; 68: 258-65.
34. Hollman P. Bioavailability of flavonoids. *European Journal of Clinical Nutrition*, 1997; 51(suppl 1): S66 – S69.
35. Bravo L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 1998: 317 – 333.

36. Soleas G, Diamandis E, Goldberg D. Wine as a biological fluid: history, production and role in disease prevention. *Journal of Laboratory Analysis*, 1997; 11: 287-313.
37. Lee A, Flanagan A, Rumley F, Fowkes G, Lowe G. Relationship between alcohol intake and tissue plasminogen activator antigen and other haemostatic factors in the general population. *Fibrinolysis*, 1995; 8: 49-54.
38. Mennen L, Balkau B, Vol S, Caces E, Eschwege E. Fibrinogen. A possible link between alcohol consumption and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999; 19: 887-892.
39. Anderson T, Uehata A, Gerhard M, Meredith T, Knab S, Delagrange D, Lieberman E, Ganz P, Creager M, Yeung A. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol*, 1995; 26(5): 1235 – 1241.

Figure Legends

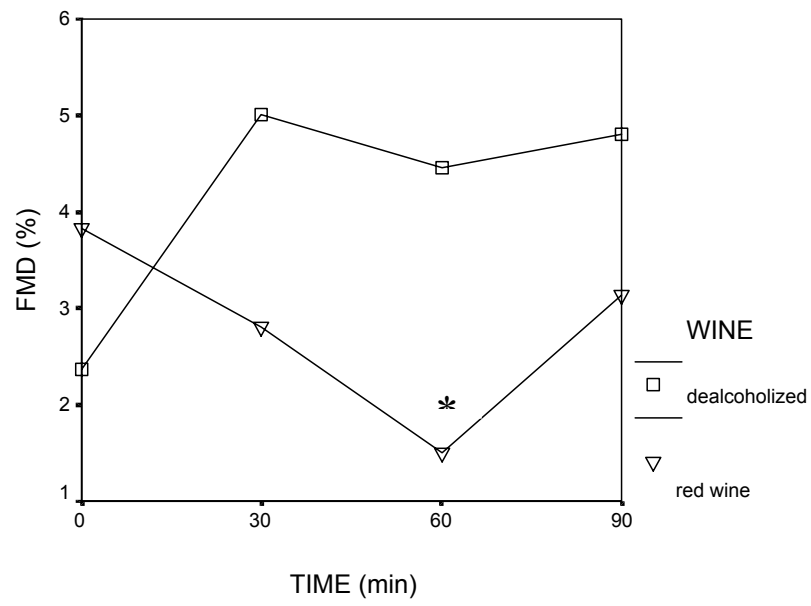
Figure 1

Effect of red wine and dealcoholized red wine on flow – mediated dialation among 15 CAD patients

Figure 2

Effect of red wine and dealcoholized red wine on fibrinogen among 15 CAD patients.

Figure 1



* $p=0,015$

Figure 2

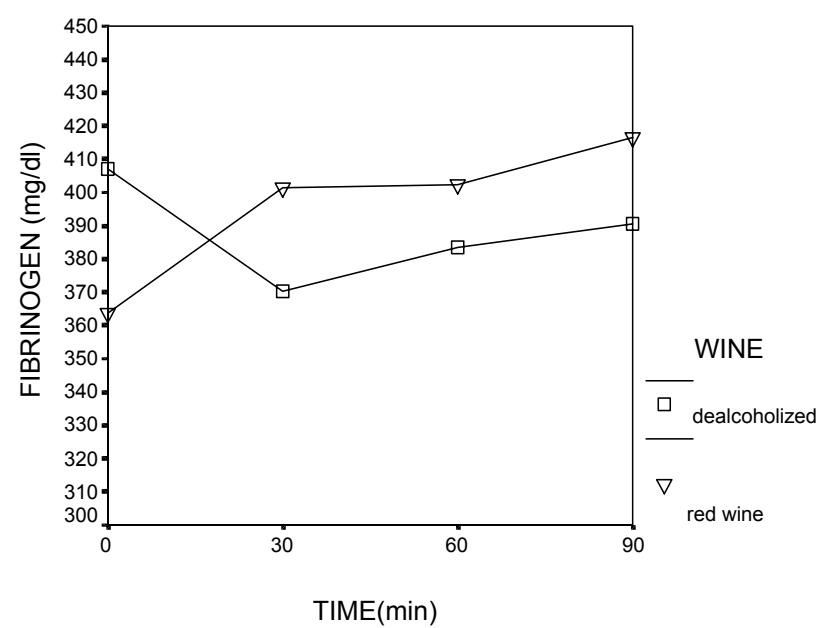


Table 1

Baseline characteristics of study participants (n = 15)

	MEAN $\pm$ ST. DEVIATION
AGE (years)	52.4 $\pm$ 9,7
BMI (kg/m ²)	28.3 $\pm$ 1,8
CHOLESTEROL (mg/dl)	223.1 $\pm$ 42.3
TRIGLYCERIDES (mg/dl)	172.1 $\pm$ 69.3
HDL (mg/dl)	38.7 $\pm$ 10.8
LDL (mg/dl)	150.4 $\pm$ 33.7
FMD (%)	2.37 $\pm$ 2.3
FIBRINOGEN (mg/dl)	399 $\pm$ 154

BMI: body mass index, HDL: high density lipoprotein, LDL: low density lipoprotein

Table 2
Effect of red wine and dealcoholized red wine on vessel diameter, blood flow and FMD.

DEALCOHOLIZED RED WINE						RED WINE				
Variables			0	30	60	90	0	30	60	90
baseline	vessel		4.6±0.9	4.8±0.8	4.7±0.8	4.7±0.8	4.6±0.8	4.9±0.8†	4.9±0.8‡	4.9±0.8
diameter (mm)										
baseline	diameter	in	4.7±0.9	5±0.8	4.9±0.9	4.9±0.8	4.7±0.8	5.1±0.8	5±0.8	5±0.8
hyperemia (mm)										
baseline	blood	flow	120.3±87.9	123.9±65.5	136.2±54.7	144.5±111.7	73.4±33.9	131.9±88.2	112.2±72.9	100.6±52.8
ml.min ⁻¹)										
baseline	blood	flow	213.5±127.4	275.6±139.8	193.6±62.7	288.5±151.7	223.8±107.1	265.4±111.8	278.1±124.9	296±145.6

peremia (ml.min ⁻¹)								
MD (%)	2.37±2.3	5±3.8	4.45±3.0	4.8±2.0	3.82±2.4	2.81±2.2	1.51±1.8*	3.14±2.9

*P= 0,015

†P= 0,037, ‡P= 0,047 vs dealcoholized red wine consumption

Table 3

Total and incremental areas under the curve (TAUC and IAUC respectively), of all variables after consumption of red wine and dealcoholized red wine.

	Dealcoholized red wine		Red wine	
	TAUC	IAUC	TAUC	IAUC
Total	19116±4652	-966±2156	19236±2977	-564±2093
Cholesterol				
Triglycerides	14681±6399	-811±3094	16989±7843	-593±2977
HDL	3396±1026	-90±392	3457±874	-75±425
LDL	12789±3465	-744±1279	12381±2865	-437±1837
Apo A – I	12769±1946	-665±177	13341±1034	-364±339
Apo B	10778±2052	-477±1298	11289±1424	-724±3234
Fibrinogen	33499±12043	-2411±6554*	35000±15761	2828±8624*
FMD	392±198†	178±263‡	234±151†	-110±147‡

HDL: high density lipoprotein, LDL: low density lipoprotein, Apo A – I:

apolipoprotein A – I, Apo B: apolipoprotein B, FMD: flow mediated dilation.

*: p= 0,035, †: p= 0,010, ‡: p= 0,0004

wine and dealcoholized red wine on blood lipids, lipoproteins, apolipoproteins, fibrinogen and FMD of 15 CAD patients.

	DEALCOHOLIZED RED WINE				RED WINE				
	0	30	60	90	0	30	60	90	P
erol (mg/dl)	223.1±42.3	222.5±42.2	219.1±40.9	223.9±40.9	230.1±51.6	220.9±45.6	211.4±32.8	210.9±34	NS
(mg/dl)	172.1±69.3	172.7±73.1	169.3±65.8	167.8±73.4	199.1±92.7	197.7±89.5	184.1±87.1	176.7±84.1	NS
	38.7±10.7	39.9±10.4	39.1±10.2	40.1±11.1	38.7±8.7	38.7±10.0	38.4±9.7	38.1±10.2	NS
	150.4±33.6	147.9±33.5	146.1±30.1	150.3±33.2	151.5±49.2	142.6±40.9	136.3±31.6	137.5±30.1	NS
g/dl)	149.3±11.7	150.5±12.5	145.5±14.5	147.7±13,5	149.5±10.9	150.3±11.2	147.2±12.1	146.6±12.9	NS

) (dl)	125.1±14.7	127.1±16.7	122.5±17.6	125.4±13.5	133.3±39.5	123.5±15.4	124.4±17.2	123.4±19.4	NS
	399±154	366.9±111	377.8±148.7	390.6±136.8	357.5±105.1	391.4±202.3	393.2±194.7	406.7±222	NS
	2.37±2.3	5.01±3.8	4.45±3.0	4.80±2.0	3.83±2.4	2.81±2.2	1.51±1.8*	3.14±2.9	0.006

density lipoprotein, LDL: low density lipoprotein, Apo A – I: apolipoprotein A – I, Apo B: apolipoprotein B, FMD: flow mediated dilation.

