



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ –
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ - ΔΙΑΤΡΟΦΗ»
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ «ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ



ΕΠΙΜΕΛΕΙΑ

ΝΤΖΟΥΒΑΝΗ ΑΓΑΘΗ

ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΟΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΟΛΟΓΟΣ

A.M. 427812

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΝΟΜΙΚΟΣ ΤΖΩΡΤΖΗΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ), ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΥ ΣΜΑΡΑΓΔΗ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

ΜΑΝΙΟΣ ΓΙΑΝΝΗΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΑΘΗΝΑ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2009

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ – ΔΙΑΤΡΟΦΗ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΤΙΤΛΟΣ

**«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ
ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ
ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΣΕ ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΕΠΙ
ΤΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΛΥΣΟ – ΡΑΦ
ΑΚΕΤΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗ ΤΩΝ ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΩΝ»**

ΑΘΗΝΑ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2009

Read not to contradict and confute; nor to believe
and take for granted; nor to find talk and discourse;
but to weigh and consider.....Reading makes a full
man; conference a ready man; and writing an exact
man...

– Francis Bacon (1561 – 1626)

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Βιοχημείας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου την περίοδο 2008 – 2009, στο πλαίσιο του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Εφαρμοσμένη Διαιτολογία – Διατροφή». Επιβλέπων καθηγητής ήταν ο Επίκουρος Καθηγητής κ. Νομικός Τζώρτζης, τον οποίο θα ήθελα να ευχαριστήσω για τη βοήθεια που μου παρείχε ως προς το θεωρητικό πλαίσιο για την κατανόηση του θέματος μελέτης μου, καθώς και για τις πρακτικές οδηγίες και συμβουλές που συνέβαλαν στην επιτυχή εκπλήρωση των εργαστηριακών μου υποχρεώσεων. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω δύο αξιόλογους ερευνητές με τους οποίους είχα την τύχη να συνεργαστώ κατά τη διάρκεια διεξαγωγής μέρους της πειραματικής διαδικασίας στο Τμήμα Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ). Πρόκειται για τους Βλαχογιάννη Ιωάννα, Διαιτολόγο – Διατροφολόγο, υποψήφια διδάκτορα του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και τον Σταματάκη Γεώργιο, Χημικό, υποψήφιο διδάκτορα του Τμήματος Χημείας του ΕΚΠΑ. Ακόμη, θα επιθυμούσα να ευχαριστήσω τη Ντετοπούλου Βίβιαν και την Πετρογιάννη Μαρία, Διαιτολόγους – Διατροφολόγους, υποψήφιες διδάκτορες του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, για την παροχή των ερευνητικών δεδομένων, απαραίτητων για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους προαναφερθέντες για το χρόνο που αφιέρωσαν από το πρόγραμμά τους. Τέλος, δε θα πρέπει να παραλείψω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στους σημαντικότερους ανθρώπους της ζωής μου, τους γονείς μου, υπό το άγρυπνο βλέμμα και τη συνεχή καθοδήγηση των οποίων διαμόρφωσα τις αξίες και τα ιδανικά μου ώστε να επιζητώ την ολοκλήρωσή μου ως άνθρωπος και με την υλική συνεισφορά των οποίων κατόρθωσα να σπουδάσω ώστε να καταστώ χρήσιμο μέλος της κοινωνίας.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

	Σελ.
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	10
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	16
ABSTRACT	17
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	18
ΚΥΡΙΟ ΜΕΡΟΣ	20
ΕΝΟΤΗΤΑ 1	
Φλεγμονή, αθηροσκλήρυνση και κλινικές συνέπειες.....	20
1.1. ΦΛΕΓΜΟΝΗ.....	20
1.2. ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗ.....	21
1.2.1. ΣΤΑΔΙΑ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗΣ.....	23
1.2.1.1 ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗ.....	23
1.2.1.2 ΧΗΜΕΙΟΤΑΞΙΑ.....	24
1.2.1.3 ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ ΚΑΙ ΑΦΡΩΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ.....	24
1.2.1.4 ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ.....	26
1.2.1.5 ΡΗΞΗ ΤΗΣ ΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΗΣ ΠΛΑΚΑΣ ΚΑΙ ΘΡΟΜΒΩΣΗ.....	26
1.2.2. ΒΛΑΒΕΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ.....	27
1.3. ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ.....	28
1.3.1. ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ.....	28
1.3.2. ΜΟΡΙΑ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ.....	31
1.4. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΘΕΜΕΛΙΑΣ ΟΥΣΙΑΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΩΝ ΣΤΗΝ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗ.....	32
1.5. ΘΕΩΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗ.....	33
1.5.1. Η θεωρία της απάντησης στον τραυματισμό (response-to-injury hypothesis) από τους Ross και Glomset.....	33
1.5.1.1 ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ.....	35
1.5.2. Η θεωρία της απάντησης στην κατακράτηση (response-to-retention	

hypothesis).....	37
1.5.3. Η θεωρία της οξειδωτικής τροποποίησης (oxidative modification hypothesis).....	39
1.6. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗ.....	40
1.7. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΤΗΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ.....	41
ΕΝΟΤΗΤΑ 2	
Διατροφή και θρεπτικά συστατικά που λειτουργούν ως προστατευτικοί ή επιβαρυντικοί παράγοντες στην αθηροσκλήρυνση.....	43
2.1. ΦΥΤΟΣΤΕΡΟΛΕΣ.....	43
2.1.1. ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ.....	43
2.1.2 ΠΗΓΕΣ ΦΥΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΟΛΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΝΟΛΩΝ.....	44
2.1.3 ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΤΥΧΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΟΛΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΝΟΛΩΝ.....	45
2.1.4 ΥΠΟΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΟΛΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΝΟΛΩΝ.....	46
2.1.5 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΟΛΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΝΟΛΩΝ.....	48
2.1.6 ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΟΛΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΝΟΛΩΝ.....	50
2.2. ω 3 ΚΑΙ ω 6 ΠΟΛΥΑΚΟΡΕΣΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ.....	51
2.2.1. ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ, ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ, ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ, ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ.....	51
2.2.2 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ Ω 3 PUFAs.....	54
2.2.3 Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΛΟΓΟΥ ω 6/ ω 3.....	63
2.2.4 ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ.....	64
2.3. ΜΑΚΡΟΘΡΕΠΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ.....	65
2.3.1 ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ, ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ, ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ.....	65
2.3.2 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ.....	69
2.3.2.1 ΔΙΑΙΤΕΣ ΧΑΜΗΛΗΣ ΚΑΙ ΠΟΛΥ ΧΑΜΗΛΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΛΙΠΟΣ.....	69
2.3.2.2 ΔΙΑΙΤΕΣ ΧΑΜΗΛΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ.....	70

2.3.2.3 ΔΙΑΙΤΕΣ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ.....	72
2.3.2.4 ΔΙΑΙΤΕΣ ΥΨΗΛΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ...	73
2.3.2.5 ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ.....	73
2.3.3 ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ.....	75
2.4 ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΙΝΕΣ.....	76
2.4.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΙΔΗ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΩΝ ΙΝΩΝ.....	76
2.4.2 ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΩΝ ΙΝΩΝ ΣΤΑ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΕΠΕΙΣΟΔΙΑ.....	76
2.4.3 ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΕ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ.....	77
2.4.3.1 ΥΠΟΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ.....	77
2.4.3.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΕ ΑΛΛΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ.....	78
2.4.4 ΠΙΘΑΝΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΩΝ ΙΝΩΝ.....	79
2.4.5 ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ.....	82
2.5 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ ΚΑΙ ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ Β.....	82
2.5.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ.....	82
2.5.2 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ.....	82
2.5.2.1 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ.....	83
2.5.3 ΟΜΟΚΥΣΤΕΪΝΗ ΚΑΙ ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ Β.....	87
2.6. ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ.....	89
2.6.1 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ.....	89
2.6.2 ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΣΕ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ.....	90
2.6.3 ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ.....	91
2.6.4 ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ.....	92
2.6.4.1 ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ ΟΔΟΥ ΤΟΥ ΑΑ.....	92
2.6.4.2 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ NOS.....	93
2.6.4.3 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΟΔΟΥ ΤΟΥ NF-κΒ ΚΑΙ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ.....	94
2.6.4.4 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΟΔΟ ΤΩΝ ΜΑΡΚs.....	95
2.6.4.5 ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΑΡΤΗΡΙΑΚΟΥ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΙΕΣΗ ΑΙΜΑΤΟΣ.....	95

2.6.4.6 ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ.....	96
2.6.4.7 ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΗΣ LDL.....	96
2.7. ΣΕΛΗΝΙΟ.....	97
2.7.1 ΤΟ ΣΕΛΗΝΙΟ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ.....	97
2.7.2 ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΙΟΥ.....	97
2.8 ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ.....	99
ΕΝΟΤΗΤΑ 3	
Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων και Αθηροσκλήρυνση.....	100
3.1. ΡΑΦ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΑ ΑΝΑΛΟΓΑ ΤΟΥ ΡΑΦ.....	100
3.1.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΡΑΦ.....	100
3.2. ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΡΑΦ.....	103
3.2.1. ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ.....	104
3.2.1.1 ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ ΤΟΥ ΡΑΦ.....	104
3.2.1.2 ΠΟΡΕΙΑ ΕΚ ΝΕΟΥ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΟΥ ΡΑΦ (DE NOVO PATHWAY).....	105
3.2.1.3 ΠΟΡΕΙΑ ΑΝΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ (REMODELING PATHWAY).....	106
3.2.2. ΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΡΑΦ.....	109
3.3. ΡΥΘΜΙΣΗ ΚΑΙ ΤΟΠΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΡΑΦ.....	111
3.3.1 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΡΑΦ.....	111
3.3.2. ΤΟΠΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΡΑΦ.....	114
3.4. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΟΥ ΡΑΦ ΚΑΙ ΟΔΟΙ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ ΣΗΜΑΤΟΣ.....	115
3.4.1. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΟΥ ΡΑΦ.....	115
3.4.2. ΟΔΟΙ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ ΣΗΜΑΤΟΣ.....	116
3.5. ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥ ΡΑΦ.....	119
3.5.1. ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥ ΡΑΦ ΠΟΥ ΑΠΑΝΤΟΥΝ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ.....	119
3.5.1.1 ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ.....	119
3.5.1.2 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΡΑΦ.....	119
3.5.1.3 ΛΥΚΟΠΕΝΙΟ ΚΑΙ ΡΑΦ.....	120
3.5.1.4 ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ ΚΑΙ ΡΑΦ.....	120

3.5.1.5 ΣΕΛΗΝΙΟ ΚΑΙ ΡΑΦ.....	121
3.6. ΔΡΑΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΡΑΦ.....	121
3.6.1. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΡΑΦ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΟΥ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΥΝ ΣΤΗΝ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗ.....	124
3.7. ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΡΑΦ ΣΤΗΝ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗ.....	127
ΣΚΟΠΟΣ.....	130
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	131
4.1. ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ.....	131
4.2. ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΑΙΜΑ ΑΝΘΡΩΠΟΥ.....	134
4.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ BRADFORD.....	135
4.4. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ 1- Ο- ΑΛΚΥΛΟ- 2- ΛΥΣΟ- SN- ΓΛΥΚΕΡΟ -3 -ΦΩΣΦΟΡΥΛΟΧΟΛΙΝΗ: ΑΚΕΤΥΛΟ- COA ΑΚΕΤΥΛΟ - ΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ (LYSO-ΡΑΦ ΑΤ).....	136
4.4.1 ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ.....	137
4.4.2 ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΡΑΦ ΜΕ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ (TLC).....	138
4.4.3 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΠΛΥΜΕΝΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΚΟΥΝΕΛΙΟΥ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΡΑΦ ΜΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ ΠΛΥΜΕΝΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΚΟΥΝΕΛΙΟΥ.....	140
4.5. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	143
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	145
5.1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ.....	145
5.2. ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΛΥΣΟ-ΡΑΦ ΑΚΕΤΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ ΣΤΙΣ 3 ΧΡΟΝΙΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ.....	152
5.3. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΛΥΣΟ-ΡΑΦ ΑΤ ΜΕ ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ, ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....	156

5.4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ ΣΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΛΥΣΟ-ΡΑΦ ΑΚΕΤΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ.....	167
5.5. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΩΝ ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΗ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΛΥΣΟ-ΡΑΦ ΑΚΕΤΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ.....	174
5.6. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΛΥΣΟ-ΡΑΦ ΑΚΕΤΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΥΠΕΡΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΑ.....	179
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	181
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ.....	189
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α.....	189
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β.....	190
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ.....	191
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Δ.....	194
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ε.....	195
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΣΤ.....	196
ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	197

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

AA:	Arachidonic Acid
AAG:	1-Alkyl-2-acetyl-sn-glycerol
AAGPC:	1-O-Alkyl-2-acyl-sn-glycero-3-phosphocholine
ALPA AT:	acetyl-CoA: alkyl-lyso-glycerophosphate acetyltransferase
ALPA:	1-Alkyl-2-lyso-sn-glycero-3-P
ALA:	α -Linolenic Acid
AP-1:	Activator Protein-1
ARIC:	Atherosclerosis Risk in Communities study
CCNFSDU:	Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses
CHAOS:	Cambridge Heart Antioxidant Study
COX:	Cyclooxygenase
CoA:	Coenzyme-A
cPLA2:	cytosolic phospholipase A
CRP:	C - Reactive Protein
CWES:	Chicago Western Electric Study

DART:	Diet and Reinfarction Trial
DASH:	Dietary Approaches to Stop Hypertension
DHA:	DocosaHexaenoicAcid
DTT:	dithiothreitol
EFAs:	Essential Fatty Acids
EGF:	Epidermal Growth Factor
eNOS:	endothelial Nitric Oxide Synthase
EPA:	EicosaPentaenoicAcid
EURAMIC:	European Multicenter Case-control Study on Antioxidants, Myocardial Infarction and Breast Cancer
EUROASPIRE:	European Action on Secondary Prevention through Intervention to Reduce Events
FAK:	Focal Adhesion Kinase
FGF:	Fibroblast Growth Factor
GM-CSF:	Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
HATS:	HDL-Atherosclerosis Treatment Study
HETEs:	HydroxyEicosaTetraEnoic acids
HHP:	Honolulu Heart Program

HOCl:	hypochlorous acid
HpETEs:	HydroperoxyEicosaTetraEnoic acids
H₂O₂:	hydrogen peroxide
ICAM-1:	Intercellular Adhesion Molecule-1
IFN-γ:	Interferon- γ
IL:	Interleukin
iNOS:	inducible Nitric Oxide Synthase
JPHC:	Japan Public Health Center-Based
LCAT:	lecithin-cholesterol acyltransferase
LDHS:	Lyon Diet Heart Study
LOX:	Lipoxygenase
LPA:	Lysophosphatidic acid
LTB₄:	Leukotriene B ₄
LTB₅:	Leukotriene B ₅
Lyso-PC:	Lyso-phosphatidylcholine
MAPK:	Mitogen-Activated Protein Kinase
MCP-1:	Monocyte Chemoattractant Protein-1

MCSF:	Monocyte Colony Stimulating Factor
MMPs:	Matrix Metalloproteinases
MRFIT:	Multiple Risk Factor Intervention Trial
MUFA:	MonoUnsaturated Fatty Acids
NCEP:	National Cholesterol Education Program
NF-κB:	Nuclear Factor κB
NHANES:	National Health and Nutrition Examination Survey
NHS:	Nurses' Health Study
NO:	Nitric Oxide
NOS:	Nitric Oxide Synthase
O₂⁻:	Superoxide anion
OH⁻:	hydroxyl radical
ONOO⁻:	peroxynitrite
PAF:	Platelet Activating Factor
PAF-AH:	PAF-Acetylhydrolase
PAFR:	Platelet Activating Factor Receptor
PC:	Phosphatidylcholine

PDGF:	Platelet – Derived Growth Factor
PE:	Phosphatidylethanolamine
PECAM:	Platelet– Endothelial Cell Adhesion Molecule
PGE2:	Prostaglandin E2
PGE3:	Prostaglandin E3
PGI2:	Prostacyclin 2
PGI3:	Prostacyclin 3
PHS:	Physicians’ Health Study
PKC:	Protein Kinase C
PMSF:	phenylmethanesulphonyl fluoride
PUFAs:	PolyUnsaturated Fatty Acids
SCFA:	Short Chain Fatty Acids
ScRs:	Scavenger Receptors
SR-A:	Scavenger Receptor A
SREBPs:	Sterol Response Element – Binding Proteins
ROS:	Reactive Oxygen Species
TF:	Tissue Factor

TGF:	Transforming Growth Factor
TGF-β:	Transforming Growth Factor- β
TGF-β RE:	transforming growth factor- β responsive element
TLC:	Therapeutic Lifestyle Change Diet
TLRs:	Toll-like Receptors
TNF-a:	Tumor Necrosis Factor-a
TXA2:	Thromboxane A2
TXA3:	Thromboxane A3
VCAM-1:	Vascular Adhesion Molecule-1

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η λυσο-PAF AT είναι ένζυμο βιοσύνθεσης του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων, ο οποίος ενεργοποιεί οδούς που συνδέονται με τη φλεγμονή και την αθηρογένεση. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αξιολόγηση της επίδρασης 3μηνου προγράμματος διατροφικής παρέμβασης σε συνδυασμό με γάλα εμπλουτισμένο σε φυτοστερόλες επί της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT των λευκοκυττάρων. **Μεθοδολογία:** Δείγμα 62 ατόμων με ήπια υπερχοληστερολαιμία (40-60 ετών) τυχαιοποιήθηκαν στην ομάδα ελέγχου (CG: N= 18), στην ομάδα συμβατικού γάλακτος (PG: N= 23) και στην ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος (IG: N= 21). Οι συμμετέχοντες των ομάδων PG και IG παρακολούθησαν 7 διατροφικές συνεδρίες κατά τη διάρκεια της περιόδου παρέμβασης. Σε κάθε συμμετέχοντα, απομονώθηκε η λυσο-PAF AT των λευκοκυττάρων του αίματος και προσδιορίστηκε η ειδική δραστηριότητά της, σε κάθε χρονική φάση της μελέτης. **Αποτελέσματα:** Η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT δε διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των 3 ομάδων της μελέτης, σε καμία από τις χρονικές φάσεις αυτής, στο σύνολο του δείγματος όπου μετρήθηκε. Ωστόσο, η ειδική δραστηριότητα είναι σημαντικά υψηλότερη στους άνδρες της ομάδας IG συγκριτικά με εκείνους των ομάδων CG και PG, στον 1^ο μήνα της μελέτης καθώς και σε σύγκριση με τους άνδρες της ομάδας CG, στον 3^ο μήνα της μελέτης (P= 0,029). Η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT είναι μεγαλύτερη στον 1^ο μήνα σε σύγκριση τόσο με την έναρξη της μελέτης ($5,4 \pm 4,6$ έναντι $4,2 \pm 2,7$ nmol PAF/min/mg, P= 0,030) όσο και με τον 3^ο μήνα ($5,4 \pm 4,6$ έναντι $4,3 \pm 3,5$ nmol PAF/min/mg, P= 0,023). Το είδος της παρέμβασης δεν επηρεάζει στατιστικά σημαντικά την ειδική δραστηριότητα του ενζύμου (F= 0,079, P= 0,924). Σημαντικές συσχετίσεις δεν παρατηρούνται, μετά από έλεγχο για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες. **Συμπεράσματα:** Η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT αυξήθηκε στους άνδρες της ομάδας που έλαβε το εμπλουτισμένο γάλα, στον 1^ο και 3^ο μήνα της μελέτης. Επίσης, ο χρόνος της παρέμβασης βρέθηκε ότι παίζει σημαντικό ρόλο στα επίπεδα της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF ακετυλοτρανσφεράσης των λευκοκυττάρων, ενώ το είδος παρέμβασης δεν ασκεί σημαντική επίδραση.

Λέξεις κλειδιά: Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων, φλεγμονή, αθηροσκλήρυνση, λυσο-PAF ακετυλοτρανσφεράση

ABSTRACT

Introduction: Lyso-PAF AT is a key biosynthetic enzyme of platelet-activating factor, which activates pathways associated with inflammation and atherogenesis. The aim of the current study was to evaluate the effect of a 3-month dietary intervention program in conjunction with milk enriched in plant sterols on lyso-PAF AT specific activity. **Study design:** A sample of 62 individuals with mild hypercholesterolemia (40-60 years) was randomized in the control group (n = 18), the placebo group, which consumed conventional milk, (n = 23) and the intervention group, which consumed the enriched milk (n = 21). Participants in the placebo and intervention groups attended 7 sessions during the study period. Specific activity of lyso-PAF AT, isolated from blood leukocytes, was determined for each participant across 3 study time phases. **Results:** There was no significant difference in specific activity of lyso-PAF AT among the 3 study groups, in any of the study time phases. However, specific activity of lyso-PAF AT was significantly higher among men of the intervention group compared to men in the control and placebo groups, at study month 1 ($P= 0,015$ and $P= 0,025$, respectively) and to men in the control group, at study month 3 ($P= 0,029$). Specific activity of lyso-PAF AT at month 1 was higher than that at baseline ($(5,4 \pm 4,6$ vs $4,2 \pm 2,7$ nmol PAF/min/mg, $P= 0,030$) and that at month 3 ($(5,4 \pm 4,6$ vs $4,3 \pm 3,5$ nmol PAF/min/mg, $P= 0,023$). Type of intervention did not have a statistically significant effect on specific activity of lyso-PAF A ($F= 0,079$, $P= 0,924$). There were no significant correlations after controlling for potential confounding factors. **Conclusions:** Specific activity of lyso-PAF AT increased in men constituting the intervention group, at months 1 and 3 of the study. Furthermore, study time was found to play a significant part in the specific activity of lyso-PAF AT originating from blood leukocytes, while type of intervention showed no significant influence.

Key words: Platelet-activating factor, inflammation, atherosclerosis, lyso-PAF acetyltransferase

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν μια από τις κυριότερες αιτίες θνησιμότητας και χαρακτηρίζονται ως σημαντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας. Σύμφωνα με στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ), περίπου 16,7 εκατομμύρια άνθρωποι πεθαίνουν κάθε χρόνο από καρδιαγγειακά νοσήματα [1]. Συγκεκριμένα, περίπου 17,5 εκατομμύρια άνθρωποι πέθαναν από καρδιαγγειακά νοσήματα κατά το έτος 2005. Αυτό συνιστά το 30% της συνολικής θνησιμότητας παγκοσμίως [2]. Τα καρδιαγγειακά νοσήματα ευθύνονται για περισσότερους από 4,3 εκατομμύρια θανάτους ετησίως στην Ευρώπη και για περισσότερους από 2 εκατομμύρια θανάτους στην ΕΕ. Επίσης, τα καρδιαγγειακά νοσήματα ευθύνονται για το 48% της συνολικής θνησιμότητας στην Ευρώπη και για το 42% στην ΕΕ. Παραδείγματα καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι η νόσος των στεφανιαίων αρτηριών της καρδιάς, των αγγείων του εγκεφάλου και των αρτηριών της περιφέρειας. Η στεφανιαία αρτηριακή νόσος αποτελεί τη συνηθέστερη αιτία θανάτου στην Ευρώπη (1,92 εκατομμύρια θάνατοι ετησίως) και την ΕΕ (741.000 θάνατοι ετησίως) [3]. Σύμφωνα με τον ΠΟΥ, το 2005 σημειώθηκαν 7,6 εκατομμύρια θάνατοι, παγκοσμίως, από στεφανιαία αρτηριακή νόσο. Σύμφωνα με εκτιμήσεις του ΠΟΥ, 15 εκατομμύρια άνθρωποι, ετησίως, προσβάλλονται από εγκεφαλικό επεισόδιο, εκ των οποίων 5 εκατομμύρια καθίστανται ανάπηροι [4]. Επιπρόσθετα, σύμφωνα με εκτιμήσεις του ΠΟΥ, το 2005 σημειώθηκαν 5,7 εκατομμύρια θάνατοι, παγκοσμίως, από εγκεφαλικό επεισόδιο [5]. Τα εγκεφαλικά επεισόδια αποτελούν τη δεύτερη συνηθέστερη αιτία θανάτου στην Ευρώπη (1,24 εκατομμύρια θάνατοι ετησίως) και στην ΕΕ (508.000 θάνατοι ετησίως) [3]. Επιπλέον, περίπου 27 εκατομμύρια άνθρωποι σε Ευρώπη και Βόρεια Αμερική πάσχουν από περιφερειακή αρτηριακή νόσο, εκ των οποίων τα 10,5 εκατομμύρια εκτιμάται ότι παρουσιάζουν συμπτώματα, ενώ τα 16,5 εκατομμύρια είναι ασυμπτωματικοί. Τέλος, παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα, όπως το κάπνισμα, η υψηλή συγκέντρωση χοληστερόλης αίματος, τα χαμηλά επίπεδα σωματικής δραστηριότητας, το υπερβάλλον σωματικό βάρος, ο σακχαρώδης διαβήτης, το μεταβολικό σύνδρομο, καθώς και η αυξημένη πρόσληψη λίπους, ιδιαίτερα κορεσμένου, παράλληλα με τη χαμηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, εμφανίζονται σε υψηλά ποσοστά παγκοσμίως και παρουσιάζουν ανοδική τάση [6].

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα καλύπτουν ένα ευρύ νοσολογικό φάσμα, αλλά η στεφανιαία νόσος δεσπόζει όσον αφορά στην επίπτωση, τη θνησιμότητα και τις δυνατότητες πρόληψης. Επιπλέον, με μικρές διαφοροποιήσεις και εξαιρέσεις, τα προληπτικά μέτρα για τη στεφανιαία νόσο καλύπτουν και άλλα καρδιαγγειακά νοσήματα, συμπεριλαμβανομένων των εγκεφαλικών επεισοδίων. Οι υποκείμενες παθολογοανατομικές βλάβες στη στεφανιαία νόσο αντανακλούν, κατά τις πρώτες δεκαετίες της φυσικής ιστορίας της νόσου, αθηροσκληρωτικές διαδικασίες που σχετίζονται με την οξείδωση των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL), ενώ στις μεταγενέστερες διαδικασίες δεσπόζουν θρομβογόνοι παράγοντες. Μολονότι έχουν σημειωθεί σημαντικές πρόοδοι τόσο στη συντηρητική όσο και στη χειρουργική θεραπευτική αντιμετώπιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων, γενικότερα, και της στεφανιαίας νόσου, ειδικότερα, αποτελεί γενική διαπίστωση ότι η καλύτερη προσέγγιση για την αντιμετώπισή τους βρίσκεται στο επίπεδο τόσο της πρωτογενούς όσο και της δευτερογενούς πρόληψης [7]. Η πρωτογενής πρόληψη επικεντρώνεται στην αποφυγή έκθεσης σε συγκεκριμένους επιβλαβείς αιτιολογικούς παράγοντες ή στην ισχυροποίηση του οργανισμού με γενικά ή ειδικά μέτρα. Η δευτερογενής πρόληψη βασίζεται στην προσυμπτωματική και όσο το δυνατόν πρώιμη διάγνωση της προκλινικής νόσου, όταν είναι ακόμη εφικτή η αναστροφή ή αναστολή των παθογενετικών διεργασιών [8].

Η διατροφή, που αποτελεί σε μεγάλο βαθμό ένα κοινωνικο-οικονομικά προσδιοριζόμενο χαρακτηριστικό, αποτελεί αντικείμενο οδηγιών, που εκδίδονται από διεθνείς οργανισμούς και ειδικές επιστημονικές ενώσεις, με σκοπό την πρωτογενή και δευτερογενή πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Σύμφωνα με ευρήματα επιδημιολογικών και κλινικών μελετών, η σύσταση της διατροφής μπορεί να επηρεάσει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου [9]. Διατροφή πλούσια σε λαχανικά, φρούτα, όσπρια, ψάρια, ελαιόλαδο και άλλα συστατικά της Μεσογειακής Διατροφής έχει συσχετισθεί, κατά τις τελευταίες δεκαετίες, με μειωμένη επίπτωση αθηροσκλήρωσης και στεφανιαίας νόσου. Παράλληλα, η κατανάλωση τροφίμων εμπλουτισμένων με διάφορα θρεπτικά συστατικά έχει φανεί αποτελεσματική στην πρόληψη και αντιμετώπιση προδιαθεσικών παραγόντων κινδύνου για εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου.

ΚΥΡΙΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΝΟΤΗΤΑ 1

Φλεγμονή, αθηροσκλήρυνση και κλινικές συνέπειες

1.1. ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Η φλεγμονή ορίζεται ως η εντοπισμένη απόκριση του σώματος στη μόλυνση ή τον τραυματισμό και ανήκει στους μη ειδικούς αμυντικούς μηχανισμούς ή αλλιώς φυσική ανοσία. Η διαδικασία της φλεγμονής περιλαμβάνει τα ακόλουθα βήματα: 1) την αγγειοδιαστολή και αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου των αγγείων, 2) τη χημειοταξία και 3) την ιστική επιδιόρθωση [10].

Η φλεγμονή διακρίνεται σε οξεία και χρόνια. Η οξεία φλεγμονή είναι η αρχική αντίδραση του σώματος σε επιβλαβή ερεθίσματα. Η διαδικασία της οξείας φλεγμονής ξεκινά από κύτταρα που βρίσκονται ήδη σε όλους τους ιστούς, κυρίως μακροφάγα. Αυτά τα κύτταρα, μόλις ενεργοποιηθούν απελευθερώνουν φλεγμονώδεις μεσολαβητές, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την έναρξη της φλεγμονώδους διαδικασίας και την εμφάνιση των κλινικών σημείων της φλεγμονής, όπως ερυθρότητα, θερμότητα, οίδημα και πόνο. Σε αυτούς τους μεσολαβητές περιλαμβάνονται πρωτεΐνες του συμπληρώματος (C3), πρωτεΐνες του συστήματος πήξης (παράγοντες XIIa, XIa, Xa, IIa ή θρομβίνη), οι κινίνες, τα εικοσανοειδή, κυτταροκίνες, το οξειδίο του αζώτου, οι ROS και άλλα μόρια. Οι μηχανισμοί λύσης της φλεγμονής περιλαμβάνουν τον βραχύ χρόνο ημίσειας ζωής των φλεγμονωδών μεσολαβητών, την απομάκρυνση των λευκοκυττάρων με τη βοήθεια φαγοκυττάρωσης, απόπτωσης και εκκαθάρισης μέσω των λεμφαδένων, καθώς και τον περιορισμό της δράσης των κυτταροκινών μέσω έκκρισης ανταγωνιστών και αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών [11].

Η μη ρυθμιζόμενη ή η υπέρμετρη ενεργοποίηση της φλεγμονής μπορεί να οδηγήσει σε χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και οι φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου. Επιπρόσθετα, φλεγμονώδεις υπόβαθρο έχουν και πάρα πολλές χρόνιες παθήσεις, όπως ο διαβήτης, η αρτηριοσκλήρυνση, η νόσος

Alzheimer και ο καρκίνος. Τα τελευταία χρόνια έχει φανεί ότι ακόμα και μία μικρή αλλά μόνιμη ενεργοποίηση των φλεγμονωδών μηχανισμών, η οποία δε δίνει κλινικά συμπτώματα, μπορεί να αποτελέσει σημαντικό προδιαθεσικό παράγοντα για χρόνιες παθήσεις. Η κατάσταση αυτή χαρακτηρίζεται ως συστηματική φλεγμονή. Κύριοι προδιαθεσικοί παράγοντες για την εμφάνιση συστηματικής φλεγμονής είναι η παχυσαρκία, η ηλικία, το κάπνισμα, το άγχος και η διατροφή σε συνδυασμό πάντα με το γενετικό υπόβαθρο του κάθε ανθρώπου. Η συστηματική φλεγμονή χαρακτηρίζεται από ελαφρώς αυξημένες συγκεντρώσεις πρωτεϊνών (2-3 φορές) της οξείας φάσης της φλεγμονής όπως είναι η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) και οι κυτταροκίνες που ρυθμίζουν την ανοσολογική απόκριση, όπως ο TNFα και η IL-6. Αντιθέτως, οι ίδιες πρωτεΐνες και ειδικότερα η CRP μπορούν να αυξηθούν 10-1000 φορές στην οξεία φλεγμονή. Η συστηματική φλεγμονή διαφοροποιείται από την οξεία φλεγμονή και στο γεγονός ότι εμφανίζει διαφορετική σχετική αναλογία προφλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών ενώ άλλη μία διαφορά τους είναι η ρύθμιση της όρεξης. Ασθενείς με συστηματική φλεγμονή, οι οποίοι κατά βάση είναι παχύσαρκοι ή εμφανίζουν μεταβολικό σύνδρομο έχουν συνήθως αυξημένη όρεξη ενώ η χρόνια ή η οξεία φλεγμονή χαρακτηρίζεται από ανορεξία και καχεξία [12].

Η υποκλινική χρόνια συστηματική φλεγμονή θεωρείται πλέον σημαντική στην παθογένεση των περισσότερων χρόνιων μη μεταδιδόμενων νοσημάτων, μεταξύ των οποίων είναι και τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Πολλές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την ύπαρξη συσχέτισης ανάμεσα στην υποκλινική χρόνια συστηματική φλεγμονή και την αθηροσκλήρωση [13].

1.2. ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗ

Η αθηροσκλήρυνση είναι μια φλεγμονώδης νόσος όπου η χρόνια φλεγμονώδης διαδικασία λαμβάνει χώρα στην αρτηρία [14]. Ο μηχανισμός της φλεγμονής, ως βάση της αθηρογένεσης, προτάθηκε αρχικά από τον Rudolf Virchow στα μέσα του 19^{ου} αιώνα. Το ανοσοποιητικό σύστημα παίζει σημαντικό ρόλο στην αθηροσκλήρυνση. Οι ανοσολογικοί μηχανισμοί άμυνας μπορούν να διαιρεθούν σε δύο κατηγορίες: τους μη ειδικούς και τους ειδικούς μηχανισμούς άμυνας. Η φυσική ανοσία είναι σημαντική για την έναρξη της φλεγμονώδους απάντησης. Τα κύτταρα που εμπλέκονται, κατά κύριο λόγο, στη φυσική ανοσία, στην περίπτωση της αθηροσκλήρωσης, είναι τα

μονοκύτταρα – μακροφάγα. Οι ειδικοί μηχανισμοί ανοσίας αντιδρούν σε ενδογενή αντιγόνα, όπως η οξειδωμένη LDL και τα κύτταρα που έχουν υποστεί απόπτωση, ή σε εξωγενή αντιγόνα, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των T και των B λεμφοκυττάρων [16].

Η μη ειδική ανοσία προηγείται της ειδικής. Εν τούτοις, στα χρόνια νοσήματα και μετά την αποτυχία της ειδικής ανοσίας να αποτρέψει την ιστική βλάβη, τα δύο σκέλη της ανοσίας συνυπάρχουν και αλληλεπιδρούν. Οι φορείς της φυσικής ανοσίας διακρίνονται σε κύτταρα και χυμικούς παράγοντες, που είναι προϊόντα αυτών των κυττάρων. Τέτοια κύτταρα είναι τα μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα ή μονοκύτταρα και τα μακροφάγα, τα κοκκιοκύτταρα και τα φυσικά φονικά κύτταρα. Χυμικοί παράγοντες είναι: 1) οι κυτταροκίνες (TNF, IL-1, IL-6, IL-8, IFN- α), 2) οι πρωτεΐνες οξείας φάσης που είναι προϊόντα του ήπατος και 3) οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος. Η ειδική ανοσία διακρίνεται στη χυμική ανοσία η οποία επιτελείται από τα αντισώματα και την κυτταρική ανοσία η οποία μεσολαβείται από τα T-λεμφοκύτταρα [17].

Τα μακροφάγα εκφράζουν υποδοχείς που αναγνωρίζουν ένα ευρύ φάσμα αντιγόνων. Σε αυτούς τους υποδοχείς ανήκουν οι ScRs και οι TLRs. Η σύνδεση των αντιγόνων με τους υποδοχείς ScRs οδηγεί στην ενδοκυττάρωσή τους και την αποικοδόμησή τους στα λυσοσώματα. Η σύνδεση των αντιγόνων με τους υποδοχείς TLRs προκαλεί τη μεταγωγή σήματος και την ενεργοποίηση των οδών του NF- κ B και της MAPK, με αποτέλεσμα την επαγωγή της έκφρασης διαφόρων γονιδίων, όπως αυτών που κωδικοποιούν για πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη συσσώρευση λευκών αιμοσφαιρίων, στην παραγωγή ROS και στη φαγοκυττάρωση. Επιπλέον, η ενεργοποίηση των υποδοχέων TLRs οδηγεί στην παραγωγή κυτταροκινών της φλεγμονής και μπορεί να επάγει άμεσα την απόπτωση.

Αρκετά από τα μόρια προσκόλλησης και της χημειοκίνες που προάγουν τη συσσώρευση μονοκυττάρων διεγείρουν, επίσης, την είσοδο των T-λεμφοκυττάρων στην περιοχή της φλεγμονής. Σε αυτά τα μόρια συμπεριλαμβάνονται οι σελεκτίνες, τα VCAM-1 και ICAM-1 και ο MCP-1. Σε αθηρωματικές πλάκες προχωρημένου σταδίου σε ανθρώπους, τα T-λεμφοκύτταρα συνιστούν περίπου το 10% με 20% του κυτταρικού πληθυσμού και συχνά συναθροίζονται σε περιοχές όπου επέρχεται ρήξη

της αθηρωματικής πλάκας και προκαλείται θρόμβωση. Τα περισσότερα από τα T-λεμφοκύτταρα στις αθηρωματικές πλάκες φέρουν τα μόρια CD3 και CD4 και εκκρίνουν τις κυτταροκίνες IL-2, IFN- γ , TNF- α και TNF- β . Αυτές οι κυτταροκίνες ενεργοποιούν τα μακροφάγα και τα κύτταρα των αγγείων, προάγουν τη φλεγμονή και συμμετέχουν στην κυτταρική ανοσία. Επιπλέον, στις αθηρωματικές πλάκες παρατηρούνται και μικροί αριθμοί CD8+ T-λεμφοκυττάρων και περιστασιακά B-λεμφοκυττάρων, που δρουν ως κυτταροτοξικά κύτταρα ή παράγουν αντισώματα, αντίστοιχα [18].

1.2.1. ΣΤΑΔΙΑ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗΣ

1.2.1.1 ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗ

Κατά την έναρξη της αθηροσκλήρωσης, μονοπύρρηνα λευκοκύτταρα, όπως μονοκύτταρα και T λεμφοκύτταρα, συγκεντρώνονται στο αρτηριακό τοίχωμα. Για να γίνει κάτι τέτοιο, απαιτείται η ενεργοποίηση του ενδοθηλίου για να εκφράσει μόρια προσκόλλησης των λευκοκυττάρων. Αυτά τα μόρια προσκόλλησης είναι πρωτεΐνες της κυτταρικής επιφάνειας η μεταγραφή των οποίων ρυθμίζεται, κυρίως, μέσω μιας διαδικασίας που περιλαμβάνει τον NF- κ B. Παραδείγματα τέτοιων μορίων είναι η E-σελεκτίνη, ο ICAM-1 και ο VCAM-1. Η διαδικασία της προσκόλλησης περιλαμβάνει πολλά στάδια. Αρχικά, τα μονοπύρρηνα λευκοκύτταρα ολισθαίνουν κατά μήκος της επιφάνειας του ενδοθηλίου. Σε αυτό το στάδιο, υπεύθυνα μόρια προσκόλλησης είναι οι σελεκτίνες. Στη συνέχεια, παρατηρείται στενή σύνδεση ανάμεσα στα κύτταρα του ενδοθηλίου και τα μονοπύρρηνα λευκοκύτταρα. Σε αυτό το στάδιο, υπεύθυνα μόρια προσκόλλησης είναι ορισμένα μόρια που προσομοιάζουν με ανοσοσφαιρίνες, όπως τα ICAM-1 και VCAM-1, καθώς και οι ιντεγκρίνες. Συγκεκριμένα, η πρώτη κατηγορία μορίων εκφράζεται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενώ η δεύτερη κατηγορία εκφράζεται στην επιφάνεια των μονοπύρηνων λευκοκυττάρων. Η προσκόλληση των ενδοθηλιακών κυττάρων με τα λευκοκύτταρα επιτυγχάνεται μέσω αλληλεπιδράσεων αυτών των δύο κατηγοριών μορίων [19].

Οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες αυξάνουν την έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν αρκετά από τα μόρια προσκόλλησης. Συγκεκριμένα, σε *in vitro* πειράματα έχει βρεθεί ότι η IL-1 α , η IL-1 β , ο TNF- α και η IL-18 αυξάνουν την

επιφανειακή έκφραση του ICAM-1, του VCAM-1, της E- ή P- σελεκτίνης στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα λεία μυϊκά κύτταρα ή τα μακροφάγα [20].

1.2.1.2 ΧΗΜΕΙΟΤΑΞΙΑ

Η προσκόλληση ακολουθείται από τη μετακίνηση των λευκοκυττάρων διαμέσου της ενδοθηλιακής στοιβάδας. Αυτή η διαδικασία οφείλεται σε χημειοτακτικούς παράγοντες, οι οποίοι παράγονται στον υποενδοθηλιακό χώρο. Μια ειδική κατηγορία χημειοτακτικών παραγόντων είναι οι χημειοκίνες. Πρόκειται για κυτταροκίνες, οι οποίες παράγονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα λεία μυϊκά κύτταρα και τα μακροφάγα του έσω χιτώνα, κατά τη διάρκεια πρόκλησης μιας αλλοίωσης και κατευθύνουν τη διαπήδηση και τη μετανάστευση των προσκολλημένων λευκοκυττάρων στον έσω χιτώνα, όπου εγκαθίστανται και διαιρούνται [19], [21]. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα χημειοκινών είναι η MCP-1, η οποία προάγει τη μετακίνηση των μονοκυττάρων και T λεμφοκυττάρων [19]. Η έκφραση της MCP-1 επάγεται από την υπερχοληστερολαιμία. Επιπλέον, η υπερχοληστερολαιμία επάγει την έκφραση του υποδοχέα της MCP-1 στα μονοκύτταρα, του CCR2. Άλλο παράδειγμα είναι η IL-8 η οποία προκαλεί τη χημειοταξία των κοκκιοκυττάρων και μπορεί να λειτουργήσει ως χημειοτακτικός παράγοντας των λευκοκυττάρων [20].

1.2.1.3 ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ ΚΑΙ ΑΦΡΩΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ

Η αθηρογένεση ξεκινά σε θέσεις του αρτηριακού τοιχώματος που έχουν υποστεί τραυματισμό του ενδοθηλίου. Αυτός ο τραυματισμός μπορεί να είναι αποτέλεσμα πολλών παραγόντων, όπως η υπέρταση, η αυξημένη συγκέντρωση της LDL χοληστερόλης και των υπολειμμάτων των λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων στο πλάσμα, οι χημικές τοξίνες που περιέχονται στον καπνό του τσιγάρου, η χαμηλή συγκέντρωση της HDL χοληστερόλης στον ορό, η ινσουλινοαντίσταση και τα γλυκοζυλιωμένα κατάλοιπα που παρατηρούνται στο σακχαρώδη διαβήτη και άλλα. Οι παράγοντες που αναφέρθηκαν παραπάνω μειώνουν την παραγωγή οξειδίου του αζώτου από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και με αυτόν τον τρόπο ελαττώνουν την ικανότητα αγγειοδιαστολής και αποδυναμώνουν τους φυσιολογικούς, προστατευτικούς μηχανισμούς που διαθέτει το αγγειακό ενδοθήλιο. Το αποτέλεσμα είναι η είσοδος της

LDL χοληστερόλης στον υποενδοθηλιακό χώρο, όπου δύναται να υποστεί οξείδωση [22].

Η οξείδωση των LDL μπορεί να οφείλεται στην παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου από κύτταρα της φλεγμονής ή σε ένζυμα όπως οι λιποξυγενάσες που παράγονται από τα μακροφάγα. Όλα αυτά τα γεγονότα λαμβάνουν χώρα κάτω από το ενδοθήλιο. Στη συνέχεια, η οξειδωμένη LDL εισέρχεται στα μακροφάγα μέσω των ScRs, μετατρέποντας σταδιακά τα μακροφάγα σε αφρώδη κύτταρα [18]. Αναλυτικότερα, τα σωματίδια των LDLs αποτελούνται, κυρίως από χοληστερόλη, σε ελεύθερη και εστεροποιημένη μορφή, καθώς και από φωσφολιποειδή, ασήμαντες ποσότητες τριακυλογλυκερών και μια πρωτεΐνη υψηλής εξειδίκευσης, ηπατικής προέλευσης, την απολιποπρωτεΐνη B100. Υπάρχουν πολλές ενδείξεις που μαρτυρούν το κεντρικό ρόλο των LDL στην παθοφυσιολογία της αθηροσκλήρωσης. Η μεταφορά της LDL στον υποενδοθηλιακό χώρο εξαρτάται ιδιαίτερα από τη συγκέντρωσή της. Επιπρόσθετα με τη συγκέντρωση της LDL στον αγγειακό αυλό, το μέγεθος των σωματιδίων παίζει εξίσου καθοριστικό ρόλο στο ρυθμό μεταφοράς της LDL. Ειδικότερα, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ταχύτερη μεταφορά των πυκνών σωματιδίων της LDL (1,035 – 1,063 g/mL).

Σε θέσεις με πρόωμη βλάβη, τα λιπίδια συσσωρεύονται τόσο στον εξωκυτταρικό όσο και στον ενδοκυτταρικό χώρο. Στο εσωτερικό των μακροφάγων, η χοληστερόλη συσσωρεύεται, κυρίως, ως σταγονίδια εστέρων χοληστερόλης δίδοντάς τους αφρώδη εμφάνιση. Καθώς η βλάβη εξελίσσεται, σχηματίζονται μεγαλύτερα σταγονίδια λιπιδίων, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός ακυτταρικού πυρήνα πλούσιου σε λιπίδια, που αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα των βλαβών ενδιάμεσου και προχωρημένου σταδίου [23]. Σημαντικό ρόλο στη μετατροπή των μακροφάγων σε αφρώδη κύτταρα παίζει ο MCSF. Οι υποδοχείς SR-A και ο CD36 εμπλέκονται στην εκκαθάριση των τροποποιημένων λιποπρωτεϊνών σχηματίζοντας κενοτόπια λιπιδίων στο κυτταρόπλασμα. Αυτά τα κενοτόπια είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα των αφρωδών κυττάρων. Τα γεμάτα λίπος αφρώδη κύτταρα της πλάκας συνιστούν μια σημαντική πηγή κυτταροκινών (IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, TNF- α , TNF- β , IFN- γ), χημειοκινών (MCP-1, IL-8), αυξητικών παραγόντων (PDGF και TGF- β), παραγόντων CSF (MCSF και GM-CSF) και πρωτεολυτικών ενζύμων (MMP και

καθεψίνες). Αυτοί οι εκκρινόμενοι παράγοντες ενισχύουν τον «καταρράκτη» της φλεγμονής και αθηροσκλήρυνσης [20].

1.2.1.4 ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ

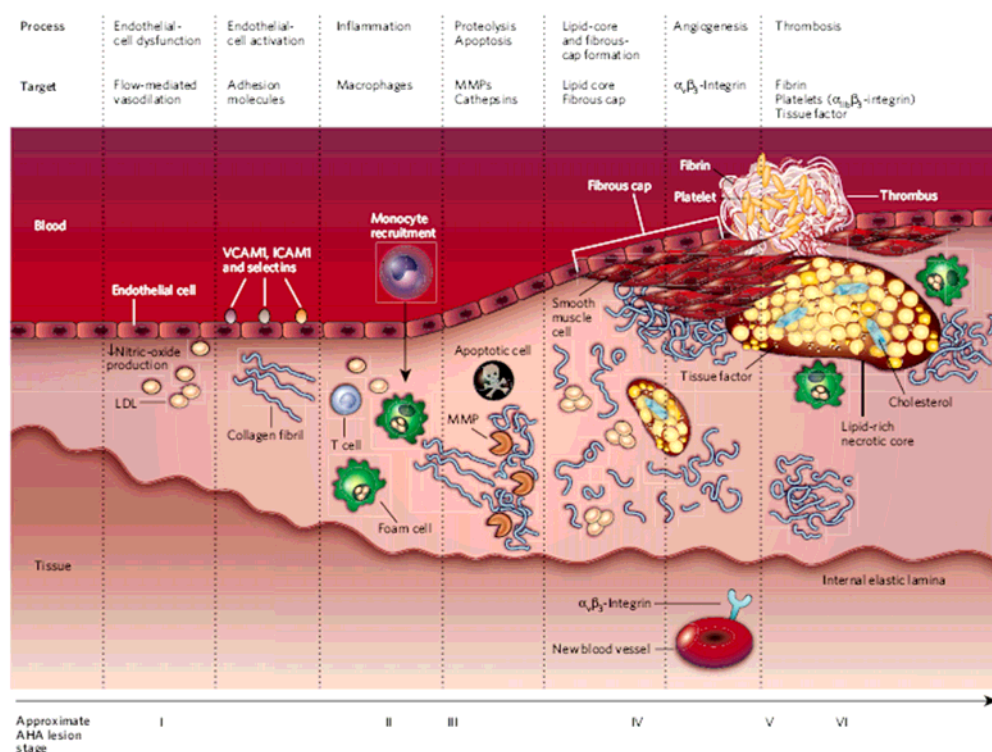
Η έναρξη της αθηρογένεσης συνδέεται με τη φυσική ανοσία. Παρόλα αυτά, έχει πλέον φανεί και η συμμετοχή των T λεμφοκυττάρων. Τα ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα εκφράζουν το μόριο CD40L (CD154), το οποίο δεσμεύεται στον υποδοχέα του που βρίσκεται στα μακροφάγα, τα B λεμφοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα λεία μυϊκά κύτταρα και τα δενδριτικά κύτταρα. Κατόπιν, επάγει την έκφραση του ιστικού παράγοντα, της μεταλλοπρωτεϊνάσης της θεμέλιας ουσίας και των μορίων προσκόλλησης [20].

1.2.1.5 ΡΗΞΗ ΤΗΣ ΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΗΣ ΠΛΑΚΑΣ ΚΑΙ ΘΡΟΜΒΩΣΗ

Η κλινική συνέπεια του σχηματισμού αθηρωματικής πλάκας συνδέεται με τη σταθερότητά της. Η σταθερότητα καθορίζεται από το ινώδες περιεχόμενο της πλάκας, που, με τη σειρά του, εξαρτάται από την παραγωγή εξωκυτταρικής ύλης. Η ισορροπία ανάμεσα στη σύνθεση εξωκυτταρικής ύλης και την αποικοδόμησή της καθορίζει το ρυθμό ανακύκλωσης της θεμέλιας ουσίας. Η σύνθεση της εξωκυτταρικής ύλης εξαρτάται, κατά κύριο λόγο, από τα λεία μυϊκά κύτταρα. Το κολλαγόνο τύπου I είναι το μοναδικό σημαντικό συστατικό της ινώδους κάψας, επηρεάζοντας την ισχύ της. Η IL-1β ενισχύει τη σύνθεση του κολλαγόνου μέσω αύξησης της έκφρασης των PDGF και TGF-α, τα οποία διεγείρουν την παραγωγή του κολλαγόνου. Αντίθετα, η IFN-γ αναστέλλει τη σύνθεση κολλαγόνου. Η ρήξη της ινώδους κάψας δεν επαρκεί για την έναρξη ενός σημαντικού κλινικού γεγονότος. Απαιτείται θρόμβωση η οποία ρυθμίζεται από προθρομβωτικούς και αντιθρομβωτικούς παράγοντες [20].

Ειδικότερα, οι μεσολαβητές της φλεγμονής μπορούν να αναστείλουν τη σύνθεση κολλαγόνου και να προκαλέσουν την έκφραση κολλαγενασών από τα αφρώδη κύτταρα εντός του έσω χιτώνα. Το αποτέλεσμα είναι ότι μειώνεται το περιεχόμενο της ινώδους κάψας σε κολλαγόνο, καθιστώντας την επιρρεπή σε ρήξη. Παράλληλα, η επικοινωνία ανάμεσα στα T-λεμφοκύτταρα και άλλους κυτταρικούς τύπους που είναι παρόντες στην περιοχή της βλάβης ενισχύει την έκφραση του δυνητικά προφλεγμονώδους ιστικού παράγοντα. Με αυτό τον τρόπο, όταν επέρχεται ρήξη της

ινώδους κάψας, ο ιστικός παράγοντας επάγει τη θρόμβωση και μπορεί να οδηγήσει σε οξείες επιπλοκές της αθηροσκλήρωσης [21].



Σχήμα 1.1. Συνοπτική απεικόνιση της πορείας αθηρογένεσης. Παριστάνεται η εξέλιξη από ένα υγιές αγγείο (αριστερά) προς ένα αγγείο με αθηροσκληρωτική αλλοίωση (δεξιά). (Brian D Lamon and David P. Hajjar. Inflammation at the Molecular Interface of Atherogenesis: An Anthropological Journey. Am J Pathol, 2008, 173: 1253 – 1264).

1.2.2. ΒΛΑΒΕΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ

Οι βλάβες της αθηροσκλήρυνσης συχνά υποδιαιρούνται σε 3 κατηγορίες: τη λιπώδη γράμμωση, την ινώδη πλάκα και την προχωρημένη βλάβη. Η λιπώδης γράμμωση έχει σχηματιστεί από τη συσσώρευση μακροφάγων πλούσιων σε λιπίδια και λείων μυϊκών κυττάρων και μπορεί να είναι επίπεδη ή να προεξέχει ελαφρώς. Η λιπώδης γράμμωση εμφανίζεται στον άνθρωπο ήδη από τα πρώτα χρόνια της ζωής του και σπανίως εμποδίζει τη ροή του αίματος με αποτέλεσμα η παρουσία της να μη γίνεται αισθητή. Η λιπώδης γράμμωση μπορεί να εξελιχθεί σε ινώδη πλάκα αν και αυτό δεν αποτελεί κανόνα [24]. Η ινώδης πλάκα είναι το αποτέλεσμα της προοδευτικής συσσώρευσης λιπιδίων και της μετανάστευσης και πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών κυττάρων. Τα λεία μυϊκά κύτταρα ευθύνονται για την εναπόθεση εξωκυττάριου συνδετικού ιστού και το σχηματισμό ινώδους κάψας [25]. Η ινώδης πλάκα αποτελείται από έναν

πυρήνα εστέρων χοληστερόλης, υπολείμματα κυττάρων και κρυστάλλους χοληστερόλης, καθώς και από την ινώδη κάψα που συντίθεται από λεία μυϊκά κύτταρα, αφρώδη κύτταρα, κολλαγόνο και λιπίδια. Η ινώδης πλάκα προεξέχει προς το εσωτερικό του αυλού του αγγείου και συχνά παρακωλύει τη ροή του αίματος. Η ρήξη της ινώδους πλάκας μπορεί να οδηγήσει σε σχηματισμό θρόμβου και απόφραξη της αρτηρίας. Η ινώδης πλάκα συχνά εξελίσσεται σε προχωρημένη βλάβη η οποία αποφράσσει τον αυλό της αρτηρίας είτε εν μέρει είτε σε πλήρη βαθμό, με συνέπεια την ισχαιμία ή το έμφραγμα [24].

1.3. ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

1.3.1. ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ

Τα κύτταρα που εμπλέκονται στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης περιλαμβάνουν τα κύτταρα των αγγείων (ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα), τα μονοκύτταρα/μακροφάγα, τα λεμφοκύτταρα (T, B, NKT), τα δένδριτικά κύτταρα και τα μαστοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά ενεργοποιούνται και εκκρίνουν διαλυτούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων διαφόρων πεπτιδίων, γλυκοπρωτεϊνών, πρωτεασών και κυτταροκινών.

Το μονοπάτι του NF-κB είναι μια από τις κύριες οδούς σηματοδότησης που ενεργοποιείται ως απάντηση σε προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, συμπεριλαμβανομένων των TNF-α, IL-1, και IL-18 και άλλους παράγοντες. Η ενεργοποίηση αυτής της οδού διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στη φλεγμονή μέσω της ρύθμισης γονιδίων που κωδικοποιούν για προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, μόρια προσκόλλησης, χημειοκίνες, αυξητικούς παράγοντες και ένζυμα επαγωγής, όπως η COX2 και η iNOS.

Οι παράγοντες που επάγουν την παραγωγή κυτταροκινών στην αθηροσκλήρωση διακρίνονται σε πρωτογενείς και δευτερογενείς.

A. Πρωτογενείς παράγοντες (πίνακας 1.1)

Η αθηροσκλήρωση αναπτύσσεται παρουσία αυξημένων επιπέδων χοληστερόλης στο πλάσμα, όπως έχει βρεθεί σε πειραματόζωα και έχει καθιερωθεί στους ανθρώπους.

Παρόλο που η υπέρταση, ο διαβήτης και το κάπνισμα είναι παράγοντες που αυξάνουν δραματικά τον κίνδυνο αθηροσκλήρωσης, δεν είναι σπάνιο το φαινόμενο της αθηροσκλήρωσης απουσία τέτοιων παραγόντων κινδύνου. Αντίθετα, κάτω από ένα συγκεκριμένο επίπεδο χοληστερόλης (150 mg/dL), η αθηροσκλήρωση πρακτικά απουσιάζει σε ανθρώπινους πληθυσμούς και ο κίνδυνος αυξάνει βαθμιαία με την αύξηση των επιπέδων της χοληστερόλης στο πλάσμα. Επομένως, μπορεί να θεωρηθεί ότι ο πρωτογενής παράγοντας για την έκκριση κυτταροκινών στην αθηροσκλήρωση συνδέεται με τη χοληστερόλη. Η αθηρογόνος χοληστερόλη υπάρχει κυρίως με τη μορφή της LDL, η οποία είναι κυρίως υπεύθυνη για καρδιαγγειακά νοσήματα. Πράγματι, υπάρχουν πολλές ενδείξεις που υποστηρίζουν τη θεωρία ότι τα οξειδωμένα λιποειδή, συμπεριλαμβανομένης της οξειδωμένης LDL, είναι πιθανοί παράγοντες που πυροδοτούν την παραγωγή κυτταροκινών.

B. Δευτερογενείς παράγοντες (πίνακας 1.1)

Από τη στιγμή που έχει πυροδοτηθεί αρχικά η φλεγμονή, ένας αριθμός παραγόντων που εντοπίζονται στην αθηρωματική πλάκα μπορούν να συμμετάσχουν στη διατήρηση και την ενίσχυση της παραγωγής κυτταροκινών.

Παραδείγματα:

1. Προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες
2. Λιποκυτταροκίνες: Υπάρχουν πολλές ενδείξεις που συνδέουν την παχυσαρκία με την αθηροσκλήρωση. Ο λιπώδης ιστός είναι ένα δραστικό ενδοκρινές και παρακρινές όργανο που εκκρίνει ένα μεγάλο αριθμό κυτταροκινών βιοδραστικών μεσολαβητών, που προσδιορίζονται ως λιποκυτταροκίνες.

Πίνακας 1.1. Πρωτογενείς και δευτερογενείς παράγοντες που πυροδοτούν την απελευθέρωση κυτταροκινών στην αθηροσκλήρωση

Primary
bioactive lipid mediators
oxidized LDL
4-Hydroxy-2-nonenal (4HNE)
oxysterols
oxidized phospholipids
lyso-PC
oxidized 1-palmitoyl-2-archidonyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine
PAF
Secondary
Heat shock proteins
Immune complexes
Infectious agents
Defective clearance of apoptotic cells
MMPs
Inflammasome
Oxygen radicals
Angiotensin II
Advanced glycated end products
Proinflammatory cytokines
Toll-like receptor endogenous ligands
Mechanical factors
➤ Hypertension
➤ Disturbed flow
Adipokines
➤ Leptin
➤ Resistin
Platelet products

Οι κυτταροκίνες επιδρούν: 1) στη διαπερατότητα του ενδοθηλίου, 2) στην ενεργοποίηση της έκφρασης μορίων προσκόλλησης και χημειοκινών, 3) στην ρύθμιση της έκφρασης των υποδοχέων εκκαθάρισης και του μεταβολισμού των λιπιδίων, 4) στη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων, 5) στη ρύθμιση του ανασχηματισμού της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, 6) στην κινητοποίηση των προγονικών κυττάρων των αγγείων, 7) στη ρύθμιση του σχηματισμού νέων αγγείων, 8) στην επαγωγή της απόπτωσης, 9) στη ρύθμιση της

προθρομβωτικής δραστηριότητας και της ινωδόλυσης και 10) στη ρύθμιση της ανοσολογικής απάντησης [26].

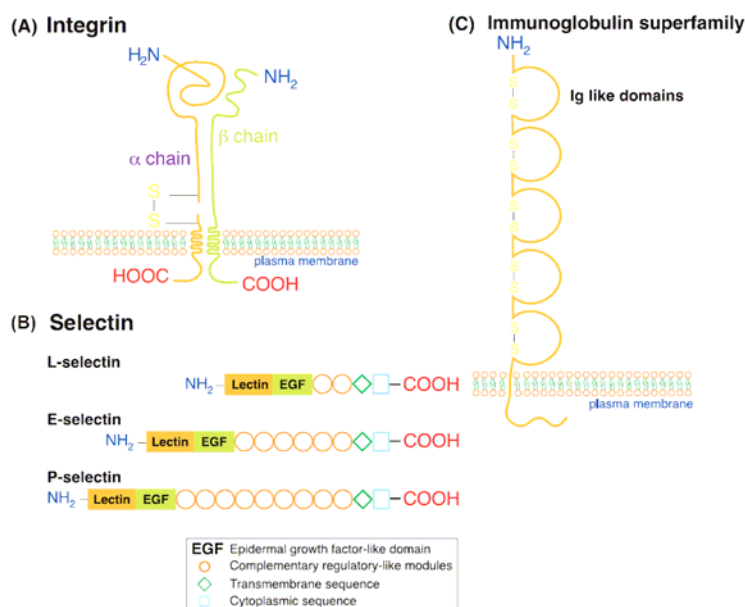
1.3.2. ΜΟΡΙΑ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ (σχήμα 1.2)

Ιντεγκρίνες. Είναι ετεροδιμερή μόρια που αποτελούνται από α και β υπομονάδες συνδεδεμένες με μη ομοιοπολικό τρόπο. Αυτά τα μόρια μεσολαβούν ένα ευρύ φάσμα αλληλεπιδράσεων μεταξύ κυττάρων και συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Υπάρχουν 3 υπο-οικογένειες ιντεγκρινών που παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον στο πλαίσιο της αθηρογένεσης: η υπο-οικογένεια β1, η β2 και η β3. Οι β1 ιντεγκρίνες φαίνεται ότι μεσολαβούν την κυτταρική προσκόλληση σε πρωτεΐνες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, όπως το κολλαγόνο και η φιβρονεκτίνη. Οι β2 ιντεγκρίνες εντοπίζονται αποκλειστικά στα λευκοκύτταρα και οι β3 ιντεγκρίνες βρίσκονται στα μεγακαρυοκύτταρα και τα αιμοπετάλια.

Η υπεροικογένεια του γονιδίου της ανοσοσφαιρίνης. Περιλαμβάνει μια σειρά πρωτεϊνών που μοιάζουν με ανοσοσφαιρίνες και αποτελούνται από 90 με 100 αμινοξέα. Δρουν ως συνδέτες των ιντεγκρινών που εκφράζονται στα λευκοκύτταρα και τα αιμοπετάλια επί των ενδοθηλιακών κυττάρων. Επίσης, αυτά τα μόρια συμμετέχουν στη μεταγωγή σήματος και την κυτταρική μετανάστευση από το ενδοαγγειακό διαμέρισμα. Ορισμένα από τα μέλη αυτής της ομάδας, όπως τα μόρια VCAM-1, ICAM-1 και -2 και PECAM εμπλέκονται στην αθηρογένεση. Η έκφραση του ICAM επάγεται από κυτταροκίνες, όπως ο TNF-α, η IFN-γ και η IL-1β ή από την προσκόλληση στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Η έκφραση του VCAM-1 επάγεται, επίσης, από την IL-1 και τον TNF-α. Το μόριο PECAM εκφράζεται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, των μονοκυττάρων, των ουδετεροφίλων και ορισμένων T-λεμφοκυττάρων. Επιπλέον, το μόριο PECAM συμμετέχει στη μετακίνηση των προσκολλημένων λευκοκυττάρων στον υποενδοθηλιακό χώρο.

Σελεκτίνες. Μεσολαβούν το πρώτο βήμα στην προσκόλληση των λευκοκυττάρων σε θέσεις φλεγμονής ή τραυματισμού και χαρακτηρίζεται από την ολίσθηση και τη δέσμευση των λευκοκυττάρων στην επιφάνεια του ενδοθηλίου, στα αιμοπετάλια ή σε άλλα λευκοκύτταρα. Έχουν αναγνωριστεί 3 είδη σελεκτινών: Η σελεκτίνη E, η οποία συντίθεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα ως απάντηση στην IL-1 και τον TNF-α, η

σελεκτίνη P που συντίθεται από τα μεγακαρυοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα και η σελεκτίνη L που εκφράζεται στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων [27].



Σχήμα 1.2. Γενική δομή των 3 τάξεων μορίων προσκόλλησης: Α) Ιντεγκρίνες, Β) Σελεκτίνες, Γ) Υπεροικογένεια ανοσοσφαιρινών. (Daniel T. Price, Joseph Loscalzo. Cellular Adhesion Molecules and Atherogenesis. The American Journal of Medicine, 1999, 107: 85 – 97.)

1.4. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΘΕΜΕΛΙΑΣ ΟΥΣΙΑΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΩΝ ΣΤΗΝ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗ

Τα μονοκύτταρα που μετακινούνται στον υποενδοθηλιακό χώρο αλληλεπιδρούν, πιθανόν, με συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, κυρίως το κολλαγόνο τύπου I, που αποτελεί σημαντικό συστατικό του φυσιολογικού αγγειακού τοιχώματος. Η ισχυρή αλληλεπίδραση ανάμεσα στα μονοκύτταρα και την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία είναι πιθανόν απαραίτητη προϋπόθεση για το σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων, αφού τα λιπίδια δε συσσωρεύονται σε μονοκύτταρα που δεν σχηματίζουν ισχυρές αλληλεπιδράσεις με ιστούς. Τα μόρια της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας συντίθενται από κύτταρα που εντοπίζονται στο αγγειακό τοίχωμα, όπως τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μακροφάγα και τα λεία μυϊκά κύτταρα. Οι αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες που εισέρχονται στον υποενδοθηλιακό χώρο συγκρατούνται μέσω ιοντικών αλληλεπιδράσεων που σχηματίζονται ανάμεσα σε θετικά φορτισμένες πλευρικές ομάδες των απολιποπρωτεϊνών τους (apo B and apoE) και αρνητικά φορτισμένων θεικών και καρβοξυλικών ομάδων που εντοπίζονται στις

αλυσίδες των γλυκοζαμινογλυκανών των εξωαγγειακών πρωτεογλυκανών ή αυτών που συνδέονται με αγγειακά κύτταρα.

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες της θεμέλιας ουσίας (MMP) είναι μια οικογένεια ενζύμων που αποτελείται από τουλάχιστον 16 ενδοπεπτιδάσες, οι οποίες καταλύουν αντιδράσεις κατά των συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Είναι απαραίτητες τόσο για την κυτταρική μετανάστευση όσο και για τον ανασχηματισμό των ιστών κάτω από φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις. Οι δράσεις των MMPs είναι σημαντικές για πολλές από τις διαδικασίες που εμπλέκονται στο σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας, όπως η διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων, η μετανάστευση των λείων μυϊκών κυττάρων και ο πολλαπλασιασμός τους, καθώς και η αγγειογένεση. Ίσως οι περισσότερο σοβαρές συνέπειες των δράσεων των MMPs είναι οι ανεπιθύμητες επιδράσεις στη σταθερότητα της αθηρωματικής πλάκας και η ανθεκτικότητά της στη ρήξη, κάτι που μπορεί να οδηγήσει σε ασταθή στηθάγχη, έμφραγμα του μυοκαρδίου και εγκεφαλικά επεισόδια [28].

1.5. ΘΕΩΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗ

Κάθε θεωρία για την αθηρογένεση δίνει έμφαση σε διαφορετικά γεγονότα τα οποία είναι αναγκαία και επαρκή για να υποστηρίξουν την ανάπτυξη αθηροσκληρωτικής βλάβης. Αυτές οι θεωρίες είναι:

- 1) η απάντηση στον τραυματισμό (response-to-injury)
- 2) η απάντηση στην κατακράτηση (response-to-retention)
- 3) η οξειδωτική τροποποίηση (oxidative modification)

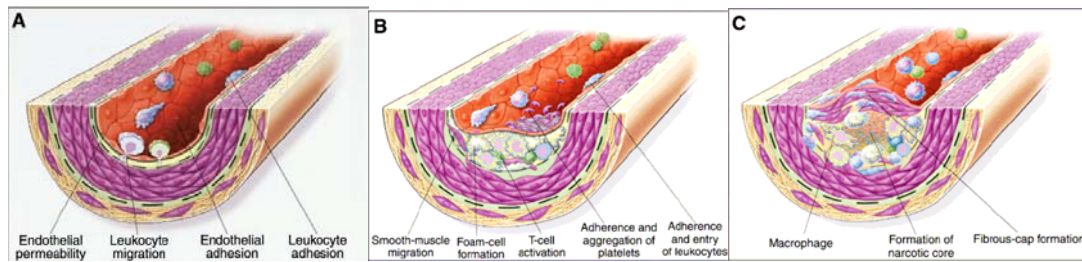
1.5.1. Η θεωρία της απάντησης στον τραυματισμό (response-to-injury hypothesis) από τους Ross και Glomset (σχήμα 1.3)

Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, το προτεινόμενο αρχικό βήμα για την αθηρογένεση είναι η «απογύμνωση» του ενδοθηλίου, η οποία οδηγεί σε έναν αριθμό αντισταθμιστικών απαντήσεων που μεταβάλλουν τις φυσιολογικές ομοιοστατικές ιδιότητες των αγγείων. Για παράδειγμα, ο τραυματισμός ενισχύει την ικανότητα του ενδοθηλίου να προσκολλά λευκοκύτταρα και αιμοπετάλια και προάγει τις προθρομβωτικές ιδιότητές του. Στη συνέχεια, τα προσκολλημένα λευκοκύτταρα και

αιμοπετάλια απελευθερώνουν κυτταροκίνες, αγγειοδραστικούς και αυξητικούς παράγοντες που προάγουν μια φλεγμονώδη απάντηση που χαρακτηρίζεται από τη μετακίνηση λείων μυϊκών κυττάρων στον έσω χιτώνα και τον πολλαπλασιασμό αυτών. Ένα άλλο συστατικό της φλεγμονώδους απάντησης είναι η συγκέντρωση μακροφάγων στο αρτηριακό τοίχωμα, τα οποία προσλαμβάνουν τα λιπίδια των LDL που έχουν εναποτεθεί στο αρτηριακό τοίχωμα και μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. Ο σχηματισμός των αφρώδων κυττάρων συνιστά το πρώτο στάδιο της αθηροσκληρωτικής αλλοίωσης.

Η διαδικασία της συσσώρευσης λιπιδίων και του σχηματισμού αφρώδων κυττάρων διαιωνίζει μια φλεγμονώδη απάντηση η οποία με τη σειρά της διαιωνίζει τη συσσώρευση μακροφάγων και λεμφοκυττάρων. Η συνεχιζόμενη φλεγμονή οδηγεί σε κυτταρική νέκρωση με απελευθέρωση κυτταροκινών, αυξητικών παραγόντων και πρωτεολυτικών ενζύμων που, με τη σειρά τους, επιτρέπουν την εξάπλωση της βλάβης. Καθώς η αλλοίωση επεκτείνεται, αρχίζει να καταλαμβάνει το χώρο του αρτηριακού αυλού, με αποτέλεσμα να περιορίζεται σταδιακά η ροή του αίματος.

Αυτή η θεωρία βασίστηκε αρχικά στην αντίληψη της απόπτωσης των κυττάρων του ενδοθηλίου ως πρωταρχικού γεγονότος στην αθηρογένεση. Πιο πρόσφατα, έχει καταστεί σαφές ότι η απόπτωση των κυττάρων του ενδοθηλίου δεν είναι συνήθης και ότι η αναπτυσσόμενη αθηροσκληρωτική αλλοίωση χαρακτηρίζεται από την παρουσία ανέπαφης ενδοθηλιακής στοιβάδας. Αυτό το εύρημα, μεταξύ άλλων, οδήγησε σε τροποποίηση της αρχικής θεωρίας. Ως εκ τούτου, η νέα εκδοχή προτείνει ότι η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου είναι επαρκής για την έναρξη της αθηρογένεσης, μέσω της αυξημένης ενδοθηλιακής διαπερατότητας σε αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες. Ωστόσο, αυτός ο ισχυρισμός παρουσιάζει επίσης προβλήματα, καθώς έχει βρεθεί ότι η είσοδος των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών στο αρτηριακό τοίχωμα ενδέχεται να μην εξαρτάται από τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου [29].



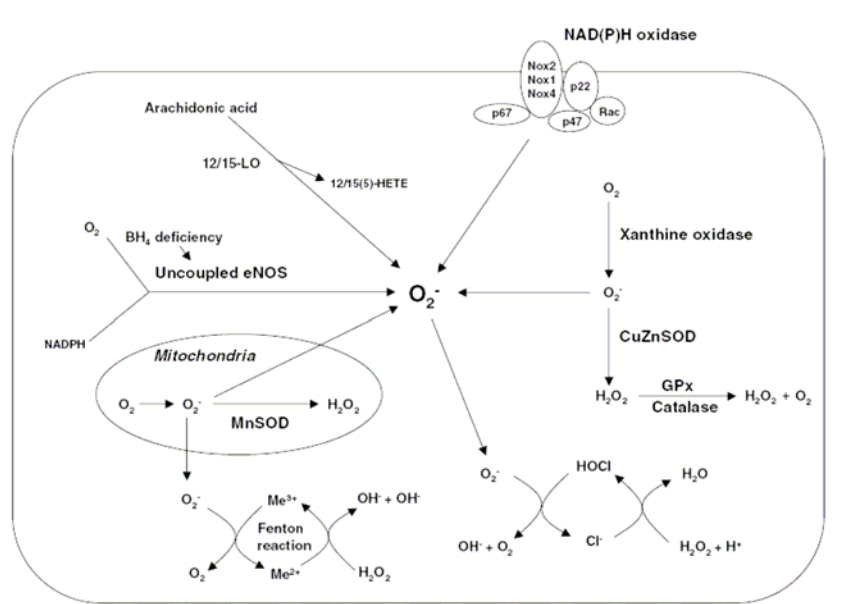
Σχήμα 1.3. Θεωρία «απάντησης στον τραυματισμό». (Α) Η αθηροσκλήρωση οφείλεται στον τραυματισμό ή τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, η οποία χαρακτηρίζεται από αυξημένη διαπερατότητα του ενδοθηλίου και την εναπόθεση LDL στον υποενδοθηλιακό χώρο και συνοδεύεται από την προσκόλληση λευκοκυττάρων και τη μετακίνησή τους διαμέσου του ενδοθηλίου. (Β) Στο ενδιάμεσο στάδιο, η αθηροσκλήρωση χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων και από μια φλεγμονώδη απάντηση, η οποία περιλαμβάνει την ενεργοποίηση των Τα-λεμφοκυττάρων, την προσκόλληση και συσσώρευση αιμοπεταλίων, την περαιτέρω είσοδο λευκοκυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα και τη μετακίνηση λείων μυϊκών κυττάρων στον έσω χιτώνα. (C) Σε προχωρημένο στάδιο, η αθηροσκλήρωση χαρακτηρίζεται από τη συνεχιζόμενη συσσώρευση μακροφάγων, το σχηματισμό ινώδους κάψας και νέκρωση στον πυρήνα της αλλοίωσης. (Roland Stocker and John F. Keaney, JR. Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. Physiological Reviews, 2004, 84: 1381 – 1478.)

1.5.1.1 ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ

Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου φαίνεται ότι είναι το πρώτο βήμα στην αθηρογένεση. Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου μπορεί να συμβεί ως απάντηση σε ποικίλα ερεθίσματα, όπως η οξειδωμένη LDL, οι ελεύθερες ρίζες που προέρχονται από το κάπνισμα, την υπέρταση, το διαβήτη, τις γενετικές μεταβολές, τις αυξημένες συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης στο πλάσμα και λοιμώδεις μικροοργανισμούς. Η ομοιοστασία του ενδοθηλίου διαταράσσεται και αυτό επηρεάζει τη διαπερατότητα, την αγγειοσυστολή, τη θρόμβωση και πυροδοτεί φλεγμονώδεις και ανοσολογικές απαντήσεις [30].

Ο όρος «δυσλειτουργία του ενδοθηλίου» χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στα μέσα της δεκαετίας του 1980. Στους ανθρώπους, η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου μπορεί να αξιολογηθεί με βιοχημικό τρόπο μέσω διαφόρων δεικτών, όπως τα μόρια προσκόλλησης, οι κυτταροκίνες και τα προστανοϊδή, του αίματος ή μέσω των λειτουργιών, όπως μέτρηση της ενδοθηλιοεξαρτώμενης διαστολής *in vitro* (δηλαδή σε απομονωμένες αρτηρίες) και *in vivo* ως απάντηση είτε σε αγωνιστές είτε σε μεταβολές της ροής του αίματος στην κυκλοφορία των στεφανιαίων ή στην περιφερική κυκλοφορία [31].

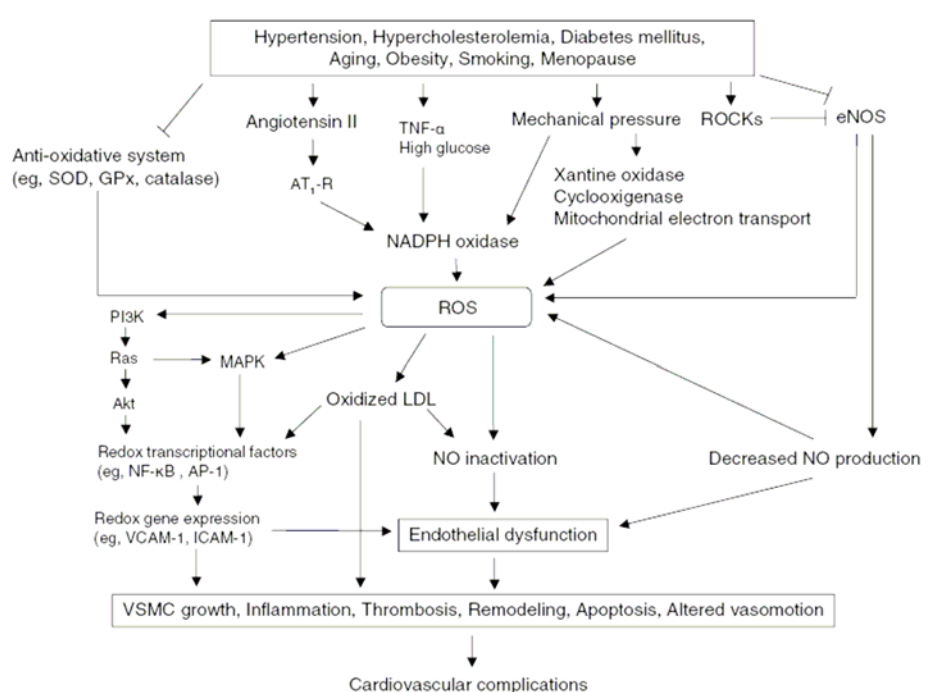
Φαίνεται ότι ο κυρίαρχος μηχανισμός στην πρόκληση της δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου είναι το οξειδωτικό στρες. Το οξειδωτικό στρες έχει οριστεί ως μια διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων κατά τέτοιο τρόπο ώστε να ευνοούνται οι πρώτοι με πιθανό αποτέλεσμα την πρόκληση βλάβης [29]. Οι δραστικές ρίζες οξυγόνου παράγονται από διάφορα ένζυμα, συμπεριλαμβανομένων της οξειδάσης του NADPH, της οξειδάσης της ξανθίνης, της ασύζευκτης συνθάσης του NO του ενδοθηλίου (eNOS), της κυκλοοξυγενάσης, της οξειδάσης της γλυκόζης και της λιποξυγενάσης, καθώς και κατά τη μεταφορά ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα (σχήμα 1.4). Οι δραστικές ρίζες οξυγόνου περιλαμβάνουν τα O_2^- , H_2O_2 , OH , $HOCl$, NO και $ONOO^-$. Τα O_2^- , OH και NO χαρακτηρίζονται ως ελεύθερες ρίζες με ασύζευκτα ηλεκτρόνια που διαθέτουν οξειδωτική ικανότητα. Τα H_2O_2 , $HOCl$ και $ONOO^-$ δεν κατατάσσονται στην κατηγορία των ελευθέρων ριζών, αλλά διαθέτουν οξειδωτική ικανότητα. Οι πηγές των ROS είναι διάφορα είδη κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των λείων μυϊκών κυττάρων των αγγείων, των ενδοθηλιακών κυττάρων και των μονοπύρηνων κυττάρων.



Σχήμα 1.4. Σύστημα παραγωγής και αποικοδόμησης δραστικών ριζών οξυγόνου στα αγγεία. SOD: SuperOxide Dismutase, GPx: Glutathione Peroxidase. (Yukihito Higashi, Kensuke Noma, Masao Yoshizumi, Yasuki Kihara. Endothelial Function and Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases. Circulation Journal 2009; 73: 411 – 418.)

Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις σύμφωνα με τις οποίες το οξειδωτικό στρες παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια και την ανάπτυξη των καρδιαγγειακών νοσημάτων,

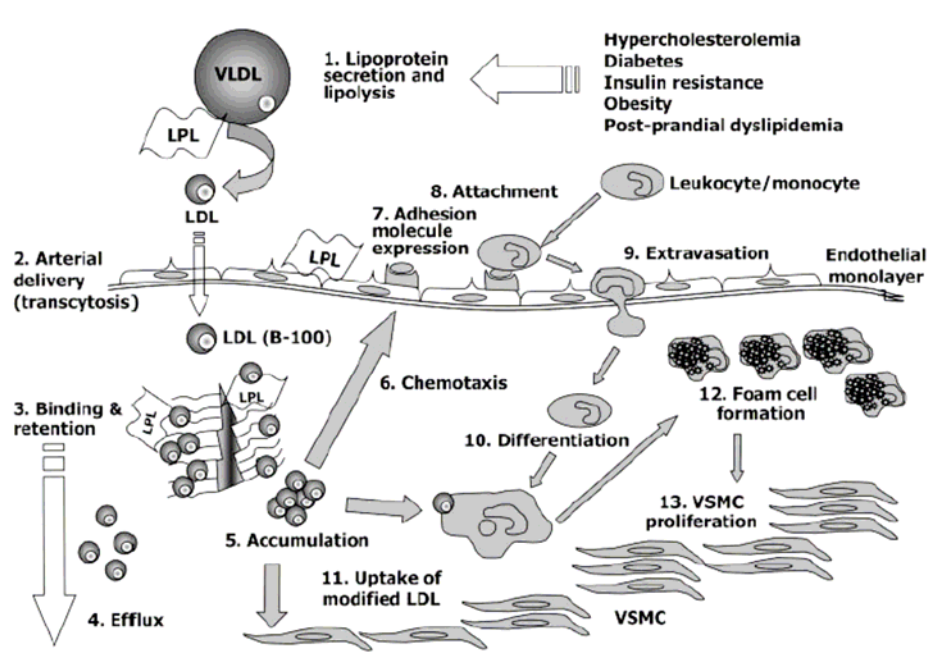
όπως της υπέρτασης, της δυσλιπιδαιμίας, του σακχαρώδους διαβήτη, της αθηροσκλήρωσης, του εμφράγματος του μυοκαρδίου, της στηθάγχης και της καρδιακής ανεπάρκειας. Το οξειδωτικό στρες επάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη υπερτροφία, την απόπτωση και τη φλεγμονή μέσω ενεργοποίησης αντιδράσεων μεταγωγής σήματος και μεταγραφικών παραγόντων. Η περίσσεια δραστικών ριζών οξυγόνου, ιδιαίτερα των ελευθέρων ριζών, προκαλεί την οξείδωση διαφόρων μορίων. Ολοένα αυξανόμενα δεδομένα αποκαλύπτουν μια αλληλεπίδραση ανάμεσα στο οξειδωτικό στρες και τη λειτουργία του ενδοθηλίου (σχήμα 1.5). Η αυξημένη παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου σε συνδυασμό με τη μειωμένη αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού θα μπορούσε να συμβάλει στη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου στα καρδιαγγειακά νοσήματα [32].



Σχήμα 1.5. Μηχανισμοί μέσω των οποίων οι ROS επάγουν τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. ROCK: Rho-associated kinase, HSP: Heat Shock Protein, HIF-1: hypoxia-induced factor-1, VEGF: vascular endothelial growth factor, PI3K: phosphatidyl-inositol-3-kinase, MAPK: mitogen-activated protein kinase, VSMC: vascular smooth muscle cell. (Yukihito Higashi, Kensuke Noma, Masao Yoshizumi, Yasuki Kihara. Endothelial Function and Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases. Circulation Journal 2009; 73: 411 – 418.)

1.5.2. Η θεωρία της απάντησης στην κατακράτηση (response-to-retention hypothesis) Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, η κατακράτηση των λιποπρωτεϊνών είναι το γεγονός που υποκινεί την αθηρογένεση (σχήμα 1.6). Η κατακράτηση των λιποπρωτεϊνών

εντός του αρτηριακού τοιχώματος φαίνεται ότι συνδέεται στενά με συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Τα δεδομένα υποστηρίζουν ένα σημαντικό ρόλο των πρωτεογλυκανών στην κατακράτηση των λιποπρωτεϊνών που φέρουν την απολιποπρωτεΐνη B, στα πρώιμα στάδια της αθηροσκλήρωσης. Επιπρόσθετα, ένζυμα που προάγουν τη λιπόλυση καθώς και λυσοσωμικά ένζυμα στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία φαίνεται ότι παίζουν ρόλο. Μάλιστα, η συσσωρευμένη LDL προσλαμβάνεται σε μεγάλη ποσότητα από τα μακροφάγα και τα λεία μυϊκά κύτταρα και έτσι υποστηρίζουν το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων.

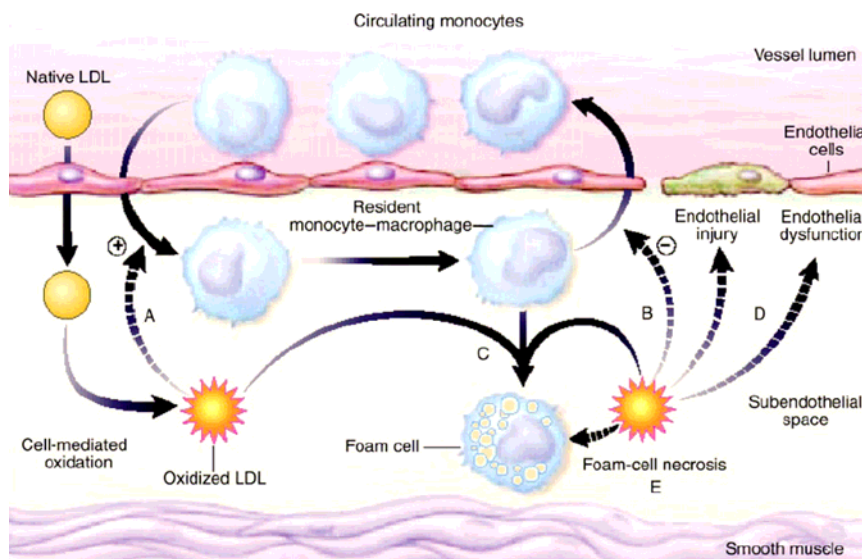


Σχήμα 1.6. Θεωρία «απάντησης στην κατακράτηση». Σύμφωνα με την αρχική θεωρία, η ήπια με μέτρια υπερλιπιδαιμία προκαλεί την ανάπτυξη αλλοίωσης σε συγκεκριμένες θέσεις των αρτηριών που χαρακτηρίζονται από την τοπική σύνθεση μορίων που κατακρατούν την apo-B100. Στο σχήμα απεικονίζονται τα αρχικά βήματα (1-5), τα οποία είναι η παραγωγή LDL σωματιδίων μέσω λιπόλυσης, η μετακίνηση αυτών διαμέσου της ενδοθηλιακής μονοστιβάδας, η δέσμευση και κατακράτησή τους από ειδικά μόρια του στηρικτικού ιστού του έσω χιτώνα, η εκροή και συσσώρευσή τους. Η συσσώρευση των σωματιδίων LDL θεωρείται ότι πυροδοτεί μια φλεγμονώδη απάντηση που χαρακτηρίζεται από τη χημειοταξία, την έκφραση μορίων προσκόλλησης επί των ενδοθηλιακών κυττάρων, την προσκόλληση λευκοκυττάρων και την είσοδό τους στον υποενδοθηλιακό χώρο, τη διαφοροποίηση των μονοκυττάρων, την πρόσληψη οξειδωμένης LDL, το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων και τον πολλαπλασιασμό λείων μυϊκών κυττάρων (6-13). (Roland Stocker and John F. Keaney, JR. Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. *Physiological Reviews*, 2004, 84: 1381 – 1478.)

1.5.3. Η θεωρία της οξειδωτικής τροποποίησης (oxidative modification hypothesis) (σχήμα 1.7)

Αυτή η θεωρία εστιάζει στην αντίληψη ότι η LDL δεν είναι αθηρογόνος στην αρχική της μορφή. Ωστόσο, όταν η LDL τροποποιείται χημικά προσλαμβάνεται γρήγορα από τα μακροφάγα μέσω υποδοχέων – εκκαθαριστών. Είναι πλέον σαφές ότι ένας μηχανισμός με τον οποίο τα κύτταρα *in vitro* καθιστούν την LDL υπόστρωμα για αυτούς τους υποδοχείς είναι η οξείδωση των λιπιδίων της LDL και η συνακόλουθη τροποποίηση της απολιποπρωτεΐνης B-100. Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, η LDL διέρχεται τον υποενδοθηλιακό χώρο των θέσεων της αρτηρίας που είναι επιρρεπείς σε αλλοίωση. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, τα λιπίδια της LDL υπόκεινται σε οξείδωση, με αποτέλεσμα οι ομάδες λυσίνης της απολιποπρωτεΐνης B-100 να τροποποιούνται και το καθαρό αρνητικό φορτίο του σωματιδίου της απολιποπρωτεΐνης να αυξάνει. Αυτή η τροποποίηση της απολιποπρωτεΐνης B-100 καθιστά την LDL επιρρεπή στην πρόσληψή της από τα μακροφάγα μέσω υποδοχέων – εκκαθαριστών, παράγοντας αφρώδη κύτταρα γεμάτα με εστέρες χοληστερόλης.

Η οξειδωμένη LDL προκαλεί χημειοταξία των μονοκυττάρων και των Τ-λεμφοκυττάρων, διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων και οδηγεί στην παραγωγή αυτό-αντισωμάτων και στο σχηματισμό ανοσολογικών συμπλεγμάτων που διευκολύνουν την πρόσληψη της LDL από τα μακροφάγα. Η συγκέντρωση φλεγμονωδών κυττάρων μπορεί να οδηγήσει στη συνεχιζόμενη οξείδωση της LDL και στην επέκταση της αθηροσκληρωτικής βλάβης.



Σχήμα 1.7. Θεωρία της οξειδωτικής τροποποίησης. Τα σωματίδια της LDL εγκλωβίζονται στον υποενδοθηλιακό χώρο όπου υφίσταται οξείδωση από κύτταρα του αγγείου, όπως λεϊκά μυϊκά κύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα και μακροφάγα. Η OxLDL (A) διεγείρει τη χημειοταξία των μονοκυττάρων, (B) εμποδίζει την έξοδο των μονοκυττάρων από τον υποενδοθηλιακό χώρο στην κυκλοφορία του αίματος και (C) συμβάλλει στο σχηματισμό αφρωδών κυττάρων. Επίσης, η OxLDL (D) επάγει τον τραυματισμό και τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και (E) επέρχεται η νέκρωση των αφρωδών κυττάρων εξαιτίας της συσσώρευσης OxLDL. (Roland Stocker and John F. Keaney, JR. Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. Physiological Reviews, 2004, 84: 1381 – 1478.)

Αν και κάθε μία θεωρία εστιάζει σε διαφορετικά αρχικά γεγονότα της αθηρογένεσης, υπάρχουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά μεταξύ αυτών των θεωριών:

- 1) Κάθε θεωρία περιλαμβάνει ένα σημαντικό συστατικό της φλεγμονής, η οποία αποτελεί χαρακτηριστικό στοιχείο της αθηροσκλήρωσης
- 2) Κάθε θεωρία περιλαμβάνει την LDL ως κεντρικό στοιχείο, έτσι ώστε η μείωση της LDL χοληστερόλης να αποτελεί σημαντικό μέσο για τη θεραπεία της αθηροσκλήρωσης [29].

1.6. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗ

Οι παράγοντες κινδύνου διακρίνονται στους τροποποιήσιμους και τους μη τροποποιήσιμους. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν:

- 1) ο σακχαρώδης διαβήτης ή η μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη (IGT).
- 2) η δυσλιποπρωτεϊναιμία (υψηλές συγκεντρώσεις LDL ή/ και VLDL στον ορό, χαμηλές συγκεντρώσεις HDL στον ορό και λόγος LDL: HDL > 3:1),
- 3) το κάπνισμα και

4) η υπέρταση

Αξίζει να σημειωθεί ότι 3 από τους 4 αυτούς παράγοντες αποτελούν συστατικά του μεταβολικού συνδρόμου.

Στους μη τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου, κατατάσσονται:

1) η ηλικία,

2) το φύλο,

3) το βεβαρημένο οικογενειακό ιστορικό,

4) γενετικές διαταραχές, όπως η οικογενής υπερχοληστερολαιμία

Επιπρόσθετα, διακρίνουμε τους νέους παράγοντες κινδύνου, οι οποίοι είναι η CRP, η ομοκυστεΐνη, το ινοδωγόνο και η λιποπρωτεΐνη (a) [25].

Άλλοι πιθανοί παράγοντες κινδύνου είναι:

1) Η παχυσαρκία και ιδιαίτερα η κεντρικού τύπου παχυσαρκία

2) Ο καθιστικός τρόπος ζωής

4) Η υψηλή πρόσληψη υδατανθράκων

5) Η πρόσληψη trans λιπαρών

6) Τα αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων στον ορό

8) Τα αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό

11) Η χρόνια συστηματική φλεγμονή, όπως εκτιμάται από διάφορους δείκτες

12) Το στρες ή συμπτώματα κατάθλιψης

13) Ο υπερθυρεοειδισμός

14) Τα αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης στον ορό

15) Η βραχεία διάρκεια ύπνου

16) Η λοίμωξη από *Chlamydia pneumoniae*

Από αυτούς του παράγοντες κινδύνου, οι αριθμοί 1, 6 και 14 αποτελούν συστατικά του μεταβολικού συνδρόμου [33].

1.7. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΤΗΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ

Η αθηροσκλήρυνση είναι μια διαταραχή που δεν ανιχνεύεται εύκολα, κυρίως επειδή εξελίσσεται αθόρυβα. Ένας αδρός δείκτης της εξέλιξης της αθηροσκλήρυνσης είναι τα αυξημένα επίπεδα της LDL χοληστερόλης, καθώς και η παρουσία άλλων παραγόντων κινδύνου. Υπάρχουν αρκετές διαταραχές που αποδίδονται στην αθηροσκλήρυνση, όπως η στηθάγχη, το έμφραγμα του μυοκαρδίου, η εγκεφαλική

ισχαιμία και άλλες. Η στηθάγχη αποδίδεται στην ισχαιμία του μυοκαρδίου. Το έμφραγμα του μυοκαρδίου περιγράφει την πλήρη ή σχεδόν πλήρη απόφραξη του στεφανιαίου αγγείου από τη θρόμβωση, την αιμορραγία ή την εξέλκωση μιας αθηροσκληρωτικής πλάκας ή την ακούσια μυϊκή σύσπαση μιας αρτηρίας. Το αποτέλεσμα μπορεί να είναι η καταστροφή του μυοκαρδίου ή ο ξαφνικός θάνατος. Η εγκεφαλική ισχαιμία αναφέρεται στην περιορισμένη ροή του αίματος στον εγκέφαλο εξαιτίας της αθηροσκλήρυνσης και μπορεί να περιλαμβάνει τις καρωτιδικές, υποκλείδιες, τις σπονδυλικές ή τις ενδοκρανιακές αρτηρίες. Ακόμη, η αθηροσκλήρυνση που εξελίσσεται στη νεφρική αρτηρία μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη υπέρτασης [24].

ΕΝΟΤΗΤΑ 2

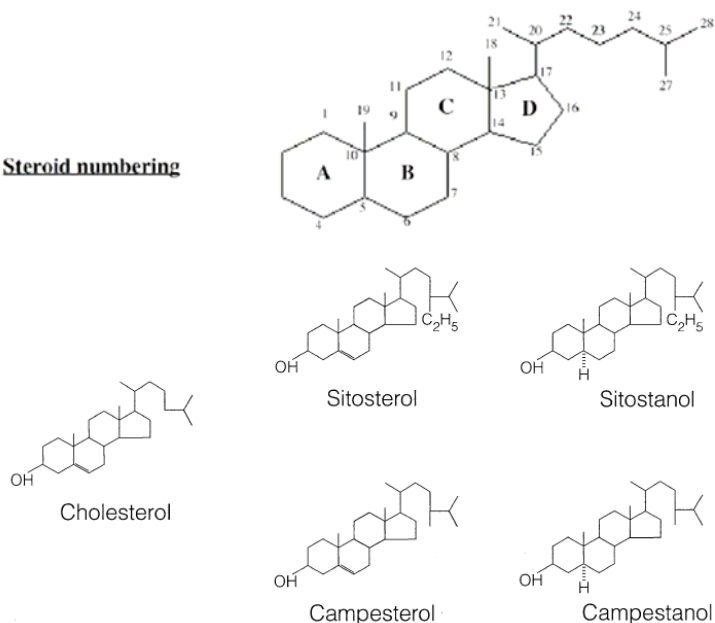
Διατροφή και θρεπτικά συστατικά που λειτουργούν ως προστατευτικοί ή επιβαρυντικοί παράγοντες στην αθηροσκλήρυνση

2.1. ΦΥΤΟΣΤΕΡΟΛΕΣ

2.1.1. ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ

Οι φυτοστερόλες εντοπίζονται στις μεμβράνες των φυτικών κυττάρων. Έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερες από 40 φυτικές στερόλες, αλλά εκείνες που απαντούν σε αφθονία και είναι αποτελεσματικότερες στη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης είναι η β-σιτοστερόλη, η καμπεστερόλη και η στιγμαστερόλη. Οι χημικές δομές των φυτοστερολών είναι παρόμοιες με αυτή της χοληστερόλης [34]. Η κύρια διαφορά μεταξύ της χοληστερόλης και των φυτοστερολών είναι η παρουσία μιας επιπλέον ομάδας μεθυλίου ή αιθυλίου ή ενός διπλού δεσμού στην πλευρική αλυσίδα [35]. Συγκεκριμένα, οι κύριες στερόλες των φυτών χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός ή δύο ατόμων άνθρακα στην πλευρική αλυσίδα, συνδεδεμένων στον C-24. Η καμπεστερόλη και η σιτοστερόλη φέρουν ομάδα μεθυλίου ή αιθυλίου, αντίστοιχα, συνδεδεμένη στον C-24. Η στιγμαστερόλη είναι περισσότερο ακόρεστη στην πλευρική αλυσίδα. Οι στανόλες είναι κορεσμένα μόρια που προέρχονται από την υδρογόνωση των στερολών και απαντούν σε μικρότερο βαθμό στη φύση [34]. Παραδείγματα φυτοστανολών αποτελούν η σιτοστανόλη, που προκύπτει από τη σιτοστερόλη και τη στιγμαστερόλη και η καμπεστανόλη, που προκύπτει από την καμπεστερόλη. Οι στανόλες δε φέρουν το Δ5 διπλό δεσμό στο δακτύλιο B (σχήμα 2.1).

Steroid numbering



Σχήμα 2.1. Χημικές δομές χοληστερόλης, σιτοστερόλης, καμπεστερόλης, σιτοστανόλης και καμπεστανόλης. (Alice H. Lichtenstein. Plant sterols and blood lipid levels. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 2002, 5: 147 - 152.)

2.1.2 ΠΗΓΕΣ ΦΥΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΟΛΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΝΟΛΩΝ

Η μόνη πηγή φυτοστερολών για τον άνθρωπο είναι μέσω της διατροφής [36]. Οι φυτοστερόλες εντοπίζονται σε όλα τα τρόφιμα φυτικής προέλευσης. Στα τρόφιμα, οι στερόλες βρίσκονται κατά κύριο λόγο σε ελεύθερη μορφή ή συνδεδεμένες με λιπαρά οξέα (εστεροποιημένες φυτοστερόλες) ή με υδατάνθρακες (γλυκοζίτες φυτοστερολών). Τα τρόφιμα με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φυτοστερόλες είναι τα φυτικά έλαια. Το ψωμί επειδή αποτελεί βασικό τρόφιμο της διατροφής, είναι μια σημαντική πηγή φυτοστερολών. Η περιεκτικότητα των λαχανικών σε φυτοστερόλες παρουσιάζει μεγάλη διακύμανση. Για παράδειγμα, το μπρόκολο είναι καλή πηγή φυτοστερολών, ενώ τα μπιζέλια περιέχουν σημαντικά χαμηλότερη ποσότητα. Η μαργαρίνη, τα φρούτα και οι ξηροί καρποί είναι σχετικά καλές πηγές φυτοστερολών. Η περιεκτικότητα των τροφίμων σε φυτοστερόλες φαίνεται ότι δεν επηρεάζεται κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας τους, όπως με το μαγείρεμα. Αντίθετα, μειώνεται κατά 10 με 70% με τη βιομηχανική επεξεργασία [37].

Η διαιτητική πρόσληψη της χοληστερόλης στις Δυτικές χώρες είναι κατά μέσο όρο 400 mg/ημέρα, ενώ η διαιτητική πρόσληψη φυτικών στερολών κυμαίνεται από 150 με

350 mg/ημέρα ή υψηλότερα στην περίπτωση των χορτοφάγων. Η διαιτητική πρόσληψη φυτικών στερολών είναι συνήθως περίπου 50 mg/ημέρα [38]. Είναι προφανές ότι για την κατανάλωση 2 g φυτικών στερολών, η ποσότητα ορισμένων τροφίμων που πρέπει να καταναλωθεί είναι μεγάλη (μπρόκολο 4,8 kg, καρύδια 1,5 kg, σπόροι σησαμιού 500 g, ψωμί ολικής αλέσεως 100 φέτες κλπ). Για αυτόν τον λόγο, η ενσωμάτωσή τους σε λιπαρές ύλες, ιδιαιτέρως στις μαργαρίνες, επιτρέπει την υψηλότερη κατανάλωσή τους [39]. Η διαδικασία εστεροποίησης των φυτικών στερολών και στεανολών με ακόρεστα λιπαρά οξέα καθιστά αυτά τα συστατικά περισσότερο λιποδιαλυτά και έχει καταστήσει δυνατή την ενσωμάτωσή τους σε διάφορα τρόφιμα και ποτά, τα οποία είναι είτε πλήρη ή χαμηλά σε λιπαρά είτε ακόμη και άπαχα [34], [40].

2.1.3 ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΤΥΧΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΟΛΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΝΟΛΩΝ

Η εντερική απορρόφηση της χοληστερόλης είναι συνήθως περίπου 50%, αλλά πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχουν μεγάλες ατομικές διακυμάνσεις, με αποτέλεσμα η απορρόφηση της χοληστερόλης να κυμαίνεται από 30 με 80% [39], [41]. Αντίθετα, οι φυτοστερόλες απορροφώνται ελάχιστα από το έντερο (0.4–3.5%), με την απορρόφηση των φυτοστερολών να είναι ακόμη μικρότερη (0.02–0.3%) [42]. Αποτέλεσμα του χαμηλού ποσοστού απορρόφησης των φυτικών στερολών και στεανολών είναι η χαμηλή συγκέντρωση αυτών στο πλάσμα υγιών ατόμων, η οποία είναι μικρότερη από το 0,5% της συγκέντρωσης της χοληστερόλης πλάσματος. Αυτή η διαφορά αντανakλά τόσο το γεγονός ότι οι φυτοστερόλες απορροφώνται σε σημαντικά χαμηλότερο βαθμό από το έντερο σε σύγκριση με τη χοληστερόλη όσο και το γεγονός ότι μεγάλο μέρος της χοληστερόλης του πλάσματος προέρχεται από την ενδογενή σύνθεση, κυρίως στο ήπαρ [38]. Ωστόσο, το ποσοστό απορρόφησης των φυτοστερολών αυξάνει σε ασθενείς με σιτοστερολαιμία, μια σπάνια γενετική νόσο. Οι φυτοστερόλες που έχουν απορροφηθεί, κυκλοφορούν με τα σωματίδια των λιποπρωτεϊνών ως εστεροποιημένες ή μη μορφές. Οι φυτοστερόλες που δεν έχουν απορροφηθεί μπορεί να υποστούν μετατροπή από τα βακτήρια της εντερικής μικροχλωρίδας προς παραγωγή μεταβολιτών, όπως η κοπροστανόλη και η κοπροστανόνη. Οι φυτοστερόλες μπορεί να συσσωρευτούν στο ήπαρ, τα επινεφρίδια, τις ωοθήκες και τους όρχεις των ζώων. Αυτές οι παρατηρήσεις δείχνουν ότι οι

φυτοστερόλες μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως πρόδρομες ενώσεις για τη σύνθεση στεροειδών ορμονών [36].

2.1.4 ΥΠΟΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΟΛΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΝΟΛΩΝ

Η θεραπευτική χρήση των φυτικών στερολών και στανολών για τη μείωση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης έτυχε ιδιαίτερης προσοχής το έτος 2001, όταν στο πλαίσιο του προγράμματος NCEP έγινε σύσταση για την ημερήσια κατανάλωση 2 g φυτικών στερολών και στανολών παράλληλα με την εφαρμογή της δίαιτας TLC με στόχο τη μείωση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης [35]. Η αυξημένη χοληστερόλη είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο. Η δράση των φυτικών στερολών και στανολών στη μείωση των επιπέδων της χοληστερόλης είναι γνωστή από τη δεκαετία του 1950 [34]. Έχει βρεθεί ότι οι φυτικές στερόλες και στανόλες δρουν αποτελεσματικά τόσο σε ενήλικες με ήπια υπερχοληστερολαιμία όσο και σε παιδιά με ετερόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία [36].

Αναφορικά με την αποτελεσματική δοσολογία φυτικών στερολών και στανολών, υπάρχουν 2 δημοσιευμένες μελέτες που έχουν εξετάσει τις επιδράσεις από την πρόσληψη <1 g/ ημέρα εστέρων στανόλης και καμία από αυτές δεν έδειξε σημαντική μείωση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης σε σύγκριση με το εικονικό προϊόν. Σημαντική μείωση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης παρατηρήθηκε με δόσεις > 1,6 g/ ημέρα συγκριτικά με το εικονικό προϊόν. Ωστόσο, η μείωση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης με δόσεις των 2,3 και 3,2 g/ ημέρα δε διέφερε σημαντικά από τη μείωση που παρατηρήθηκε με τη δόση των 1,6 g/ημέρα. Οι Wester και συνεργάτες έδειξαν μια απότομη απόκριση με δόσεις που κυμαίνονται από 0,8 με 1,6 g/ ημέρα, η οποία, όμως, σταθεροποιείτο στο ύψος της δόσης των 2,2 g/ημέρα. Τα υπάρχοντα δεδομένα υποστηρίζουν την πρόταση ότι η βέλτιστη μείωση της LDL επιτυγχάνεται με πρόσληψη περίπου 2 g/ ημέρα και δε δικαιολογείται η χορήγηση δόσεων είτε <1 g είτε >3 g/ημέρα [38]. Η μείωση της χοληστερόλης του πλάσματος είναι δοσο-εξαρτώμενη για πρόσληψη φυτοστερολών από 1,5 έως 3 γραμμάρια και κυμαίνεται από 7 με 10% για την ολική χοληστερόλη και 8 με 15% για την LDL χοληστερόλη. Βραχυπρόθεσμα, η μείωση της LDL χοληστερόλης είναι συγκρίσιμη μεταξύ των

φυτοστερολών και των φυτοστανολών, αλλά μακροπρόθεσμα, η μείωση αυτή επιμένει μόνο με τις φυτοστανόλες [39].

Ένας αριθμός μελετών έχουν διεξαχθεί από τους Miettinen και συνεργάτες στο Πανεπιστήμιο του Ελσίνκι, με αποκορύφωμα την έκδοση το 1995 των αποτελεσμάτων της μελέτης North Karelia. Αυτή η μελέτη περιελάμβανε 153 άτομα με ήπια υπερχοληστερολαιμία που αντικατέστησαν 24 g/ ημέρα της συνήθους πρόσληψης λίπους με μαργαρίνη εμπλουτισμένη με εστέρα σιτοστανόλης για διάστημα 6 μηνών. Η μελέτη North Karelia παρείχε την επιστημονική βάση για την παραγωγή των εμπλουτισμένων προϊόντων Benecol, αρχικά στη Φινλανδία και στη συνέχεια, σε άλλες χώρες της Ευρώπης και της Βόρειας Αμερικής [38]. Τα εμπλουτισμένα με φυτικές στερόλες ή στανόλες τρόφιμα συνιστώνται σε άτομα με υπερχοληστερολαιμία, καθώς και σε εκείνους που ακολουθούν θεραπεία με στατίνες με σκοπό την αύξηση της αποτελεσματικότητας για τη μείωση της LDL χοληστερόλης [43].

Οι περισσότερες μελέτες έχουν ερευνήσει την αποτελεσματικότητα των εστεροποιημένων φυτικών στερολών που περιέχονται σε μαργαρίνες. Άλλες μελέτες έχουν ερευνήσει την επίδραση διαφορετικών τροφίμων – φορέων, όπως το γάλα, το γιαούρτι, το ψωμί και τα δημητριακά. Οι Clifton και συνεργάτες έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι η ολική και η LDL χοληστερόλη του ορού μειώνονται σημαντικά όταν οι φυτοστερόλες έχουν προστεθεί στο γάλα (8,7% και 15,9%) και το γιαούρτι (5,6% και 8,6%), αλλά σε σημαντικά μικρότερο βαθμό όταν έχουν προστεθεί στο ψωμί (6,5%) και τα δημητριακά (5,4%) [44]. Οι φυτικές στερόλες και στανόλες προστίθενται, πλέον, και σε τρόφιμα εκτός των προϊόντων επάλειψης, συμπεριλαμβανομένων του χαμηλού σε λιπαρά γάλακτος, των αρτοσκευασμάτων, του χυμού πορτοκαλιού, των δημητριακών, των άπαχων και χαμηλών σε λιπαρά ροφημάτων και ορισμένων προϊόντων σοκολάτας. Σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση βρέθηκε ότι τα επίπεδα της LDL μειώθηκαν κατά 0,33 mmol/L, 0,32 mmol/L, 0,34 mmol/L και 0,20 mmol/L με την κατανάλωση προϊόντων επάλειψης, μαγιονέζας, γαλακτοκομικών προϊόντων και άλλων, αντίστοιχα, συγκριτικά με τον έλεγχο. Φαίνεται ότι η φύση του τροφίμου όπου προστίθενται οι φυτοστερόλες μπορεί να επηρεάσει τη δραστηριότητά τους στη μείωση της χοληστερόλης [45]. Στο σημείο

αυτό θα πρέπει να σημειωθεί ότι τα ευρήματα από μελέτη των Mensink και συνεργατών έχουν δείξει ότι η περιεκτικότητα σε ολικό λίπος του τροφίμου που επιλέγεται για να εμπλουτιστεί με φυτικές στερόλες και στανόλες δεν επηρεάζει την επίδραση αυτών των συστατικών στη μείωση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης [38]. Τέλος, θα πρέπει να παρατηρήσουμε ότι οι φυτικές στερόλες μπορούν να επιφέρουν μια επιπρόσθετη και σημαντική μείωση στη συγκέντρωση της χοληστερόλης του ορού, στην περίπτωση που ήδη εφαρμόζεται δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος [45].

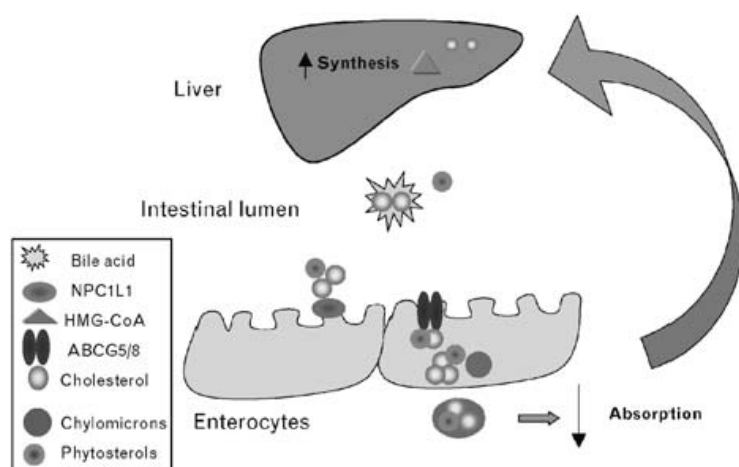
2.1.5 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΟΛΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΝΟΛΩΝ

Οι κύριοι μηχανισμοί δράσης που έχουν προταθεί για την εξήγηση της μείωσης της χοληστερόλης από τις φυτικές στερόλες και στανόλες είναι η μείωση της απορρόφησης της χοληστερόλης, η αύξηση της απέκκρισης της χοληστερόλης και η αύξηση της απέκκρισης των χολικών οξέων. Οι φυτικές στερόλες θεωρείται ότι έχουν μεγαλύτερη συγγένεια για τα μικύλλια του εντέρου συγκριτικά με τη χοληστερόλη, με αποτέλεσμα την εκτόπιση της τελευταίας από τα σωματίδια και τη μείωση του ποσοστού απορρόφησής της [35]. Η μείωση της εντερικής απορρόφησης της χοληστερόλης που προκαλείται από την κατανάλωση φυτικών στερολών και στανολών, έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη παρουσία της χοληστερόλης στα χυλομικρά της κυκλοφορίας. Ο οργανισμός για να αποκαταστήσει την ομοιόσταση της χοληστερόλης ενεργοποιεί διάφορους αντισταθμιστικούς μηχανισμούς. Για παράδειγμα, τα κύτταρα μπορεί να αυξήσουν την ενδογενή σύνθεση χοληστερόλης ή τη μεσολαβούμενη από υποδοχείς πρόσληψη των λιποπρωτεϊνών της κυκλοφορίας, όπως των IDLs και των LDLs. Τα σωματίδια LDL της κυκλοφορίας προσλαμβάνονται από ειδικό υποδοχέα, ο οποίος ρυθμίζεται μεταγραφικά από τις χαμηλές συγκεντρώσεις ελεύθερων κυτταρικών στερολών, εκκινώντας την ενεργοποίηση των πρωτεϊνών SREBPs [46]. Επομένως, παρά την αντισταθμιστική αύξηση της ενδογενούς σύνθεσης χοληστερόλης, η συγκέντρωση της χοληστερόλης στον ορό μειώνεται.

Ο προτεινόμενος μηχανισμός δράσης των φυτικών στερολών και στανολών υποδηλώνει ότι θα πρέπει να καταναλώνονται σε κάθε γεύμα που περιέχει χοληστερόλη με σκοπό την επίτευξη μέγιστης αποτελεσματικότητας. Ωστόσο, έχει

βρεθεί ότι η κατανάλωση 2,5 g εστέρων φυτικών στανολών μόνο στη διάρκεια του μεσημεριανού φαγητού είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της LDL χοληστερόλης σε επίπεδα παρόμοια με εκείνα μετά από την κατανάλωση της ίδιας ποσότητας εστέρων φυτικών στανολών μοιρασμένης σε 3 γεύματα. Βάσει αυτού του αποτελέσματος, δεν είναι απαραίτητη η κατανάλωση φυτικών στερολών και στανολών σε κάθε γεύμα ή ταυτόχρονα με την πρόσληψη χοληστερόλης. Το γεγονός ότι οι φυτικές στερόλες και στανόλες μειώνουν τις συγκεντρώσεις της LDL χοληστερόλης στον ορό αποτελεσματικά, όταν καταναλώνονται μια φορά την ημέρα, δείχνει ότι η μειωμένη ενσωμάτωση της χοληστερόλης στα μικύλλια δεν είναι ο μοναδικός μηχανισμός δράσης τους [46].

Πολλές μελέτες παρέχουν σημαντικές ενδείξεις για διάφορους μηχανισμούς δράσης των φυτοστερολών και φυτοστανολών στη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης του πλάσματος [42]. Οι φυτοστερόλες μπορούν να ρυθμίσουν τη δράση σημαντικών μεταφορέων που εμπλέκονται στην απορρόφηση της χοληστερόλης (σχήμα 2.2) [45].



Σχήμα 2.2. Οι φυτοστερόλες μειώνουν την απορρόφηση της χοληστερόλης, εκτοπίζοντας την από μικύλλια ή μειώνοντας την πρόσληψή της από τα εντεροκύτταρα μέσω του μεταφορέα NPC1L1 (Neimann Pick C1 Like 1). Επίσης, οι φυτοστερόλες αυξάνουν την απέκκριση της χοληστερόλης μέσω του εντερικού αυλού, με τη βοήθεια των μεταφορέων ABCG5 και ABCG8 (adenosine triphosphate binding cassette). Επιπρόσθετα, οι φυτοστερόλες εμποδίζουν την εστεροποίηση της ελεύθερης χοληστερόλης και την ενσωμάτωσή τους στα χυλομικρά. Συνέπεια της μειωμένης απορρόφησης χοληστερόλης είναι η αύξηση του ρυθμού σύνθεσής της στο ήπαρ, αλλά το καθαρό αποτέλεσμα είναι η μείωση των επιπέδων LDL-χοληστερόλης. (Peter J.H. Jones and Suhad S. AbuMweis. Phytosterols as functional food ingredients: linkages to cardiovascular disease and cancer. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care 2009, 12: 147 – 151.)

Συνοψίζοντας όσα αναφέραμε για την υποχοληστερολαιμική δράση των φυτικών στερολών και στανολών, σημειώνουμε τα ακόλουθα συμπεράσματα:

- 1) Πολυάριθμες μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την ικανότητα των φυτοστερολών να μειώνουν την LDL χοληστερόλη, χωρίς να μεταβάλουν σημαντικά την HDL χοληστερόλη ή τα τριγλυκερίδια.
- 2) Οι επιδράσεις είναι εξίσου θετικές τόσο σε ανθρώπους με φυσιολογικά επίπεδα χοληστερόλης όσο και σε υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς.
- 3) Οι περισσότερες μελέτες με φυτοστερόλες έχουν χρησιμοποιήσει ως τρόφιμο – φορέα προϊόντα επάλειψης. Όπως έχει φανεί, διαφορετικά είδη τροφίμων – φορέων, συμπεριλαμβανομένων και εκείνων με χαμηλά λιπαρά, έχουν, επίσης, αποδειχθεί αποτελεσματικά.
- 4) Αν το τρόφιμο-φορέας καταστήσει δυνατή τη διαλυτοποίηση και την ενσωμάτωση των φυτοστερολών στα μικύλλια, τόσο οι στερόλες όσο και οι στανόλες είναι αποτελεσματικές, όπως επίσης και οι εστέρες τους όταν διαλυτοποιούνται στη λιπαρή φάση του τροφίμου.
- 5) Η κατανάλωση φυτικών ελαίων με υψηλή συγκέντρωση φυτοστερολών (χωρίς προσθήκη) οδηγεί σε σημαντική μείωση της απορρόφησης της χοληστερόλης και μπορεί να εξηγήσει, εν μέρει, το λόγο για τον οποίο ορισμένα έλαια μειώνουν τη χοληστερόλη περισσότερο από άλλα.
- 6) Η δράση των φυτοστερολών ενισχύει αυτή των στατινών και των φιβρατών και μπορούν να χρησιμοποιούνται ως συμπληρωματική θεραπεία, όταν απαιτείται φαρμακευτική αντιμετώπιση [47].

2.1.6 ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΟΛΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΝΟΛΩΝ

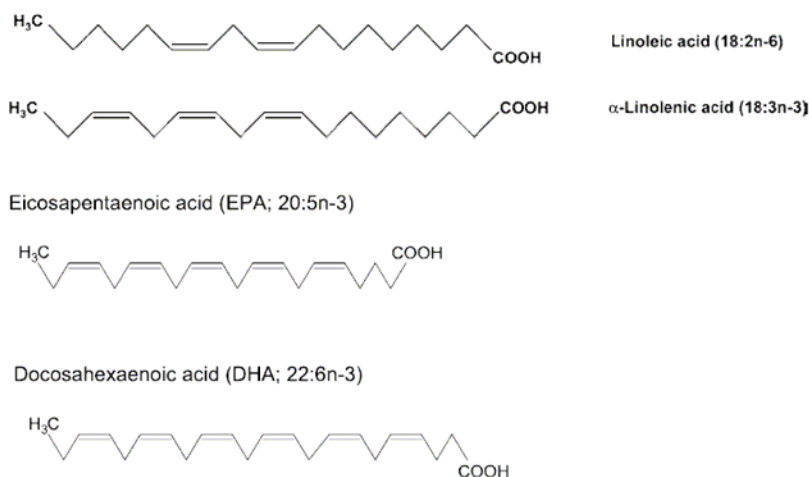
Δεν έχει σημειωθεί καμία ανεπιθύμητη επίδραση με την κατανάλωση μέχρι 9 g/ημέρα φυτοστερολών για διάστημα 8 εβδομάδων ή μικρότερων δόσεων που λαμβάνονται για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα. Επειδή οι φυτικές στερόλες και στανόλες παρεμβαίνουν στην απορρόφηση των λιποδιαλυτών βιταμινών και των καροτενοειδών, σε μερικές μελέτες έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα της α-τοκοφερόλης, του α-καροτενίου και του β-καροτενίου μειώθηκαν μετά από την κατανάλωση φυτικών στερολών. Ωστόσο, μετά από διόρθωση για τη μείωση των επιπέδων της ολικής χοληστερόλης καθώς και των επιμέρους λιποπρωτεϊνών χοληστερόλης, οι

συγκεντρώσεις αυτών των βιταμινών δεν παρουσίαζαν μεταβολή. Άλλες μελέτες έδειξαν χαμηλότερα επίπεδα trans-β-καροτενίου μετά από διόρθωση για τις συγκεντρώσεις της ολικής χοληστερόλης, χαμηλότερα επίπεδα α-καροτενίου μετά από διόρθωση για τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης και χαμηλότερα επίπεδα β-καροτενίου στο πλάσμα μετά από διόρθωση για τα λιπίδια του πλάσματος [48]. Σε αρκετές μελέτες έχει βρεθεί ότι οι φυτικές στερόλες και στανόλες σχετίστηκαν με μείωση των επιπέδων των καροτενοειδών στο πλάσμα, αλλά όχι των επιπέδων της ρετινόλης του πλάσματος. Αυτό το εύρημα δεν προκαλεί έκπληξη δεδομένου ότι τα καροτενοειδή μεταφέρονται με τις λιποπρωτεΐνες, ενώ η ρετινόλη όχι [46]. Γενικά, φαίνεται ότι η συγκέντρωση των λιποδιαλυτών καροτενοειδών, όπως του α-καροτενίου, του β-καροτενίου και του λυκοπενίου, στον ορό μειώνεται σε ένα βαθμό λόγω της υψηλής πρόληψης φυτικών στερολών και στανολών. Ωστόσο, οι λιποδιαλυτές βιταμίνες, A, D και E δεν επηρεάζονται με τον ίδιο τρόπο. Η αρνητική επίδραση επί της συγκέντρωσης των καροτενοειδών θα πρέπει να αντιμετωπίζεται με την αύξηση της πρόσληψης φρούτων και λαχανικών [37].

2.2. Ω3 ΚΑΙ Ω6 ΠΟΛΥΑΚΟΡΕΣΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

2.2.1. ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ, ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ, ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ, ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

Τα ω3 και ω6 λιπαρά οξέα είναι απαραίτητα επειδή δε συντίθενται από τον ανθρώπινο οργανισμό και θα πρέπει να λαμβάνονται με τη διατροφή ή από συμπληρώματα. Τα απαραίτητα ω6 και ω3 λιπαρά οξέα είναι το λινελαϊκό οξύ (18 άτομα άνθρακα με 2 δδ) και το α-λινολενικό οξύ (18 άτομα άνθρακα με 3δδ), αντίστοιχα. Η δομή των κυριότερων ω6 και ω3 λιπαρών οξέων παρουσιάζονται στο σχήμα 2.3 [49].



Σχήμα 2.3. Χημική δομή των απλούστερων ω6 και ω3 λιπαρών οξέων, λινελαϊκό και α-λινολενικό οξύ, αντίστοιχα, καθώς και των σημαντικότερων ω3 λιπαρών οξέων με μακριά ανθρακική αλυσίδα. (Tricia L. Psota, Sarah K. Gebauer, and Penny Kris-Etherton. Dietary Omega-3 Fatty Acid Intake and Cardiovascular Risk. *The American Journal of Cardiology*, 2006, 98: 3i – 18i.)

Το α-λινολενικό οξύ είναι παρόν στους σπόρους και τα έλαια, τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, τους ξηρούς καρπούς και τα μπιζέλια. Το λινελαϊκό οξύ εντοπίζεται στα δημητριακά, στα κρέατα και τους σπόρους των περισσότερων φυτών [50]. Η κύρια διαιτητική πηγή αραχιδονικού οξέος είναι το κρέας και τα προϊόντα του και η εκτιμώμενη πρόσληψη αυτού του λιπαρού οξέος στους ενήλικες κυμαίνεται από 50 με 300 mg/ ημέρα [51]. Τα λιπαρά ψάρια, όπως ο σολωμός, το σκουμπρί, η ρέγγα, η πέστροφα, οι σαρδέλες και ο τόνος και τα έλαια ψαριών είναι πλούσιες πηγές ω3 λιπαρών οξέων, ιδιαιτέρως του EPA και του DHA [50]. Τα λιπαρά ψάρια αποθηκεύουν το λίπος τους στη σάρκα με τη μορφή τριακυλογλυκερολών, σε αντίθεση με τα άπαχα, τα οποία αποθηκεύουν το λίπος στο ήπαρ με τη μορφή τριακυλογλυκερολών. Διαφορετικά λιπαρά ψάρια περιέχουν διαφορετικές ποσότητες ω3 λιπαρών οξέων. Αυτή η διαφορά σχετίζεται με τις διατροφικές συνήθειες και τα χαρακτηριστικά του μεταβολισμού του ψαριού, καθώς και με την εποχή, τη θερμοκρασία του νερού, τη φάση του αναπαραγωγικού κύκλου και άλλα [51].

Στους ανθρώπους, το 2% με 5% του ALA μπορεί να μετατραπεί σε EPA και <1% αυτού μετατρέπεται σε DHA [48]. Συνεπώς, απουσία λιπαρών ψαριών και ιχθυελαίων από τη διατροφή, το ALA είναι μακράν το κυριότερο ω3 λιπαρό οξύ της διατροφής. Ωστόσο, επειδή η μετατροπή του ALA στα μακρύτερης ανθρακικής

αλυσίδας παράγωγά του δεν είναι καθόλου αποτελεσματική στους ενήλικες και ιδιαίτερος στους άνδρες προκύπτει ότι μόνο η απ' ευθείας κατανάλωση των EPA και DHA μπορεί να αυξήσει εύκολα τα επίπεδα αυτών στους ιστούς του ανθρώπου [51]. Ένα από τα βασικά ένζυμα στο μεταβολισμό των απαραίτητων λιπαρών οξέων είναι η Δ-6-ακορεσάση η οποία αναγνωρίζει και μεταβολίζει το λινελαϊκό και το α-λινολενικό οξύ, παράγοντας γ-λινολενικό και οκταδεκατετραενοϊκό (στεαριδονικό) οξύ, αντίστοιχα. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι το προτιμώμενο υπόστρωμα για το συγκεκριμένο ένζυμο είναι το λινελαϊκό οξύ. Στη συνέχεια, λαμβάνει χώρα ένας κύκλος επιμήκυνσης και μείωσης του βαθμού κορεσμού με τη δράση του ενζύμου Δ-5-ακορεσάση, παράγοντας αραχιδονικό οξύ (20:4 ω6) και EPA (20:5 ω3) από το λινελαϊκό και το α-λινολενικό οξύ, αντίστοιχα [52]. Στα θηλαστικά, η διαδικασία της επιμήκυνσης και της μείωσης του κορεσμού λαμβάνει χώρα κυρίως στο ήπαρ [51]. Στα θηλαστικά, δύο κύκλοι επιμήκυνσης και ένας κύκλος μείωσης του βαθμού κορεσμού από το ένζυμο Δ-6-ακορεσάση σχηματίζουν το τετρακοσαεξαενοϊκό οξύ (24:6 ω3) και το τετρακοσαπενταενοϊκό οξύ (24:5 ω6). Αυτά τα δύο πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μεταφέρονται από το ενδοπλασματικό δίκτυο στα υπεροξυσώματα όπου υπόκεινται στη β-οξειδωση και σχηματίζουν το DHA (22:6 ω3) και το δοκοσαπενταενοϊκό οξύ (22:5 ω6), τα οποία επιστρέφουν στο ενδοπλασματικό δίκτυο (σχήμα 2.4) [52].



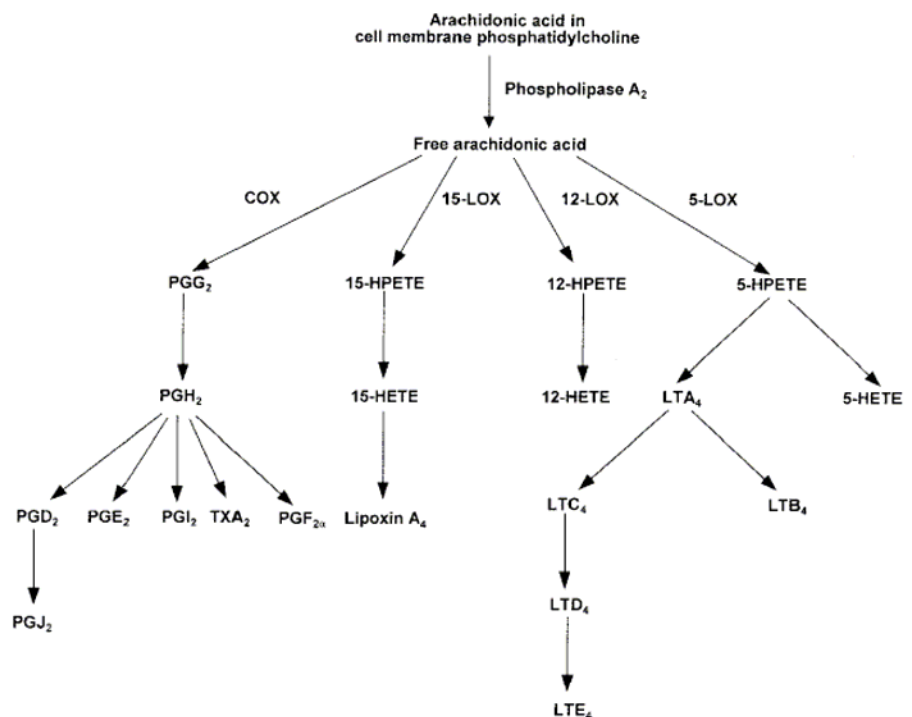
Σχήμα 2.4. Πορεία μετατροπής του λινελαϊκού και α-λινολενικού οξέος σε παράγωγα μακρύτερης ανθρακικής αλυσίδας. (Gian Luigi Russo. Dietary n - 6 and n - 3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. Biochemical pharmacology, 2009, 77: 937 – 946.)

2.2.2 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ Ω3 PUFAs

Τα μακριάς ανθρακικής αλυσίδας (20 και 22 άτομα άνθρακα) ω3 και ω6 λιπαρά οξέα – AA, EPA και DHA – είναι βιολογικώς δραστικότερα συγκριτικά με το λινελαϊκό και το α-λινολενικό οξύ [49]. Ορισμένες από τις δράσεις αυτών παρουσιάζονται στη συνέχεια.

Σύνθεση εικοσανοειδών

Τα EPA και DHA είναι πρόδρομες ενώσεις για μια ομάδα εικοσανοειδών που διαθέτουν αντιφλεγμονώδη, αντιθρομβωτική, αντιαρρυθμική και αγγειοδιασταλτική δράση. Αντίθετα, το AA είναι πρόδρομη ένωση για μια διαφορετική ομάδα εικοσανοειδών που διαθέτουν προφλεγμονώδεις και προθρομβωτικές ιδιότητες (σχήμα 2.5) [50].

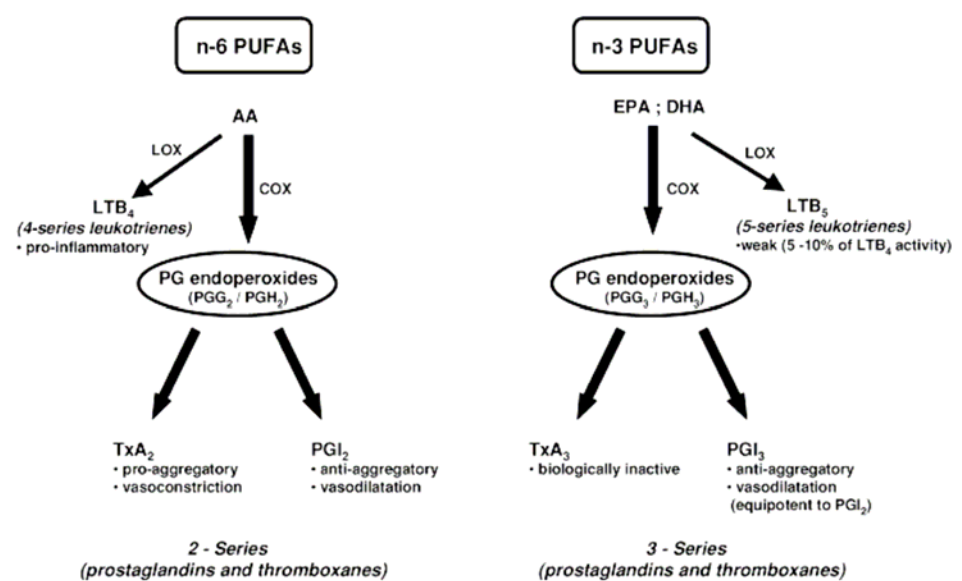


Σχήμα 2.5. Πορεία βιοσύνθεσης εικοσανοειδών από το αραχιδονικό οξύ. (Maggie B. Covington. Omega-3 Fatty Acids. American Family Physician, 2004, 70: 133 - 140.)

Τα EPA και DHA μπορούν να δράσουν ως εναλλακτικά υποστρώματα για το ενζυμικό σύμπλοκο τόσο της κυκλοοξυγενάσης όσο και της λιποξυγενάσης, με αποτέλεσμα την παραγωγή της σειράς 3 των προσταγλανδινών και θρομβοξανών, όπως τα PGE₃, PGI₃ και TXA₃, καθώς και της σειράς 5 των λευκοτριενίων, όπως το LTB₅, αντίστοιχα (σχήμα 2.6) [53]. Οι προσταγλανδίνες σειράς 2 και τα λευκοτριένια σειράς 4, που προέρχονται από το AA ασκούν προφλεγμονώδεις δράσεις [52] και περιλαμβάνουν τους αγγειοδιαστολείς προσταγλανδίνη E₂ (PGE₂) και προστακυκλίνη 2 (PGI₂), τη θρομβοξάνη A₂ (TXA₂) που προκαλεί συσσώρευση των αιμοπεταλίων και αγγειοσύσπαση και το λευκοτριένιο B₄ (LTB₄) που δρα ως χημειοτακτικό μόριο και παράγοντας προσκόλλησης για τα λευκοκύτταρα. Επίσης, ο PGI₂ αναστέλλει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων [54].

Πρόσφατες μελέτες έχουν αναγνωρίσει μια νέα ομάδα μεσολαβητών, που αποδίδονται με τον όρο ρεζολβίνες. Οι ρεζολβίνες σειράς E σχηματίζονται από το EPA μέσω της COX-2 και φαίνεται ότι ασκούν αντιφλεγμονώδη δράση. Τέλος, οι ρεζολβίνες σειράς D, καθώς και τα δοκοσατριένια και οι νευροπροτεκτικές

παράγονται από το DHA μέσω της COX-2 και φαίνεται ότι διαθέτουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες [55].



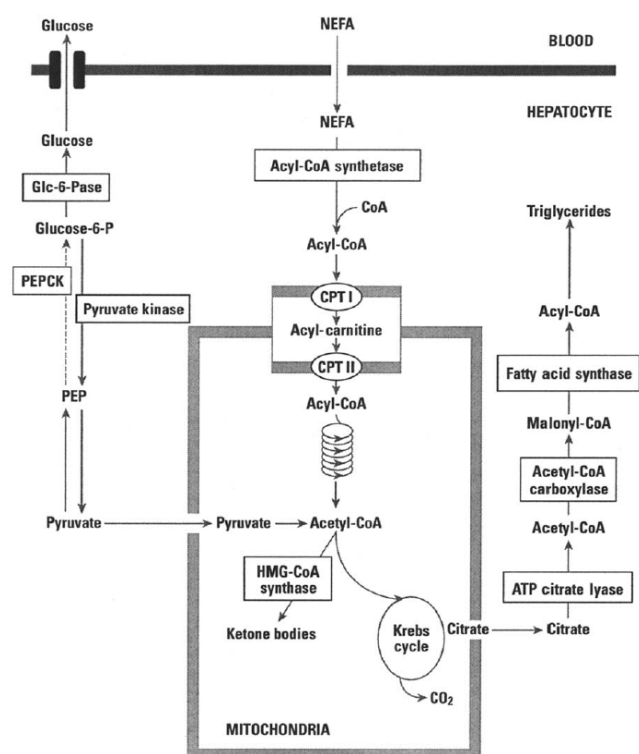
Σχήμα 2.6. Κύριες σειρές εικοσανοειδών που προέρχονται από τα ω3 και ω6 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και οι δράσεις αυτών. (Mahinda Y. Abeywardena, Richard J. Head. Longchain n-3 polyunsaturated fatty acids and blood vessel function. Cardiovascular Research, 2001, 52: 361 – 371.)

Μείωση της συγκέντρωσης τριγλυκεριδίων στο πλάσμα

Μια ανασκόπηση μελετών σε ανθρώπους κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η κατανάλωση περίπου 4 g ω3 λιπαρών οξέων ημερησίως μειώνει τη συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων του ορού κατά 25 με 30%, αυξάνει τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης του ορού κατά 5 με 10%, αυξάνει τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης του ορού κατά 1 με 3%, ενώ δεν επηρεάζει σημαντικά την ολική χοληστερόλη [50]. Είναι χαρακτηριστικό ότι τα ω3 λιπαρά οξέα επιφέρουν μείωση τόσο στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στη μεταγευματική φάση όσο και στη φάση νηστείας με δοσο-εξαρτώμενο τρόπο [56]. Οι Balk και συνεργάτες πραγματοποίησαν μια μετα-ανάλυση 25 τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών και βρήκαν ότι για κάθε αύξηση της δόσης ιχθυελαίου κατά 1 g την ημέρα επιτυγχάνεται μείωση των επιπέδων τριγλυκεριδίων κατά 8 mg/dL περίπου. Ωστόσο, οι ασθενείς με υψηλότερες αρχικές τιμές τριγλυκεριδίων παρουσίασαν σημαντικότερη μείωση των τριγλυκεριδίων με τη λήψη του ιχθυελαίου. Η μέση μείωση των επιπέδων τριγλυκεριδίων ήταν 27 mg/dL και συνοδεύτηκε από την αύξηση της HDL χοληστερόλης κατά 1,6 mg/dL, την αύξηση της LDL χοληστερόλης κατά 6 mg/dL και καμία αλλαγή στα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης. Συνεπώς, ο βαθμός μείωσης των τριγλυκεριδίων εξαρτάται τόσο από

τη δοσολογία των EPA και DHA που χορηγείται όσο και από τα αρχικά επίπεδα των τριγλυκεριδίων [57].

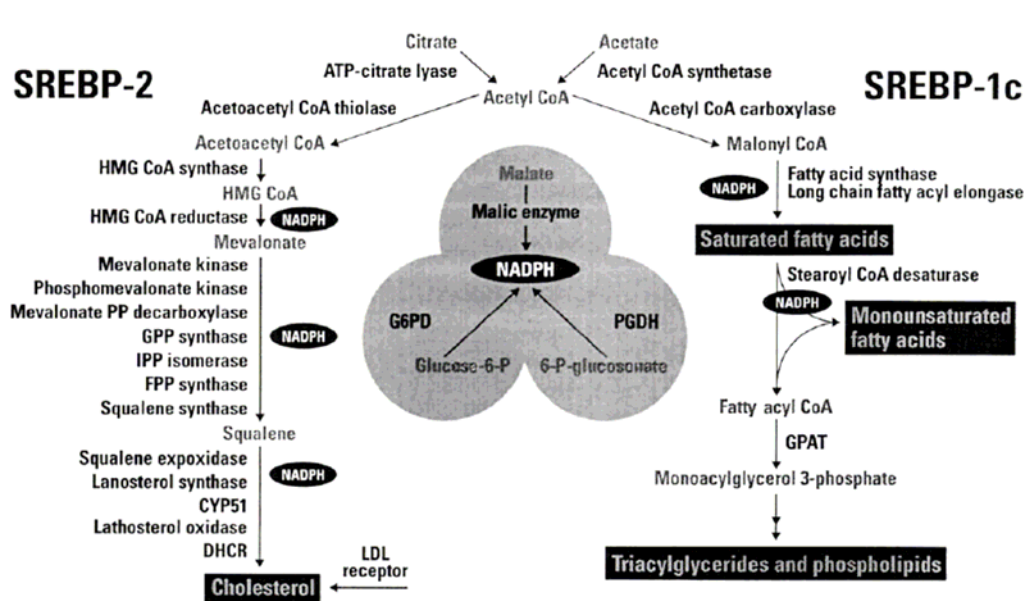
Ένας μηχανισμός με τον οποίο τα $\omega 3$ λιπαρά οξέα μειώνουν τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων είναι μέσω ρύθμισης της σύνθεσης και έκκρισης των σωματιδίων VLDL. Αναλυτικότερα, τα τριγλυκερίδια συντίθενται στα ηπατοκύτταρα από μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα και γλυκόζη (σχήμα 2.7).



Σχήμα 2.7. Τα υποστρώματα για τη σύνθεση τριγλυκεριδίων περιλαμβάνουν τα μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα (NEFA) και τη γλυκόζη. Τα NEFAs εισέρχονται στα μιτοχόνδρια όπου υφίστανται β-οξειδωση και οδηγούν στο σχηματισμό ακετυλο-CoA. Επιπλέον, η γλυκόζη αποικοδομείται προς πυροσταφυλικό, το οποίο οδηγεί στο σχηματισμό ακετυλο-CoA στα μιτοχόνδρια. Το παραγόμενο ακετυλο-CoA εισέρχεται στον κύκλο του Krebs όπου μετατρέπεται σε κιτρικό, το οποίο, με τη σειρά του, χρησιμεύει ως πρόδρομη ένωση για τη σύνθεση τριγλυκεριδίων. Επομένως, τόσο τα NEFAs όσο και η γλυκόζη αποτελούν υπόστρωμα για τη σύνθεση τριγλυκεριδίων. (Clemens von Schacky, William S. Harris. Cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids. Cardiovascular Research, 2007, 73: 310 – 315.)

Η de novo σύνθεση τριγλυκεριδίων ρυθμίζεται από τον ηπατικό μεταγραφικό παράγοντα SREBP-1c ο οποίος ενεργοποιεί τη σύνθεση των ενζύμων της λιπογένεσης που συμμετέχουν σε αυτή την οδό (σχήμα 2.8). Μετά τη σύνθεσή τους, τα τριγλυκερίδια μεταφέρονται στην κυκλοφορία ενσωματωμένα στα σωματίδια της VLDL. Τα $\omega 3$ λιπαρά οξέα ρυθμίζουν τη δραστηριότητα > 4 πυρηνικών υποδοχέων

του μεταβολισμού, με αποτέλεσμα τη μετατόπιση της ισορροπίας από τη σύνθεση τριγλυκεριδίων προς την οξείδωσή τους. Αυτή η επίδραση μεσολαβείται από την αξιοσημείωτη μείωση του παράγοντα SREBP-1c, που ρυθμίζει, κατά κύριο λόγο, τη λιπογένεση. Με τη μείωση της σύνθεσης τριγλυκεριδίων και την αύξηση της οξείδωσης των λιπαρών οξέων στα ηπατοκύτταρα, υπάρχει ελάχιστο διαθέσιμο υπόστρωμα για τη σύνθεση και την έκκριση των VLDL. Επιπρόσθετα, τα ω3 λιπαρά οξέα των ψαριών, λόγω του χαμηλού βαθμού κορεσμού τους, μπορεί να υποστούν εκτεταμένη υπεροξείδωση, η οποία φαίνεται ότι ενεργοποιεί την αποικοδόμηση της απολιποπρωτεΐνης B, με αποτέλεσμα τη μείωση της έκκρισης VLDL [58].



Σχήμα 2.8. Ο LXR (liver X receptor) ελέγχει τους παράγοντες SREBP-2 και SREBP-1c. Ο SREBP-2 ρυθμίζει τα γονίδια που συμμετέχουν στη σύνθεση χοληστερόλης, ενώ ο SREBP-1c διεγείρει την παραγωγή ενζύμων της λιπογένεσης. Η αναστολή του υποδοχέα LXR θα μπορούσε να μειώσει τη σύνθεση τόσο της χοληστερόλης όσο και των τριγλυκεριδίων. CYP51: cytochrome P450-51, DHCR: 7-dehydrocholesterol reductase, FPP: synthase-farnesyl diphosphate, GPAT: glycerol-3-phosphate acyltransferase, GPP: geranyl pyrophosphate, G6PD: glucose-6-phosphate dehydrogenase, HMG: 3-hydroxy-3-methylglutaryl, IPP: isopentenyl diphosphate, PGDH: 6-phosphogluconate dehydrogenase. (Michael H. Davidson. Mechanisms for the Hypotriglyceridemic Effect of Marine Omega-3 Fatty Acids. The American Journal of Cardiology, 2006, 98: 27i – 33i.)

Ένας άλλος προτεινόμενος μηχανισμός είναι μέσω της αύξησης της δραστηριότητας της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης που οδηγεί σε αύξηση της απομάκρυνσης των χυλομικρών από την κυκλοφορία. Αυτός ο μηχανισμός ισχυροποιήθηκε από τη μελέτη των Khan και συνεργατών, που έδειξε ότι η δραστηριότητα της

λιποπρωτεϊνικής λιπάσης αυξήθηκε σε ασθενείς που έλαβαν 3 g EPA και DHA ημερησίως για διάστημα 6 εβδομάδων [57].

Συνοπτικά, θα μπορούσαμε να πούμε ότι τα $\omega 3$ λιπαρά οξέα μειώνουν τη συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα με τους ακόλουθους μηχανισμούς:

- 1) Μείωση της σύνθεσης των τριγλυκεριδίων των VLDL, που μπορεί να επιτευχθεί μέσω της μείωσης της λιπογένεσης στο ήπαρ, την αύξηση της β -οξείδωσης των λιπαρών οξέων και την αύξηση της αποικοδόμησης της απολιποπρωτεΐνης B-100.
- 2) Αύξηση του ρυθμού απομάκρυνσης των τριγλυκεριδίων από την κυκλοφορία, μέσω αυξημένης υδρόλυσης από τη λιποπρωτεϊνική λιπάση [59].

Ρύθμιση της πίεσης αίματος

Τα $\omega 3$ λιπαρά οξέα φαίνεται ότι μειώνουν την πίεση αίματος σε ασθενείς με υπέρταση, με δοσο-εξαρτώμενο τρόπο, ενώ ασκούν ελάχιστη επίδραση σε ανθρώπους με φυσιολογική αρτηριακή πίεση. Δύο μετα-αναλύσεις 31 και 36 μελετών, αντίστοιχα, έδειξαν ότι η ημερήσια κατανάλωση 5,6 g ή 3,7 g ιχθυελαίου μειώνει την πίεση αίματος κατά 3,4/2,0 mm Hg και 2,1/1,6 mm Hg, αντίστοιχα [50]. Ωστόσο, η μείωση της πίεσης του αίματος που προκαλείται από τη χορήγηση 1 g/ημέρα EPA και DHA, που αποτελεί τη συνηθέστερη δοσολογία, δε φαίνεται να είναι κλινικά σημαντική [56].

Επίδραση επί των LDL και HDL σωματιδίων

Παρόλο που τα $\omega 3$ λιπαρά οξέα μειώνουν αποτελεσματικά τα τριγλυκερίδια, είναι γνωστό ότι αυξάνουν τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης. Αυτή η αύξηση είναι κατά μέσο όρο περίπου 10 mg/dL, σύμφωνα με ανασκόπηση των Harris και συνεργατών, ή 6 mg/dL όπως αναφέρθηκε από τους Balk και συνεργάτες. Ωστόσο, τα σωματίδια της LDL που παράγονται κατά τη θεραπεία με $\omega 3$ λιπαρά οξέα έχει βρεθεί ότι είναι μεγαλύτερα και λιγότερο πυκνά και θεωρείται ότι είναι λιγότερο αθηρογόνα [57]. Τα μικρά και πυκνά σωματίδια της LDL (τύπος B) συσχετίζονται με αυξημένη αθηρογένεση σε σύγκριση με τα μεγάλα και λιγότερο πυκνά σωματίδια της LDL (τύπος A). Τα μικρά και πυκνά σωματίδια της LDL είναι πιο επιρρεπή στην οξείδωση και την είσοδο στο αρτηριακό τοίχωμα. Σε μια πρόσφατη μελέτη βρέθηκε αύξηση κατά 91% στα λιγότερο αθηρογόνα σωματίδια της LDL1 και κατά 14% στα

σωματίδια της HDL2, ενώ παρατηρήθηκε μείωση κατά 48% στα περισσότερα αθηρογόνα σωματίδια LDL3 με τη συμπληρωματική χορήγηση DHA σε παιδιά με υπερλιπιδαιμία. Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν και σε άλλη μελέτη που περιελάμβανε ενήλικες με υπερλιπιδαιμία. Επομένως, η αλλαγή στην κατανομή των σωματιδίων των LDL και HDL μπορεί να ερμηνεύσει εν μέρει την αντιαθηρογόνο δράση των ω3 λιπαρών οξέων [54].

Επιδράσεις στο σύστημα της αιμόστασης

Τα EPA και DHA προκαλούν μικρή αναστολή στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, με το DHA να είναι δραστικότερο. Ωστόσο, αυτές οι επιδράσεις είναι άνευ σημασίας σε ασθενείς που αντιμετωπίζονται με ασπιρίνη ή άλλους φαρμακευτικούς αναστολείς των αιμοπεταλίων [56]. Τα ω3 λιπαρά οξέα, όταν χορηγούνται από του στόματος, ενσωματώνονται ταχέως στα αιμοπετάλια και ανταγωνίζονται με το αραχιδονικό οξύ για τη θέση της 2ης ακυλομάδας στα φωσφολιποειδή των μεμβρανών και για τα ένζυμα κυκλοοξυγενάση και λιποξυγενάση. Ως αποτέλεσμα, τα αιμοπετάλια, αφού διεγερθούν, παράγουν λιγότερα προθρομβωτικά εικοσανοειδή. Είναι γνωστό ότι οι Εσκιμώοι, που καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες λίπους από τα ψάρια, έχουν μικρότερο αριθμό αιμοπεταλίων, λιγότερη συσσώρευση αιμοπεταλίων, μεγαλύτερης διάρκειας αιμορραγία, υψηλότερες συγκεντρώσεις μεταβολιτών προστακυκλίνης (PGI₂) στα ούρα και χαμηλότερες συγκεντρώσεις μεταβολιτών θρομβοξανίων σε σύγκριση με τους ελέγχους. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν βρεθεί μετά από την αύξηση της κατανάλωσης ψαριών ή ιχθυελαίων [60].

Ρύθμιση της παραγωγής κυτταροκινών και μορίων προσκόλλησης

Έχει φανεί ότι τα ω3 λιπαρά οξέα περιορίζουν την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως της IL-6, της IL-1β και του TNF-α. Επιπρόσθετα, έχει βρεθεί ότι η χορήγηση 1,8 g EPA ημερησίως σε παχύσαρκα άτομα αυξάνει το επίπεδο της αντιπνεκτίνης η οποία, με τη σειρά της, μπορεί να μειώσει τη φλεγμονή και να βελτιώσει την ινσουλινοευαισθησία [61]. Μελέτες έχουν δείξει ότι η επαρκής κατανάλωση ιχθυελαίου μέσω της διατροφής οδηγεί σε μείωση της χημειοταξίας των λευκοκυττάρων, μείωση της παραγωγής ROS και προφλεγμονωδών κυτταροκινών, καθώς και μείωση της έκφρασης μορίων προσκόλλησης (πίνακας 2.1) [55]. Τα EPA, DHA μπορούν να αναστείλουν την επαγόμενη από κυτταροκίνες και LPS έκφραση

μορίων προσκόλλησης (E-σελεκτίνη, ICAM-1, VCAM-1) στα ενδοθηλιακά κύτταρα και την ακόλουθη προσκόλληση των μονοκυττάρων σε αυτά. Επίσης, τα ω-3 λιπαρά οξέα μπορούν να αναστείλουν την παραγωγή κυτταροκινών (IL-1β, TNFα, IL-6) από λευκοκύτταρα καθώς και τη δραστικότητα των NK κυττάρων [12].

Πολλές από τις αντιφλεγμονώδεις δράσεις των ω-3 λιπαρών οξέων οφείλονται και στην ικανότητά τους να ρυθμίζουν την έκφραση φλεγμονωδών γονιδίων όπως αυτών που εκφράζουν την COX-2, TNFα, IL-1α, VCAM-1, iNOS και μεταλλοπρωτεϊνάσες. Η επαγωγή της έκφρασης των γονιδίων αυτών φαίνεται ότι γίνεται και μέσω άμεσης επίδρασης των ω-3 λιπαρά οξέα στους μηχανισμούς μεταγωγής σήματος που οδηγούν σε ενεργοποίηση του NF-κB. Βέβαια, τα περισσότερα δεδομένα προέρχονται από in vitro πειράματα και μένει να διευκρινιστεί η σημασία τους σε μελέτες με ανθρώπους. Διατροφικές παρεμβάσεις με ιχθυέλαια σε ποντίκια έχουν δείξει ότι η αυξημένη πρόσληψη ω-3 λιπαρών οξέων μπορεί να οδηγήσει και σε ενεργοποίηση των μεταγραφικών παραγόντων PPARα και PPARγ στο ήπαρ και στο λιπώδη ιστό. Η ενεργοποίηση αυτών των μεταγραφικών παραγόντων αναστέλλει την ενεργοποίηση γονιδίων της φλεγμονής. Αυτή η δράση των PPARs οφείλεται είτε σε ενεργοποίηση της αποικοδόμησης των φλεγμονωδών εικοσανοειδών μέσω ενεργοποίησης της πορείας της β-οξείδωσης στα υπεροξυσωμάτια, είτε στην αναστολή της ενεργοποίησης του NF-κB [12].

Πίνακας 2.1. Συνοπτική παρουσίαση των αντιφλεγμονωδών δράσεων των $\omega 3$ λιπαρών οξέων με μακριά ανθρακική αλυσίδα. (Philip C Calder. n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. The American Journal of Clinical Nutrition, 2006, 83: 1505S – 19S)

Αντιφλεγμονώδης δράση	Πιθανός μηχανισμός
Μειωμένη παραγωγή εικοσανοειδών που προέρχονται από το AA	Μειωμένη παρουσία του AA στα μεμβρανικά φωσφολιποειδή, αναστολή του μεταβολισμού του AA, μειωμένη επαγωγή των ενζύμων COX-2 και 5-LOX
Αυξημένη παραγωγή εικοσανοειδών που προέρχονται από το EPA	Αυξημένη παρουσία του EPA στα μεμβρανικά φωσφολιποειδή
Αυξημένη παραγωγή ρεζολβινών προερχόμενων από τα EPA και DHA	Αυξημένη παρουσία των EPA και DHA στα μεμβρανικά φωσφολιποειδή
Μειωμένη παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8)	Μειωμένη ενεργοποίηση του NF- κ B, ενεργοποίηση του PPAR γ , επίδραση σε άλλους μεταγραφικούς παράγοντες, διαφορετικές επιδράσεις των εικοσανοειδών που προέρχονται από το EPA συγκριτικά με εκείνα από το AA
Μειωμένη έκφραση μορίων προσκόλλησης	Μειωμένη ενεργοποίηση του NF- κ B, επίδραση σε άλλους μεταγραφικούς παράγοντες
Μειωμένη χημειοταξία λευκοκυττάρων	Μειωμένη έκφραση των υποδοχέων για ορισμένους χημειοτακτικούς παράγοντες
Μειωμένη παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου	Μεταβολή στη σύσταση των μεμβρανών που επιδρά σε διαδικασίες μεταγωγής σήματος

Πιθανός ρόλος στη σταθεροποίηση της αθηρωματικής πλάκας

Οι Thies και συνεργάτες βρήκαν ότι οι ασθενείς που λάμβαναν συμπληρώματα ιχθυελαίου είχαν υψηλότερα επίπεδα EPA και DHA, καθώς και παχύτερες ινώδεις κάψες και λιγότερα σημεία φλεγμονής (π.χ. μακροφάγα) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου και την ομάδα που λάμβανε ηλιέλαιο. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι τα EPA και DHA ενσωματώνονται αμέσως στην αθηρωματική πλάκα και μπορούν να τη σταθεροποιήσουν [57].

Ο ρόλος του α -λινολενικού οξέος στη ρύθμιση της φλεγμονής

Σχετικά λίγες μελέτες έχουν εξετάσει την επίδραση του α -λινολενικού οξέος στη φλεγμονή στους ανθρώπους. Συνολικά, τα δεδομένα δείχνουν ότι απαιτείται η αύξηση της πρόσληψης α -λινολενικού οξέος σε > 10 g/ημέρα για να γίνουν ορατές οι

αντιφλεγμονώδεις δράσεις. Ακόμη και τότε, τα αποτελέσματα είναι πολύ ηπιότερα σε σύγκριση με τα παρατηρούμενα από την πρόσληψη των $\omega 3$ PUFAs με μακριά ανθρακική αλυσίδα [55].

2.2.3 Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΛΟΓΟΥ $\omega 6/\omega 3$

Η συνήθης διατροφή δυτικού τύπου είναι πλούσια σε $\omega 6$ λιπαρά οξέα και ο λόγος των $\omega 6$ προς τα $\omega 3$ λιπαρά οξέα είναι 10-20:1. Έχει προταθεί ότι ο λόγος 1-2:1 στη διατροφή θα οδηγούσε σε μετατόπιση της ισορροπίας από τις συνθήκες που ευνοούν τη θρόμβωση και την αγγειοσύσπαση σε εκείνες που προστατεύουν από τη θρόμβωση και τη φλεγμονή και ευνοούν την αγγειοδιαστολή [52], [54].

Τα κύτταρα των θηλαστικών δεν είναι σε θέση να μετατρέψουν τα $\omega 6$ λιπαρά οξέα σε $\omega 3$ επειδή δε διαθέτουν το κατάλληλο ένζυμο. Επομένως, αυτές οι δύο τάξεις απαραίτητων λιπαρών οξέων διακρίνονται ως προς το μεταβολισμό και τις λειτουργίες τους και συχνά ασκούν αντίθετες δράσεις [62]. Τα $\omega 3$ και $\omega 6$ λιπαρά οξέα ανταγωνίζονται για τα ίδια ενζυμικά συστήματα που εμπλέκονται στην επιμήκυνση και τη μείωση του βαθμού κορεσμού με σκοπό τη σύνθεση λιπαρών οξέων με μεγαλύτερο μήκος ανθρακικής αλυσίδας, μικρότερο βαθμό κορεσμού και δραστικότερα από βιολογική άποψη. Επιπλέον, ανταγωνίζονται για τις κυκλοοξυγενάσες και τις λιποξυγενάσες που συμμετέχουν στην παραγωγή των προσταγλανδινών και των λευκοτριενίων που, με τη σειρά τους, μεσολαβούν ένα ευρύ φάσμα κυτταρικών λειτουργιών σημαντικών για τη λειτουργία του καρδιαγγειακού, συμπεριλαμβανομένων της αγγειοδιαστολής και της αγγειοσύσπασης, των διαδικασιών κυτταρικής προσκόλλησης, τις φλεγμονώδεις απαντήσεις και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Ο ανταγωνισμός μεταξύ των $\omega 3$ και $\omega 6$ λιπαρών οξέων για τις κυκλοοξυγενάσες και τις λιποξυγενάσες θα καθορίσει επομένως τις φυσιολογικές επιδράσεις που θα επικρατήσουν [49].

Τα λιπαρά οξέα κινητοποιούνται από τα φωσφολιποειδή των μεμβρανών για τη σύνθεση των εικοσανοειδών, μέσω της ενεργοποίησης της φωσφολιπάσης A2. Η αυξημένη διαιτητική πρόσληψη $\omega 3$ λιπαρών οξέων, όπως το ALA, το εικοσιπεντενοϊκό οξύ, το EPA, το εικοσιδωδεξαινοϊκό οξύ και το DHA, έχει σαν αποτέλεσμα την αυξημένη ενσωμάτωση αυτών, μέσω εστεροποίησης, στα

φωσφολιποειδή των κυτταρικών μεμβρανών με την παράλληλη μείωση του ποσοστού του σημαντικότερου ω-6 λιπαρού οξέος που είναι το αραχιδονικό οξύ [54], [55]. Η αυξημένη ενσωμάτωση ω-3 λιπαρών οξέων στις μεμβράνες έχει σαν αποτέλεσμα τη σύνθεση εικοσανοειδών με ασθενέστερη φλεγμονώδη δράση ή ακόμα και αντιφλεγμονώδη δράση [12]. Ωστόσο, δεδομένου ότι τα ω6 λιπαρά οξέα προσλαμβάνονται σε μεγαλύτερη ποσότητα σε μια διατροφή δυτικού τύπου, τα εικοσανοειδή που παράγονται από το AA, σχηματίζονται σε μεγαλύτερη ποσότητα σε σύγκριση με εκείνα που προέρχονται από τα ω3 λιπαρά οξέα. Τα εικοσανοειδή με προέλευση από το αραχιδονικό οξύ είναι βιολογικώς δραστικά σε πολύ μικρές ποσότητες και αν σχηματιστούν σε μεγάλες ποσότητες, συνεισφέρουν στο σχηματισμό θρόμβου και αθηρώματος, σε αλλεργικές και φλεγμονώδεις διαταραχές και σε πολλαπλασιασμό κυττάρων [62]. Συνεπώς, η περιεκτικότητα της διατροφής σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και ιδιαίτερα ο λόγος των ω-3/ω-6 λιπαρών φαίνεται ότι παίζει καθοριστικό ρόλο στο είδος των λιποειδικών μεσολαβητών της φλεγμονής (προσταγλανδίνες, θρομβοξανθία, λευκοτριένια) που παράγουν τα κύτταρα της φλεγμονής και συνεπώς στην ένταση αυτής.

2.2.4 ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ

Ορισμένες επιδημιολογικές μελέτες που έχουν διερευνήσει τη σχέση των ω3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων με τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι: 1) η PHS, 2) η Health Professionals Follow-Up Study, 3) η CWES, 4) η NHS, 5) η NHANES I, 6) η JPHC, 7) η EURAMIC και 8) η HHP. Επιπλέον, αρκετές μελέτες παρέμβασης έχουν αξιολογήσει την αυξημένη πρόσληψη ω3 λιπαρών οξέων, μέσω της αύξησης της κατανάλωσης ψαριών ή της συμμόρφωσης με τη μεσογειακή διατροφή, στην πρωτογενή ή τη δευτερογενή πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Παραδείγματα τέτοιων μελετών είναι: 1) η MRFIT, 2) η EUROASPIRE, 3) η DART και η 4) LDHS. Η πλειονότητα των επιδημιολογικών μελετών και των μελετών παρέμβασης έχουν δείξει ωφέλιμες επιδράσεις από την κατανάλωση ω3 λιπαρών οξέων προερχόμενων είτε από φυτικά προϊόντα είτε από τα ψάρια, επί της έκβασης καρδιαγγειακών επεισοδίων, όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου, το εγκεφαλικό επεισόδιο και ο αιφνίδιος καρδιακός θάνατος. Συνολικά, ωφέλεια παρατηρήθηκε με την πρόσληψη μέτριων ποσοτήτων ω3 λιπαρών οξέων μέσω της κατανάλωσης 25 με 57 g ψαριών ημερησίως ή με την πρόσληψη ισοδύναμης ποσότητας σε > 1 γεύματα

την εβδομάδα ή το μήνα. Μάλιστα, έχει βρεθεί ότι η αύξηση της κατανάλωσης ψαριού μειώνει τον κίνδυνο με δοσο-εξαρτώμενο τρόπο [49].

Για την πρωτογενή πρόληψη, η Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία (AHA) συστήνει την κατανάλωση τουλάχιστον 2 ή περισσότερων μερίδων (περίπου 4 oz ανά μερίδα) λιπαρού ψαριού την εβδομάδα, καθώς και την κατανάλωση τροφίμων και ελαίων πλούσιων σε ALA [48], [57]. Ως προς τη λήψη συμπληρωμάτων ω3 λιπαρών οξέων, τα τρέχοντα δεδομένα συστήνουν την πρόσληψη τουλάχιστον 1 g/ ημέρα ω3 λιπαρών οξέων μακριάς αλυσίδας από ασθενείς με αρτηριακή νόσο και τουλάχιστον 250 με 500 mg/ ημέρα από υγιή άτομα. Επίσης, ανεξάρτητα από τη θεραπεία με στατίνη, οι ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία ωφελούνται από τη λήψη 3 με 4 g/ημέρα DHA και EPA [61].

2.3. ΜΑΚΡΟΘΡΕΠΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

2.3.1 ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ, ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ, ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Ήδη από τη δεκαετία του 1950 έχει αναγνωριστεί ότι η σύνθεση των λιπαρών οξέων της δίαιτας καθορίζει σε σημαντικό βαθμό τη συγκέντρωση της χοληστερόλης στο πλάσμα. Πιο πρόσφατες μελέτες έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, ιδιαιτέρως το λαυρικό οξύ (12:0), το μυριστικό οξύ (14:0) και το παλμιτικό οξύ (16:0), αυξάνουν τόσο την LDL όσο και την HDL χοληστερόλη, τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μειώνουν τόσο την LDL όσο και την HDL χοληστερόλη και τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα μειώνουν, επίσης, την LDL και HDL χοληστερόλη, αλλά σε μικρότερο βαθμό συγκριτικά με τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Ο λόγος ολικής προς HDL χοληστερόλης είναι ευνοϊκότερος για τα πολυακόρεστα και τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα σε σύγκριση με τα κορεσμένα. Παρομοίως, μελέτες παρατήρησης δείχνουν ότι οι προσλήψεις πολυακόρεστων και μονοακόρεστων λιπαρών οξέων συσχετίζονται με μειωμένο καρδιαγγειακό κίνδυνο συγκριτικά με την πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων.

Κορεσμένα λιπαρά οξέα. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα δεν επηρεάζουν όλα με τον ίδιο τρόπο τη συγκέντρωση χοληστερόλης πλάσματος. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα με

βραχεία ανθρακική αλυσίδα (6:0 – 10:0) και το στεατικό οξύ (18:0) επηρεάζουν ελάχιστα τη συγκέντρωση της χοληστερόλης πλάσματος, ενώ τα κορεσμένα λιπαρά οξέα με ενδιάμεσου μήκους ανθρακική αλυσίδα (12:0 – 16:0) αυξάνουν τη συγκέντρωση της χοληστερόλης πλάσματος. Η ελάχιστη επίδραση των βραχείας αλυσίδας λιπαρών οξέων αποδίδεται στην απευθείας απορρόφησή τους στην πυλαία κυκλοφορία και του στεατικού οξέος στον υψηλό ρυθμό μετατροπής του στο μονοακόρεστο λιπαρό οξύ, ελαϊκό (18:1). Η αύξηση της LDL χοληστερόλης που προκαλούν τα ενδιάμεσου μήκους ανθρακικής αλυσίδας κορεσμένα λιπαρά οξέα αποδίδεται στο μειωμένο ρυθμό καταβολισμού των LDL πλάσματος, με μικρή επίδραση επί του ρυθμού παραγωγής.

Trans λιπαρά οξέα. Η κύρια πηγή trans λιπαρών οξέων από τη διατροφή είναι τα μερικώς υδρογονωμένα λίπη και τα προϊόντα που παρασκευάζονται με αυτά. Ένα μικρότερο ποσοστό trans λιπαρών οξέων προέρχεται από το λίπος των μηρυκαστικών ζώων, το οποίο εντοπίζεται κυρίως στο κρέας και το γάλα. Όπως και τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, τα trans λιπαρά οξέα αυξάνουν τη συγκέντρωση της LDL χοληστερόλης. Αντίθετα με τα κορεσμένα λιπαρά οξέα, τα trans λιπαρά οξέα δεν αυξάνουν τη συγκέντρωση της HDL χοληστερόλης, αλλά τη μειώνουν και αυτό αποδίδεται στον υψηλότερο ρυθμό καταβολισμού των σωματιδίων της HDL, με ελάχιστη επίδραση επί του ρυθμού παραγωγής [63]. Επίσης, τα trans λιπαρά οξέα αυξάνουν τη λιπιπρωτεΐνη (α) και τα τριγλυκερίδια, στην περίπτωση που αντικαθιστούν το κορεσμένο λίπος. Μελέτες έχουν αναφέρει ότι τα trans λιπαρά οξέα μεταβάλλουν το μέγεθος των LDL σωματιδίων και επηρεάζουν τη σύνθεση των λιποπρωτεϊνών μεταγευματικά [64]. Γενικά, τα trans λιπαρά οξέα έχουν τη χειρότερη επίδραση επί των λιπιδίων του αίματος μεταξύ των λιπαρών οξέων [65].

Άλλες λειτουργίες των trans λιπαρών οξέων αφορούν στη φλεγμονή και τη λειτουργία του ενδοθηλίου. Συγκεκριμένα, αρκετές μελέτες παρατήρησης έχουν αναφέρει θετική συσχέτιση ανάμεσα σε δίαιτες με υψηλή περιεκτικότητα σε trans λιπαρά οξέα και δείκτες φλεγμονής. Παραδείγματα αποτελούν οι μελέτες NHANES 1999 – 2000 και Nurses' Health Study I [66]. Σε μια συγχρονική μελέτη των Lopez-Garcia και συνεργατών (2005) σε γυναίκες, η μεγαλύτερη κατανάλωση trans λιπαρών οξέων συσχετίστηκε με υψηλότερα επίπεδα διαφόρων δεικτών της δυσλειτουργίας

του ενδοθηλίου, συμπεριλαμβανομένων του διαλυτού παράγοντα ICAM-1, του διαλυτού παράγοντα VCAM-1 και της E-σελεκτίνης [67]. Μελέτες σε πειραματόζωα και καλλιέργειες κυττάρων έχουν δείξει ότι τα trans λιπαρά οξέα ενσωματώνονται στις μεμβράνες των ενδοθηλιακών κυττάρων και λευκοκυττάρων και μέσω των αλλαγών που επάγουν στη δομή και τη ρευστότητα της μεμβράνης επιδρούν σε πορείες μεταγωγής σήματος που σχετίζονται με τη φλεγμονή. Τα trans λιπαρά οξέα μπορούν επίσης να μεταβάλουν την έκφραση των γονιδίων του PPAR-γ, της ρεσιστίνης και της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης ευνοώντας τη φλεγμονή. Επίσης, λειτουργούν ως προσδέτες για πυρηνικούς υποδοχείς (PPARs, LXR, SREBP-1) στα λιποκύτταρα και άλλους ιστούς ρυθμίζοντας με αυτό τον τρόπο την έκφραση γονιδίων που επηρεάζουν τη φλεγμονή [12].

Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα. Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα ασκούν ωφέλιμες δράσεις επί της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης διαστολής, όπως έχει προσδιοριστεί από τη μέτρηση δεικτών ενδοθηλιακής λειτουργίας *in vitro*. Ωστόσο, λίγες μελέτες έχουν διερευνήσει τις επιδράσεις τους *in vivo*. Ένα γεύμα πλούσιο σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα έχει φανεί ότι μειώνει τη λειτουργία του ενδοθηλίου, βραχυπρόθεσμα, σε υγιείς ανθρώπους. Ωστόσο, μακροπρόθεσμα, έχουν αναφερθεί ωφέλιμες επιδράσεις από αυτού του είδους τη δίαιτα. Οι Fuentes και συνεργάτες έχουν αναφέρει βελτίωση της λειτουργίας του ενδοθηλίου σε άτομα με υπερχοληστερολαιμία που ακολουθούν δίαιτα πλούσια σε MUFA σε σύγκριση με δίαιτα πλούσια σε κορεσμένο λίπος. Παρομοίως, οι Esposito και συνεργάτες έχουν αναφέρει ωφέλιμες επιδράσεις δίαιτας πλούσιας σε MUFA σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο [68].

Οι Tsimikas και συνεργάτες αξιολόγησαν την αντιφλεγμονώδη δράση μιας διατροφής πλούσιας σε ελαιόλαδο σε δείγμα από την Ελλάδα. Η περιεκτικότητα των LDL ήταν σημαντικά υψηλή σε ελαϊκό οξύ και συσχετίστηκε αντιστρόφως με το βαθμό οξειδωσης της LDL *in vitro*, καθώς και με την επαγωγή της προσκόλλησης των μονοκυττάρων. Μελέτες *in vitro* σε ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν δείξει ότι το ελαϊκό οξύ και τα κυριότερα PUFAs του ελαιόλαδου μπορεί να προλάβουν την ενεργοποίηση του ενδοθηλίου είτε μέσω αναστολής της έκφρασης μορίων προσκόλλησης είτε μέσω βελτίωσης της παραγωγής NO. Η χορήγηση ελαϊκού οξέος σε ενδοθηλιακά κύτταρα *in vitro* μειώνει την ευαισθησία τους σε οξειδωτικούς

παράγοντες. Επιπλέον, το ελαϊκό οξύ προστατεύει τα ενδοθηλιακά κύτταρα από την υπερέκφραση κυτταροκινών επαγόμενων από τους παράγοντες VCAM-1, ICAM-1 και E-σελεκτίνη [69].

Χοληστερόλη της διατροφής: Παρόλο που καθοριστικός παράγοντας των συγκεντρώσεων LDL χοληστερόλης στους ανθρώπους είναι το κορεσμένο λίπος, η χοληστερόλη της διατροφής έχει συσχετιστεί θετικά με τον κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα, καθώς και με τις συγκεντρώσεις χοληστερόλης των LDL και HDL σωματιδίων. Ένας μηχανισμός μέσω του οποίου η χοληστερόλη της διατροφής ρυθμίζει τη συγκέντρωση των λιποπρωτεϊνών στο πλάσμα είναι η μείωση της δραστηριότητας του κυτταρικού υποδοχέα της LDL, με αποτέλεσμα τη μείωση του ρυθμού απομάκρυνσης των VLDL και των LDL από το πλάσμα και την αύξηση του ρυθμού μετατροπής των VLDL σε LDL [63].

Πρωτεΐνη της διατροφής: Η πρωτεΐνη της διατροφής διακρίνεται στη ζωική και τη φυτική πρωτεΐνη, ανάλογα με την προέλευσή της. Η ζωική πρωτεΐνη παρέχεται κυρίως από το κρέας και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, ενώ η φυτική πρωτεΐνη από τα δημητριακά και τα όσπρια. Η ζωική πηγή πρωτεΐνης συνεισφέρει το μεγαλύτερο μέρος του κορεσμένου λίπους της διατροφής, ενώ η φυτική πηγή συμβάλλει στην πρόσληψη, κυρίως, πολυακόρεστου και μονοακόρεστου λίπους [63].

Υδατάνθρακες της διατροφής: Σε μελέτες διατήρησης του σωματικού βάρους, η αντικατάσταση του λίπους της διατροφής με υδατάνθρακες είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των συγκεντρώσεων των τριγλυκεριδίων και της VLDL χοληστερόλης, τη μείωση των συγκεντρώσεων της HDL χοληστερόλης και την αύξηση του λόγου ολικής προς HDL χοληστερόλης και σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρήθηκε αύξηση των μικρών και πυκνών LDL σωματιδίων. Επίσης, σε λίγες μελέτες, έχει βρεθεί ότι δίαιτες με υψηλότερη περιεκτικότητα σε άμυλο, σε σύγκριση με τη σακχαρόζη, συσχετίζονται με χαμηλότερη ολική και LDL χοληστερόλη και χαμηλότερες συγκεντρώσεις τριγλυκεριδίων σε μεταγευματική κατάσταση ή φάση νηστείας [63].

Έχει παρατηρηθεί ότι όταν οι υδατάνθρακες αντικαθιστούν το κορεσμένο λίπος (π.χ. 25 g ή 10% της ημερήσιας ολικής ενεργειακής πρόσληψης), επιτυγχάνεται μείωση της LDL κατά 13 mg/dL. Στη περίπτωση που το μονοακόρεστο λίπος ή πολυακόρεστο λίπος αντικαθιστούν το κορεσμένο λίπος, η συγκέντρωση της LDL μειώνεται κατά 15 mg/dL ή 18 mg/dL, αντίστοιχα. Επομένως, προκύπτει ότι για την ίδια ποσότητα υδατανθράκων, μονοακόρεστου και πολυακόρεστου λίπους, οι υδατάνθρακες επιτυγχάνουν τη μικρότερη μείωση της LDL χοληστερόλης [65]. Επιπρόσθετα, τα κορεσμένα, μονοακόρεστα και πολυακόρεστα αυξάνουν την HDL χοληστερόλη όταν αντικαθιστούν τους υδατάνθρακες στη διατροφή και αυτό το αποτέλεσμα είναι ελαφρώς μεγαλύτερο με τα κορεσμένα λιπαρά οξέα. Όταν οι υδατάνθρακες αντικαθιστούν τα λιπαρά οξέα της δίαιτας, τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων αυξάνονται. Επειδή η αντικατάσταση του κορεσμένου λίπους με υδατάνθρακες μειώνει αναλογικά τόσο την LDL όσο και την HDL χοληστερόλη, ασκώντας μικρή επίδραση επί του λόγου της LDL προς την HDL και επιπλέον, αυξάνει τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων, αυτή η αλλαγή στη διατροφή αναμένεται ότι θα έχει ελάχιστο όφελος στη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου [70].

2.3.2 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ

Είναι δύσκολο να απομονώσουμε τις επιδράσεις των επιμέρους μακροθρεπτικών συστατικών. Για αυτό το λόγο κρίνεται σκόπιμο να αξιολογήσουμε τις επιδράσεις των διαφόρων διατροφικών προτύπων.

2.3.2.1 ΔΙΑΙΤΕΣ ΧΑΜΗΛΗΣ ΚΑΙ ΠΟΛΥ ΧΑΜΗΛΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΛΙΠΟΣ

Οι δίαιτες με χαμηλή περιεκτικότητα σε λίπος, αλλά υψηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες είναι γνωστό ότι μειώνουν την HDL. Η συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων του πλάσματος έχει φανεί ότι αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για στεφανιαία νόσο είτε προσδιορίζεται σε φάση νηστείας είτε μεταγευματικά. Οι δίαιτες με χαμηλή περιεκτικότητα σε λίπος, αλλά υψηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες αυξάνουν τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων νηστείας [65].

Οι δίαιτες πολύ χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος παρέχουν < 15% των συνολικών θερμίδων με τη μορφή λίπους (με ίση κατανομή του κορεσμένου, μονοακόρεστου και πολυακόρεστου λίπους), 15% των συνολικών θερμίδων από τις πρωτεΐνες και το 70% από τους υδατάνθρακες. Σε αυτή την κατηγορία διαιτών συγκαταλέγονται οι διάφορες εκδοχές της φυτοφαγικής διατροφής, καθώς και η δίαιτα Pritikin, η οποία συστήνει την πρόσληψη <10% της συνολικής ενέργειας από το λίπος, 15% με 20% από τις πρωτεΐνες και το υπόλοιπο από μη επεξεργασμένους, σύνθετους υδατάνθρακες. Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι αυτού του είδους οι δίαιτες μπορούν να μειώσουν παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και καρδιαγγειακά επεισόδια. Ωστόσο, το δείγμα αυτών των μελετών είναι μικρό και ενδέχεται να έχουν υπεισέλθει σφάλματα επιλογής [71].

Βάσει των τρεχόντων ερευνητικών δεδομένων, οργανισμοί, όπως η Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία (AHA) και η Ομάδα Μελέτης για το Διαβήτη και τη Διατροφή (Diabetes and Nutrition Study Group) της Ευρωπαϊκής Εταιρείας για τη Μελέτη του Διαβήτη (European Association for the Study of Diabetes), δίνουν περισσότερη έμφαση στην ποιότητα του λίπους της διατροφής παρά στην ποσότητα και είναι πιο ευέλικτοι ως προς τη συνολική περιεκτικότητα της δίαιτας σε λίπος (π.χ. 25 – 35% της ολικής ενεργειακής πρόσληψης) [72].

2.3.2.2 ΔΙΑΙΤΕΣ ΧΑΜΗΛΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ

Η δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες χαρακτηρίστηκε για πρώτη φορά από τον William Banting τη δεκαετία του 1860, αλλά αυτό το είδος δίαιτας προσέελκυσε έντονα το ενδιαφέρον πρόσφατα με τη δίαιτα Atkins', η οποία συστήνει τον αυστηρό περιορισμό των υδατανθράκων για διάστημα 2 εβδομάδων και κατόπιν τη σταδιακή αύξηση των υδατανθράκων σε 35 g/ημέρα. Η δίαιτα Atkins' παρέχει το 68% των συνολικών θερμίδων από το λίπος, το 27% από τις πρωτεΐνες και μόλις το 5% από τους υδατάνθρακες. Εκτός από τη δίαιτα Atkins', υπάρχουν και άλλες δημοφιλείς δίαιτες χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες που συνοψίζονται στο (πίνακας 2.2).

Πίνακας 2.2. Συνοπτική παρουσίαση ευρέως διαδεδομένων διαιτών χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες

The Atkins' Diet
68% λίπος, 27% πρωτεΐνη, 5% υδατάνθρακες
Protein Power
54% λίπος, 26% πρωτεΐνη, 16% υδατάνθρακες
The Zone Diet
30% λίπος, 40% πρωτεΐνη, 30% υδατάνθρακες

Οι δίαιτες χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες συστήνουν τον περιορισμό τόσο των απλών όσο και των σύνθετων υδατανθράκων, προκαλώντας τον οργανισμό να οξειδώσει λίπος για να καλύψει τις ενεργειακές του απαιτήσεις. Οι δίαιτες χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες εγείρουν αρκετά ερωτήματα σχετικά με την κάλυψη των διατροφικών αναγκών του οργανισμού και την ομαλή λειτουργία του καρδιαγγειακού συστήματος. Οι δίαιτες αυτές μπορεί να αυξήσουν την HDL χοληστερόλη, να μειώσουν τα επίπεδα τριγλυκεριδίων και να βελτιώσουν τη ρύθμιση της γλυκόζης αίματος. Ωστόσο, φαίνεται ότι δε διαφέρουν σημαντικά από τις δίαιτες χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος ως προς την απώλεια βάρους για διάστημα 1 έτους. Επιπλέον, απαιτούνται μελέτες με διάρκεια μεγαλύτερη του 1 έτους για να αξιολογήσουν την αποτελεσματικότητα αυτών των διαιτών στα καρδιαγγειακά νοσήματα και την απώλεια βάρους (πίνακας 2.3) [71].

Πίνακας 2.3. Τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των διαιτών χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες. (Parin Parikh, Michael C. McDaniel, M. Dominique Ashen, Joseph I. Miller, Matthew Sorrentino, Vicki Chan, Roger S. Blumenthal, Laurence S. Sperling. Diets and Cardiovascular Disease An Evidence-Based Assessment. Journal of the American College of Cardiology, 2005, 45: 1379 – 87)

Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Σημαντική απώλεια βάρους αρχικά λόγω του υψηλού βαθμού συμμόρφωσης και της διουρητικής επίδρασης	Δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη: Πιθανή διαταραχή του ισοζυγίου Ca και της λειτουργίας του ήπατος και των νεφρών
	Υψηλή περιεκτικότητα σε κορεσμένο λίπος και χοληστερόλη και χαμηλής περιεκτικότητας σε φρούτα, λαχανικά και δημητριακά ολικής αλέσεως: Πιθανή αθηρογόνος δράση

2.3.2.3 ΔΙΑΙΤΕΣ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ

Μια συνήθης διατροφή δυτικού τύπου περιέχει αρκετούς επεξεργασμένους πολυσακχαρίτες, που απαντούν στο ψωμί, αρτοσκευάσματα, στους χυμούς και αλλού. Αυτά τα τρόφιμα έχουν υψηλό γλυκαιμικό δείκτη προκαλώντας σημαντική αύξηση στη γλυκόζη και την ινσουλίνη. Άλλα τρόφιμα, όπως τα δημητριακά ολικής αλέσεως, τα μπιζέλια και τα λαχανικά, περιέχουν άλλου είδη υδατανθράκων και έχουν χαμηλότερο γλυκαιμικό δείκτη, ίσως επειδή η πέψη και απορρόφηση της γλυκόζης είναι βραδεία και προκαλούν μικρότερη αύξηση στη γλυκόζη και την ινσουλίνη του ορού. Ο χαμηλός γλυκαιμικός δείκτης οφείλεται, εν μέρει, στο περιεχόμενο των τροφίμων σε ίνες. Ένας σημαντικός παράγοντας που καθορίζει το γλυκαιμικό δείκτη είναι το περιεχόμενο των υδατανθράκων των τροφίμων σε γλυκόζη, επειδή μόνο η γλυκόζη αυξάνει τη γλυκόζη του ορού. Τέλος, η επεξεργασία και ο βαθμός πέψης του τροφίμου επηρεάζουν το γλυκαιμικό του δείκτη [65].

Ο γλυκαιμικός δείκτης έχει χρησιμοποιηθεί σε δημοφιλή διαιτητικά σχήματα, όπως η δίαιτα South Beach, η δίαιτα της Ζώνης και η Sugar Busters. Αυτές οι δίαιτες επιτρέπουν την κατανάλωση υδατανθράκων με την προϋπόθεση ότι είναι χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη. Μια δίαιτα υψηλού γλυκαιμικού δείκτη έχει προταθεί ότι αυξάνει τα επίπεδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων, καθώς και τον κίνδυνο για παχυσαρκία, διαβήτη και καρδιαγγειακά νοσήματα. Αρκετά πειράματα *in vitro* δείχνουν ότι τα αυξημένα μεταγευματικά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα προκαλούν οξειδωτικό στρες, οδηγώντας σε βλάβη του ενδοθηλίου και ενεργοποίηση του μηχανισμού πήξης. Ωστόσο, καμία κλινική μελέτη δεν έχει δείξει ότι οι δίαιτες χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη προλαμβάνουν τα καρδιαγγειακά νοσήματα [71].

Το οξειδωτικό στρες που συνοδεύει τη μεταγευματική υπεργλυκαιμία οδηγεί στην ενεργοποίηση του NF-κΒ και την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-6, IL-18, TNFα). Η μεταγευματική υπεργλυκαιμία μπορεί να ενεργοποιήσει επίσης δύο άλλους προφλεγμονώδεις μεταγραφικούς παράγοντες, τον AP-1 και Erg-1, οι οποίοι ρυθμίζουν την έκφραση μεταλλοπρωτεϊνών, του TF και του αναστολέα του PAI-1. Επίσης, δυσχεραίνει την εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο αγγειοδιαστολή μέσω μείωσης της διαθεσιμότητας του NO. Επιδημιολογικές μελέτες και διατροφικές παρεμβάσεις έχουν δείξει ότι η αυξημένη κατανάλωση τροφίμων με υψηλό

γλυκαιμικό δείκτη χαρακτηρίζεται από αυξημένες συγκεντρώσεις CRP, ενώ η αυξημένη κατανάλωση μη επεξεργασμένων δημητριακών μειώνει τόσο τα επίπεδα της CRP όσο και του υποδοχέα του TNF-α. Τέλος, έχει φανεί ότι δίαιτες πλούσιες σε τρόφιμα χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη και με υψηλό ποσοστό διαιτητικών ινών μπορούν να αυξήσουν τα επίπεδα της αντιπονεκτίνης [12].

2.3.2.4 ΔΙΑΙΤΕΣ ΥΨΗΛΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Μελέτες απώλειας βάρους σε μη διαβητικούς, με φυσιολογικά επίπεδα λιπιδίων στο αίμα που ακολουθούν δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες και χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες αναφέρουν αύξηση των συγκεντρώσεων της HDL χοληστερόλης και μείωση των λόγων LDL:HDL και TAG:HDL. Κατά τη διάρκεια απώλειας βάρους, οι συγκεντρώσεις της HDL χοληστερόλης τείνουν να αυξάνονται με τις δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες, αλλά μειώνονται με τις δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες και χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος. Επίσης, οι Krauss και συνεργάτες έδειξαν μείωση των συγκεντρώσεων των τριγλυκεριδίων, αύξηση του μεγέθους των LDL σωματιδίων και μείωση του λόγου της ολικής προς την HDL χοληστερόλη, με τις δίαιτες αυξημένης περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες και χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες. Ωστόσο, με τη μείωση της ολικής ενεργειακής πρόσληψης για την επίτευξη απώλειας βάρους και τη μεταβολή της κατανομής της ενεργειακής πρόσληψης μεταξύ των 3 μακροθρεπτικών συστατικών, είναι δύσκολο να αξιολογηθούν οι επιδράσεις της αυξημένης πρόσληψης πρωτεϊνών σε σύγκριση με τη μειωμένη πρόσληψη υδατανθράκων. Ίσως, η ισχυρότερη προστατευτική επίδραση της αύξησης της πρόσληψης πρωτεϊνών από μόνη της να αναφέρεται στη μείωση της πίεσης του αίματος. Η αυξημένη πίεση αίματος είναι σημαντικός παράγοντας κινδύνου για στεφανιαία νόσο. Σε ορισμένες μελέτες έχει αναφερθεί αντίστροφη συσχέτιση ανάμεσα στην πρόσληψη πρωτεϊνών και την πίεση αίματος [73].

2.3.2.5 ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Τα ευρήματα από τη Μελέτη των 7 Χωρών (Seven Countries Study), που δημοσιεύτηκαν από τους Keys και συνεργάτες το 1986, έδειξαν ότι μια δίαιτα με σχετικά υψηλή περιεκτικότητα σε ολικό λίπος (33 – 40% της ολικής ενεργειακής πρόσληψης), πλούσια σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και χαμηλής περιεκτικότητας σε

κορεσμένα λιπαρά οξέα (7 – 8% της ολικής ενεργειακής πρόσληψης) προστατεύει από την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου. Επίσης, στη Lyon Heart Study, οι de Lorgeril και συνεργάτες ανέφεραν ότι οι ασθενείς που ακολούθησαν μεσογειακού τύπου διατροφή, με υψηλή περιεκτικότητα σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, παρουσίασαν σημαντική μείωση της καρδιαγγειακής και γενικής θνησιμότητας (76% και 70%, αντίστοιχα) [68].

Η μεσογειακή διατροφή χαρακτηρίζεται από την κατανάλωση άφθονων φυτικών τροφίμων (φρούτα, λαχανικά, ψωμί, δημητριακά, πατάτες, μπιζέλια, καρποί, σπόροι), ελάχιστα επεξεργασμένων, εποχιακών και τοπικά παραγόμενων τροφίμων, ελαιόλαδου (ως κύρια πηγή λίπους), γαλακτοκομικών προϊόντων (κυρίως τυριού και γιαουρτιού) σε χαμηλή με μέτρια ποσότητα, ψαριών και πουλερικών σε χαμηλή με μέτρια ποσότητα, μέχρι 4 αυγών την εβδομάδα, κόκκινου κρέατος σπανίως και κρασιού σε χαμηλή με μέτρια ποσότητα μαζί με τα γεύματα.

Υπάρχουν αρκετές κλινικές μελέτες που δείχνουν ότι η Μεσογειακή διατροφή δρα προστατευτικά στη δευτερογενή πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Συγκεκριμένα, έχουν παρατηρηθεί μεγαλύτερη απώλεια βάρους, χαμηλότερα επίπεδα CRP, μικρότερη ινσουλينو-αντίσταση, χαμηλότερα επίπεδα ολικής χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων, υψηλότερα επίπεδα HDL και μειωμένος επιπολασμός μεταβολικού συνδρόμου. Όσον αφορά στην πρωτογενή πρόληψη, μελέτες δείχνουν ότι η Μεσογειακή διατροφή μπορεί να συνδέεται με μικρότερα ποσοστά αιφνίδιου καρδιακού θανάτου, στεφανιαίας νόσου και πιθανόν, γενικής θνησιμότητας. Σε μια συστηματική ανασκόπηση από τους Hu και Willet, που περιελάμβανε επιδημιολογικές μελέτες, κλινικές μελέτες και μελέτες μεταβολισμού, βρέθηκε ότι 3 διαιτητικές στρατηγικές είναι αποτελεσματικές στην πρόληψη της στεφανιαίας νόσου: 1) η αντικατάσταση των κορεσμένων και trans λιπών με μη υδρογονωμένο ακόρεστο λίπος, 2) η αύξηση της πρόσληψης $\omega 3$ λιπαρών οξέων και 3) η κατανάλωση περισσότερων φρούτων, λαχανικών, ξηρών καρπών και δημητριακών ολικής αλέσεως, ενώ θα πρέπει να αποφεύγεται η κατανάλωση επεξεργασμένων προϊόντων δημητριακών.

ΔΙΑΙΤΑ DASH

Η διαίτα DASH είναι παρόμοια με τη μεσογειακού τύπου διαίτα, δίνοντας έμφαση στην υψηλή κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, γαλακτοκομικών προϊόντων χαμηλών σε λιπαρά, δημητριακών ολικής αλέσεως, ξηρών καρπών, ψαριών και πουλερικών και στη μείωση του ολικού και του κορεσμένου λίπους. Αυτή η διαιτητική προσέγγιση έχει φανεί ότι μειώνει την πίεση αίματος. Συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί ότι μπορεί να μειώσει τη συστολική πίεση αίματος κατά 5,5 mm Hg και τη διαστολική πίεση αίματος κατά 3,3 mm Hg [71].

2.3.3 ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ

Η μειωμένη πρόσληψη θερμίδων φαίνεται ότι είναι μέχρι σήμερα ο μοναδικός αποδεδειγμένος τρόπος αύξησης της διάρκειας ζωής τόσο των πειραματόζωνων, όσο και των ανθρώπων. Η μειωμένη θερμιδική πρόσληψη έχει σαν κύριο αποτέλεσμα την ενίσχυση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών του οργανισμού που οδηγεί στην καταστολή των οξειδωτικών μηχανισμών καταστροφής των κυττάρων, οι οποίοι και είναι και οι πιο σημαντικοί παράγοντες γήρανσης. Επίσης, η μειωμένη θερμιδική πρόσληψη λειτουργεί ευεργετικά μέσω της μείωσης της συστηματικής φλεγμονής η οποία αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας. Η υιοθέτηση μίας διαίτας πολύ χαμηλού ενεργειακού περιεχομένου, ακόμα και για μικρό χρονικό διάστημα, έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της συγκέντρωσης πολλών δεικτών της συστηματικής φλεγμονής, όπως η CRP, η IL-6, ο TNF- α και ο υποδοχέας του TNF- α και το ICAM-1. Η μείωση αυτών των δεικτών δε φαίνεται να οφείλεται στην μειωμένη πρόσληψη κάποιου συγκεκριμένου μακροθρεπτικού συστατικού αφού δίαιτες μειωμένης ενεργειακής πρόσληψης, χαμηλές είτε σε υδατάνθρακες είτε σε λίπος, προκαλούσαν παρόμοια μείωση των δεικτών συστηματικής φλεγμονής. Η αντιφλεγμονώδης δράση της διατροφής με μειωμένο θερμιδικό περιεχόμενο φαίνεται ότι οφείλεται κυρίως στην αντιοξειδωτική δράση της. Το οξειδωτικό στρες, μέσω ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα NF- κ B, μπορεί να επάγει τη σύνθεση πολλών προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Πράγματι, έχει βρεθεί ότι δίαιτες χαμηλής ενεργειακής πρόσληψης μειώνουν την έκφραση των γονιδίων των IL-1 β , IL-6, TNF- α και iNOS με παράλληλη αναστολή της ενεργοποίησης του NF- κ B. Παράλληλα, η μείωση του λιπώδους ιστού και ιδιαίτερα του κοιλιακού λίπους, που φυσιολογικά συνοδεύει τέτοιου είδους δίαιτες, είναι ένας άλλος σημαντικός μηχανισμός μέσω του οποίου

αναστέλλεται η συστηματική φλεγμονή αφού το μειωμένο ποσοστό λιπώδους ιστού και ιδιαίτερα του κοιλιακού λίπους οδηγεί σε μειωμένη έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και αυξημένη έκκριση της αντιφλεγμονώδους ορμόνης αντιπυρεκτίνης από αυτό [12].

2.4 ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΙΝΕΣ

2.4.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΙΔΗ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΩΝ ΙΝΩΝ

Στις 4 Νοεμβρίου του 2008, η 30^η σύνοδος της επιτροπής CCNFSDU, που έλαβε χώρα στη Νότια Αφρική, κατέληξε σε συμφωνία για τον ορισμό των διαιτητικών ινών. Σύμφωνα με αυτόν, οι διαιτητικές ίνες είναι πολυμερή υδατανθράκων αποτελούμενα από 10 ή περισσότερα μονομερή, δεν υδρολύονται από τα ενδογενή ένζυμα του λεπτού εντέρου του ανθρώπου και κατατάσσονται στις ακόλουθες κατηγορίες:

- 1) Εδώδια πολυμερή υδατανθράκων που απαντούν φυσικά στα καταναλισκόμενα τρόφιμα.
- 2) Πολυμερή υδατανθράκων που λαμβάνονται από την ανεπεξέργαστη ύλη των τροφίμων με φυσικό, ενζυμικό ή χημικό τρόπο και για τα οποία υπάρχουν αποδεκτές επιστημονικές ενδείξεις ότι ασκούν φυσιολογικές ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία.
- 3) Συνθετικά πολυμερή υδατανθράκων για τα οποία υπάρχουν αποδεκτές επιστημονικές ενδείξεις ότι διαθέτουν ευεργετικές ιδιότητες για την υγεία [74].

Οι διαιτητικές ίνες διακρίνονται σε διαλυτές και αδιάλυτες με βάση τη διαλυτότητά τους στο νερό. Στις αδιάλυτες περιλαμβάνονται η κυτταρίνη, ορισμένες ημικυτταρίνες και η λιγνίνη. Οι διαλυτές αποτελούνται από τις πηκτίνες, ορισμένες ημικυτταρίνες, τα κόμμεα και τις φυτοβλέννες [75].

2.4.2 ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΩΝ ΙΝΩΝ ΣΤΑ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΕΠΕΙΣΟΔΙΑ

Αρκετές μελέτες έχουν βρει ότι μια διατροφή πλούσια σε ίνες (14 g ινών/ 1000 kcal ενεργειακής πρόσληψης) συσχετίζεται με σημαντική μείωση (16 – 33%) του κινδύνου για στεφανιαία νόσο. Μια συνοπτική ανάλυση μελετών που αξιολογούν την

πρόσληψη ινών από τη διατροφή στις ΗΠΑ και την Ευρώπη έδειξε ότι για κάθε αύξηση της ολικής πρόσληψης ινών κατά 10 g/ημέρα επιτυγχάνεται μείωση του κινδύνου για στεφανιαία επεισόδια (π.χ. έμφραγμα του μυοκαρδίου) κατά 14% και της θνησιμότητας από στεφανιαία νόσο κατά 24% [76]. Ως επαρκής κρίνεται η πρόσληψη (AI) 14 g/ 1000 kcal διαιτητικών ινών. Η αυξημένη πρόσληψη διαιτητικών ινών συσχετίζεται με σημαντικά χαμηλότερους δείκτες επίπτωσης για στεφανιαία νόσο, εγκεφαλικό επεισόδιο και περιφερειακή αγγειακή νόσο. Επιπλέον, σημαντικοί παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά, όπως η υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, η παχυσαρκία και η δυσλιπιδαιμία, είναι λιγότερο συνήθεις σε άτομα με την υψηλότερη κατανάλωση διαιτητικών ινών [77].

2.4.3 ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΕ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

2.4.3.1 ΥΠΟΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Σε μελέτες παρέμβασης έχει βρεθεί ότι η αυξημένη πρόσληψη ινών βελτιώνει μερικούς από τους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως τα υψηλά επίπεδα της χοληστερόλης, την υψηλή πίεση αίματος, την παχυσαρκία και το σακχαρώδη διαβήτη. Για παράδειγμα, η κατανάλωση τροφίμων πλούσιων σε ιξώδεις διαλυτές ίνες έχει βρεθεί ότι μειώνει τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης στο αίμα κατά 10 με 15%, με αναμενόμενη μείωση των καρδιαγγειακών επεισοδίων κατά 10 με 15% [76]. Αυτές οι μεταβολές στα επίπεδα της LDL χοληστερόλης επιτυγχάνονται χωρίς σημαντικές μεταβολές στη συγκέντρωση της HDL χοληστερόλης ή των τριγλυκεριδίων [77].

Σύμφωνα με την ανασκόπηση των Brown και συνεργατών, οι διαλυτές ίνες μειώνουν τις συγκεντρώσεις της ολικής και της LDL χοληστερόλης στον ορό. Περίπου 3 g διαλυτών ινών συσχετίζονται με μείωση της ολικής και της LDL χοληστερόλης κατά 0,13 mmol/L ή 5 mg/dL. Επιπρόσθετα, έχει αναφερθεί ότι τα προϊόντα βρώμης μειώνουν τις συγκεντρώσεις των μικρών και πυκνών σωματιδίων της LDL, τα οποία θεωρούνται περισσότερα αθηρογόνα σε σχέση με τα μεγάλα και λιγότερο πυκνά σωματίδια. Αναφορικά με τη συγκέντρωση της HDL χοληστερόλης, έχει αναφερθεί ότι η πρόσληψη διαλυτών ινών είτε δεν τη μεταβάλλει είτε επιφέρει ήπια μείωση. Η επίδραση των διαλυτών ινών έχει φανεί ότι είναι ανεξάρτητη από την επίδραση

άλλων συστατικών της διατροφής και σχετίζεται με την ιδιότητα αυτών των ινών να σχηματίζουν πηκτές. Ως εκ τούτου, οι ίνες του σιταριού, οι οποίες είναι αδιάλυτες, φαίνεται ότι δεν επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις της χοληστερόλης στον ορό [75].

Ορισμένα παραδείγματα υδατοδιαλυτών ινών που φαίνεται ότι μειώνουν τόσο την ολική όσο και την LDL χοληστερόλη είναι η β-γλυκάνη, η πηκτίνη, το κόμμι guar και το psyllium. Η β-γλυκάνη βρίσκεται στα δημητριακά, ιδιαίτερα στη βρώμη και το κριθάρι, καθώς και στις ζύμες και τα μανιτάρια και συντίθεται από μόρια γλυκόζης. Η πηκτίνη απαντά σε πολλά φυτά, αλλά κυρίως στα εσπεριδοειδή και τα μήλα. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, η πηκτίνη μετατρέπεται από μια αδιάλυτη ουσία σε ένα περισσότερο υδατοδιαλυτό συστατικό. Η πηκτίνη είναι ένας μη διακλαδισμένος πολυσακχαρίτης αποτελούμενος από 300 με 1000 μονάδες μονοσακχαριτών, κυρίως D-γαλακτουρονικού οξέος. Το 1961, οι Keys και συνεργάτες δημοσίευσαν την πρώτη μελέτη σε ανθρώπους που έδειξε ότι η πρόσληψη πηκτίνης οδήγησε σε μείωση των συγκεντρώσεων ολικής χοληστερόλης στον ορό. Πριν από 40 χρόνια, οι Fahrenbach και συνεργάτες βρήκαν ότι η χορήγηση κόμμεος guar μειώνει αποτελεσματικά τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης ορού σε ανθρώπους με φυσιολογικές συγκεντρώσεις. Τέλος, το psyllium είναι μια φυτοβλέννα που προέρχεται από το φυτό *Plantago ovata*, ένα βότανο που φύεται σε μέρη της Ασίας, σε μεσογειακές περιοχές της Ευρώπης και στη Βόρεια Αφρική. Το βιοδραστικό συστατικό του psyllium είναι μια ίνα που συντίθεται από αραβινοξυλάνη υψηλής διακλάδωσης. Ο βασικός σκελετός αποτελείται από μονάδες ξυλόζης, με μονάδες αραβινόζης και ξυλόζης που σχηματίζουν τις πλευρικές αλυσίδες [78].

2.4.3.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΕ ΑΛΛΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Πίεση αίματος

Η αυξημένη πρόσληψη διαιτητικών ινών συχνά συνοδεύεται από τη μείωση της συστολικής και διαστολικής πίεσης αίματος. Η αύξηση της πρόσληψης ινών από τη διατροφή ή τα συμπληρώματα μπορεί να επιδράσει ανεξάρτητα στη μείωση της πίεσης αίματος, ιδιαιτέρως σε υπερτασικούς [77].

Ινσουλινο-αντίσταση

Η ινσουλινο-αντίσταση, που χαρακτηρίζεται από κοιλιακή παχυσαρκία, διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας, υπερινσουλιναιμία, υπερτριγλυκεριδαιμία, χαμηλή συγκέντρωση HDL χοληστερόλης και αυξημένη πίεση αίματος, θεωρείται σημαντικός παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα. Σε μελέτες παρατήρησης, οι διαιτητικές ίνες συσχετίστηκαν αντιστρόφως με δείκτες ινσουλινο-αντίστασης και μια μελέτη απέδωσε αυτή τη συσχέτιση στις ίνες των δημητριακών και των φρούτων, ενώ σε άλλες αναφέρεται ότι η συσχέτιση αυτή οφείλεται τόσο στις διαλυτές όσο και στις αδιάλυτες ίνες [75].

C αντιδρώσα πρωτεΐνη

Οι μελέτες που εξετάζουν τη σχέση των ινών της διατροφής με δείκτες φλεγμονής είναι λίγες. Σε μια αναδρομική μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε ανθρώπους που είχαν συμμετάσχει στη μελέτη NHANES 1999 – 2000 βρέθηκε ότι η πρόσληψη ινών από τη διατροφή συνδέεται με τη φλεγμονή. Συγκεκριμένα, μεταξύ 4900 ενηλίκων, ηλικίας 40-65 ετών, η πιθανότητα αύξησης της CRP ήταν σημαντικά χαμηλότερη στην ομάδα των συμμετεχόντων με την υψηλότερη πρόσληψη ινών σε σύγκριση με την ομάδα με τη χαμηλότερη πρόσληψη (OR=0.51, 95% CI 0.27–0.95). Η πρόσληψη ινών από τη διατροφή παρέμεινε ο σημαντικότερος διατροφικός παράγοντας που συσχετίζεται με τα επίπεδα της CRP ακόμη και μετά από έλεγχο για σημαντικούς συγχυτικούς παράγοντες, όπως η ηλικία, το φύλο, η εθνικότητα, το BMI, η άσκηση, η ολική ενεργειακή πρόσληψη, το αλκοόλ και το κάπνισμα [79]. Επιπλέον, σε μια μελέτη παρατηρήθηκε ότι η πρόσληψη 9,8 g/1000 kcal διαλυτών ινών συσχετίζεται με μείωση της συγκέντρωσης της CRP, δείχνοντας ότι οι ίνες πιθανόν διαθέτουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Ωστόσο, προς το παρόν, τα δεδομένα αναφορικά με τη συσχέτιση των ινών με τη φλεγμονή είναι ελάχιστα και η βιολογική σημασία της παρατηρούμενης μεταβολής των επιπέδων της CRP παραμένει αβέβαιη [75].

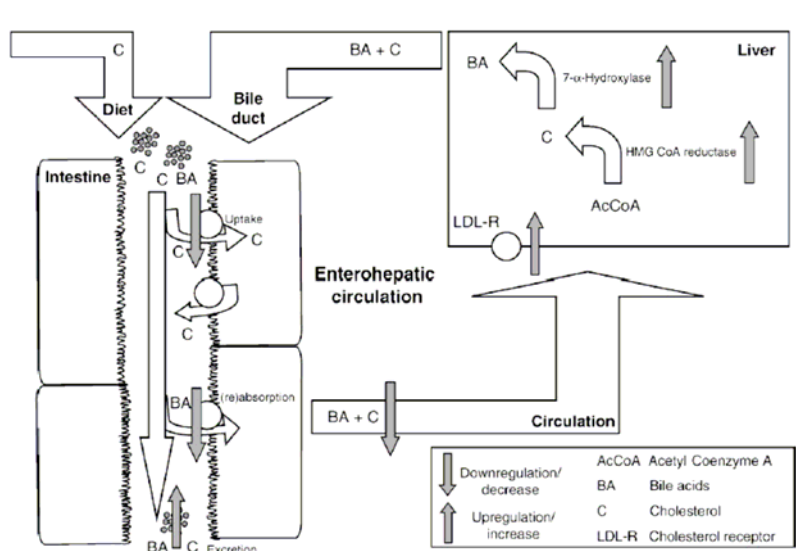
2.4.4 ΠΙΘΑΝΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΩΝ ΙΝΩΝ

Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο οι υδατοδιαλυτές ίνες μειώνουν τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης στον ορό δεν είναι γνωστός. Τα δεδομένα δείχνουν ότι οι υδατοδιαλυτές ίνες παρεμβαίνουν στο μεταβολισμό των λιπιδίων και των χολικών οξέων. Άλλοι προτεινόμενοι μηχανισμοί περιλαμβάνουν την αναστολή της σύνθεσης

χοληστερόλης στο ήπαρ και την επιβράδυνση της απορρόφησης μακροθρεπτικών συστατικών η οποία οδηγεί σε αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη. Παρόλα αυτά, η υποχοληστερολαιμική επίδραση των διαλυτών ινών αποδίδεται, κατά κύριο λόγο, στη μειωμένη απορρόφηση των χολικών οξέων μέσω δέσμευσης αυτών στο λεπτό έντερο.

Μείωση της απορρόφησης των χολικών οξέων

Τα δεδομένα δείχνουν ότι ορισμένες υδατοδιαλυτές ίνες δεσμεύουν χολικά οξέα κατά τη διάρκεια σχηματισμού μικυλλίων στον εντερικό αυλό. Αυτές οι παρατηρήσεις οδήγησαν στη διατύπωση της θεωρίας ότι οι υδατοδιαλυτές ίνες αυξάνουν την απομάκρυνση των χολικών οξέων από τον οργανισμό. Εναλλακτικά, έχει προταθεί ότι οι υδατοδιαλυτές ίνες σχηματίζουν μια αδιάλυτη στοιβάδα στον αυλό του εντέρου, η οποία προκαλεί μείωση της απορρόφησης των χολικών οξέων και της χοληστερόλης και αύξηση της απέκκρισής τους. Κατά συνέπεια, αυξάνεται η μετατροπή της χοληστερόλης σε χολικά οξέα στο ήπαρ, η δεξαμενή ελεύθερης χοληστερόλης του ήπατος μειώνεται και η ενδογενής σύνθεση χοληστερόλης αυξάνεται. Συγκεκριμένα, παρατηρείται αύξηση της δραστηριότητας των ενζύμων 7-α-υδροξυλάση και HMG-CoA αναγωγή με σκοπό την αποκατάσταση της μείωσης των χολικών οξέων και της χοληστερόλης στο ήπαρ. Επιπρόσθετα, ενισχύεται η λειτουργία των ηπατικών υποδοχέων της LDL χοληστερόλης προκειμένου να αποκατασταθούν τα αποθέματα της χοληστερόλης στο ήπαρ, με αποτέλεσμα τη μείωση των συγκεντρώσεων της LDL χοληστερόλης στον ορό (σχήμα 2.9).



Σχήμα 2.9. Προτεινόμενος μηχανισμός δράσης των υδατοδιαλυτών ινών στη μείωση της συγκέντρωσης χοληστερόλης αίματος. Οι ιξώδεις υδατοδιαλυτές ίνες σχηματίζουν μια πηκτή στο εσωτερικό του εντερικού αυλού μειώνοντας την απορρόφηση και την επαναρρόφηση της χοληστερόλης και των χολικών οξέων, με αποτέλεσμα την αύξηση της απέκκρισης αυτών με τα κόπρανα. Κατά συνέπεια, αυξάνει η μετατροπή της χοληστερόλης σε χολικά οξέα στο ήπαρ, οι ενδοηπατικές αποθήκες ελεύθερης χοληστερόλης μειώνονται και η ενδογενής σύνθεση χοληστερόλης αυξάνει. Επιπρόσθετα, παρατηρείται θετική ρύθμιση επί των ηπατικών υποδοχέων της LDL χοληστερόλης προκειμένου να αποκατασταθούν τα αποθέματα ελεύθερης χοληστερόλης του ήπατος. Το συνολικό αποτέλεσμα είναι η μείωση των συγκεντρώσεων της LDL χοληστερόλης στον ορό. (Elke Theuwissen, Ronald P. Mensink. Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. *Physiology & Behavior*, 2008, 94: 285 – 292.)

Επίδραση στο μεταβολισμό των λιπιδίων

Οι υδατοδιαλυτές ίνες δεν απορροφώνται στο λεπτό έντερο και υφίστανται ζύμωση στο παχύ έντερο από την εντερική μικροχλωρίδα. Αυτή η ζύμωση καταλήγει στην παραγωγή λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας (SCFA), όπως το οξικό οξύ, το προπιονικό οξύ και το βουτυρικό οξύ. Το βουτυρικό οξύ μεταβολίζεται, κατά κύριο λόγο, από τα κύτταρα του βλεννογόνου του παχέος εντέρου, ενώ το οξικό και το προπιονικό οξύ απορροφώνται ταχύτατα. Έχει διατυπωθεί η θεωρία ότι η παραγωγή SCFA και ιδιαίτερα οι αλλαγές στο λόγο προπιονικού οξέος προς οξικό επηρεάζουν το μεταβολισμό των λιπιδίων. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι το οξικό οξύ αποτελεί υπόστρωμα για τη σύνθεση στερολών και λιπαρών οξέων και το προπιονικό οξύ αναστέλλει την ενσωμάτωση του οξικού στα λιπίδια του ορού. Ωστόσο, αυτή η θεωρία βασίζεται κυρίως σε μελέτες με πειραματόζωα, ενώ οι μελέτες παρέμβασης σε ανθρώπους είναι λίγες [78].

Επίδραση στην έκκριση ινσουλίνης

Η πρόσληψη ινών μπορεί να μειώσει την έκκριση ινσουλίνης, πιθανόν ως αποτέλεσμα της επιβράδυνσης του ρυθμού κένωσης του στομάχου και μείωσης του ρυθμού απορρόφησης της γλυκόζης. Η μειωμένη απάντηση ινσουλίνης μειώνει την ενεργοποίηση της λιπογένεσης στο ήπαρ [75].

2.4.5 ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ

Γενικά, μια δίαιτα που παρέχει 25 με 30 g ολικών διαιτητικών ινών εκ των οποίων τα 7 με 13 g είναι διαλυτές ίνες, είναι καλά ανεκτή, αποτελεσματική και συστήνεται για τη μείωση των λιπιδίων και του κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα [48].

2.5 ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ BITAMINEΣ ΚΑΙ BITAMINEΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ Β

2.5.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

Οι ελεύθερες ρίζες είναι ηλεκτρικώς φορτισμένα μόρια, που αποσπών ηλεκτρόνια από άλλες ουσίες ώστε τελικά να γίνουν ουδέτερα. Ως αποτέλεσμα της προηγούμενης δράσης είναι ο σχηματισμός μιας νέας ελεύθερης ρίζας, προκαλώντας μια αλυσιδωτή αντίδραση. Μέχρι να απενεργοποιηθούν οι νεοσχηματιζόμενες ελεύθερες ρίζες, μπορούν να συμβούν χιλιάδες αντιδράσεις μέσα σε λίγα μόνο δευτερόλεπτα. Ο όρος «αντιοξειδωτικό» αναφέρεται σε οποιοδήποτε μόριο είναι ικανό να σταθεροποιήσει ή απενεργοποιήσει τις ελεύθερες ρίζες πριν να επιτεθούν σε κύτταρα. Αυτά τα μόρια, συγκεκριμένα, είναι τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά. Άλλα μόρια που χαρακτηρίζονται ως αντιοξειδωτικά είναι όσα δρουν ως χηλικοί παράγοντες οι οποίοι δεσμεύουν μεταλλικά ιόντα [80].

2.5.2 ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Για την προστασία των κυττάρων και των οργάνων του σώματος από τις δραστικές ρίζες οξυγόνου, ο ανθρώπινος οργανισμός έχει αναπτύξει ένα περίπλοκο αντιοξειδωτικό σύστημα. Αυτό το σύστημα περιλαμβάνει μια ποικιλία συστατικών, ενδογενών και εξωγενών, που δρουν αμοιβαία και συνεργιστικά για να ουδετεροποιήσουν τις ελεύθερες ρίζες. Σε αυτά τα συστατικά συγκαταλέγονται 1)

αντιοξειδωτικά ένζυμα που καταλύουν αντιδράσεις απενεργοποίησης ελευθέρων ριζών, όπως η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και η δισμουτάση του υπεροξειδίου 2) πρωτεΐνες δέσμευσης μετάλλων που απομονώνουν ελεύθερα ιόντα σιδήρου και χαλκού, τα οποία είναι σε θέση να καταλύουν αντιδράσεις οξειδωσης και 3) αντιοξειδωτικά της διατροφής, όπως το ασκορβικό οξύ, η βιταμίνη E, τα καροτενοειδή, οι πολυφαινόλες και άλλα μόρια χαμηλού μοριακού βάρους, όπως το α-λιποϊκό οξύ. Επιπλέον, συστατικά της διατροφής που δε συμβάλλουν στην ουδετεροποίηση των ελευθέρων ριζών, αλλά ενισχύουν την ενδογενή αντιοξειδωτική ικανότητα ανήκουν, επίσης, στα αντιοξειδωτικά.

Τα ενδογενή αντιοξειδωτικά παίζουν κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση της βέλτιστης ισορροπίας και λειτουργίας των κυττάρων και των οργάνων. Ωστόσο, η έκθεση στο αλκοόλ, τα φάρμακα, τις τοξίνες, το κρύο και την ακτινοβολία, καθώς και ο τραυματισμός, οι λοιμώξεις, η κακή θρέψη και η επίπονη σωματική δραστηριότητα, μεταξύ άλλων, υπονομεύουν τον ενδογενή μηχανισμό άμυνας του οργανισμού, ο οποίος δε μπορεί να αντιδράσει στο οξειδωτικό στρες. Η προστασία από το οξειδωτικό στρες εξαρτάται από την επάρκεια σε αντιοξειδωτικά που προέρχονται από τη διατροφή.

2.5.2.1 ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Τα αντιοξειδωτικά της διατροφής έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον των ερευνητών ως πιθανοί παράγοντες πρόληψης και θεραπείας, βάσει της θεωρίας του οξειδωτικού στρες για την αθηροσκλήρωση. Η βιταμίνη C είναι υδατοδιαλυτή και θεωρείται ότι αναγεννά τη βιταμίνη E από την οξειδωμένη της μορφή. Οι κύριες πηγές βιταμίνης C είναι τα εσπεριδοειδή, οι ντομάτες και οι πατάτες. Η βιταμίνη E που απαντά στη φύση είναι μείγμα τοκοφερολών και τοκοτριενολών (α-, β-, γ- και δ- τοκοφερόλη και α-, β-, γ- και δ- τοκοτριενόλη) και συντίθεται μόνο από φυτά. Φυσικές πηγές βιταμίνης E είναι τα φυτικά έλαια. Το ελαιόλαδο περιέχει βιταμίνη E και πολλές από τις ωφέλιμες επιδράσεις του αποδίδονται σε αυτό το συστατικό. Το β-καροτένιο είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη, που μεταφέρεται στην κυκλοφορία μαζί με τη βιταμίνη E στον πυρήνα λιπιδίων των λιποπρωτεϊνών. Το β-καροτένιο απαντά σε υψηλές συγκεντρώσεις στα καρότα και στα σκούρα πράσινα φυλλώδη λαχανικά. Το λυκοπένιο είναι μια κόκκινη χρωστική που εντοπίζεται στις ντομάτες και τα προϊόντα

αυτής. Πολυάριθμες μη πειραματικές μελέτες συνδέουν τη διαιτητική πρόσληψη αντιοξειδωτικών με την πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Μεταξύ αυτών είναι: 1) η CHAOS, 2) η ARIC, 3) η μελέτη Kuopio Atherosclerosis, 4) η μελέτη Zutphen Elderly, 5) η μελέτη του Πανεπιστημίου John Hopkins και 6) η μελέτη EURAMIC [80].

ΒΙΤΑΜΙΝΗ C Ή ΑΣΚΟΡΒΙΚΟ ΟΞΥ

Το ασκορβικό οξύ συντίθεται στα περισσότερα θηλαστικά από μια διαδικασία που περιλαμβάνει 5 ένζυμα και ξεκινά με μια ενεργοποιημένη μορφή γλυκόζης, τη UDP-γλυκόζη. Παρόλα αυτά, τα περισσότερα πρωτεύοντα θηλαστικά δεν είναι σε θέση να συνθέσουν ασκορβικό λόγω μιας μετάλλαξης στο τελικό ένζυμο στην πορεία σύνθεσής του. Το ασκορβικό οξύ έχει πολυάριθμες βιολογικές λειτουργίες, όπως τη συμμετοχή στη σύνθεση του κολλαγόνου, της κρεατίνης και της κατεχολαμίνης. Μια από τις σημαντικότερες λειτουργίες του ασκορβικού οξέος είναι ο ρόλος του ως δωρητή ηλεκτρονίων ή αντιοξειδωτικό [81]. Οι υδατοδιαλυτές αντιοξειδωτικές βιταμίνες, κατά κύριο λόγο η βιταμίνη C, δρουν ώστε να εμποδίσουν την οξειδωτική καταστροφή των υδρόφοβων αντιοξειδωτικών βιταμινών, όπως της βιταμίνης E και του β-καροτενίου και διασφαλίζουν την αναγέννησή τους, παίζοντας σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της αντιοξειδωτικής προστασίας. Επομένως, η βιταμίνη C μπορεί να δρα συνεργιστικά με αυτές τις βιταμίνες [82].

Η βιταμίνη C έχει φανεί ότι διαθέτει και άλλες ιδιότητες πέρα από τις αντιοξειδωτικές. Ειδικότερα, σε μελέτες *in vivo* έχει βρεθεί ότι η βιταμίνη C περιορίζει την απόπτωση του ενδοθηλίου που μεσολαβείται από φλεγμονώδεις κυτταροκίνες και την οξειδωμένη LDL, προάγει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και αναστέλλει την αύξηση των λείων μυϊκών κυττάρων. Επίσης, η βιταμίνη C έχει την ικανότητα να ρυθμίζει τη γονιδιακή έκφραση και μπορεί να μειώσει την προσκόλληση των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο μέσω αναστολής της έκφρασης του γονιδίου που κωδικοποιεί για το μόριο προσκόλλησης ICAM-1. Επιπρόσθετα, η χορήγηση βιταμίνης C μπορεί να μειώσει την απόπτωση των λείων μυϊκών κυττάρων και ως εκ τούτου να συμβάλει στη σταθεροποίηση της πλάκας στο τελικό στάδιο της αθηροσκλήρωσης [82]. Τέλος, έχει παρατηρηθεί ότι η βιταμίνη C επιδρά στην πορεία σύνθεσης του NO. Αναλυτικότερα, το NO προκαλεί

τη χαλάρωση του λείου μυϊκού ιστού των αγγείων, εμποδίζει την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο, την ενεργοποίηση προφλεγμονωδών μορίων προσκόλλησης και κυτταροκινών και την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Ωστόσο, η πορεία βιοσύνθεσης του NO επηρεάζεται εύκολα από τις δραστικές ρίζες οξυγόνου. Φαίνεται ότι η βιταμίνη C προστατεύει την πορεία σύνθεσης του NO μέσω ρύθμισης της οξειδοαναγωγικής κατάστασης των συστατικών της. Επιπρόσθετα, το ασκορβικό συμβάλλει στην παραγωγή υψηλών συγκεντρώσεων NO τοπικά. Επίσης, αυξάνει την ευαισθησία της γουανυλικής κυκλάσης στη μεταγωγή του σήματος από το NO. Ο προστατευτικός ρόλος της βιταμίνης C επί του NO και της βιοσυνθετικής του πορείας υποστηρίζεται από κλινικά δεδομένα, σύμφωνα με τα οποία, η χορήγηση βιταμίνης C βελτιώνει την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή σε ασθενείς με δυσλειτουργία του ενδοθηλίου [83].

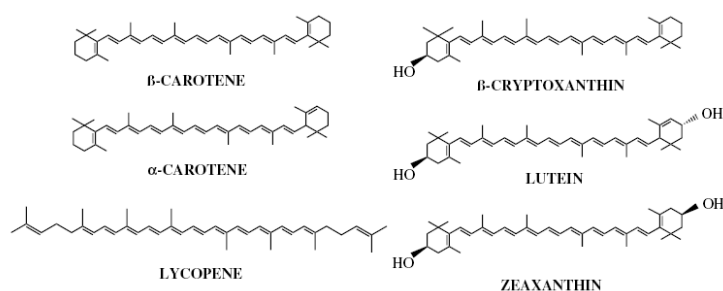
BITAMINH E

Η δραστικότερη μορφή βιταμίνης E είναι η α-τοκοφερόλη. Έχει φανεί ότι η βιταμίνη E διαθέτει τόσο αντιοξειδωτικές όσο και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Η βιταμίνη E μπορεί να μειώσει την έκκριση χημειοκινών, τη συσσώρευση μονοκυττάρων, την έκφραση των υποδοχέων ScRs (π.χ. CD36) επί των μακροφάγων και το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων. Επίσης, η βιταμίνη E μπορεί να μειώσει την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης, μειώνοντας την έκφραση μορίων προσκόλλησης, αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και αυξάνοντας τη βιοδιαθεσιμότητα του NO. Αυτές οι επιδράσεις, έχει φανεί ότι μεσολαβούνται από την αναστολή της οδού του NF-κB. Μια άλλη αντι-αθηρογόνος ιδιότητα της βιταμίνης E είναι η ικανότητά της να ρυθμίζει τη γονιδιακή έκφραση, όπως την αύξηση της έκφρασης του mRNA που κωδικοποιεί για την eNOS. Επιπρόσθετα, έχει φανεί ότι η βιταμίνη E εμποδίζει τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου μέσω της προστασίας του από τις δραστικές ρίζες οξυγόνου και την οξειδωμένη LDL, καθώς και μέσω ενεργοποίησης του πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων και τη μείωση της απόπτωσης αυτών. Εντούτοις, θα πρέπει να σημειωθεί ότι αυτές οι επιδράσεις της α-τοκοφερόλης έχουν επιβεβαιωθεί μόνο με μελέτες *in vitro* και μελέτες σε πειραματόζωα, αλλά όχι ακόμα *in vivo* [82].

Για τις τοκοτριενόλες έχει παρατηρηθεί σε μελέτες με υπερχοληστερολαιμικούς ότι είναι αποτελεσματικές στη μείωση των επιπέδων ολικής και LDL χοληστερόλης στον ορό, αναστέλλοντας το ηπατικό ένζυμο HMGCoA αναγωγή μέσω ενός μετα-μεταγραφικού μηχανισμού [84].

ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΗ

Έχουν χαρακτηριστεί περισσότερα από 600 καροτενοειδή, εκ των οποίων περίπου τα 50 προσλαμβάνονται από τον άνθρωπο μέσω της διατροφής. Κύρια πηγή των καροτενοειδών είναι τα φυτά, όπου εντοπίζονται στις ρίζες, στα φύλλα, στους καρπούς και στα άνθη. Τα καροτενοειδή απαντούν, επίσης, στα αυγά, τα πουλερικά και τα ψάρια, αλλά σε μικρότερο βαθμό. Τα συνηθέστερα καροτενοειδή είναι το λυκοπένιο, η λουτεΐνη, το α-καροτένιο, το β-καροτένιο, η β-κρυπτοξανθίνη και η ζεαξανθίνη (σχήμα 2.10).



Σχήμα 2.10. Οι δομές των κυριότερων καροτενοειδών που εντοπίζονται στο πλάσμα του ανθρώπου. (Sari Voutilainen, Tarja Nurmi, Jaakko Mursu, and Tiina H Rissanen. Carotenoids and cardiovascular health. The American Journal of Clinical Nutrition, 2006, 83: 1265 – 71.)

Η βιοδιαθεσιμότητα των καροτενοειδών φαίνεται ότι εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Σε γενικές γραμμές, η απορρόφηση των καροτενοειδών εξαρτάται από τη βιοδιαθεσιμότητά τους από το τρόφιμο και τη διαλυτότητά τους στα μικύλλια. Πολλά καροτενοειδή απορροφώνται καλύτερα παρουσία λίπους στη διατροφή και μετά από τη θερμική επεξεργασία των τροφίμων. Επιπλέον, η διαμόρφωση των καροτενοειδών επηρεάζει τη βιοδιαθεσιμότητα και την απορρόφησή τους. Για παράδειγμα, τα trans ισομερή του λυκοπενίου απορροφώνται σε μικρότερο βαθμό συγκριτικά με τα cis ισομερή. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την απορρόφηση των καροτενοειδών περιλαμβάνουν την παρουσία διαιτητικών ινών, την κατάσταση της υγείας του ανθρώπου και τη φυσική μορφή του καροτενοειδούς. Τα καροτενοειδή

απορροφώνται μαζί με τα υπόλοιπα λιποδιαλυτά συστατικά της διατροφής και εισέρχονται στην κυκλοφορία με τη μορφή των χυλομικρών. Η συγκέντρωσή τους στο αίμα ποικίλλει από άνθρωπο σε άνθρωπο. Τα περισσότερα καροτενοειδή, όπως το α-καροτένιο, το β-καροτένιο και η β-κρυπτοξανθίνη, έχουν δράση προβιταμίνης Α και θεωρούνται ότι διαθέτουν πολλές άλλες βιολογικές λειτουργίες. Ο ρόλος των καροτενοειδών στην προστασία από την οξειδωση δεν είναι σαφής, καθώς υπάρχουν δεδομένα που παρουσιάζουν ουδέτερη, αντιοξειδωτική ή προοξειδωτική δράση αυτών [85].

Το οξειδωτικό στρες παίζει σημαντικό ρόλο στην αθηρογένεση και την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων. Σε πειραματόζωα, η συμπληρωματική χορήγηση αντιοξειδωτικών αναστέλλει την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Ωστόσο, προς το παρόν, οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί δεν έχουν επιβεβαιώσει το ρόλο των συμπληρωμάτων βιταμίνης C, βιταμίνης E και β-καροτενίου στην πρωτογενή ή δευτερογενή πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων σε ανθρώπους. Εν τω μεταξύ θα πρέπει να ενθαρρύνεται η αύξηση της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών. Στους παχύσαρκους και υπέρβαρους, οι λιποδιαλυτές βιταμίνες μπορεί να κατακρατηθούν στο σπλαχνικό ιστό, με αποτέλεσμα τα μειωμένα επίπεδα αυτών των βιταμινών στον ορό. Επομένως, αυτά τα άτομα μπορεί να είναι πιο επιρρεπή στο οξειδωτικό στρες με αυξημένη πιθανότητα δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου και οξείδωσης της LDL. Αυτό μπορεί να εξηγήσει, εν μέρει, τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο που διατρέχουν οι παχύσαρκοι και οι υπέρβαροι και μπορεί να υποστηρίξει το θεραπευτικό ρόλο της χορήγησης συμπληρωμάτων λιποδιαλυτών βιταμινών σε αυτούς τους ανθρώπους [86].

2.5.3 ΟΜΟΚΥΣΤΕΪΝΗ ΚΑΙ ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΕΓΜΑΤΟΣ Β

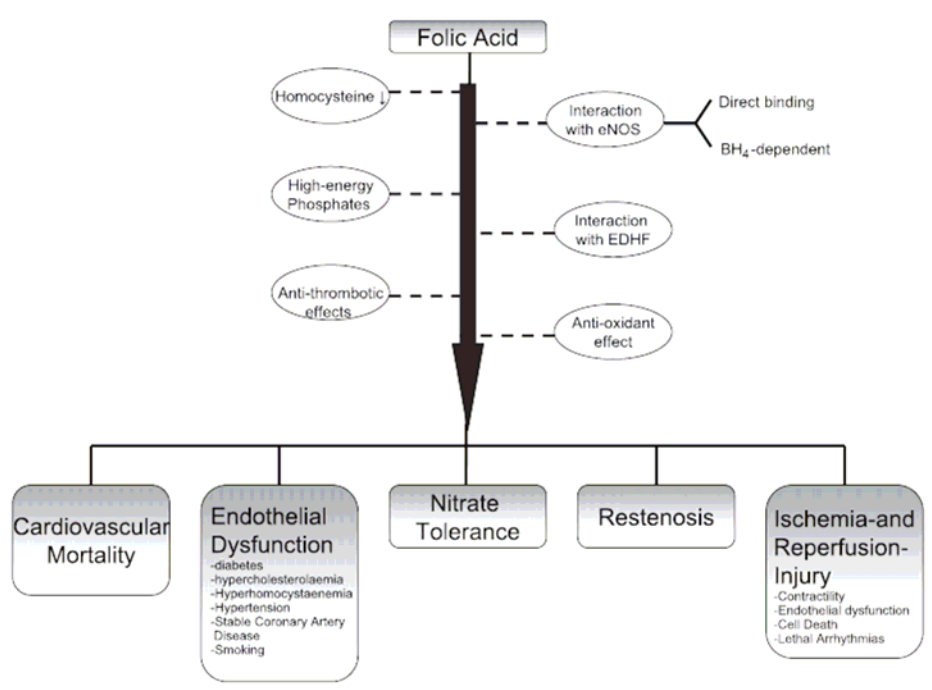
Πολλές μελέτες παρατήρησης έχουν δείξει ότι τα αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης στο πλάσμα συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα [48]. Επίσης, τα χαμηλά επίπεδα φυλλικού οξέος έχουν συσχετιστεί με υψηλό κίνδυνο θνησιμότητας από στεφανιαία νόσο, ειδικά όταν τα επίπεδα φυλλικού οξέος μειωθούν κάτω από τα 6,8 nmol/L (= 3 ng/mL). Αυτή η αντίστροφη συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα φυλλικού οξέος και τις αθηροσκληρωτικές αγγειακές νόσους έχει παρατηρηθεί και στις μελέτες NHANES, Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor

Study και Framingham Heart Study. Ωστόσο, άλλες μελέτες δεν έχουν επιβεβαιώσει αυτή τη συσχέτιση, όπως οι μελέτες PHS και ARIC. Επιπρόσθετα, έχει παρατηρηθεί αντίστροφη συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα φυλλικού οξέος και την ομοκυστεΐνη ορού.

Η ομοκυστεΐνη είναι ένα θειούχο αμινοξύ που παράγεται κατά τον καταβολισμό της μεθειονίνης. Η ομοκυστεΐνη μεταβολίζεται μέσω δύο οδών: είτε με επαναμεθυλίωση στην περίπτωση ανεπάρκειας σε μεθειονίνη είτε μέσω μεταφοράς της θειούχου ομάδας στην περίπτωση πλεονάσματος μεθειονίνης. Στην πορεία της επαναμεθυλίωσης, η ομοκυστεΐνη μετατρέπεται σε μεθειονίνη από τη συνθάση της μεθειονίνης, η οποία απαιτεί βιταμίνη B12 ως συμπράγοντα και φυλλικό οξύ ως δότη της μεθυλομάδας. Στην εναλλακτική πορεία μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης, η ομοκυστεΐνη καταβολίζεται προς κυσταθειονίνη και στη συνέχεια, προς κυστεΐνη από τη β-συνθάση της κυσταθειονίνης, που απαιτεί βιταμίνη B6 ως συμπράγοντα. Η παραγόμενη κυστεΐνη απεκκρίνεται με τα ούρα ή ενσωματώνεται στη γλουταθειονίνη [87]. Η υπερομοκυστεϊναιμία οφείλεται σε γενετικές μεταλλάξεις ή σε ανεπάρκεια των βιταμινών B-6, B12 ή φυλλικού οξέος. Οι επιδράσεις της ομοκυστεΐνης είναι ανεξάρτητες από άλλους καθιερωμένους παράγοντες κινδύνου, όπως η υπερλιπιδαιμία και η υπέρταση [48].

Στους μηχανισμούς δράσης του φυλλικού οξέος συμπεριλαμβάνονται η μείωση των επιπέδων ομοκυστεΐνης στον ορό, η μείωση του οξειδωτικού στρες και η αύξηση της σύνθεσης του NO, καθώς και οι αντιθρομβωτικές επιδράσεις (σχήμα 2.11). Ειδικότερα, το φυλλικό οξύ μπορεί να βοηθήσει στην αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας της τετραϋδρο-βιοπτερίνης (BH4), η οποία είναι απαραίτητος συμπράγοντας της eNOS. Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει την οξείδωση της BH4 προς σχηματισμό της αδρανούς μορφής της, BH2. Η μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα της BH4 οδηγεί σε μειωμένο σχηματισμό NO και σε αυξημένη παραγωγή ROS. Το φυλλικό οξύ, με τη μορφή του 5-μεθυλο-τετραϋδρο-φυλλικό (MTHF), μπορεί να αυξήσει την αποτελεσματικότητα της BH4 επί της φυσιολογικής λειτουργίας του eNOS. Επίσης, υπάρχουν δεδομένα ότι το φυλλικό οξύ ασκεί άμεσες και έμμεσες αντιοξειδωτικές επιδράσεις, όπως η βελτίωση του συστήματος αντιοξειδωτικής άμυνας των κυττάρων. Άλλες μελέτες έχουν δείξει αντιθρομβωτικές επιδράσεις του φυλλικού οξέος που

συνδέονται με τη μείωση της ομοκυστεΐνης, η οποία είναι από μόνη της προθρομβωτική [87].

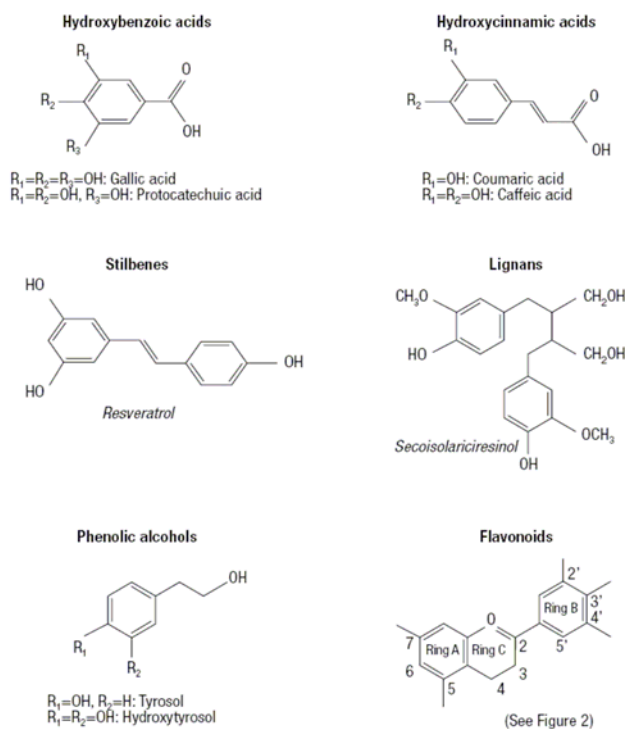


Σχήμα 2.11. Μηχανισμοί δράσης και στόχοι του φυλλικού οξέος στα καρδιαγγειακά νοσήματα. (An L. Moens, Christiaan J. Vrints, Marc J. Claeys, Jean-Pierre Timmermans, Hunter C. Champion, and David A. Kass. Mechanisms and potential therapeutic targets for folic acid in cardiovascular disease. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 294: H1971–H1977.)

2.6. ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ

2.6.1 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ

Οι πολυφαινόλες είναι συνήθη συστατικά των τροφίμων φυτικής προέλευσης. Οι κύριες κατηγορίες πολυφαινολών είναι τα флаβονοειδή, τα φαινολικά οξέα, οι φαινολικές αλκοόλες, τα στυλβένια και οι λιγνάνες (σχήμα 2.12).



Σχήμα 2.12. Γενική χημική δομή πολυφαινολών. (Massimo D' Archivio, Carmela Filesì, Roberta Di Benedetto, Raffaella Gargiulo, Claudio Giovannini, Roberta Massella. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. Ann Ist Super Sanità, 2007, 43: 348 – 361.)

2.6.2 ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΣΕ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ

Η πρόσληψη πολυφαινολών από τη διατροφή μπορεί να φτάσει το 1 g/ημέρα, ποσότητα πολύ υψηλότερη από αυτή άλλων τάξεων φυτοχημικών και γνωστών αντιοξειδωτικών της διατροφής. Συγκεκριμένα, η ποσότητα αυτή είναι 10 φορές, περίπου, υψηλότερη από την προσλαμβανόμενη ποσότητα βιταμίνης C και 100 φορές υψηλότερη από την προσλαμβανόμενη ποσότητα βιταμίνης E και καροτενοειδών. Οι κύριες διαιτητικές πηγές τους είναι τα φρούτα, οι φυσικοί χυμοί φρούτων, το τσάι, ο καφές και το κόκκινο κρασί. Άλλες διαιτητικές πηγές πολυφαινολών είναι τα λαχανικά, τα δημητριακά, τα προϊόντα του κακάο (π.χ. η σοκολάτα) και τα όσπρια [89]. Παράγοντες, όπως οι κλιματικοί (έκθεση στον ήλιο, βροχόπτωση), οι αγρονομικοί (διαφορετικά είδη καλλιέργειας κλπ.), οι συνθήκες αποθήκευσης, η προετοιμασία και το μαγείρεμα των τροφίμων παίζουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό του περιεχομένου σε πολυφαινόλες.

2.6.3 ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ

Επιδημιολογικές μελέτες, όπως Zutphen Elderly Study, η Finnish Mobile Clinic Health Examination Survey, η Iowa Women's Health Study, η Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study, η Dutch Zutphen Elderly Study και η Rotterdam Study έχουν δείξει αντίστροφη συσχέτιση ανάμεσα στην υψηλή πρόσληψη πολυφαινόλων και τη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου (πίνακας 2.4) [90]. Οι Mukamal και συνεργάτες διερεύνησαν την κατανάλωση τσαγιού μεταξύ 1900 ασθενών με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, στην προοπτική μελέτη δευτερογενούς πρόσληψης Myocardial Infarction Onset Study. Κατά τη διάρκεια 3,8 ετών παρακολούθησης, οι συμμετέχοντες με μέτρια ή υψηλή κατανάλωση τσαγιού παρουσίασαν μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου κατά 31 και 39%, αντίστοιχα, μετά από διόρθωση για άλλους παράγοντες κινδύνου [91]. Επίσης, στη Μελέτη των 7 Χωρών η πρόσληψη φλαβονοειδών συσχετίστηκε αντιστρόφως με τη θνησιμότητα από στεφανιαία νόσο [92]. Ακόμη, η συσχέτιση ανάμεσα στις πολυφαινόλες των σταφυλιών και τη στεφανιαία νόσο έχει αποδοθεί, εν μέρει, στην παρουσία των ανθοκυανιδών, ενώ αρκετές είναι και οι επιδημιολογικές μελέτες που έχουν δείξει ότι η θνησιμότητα από στεφανιαία νόσο μπορεί να μειωθεί με τη μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού, που ως γνωστόν περιέχει ανθοκυανίνες [88].

Πίνακας 2.4. Προοπτικές μελέτες που ερευνούν την επίδραση της πρόσληψης φλαβονοειδών στον κίνδυνο καρδιαγγειακών νοσημάτων. (Ilja CW Arts and Peter CH Hollman. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. The American Journal of Clinical Nutrition, 2005, 81: 317S – 25S)

Reference	Country	Population	Flavonoid ²	Comparison (high vs low intake) ³	Follow-up time	Outcome ⁴	No. of cases	Adjusted RR (high vs low) ⁵	P for trend
				mg/d	y				
CAD									
Sesso et al, 2003 (15)	US	38 484 F	Flavonols, flavones	47.4 vs 8.9	6.9	Total CVD	519	0.80 (0.59, 1.09)	0.80
Geleijnse et al, 2002 (16)	Netherlands	4807 MF	Flavonols	40.0 vs 16.8	5.6	Nonfatal MI	116	0.93 (0.57, 1.52)	—
						MI	30	0.35 (0.13, 0.98)	—
Knekt et al, 2002 (13)	Finland	9131 MF	Flavonols, flavones, flavanones	M > 26.9 vs < 4.3, ⁶ F > 39.5 vs < 8.5	28	CAD	681	0.93 (0.74, 1.17)	0.30
Arts et al, 2001 (17)	US	32 857 F	Catechins	74.8 vs 3.6	13	CAD	767	0.85 (0.67, 1.07)	—
Arts et al, 2001 (18)	Netherlands	806 M	Catechins	124.0 vs 25.3	10	CAD	90	0.49 (0.27, 0.88)	0.02
Hirvonen et al, 2001 (19)	Finland	25 372 M	Flavonols, flavones	17.8 vs 3.9	6.1	Nonfatal MI	1122	0.77 (0.64, 0.93)	—
						CAD	815	0.89 (0.71, 1.11)	—
Yochum et al, 1999 (20)	US	34 492 F	Flavonols, flavones	28.6 vs 4.0	10	CAD	438	0.62 (0.44, 0.87)	0.11
Hertog et al, 1997 (21)	Netherlands	804 M	Flavonols, flavones	41.6 vs 12.0	10	CAD	90	0.47 (0.27, 0.82)	0.01
Hertog et al, 1997 (14)	UK	1900 M	Flavonols, flavones	42.8 vs 13.5	14	CAD	131	1.60 (0.90, 2.90)	0.12
Knekt et al, 1996 (22)	Finland	2745 M	Flavonols, flavones	>4.8 vs <2.1	26	CAD	324	0.67 (0.44, 1.00)	0.12
		2380 F	Flavonols, flavones	> 5.5 vs < 2.4	26	CAD	149	0.73 (0.41, 1.32)	0.73
Rimm et al, 1996 (23)	US	34 789 M	Flavonols, flavones	40.0 vs 7.1	6	Nonfatal MI	486	1.08 (0.81, 1.43)	—
		38 036 M	Flavonols, flavones	40.0 vs 7.1	6	CAD	140	0.77 (0.45, 1.35)	—
Hertog et al, 1993 (24)	Netherlands	805 M	Flavonols, flavones	41.6 vs 12.0	5	CAD	43	0.32 (0.15, 0.71)	0.003
Stroke									
Knekt et al, 2002 (13)	Finland	9131 MF	Flavonols, flavones, flavanones	M > 26.9 vs < 4.3, ⁶ F > 39.5 vs < 8.5	28	Incident stroke	806	0.79 (0.64, 0.98)	0.01
Arts et al, 2001 (18)	Netherlands	806 M	Catechins	124.0 vs 25.3	10	Incident stroke	88	0.92 (0.51, 1.68)	0.75
Hirvonen et al, 2000 (25)	Finland	26 497 M	Flavonols, flavones	16.4 vs 4.2	6.1	Incident stroke	736	0.98 (0.80, 1.21)	0.81
Yochum et al, 1999 (20)	US	34 492 F	Flavonols, flavones	28.6 vs 4.0	10	Stroke	131	1.18 (0.70, 2.00)	0.83
Keli et al, 1996 (26)	Netherlands	552 M	Flavonols, flavones	33.3 vs 14.2	15	Incident stroke	42	0.27 (0.11, 0.70)	0.004

¹ MI, myocardial infarction; —, no data provided.

² Flavonols: quercetin, kaempferol, myricetin; flavones: apigenin, luteolin; flavanones: hesperetin, naringenin, eriodictyol; catechins: (+)-catechin, (+)-gallocatechin, (–)-epicatechin, (–)-epigallocatechin, (–)-epicatechin gallate, (–)-epigallocatechin gallate.

³ Mean, median, or category cutoff value.

⁴ Death, unless indicated otherwise.

⁵ 95% CI in parentheses.

⁶ Quartiles were constructed for men and women separately, but RR is provided for sexes combined only.

2.6.4 ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ

Οι φαινολικές ενώσεις απαντώνται στα φυτικά τρόφιμα σε μία μεγάλη ποικιλία χημικών δομών, είτε στην ελεύθερη μορφή τους, είτε με τη μορφή γλυκοζιτών. Εξαιτίας της χημικής δομής τους εμφανίζουν κατά βάση αντιοξειδωτικές ιδιότητες και αυτός ήταν ο λόγος που οι ερευνητές άρχισαν να ερευνούν αν αυτή η αντιοξειδωτική τους δράση συνοδευόταν και από αντιφλεγμονώδη δράση, όπως και τελικά φάνηκε, αν και η αντιοξειδωτική τους δράση δεν είναι ο μόνος μηχανισμός μέσω του οποίου ασκούν την αντιφλεγμονώδη δράση τους.

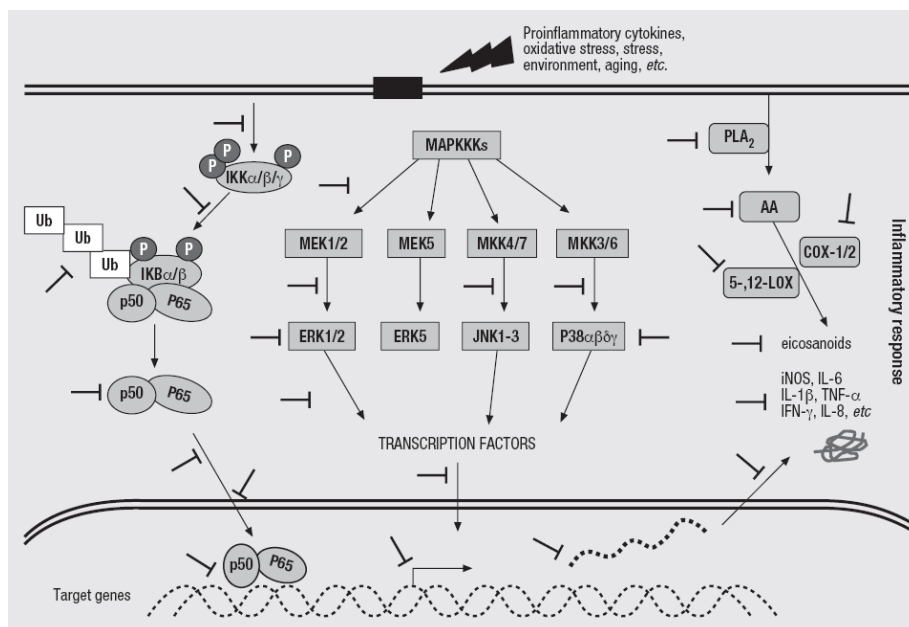
2.6.4.1 ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ ΟΔΟΥ ΤΟΥ ΑΑ (σχήμα 2.13)

Οι πολυφαινόλες της διατροφής έχει βρεθεί ότι αναστέλλουν κυτταρικά ένζυμα, όπως η φωσφολιπάση Α2, η κυκλοοξυγενάση και η λιποξυγενάση, με αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής αραχιδονικού οξέος, προσταγλανδινών και λευκοτριενίων,

ασκώντας με αυτόν τον τρόπο μια σημαντική αντιφλεγμονώδη δράση [93], [94]. Επίσης, έχει βρεθεί ότι η ρεσβερατρόλη μειώνει τη βιοσύνθεση των προσταγλανδινών [95].

2.6.4.2 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ENZYMΩΝ NOS (σχήμα 2.13)

Τα μέχρι τώρα δεδομένα δείχνουν ότι οι πολυφαινόλες αναστέλλουν τη σύνθεση του NO μέσω μείωσης της έκφρασης ή της δραστικότητας των ενζύμων NOS [93]. Εκχυλίσματα μούρων πλούσιων σε ανθοκυανιδίνες έχουν δείξει σημαντική ανασταλτική επίδραση επί της παραγωγής NO και αυτή η επίδραση συσχετίστηκε σημαντικά με το συνολικό περιεχόμενο ανθοκυανιδινών [88]. Ωστόσο, οι πολυφαινόλες του κόκκινου κρασιού έχει βρεθεί ότι αυξάνουν σημαντικά την έκφραση του NOS, δρώντας στον υποκινητή [96]. Επίσης, η κατανάλωση ροφήματος κακάο έχει άμεση επίδραση στη διαθεσιμότητα του NO και στη σωστή λειτουργία του ενδοθηλίου. Τέλος, οι φαινολικές ενώσεις του ελαιολάδου (τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη, ολεωρωπαΐνη) αυξάνουν τη σύνθεση NO μέσω επαγωγής της iNOS [12].



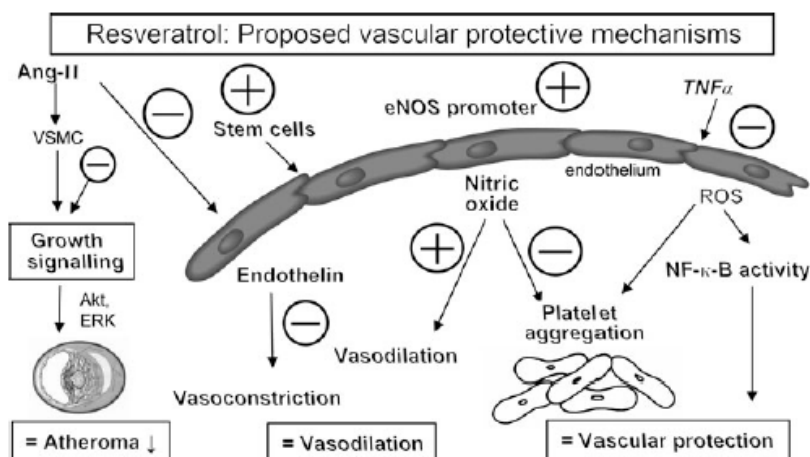
Σχήμα 2.13. Πιθανά σημεία δράσης των πολυφαινολών. IKB: Inhibitor kB, Ub: Ubiquitin, IKK: Ik B-kinase, ERK: Extracellular signal-related kinases, JNK: c-Jun amino-terminal kinases, p38 ή p38-MAPK: p38-mitogen-activated protein kinase, MEK ή MKK: MAPK kinase, MAPKKK: MAPK kinase kinase. (Carmela Santangelo, Rosaria Vari, Beatrice Scazzocchio, Roberta Di Benedetto, Carmela Filesi and Roberta Masella. Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. Ann Ist Super Sanità, 2007, 43: 394 - 405.)

2.6.4.3 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΟΔΟΥ ΤΟΥ NF-κB (σχήμα 2.13) ΚΑΙ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

Ο NF-κB παίζει κεντρικό ρόλο στην ανοσολογική και φλεγμονώδη απάντηση ενός κυττάρου σε ένα πολύ μεγάλο αριθμό διαφορετικών ερεθισμάτων. Ο NF-κB συντονίζει την επαγωγή ενός ευρέος φάσματος γονιδίων που κωδικοποιούν για προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (π.χ. IL-1, IL-2, IL-6 και TNFα), χημειοκίνες (π.χ. IL-8, MIP-1α και MCP-1), μόρια προσκόλλησης (π.χ. ICAM, VCAM και E-σελεκτίνη), πρωτεΐνες οξείας φάσης, ανοσολογικούς υποδοχείς, αυξητικούς παράγοντες και ένζυμα (π.χ. COX-2, MMPs, NOS), δηλαδή για μόρια που εμπλέκονται στη φλεγμονή, στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την προσκόλληση, τη μετανάστευση και αλλού.

Σε μη διεγερμένα κύτταρα, ο NF-κB εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα σε αδρανή μορφή σε σύζευξη με τις πρωτεΐνες αναστολές κB (IkBs). Μετά από τη διέγερση του κυττάρου, οι πρωτεΐνες IkB υφίστανται φωσφορυλίωση από την κινάση IkB (IKK). Στη συνέχεια, ο NF-κB μπορεί να εισέλθει στον πυρήνα και να επάγει την έκφραση διαφόρων γονιδίων. Οι πολυφαινόλες έχει βρεθεί ότι ασκούν την αντιφλεγμονώδη δράση τους μέσω ρύθμισης τη έκφρασης του NF-κB και δρα σε διάφορα στάδια της διαδικασίας ενεργοποίησης αυτού του παράγοντα [93].

Έχει παρατηρηθεί ότι η χορήγηση 100 mg πολυφαινολών από σταφύλια ημερησίως για διάστημα 1 μηνός μπορεί να περιορίσει την έκφραση των μορίων προσκόλλησης VCAM-1, ICAM-1 και P-σελεκτίνη [96]. Η ρεσβερατρόλη έχει βρεθεί ότι αναστέλλει την έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν για το ICAM-1 και τον NF-κB (σχήμα 2.14) και μειώνει την ενεργοποίηση του NF-κB από τον TNF-α [95]. Επίσης, έχει βρεθεί ότι η κατανάλωση ροφήματος κακάο μειώνει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1β, IL-2) από τα μονοκύτταρα ενώ παράλληλα ενεργοποιεί τη σύνθεση αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως η IL-4 και ο TGFβ [12].



Σχήμα 2.14. Προτεινόμενοι προστατευτικοί μηχανισμοί δράσης της ρεσβερατρόλης στα αγγεία. Ang II: Angiotensin II, VSMC: vascular smooth muscle cells. (Lionel H. Opie and Sandrine Lecour. The red wine hypothesis: from concepts to protective signalling molecules. *European Heart Journal*, 2007, 28: 1683 – 1693.)

2.6.4.4 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΟΔΟ ΤΩΝ MAPKs (σχήμα 2.13)

Παρά τον κεντρικό ρόλο του NF-κB στη φλεγμονή, αυτός ο μεταγραφικός παράγοντας απαιτεί βοήθεια από άλλους μεταγραφικούς παράγοντες μεταξύ των οποίων είναι και οι κινάσες MAP. Οι MAPKs είναι μια οικογένεια κινασών που ρυθμίζουν σημαντικές κυτταρικές λειτουργίες, όπως η κυτταρική αύξηση, ο πολλαπλασιασμός, ο κυτταρικός θάνατος και η διαφοροποίηση μέσω ρύθμισης της γονιδιακής μεταγραφής ως απάντηση σε μεταβολές του κυτταρικού περιβάλλοντος. Προσφάτως, βρέθηκε ότι οι πολυφαινόλες ρυθμίζουν την οδό των MAPKs μέσω δράσης σε διάφορα στάδια του καταρράκτη ενεργοποίησης [93].

2.6.4.5 ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΑΡΤΗΡΙΑΚΟΥ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΙΕΣΗ ΑΙΜΑΤΟΣ

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι τα ροφήματα που περιέχουν флаβονοειδή έχουν ωφέλιμες επιδράσεις στη λειτουργία του ενδοθηλίου. Συγκεκριμένα, οι Hodgson και συνεργάτες έδειξαν ότι η κατανάλωση 5 φλιτζανιών μαύρου τσαγιού ημερησίως για διάστημα 5 εβδομάδων από ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία βελτιώνει την ικανότητα διαστολής του λείου μυός της βραχιόνιας αρτηρίας. Άλλα ροφήματα που περιέχουν флаβονοειδή, ιδιαιτέρως τα προϊόντα σταφυλιών, έχει βρεθεί ότι βελτιώνουν τη λειτουργία του ενδοθηλίου. Οι Stein και συνεργάτες παρατήρησαν ότι η κατανάλωση χυμού σταφυλιών για διάστημα 14 ημερών συσχετίστηκε με βελτίωση

της ικανότητας διαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας σε δείγμα 15 ενηλίκων με διαγνωσμένη στεφανιαία αρτηριακή νόσο. Σε άλλη μελέτη, οι Agewall και συνεργάτες παρατήρησαν βελτίωση της ικανότητας διαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας σε λιγότερο από μία ώρα μετά από την κατανάλωση μη αλκοολούχου κόκκινου κρασιού σε δείγμα υγιών ατόμων. Σε μια πρόσφατη μελέτη, των Heiss και συνεργατών, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της ικανότητας διαστολής δύο ώρες μετά από την κατανάλωση κακάο που περιείχε 176 mg φλαβονοειδούς ημερησίως [91]. Τέλος, η συνδυασμένη πρόσληψη ισοφλαβονών σόγιας με πρωτεΐνες σόγιας, καθώς και η πρόσληψη μόνο γενιστεΐνης, έχει φανεί ότι βελτιώνει την αγγειοδιαστολή σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και η πρόσληψη ισοφλαβονών από γάλα σόγιας έχει βρεθεί ότι μειώνει την πίεση αίματος σε ενήλικες υπερτασικούς [92].

2.6.4.6 ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι τα φλαβονοειδή αναστέλλουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Για παράδειγμα, έχει βρεθεί ότι ο χυμός από τα μωβ χρώματος σταφύλια αναστέλλει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων *ex vivo*. Οι Freedman και συνεργάτες εξέτασαν τις επιδράσεις του χυμού σταφυλιών επί της λειτουργίας των αιμοπεταλίων. Παρατήρησαν ότι η προσθήκη χυμού σταφυλιών σε αιμοπετάλια *ex vivo* συσχετίστηκε με μείωση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, μείωση της παραγωγής ανιόντος του υπεροξειδίου στα αιμοπετάλια και αύξηση της παραγωγής μονοξειδίου του αζώτου από τα αιμοπετάλια. Τα ίδια ευρήματα προέκυψαν και στην περίπτωση όπου πραγματοποιήθηκαν μελέτες με αιμοπετάλια που είχαν απομονωθεί από υγιείς ανθρώπους μετά από την κατανάλωση χυμού σταφυλιών για διάστημα 2 εβδομάδων. Οι Hodgson και συνεργάτες παρατήρησαν ότι η κατανάλωση τσαγιού μειώνει τη συγκέντρωση της P-σελεκτίνης στο πλάσμα, ενός δείκτη της *in vivo* συσσώρευσης των αιμοπεταλίων [91].

2.6.4.7 ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΗΣ LDL

Τα φλαβονοειδή μπορούν να μειώσουν την οξείδωση της LDL και την εξέλιξη της φλεγμονής στο αρτηριακό τοίχωμα. Η αναστολή της οξείδωσης της LDL από τα φλαβονοειδή εξαρτάται από τη σύνδεση του μορίου του φλαβονοειδούς στο σωματίδιο της LDL [92]. Επιπρόσθετα, η ρεσβερατρόλη έχει βρεθεί ότι προστατεύει

την LDL από την οξείδωση [95], ενώ και οι φαινολικές ενώσεις του ελαιολάδου (τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη, ολευρωπαΐνη) ενσωματώνονται στην LDL εμποδίζοντας την οξείδωση της [12].

2.7. ΣΕΛΗΝΙΟ

2.7.1 ΤΟ ΣΕΛΗΝΙΟ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Οι κύριες διαιτητικές πηγές σεληνίου είναι τα φυτικά τρόφιμα, το κρέας και τα θαλασσινά. Το περιεχόμενο των τροφίμων σε σελήνιο ποικίλει ανάλογα με τη χρήση λιπασμάτων που περιέχουν σελήνιο, την περιεκτικότητα του εδάφους σε σελήνιο και τη συγκέντρωση σε νερό [97].

2.7.2 ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΙΟΥ

Το 1982, οι Salonen και συνεργάτες βρήκαν μια ισχυρή αντίστροφη συσχέτιση ανάμεσα στο σελήνιο ορού και την επίπτωση της στεφανιαίας νόσου στα πλαίσια μιας προοπτικής μελέτης που διεξήχθη στη Φινλανδία, μια χώρα με χαμηλή πρόσληψη σεληνίου. Έκτοτε, αρκετές προοπτικές μελέτες έχουν αξιολογήσει τη συσχέτιση ανάμεσα στους βιοχημικούς δείκτες σεληνίου και το στεφανιαίο κίνδυνο με τα ευρήματά τους να μην χαρακτηρίζονται από συνέπεια [98].

Το σελήνιο, ως συστατικό των σεληνοπρωτεϊνών με τη μορφή σεληνοκυστεΐνης, διαθέτει σημαντικές αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Οι σεληνοπρωτεΐνες με αντιοξειδωτική δράση περιλαμβάνουν τις υπεροξειδάσες γλουταθειόνης, τις αναγωγάσες θειορεδοξίνης και τη σεληνοπρωτεΐνη P. Σε ανθρώπους με έλλειψη σεληνίου, η συμπληρωματική χορήγηση σεληνίου αυξάνει την ενζυμική αντιοξειδωτική δραστηριότητα και μειώνει την υπεροξείδωση των λιπιδίων. Επιπρόσθετα, το σελήνιο μειώνει την παραγωγή φλεγμονωδών προσταγλανδινών και λευκοτριενίων μέσω ουδετεροποίησης των ενδιάμεσων υπεροξειδίων. Η χαμηλή συγκέντρωση σεληνίου μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και σε αγγειοσύσπαση μέσω αλλαγής στη σύνθεση των προσταγλανδινών από την προστακυκλίνη στη θρομβοξάνη. Τέλος, το σελήνιο

προστατεύει το καρδιαγγειακό σύστημα από τοξικά ανόργανα στοιχεία που εμπλέκονται στην αθηρογένεση, όπως ο υδράργυρος, το κάδμιο και το αρσενικό [97].

Μελέτες παρέμβασης σε ανθρώπους με χαμηλή πρόσληψη σεληνίου έχουν δείξει ότι η λήψη συμπληρωμάτων σεληνίου αυξάνει τη δραστικότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης στο πλάσμα και τα ερυθροκύτταρα και μειώνει την υπεροξειδωση των λιπιδίων συγκριτικά με την ομάδα που λαμβάνει το εικονικό σκεύασμα. Οι κλινικές μελέτες που αξιολογούν την αποτελεσματικότητα της λήψης συμπληρωμάτων σεληνίου στην πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι λίγες. Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση παρουσίασε συνοπτικά τα ευρήματα τυχαιοποιημένων μελετών ελέγχου της συμπληρωματικής χορήγησης αντιοξειδωτικών, βιταμινών και ανόργανων στοιχείων, στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης [99]. Σε αυτή τη μετα-ανάλυση, μόνο δύο μελέτες χρησιμοποίησαν το σελήνιο ως συστατικό του συμπληρώματος. Αυτές ήταν οι μελέτες SU.VI.MAX και HATS. Καμία από τις δύο μελέτες δε βρήκε διαφορές στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης, η οποία στην πρώτη μελέτη αξιολογήθηκε με βάση το πάχος του έσω και μέσου χιτώνα των καρωτίδων και στη δεύτερη μελέτη αξιολογήθηκε αγγειογραφικά μέσω της διαμέτρου του αυλού των στεφανιαίων αρτηριών. Τα ευρήματα αυτών των μελετών δεν επαρκούν για την εκτίμηση του ρόλου της συμπληρωματικής χορήγησης σεληνίου στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης.

Οι τρέχουσες επιδημιολογικές έρευνες και μελέτες παρέμβασης δεν παρέχουν επαρκή δεδομένα για προστατευτική επίδραση της αυξημένης πρόσληψης σεληνίου κατά των καρδιαγγειακών νοσημάτων ή των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου σε πληθυσμούς με επαρκή πρόσληψη. Είναι πιθανό ότι οι δυνητικά ωφέλιμες επιδράσεις του σεληνίου να είναι περισσότερο εμφανείς σε πληθυσμούς με διατροφή φτωχή σε σελήνιο, αλλά δεν έχει διεξαχθεί καμία μεγάλη τυχαιοποιημένη μελέτη ελέγχου της συμπληρωματικής χορήγησης αποκλειστικά σεληνίου σε σχέση με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο σε αυτούς τους πληθυσμούς [98].

2.8 ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ

Ο προσδιορισμός βιολογικά δραστικών συστατικών στα τρόφιμα μπορεί να συμβάλει στην ερμηνεία των επιδράσεων των τροφίμων στην υγεία. Ωστόσο, οι πληροφορίες που αντλούνται από μελέτες που εξετάζουν τη δράση μεμονωμένων συστατικών δεν είναι πλήρεις και μπορεί να οδηγήσουν σε λανθασμένα συμπεράσματα. Αντίθετα, η συνέργεια των επιμέρους συστατικών σε ένα τρόφιμο, καθώς και ο συνδυασμός των επιμέρους τροφίμων στα διάφορα διατροφικά πρότυπα ερμηνεύει, συχνά, τη συσχέτιση ανάμεσα στη διατροφή, την υγεία και τα χρόνια νοσήματα. Επομένως, για τη σαφέστερη κατανόηση της επίδρασης της διατροφής στην υγεία, απαιτείται η μελέτη των τροφίμων παράλληλα με τα επιμέρους συστατικά αυτών, για τα οποία υπάρχει υποψία ότι διαθέτουν βιολογική δραστηριότητα, καθώς και της επίδρασης των επιμέρους τροφίμων στα πλαίσια ενός διατροφικού προτύπου [100].

ΕΝΟΤΗΤΑ 3

Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων και Αθηροσκλήρυνση

3.1. PAF ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΑ ΑΝΑΛΟΓΑ ΤΟΥ PAF

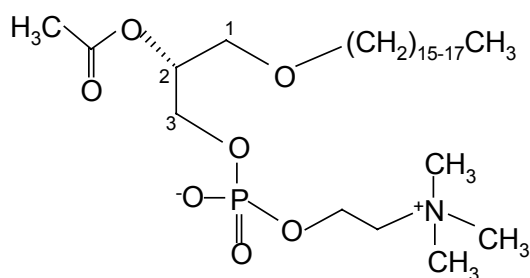
3.1.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ PAF

Μια κατηγορία λιποειδών που απαντούν στη φύση είναι τα πολικά ή σύνθετα λιποειδή, τα οποία διακρίνονται σε φωσφολιποειδή και γλυκολιποειδή ανάλογα με το αν η πολικότητα οφείλεται στην ύπαρξη φωσφορικής ομάδας ή υδατανθράκων. Τα φωσφολιποειδή που φέρουν σκελετό γλυκερόλης ονομάζονται γλυκερινούχα, ενώ εκείνα που φέρουν σκελετό σφιγγοσίνης χαρακτηρίζονται ως σφιγγοσινούχα. Τα γλυκερινούχα φωσφολιποειδή θεωρούνται παράγωγα του φωσφατιδικού οξέος [101]. Σε ορισμένα φωσφολιποειδή ο C-1 του σκελετού της γλυκερόλης συνδέεται με κάποιο λιπαρό οξύ με τη βοήθεια αιθερικού δεσμού και χαρακτηρίζονται ως γλυκεριναιθερικά. Ο σημαντικότερος εκπρόσωπος της ομάδας των γλυκεριναιθερικών φωσφολιποειδών είναι ο PAF [102].

Το όνομα «Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων» (PAF) δόθηκε από τους Benveniste, Henson και Cochrane σε μια ουσία που διαπιστώθηκε ότι ελευθερωνόταν από τα βασεόφιλα μετά από διέγερση με IgE και η οποία προκαλούσε συσσώρευση στα αιμοπετάλια [103]. Η δομή αυτής της ουσίας παρέμεινε άγνωστη μέχρι το 1979 οπότε και έγινε ο προσδιορισμός της από τους Δημόπουλο, Pinckard και Hanahan. Ο PAF έχει χημικά χαρακτηριστεί σαν 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφορυλοχολίνη και είναι ένας υψηλής δραστηριότητας βιολογικός μεσολαβητής στις φλεγμονές [104].

Στην πρώτη θέση του γλυκερινικού σκελετού του PAF συνδέεται, με αιθερικό δεσμό, μια λιπαρή αλυσίδα που περιλαμβάνει συνήθως 16-18 άτομα άνθρακα και είναι κορεσμένη ή ακόρεστη με έναν ή δύο διπλούς δεσμούς, στη δεύτερη θέση βρίσκεται εστεροποιημένο ένα οξικό οξύ και στην τρίτη θέση υπάρχει μια ομάδα φωσφορυλοχολίνης (Σχήμα 3.1). Η παραπάνω δομή αντιπροσωπεύει την πιο δραστική μορφή του PAF όχι όμως και τη μοναδική αφού στη φύση έχει βρεθεί μια

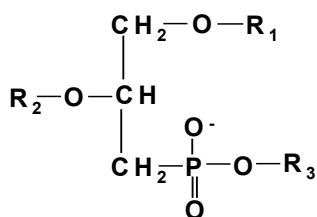
μεγάλη ποικιλία μοριακών ειδών και αναλόγων του PAF με παρόμοιες βιολογικές δράσεις [105].

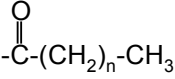
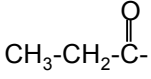
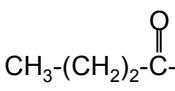
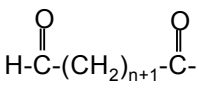
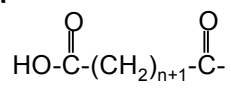
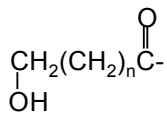


Σχήμα 3.1. Χημική δομή του PAF. (Νομικός Τ. Μελέτη του μεταβολισμού του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) σε ανθρώπινο νεφρό και της συμμετοχής του στην πρόκληση σπειραματονεφρίτιδας. Διδακτορική Διατριβή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας, Αθήνα 2002).

Εκτός από την κλασσική δομή του PAF, στη φύση έχει βρεθεί και πιστοποιηθεί πλήθος μοριακών ειδών και αναλόγων του με παρόμοια ή μικρότερη βιολογική δραστηριότητα. Τα μοριακά είδη και ανάλογα του PAF διαφέρουν ως προς το είδος της λιπαρής αλυσίδας και του δεσμού με τον οποίο αυτή συνδέεται στην sn-1 θέση του γλυκερινικού σκελετού, ως προς το είδος του λιπαρού οξέος που είναι εστεροποιημένο στην sn-2 θέση και τέλος ως προς το είδος της βάσης στην sn-3 θέση (Σχήμα 3.2). Στην sn-1 θέση έχουν βρεθεί λιπαρές αλυσίδες από 14 έως 22 άτομα άνθρακα με έναν ή δύο διπλούς δεσμούς ενώ έχουν βρεθεί και ανάλογα του PAF με υδροξυλιωμένες ανθρακικές αλυσίδες. Ο ακυλο-PAF, στον οποίο η ανθρακική αλυσίδα συνδέεται στην sn-1 θέση με εστερικό δεσμό, είναι ιδιαίτερα διαδεδομένος στη φύση και αποτελεί το κυριότερο μοριακό είδος του PAF στα μαστοκύτταρα, βασεόφιλα και ενδοθηλιακά κύτταρα. Επίσης, έχουν βρεθεί και αλκενυλο- ανάλογα του PAF, όπου η λιπαρή αλυσίδα συνδέεται με βινυλαιθερικό δεσμό στην sn-1 θέση. Τα ανάλογα αυτά προέρχονται από τα πλασμαλογόνα. Στην sn-2 θέση έχουν βρεθεί εστεροποιημένες τόσο προπιονύλο- όσο και βουτυρύλο- ομάδες ενώ τα τελευταία χρόνια μελετώνται, ιδιαίτερα εκτεταμένα, ανάλογα της PC όπου στην sn-2 θέση βρίσκονται εστεροποιημένες μικρές ακυλο-ομάδες που είναι συνήθως μονοκαρβοξυλικά, δικαρβοξυλικά και υδροξυκαρβοξυλικά οξέα. Οι ενώσεις αυτές έχουν δράση ανάλογη του PAF και σχηματίζονται με οξείδωση της PC, που έχει πολυακόρεστα λιπαρά οξέα στην sn-2 θέση, σε καταστάσεις όπου σχηματίζεται ένα ισχυρά οξειδωτικό περιβάλλον όπως στις διάφορες ισχαιμίες και στις χρόνιες

φλεγμονές. Τέλος, έχουν βρεθεί ανάλογα του PAF όπου στην sn-3 θέση αντί για χολίνη υπάρχει αιθανολαμίνη. Σε αυτά τα ανάλογα, η λιπαρή αλυσίδα συνδέεται στην sn-1 θέση κυρίως με βινυλαιθερικό δεσμό [106].



R1 (n = 14 – 22)	R2 (n = 1 – 8)	R3
1-O-αλκυλο- -CH ₂ -(CH ₂) _n -CH ₃	Ακετυλο- 	Χολίνη -CH ₂ -CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃
1-ακυλο- 	Προπιονύλο- 	Αιθανολαμίνη -CH ₂ CH ₂ N ⁺ H ₃
1-O-αλκ-1'-ενυλο -CH=CH-(CH ₂) _n -CH ₃	Βουτυρύλο- 	
	Δικαρβοξυλική ημισαλδεΐδα 	
	Δικαρβοξυλική ομάδα 	
	Υδροξυκαρβοξυλική ομάδα 	

Σχήμα 3.2. Χημικές δομές των κυριότερων μοριακών ειδών κι αναλόγων του PAF. (PAF, a potent lipid mediator. Smaragdi Antonopoulou, Tzortzis Nomikos, Haralabos C. Karantonis, Elizabeth Fragopoulou and Constantinos A. Demopoulos, pp 41.)

Μελέτες που έχουν γίνει με συνθετικά ανάλογα του PAF έχουν δείξει πως η δομή των μοριακών ειδών καθορίζει και την βιολογική τους δραστηριότητα. Το σημαντικότερο δομικό χαρακτηριστικό για την ύπαρξη βιολογικής δραστηριότητας είναι η παρουσία

ακετυλομάδας στην sn-2 θέση του γλυκερινικού σκελετού. Απομάκρυνση της ακετυλομάδας οδηγεί στο λυσο-PAF, ο οποίος είναι ανενεργός. Αντικατάσταση της ακετυλομάδας με λιπαρά οξέα μεγαλύτερης ανθρακικής αλυσίδας οδηγεί σε μόρια με μικρότερη βιολογική δραστηριότητα. Επίσης, ο χημικός δεσμός στην sn-1 θέση του γλυκερινικού σκελετού καθορίζει σε σημαντικό βαθμό τη βιολογική δραστηριότητα του PAF. Η δραστηριότητα ακολουθεί γενικά τη σειρά αλκυλο-PAF>αλκενυλο-PAF>ακυλο-PAF. Όσον αφορά στο είδος της ανθρακικής αλυσίδας στην sn-1 θέση, η μέγιστη δραστηριότητα εμφανίζεται για κορεσμένα ή μονοακόρεστα λιπαρά οξέα με 16-18 άτομα άνθρακα. Η σειρά δραστηριότητας όσον αφορά στη βάση στην sn-3 θέση είναι η εξής: χολίνη> διμεθυλοαιθανολαμίνη> μονομεθυλοαιθανολαμίνη> αιθανολαμίνη. Τέλος, ο PAF εμφανίζει στερεοεξειδίκευση αφού η δραστητική εναντιομερής μορφή του στην sn-2 θέση είναι η φυσικά απαντώμενη R μορφή. Η ύπαρξη όλων αυτών των μοριακών ειδών και αναλόγων του PAF οφείλεται κυρίως στη σχετικά ευρεία εξειδίκευση των ενζύμων βιοσύνθεσης και αποικοδόμησής του. Το κάθε είδος κυττάρου δίνει ένα διαφορετικό μίγμα μοριακών ειδών PAF, το οποίο εξαρτάται από τη σύσταση των φωσφολιποειδών στις μεμβράνες του κυττάρου, την κατανομή του AA στις διάφορες τάξεις των φωσφολιποειδών καθώς και από τη σχετική ταχύτητα βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης αυτών των ενώσεων. Τα τελευταία χρόνια έχει επανεκτιμηθεί η σημασία των αναλόγων του PAF αφού σχηματίζονται σε πολύ μεγαλύτερα ποσά απ' ό,τι είχε αρχικά βρεθεί, έχουν ανακαλυφθεί καινούριες βιολογικές δράσεις για αυτά και φαίνεται ότι δρουν ως ενδογενείς ρυθμιστές της δραστηριότητας του PAF [106].

3.2. ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ PAF

Τα αποτελέσματα των ερευνών έχουν δείξει ότι ο PAF μπορεί να βιοσυντίθεται και να αποικοδομείται με περισσότερες από μία πορείες στα κύτταρα, ανάλογα με το είδος και το περιβάλλον του κυττάρου. Οι πορείες αυτές βρίσκονται κάτω από αυστηρό έλεγχο και ρυθμίζονται από εξωκυτταρικά σήματα που οδηγούν, είτε στην σύνθεση είτε στην απενεργοποίηση του PAF ανάλογα με την παθοφυσιολογική κατάσταση του οργανισμού. Παράλληλα, έχει βρεθεί άμεση συσχέτιση του μεταβολισμού του PAF με το μεταβολισμό και άλλων, βιολογικά δραστικών, λιποειδών, κυρίως εικοσανοειδών, ενώ έχουν βρεθεί καινούργιες αντιδράσεις και

ένζυμα που καθορίζουν το είδος των δομικών αναλόγων του PAF σε κάθε κύτταρο [105].

3.2.1. ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ

3.2.1.1 ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ ΤΟΥ PAF

Η σύνθεση του PAF διαπιστώθηκε αρχικά σε κύτταρα θηλαστικών που συμμετέχουν σε φλεγμονώδεις και αλλεργικές διεργασίες, όπως ουδετερόφιλα, βασεόφιλα, ηωσινόφιλα, μονοκύτταρα/μακροφάγα, αιμοπετάλια, μαστοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα. Στην συνέχεια βρέθηκε ότι τα κύτταρα των περισσότερων ιστών έχουν την ικανότητα να συνθέτουν PAF σε φυσιολογικές καταστάσεις, αλλά και μετά από διέγερση. Φυσική συνέπεια της δυνατότητας των κυττάρων να εκκρίνουν τον PAF που συνθέτουν ήταν η ανίχνευσή του σε πολλά βιολογικά υγρά όπως στο πλάσμα, τα ούρα, το σάλιο, τα γαστρικά υγρά και το αμνιακό υγρό [107]. Τα τελευταία χρόνια η ύπαρξη του PAF έχει διαπιστωθεί και σε φυτικά κύτταρα, σε κατώτερους ζωικούς οργανισμούς και σε μονοκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Επίσης, έχει πιστοποιηθεί η ικανότητα πολλών προκαρυωτικών οργανισμών να συνθέτουν PAF μετά από χορήγηση της πρόδρομης ένωσης του PAF, του λυσο-PAF. Η ευρεία παρουσία του PAF σε οργανισμούς όλης της εξελικτικής βαθμίδας υποδηλώνει τον ευρύτερο ρόλο του ως αρχέγονου βιολογικού ρυθμιστή [106].

Ο PAF συντίθεται μέσω δύο κύριων ενζυμικών πορειών: την πορεία ανασχηματισμού και την πορεία εκ νέου βιοσύνθεσης. Η πορεία ανασχηματισμού καταλήγει στην ταυτόχρονη σύνθεση PAF και την κινητοποίηση του AA και θεωρείται ότι παίζει κρίσιμο ρόλο σε φλεγμονώδεις απαντήσεις του PAF. Η πορεία εκ νέου βιοσύνθεσης του PAF φαίνεται ότι είναι σημαντική για τη διατήρηση βασικών επιπέδων PAF τόσο σε διάφορους ιστούς όσο και στο αίμα [108].

3.2.1.2 ΠΟΡΕΙΑ ΕΚ ΝΕΟΥ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΟΥ PAF (DE NOVO PATHWAY)

Το πρώτο στάδιο της de novo πορείας είναι μια ακετυλίωση, δηλαδή η μεταφορά μιας ακετυλομάδας από το ακέτυλο-CoA στο ALPA προς σχηματισμό του AAPA. Η αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο ακετυλο-CoA: ALPA ακετυλοτρανσφεράση (de novo AT ή ALPA AT). Στην συνέχεια, η φωσφορική ομάδα του AAPA

αντικαθίσταται από φωσφορυλοχολίνη με τη διαδοχική δράση μιας φωσφοϋδρολάσης, που υδρολύει τη φωσφορική ομάδα και μιας DTT-ανεξάρτητης φωσφοχολινοτρανσφεράσης (PAF CPT) που μεταφέρει την ομάδα της φωσφορυλοχολίνης, ενεργοποιημένης υπό τη μορφή κιτυδιλο-διφωσφορικής χολίνης (CDP-χολίνης), στην sn-3 θέση του γλυκερινικού σκελετού.

Όλα τα ένζυμα της de novo πορείας είναι μεμβρανικά και διαφέρουν στα βιοχημικά χαρακτηριστικά τους από τα αντίστοιχα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για την de novo σύνθεση των άλλων μεμβρανικών γλυκεριναιθερικών φωσφολιποειδών. Η de novo πορεία βιοσύνθεσης του PAF δεν ενεργοποιείται από φλεγμονώδη ερεθίσματα και είναι υπεύθυνη για την συνεχή, σταθερή παραγωγή PAF από τα κύτταρα με σκοπό τη διατήρηση των φυσιολογικών επιπέδων του στο αίμα και στους ιστούς [106], [108].

3.2.1.3 ΠΟΡΕΙΑ ΑΝΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ (REMODELING PATHWAY)

Η πορεία ανασχηματισμού εμπλέκεται κυρίως στη σύνθεση του PAF από ενεργοποιημένα κύτταρα της φλεγμονής [109]. Η βιοσύνθεση του PAF μέσω της πορείας ανασχηματισμού περιλαμβάνει τη μετατροπή γλυκεριναιθερικών φωσφολιποειδών, που προϋπάρχουν στις μεμβράνες των κυττάρων, σε PAF. Είναι η πρώτη πορεία βιοσύνθεσης του PAF που περιγράφηκε και ενεργοποιείται σε απόκριση φλεγμονωδών και αλλεργικών ερεθισμάτων με σκοπό την άμεση παραγωγή του από τα κύτταρα. Πρόδρομη ένωση του PAF στην πορεία ανασχηματισμού είναι το μεμβρανικό γλυκεριναιθερικό φωσφολιποειδές AAGPC. Στην sn-2 θέση του φωσφολιποειδούς βρίσκονται εστεροποιημένα κυρίως αραχιδονικό οξύ και λιγότερο άλλα πολυακόρεστα και μονοακόρεστα οξέα. Το πρώτο στάδιο της πορείας ανασχηματισμού περιλαμβάνει την υδρόλυση της AAGPC προς 1-O-αλκυλο-2-λυσο-sn-γλυκερυλο-3-φωσφοχολίνη (λυσο-PAF). Αρχικά, η αντίδραση αυτή αποδίδονταν αποκλειστικά στην δράση μιας υποθετικής φωσφολιπάσης A_2 , με εξειδίκευση για αιθερικά υποστρώματα. Ωστόσο, σήμερα έχει βρεθεί ότι η αντίδραση μπορεί να γίνει με δύο διαφορετικές πορείες ανάλογα με το είδος του κυττάρου. Η πρώτη πορεία περιλαμβάνει τη δράση μιας PLA_2 , η οποία έχει εξειδίκευση για πολυακόρεστες αλυσίδες στην sn-2 θέση του γλυκερινικού σκελετού της AAGPC, αλλά δε φαίνεται να δείχνει ιδιαίτερη εξειδίκευση για το είδος του δεσμού στην sn-1 θέση. Μέχρι σήμερα δεν έχει αποδειχτεί η ύπαρξη ειδικής PLA_2 , η οποία υδρολύει εξειδικευμένα

την AAGPC σε λυσο-PAF. Με αυτόν το τρόπο σχηματίζεται ο λυσο-PAF σε περιτοναϊκά κύτταρα ποντικού, σε μακροφάγα αρουραίου, σε ουδετερόφιλα και ηωσινόφιλα ανθρώπου κ.α. Στη δεύτερη πορεία σχηματισμού του λυσο-PAF, η οποία έχει αποδειχτεί τα τελευταία χρόνια, μια CoA-ανεξάρτητη τρανσακυλάση (CoA-IT) μεταφέρει την ακυλο- ομάδα (κυρίως αραχιδονόυλο-) από την sn-2 θέση της AAGPC σε λυσο-πλάσμαλογόνα αιθανολαμίνης (λυσο-PE). Η λυσο-PE σχηματίζεται από PE με την δράση μιας PLA₂ ειδικής για τα πλάσμαλογόνα αιθανολαμίνης και για αραχιδονόυλο- ομάδες στην sn-2 θέση των πλάσμαλογόνων. Χαρακτηριστικό της πορείας ανασχηματισμού είναι ότι και στις δύο πορείες σχηματισμού του λυσο-PAF ελευθερώνεται παράλληλα αραχιδονικό οξύ, το οποίο στη συνέχεια μπορεί να μετατραπεί σε βιολογικά δραστικά εικοσανοειδή όπως προσταγλανδίνες, λευκοτριένια, κ.α.

Το δεύτερο στάδιο της πορείας ανασχηματισμού είναι η ακετυλίωση του λυσο-PAF προς PAF από το ένζυμο ακετυλο-CoA:λυσο-PAF ακετυλοτρανσφεράση (λυσο-PAF AT). Η λυσο-PAF AT δείχνει εξειδίκευση για αιθερικό δεσμό στην sn-1 θέση και μεταφέρει μικρού Mr άκυλο- ομάδες (2 ή 3 ατόμων C) στην sn-2 θέση [106], [108].

Τα ένζυμα και οι αντιδράσεις της πορείας ανασχηματισμού παρουσιάζονται αναλυτικότερα, ακολούθως:

1) Φωσφολιπάση A₂

Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις για την ύπαρξη ειδικών PLA₂, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την άμεση υδρόλυση των αλκυλο-ακυλο-γλυκερυλο-φωσφατιδυλοχολινών σε καταστάσεις ενεργοποίησης του κυττάρου. Αν και έχουν χαρακτηριστεί πολλές PLA₂ με εξειδίκευση για AAGPC με αραχιδονικό στην sn-2 θέση καμία από αυτές δεν έχει αποδειχτεί ότι είναι ειδική για την βιοσύνθεση του PAF με την πορεία ανασχηματισμού [108].

2) CoA-ανεξάρτητη τρανσακυλάση (CoA-IT)

Ενζυμική δραστηριότητα CoA-IT έχει βρεθεί σε ανθρώπινα λευχαιμικά κύτταρα HL-60, σε ανθρώπινα ουδετερόφιλα, μαστοκύτταρα και σε ιστούς αρουραίου. Το ένζυμο

απαιτεί αραχιδονόϋλο- ομάδα στην sn-2 θέση της AAGPC, την οποία προτιμά να μεταφέρει σε λυσο-πλάσμαλογόνα αιθανολαμίνης. Η CoA-IT είναι μεμβρανικό ένζυμο αλλά δεν είναι γνωστό αν η υδρολυτική και η ακυλομεταφορική δραστηριότητά της ανήκουν στην ίδια ή σε διαφορετικές πρωτεΐνες. Ο ενζυμικός χαρακτηρισμός της σε HL-60 κύτταρα και σε ανθρώπινα ουδετερόφιλα έχει δείξει ότι το ένζυμο είναι ανεξάρτητο από τα Ca^{2+} και CoA. Το ένζυμο αναστέλλεται από PMSF και αναστολείς PLA_2 σε ομογενοποίηση ανθρώπινων ουδετερόφιλων, ενώ δεν επηρεάζεται από τους ίδιους αναστολείς σε μεμβράνες HL-60 κυττάρων. Κοινά απορρυπαντικά όπως το Triton X-100 και το δεοξυχολικό οξύ αναστέλλουν την δραστηριότητα του ενζύμου [108].

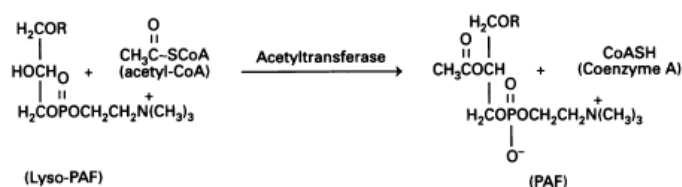
3) Ακετυλο-CoA:1-O-αλκυλο-2-λυσο-sn-γλυκερύλοφωσφοχολίνη ακετυλο-τρανσφεράση, λυσο-PAF AT (EC 2.3.1.67) [110], [111], [112]

Η λυσο-PAF AT καταλύει το τελευταίο στάδιο της πορείας ανασχηματισμού που είναι η ακετυλίωση του λυσο-PAF προς PAF. Εντοπίζεται στο μικροσωμιακό κλάσμα σχεδόν όλων των ιστών και των κυττάρων που παράγουν PAF, ενώ έχει βρεθεί και σε μικροσώματα σκουληκιών και μαλακίων [113]. Πειράματα υποκυτταρικής κατανομής του ενζύμου έχουν δείξει ότι η λυσο-PAF AT κατανέμεται στις πλασματικές μεμβράνες, στο ER και στα τεταρτοταγή κοκκία ανθρώπινων ουδετερόφιλων και HL-60 κυττάρων, ενώ σε φλοιό εγκεφάλου αρουραίου και κουνελιού εντοπίζεται στην πυρηνική μεμβράνη και στον πυρηνικό φάκελο.

Το ένζυμο παρουσιάζει σχετικά ευρεία εξειδίκευση όσον αφορά στα λιποειδικά υποστρώματα αφού μπορεί να ακετυλιώσει αιθερικά και εστερικά ανάλογα του PAF, καθώς και ανάλογα με σκελετό αιθανολαμίνης. Επίσης, μικρού Mr ακυλο-CoA (C_2 - C_6) αποτελούν υποστρώματα για τη λυσο-PAF AT. Μελέτες εξειδίκευσης του ενζύμου ως προς τα διάφορα λιποειδικά υποστρώματα έχουν δείξει ότι η σειρά προτίμησης της λυσο-PAF AT είναι: αλκυλο-λυσο-PAF>ακυλο-λυσο-PAF>αλκενυλο-λυσο-PAF>αλκυλο-λυσο-φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη>ακυλο-λυσο-φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη. Τα λιποειδή ακυλο-λυσο-φωσφατιδυλοσερίνη, αλκυλο-λυσο-φωσφατιδυλοϊνositόλη και ακυλο-λυσο-φωσφατιδικό οξύ δεν αποτελούν υποστρώματα για τη λυσο-PAF AT, ενώ μεγάλου Mr ακυλο-CoA, όπως παλμιτοϋλο-CoA, ελαϋλό-CoA, αραχιδονοϋλό-CoA είναι συναγωνιστικοί αναστολείς του

ενζύμου. Το ένζυμο προτιμά ως υπόστρωμα τον C_{16:0}-λυσο-PAF από τον C_{18:0}-λυσο-PAF. Το ακετυλο-CoA δεν συναγωνίζεται το ακυλο-CoA στον ενζυμικό προσδιορισμό της ακυλο-CoA ακυλοτρανσφεράσης, ενώ η ακετυλοτρανσφεράση είναι πιο ευαίσθητη σε απορρυπαντικά και στη θερμική απενεργοποίηση. Τα παραπάνω αποτελέσματα διαχωρίζουν την δραστικότητα της ακυλοτρανσφεράσης από αυτή της ακετυλοτρανσφεράσης.

Το ένζυμο αναστέλλεται από φυσικά παραγόμενες ενώσεις όπως ακυλο-CoA, αραχιδονικό οξύ, ελαϊκό οξύ, λυσο-PC, από μη ειδικούς αναστολείς όπως τα χηλικά αντιδραστήρια EDTA, EGTA, Ca²⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, DIFP καθώς και από συνθετικές ενώσεις που αντιδρούν με -SH ομάδες πάνω στο ένζυμο. Το ένζυμο υφίσταται ομοιοπολική ρύθμιση της δραστικότητάς του μέσω φωσφορυλίωσης-αποφωσφορυλίωσης όπως έχουν δείξει μελέτες σε σπλήνα αρουραίου, ανθρώπινα ουδετερόφιλα, παρωτιδικούς αδένες ινδικού χοιριδίου και μαστοκύτταρα ποντικού. Το ένζυμο είναι ενεργό φωσφορυλιωμένο και απενεργοποιείται με αποφωσφορυλίωση. Καταλυτικές υπομονάδες της cAMP-εξαρτώμενης PK και της Ca/καλμοδουλίνης-εξαρτώμενης PK ενεργοποιούν τη λυσο-PAF AT in vitro. Αντιθέτως, η λυσο-PAF AT από νευρώνες κουνελιού είναι ευαίσθητη σε πυρηνικές και κυτοσολικές φωσφατάσες, ενώ αναστολείς φωσφατασών επιμηκύνουν την ενεργοποίηση της λυσο-PAF AT σε ανθρώπινα EC. Σε πειράματα φωσφορυλίωσης που έχουν γίνει σε μερικώς καθαρισμένο ένζυμο, έχει βρεθεί ότι ένα κατάλοιπο σερίνης φωσφορυλιώνεται. Επίσης, στους μηχανισμούς ενεργοποίησης της φαίνεται ότι συμμετέχει και η PKC αφού φορβολικοί εστέρες και η AAG ενεργοποιούν το ένζυμο, ενώ η σφιγγοσίνη το αναστέλλει [106], [108].



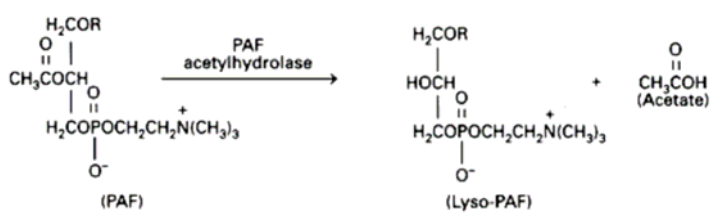
Σχήμα 3.3. Αντίδραση σχηματισμού PAF από το λυσο-PAF με την καταλυτική δράση του ενζύμου lyso-PAF AT. (Fred Snyder. Platelet-activating factor: the biosynthetic and catabolic enzymes. Biochem. J., 1995, 305: 689 - 705.)

3.2.2. ΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ PAF

Το πρώτο και σημαντικότερο στάδιο αποικοδόμησης του PAF είναι η υδρόλυση της ακετυλομάδας από την sn-2 θέση του γλυκερινικού σκελετού, η οποία οδηγεί στον σχηματισμό του βιολογικά ανενεργού λυσο-PAF. Ενδοκυτταρικά, ο λυσο-PAF είναι ιδιαίτερα κυτταροτοξικός λόγω των απορρυπαντικών ιδιοτήτων του, για αυτό είτε εκκρίνεται στον εξωκυτταρικό χώρο είτε μεταβολίζεται περαιτέρω στο εσωτερικό του κυττάρου. Η μεταβολική τύχη του λυσο-PAF εξαρτάται από το είδος του κυττάρου.

Η αντίδραση υδρόλυσης της ακετυλομάδας μπορεί να επιτευχθεί με τους εξής τρόπους:

α) Με τη δράση της ακετυλοϋδρολάσης του PAF, μιας Ca^{2+} -ανεξάρτητης PLA_2 που δείχνει εξειδίκευση για μικρού Mr (2 ή 3 ατόμων C) και οξειδωμένα λιπαρά οξέα στην sn-2 θέση του γλυκερινικού σκελετού (σχήμα 3.4).



Σχήμα 3.4. Αντίδραση υδρόλυσης του PAF προς λυσο-PAF με την καταλυτική δράση του ενζύμου PAF-AH. (Fred Snyder. Platelet-activating factor: the biosynthetic and catabolic enzymes. *Biochem. J.*, 1995, 305: 689 - 705.)

β) Με τη δράση τρανσακετυλασών που μεταφέρουν την ακετυλομάδα σε άλλα λιποειδικά υποστρώματα με ελεύθερο υδροξύλιο.

γ) Με τη δράση της λεκιθίνη:χοληστερόλη ακυλοτρανσφεράσης (LCAT), η οποία μπορεί να μεταφέρει την ακετυλομάδα σε λυσο-PC στο πλάσμα ανθρώπου. Βιοχημικές μελέτες έχουν δείξει ότι η τρανσακετυλάση και η LCAT αποτελούν διαφορετικά ένζυμα [105].

Τα ένζυμα καταβολισμού του PAF παρουσιάζονται αναλυτικότερα στη συνέχεια:

1) Ακετυλοϋδρολάσες του PAF [114] – [117], [118] – [122]

Οι ακετυλοϋδρολάσες του PAF ανήκουν στην ευρύτερη οικογένεια των PLA_2 υδrolύοντας τον PAF και οξειδωμένα φωσφολιποειδή στην sn-2 θέση του

γλυκερινικού σκελετού. Η πρώτη PAF-AH βρέθηκε στο πλάσμα ανθρώπου και έκτοτε, έχει βρεθεί ότι οι PAF-AHs αποτελούν μία ετερογενή ομάδα ενζύμων με διαφορετικές φυσιολογικές δράσεις. Μέχρι τώρα έχουν περιγραφεί μία εκκρινόμενη και τέσσερις ενδοκυτταρικές ισομορφές του ενζύμου ενώ έχουν κλωνοποιηθεί και χαρακτηριστεί με ακρίβεια τρεις ισομορφές, η ετεροτριμερής PAF-AH του εγκεφάλου, η PAF-AH του πλάσματος και η ενδοκυτταρική ισομορφή II. Τόσο η εκκρινόμενη όσο και οι ενδοκυτταρικές μορφές του ενζύμου παρουσιάζουν παρόμοια εξειδίκευση ως προς το υπόστρωμα. Εκτός από τον PAF, η ακετυλοϋδρολάση χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα και άλλα φωσφολιποειδή με ακυλομάδα βραχείας αλυσίδας στη θέση sn-2, καθώς και οξειδωμένες μορφές φωσφολιποειδών. Αυτά τα ευρήματα είναι σημαντικά, επειδή τα οξειδωμένα φωσφολιποειδή θεωρείται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στη μετατροπή των μακροφάγων σε αφρώδη κύτταρα κατά τη διάρκεια ανάπτυξης αθηρωματικής πλάκας στα αγγεία.

Η ενζυμική δραστηριότητα της PAF-AH εντοπίζεται κατά τα 2/3 στις LDL και κατά το 1/3 στις HDL. Η περισσότερο δραστική μορφή της ακετυλοϋδρολάσης στο πλάσμα συνδέεται με τα σωματίδια της LDL, ενώ η μορφή του ενζύμου που συνδέεται με τα σωματίδια της HDL είναι πολύ λιγότερο δραστική όσον αφορά στην υδρόλυση της ακετυλομάδας του PAF. Η παραπάνω διαφορά φαίνεται ότι οφείλεται στο γεγονός ότι ο PAF κατανέμεται κατά κύριο λόγο στα σωματίδια της LDL [113]. Κυτταρική πηγή της PAF-AH του πλάσματος είναι κυρίως τα λευκοκύτταρα του αίματος όπως τα μακροφάγα αλλά και τα ηπατοκύτταρα. Η δραστηριότητα της πλασματικής PAF-AH μπορεί να διαφέρει μέχρι και 5 φορές σε ένα πληθυσμό υγιών ανθρώπων. Το 60% αυτών των διαφορών οφείλεται σε γενετικούς παράγοντες. Στον Ιαπωνικό πληθυσμό παρατηρείται έλλειψη της PAF-AH του πλάσματος, η οποία οφείλεται στην σημειακή μετάλλαξη V279F. Στον Καυκάσιο πληθυσμό και στον πληθυσμό της Β. Αμερικής δεν παρατηρείται ιδιαίτερη έλλειψη PAF-AH ούτε και η σημειακή μετάλλαξη V279F. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα επίπεδα της PAF-AH μπορεί να είναι αυξημένα ή μειωμένα σε διάφορες ασθένειες. Αυξημένη δραστηριότητα παρατηρείται κυρίως σε ασθένειες που έχουν φλεγμονώδη αίτια όπως, η υπέρταση, οι αγγειακές παθήσεις, οι ισχαιμίες, τα εγκεφαλικά επεισόδια, ο διαβήτης, η ρευματοειδής αρθρίτιδα κ.α.. Μειωμένα επίπεδα PAF-AH παρατηρούνται σε ασθένειες όπως το άσθμα, ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, η σηψαιμία, η νόσος του Crohn κ.α. Γενικότερα,

η PAF-AH του πλάσματος δρα ως παράγοντας εκκαθάρισης όλων των προφλεγμονωδών φωσφολιποειδών στα θηλαστικά και με αυτό τον τρόπο παίζει ρυθμιστικό ρόλο στους μηχανισμούς της φλεγμονής απενεργοποιώντας τον PAF και τα οξειδωμένα φωσφολιποειδή.

3.3. ΡΥΘΜΙΣΗ ΚΑΙ ΤΟΠΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ PAF

3.3.1 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ PAF [106], [108]

Ένα πλήθος βιολογικά δραστικών ενώσεων, ενδογενών μεσολαβητών της φλεγμονής και της αλλεργίας, καθώς και φαρμακολογικών παραγόντων μπορούν να δράσουν στα κύτταρα που συνθέτουν PAF και να ρυθμίσουν τα επίπεδά του επιδρώντας άμεσα ή έμμεσα στις μεταβολικές πορείες βιοσύνθεσης και αποικοδόμησής του. Οι σημαντικότεροι από αυτούς τους παράγοντες και το αποτέλεσμα της δράσης τους στα διάφορα κύτταρα φαίνονται στον πίνακα 3.1. Η επίδραση των διαφόρων αγωνιστών του πίνακα 3.1 στις μεταβολικές πορείες του PAF ξεκινά τις περισσότερες φορές με τη σύνδεση του αγωνιστή στον υποδοχέα του στη μεμβράνη του κυττάρου, η οποία οδηγεί στην ενεργοποίηση γνωστών μηχανισμών μεταγωγής σήματος που έχουν σαν τελικό αποτέλεσμα τη μεταβολή της δραστηριότητας των ενζύμων μεταβολισμού του PAF. Οι μηχανισμοί που θα ενεργοποιηθούν κάθε φορά διαφέρουν από κύτταρο σε κύτταρο και εξαρτώνται από το είδος του αγωνιστή.

Πίνακας 3.1. Οι σημαντικότεροι ενεργοποιητές και αναστολείς της σύνθεσης του PAF από τα κύτταρα. (Νομικός Τ. Μελέτη του μεταβολισμού του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) σε ανθρώπινο νεφρό και της συμμετοχής του στην πρόκληση σπειραματονεφρίτιδας. Διδακτορική Διατριβή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας, Αθήνα 2002)

Χημική ένωση	Κύτταρα δράσης	Αποτέλεσμα δράσης
Ιονοφόρο Ca²⁺		
A23187	Λευκοκύτταρα, αιμοπετάλια, EC, λεμφοκύτταρα, επιθηλιακά, σπερματοζωάρια κ.α.	Ενεργοποίηση
Φαγοκυτταρικοί παράγοντες		
Λιποπολυσακχαρίτης, ζυμοσάνη κ.α.	PMN, μονοκύτταρα, λεμφοκύτταρα, ηωσινόφιλα, στρωματικά κύτταρα ανθρώπου	Ενεργοποίηση
Ρυθμιστές δράσης PKC		
Φορβολικοί εστέρες	Μονοκύτταρα, επιθηλιακά πνεύμονα, PMN ανθρώπου, μακροφάγα αρουραίου κ.α.	Ενεργοποίηση
Καρνιτίνη	PMN ανθρώπου	Αναστολή
Αγγειοδραστικές ενώσεις		
Ισταμίνη, βραδυκίνη	EC, επιθηλιακά ανθρώπου	Ενεργοποίηση
Νιτροπρωσικό νάτριο (SNP)	EC ανθρώπου	Αναστολή
Θρομβολυτικά		
Πλασμίνη, στρεπτο-κινάση	EC ανθρώπου	Ενεργοποίηση
Χημειοτακτικοί παράγοντες		
fMLP	PMN, ηωσινόφιλα ανθρώπου, μακροφάγα ινδικού χοιριδίου	Ενεργοποίηση
Ορμόνες		
Βασοπρεσσίνη	EC ανθρώπου	Ενεργοποίηση
Προγεστερόνη	Σπερματοζωάρια ανθρώπου	Ενεργοποίηση
VIP	Γαστρικά επιθηλιακά κύτταρα	Ενεργοποίηση
Δεξαμεθαζόνη		Αναστολή

Αντιγονική ενεργοποίηση	Ηπατικά κύτταρα, μαστοκύτταρα αρουραίου, λεμφοκύτταρα, ηωσινόφιλα ανθρώπου,	Ενεργοποίηση
Ιντερλευκίνες		
IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12	EC, PMN, μονοκύτταρα ανθρώπου	Ενεργοποίηση
TNFs	EC, PMN, μονοκύτταρα ανθρώπου και αρουραίου	Ενεργοποίηση
Νευροδιαβιβαστές		
Ακετυλοχολίνη, Ντοπαμίνη	Κύτταρα αδένων σκύλου, νευρώνες ανθρώπου, αμφιβληστροειδή κύτταρα κοτόπουλου	Ενεργοποίηση
Υπεροξειδία, οξειδωτικό στρες, O₃	EC βοδιού, ανθρώπου, επιθηλιακά ανθρώπου, HL-60	Ενεργοποίηση
Λιποειδικοί αγωνιστές		
PAF	Μονοκύτταρα, EC ανθρώπου	Ενεργοποίηση
Προσταγλανδίνες	Ενδοθηλιακά ανθρώπου	Αναστολή
Λευκοτριένια	EC ανθρώπου	Ενεργοποίηση
HPETE	HL-60	Ενεργοποίηση

Πολλές φορές η ενεργοποίηση των ενζύμων είναι ατελέσφορη χωρίς την κατάλληλη ποσότητα υποστρώματος. Στην περίπτωση του μεταβολισμού του PAF η διαθεσιμότητα του λυσο-PAF καθορίζει σε μεγάλο βαθμό το ποσό του PAF που θα σχηματιστεί σε ένα κύτταρο. Αύξηση του ενδοκυτταρικού λυσο-PAF, είτε με χορήγησή του εξωγενώς, είτε με αναστολή των ενζύμων που τον μεταβολίζουν, όπως της ακυλο-CoA ακυλοτρανσφεράσης, της CoA-IT ή της ακυλο-CoA συνθετάσης, προκαλεί αύξηση της σύνθεσης PAF στα λευκοκύτταρα. Σε μακροφάγα κουνελιού, με υψηλά ενδοκυτταρικά επίπεδα λυσο-PAF, η ενεργοποίηση της λυσο-PAF AT δεν οδηγεί σε αύξηση της σύνθεσης PAF παρά μόνο μετά από χορήγηση εξωγενούς προστιθέμενου PAF γεγονός που υποδηλώνει ότι πιθανόν υπάρχουν παραπάνω από μία ενδοκυτταρικές πηγές λυσο-PAF, οι οποίες δεν είναι όλες το ίδιο προσβάσιμες στα ένζυμα μεταβολισμού του PAF. Φαίνεται λοιπόν ότι στην πορεία ανασχηματισμού η αντίδραση της PLA₂ που οδηγεί, είτε στον άμεσο σχηματισμό λυσο-PAF, είτε στο σχηματισμό των λυσο- υποστρωμάτων για την αντίδραση της CoA-IT είναι το καθοριστικό για την ταχύτητα στάδιο της αντίδρασης. Από εκεί και

πέρα η ενεργοποίηση της λυσο-PAF AT καθορίζει κυρίως το ποσό του PAF που θα σχηματιστεί.

Τα επίπεδα του AA αλλά και των άλλων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό το ποσό του PAF που θα σχηματιστεί σε ένα κύτταρο. Αυτό γίνεται, είτε έμμεσα καθορίζοντας τη σύσταση και τα επίπεδα των μεμβρανικών φωσφολιποειδών και ειδικότερα του AAGPC, που είναι η πρόδρομη ένωση του PAF στην πορεία ανασχηματισμού, είτε δρώντας άμεσα στις πορείες μεταβολισμού. Έχουν γίνει πολλά διατροφικά πειράματα μέσω των οποίων έχει μεταβληθεί η σύσταση των λιπαρών οξέων στα μεμβρανικά φωσφολιποειδή πειραματοζώων και ανθρώπου και έχει μελετηθεί η σύνθεση του PAF, κυρίως από λευκοκύτταρα, πριν και μετά τη δίαιτα. Τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα. Παρομοίως, αντικρουόμενα αποτελέσματα έχουν ληφθεί από *in vitro* πειράματα στα οποία έχει χορηγηθεί AA σε καλλιέργειες ή εναιωρήματα κυττάρων και έχει μελετηθεί η βιοσύνθεση του PAF ύστερα από ενεργοποίηση των κυττάρων.

3.3.2. ΤΟΠΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΤΟΥ PAF

Οι ενδοκυτταρικές περιοχές στις οποίες διεξάγονται οι μεταβολικές πορείες βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης του PAF δεν έχουν πλήρως εντοπιστεί. Οι περισσότερες μελέτες έχουν γίνει με κλασσικά πειράματα υποκυτταρικής κατανομής των ενζύμων και των ραδιενεργών υποστρωμάτων τους και έχουν δείξει ότι τα ένζυμα βιοσύνθεσης του PAF εντοπίζονται κυρίως σε ενδοκυτταρικά μεμβρανικά σωματίδια όπως στο ενδοπλασματικό δίκτυο, στις πυρηνικές μεμβράνες και σε άλλα μη διευκρινισμένα μεμβρανικά κλάσματα. Στις ενδοκυτταρικές μεμβράνες των αιμοπεταλίων και ουδετερόφιλων εντοπίζεται και η πρόδρομη ένωση του PAF η AAGPC. Πειράματα βιοσύνθεσης με ραδιενεργά υποστρώματα έχουν δείξει ότι ο νεοσυντιθέμενος PAF εντοπίζεται αρχικά στο ER και στη συνέχεια στην πλασματική μεμβράνη, ενώ πειράματα καταβολισμού σε ουδετερόφιλα ανθρώπου έχουν δείξει ότι η μετατροπή του PAF σε AAGPC γίνεται στην πλασματική μεμβράνη και στη συνέχεια η AAGPC μεταφέρεται στα αζουροφιλικά κοκκία. Η μεταφορά του PAF και των προϊόντων αποικοδόμησής του μεταξύ των μεμβρανών γίνεται, είτε με την βοήθεια ειδικών για τον PAF μεταφορικών πρωτεϊνών, οι οποίες έχουν απομονωθεί

από κυτόπλασμα μακροφάγων και HL-60 κυττάρων, είτε με την σύντηξη λιποειδικών κυστιδίων όπως έχει βρεθεί στα ουδετερόφιλα [106], [108].

3.4. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΟΥ PAF ΚΑΙ ΟΔΟΙ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ ΣΗΜΑΤΟΣ

3.4.1. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΟΥ PAF

Ο πρωταρχικός ρόλος του PAF είναι η μεσολάβησή του στις διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις [123]. Μπορεί να δράσει παρακρινικά ή ενδοκρινικά. Ο ενδοκρινικός τρόπος δράσης βρίσκεται υπό τον έλεγχο της PAF-AH του πλάσματος, η οποία μειώνει το χρόνο ημιζωής του PAF στο αίμα του ανθρώπου και των ζώων. Επιπρόσθετα, ο PAF μπορεί να δράσει αυτοκρινικά ή συνδετοκρινικά. Ο δεύτερος τρόπος δράσης αφορά στην αλληλεπίδραση ανάμεσα στον PAF που απαντά στην κυτταροπλασματική μεμβράνη ενός κυττάρου και τον κυτταροπλασματικό του υποδοχέα που εντοπίζεται σε γειτονικά κύτταρα του ίδιου ή διαφορετικού κυτταρικού είδους [108].

Ο PAF δρα μέσω εξειδικευμένων υποδοχέων που απαντούν κυρίως επί των κυτταροπλασματικών μεμβρανών των κυττάρων – στόχων [124], [125]. Επιπλέον, έχει αναφερθεί η παρουσία αυτών επί της πυρηνικής μεμβράνης [126]. Τα περισσότερα κύτταρα που παράγουν PAF διαθέτουν και υποδοχείς του και αποτελούν κύτταρα – στόχους του PAF [109]. Ο υποδοχέας του PAF (PAFR) αποτελείται από 7 διαμεμβρανικές περιοχές (α-έλικες) χαρακτηριστικές της υπερικογένειας των υποδοχέων που συνδέονται με G-πρωτείνες, οι οποίες ρυθμίζουν τη συγκέντρωση του ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα, το ρυθμό ανακύκλωσης της φωσφατιδυλινοσιτόλης, τα επίπεδα του cAMP και τη φωσφορυλίωση σημαντικών πρωτεϊνών. Επίσης, έχει αναφερθεί ότι ο PAF επάγει την ταχεία και αντιστρεπτή έκφραση γονιδίων σε πολλά κύτταρα και ιστούς [125]. Ο PAF επάγει την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν για κυτταροκίνες (IL-3, IL-1, IL-6, TNF, IL-2Ra), κυκλοξυγενάσες (COXs), λιποξυγενάσες (LOs) και την P-σελεκτίνη. Ακόμη, ο PAF επάγει την έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί για τον υποδοχέα του και ενεργοποιεί αρκετούς παράγοντες μεταγραφής, όπως ο NF-κΒ [108].

Μελέτες έχουν δείξει ότι πολλά μόρια, εκτός του PAF, έχουν την ικανότητα να αλληλεπιδρούν με τον υποδοχέα του PAF. Η παρουσία αιθερικού δεσμού στη θέση sn-1 και μιας μικρού μήκους (2 – 3 άτομα C) αλυσίδας ακυλο-ομάδας στη θέση sn-2 του σκελετού της γλυκερόλης ευνοεί τη σύνδεση με τον υποδοχέα του PAF. Οξειδωμένα φωσφολιποειδή που φέρουν μια μικρού μήκους αλυσίδας οξειδωμένης ακυλο-ομάδας στη θέση sn-2 συνδέονται με τον υποδοχέα του PAF, προκαλώντας την έναρξη ενός καταρράκτη αντιδράσεων ενδοκυτταρικά που οδηγεί στη μεταγραφή προφλεγμονωδών και προαθηρογόνων γονιδίων. Επιπλέον, ο υποδοχέας του PAF είναι σε θέση να αλληλεπιδρά με συστατικά του βακτηριακού τοιχώματος, όπως είναι οι λιποπολυσακχαρίτες και η φωσφορυλοχολίνη [106].

Η δέσμευση του PAF στον υποδοχέα του προκαλεί την έναρξη ενός καταρράκτη αντιδράσεων ενδοκυτταρικά, που καθορίζει την απάντηση του κυττάρου. Ο υποδοχέας του PAF συζευγνύεται με διάφορες ισομορφές των G πρωτεϊνών. Το είδος του κυττάρου και του υποκαταστάτη προσδιορίζει την ισομορφή που ενεργοποιείται από τον υποδοχέα του PAF κάθε φορά. Η ικανότητα του PAF να διεγείρει διαφορετικές οδούς μεταγωγής σήματος μέσω διαφόρων G πρωτεϊνών μπορεί να εξηγήσει τις ποικίλες βιολογικές απαντήσεις των κυττάρων του ανθρώπου στον παράγοντα αυτόν.

3.4.2. ΟΔΟΙ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ ΣΗΜΑΤΟΣ

1) Ο PAF δεσμεύεται στον υποδοχέα του και προκαλεί αντιστρεπτή υδρόλυση μορίων φωσφατιδυλο-ινοσιτόλης των μεμβρανών καταλήγοντας στο σχηματισμό 1,4,5 – τριφωσφο-ινοσιτόλης (IP₃) και διακυλογλυκερόλης. Η διακυλογλυκερόλη ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C (PKC) ενώ η IP₃ προκαλεί απελευθέρωση Ca²⁺ από τις ενδοκυτταρικές αποθήκες του. Αυτός ο μηχανισμός έχει βρεθεί στα αιμοπετάλια, τα λευκοκύτταρα, τα ηπατοκύτταρα, τους νευρώνες, τα νεφρικά κύτταρα κ.α.

2) Ο PAF μπορεί να διεγείρει την οδό των MAP κινασών, πυροδοτώντας τη φωσφορυλίωση και την ενεργοποίηση των ERK, p38 MAPK και JUN N-τελική κινάση (JNK). Οι ενεργοποιημένες MAPKs εμπλέκονται σε διαδοχικές φωσφορυλιώσεις και επάγουν την ενεργοποίηση της cPLA2. Οι υπομονάδες G_{αq},

Γα_o, Γα_i και Gβγ των G πρωτεϊνών μεσολαβούν την ενεργοποίηση των MAPK που επάγεται από τον PAF.

3) Η οδός PI3K/ Akt περιλαμβάνει τη φωσφορυλίωση της 4,5-διφωσφο-ινοσιτόλης (PIP₂) των μεμβρανών από την PI3K οδηγώντας στο σχηματισμό της 3,4,5-τριφωσφο-ινοσιτόλης (PIP₃) που μεσολαβεί τη φωσφορυλίωση του Akt. Η οδός ενεργοποίησης της PI3K εμπλέκεται, κατά κύριο λόγο, στην κινητικότητα, ανάπτυξη και επιβίωση του κυττάρου όπως επάγεται από τον PAF. Επιπρόσθετα, αυτή η οδός συνδέεται με το δεύτερο μηχανισμό, καθώς η PI3K εμπλέκεται εν μέρει στην επαγόμενη από τον PAF ενεργοποίηση των MAPKs.

4) Ο PAF επάγει τη φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση πολλών κινασών τυροσίνης, όπως η c-Src, η FAK, η Syk, η Fyn και η Lyn, οι οποίες με τη σειρά τους φωσφορυλιώνουν και ρυθμίζουν συστατικά των προαναφερθέντων ενδοκυτταρικών οδών. Ορισμένες κυτταρικές απαντήσεις που ρυθμίζονται με αυτόν το μηχανισμό είναι η συσσώρευση των αιμοπεταλίων, η κινητικότητα των κυττάρων, η προσκόλληση και η συγκέντρωση του κυτταροσκελετού.

5) Ο ενεργοποιημένος υποδοχέας του PAF είναι σε θέση να μετάγει σήματα που οδηγούν στην ενεργοποίηση της οδού JAK/ STAT. Στα ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα και σε σειρές μονοκυττάρων ο PAF επάγει τη φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση των STATs, που εξαρτώνται από τον JAK-2, ενώ είναι ανεξάρτητοι παράγοντες από τις G πρωτεΐνες. Οι φωσφορυλιωμένοι STATs μετακινούνται στον πυρήνα όπου δεσμεύονται σε εξειδικευμένες θέσεις αναγνώρισης στους υποκινητές των γονιδίων.

6) Ο PAF μπορεί να ενεργοποιήσει της PLA₂, η οποία προκαλεί απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος (AA) από μεμβρανικά φωσφολιποειδή. Ένα μέρος του AA μεταβολίζεται σε εικοσανοϊκό οξύ, ένα μέρος εκκρίνεται και ένα μέρος μεταβολίζεται είτε μέσω της οδού της κυκλοοξυγενάσης σε θρομβοξάνια και προσταγλανδίνες, είτε μέσω της οδού της λιποξυγενάσης σε μονοϋδροξυτετραενοϊκά οξέα και λευκοτριένια. Όλα τα προϊόντα μεταβολισμού του AA έχουν σημαντικές βιολογικές δράσεις και

μεσολαβούν σε πολλές από τις δράσεις του PAF όπως στην αγγειοσυσπασση των στεφανιαίων αρτηριών, στο βρογχόσπασμο, στην ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων κ.α. Ο μηχανισμός, μέσω του οποίου ενεργοποιείται η PLA_2 από τον PAF, δεν έχει γίνει γνωστός, ωστόσο φαίνεται ότι συμμετέχουν η PKC, οι MAP κινάσες, το ενδοκυτταρικό Ca^{2+} και το cAMP.

7) Ο PAF μπορεί να ενεργοποιήσει την PLD σε ένα μεγάλο αριθμό κυττάρων. Η PLD υδρολύει την PC προς φωσφατιδικό οξύ (PA) το οποίο μετατρέπεται, είτε σε DAG, είτε σε λυσο-PA. Τα προϊόντα της δράσης της PLD είναι σημαντικά β' μηνύματα στις διάφορες κυτταρικές λειτουργίες. Στην ενεργοποίηση της PLD από τον PAF συμμετέχουν το Ca^{2+} , η PKC και οι τυροσινικές κινάσες [108].

8) Ο PAF είναι πιθανός παράγοντας επαγωγής της μεταγραφής. Για παράδειγμα, επάγει την έκφραση κυτταροκινών, όπως των IL-3, IL-1, IL-6, TNF και IL-2Rα, ενζύμων του μεταβολισμού των εικοσανοειδών, των MMPs και του υποδοχέα του. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το C-τελικό άκρο του υποδοχέα του PAF μπορεί να ενεργοποιήσει τον NF-κB, ανεξαρτήτως των G πρωτεϊνών, προάγοντας με αυτόν τον τρόπο την έκφραση πρωτεϊνών της φλεγμονής. Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις σύμφωνα με τις οποίες υπάρχουν θέσεις δέσμευσης του PAF στον πυρήνα, τόσο στον πυρηνικό φάκελο όσο και στο εσωτερικό του πυρήνα. Η αλληλεπίδραση του PAF με τον πυρηνικό της υποδοχέα προκαλεί την έναρξη διαφόρων αντιδράσεων που είναι ανεξάρτητες από αυτές που συμβαίνουν στο κυτόπλασμα. Πολλά από τα συστατικά των μηχανισμών μεταγωγής σήματος στο κυτόπλασμα (G πρωτεΐνες, διάλυτοι ιόντων ασβεστίου, MAPKs, αδενυλική κυκλάση, PKC) εντοπίζονται τόσο στην πυρηνική μεμβράνη όσο και στο πυρηνόπλασμα. Η δέσμευση του PAF στον πυρηνικό της υποδοχέα επάγει την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C, την κινητοποίηση του ασβεστίου και τη μεταγραφή του γονιδίου για την κυκλοξυγονάση 2 (COX-2). Επίσης, ο PAF επάγει την ταχεία και μεταβατική έκφραση αρκετών πρωτοογκογονιδίων, όπως c-fos, c-jun, TIS-1, zif/268 ενώ αναστέλλει την έκφραση κάποιων άλλων όπως v-src, v-ras συμμετέχοντας με αυτό τον τρόπο στην διαφοροποίηση, κυτταρική ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό των κυττάρων [106].

Τέλος, φαίνεται ότι ο υποδοχέας του PAF στην πλασματική μεμβράνη συμμετέχει κυρίως στις οξείες επιδράσεις του PAF, ενώ ο πυρηνικός υποδοχέας του PAF μεσολαβεί επιδράσεις μεγαλύτερης διάρκειας μέσω της τροποποίησης της γονιδιακής έκφρασης [106].

3.5. ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥ PAF

Οι ανταγωνιστές του PAF μπορούν να διακριθούν σε 3 κατηγορίες: τα φυσικά προϊόντα, τα συνθετικά δομικώς ανάλογα του PAF και άλλα συνθετικά συστατικά.

3.5.1. ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥ PAF ΠΟΥ ΑΠΑΝΤΟΥΝ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

3.5.1.1 ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

Μεταξύ των MUFAs, το ελαϊκό οξύ έχει αναφερθεί ότι είναι δυνητικός αναστολέας της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων κουνελιού που επάγεται από τον PAF *in vitro*. Μελέτες *in vitro* με PUFAs έδειξαν ότι η επώαση μονοκυττάρων από άνθρωπο με EPA μείωσε την παραγωγή PAF. Πολυάριθμες μελέτες σε πειραματόζωα και ανθρώπους έχουν επισημάνει ότι τα PUFAs μεταβάλλουν το μεταβολισμό του PAF. Σε αυτές τις μελέτες, χορηγήθηκαν ω3 PUFAs, κυρίως ALA, EPA και DHA, ή έλαια που περιέχουν υψηλές ποσότητες αυτών των λιπαρών οξέων. Τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν αναφορικά με την επίδραση της χορήγησης ιχθυελαίου σε υγιείς εθελοντές είναι αντικρουόμενα, αφού ορισμένες μελέτες αναφέρουν τη μείωση της παραγωγής PAF από τα μονοκύτταρα, ενώ άλλες έδειξαν ότι η παραγωγή του PAF στα ουδετερόφιλα δεν μεταβλήθηκε. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα ω3 λιπαρά οξέα μπορούν να μεταβάλουν τη μεταγωγή σήματος του PAF σε διάφορα κυτταρικά είδη. Έχει παρατηρηθεί πως η επαγόμενη από τον PAF συσσώρευση αιμοπεταλίων μειώνεται σημαντικά μετά από τη δίαιτα με ιχθυέλαιο σε υγιείς και ασθενείς με περιφερειακή αγγειοπάθεια.

3.5.1.2 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ PAF

Αρκετές μελέτες *in vitro* έχουν δείξει ότι τα φλαβονοειδή αναστέλλουν τη δραστηριότητα της PLA2. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε ότι η λουτεολίνη παρουσιάζει την ισχυρότερη ανασταλτική επίδραση επί της lyso-PAF AT, ακολουθούμενη από

την κερκετίνη. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι η κερκετίνη, η ναρινγκίνη και η εσπεριδίνη τροποποιούν το μεταβολισμό του PAF στα ενδοθηλιακά κύτταρα κατά τη διάρκεια του οξειδωτικού στρες. Αυτά τα φλαβονοειδή παρεμπόδισαν την παραγωγή PAF μέσω αναστολής των ενζύμων λυσο-PAF AT και PLA2, ενισχύοντας συγχρόνως το σχηματισμό λιγότερο βιολογικά δραστικών λιποειδικών μεσολαβητών. Η λήψη ζεστού αποστάγματος τσαγιού βρέθηκε ότι αναστέλλει τη συσσώρευση αιμοπεταλίων και αυτή η δράση οφείλεται στην περιεκτικότητά του σε κατεχίνες (τανίνες). Επιπλέον, βρέθηκε ότι ορισμένα εστεροποιημένα είδη κατεχινών δρουν ως δυνητικοί αναστολείς της λυσο-PAF AT και της βιοσύνθεσης του PAF. Οι φαινολικές ενώσεις που περιέχονται στο ελαιόλαδο έχει βρεθεί ότι αναστέλλουν την επαγόμενη από τον PAF συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Έχει παρατηρηθεί ότι η ρεσβερατρόλη που περιέχεται στο κρασί αναστέλλει την επαγόμενη από τον PAF συσσώρευση των αιμοπεταλίων κουνελιών, καθώς και τη συσσώρευση των λευκοκυττάρων και τη ρήξη του ενδοθηλιακού φραγμού σε δείγμα ιστού από αρουραίους.

3.5.1.3 ΛΥΚΟΠΕΝΙΟ ΚΑΙ PAF

Έχει βρεθεί ότι το λυκοπένιο τροποποιεί το μεταβολισμό του PAF υπό συνθήκες οξειδωτικού στρες στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ειδικότερα, η βιοσύνθεση του PAF από τη λυσο-PAF AT αναστέλλεται ισχυρά από το λυκοπένιο στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ωστόσο, η βιοσύνθεση ακυλο-PAF, μέσω της δράσης της εξαρτώμενης από τον PAF τρανσακυλάσης, αυξάνεται από το λυκοπένιο μόνο στην περίπτωση που χορηγείται σε συνδυασμό με α-τοκοφερόλη.

3.5.1.4 BITAMINEΣ ΚΑΙ PAF

Η βιταμίνη E αναστέλλει την επαγόμενη από τον PAF συσσώρευση των αιμοπεταλίων στο ολικό αίμα. Η βραχυπρόθεσμη χορήγηση βιταμίνης E δεν είχε καμία επίδραση στη λειτουργία των αιμοπεταλίων, στη δραστηριότητα της PLA2 και τα επίπεδα του λυσο-PAF σε άνδρες. Η βιταμίνη E εξασθενίζει την αλληλεπίδραση λευκοκυττάρων με ενδοθηλιακά κύτταρα, μια δράση που μεσολαβείται από τη μείωση της επαγόμενης από τον PAF έκφρασης των β2-ιντεγκρινών επί των ουδετερόφιλων του ανθρώπου. Ακόμη, η βιταμίνη E αναστέλλει σημαντικά την επαγόμενη από τον PAF ενεργοποίηση του NF-κΒ τόσο in vivo όσο και in vitro. Η βιταμίνη C έχει βρεθεί ότι εμποδίζει την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο

αγγειακό τοίχωμα, καθώς και το σχηματισμό συσσωματωμάτων λευκοκυττάρων με αιμοπετάλια.

3.5.1.5 ΣΕΛΗΝΙΟ ΚΑΙ PAF

Έχει αναφερθεί ότι η έλλειψη σεληνίου αυξάνει την παραγωγή PAF στα ενδοθηλιακά κύτταρα της αορτής βοοειδών, μέσω ενεργοποίησης της PLA2 και της λυσο-PAF AT. Αντιθέτως, η δραστηριότητα του PAF δε φάνηκε να επηρεάζεται από τα επίπεδα σεληνίου [108].

3.6. ΔΡΑΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ PAF [106], [108]

Ο παραγόμενος από τα κύτταρα PAF μπορεί να ακολουθήσει τις παρακάτω πορείες:

- Να εκκριθεί από τα κύτταρα και να δράσει, είτε αυτοκρινικά πάνω στα κύτταρα από τα οποία παράχθηκε, είτε παρακρινικά ενεργοποιώντας γειτονικά κύτταρα του ίδιου ή διαφορετικού είδους.
- Να ενσωματωθεί στην πλασματική μεμβράνη του κυττάρου από το οποίο συντέθηκε και να δράσει από εκεί ως διακυτταρικός μεσολαβητής ενεργοποιώντας γειτονικά κύτταρα. Αυτός ο τρόπος δράσης του PAF είναι ιδιαίτερα σημαντικός κατά την ενεργοποίηση και προσκόλληση των ουδετερόφιλων στα ενδοθηλιακά κύτταρα σε καταστάσεις φλεγμονής.
- Να παραμείνει στα κύτταρα και να δράσει ως ενδοκυτταρικός μεσολαβητής.

Οι δράσεις του PAF έχουν μελετηθεί, τόσο *in vitro* σε καλλιέργειες κυττάρων και απομονωμένους ιστούς (πίνακας 3.2), όσο και *in vivo* μετά από χορήγηση του PAF σε πειραματόζωα αλλά και στον άνθρωπο (πίνακας 3.3) [105].

Πίνακας 3.2 Δράσεις του PAF in vitro. (Νομικός Τ. Μελέτη του μεταβολισμού του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) σε ανθρώπινο νεφρό και της συμμετοχής του στην πρόκληση σπειραματονεφρίτιδας. Διδακτορική Διατριβή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας, Αθήνα 2002)

Είδος κυττάρου/ιστού	Δράσεις
Αιμοπετάλια	Αποκοκκίωση, αλλαγή σχήματος, συσσώρευση, έκκριση εικοσανοειδών
Ουδετερόφιλα	Αποκοκκίωση, συσσώρευση, χημειοταξία, παραγωγή υπεροξειδίων, αύξηση προσκολλητικής ικανότητας, έκκριση εικοσανοειδών
Μονοκύτταρα/ Μακροφάγα	Συσσώρευση, σύνθεση εικοσανοειδών, παραγωγή υπεροξειδίων, παραγωγή IL-1, έκκριση λυσοσωματικών ενζύμων
Ηωσινόφιλα	Χημειοταξία, έκκριση κατιοντικών πρωτεϊνών, αύξηση κυτταροτοξικότητας, σύνθεση LTC ₄ , παραγωγή υπεροξειδίων, μετανάστευση διαμέσου των επιθηλιακών κυττάρων, σύνθεση IL-8, πολυμερισμός ακτίνης
Λεμφοκύτταρα	Βλαστική τροποποίηση, καταστολή παραγωγής IL-2
Ενδοθηλιακά	Ανακατανομή κυτταροσκελετού και αλλαγή σχήματος, σύνθεση εικοσανοειδών, μετανάστευση, αύξηση της προσκολλητικής τους ικανότητα με τα ουδετερόφιλα
Καρδιά	Μείωση της συσταλτικής ικανότητας της κοιλίας, σύσπαση των στεφανιαίων, μείωση της ροής αίματος, πρόκληση αρρυθμιών

Πίνακας 3.3 Δράσεις του PAF in vivo. (Νομικός Τ. Μελέτη του μεταβολισμού του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) σε ανθρώπινο νεφρό και της συμμετοχής του στην πρόκληση σπειραματονεφρίτιδας. Διδακτορική Διατριβή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας, Αθήνα 2002)

Βρογχόσπασμος

Θρομβοπενία, ουδετεροπενία, βασηοφιλοπενία

Σηπτικό σοκ

Μεσολαβητής του σηπτικού σοκ που επάγεται από βακτηριακές λοιμώξεις και χορήγηση ενδοτοξίνης

Αναφυλακτικές αντιδράσεις

α) Στον αναπνευστικό: Μείωση αναπνευστικής συχνότητας, βρογχόσπασμο, αύξηση πνευμονικών αντιστάσεων, αύξηση της ενδοτικότητας του πνεύμονα, αύξηση της πίεσης στις πνευμονικές αρτηρίες με αποτέλεσμα πρόκληση πνευμονικού οιδήματος. Μεσολαβητής του άσθματος

β) Στο κυκλοφορικό: Μείωση της συστολικής και διαστολικής πίεσης, αύξηση της κεντρικής φλεβικής πίεσης, αύξηση της πίεσης στο δεξιό κόλπο, μείωση της τελοδιαστολικής πίεσης

Επίδραση στο καρδιαγγειακό σύστημα

Αρνητική ινοτρόπος δράση, μείωση της μέσης αρτηριακής πίεσης (υπόταση), μείωση του κατά λεπτό όγκου αίματος, μείωση των περιφερειακών αντιστάσεων

Καρδιακή ισχαιμία και κοιλιακές αρρυθμίες

Συμμετέχει στην παθογένεια της αθηροσκλήρυνσης

Επίδραση στο πεπτικό σύστημα

Βλάβη γαστρικού βλεννογόνου, ισχαιμική νέκρωση εντέρου, μορφολογικές αλλοιώσεις στην άνω παγκρεατοδωδεκαδακτυλική αρτηρία

Συμμετοχή στην παθογένεια του πεπτικού έλκους και της παγκρεατίτιδας

Επίδραση στο σύστημα αναπαραγωγής

Συμμετοχή στην κινητοποίηση του σπέρματος, στην ωορρηξία, στην εμφύτευση του ωαρίου στη μήτρα και στην υπέρταση της εγκυμοσύνης

Συμμετοχή στην έναρξη και διατήρηση του τοκετού

Επίδραση στην εγκεφαλική λειτουργία

Μεσολαβητής της εγκεφαλικής ισχαιμίας και του τραυματισμού των νευρώνων σε ισχαιμικές καταστάσεις. Ενεργοποίηση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια και έκκριση ορμονών, ρυθμίζει τα επίπεδα των νευροπεπτιδίων

Συμμετέχει στο LTP και θεωρείται ανάδρομος (retrograde) μεσολαβητής

Επίδραση στο ανοσολογικό

Συμμετέχει στην ανοσολογική κυτταρική απόκριση, είτε άμεσα ρυθμίζοντας τα επίπεδα και τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων και την παραγωγή κυτταροκινών από αυτά, είτε έμμεσα ενεργοποιώντας τα λευκοκύτταρα και την παραγωγή εικοσανοειδών από αυτά.

Μεσολαβητής της οξείας απόρριψης των μοσχευμάτων

Επομένως, φαίνεται ότι ο PAF είναι ένας σημαντικός λιποειδικός μεσολαβητής φυσιολογικών διεργασιών, αλλά εμπλέκεται και σε πολλές παθολογικές καταστάσεις. Τα επίπεδα του PAF μπορεί να αυξηθούν σε διάφορες παθοφυσιολογικές καταστάσεις, όπως στη φλεγμονή, την αλλεργία, το άσθμα, τη σήψη, το τραύμα, την καταπληξία, την οξεία παγκρεατίτιδα, σε νόσους του εντέρου ή των πνευμόνων, στο διαβήτη και σε περίπτωση νεφρικής βλάβης. Σε σχέση με την αθηροσκλήρυνση, τα επίπεδα και η δραστικότητα του PAF στο αίμα αυξάνονται λόγω της έλλειψης αντιοξειδωτικών, απουσίας ενδογενών ανταγωνιστών του PAF και/ ή της μειωμένης δραστικότητας της PAF-AH [108]. Τόσο ο PAF όσο και τα λιποειδικά ανάλογα αυτού επάγουν την απελευθέρωση ROS, οι οποίες οξειδώνουν την LDL. Με τη σειρά της, η OxLDL συμβάλλει σημαντικά στην αύξηση των επιπέδων του PAF, καθώς ο PAF σχηματίζεται κατά τη διάρκεια οξείδωσης της LDL [127].

3.6.1. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ PAF ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΟΥ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΥΝ ΣΤΗΝ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗ

1) Αιμοπετάλια

Ο PAF ενεργοποιεί και προκαλεί τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, όπως έχει βρεθεί σε διάφορα είδη, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου. Μετά την ενεργοποίηση, απελευθερώνεται AA από τα φωσφολιπίδια των μεμβρανών και συντίθενται εικοσανοειδή σε διάστημα λίγων λεπτών. Στη συνέχεια, απελευθερώνονται χημειοκίνες, κυτταροκίνες και αυξητικοί παράγοντες από αποθηκευτικά κυστίδια. Η διαδικασία αυτή συνεισφέρει στη φλεγμονή και τη θρόμβωση. Τα αιμοπετάλια του ανθρώπου φέρουν διάφορα mRNAs, τα οποία μεταφράζονται ως απάντηση σε κάποιο μηνυματοφόρο μόριο. Αυτό παρατηρείται και στην περίπτωση της IL-1β. Η ιντερλευκίνη αυτή απελευθερώνεται από τα αιμοπετάλια και επάγει την προσκόλληση μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων και

των πολυμορφοπύρηνων κοκκιοκυττάρων. Αυτή η σειρά των γεγονότων αντιπροσωπεύει ένα νέο μηχανισμό που συνδέει τις αντιδράσεις θρόμβωσης και φλεγμονής. Επίσης, προτείνει έναν τρόπο με τον οποίο ο PAF μεσολαβεί την αλληλεπίδραση αυτών των δύο συστημάτων.

2) Ουδετερόφιλα

Ο PAF, μέσω του υποδοχέα του, ενεργοποιεί τα ουδετερόφιλα. Η ενεργοποίηση αυτή οδηγεί σε προσκόλληση και συσσώρευση των ουδετερόφιλων, με αποτέλεσμα την ενίσχυση της φλεγμονώδους απάντησης, την πόλωση και την κατευθυνόμενη μετανάστευση, την αποκοκκίωση και την παραγωγή ριζών οξυγόνου.

3) Μονοκύτταρα

Τα μονοκύτταρα του ανθρώπου φέρουν τον υποδοχέα του PAF στις πλασματικές τους μεμβράνες και επομένως ενεργοποιούνται από τον παράγοντα αυτό. Η ενεργοποίηση αυτή οδηγεί στην έκφραση του PSGL-1. Τα μονοκύτταρα του αίματος του ανθρώπου προσκολλώνται ταχύτατα στα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια ή ενδοθηλιακά κύτταρα που φέρουν την P – σελεκτίνη, με αποτέλεσμα τη σύνθεση χημειοκινών, κυτταροκινών και ιστικού παράγοντα. Ειδικότερα, ο PAF ενισχύει τη μετατόπιση του NF-κB στον πυρήνα των προσκολλημένων στην P – σελεκτίνη μονοκυττάρων του ανθρώπου, όπου αυξάνει δραματικά τη σύνθεση της MCP-1, της IL-8, του TNF-α και άλλων προϊόντων που μεσολαβούν τη φλεγμονή. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η έκφραση των παραπάνω γονιδίων επικρατεί όταν τα μονοκύτταρα προσκολλώνται σταθερά με τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια. Τέτοιου είδους αλληλεπιδράσεις παρατηρούνται στη θρόμβωση και σε μια ποικιλία συνδρόμων των αγγείων [128].

4) Ενδοθηλιακά κύτταρα

Ο PAF δρα ως αυτοκρινής και παρακρινής μεσολαβητής, ο οποίος μπορεί να τροποποιεί τις λειτουργίες του ενδοθηλίου. Ο PAF ρυθμίζει κυρίως τη διαπερατότητα του ενδοθηλίου, καθώς και την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στην ενδοθηλιακή στοιβάδα.

A. Επίδραση του PAF στη διαπερατότητα του ενδοθηλίου

Έχει φανεί ότι το ενδοθήλιο εκφράζει υποδοχείς που δεσμεύουν τον PAF και επομένως αποτελεί στόχο του PAF. Ο PAF που παράγεται από τα ενδοθηλιακά ή φλεγμονώδη κύτταρα μπορεί να διεγείρει λειτουργίες των ενδοθηλιακών κυττάρων. Ο PAF αυξάνει τη διαπερατότητα της μονοστοιβάδας ενδοθηλιακών κυττάρων ανθρώπου σε καλλιέργεια *in vitro* και επάγει αλλαγές στον κυτταροσκελετό οδηγώντας σε συρρίκνωση και σχηματισμό διακυτταρικών κενών [129].

B. Επίδραση στην αγγειοσύσπαση

Έχει βρεθεί ότι ο PAF επάγει την αύξηση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης ελεύθερου ασβεστίου, μέσω της παραγωγής τριφωσφορικής ινοσιτόλης. Είναι πιθανόν, το άνοιγμα των καναλιών ασβεστίου να εξυπηρετεί ως σήμα για την αύξηση της μεταφοράς μακρομορίων και την ενεργοποίηση της PLA2. Η ενεργοποίηση της PLA2 μπορεί να οδηγήσει στη σύνθεση και την απελευθέρωση λευκοτριενίων και θρομβοξανής A2, που εμπλέκονται στην επαγόμενη από τον PAF σύσπαση των αρτηριολίων [109].

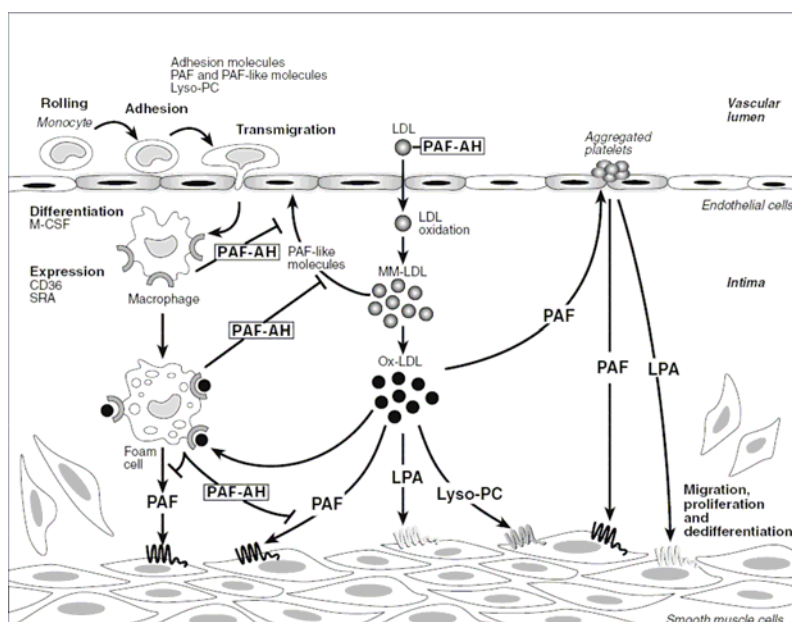
Γ. Αλληλεπίδραση ενδοθηλίου, λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων

Ο PAF θεωρείται ως μεσολαβητής της αλληλεπίδρασης των λευκοκυττάρων με το ενδοθήλιο. Οι Prescott και συνεργάτες συσχέτισαν την προσκόλληση των ουδετερόφιλων στο ενεργοποιημένο από τη θρομβίνη ενδοθήλιο με τον PAF που συντίθεται και εκφράζεται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων. Χρησιμοποιώντας ειδικούς ανταγωνιστές του υποδοχέα του PAF, έδειξαν ότι ο PAF που παράχθηκε από ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα έπαιξε καθοριστικό ρόλο στην προσκόλληση των ουδετερόφιλων στο ενδοθήλιο [130]. Ο PAF που παράγεται μετά από διέγερση από τη θρομβίνη, συνεκφράζεται με την P-σελεκτίνη στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων. Έχει φανεί ότι ο PAF ενεργοποιεί τα ουδετερόφιλα μέσω αλληλεπίδρασης με τον υποδοχέα του και αυτό οδηγεί σε εισροή ιόντων ασβεστίου στα ουδετερόφιλα και σε πόλωση των κυττάρων [131]. Επίσης, κυτταροκίνες, όπως η IL-1 και ο TNF- α , προάγουν τη σύνθεση και ταυτόχρονη έκφραση στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων της E-σελεκτίνης και του PAF. Στη συνέχεια, ο PAF έχει βρεθεί ότι προάγει την εισροή ασβεστίου στα προσκολλημένα ουδετερόφιλα που ενισχύει την απάντηση αυτών στην IL-8 που

παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο PAF παίζει κρίσιμο ρόλο στη μετανάστευση των ουδετερόφιλων και των μονοκυττάρων διαμέσου του ενδοθηλίου που έχει ενεργοποιηθεί από κυτταροκίνες. Πρόσφατα, έχει βρεθεί ότι ο PAF ασκεί θετική ρύθμιση επί των ιντεγκρινών. Ο ρόλος του PAF ως μεσολαβητή της άμεσης αλληλεπίδρασης των αιμοπεταλίων με το ενδοθήλιο είναι αμφιλεγόμενος. Μελέτες in vitro έχουν δείξει ότι η εξωγενής χορήγηση PAF δεν προάγει την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο. Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί ότι ο PAF επάγει την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο παρουσία ενεργοποιημένων πολυμορφοπύρηνων κυττάρων [109].

3.7. ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ PAF ΣΤΗΝ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗ

Η φλεγμονή είναι η βαθύτερη αιτία της έναρξης και εξέλιξης της αθηρογένεσης. Η φλεγμονώδης διεργασία ξεκινά με τη διείσδυση των λευκοκυττάρων και των λιποπρωτεϊνών στον υποενδοθηλιακό χώρο της αρτηρίας όπου οι λιποπρωτεΐνες οξειδώνονται και τα μακροφάγα που προέρχονται από τα μονοκύτταρα αποκτούν το φαινότυπο των αφρωδών κυττάρων και προσελκύουν τα λεία μυϊκά κύτταρα ώστε να μετακινηθούν και να πολλαπλασιαστούν (Σχήμα 3.5). Ο PAF εμπλέκεται σαφώς σε όλα τα στάδια αυτής της διαδικασίας [132].



Σχήμα 3.5. Απεικόνιση του σχηματισμού και εξέλιξης της αθηρωματικής πλάκας. Επισημαίνεται ο ρόλος των φωσφολιποειδικών μεσολαβητών: PAF, LPA, lyso-PC. (Ewa Ninio. Phospholipid mediators in the vessel wall: involvement in atherosclerosis. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 2005, 8: 123 – 131.)

Όπως αναφέρθηκε και στην 1^η ενότητα της παρούσας εργασίας, έχουν διατυπωθεί διάφορες θεωρίες για την αθηρογένεση. Δύο από αυτές είναι: η θεωρία της «απάντησης στον τραυματισμό» και η θεωρία της «οξειδωτικής τροποποίησης». Κρίσιμα σημεία σε αυτές τις θεωρίες είναι η πήξη του αίματος (θρόμβωση), η φλεγμονή και η οξείδωση. Τα σημεία αυτά συνδέονται μεταξύ τους μέσω ενός μοριακού μηχανισμού, ο οποίος συντονίζεται από τον PAF [128]. Όπως αναφέρθηκε το 1996, ο PAF κατατάσσεται σε μια οικογένεια λιποειδών που, παρά τη διαφορετική δομή και προέλευση, μοιράζονται κοινή βιολογική δραστηριότητα [133]. Σύμφωνα με επιστημονικές ενδείξεις, ο PAF είναι ο ισχυρότερος λιποειδικός μεσολαβητής της φλεγμονής, συνεισφέρει στην αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου, παίζει σημαντικό ρόλο στη θρόμβωση, επάγει την απελευθέρωση δραστικών ριζών οξυγόνου, συνεισφέρει στην οξείδωση της LDL και παράγεται κατά τη διάρκεια της οξείδωσης της LDL.

Προτεινόμενος μηχανισμός δράσης του PAF στην αθηρογένεση

1. Έναρξη της αθηρογένεσης

Τα επίπεδα του PAF στο αίμα μπορεί να αυξηθούν σε φλεγμονώδεις καταστάσεις και κατά τη διάρκεια του οξειδωτικού στρες από την οξείδωση της LDL και την υπεροξείδωση των φωσfolιποειδών των κυτταρικών μεμβρανών. Αυτό μπορεί να είναι αποτέλεσμα 1) της έλλειψης εξωγενών ή ενδογενών αντιοξειδωτικών και 2) της μειωμένης δραστηριότητας της PAF-AH. Το 1994, βρέθηκε ότι η PAF-AH αδρανοποιείται προοδευτικά κατά την οξείδωση της LDL και έτσι χάνει την ικανότητά της να προστατεύει από τις προφλεγμονώδεις δράσεις του PAF και των λιπιδίων που μοιάζουν με τον PAF [134]. Οι Ambrosio και συνεργάτες έδειξαν ότι οι ρίζες οξυγόνου αναστέλλουν την PAF-AH στο πλάσμα [135].

2. Εξέλιξη της αθηρογένεσης

Τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν στην επιφάνειά τους μόρια P – σελεκτίνης που μεσολαβούν τη χαλαρή σύνδεση των λευκοκυττάρων με το ενδοθήλιο μέσω του PSGL – 1. Στη συνέχεια, τα λευκοκύτταρα ενεργοποιούνται από τον PAF, ο οποίος συντίθεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αυτό οδηγεί σε αλλαγή του σχήματος των λευκοκυττάρων, σε αύξηση της συγκέντρωσης του ασβεστίου και θετική ρύθμιση των πρωτεϊνών προσκόλλησης, όπως είναι οι β2 ιντεγκρίνες. Αφού τα

λευκοκύτταρα συνδεθούν ισχυρά με το ενδοθήλιο, εισέρχονται στον υποενδοθηλιακό χώρο. Η αυξημένη διαπερατότητα του δυσλειτουργικού ενδοθηλίου επιτρέπει σε μεγάλα μόρια, όπως τα οξειδωμένα σωματίδια της LDL, καθώς και σε κύτταρα του αίματος να μετακινούνται στον υποενδοθηλιακό χώρο μέσω των διακυτταρικών σχισμών του ενδοθηλίου. Τα οξειδωμένα σωματίδια της LDL προσλαμβάνονται από τους υποδοχείς ScRs των μακροφάγων, τα οποία μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. Καθώς τα αφρώδη κύτταρα συσσωρεύονται, το πάχος του έσω χιτώνα των αγγείων αυξάνει. Επιπλέον, λαμβάνει χώρα ο πολλαπλασιασμός των λείων μυϊκών κυττάρων, με αποτέλεσμα την καταστροφή της δομής των υποενδοθηλιακών ιστών. Φαίνεται ότι ο PAF εμπλέκεται και στην υπερπλασία των λείων μυϊκών κυττάρων.

Το αρχικό σήμα του PAF ενισχύεται αφού τα μακροφάγα και τα αφρώδη κύτταρα μπορούν και συνθέτουν PAF. Η συσσώρευση αφρωδών κυττάρων και λευκοκυττάρων οδηγεί στο σχηματισμό της λιπώδους γράμμωσης. Η υπερπλασία των λείων μυϊκών κυττάρων αυξάνεται σημαντικά από τον PAF, την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων και από τα οξειδωμένα σωματίδια της LDL που είναι πλούσια σε λιπίδια ανάλογα του PAF. Τέλος, καθώς η βλάβη επεκτείνεται, η αρτηρία δε μπορεί πλέον να αντισταθμίσει τη μείωση της διαμέτρου του αυλού και η ροή του αίματος αρχίζει να δυσχεραίνεται. Σε αυτό το στάδιο, ο PAF επάγει την απελευθέρωση του ενζύμου ελαστάση, που αρχίζει να αποικοδομεί την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία [128].

Όπως προκύπτει από τα δεδομένα που αναφέρθηκαν παραπάνω, ο PAF παίζει σημαντικό ρόλο στην αθηρογένεση. Επίσης, ορισμένοι κλασσικοί παράγοντες κινδύνου για αθηροσκλήρωση, όπως τα αυξημένα επίπεδα της LDL, ο σακχαρώδης διαβήτης, η συστηματική φλεγμονή και το κάπνισμα έχουν ως κοινό χαρακτηριστικό τους τα αυξημένα επίπεδα του PAF και των αναλόγων του [128]. Ακόμη, σε κλινικές μελέτες έχουν παρατηρηθεί υψηλότερα επίπεδα PAF σε δείγματα στεφανιαίας αρτηρίας από ασθενείς με σοβαρή μορφή αθηροσκλήρωσης [109]. Συνεπώς, η ανίχνευση αυξημένων επιπέδων ή/ και αυξημένης δραστηριότητας PAF στο αίμα θα μπορούσε να βοηθήσει στην αναγνώριση της φλεγμονώδους διεργασίας που χαρακτηρίζει την αθηροσκλήρωση, καθώς και στην πρόληψη της εξέλιξης αυτής της εκφυλιστικής νόσου των αρτηριών [128].

ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να εξετάσει κατά πόσο ένα τρίμηνο συμβουλευτικό πρόγραμμα για την διατροφή και τον τρόπο ζωής, μόνο του ή σε συνδυασμό με την κατανάλωση γάλακτος εμπλουτισμένου με φυτοστερόλες, ω-3, ω-6 λιπαρά οξέα και αντιοξειδωτικές βιταμίνες, μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της δραστηριότητας του ενζύμου λυσο-PAF ακετυλοτρανσφεράση, καθώς και να ερευνήσει την ύπαρξη συσχέτισης ανάμεσα στη δραστηριότητα του ενζύμου και ορισμένους ανθρωπομετρικούς και βιοχημικούς δείκτες που προδιαθέτουν σε φλεγμονή και αποτελούν παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

4.1. ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ

Ο πληθυσμός – στόχος της μελέτης αποτελείται από ασθενείς με ήπια/ μέτρια υπερχοληστερολαιμία, οι οποίοι ενδέχεται να πάσχουν από υπέρταση ή να αντιμετωπίζουν πρόβλημα αυξημένου σωματικού βάρους. Από το συγκεκριμένο πληθυσμό επιλέχθηκαν, με τυχαίο τρόπο, συνολικά 150 άνδρες και γυναίκες εκ των οποίων οι 118 πληρούσαν όλα τα κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη. Αυτά περιλαμβάνουν την ηλικία 40-60 ετών, το BMI $<31\text{kg/m}^2$, την ολική χοληστερόλη $>200\text{mg/dL}$, καμία φαρμακευτική αγωγή για την ρύθμιση των επιπέδων λιπιδίων στο πλάσμα, την απουσία σακχαρώδους διαβήτη, τη φυσιολογική λειτουργία του θυρεοειδούς αδένος και καμία άλλη μεταβολική δυσλειτουργία πέραν της δυσλιπιδαιμίας, καμία φαρμακευτική αγωγή η οποία μπορεί να επηρεάσει τον μεταβολισμό των λιποειδών και μη ύπαρξη ανάγκης για τέτοια φαρμακευτική αγωγή. Κατά την έναρξη της παρέμβασης, 10 άτομα αποχώρησαν από τη μελέτη λόγω έναρξης φαρμακευτικής αγωγής για τη ρύθμιση της δυσλιπιδαιμίας ή για άλλους λόγους. Το τελικό δείγμα (108 άτομα) διαιρέθηκε τυχαία σε 3 ομάδες, ανάλογα με το είδος της παρέμβασης που έλαβε, οι οποίες είναι:

A. Η ομάδα διατροφικής παρέμβασης πειραματικού προϊόντος (40 άτομα), η οποία θα συμμετείχε σε 7 συνεδρίες επικεντρωμένες σε θέματα διατροφικής συμπεριφοράς και σωματικής άσκησης. Επίσης, το προτεινόμενο διαιτητικό σχήμα ήταν εναρμονισμένο με τις αρχές της Μεσογειακής Διατροφής. Τέλος, χορηγήθηκε εμπλουτισμένο γάλα από το οποίο οι συμμετέχοντες σε αυτήν ομάδα έπρεπε να καταναλώνουν 3 μερίδες ημερησίως. Τα συστατικά με τα οποία έχει εμπλουτιστεί το συγκεκριμένο γάλα αναγράφονται στον πίνακα 4.1.

B. Η ομάδα διατροφικής παρέμβασης εικονικού προϊόντος (39 άτομα), η οποία θα συμμετείχε στις 7 συνεδρίες που προαναφέρθηκαν, θα ακολουθούσε το ίδιο διαιτητικό σχήμα με την προηγούμενη ομάδα, αλλά θα καταναλάωνε 3 μερίδες συμβατικού γάλακτος ημερησίως.

Γ. Η ομάδα ελέγχου (29 άτομα) στην οποία δόθηκε φυλλάδιο με γενικές συμβουλές σε θέματα διατροφής και άσκησης για την πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων, χωρίς να πραγματοποιηθεί καμία άλλη παρέμβαση.

Από τα άτομα που εντάχθηκαν στις παραπάνω ομάδες, 95 ολοκλήρωσαν την παρέμβαση που είχε διάρκεια 3 μηνών (Φεβρουάριος – Απρίλιο).

Πίνακας 4.1. Συστατικά που προστέθηκαν στο γάλα που χορηγήθηκε στην πειραματική ομάδα

Συστατικά	250mL γάλα	%RDA 250mL	100mL γάλα	%RDA 100mL	RDA's	Μονάδα
Φυτοστερόλες	0.83	-	0.33	-	-	g
PUFAs	0.8	-	0.33	-	-	g
Λινελαϊκό οξύ	0.7	6.36%	0.3	2.7%	11 (DRIs)	g
Λινολενικό οξύ	0.1	9.09%	0.03	2.27%	1.1 (DRIs)	g
Μαγνήσιο	36.6	12.2%	14.6	4.9%	300	mg
Σελήνιο	41.2	-	16.5	-	55 (DRIs)	mg
Βιτ Α	185.1	23.1%	74	9.3%	800	mg
Βιτ C	66.3	110.4%	26.5	44.2%	60	mg
Βιτ E	13.1	131.3%	5.3	52.5%	10	mg
Βιτ B6	4.2	208.4%	1.7	83.3%	2	mg
Βιτ B12	4.2	420.9%	1.7	168.4%	1	mg
Φυλλικό οξύ	166.9	83.4%	66.7	33.4%	200	mg

Κατά τη φάση διαλογής του δείγματος της μελέτης, αξιολογήθηκε το ιατρικό ιστορικό και μετρήθηκαν η αρτηριακή πίεση, το βάρος, το ύψος, η ολική χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια και η γλυκόζη, ενώ κατά την έναρξη της παρέμβασης

(baseline), καθώς και κατά την 6^η και 12^η εβδομάδα (follow-up 1 και follow-up 2, αντίστοιχα) διενεργήθηκαν οι παρακάτω εξετάσεις παρακολούθησης:

A) Προσδιορισμός αιματολογικών – βιοχημικών δεικτών

- Γενική αίματος
- Δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου: ολική χοληστερόλη, LDL-χοληστερόλη, HDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, ομοκυστεΐνη, CRP, apo-A₁, apo-B
- Δείκτες οξειδωσης/ αντιοξειδωτικής ικανότητας: ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (Total Antioxidant Capacity, TAC)
- Αντιοξειδωτικές βιταμίνες: α-τοκοφερόλη, βιταμίνη A, βιταμίνη C
 - Λοιπές βιταμίνες: φυλλικό οξύ, βιταμίνη B₆, βιταμίνη B₁₂
- Ηλεκτρολύτες: κάλιο, νάτριο
- Ηπατικά ένζυμα: γλουταμινική-οξαλοξική τρανσαμινάση ορού (SGOT), γλουταμινική-πυροσταφυλική τρανσαμινάση ορού (SGPT), ολική αλκαλική φωσφατάση (ALP)
- Ορμόνες θυρεοειδούς: T3, T4 και TSH

B) Ανθρωπομετρία και αξιολόγηση σύστασης σώματος

Μέτρηση σωματικού βάρους, ύψους, περιφερειών μέσης και ισχύου, καθώς και δερματοπτυχών. Ανάλυση Βιοηλεκτρικής Εμπέδησης (BIA)

Γ) Διαιτητική αξιολόγηση

Αξιολόγηση διαιτητικών συνηθειών και διαιτητικής πρόσληψης με ερωτηματολόγια συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων και 3ήμερες ανακλήσεις 24ώρου (2 καθημερινές και 1 ημέρα από το Σαββατοκύριακο) σε κάθε χρονική περίοδο. Τα στοιχεία της διατροφικής τους πρόσληψης αναλύθηκαν με το λογισμικό Nutritionist V diet analysis (Παράρτημα Β).

Δ) Αξιολόγηση επιπέδων σωματικής δραστηριότητας

Αξιολόγηση επιπέδων σωματικής δραστηριότητας με τη χρήση 3ήμερων ερωτηματολογίων και/ ή δραστηριογράφων/ επιταχυνσιομέτρων (Παράρτημα Γ), σε κάθε χρονική περίοδο.

Τέλος, οι διατροφικές συνεδρίες στηρίχθηκαν στην εφαρμογή δύο χαρακτηριστικών θεωριών οι οποίες προσπαθούν να ερμηνεύσουν τις συμπεριφορές υγείας με επίκεντρο το άτομο. Αυτές είναι η θεωρία του Υποδείγματος Πεποίθησης της Υγείας και το Διαθεωρητικό Υπόδειγμα/ Στάδια Αλλαγής Συμπεριφοράς (Παράρτημα Δ).

Το πρόγραμμα διατροφικής παρέμβασης διήρκεσε 12 εβδομάδες και ολοκληρώθηκε εντός του ακαδημαϊκού έτους 2007 – 2008. Ο φορέας χρηματοδότησης του προγράμματος είναι η Friesland Foods Hellas, η οποία παρείχε τόσο το εικονικό όσο και το πειραματικό προϊόν. Η έρευνα έλαβε την έγκριση της Επιτροπής Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και όλοι οι συμμετέχοντες έδωσαν γραπτή συγκατάθεση. Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε με τη συνεργασία των Εργαστηρίων Βιοχημείας και Διατροφής και Κλινικής Διαιτολογίας του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας - Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

4.2. ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΑΙΜΑ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

Διαλύματα

- HCl 1N
- Διάλυμα δεξτράνης (μέσο Mr = 510.000) 3% σε NaCl 0,15 M
- Διάλυμα αναδιάλυσης Tris (50 mM-pH 7,4)-Suc 0,25 M-DTT 1 mM: Διαλύονται 1,5125 g Tris, 21,375 g σακχαρόζης και 0,0385 g DTT σε 250 mL νερό. Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται με HCl 1 N
- Ρυθμιστικό διάλυμα λύσης των ερυθροκυττάρων (lysis buffer): Διαλύονται 4,145 g NH₄Cl, 0,5006 g KHCO₃ και 0,019 g EDTA σε 500 mL απιονισμένου νερού

Όργανα

- Φυγόκεντρος (eppendorf Centrifuge 5810R)
- Συσκευή υπερήχων (Bandelin sonopuls HD 2070, Bandelin electronic UW 2070)

Αρχή μεθόδου

Ο διαχωρισμός των λευκοκυττάρων από τα υπόλοιπα έμμορφα συστατικά του πλάσματος βασίζεται στη διαφορετική ταχύτητα καταβύθισής τους σε διάλυμα δεξτράνης, καθώς και στη μεγαλύτερη αντοχή τους σε διάλυμα συγκεκριμένης ιονικής ισχύος σε σχέση με τα ερυθροκύτταρα.

Πορεία

1. Λαμβάνονται 5 mL αίματος σε ηπαρισμένο σωλήνα
2. Προστίθενται 1,7 mL διαλύματος δεξτράνης 3% διαλυμένης σε NaCl 0,15 M
3. Το μίγμα αφήνεται για καταβύθιση σε θερμοκρασία δωματίου για 1h
4. Λαμβάνεται το υπερκείμενο και φυγοκεντρείται 500g x 10 min στους 20 °C
5. Αποχύνεται το υπερκείμενο και το ίζημα των κυττάρων αναδιαλύεται σε 5 mL lysis buffer. Παραμονή για 5 min
6. Φυγοκέντρωση στα 300g x 10 min στους 20 °C
7. Το υπερκείμενο απορρίπτεται και το ίζημα των κυττάρων αναδιασπείρεται σε 1mL buffer αναδιάλυσης.
8. Ρήξη της μεμβράνης των λευκοκυττάρων με υπερήχους (4x10 sec)
9. Φυγοκέντρωση στα 500g x 10 min στους 4°C
10. Παραλαβή του υπερκείμενου ομογενοποιημένου και διαμοιρασμός του σε 5 eppendorfs (200 μ L σε κάθε eppendorf)
11. Φύλαξη στους -80°C

4.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ BRADFORD

[136]

Διαλύματα

- Διάλυμα βόειου αλβουμίνης ορού (BSA) σε νερό με συγκέντρωση 1 μ g/ μ L
- Αντιδραστήριο Bradford, το οποίο είναι διάλυμα Coomassie Brilliant Blue G 0,5 mg/mL και φωσφορικού οξέος 42,5% σε μεθανόλη 25%

Όργανα

- Φωτόμετρο (Pharmacia Biotech Novaspec II)

Αρχή μεθόδου

Η χρωστική που περιέχεται στο αντιδραστήριο Bradford συμπλέκεται με τις πρωτεΐνες προκαλώντας μια μετατόπιση της μέγιστης απορρόφησης της χρωστικής από 465 σε 595 nm. Η απορρόφηση είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης. Η γραμμικότητα της ανάλυσης κυμαίνεται από 1 μg σε 10 μg πρωτεΐνης, ως προς BSA.

Πορεία

Από το πρότυπο διάλυμα BSA 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, παραλαμβάνονται 2, 4, 6, 8 και 10 μL και αραιώνονται στα 800 μL με απιονισμένο νερό. Παρασκευάζεται διάλυμα του άγνωστου δείγματος σε νερό ώστε η τελική του συγκέντρωση να βρίσκεται στην περιοχή από 1-10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Τα διαλύματα των προτύπων και των αγνώστων δειγμάτων πρέπει να έχουν τελικό όγκο 1 mL. Προστίθενται 200 μL αντιδραστηρίου Bradford. Προσδιορίζεται η απορρόφηση των προτύπων και των δειγμάτων μετά από 5 min. Το σύμπλοκο πρωτεΐνης χρωστικής είναι σταθερό για 60 min. Ο υπολογισμός της περιεκτικότητας του δείγματος σε πρωτεΐνη γίνεται με βάση την πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

4.4. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ 1- Ο- ΑΛΚΥΛΟ- 2- ΛΥΣΟ- SN- ΓΛΥΚΕΡΟ -3 -ΦΩΣΦΟΡΥΛΟΧΟΛΙΝΗ: ΑΚΕΤΥΛΟ- COA ΑΚΕΤΥΛΟ - ΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ (LYSO-PAF AT)

Όργανα

Πιπέτες 1-10, 10-100, 100-1000 μL

Φυγόκεντρος (eppendorf Centrifuge 5810 R)

Ανακινούμενο υδρόλουτρο

Διαλύματα

- Διάλυμα φύλαξης (stock) λυσο-PAF 2,07 mM: Διαλύονται 10 mg λυσο-PAF σε 4 mL μεθανόλης. Το διάλυμα φυλάσσεται σε βιδωτό σωλήνα στους -20°C

- Διάλυμα ακετυλο-CoA 20 mM σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (50mM-pH 7,4): Διαλύονται 25 mg σε 1540 mL ρυθμιστικού διαλύματος
- Διάλυμα BSA 10 mg/mL: Διαλύονται 100 mg BSA ελεύθερης λιπαρών οξέων (Sigma) σε 10 mL ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCl (50 mM-pH 7,4)
- Διάλυμα λυσο-PAF σε BSA (10mg/mL) συγκέντρωσης 800 μ M (διάλυμα εργασίας): Φέρονται 40 μ L διαλύματος λυσο-PAF 2,5 mg/mL σε βιδωτό σωλήνα, εξατμίζεται ο διαλύτης σε ρεύμα αζώτου και το ίζημα αναδιαλύεται σε 259 μ L BSA 10 mg/mL. Παρασκευάζεται καινούριο διάλυμα κάθε φορά. Προσθήκη 5 μ L από το διάλυμα αυτό στον ενζυμικό προσδιορισμό δίνουν τελική συγκέντρωση λυσο-PAF 20 μ M και τελική συγκέντρωση BSA 0,25 mg/mL.
- Ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (50 mM-pH 7,4): Διαλύονται 0,605 g Tris σε νερό, ρυθμίζεται το pH με HCl 1 M στο 7,4 και αραιώνεται το διάλυμα στα 100 mL νερό.
- Διάλυμα αναδιάλυσης Tris (50 mM-pH 7,4)-Suc 0,25 M-DTT 1 mM: Διαλύονται 0,605 g Tris, 8,55 g σακχαρόζης και 0,0154 g DTT σε 100 mL νερό. Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται με HCl 1 N

Αρχή μεθόδου

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της lyso-PAF AT βασίζεται στη μέτρηση του παραγόμενου PAF μετά την επώαση του ενζυμικού παρασκευάσματος με λυσο-PAF και ακετυλο-CoA, παρουσία BSA. Ο παραγόμενος PAF εκχυλίζεται από το μίγμα της αντίδρασης με όξινη εκχύλιση Bligh-Dyer, διαχωρίζεται από τα υπόλοιπα συστατικά με TLC και προσδιορίζεται με βιολογικό πείραμα.

4.4.1 ENZYMIKH ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ

Πορεία

- Σε σωλήνα πολυπροπυλενίου φέρονται το ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (50 mM-pH 7,4), 5 μ L διαλύματος εργασίας λυσο-PAF (τελική συγκέντρωση 20 μ M), 2 μ L διαλύματος ακετυλο-CoA (τελική συγκέντρωση 200 μ M) και το ρυθμιστικό διάλυμα αναδιάλυσης. Επειδή η προστιθέμενη ποσότητα του ενζυμικού παρασκευάσματος, το οποίο είναι διαλυμένο σε ρυθμιστικό διάλυμα αναδιάλυσης, μπορεί να κυμαίνεται από 10-50 μ L προστίθεται κατάλληλη

ποσότητα ρυθμιστικού διαλύματος ώστε όλοι οι προσδιορισμοί να περιέχουν 50 μL ρυθμιστικού διαλύματος αναδιάλυσης. Ο τελικός όγκος του μίγματος επώασης είναι 200 μL

- Προεπώαση για 5 min στους 37 °C σε θερμοστατούμενο υδατόλουτρο
- Η αντίδραση ξεκινά με την προσθήκη του ενζυμικού παρασκευάσματος
- Η επώαση της αντίδρασης γίνεται σε θερμοστατούμενο υδατόλουτρο υπό ανάδευση στους 37 °C για 10 min
- Μετά το τέλος της αντίδρασης προστίθενται 300 μL παγωμένου H_2O και 1111 μL μίγματος $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (2 % AcOH)
- Μετά από έντονη ανάδευση φυγοκεντρείται το μείγμα για 5' στις 2000 στροφές ώστε να διαχωριστούν οι δύο φάσεις και παραλαμβάνεται η χλωροφορμική φάση.
- Η υδατική φάση εκπλένεται με άλλα 500 μL CHCl_3 και οι χλωροφορμικές φάσεις ενώνονται και φυλλάσσονται

4.4.2 ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ PAF ΜΕ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ (TLC)

Αρχή μεθόδου

Χρωματογραφία ή χρωματογραφική ανάλυση είναι η μέθοδος διαχωρισμού των συστατικών ενός μείγματος λόγω της διαφορετικής ταχύτητας μετακίνησης έκαστου συστατικού επί μιας στατικής φάσης υπό την επίδραση μιας κινητής φάσης η οποία μετακινεί αυτά τα συστατικά. Η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (thin layer chromatography – TLC) είναι μια τεχνική αυτής της μεθόδου [137].

Η TLC ανήκει στις τεχνικές της χρωματογραφίας κατανομής κατά τις οποίες ο διαχωρισμός των ενώσεων είναι αποτέλεσμα της κατανομής τους σε δύο μη μιγνύμενους διαλύτες. Ένας διαλύτης, η στατική φάση, πλένεται διαδοχικά με μια κινούμενη φάση με τέτοιο τρόπο ώστε οι διαλυμένες ουσίες να κατανέμονται ή να χωρίζονται σε διαφορετικές περιοχές με την διαδοχή των διαλυτών, ανάλογα τον συντελεστή κατανομή τους. Στην TLC το μίγμα των ουσιών τοποθετείται σε διάλυμα κατά μήκος μίας γραμμής βάσης πάνω σε μία λεπτή στιβάδα κοκκοποιημένου ξηρού υλικού και ένα κατάλληλο μίγμα διαλυτών αφήνεται να προχωρήσει και να περάσει από την κηλίδα ανοδικά λόγω τριχοειδικών φαινομένων. Η απόσταση που διατρέχει

κάθε ουσία από την αρχή ή τη γραμμή βάσης ως προς το μέτωπο του διαλύτη ορίζεται σαν Rf. Η ανίχνευση των κηλίδων πάνω στην πλάκα μπορεί να γίνει οπτικά, φθορισμομετρικά ή με διάφορες χρωμοφόρες δοκιμές που γίνονται με ψεκασμό της πλάκας με ανάλογα αντιδραστήρια [138].

Πορεία

- Η χλωροφορμική φάση, που ελήφθη από την ενζυμική δοκιμασία, εξατμίζεται μέχρι ξηρού. Στη συνέχεια, αναδιαλύεται με 100 μL χλωροφορμίου – μεθανόλης (C:M 1:1) και φέρεται σε πλάκα TLC επιστρωμένη με Silica gel G
- Η πλάκα αναπτύσσεται σε προεξισορροπημένο θάλαμο με σύστημα ανάπτυξης χλωροφόρμιο:μεθανόλη:οξικό οξύ:νερό (100:57:16:8, V/V/V/V)
- Μετά το τέλος της ανάπτυξης, εξατμίζεται ο διαλύτης και εμφανίζεται η πλάκα σε ατμούς I_2
- Εντοπίζεται η περιοχή του PAF (μεταξύ σφιγγομυελίνης και λυσο-φωσφατιδυλοχολίνης) και ξύνεται με γυάλινη αντικειμενοφόρο πλάκα

Standard		Δείγμα
PE		
PC		
SM		
lysoPC		

- Το ξύσμα, που ελήφθη από την TLC, φέρεται σε γυάλινο σωλήνα όπου προστίθενται 2 mL μείγματος χλωροφορμίου:μεθανόλης:νερού (1:2:0,8), ακολουθεί παραμονή για 15 min, γίνεται φυγοκέντρηση στις 2000 στροφές για 10 min και παραλαμβάνεται το διάλυμα, απαλλαγμένο από τη silica gel. Η πορεία αυτή πραγματοποιείται, συνολικά, δύο φορές.
- Κατόπιν, προστίθενται 1 mL C και 1 mL W ώστε το σύστημα να γίνει διφασικό. Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 2 – 3 min στις 2000 στροφές και παραλαμβάνεται η χλωροφορμική φάση που περιέχει τον PAF. Στην υδατική φάση, προστίθενται 0,5 mL χλωροφορμίου, γίνεται φυγοκέντρηση για 2 – 3 min στις 2000 στροφές,

παραλαμβάνεται η χλωροφορμική φάση, ενώνεται με την προηγούμενη και οι ενωμένες χλωροφορμικές φάσεις φυλάσσονται στους -4°C .

4.4.3 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΠΛΥΜΕΝΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΚΟΥΝΕΛΙΟΥ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΡΑΦ ΜΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ ΠΛΥΜΕΝΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΚΟΥΝΕΛΙΟΥ [140]

Διαλύματα

- Αντιπηκτικό διάλυμα ACD: Σε 1000 mL νερού διαλύονται 13,65 g κιτρικού οξέος, 25 g κιτρικού νατρίου και 20 g δεξτρόζης
- Διάλυμα 10x Tyrodes stock: Σε 1 L νερού διαλύονται 80 g NaCl, 1,95 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ και 10 g γλυκόζης
- Διάλυμα 100x CaCl_2 stock: Σε 100 mL νερού διαλύονται 1,911 g CaCl_2
- Διάλυμα 0,2 M EGTA stock: Ποσότητα 0,76 g EGTA διαλύεται σε 10 mL νερό. Ρυθμίζεται το pH του διαλύματος στο 7,5 με NaOH 5 M
- Φυσιολογικός ορός: 0,9 g NaCl σε 1 L απιονισμένο νερό
- Διάλυμα ζελατίνης 10% σε νερό
- Διαλύματα Tyrodes-Gelatin pH 6,5 (Tg pH 6,5), Tyrodes-Gelatin-EGTA pH 6,5 (Tg EGTA pH 6,5): Σε 80 mL νερό προστίθενται 10 mL Tyrodes 10x stock. Χρησιμοποιώντας μαγνητικό αναδευτήρα κατά τη διάρκεια της προσθήκης, προστίθενται 2,5 mL ζελατίνης 10% (λιωμένης στο σημείο βρασμού). Κατόπιν, προστίθενται 5 mL διαλύματος NaHCO_3 (0,203 g NaHCO_3 σε 10 mL νερό) που πρέπει να χρησιμοποιείται αμέσως μετά την παρασκευή του. Συμπληρώνεται ο όγκος στα 100 mL με νερό και χωρίζεται σε δύο τμήματα των 50 mL. Στο ένα από τα δύο προστίθενται 25 μL EGTA 0,2 M. Ρυθμίζεται το pH και των δύο κλασμάτων στο 6,46 με HCl 1 N. Αμέσως γεμίζονται γυάλινοι σωλήνες των 16 mL μέχρι επάνω (χωρίς φυσαλίδες αέρα) και σκεπάζονται με parafilm
- Διάλυμα Tyrodes-ασβεστίου pH 7,2 (Tg-Ca pH 7,2): Σε 5 mL Tyrodes 10x προστίθενται 40 mL νερού. Χρησιμοποιώντας μαγνητικό αναδευτήρα προστίθενται 1,25 mL διαλύματος ζελατίνης 10%. Στη συνέχεια προστίθεται 0,5 mL διαλύματος CaCl_2 100x. Κατόπιν προστίθενται 2,5 mL διαλύματος NaHCO_3 (παρασκευάζεται όπως παραπάνω). Συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 50 mL με

νερό και ρυθμίζεται το pH στο 7,16 με HCl 1 N. Διατηρείται στους 37 °C σε ερμητικά κλειστούς σωλήνες

Όργανα - Αναλώσιμα

- Πλαστικοί σωλήνες των 50 mL
- Πλαστικά σιφώνια των 20 mL
- Φυγόκεντρος (Centrifuge 5810 R)
- Συσσωρευματομέτρο, Chrono-log
- pHμετρο
- Φωτόμετρο (Pharmacia Biotech Novaspec II)
- Υδατόλουτρο

Πορεία

- Σε πλαστικούς σωλήνες των 50 mL προστίθενται 7 mL ACD
- Συλλέγεται αίμα κουνελιού από την κεντρική αρτηρία του αυτιού του κουνελιού, ο σωλήνας γεμίζεται με αίμα μέχρι τα 50 mL και αναμιγνύεται ήπια με αναστροφή
- Φυγοκέντρωση για 15 min στους 24 °C στα 500g (~ 1800 στροφές ανά λεπτό, rpm) (1^η φυγοκέντρωση). Κατά τη διάρκεια της φυγοκέντρωσης, μεταφέρουμε 2 mL Ficoll-Paque σε πλαστικούς σωλήνες των 14 mL
- Μετά το τέλος της φυγοκέντρωσης αναρροφώνται τα 2/3 του υπερκείμενου πλάσματος (πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια, PRP) με πλαστικό σιφώνιο των 20 mL και μεταφέρονται σε άλλο πλαστικό σωλήνα των 50 mL
- Τοποθετείται το πλάσμα πάνω στο στρώμα του Ficoll, με μέγιστο ποσοστό πλάσματος τα 9 mL για κάθε 2 mL Ficoll, χρησιμοποιώντας πλαστικά σιφώνια. Μεταφέρονται ίσοι όγκοι πλάσματος σε 2 ή 3 σωλήνες ανάλογα με το συνολικό όγκο του πλάσματος
- Σκεπάζουμε με parafilm και οι σωλήνες φυγοκεντρούνται για 20 min στους 24 °C στα 750g (2200 rpm) (2^η φυγοκέντρωση)
- Μετά την φυγοκέντρωση τα αιμοπετάλια εμφανίζονται σαν ταινία μεταξύ της στιβάδας του πλάσματος και του στρώματος του Ficoll. Το υπερκείμενο πλάσμα (φτωχό σε αιμοπετάλια) αναρροφάται και απορρίπτεται με πλαστική πιπέτα των

20 mL. Το στρώμα των αιμοπεταλίων διαπερνάται με πλαστική ή σιλικοναρισμένη πιπέτα Pausteur, αναρροφάται το Ficoll και απορρίπτεται

- Αν υπάρχουν 2 σωλήνες μοιράζονται 14 mL Tg EGTA pH 6,5 σε κάθε σωλήνα. Αν έχουμε 3, 4 σωλήνες μοιράζονται 15,16 mL Tg EGTA pH 6,5 σε κάθε σωλήνα. Το διάλυμα αφήνεται να τρέξει ήπια στα τοιχώματα του κάθε σωλήνα και αναμιγνύουμε ήπια μέχρι να ομογενοποιηθεί το εναιώρημα των αιμοπεταλίων. Αποχύνεται το αιώρημα σε άλλο πλαστικό σωλήνα των 14 mL, αφήνοντας έτσι τα ερυθρά αιμοσφαίρια στον αρχικό σωλήνα. Το περιεχόμενο του κάθε σωλήνα μεταφέρεται σε 2 mL Ficoll (8 mL αιμοπεταλίων σε κάθε σωλήνα) και καλύπτεται με parafilm
- Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 15 min στους 24 °C στα 2400 rpm (3^η φυγοκέντρηση). Το υπερκείμενο ρυθμιστικό διάλυμα αναρροφάται και απορρίπτεται. Διαπερνάται το στρώμα αιμοπεταλίων με πλαστική πιπέτα, αναρροφάται το Ficoll και απορρίπτεται. Στην συνέχεια προστίθενται ίσοι όγκοι (~ 8 mL) Tg pH 6,5 σε κάθε σωλήνα αφήνοντας το διάλυμα να τρέξει στα τοιχώματα του σωλήνα και χωρίς ανάμιξη μεταφέρεται το εναιώρημα σε καθαρό πλαστικό σωλήνα των 14 mL και καλύπτεται με parafilm.
- Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 15 min στους 24 °C στα 2350 rpm (4^η φυγοκέντρηση). Το υπερκείμενο ρυθμιστικό διάλυμα αναρροφάται και απορρίπτεται μέχρι και την τελευταία σταγόνα. Προστίθενται 0,8 mL Tg pH 6,5 σε κάθε συσσωμάτωμα αιμοπεταλίων αναδιασπείροντας τα κύτταρα με προσοχή. Το περιεχόμενο των σωλήνων ενώνεται με πλαστικό σωλήνα
- Ετοιμάζεται εναιώρημα αιμοπεταλίων σε Tg pH 6,5 ώστε να περιέχει $1,25 \times 10^8$ κύτταρα/mL. Από το πυκνό διάλυμα αιμοπεταλίων λαμβάνονται 10 μ L τα οποία αραιώνονται με 990 μ L Tg pH 6,5 και το διάλυμα φωτομετρείται στα 530 nm. Ο αριθμός των κυττάρων στα 10 μ L δίνεται από τον τύπο : $\text{κύτταρα}/10 \mu\text{L} = A \times 1,25 \cdot 10^8$ όπου A είναι η απορρόφηση. Με βάση πρότυπη καμπύλη της οπτικής απορρόφησης συναρτήσει του αριθμού αιμοπεταλίων υπολογίζεται ο αριθμός αιμοπεταλίων και ετοιμάζεται το επιθυμητό εναιώρημα αιμοπεταλίων
- Σε γυάλινες κυψελίδες συσσωρευματομέτρου προστίθενται 50 μ L από το εναιώρημα αιμοπεταλίων και 200 μ L Tg Ca pH 7,2 καθώς και μικρός μαγνητικός αναδευτήρας που περιστρέφεται με 1200 rpm. Επωάζονται για 15 min σε υδρόλουτρο 37 °C. Ρυθμίζεται το 100 της κλίμακας του συσσωρευματομέτρου με

Tg Ca pH 7,2 και το 0 με το εναιώρημα αιμοπεταλίων. Στην συνέχεια η κυψελίδα με το εναιώρημα των αιμοπεταλίων τοποθετείται στην ειδική θερμοστατούμενη κυψελίδα του συσσωρευματομέτρου και προστίθενται διάφορες ποσότητες PAF ή του εκάστοτε δείγματος το οποίο είναι διαλυτοποιημένο σε BSA 2,5 mg/mL και καταγράφεται η καμπύλη συσσώρευσης, ως αύξηση της διαπερατότητας. Η αύξηση της διαπερατότητας στηρίζεται στο γεγονός ότι κατά την συσσώρευση των αιμοπεταλίων διαυγάζεται το περιεχόμενο της κυψελίδας μέσα από την οποία διέρχεται η δέσμη ακτινοβολίας. Το ύψος και η μορφή της καμπύλης είναι ανάλογα με την συσσώρευση, το δε φαινόμενο της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων εξαρτάται από τη συγκέντρωση του συσσωρευτικού παράγοντα.

- Με βάση γνωστής συγκέντρωσης διαλύματα συνθετικού PAF σχεδιάζεται η καμπύλη της επί τοις εκατό συσσώρευσης συναρτήσει της συγκέντρωσης του PAF. Ως 100 % συσσώρευση ορίζεται η μέγιστη αντιστρεπτή συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Βάσει της πρότυπης αυτής καμπύλης και το ύψος της καμπύλης συσσώρευσης που προκαλεί το εξεταζόμενο δείγμα, γίνεται ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του δείγματος, ως συγκέντρωση ανάλογη της συγκέντρωσης του PAF στην κυψελίδα του συσσωρευματομέτρου (τελική συγκέντρωση) που έχει την ίδια βιολογική δραστικότητα. Εξετάζεται επίσης, αν η μορφή της καμπύλης συσσώρευσης που δίνει το δείγμα ομοιάζει με εκείνη της καμπύλης συσσώρευσης του PAF (γρήγορη συσσώρευση με αντιστρεπτή μορφή σε μικρές συγκεντρώσεις και μη αντιστρεπτή σε μεγάλες συγκεντρώσεις).

4.5. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Ο έλεγχος κανονικότητας της κατανομής τόσο της ειδικής δραστικότητας της λυσο-PAF ακετυλοτρανσφεράσης όσο και των διαφορών αυτής μεταξύ των 3 χρονικών περιόδων της παρέμβασης πραγματοποιήθηκε με τη δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσες τιμές $\pm$ τυπική απόκλιση. Οι ποιοτικές-κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτες ή σχετικές (%) συχνότητες. Οι συγκρίσεις μεταξύ των 3 ομάδων παρέμβασης ως προς τα βιοχημικά, ανθρωπομετρικά και διατροφικά χαρακτηριστικά, έγιναν με την απλή μη συσχετισμένη ανάλυση διακύμανσης. Οι συσχετίσεις μεταξύ της ειδικής δραστικότητας της λυσο-PAF AT και συνεχών μεταβλητών έγιναν με τη χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson r. Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση εφαρμόστηκε

για να ελεγχθεί η ύπαρξη γραμμικής συσχέτισης ανάμεσα στην ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT και διάφορους ανθρωπομετρικούς και βιοχημικούς δείκτες, ελέγχοντας για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες. Για τη μελέτη της επίδρασης του χρόνου της παρέμβασης, καθώς και του είδους της παρέμβασης στην ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT, χρησιμοποιήθηκε η απλή συσχετισμένη ανάλυση διακύμανσης για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις. Εξαιτίας των πολλαπλών συγκρίσεων χρησιμοποιήθηκε η διόρθωση κατά Bonferroni, προκειμένου να γίνει διόρθωση του σφάλματος τύπου I ώστε να προσεγγίζει το επίπεδο σημαντικότητας που έχει οριστεί για τους στατιστικούς ελέγχους αυτής της μελέτης. Οι έλεγχοι μεταξύ των κατηγορικών μεταβλητών έγιναν με τη χρήση του κριτηρίου χ^2 . Όλες οι αναφερόμενες τιμές πιθανοτήτων (p) βασίζονται σε αμφίπλευρους ελέγχους και συγκρίνονται στο επίπεδο σημαντικότητας του 5%. Για όλους τους στατιστικούς υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS έκδοση 13.0 (Statistical Package for social sciences, SPSS Inc., Chicago, Illinois, U.S.A.).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι συμμετέχοντες στους οποίους μετρήθηκε η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT και στις 3 χρονικές φάσεις της παρέμβασης ήταν συνολικά 73. Από τη στατιστική επεξεργασία των τιμών των εξεταζόμενων μεταβλητών, αφαιρέθηκαν εκείνοι οι συμμετέχοντες για τους οποίους ελήφθησαν αναξιόπιστες ή ακραίες τιμές ειδικής δραστηριότητας του ενζύμου λυσο-PAF AT, για τη χρονική περίοδο κατά την έναρξη της παρέμβασης (baseline). Επομένως, προχωρήσαμε στην ανάλυση με 62 συμμετέχοντες, η κατανομή των οποίων ως προς το φύλο και το είδος της παρέμβασης παρουσιάζεται στον πίνακα 5.1.

Πίνακας 5.1. Κατανομή του δείγματος όπου μετρήθηκε η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT ως προς το φύλο και το είδος της παρέμβασης που έλαβε

	ΦΥΛΟ		ΣΥΝΟΛΟ
	Άνδρες	Γυναίκες	
ΕΙΔΟΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ			
Έλεγχος	9 (29%)	9 (29%)	18 (29%)
Συμβατικό γάλα	12 (39%)	11 (35%)	23 (37%)
Εμπλουτισμένο γάλα	10 (32%)	11 (35%)	21 (34%)
ΣΥΝΟΛΟ	31 (50%)	31 (50%)	62 (100%)

5.1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ

Τα χαρακτηριστικά που μετρήθηκαν ή αξιολογήθηκαν στο παραπάνω δείγμα και συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση διακρίνονται σε ανθρωπομετρικά, βιοχημικά και διατροφικά.

Πίνακας 5.2. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά στο συνολικό δείγμα και ανά φύλο κατά την έναρξη της παρέμβασης

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ ±ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ (μέγεθος δείγματος)			P
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες	
Ηλικία (έτη)	49,6 ± 8,2 (N= 62)	51,8 ± 8,5 (N= 31)	47,3 ± 7,3 (N= 31)	0,029
Σωματικό βάρος (Kg)	76,9 ± 14,2 (N = 62)	67,7 ± 8,6 (N = 31)	85,6 ± 12,9 (N = 31)	< 0,001
BMI (Kg/ m²)	27,8 ± 3,8 (N = 62)	27 ± 3,7 (N = 31)	28,6 ± 3,7 (N = 31)	0,103
Περιφέρεια μέσης (cm)	90,5 ± 11,6 (N = 62)	83,5 ± 9,1 (N = 31)	97,2 ± 9,6 (N = 31)	< 0,001
Περιφέρεια ισχύων (cm)	103,2 ± 6,5 (N = 62)	102,7 ± 6,4 (N = 31)	103,7 ± 6,5 (N = 31)	0,570
Ποσοστό σωματικού λίπους (%)	38,9 ± 6,3 (N = 60)	41,9 ± 6,6 (N = 30)	36,1 ± 4,6 (N = 30)	< 0,001
ΣΑΠ (mmHg)	127,7 ± 19,9 (N = 62)	119,6 ± 23,4 (N = 31)	135,4 ± 12,1 (N = 31)	0,002
ΔΑΠ (mmHg)	81,7 ± 10,5 (N = 62)	78,2 ± 9,6 (N = 31)	85 ± 10,4 (N = 31)	0,009

Πίνακας 5.3. Βιοχημικά χαρακτηριστικά στο συνολικό δείγμα και ανά φύλο κατά την έναρξη της παρέμβασης

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ ±ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ (μέγεθος δείγματος)			P
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες	
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	251,4 ± 34,2 (N= 62)	252,0 ± 34,8 (N= 31)	250,7 ± 34,2 (N= 31)	0,884
LDL χοληστερόλη (mg/dL)	172,2 ± 31,9 (N= 62)	168,0 ± 34,7 (N= 31)	176,2 ± 29,1 (N= 31)	0,318
HDL χοληστερόλη (mg/dL)	53,1 ± 15,1 (N= 62)	59,9 ± 14,3 (N= 31)	46,8 ± 13,1 (N= 31)	< 0,001
Apo-A1 (mg/dL)	168 ± 28,7 (N= 62)	179 ± 23,6 (N= 31)	157,7 ± 29,5 (N= 31)	0,003
Apo-B (mg/dL)	118,6 ± 22,1 (N= 62)	112,5 ± 23,2 (N= 31)	124,2 ± 19,6 (N= 31)	0,037
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	129 ± 44,8 (N= 62)	120,3 ± 44,8 (N= 31)	137,1 ± 43,9 (N= 31)	0,142
Γλυκόζη (mg/dL)	97,9 ± 9,7 (N= 62)	97,9 ± 11,3 (N= 31)	98 ± 8,1 (N= 31)	0,969
Ινσουλίνη (μUI/mL)	10,9 ± 4,7 (N= 62)	10 ± 4,3 (N= 31)	11,8 ± 4,9 (N= 31)	0,138
Καροτενοειδή (mg/ dL)	38,0 ± 21,0 (N= 62)	43,2 ± 21,1 (N= 31)	33,2 ± 20,0 (N= 31)	0,062
Βιταμίνη B12 (pg/mL)	416,6 ± 129,6 (N= 62)	436,9 ± 123,0 (N= 31)	397,5 ± 134,5 (N= 31)	0,232
Φυλλικό οξύ (ng/ mL)	8,6 ± 3,3 (N= 62)	10,0 ± 3,5 (N= 31)	7,3 ± 2,6 (N= 31)	0,001
Ομοκυστεΐνη (μmol/L)	11,9 ± 3,4 (N= 62)	9,9 ± 1,8 (N= 31)	13,7 ± 3,5 (N= 31)	< 0,001

(συνέχεια πίνακα 5.3)

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ ±ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ (μέγεθος δείγματος)			P
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες	
CRP (mg/dL)	2,7 ± 2,4 (N= 62)	2,6 ± 2,4 (N= 31)	2,8 ± 2,4 (N= 31)	0,742
TBARS (nmol/ 100 µL)	0,146 ± 0,126 (N= 50)	0,108 ± 0,028 (N= 24)	0,182 ± 0,166 (N= 26)	0,035
Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα (TAC) (nmol/ µL)	50,7 ± 3,7 (N= 60)	51 ± 3,4 (N= 30)	50,4 ± 4,0 (N= 30)	0,524
LpPLA2 (nmol/min/mL)	28,4 ± 7,7 (N= 59)	24,9 ± 6,6 (N= 30)	31,8 ± 7,2 (N= 30)	< 0,001
Ειδική δραστικότητα λυσο - PAF AT (nmol PAF/ min/ mg)	4,5 ± 3,3 (N= 62)	5,4 ± 4,0 (N= 31)	3,6 ± 2,3 (N= 31)	0,040

Από τους πίνακες 5.2 και 5.3 προκύπτει ότι οι άνδρες διαφέρουν σημαντικά από τις γυναίκες ως προς την ηλικία, το σωματικό βάρος, την περιφέρεια μέσης, το ποσοστό σωματικού λίπους, τη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, την HDL χοληστερόλη, τις απολιποπρωτεΐνες A1 και B, τη συγκέντρωση φυλλικού οξέος και ομοκυστεΐνης στο πλάσμα, το οξειδωτικό στρες και τη δραστηριότητα των ενζύμων LpPLA2 και λυσο-PAF ακετυλοτρανσφεράση. Αναλυτικότερα, οι άνδρες είναι, κατά μέσο όρο, νεότεροι από τις γυναίκες και χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερο σωματικό βάρος, μεγαλύτερη περιφέρεια μέσης, χαμηλότερο ποσοστό σωματικού λίπους, υψηλότερη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, χαμηλότερη HDL χοληστερόλη και απολιποπρωτεΐνη A1, υψηλότερη απολιποπρωτεΐνη B, χαμηλότερη συγκέντρωση φυλλικού οξέος, αλλά υψηλότερη συγκέντρωση ομοκυστεΐνης στο

πλάσμα, μεγαλύτερο οξειδωτικό στρες, υψηλότερη δραστηριότητα του ενζύμου LpPLA2, αλλά χαμηλότερη ειδική δραστηριότητα του ενζύμου λυσο-PAF AT.

Πίνακας 5.4. Διατροφικά χαρακτηριστικά συνολικού δείγματος κατά την έναρξη της παρέμβασης

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ ± ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
Ενέργεια (kcal)	1577,3 ± 500,8
Πρωτεΐνη (g)	66,9 ± 23,8
Υδατάνθρακες (g)	159,1 ± 64,7
Λίπος (g)	72,9 ± 28,3
Κορεσμένα λ.ο. (g)	22,9 ± 11,9
Μονοακόρεστα λ.ο. (g)	35,2 ± 14,2
Ελαϊκό οξύ (g)	32 ± 13,9
Πολυακόρεστα λ.ο. (g)	9,5 ± 4,7
Λινελαϊκό οξύ (g)	7,7 ± 4,4
Λινολενικό οξύ (g)	0,7 ± 0,5
EPA (g)	0,05 ± 0,2
DHA (g)	0,09 ± 0,2
Χοληστερόλη (mg)	200,6 ± 103,8
Αλκοόλ (g)	7,6 ± 17,5
Βιταμίνη Α (IU)	6954,1 ± 7382,7
β-καροτένιο (μg)	495,6 ± 702,9
Βιταμίνη C (mg)	108 ± 89,1
Βιταμίνη D (IU)	44,5 ± 47,1
Βιταμίνη Ε (IU)	0,06 ± 0,3
α-τοκοφερόλη (mg)	3,9 ± 2,3
Θειαμίνη (mg)	1,1 ± 0,6
Ριβοφλαβίνη (mg)	1,4 ± 0,8
Νιασίνη (mg)	17,2 ± 8,4
Βιταμίνη Β6 (mg)	1,4 ± 0,7
Βιταμίνη Β12 (mg)	3,4 ± 2,9

(συνέχεια πίνακα 5.4)

METABΛΗΤΕΣ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ ± ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
Φυλλικό οξύ (μg)	268,6 ± 142
Na (mg)	1613,8 ± 839,5
K (mg)	2296,1 ± 690,8
Ca (mg)	817,3 ± 402,2
P (mg)	1158,2 ± 442,2
Mg (mg)	263,1 ± 103,8
Fe (mg)	10,6 ± 5,6
Zn (mg)	8,8 ± 5,1
Se (mg)	0,1 ± 0,2
Φυτικές ίνες (g)	16,2 ± 8,5
Διαλυτές φυτικές ίνες (g)	0,4 ± 0,3
Αδιάλυτες φυτικές ίνες (g)	3,2 ± 3,1
Σάκχαρα (g)	54,6 ± 32,7
Ισοδύναμα ψωμιού	5,6 ± 2,8
Ισοδύναμα φρούτου	1,5 ± 1,7
Ισοδύναμα άλλων υδατανθράκων	1,5 ± 1,9
Ισοδύναμα γάλακτος	1,4 ± 1,1
Ισοδύναμα αποβουτυρωμένου γάλακτος	0,04 ± 0,2
Ισοδύναμα γάλακτος χαμηλού σε λιπαρά	0,4 ± 0,7
Ισοδύναμα πλήρους γάλακτος	0,9 ± 0,9
Ισοδύναμα λαχανικών	1,7 ± 1,3
Ισοδύναμα κρέατος	4,5 ± 2,8
Ισοδύναμα κρέατος χαμηλού λίπους	1,6 ± 1,8
Ισοδύναμα κρέατος μέτριου λίπους	1,4 ± 2
Ισοδύναμα κρέατος υψηλού λίπους	0,7 ± 1,2
Ισοδύναμα λίπους	8,9 ± 5

Πίνακας 5.6. Διαφορές μεταξύ των ομάδων παρέμβασης ως προς ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά, κατά την έναρξη της παρέμβασης

Μεταβλητές	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα συμβατικού γάλακτος	Ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος	P
Ηλικία (έτη)	48,9 ± 8,6 19	49,0 ± 8,1 21	50,7 ± 8,1 22	0,744
Σωματικό βάρος (kg)	75,6 ± 15,6 19	74,6 ± 11,7 21	80,1 ± 14,9 22	0,412
BMI (kg/m ²)	27,4 ± 3,8 19	27,6 ± 3,9 21	28,4 ± 3,7 22	0,675
ΣΑΠ (mmHg)	129,5 ± 13,2 19	132,1 ± 14,0 21	126,6 ± 14,1 22	0,430
ΔΑΠ (mmHg)	80,3 ± 8,9 19	83,3 ± 8,7 21	81,4 ± 13,3 22	0,668
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	257,9 ± 33,1 19	254,4 ± 35,4 21	242,8 ± 33,8 22	0,333
LDL χοληστερόλη (mg/dL)	177,5 ± 32,1 19	172,9 ± 33,7 21	167,0 ± 30,6 22	0,581
HDL χοληστερόλη (mg/dL)	51,3 ± 13,6 19	56,0 ± 15,9 21	51,9 ± 15,8 22	0,560
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	142,7 ± 59,1 19	127,7 ± 37,4 21	118,4 ± 34,8 22	0,224
Γλυκόζη (mg/dL)	98,1 ± 6,9 19	98,5 ± 9,0 21	97,4 ± 12,4 22	0,933
Ινσουλίνη (μUI/mL)	11,7 ± 5,4247 19	10,4 ± 4,7799 21	10,81 ± 4,1 22	0,662
Λυσο-PAF AT (nmol PAF/min/mg)	3,9 ± 2,1 19	4,4 ± 3,9 21	4,9 ± 3,5 22	0,641

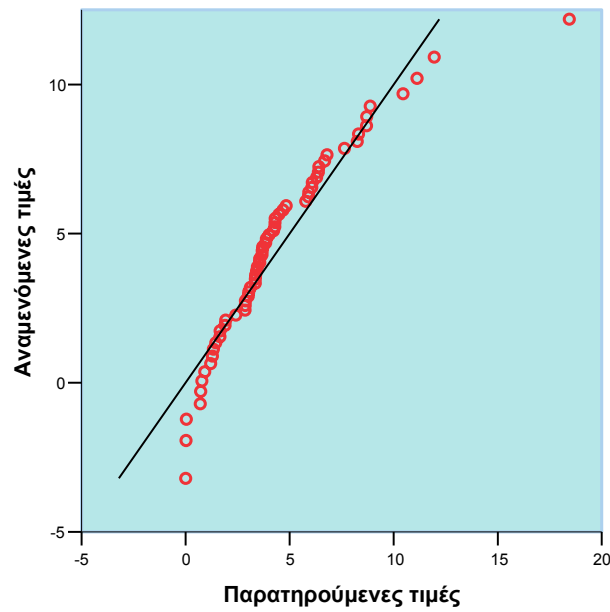
5.2. ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΛΥΣΟ-PAF ΑΚΕΤΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ ΣΤΙΣ 3 ΧΡΟΝΙΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ

Το χαρακτηριστικό ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT, στο σύνολο του δείγματος όπου μετρήθηκε, βρέθηκε να ακολουθεί την κανονική κατανομή και στις 3 χρονικές φάσεις της παρέμβασης, σύμφωνα με τον έλεγχο Kolmogorov-Smirnov για ένα δείγμα. Τα αποτελέσματα αυτού του ελέγχου φαίνονται στον πίνακα 5.7.

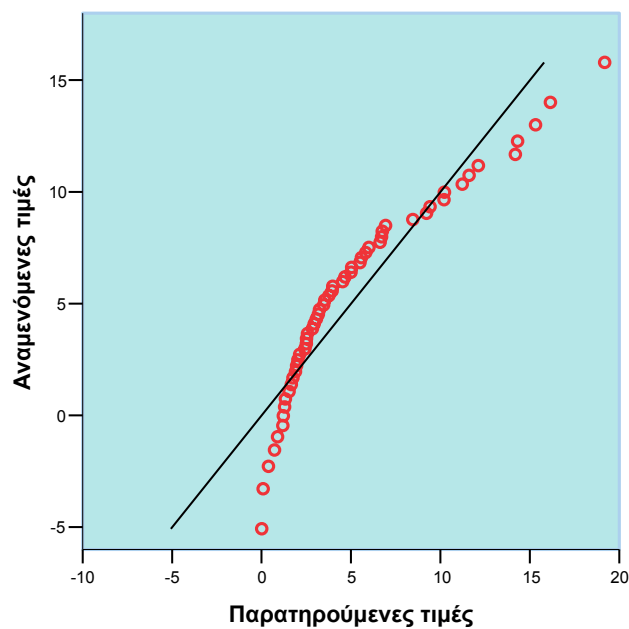
Πίνακας 5.7. Έλεγχος κανονικότητας της κατανομής των τιμών της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT, στο σύνολο του δείγματος όπου μετρήθηκε, κατά την έναρξη της παρέμβασης, στον 1^ο μήνα και στο 3^ο μήνα

	Ειδική δραστηριότητα λυσο-PAF AT (nmol PAF/min/mg)		
	Έναρξη παρέμβασης	1^{ος} μήνας παρέμβασης	3^{ος} μήνας παρέμβασης
Z	1,193	1,217	1,174
P-value	0,116	0,104	0,127

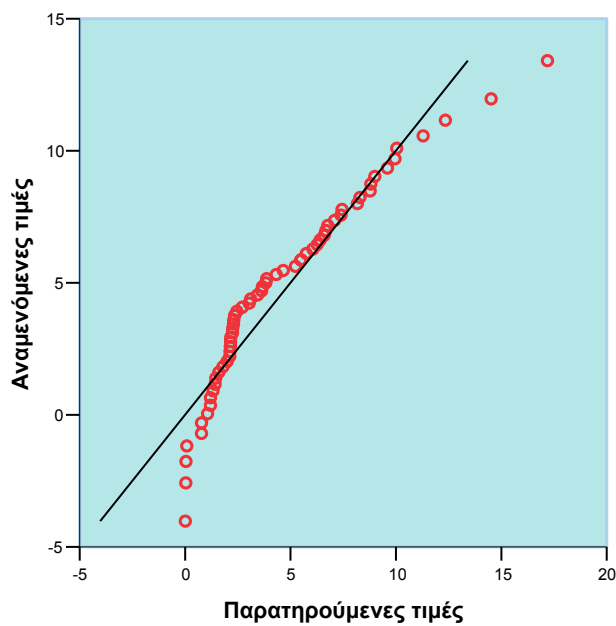
Η κανονική κατανομή της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT, σε κάθε χρονική φάση, φαίνεται και από τα παρακάτω διαγράμματα, στα οποία γίνεται σύγκριση της κατανομής των παρατηρούμενων τιμών του δείγματος με την κατανομή των αναμενόμενων τιμών στην περίπτωση που το δείγμα ακολουθούσε την κανονική κατανομή. Συγκεκριμένα, και στα 3 διαγράμματα οι παρατηρούμενες τιμές συγκεντρώνονται γύρω από μια ευθεία γραμμή που σχηματίζουν οι αναμενόμενες τιμές και εξάγουμε το συμπέρασμα ότι η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT ακολουθεί την κανονική κατανομή και στις 3 χρονικές φάσεις.



Σχήμα 5.1. Διάγραμμα Q-Q για την ειδική δραστικότητα της λυσο-PAF AT (nmol PAF/min/mg) κατά την έναρξη της παρέμβασης.

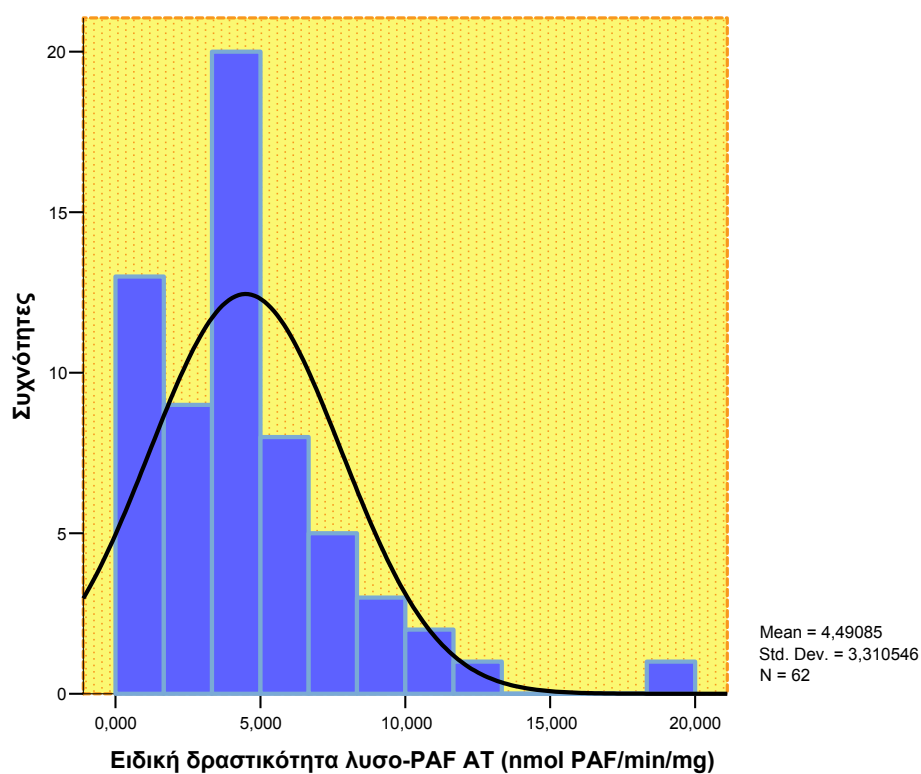


Σχήμα 5.2. Διάγραμμα Q-Q για την ειδική δραστικότητα της λυσο-PAF AT (nmol PAF/min/mg) στον 1^ο μήνα της παρέμβασης.

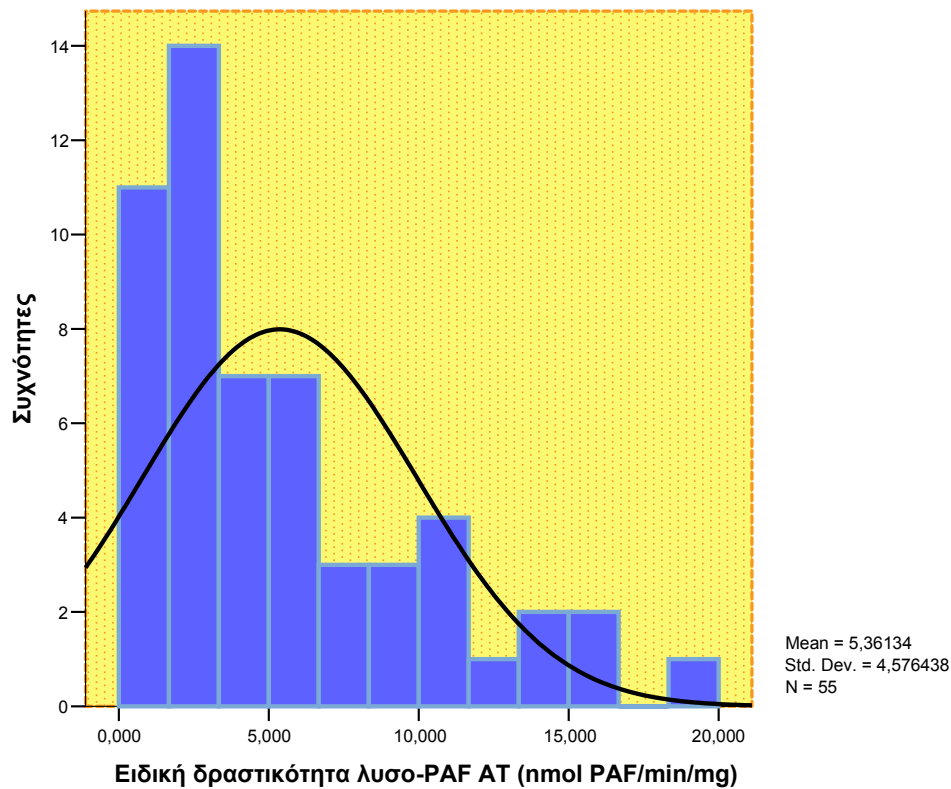


Σχήμα 5.3. Διάγραμμα Q-Q για την ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT (nmol PAF/min/mg) στον 3^ο μήνα της παρέμβασης.

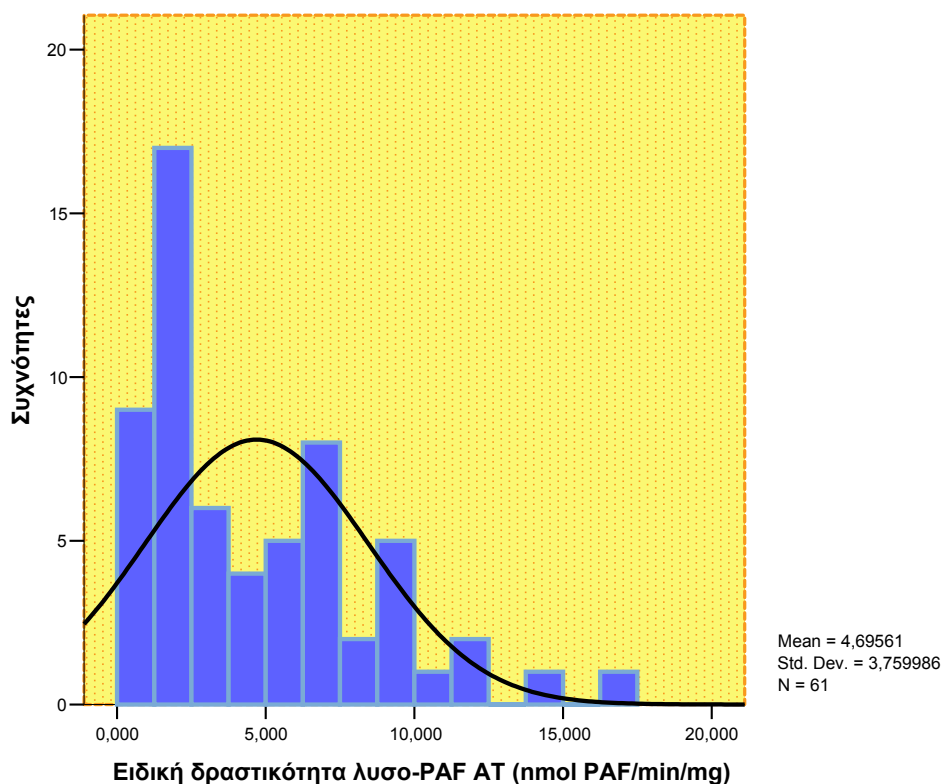
Στη συνέχεια, απεικονίζεται με ιστογράμματα η κατανομή των τιμών της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT σε κάθε χρονική φάση της παρέμβασης.



Σχήμα 5.4. Κατανομή ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT κατά την έναρξη της μελέτης.



Σχήμα 5.5. Κατανομή ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT στον 1^ο μήνα της παρέμβασης.



Σχήμα 5.6. Κατανομή ειδικής δραστικότητας της λυσο-PAF AT στον 3^ο μήνα της παρέμβασης.

5.3. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΛΥΣΟ-PAF AT ΜΕ ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ, ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Πίνακας 5.8. Συσχετίσεις ειδικής δραστικότητας της λυσο-PAF AT με ανθρωπομετρικά, βιοχημικά και διατροφικά χαρακτηριστικά στο σύνολο του δείγματος (N= 62), σε κάθε χρονική φάση

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	ΧΡΟΝΟΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ		
	Έναρξη	1 ^{ος} μήνας	3 ^{ος} μήνας
Ηλικία (έτη)	0,209	0,196	0,162
	0,104	0,152	0,211
Σωματικό Βάρος (kg)	-0,092	-0,289	-0,108
	0,479	0,032	0,408

(συνέχεια πίνακα 5.8)

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	ΧΡΟΝΟΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ		
	Έναρξη	1 ^{ος} μήνας	3 ^{ος} μήνας
BMI (kg/ m ²)	-0,019 0,885	-0,278 0,040	-0,165 0,204
Περιφέρεια μέσης (cm)	-0,001 0,993	-0,001 0,996	0,057 0,662
Περιφέρεια ισχύων (cm)	0,092 0,479	-0,234 0,086	-0,125 0,338
ΣΑΠ (mmHg)	-0,109 0,400	-0,148 0,279	-0,288 0,024
ΔΑΠ (mmHg)	-0,005 0,967	0,303 0,026	0,233 0,071
Ποσοστό σωματικού λίπους (%)	0,270 0,037	-0,006 0,967	0,030 0,819
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	-0,183 0,154	0,141 0,306	0,052 0,692
LDL χοληστερόλη (mg/dL)	-0,137 0,289	-0,127 0,354	-0,071 0,588
HDL χοληστερόλη (mg/dL)	-0,033 0,799	-0,034 0,807	-0,013 0,921
apo-A1 (mg/dL)	-0,055 0,671	-0,179 0,191	-0,041 0,756
apo-B (mg/dL)	-0,115 0,372	-0,214 0,120	-0,037 0,783
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	-0,151 0,241	0,133 0,335	0,002 0,988
Γλυκόζη (mg/dL)	-0,048 0,713	-0,014 0,917	-0,016 0,903
Ινσουλίνη (μUI/mL)	-0,140 0,279	-0,149 0,278	0,092 0,480

(συνέχεια πίνακα 5.8)

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	ΧΡΟΝΟΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ		
	Έναρξη	1 ^{ος} μήνας	3 ^{ος} μήνας
Καροτενοειδή (mg/dL)	-0,005 0,967	0,009 0,946	-0,111 0,394
Βιταμίνη B12 (pg/mL)	0,090 0,488	0,282 0,037	0,182 0,160
Φυλλικό οξύ (ng/mL)	0,215 0,093	0,401 0,002	0,244 0,058
Ομοκυστεΐνη (μmol/L)	-0,166 0,196	-0,234 0,088	-0,209 0,106
CRP (mg/dL)	0,163 0,205	-0,052 0,707	0,158 0,223
TAC (nmol/μL)	0,135 0,303	-0,180 0,188	0,105 0,422
TBARS (nmol/ 100 μL)	-0,181 0,209	-0,079 0,614	-0,247 0,090
LpPLA2 (nmol/min/mL)	-0,028 0,833	-0,214 0,120	-0,037 0,783
Πρωτεΐνες (g)	-0,175 0,173	-0,278 0,040	0,068 0,603
Βιταμίνη E (IU)	0,063 0,625	0,044 0,747	0,355 0,005
Mg (mg)	-0,038 0,769	-0,284 0,036	0,100 0,441
Ισοδύναμα λίπους	-0,201 0,117	-0,318 0,018	-0,093 0,477

Πίνακας 5.9. Συσχετίσεις ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT με ανθρωπομετρικά, βιοχημικά και διατροφικά χαρακτηριστικά ανά φύλο, σε κάθε χρονική φάση της παρέμβασης

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	Γυναίκες			Άνδρες		
	Έναρξη	1 ^{ος} μήνας	3 ^{ος} μήνας	Έναρξη	1 ^{ος} μήνας	3 ^{ος} μήνας
Σωματικό	0,159	-0,065	0,007	0,075	0,002	-0,026
Βάρος (kg)	0,402	0,751	0,972	0,685	0,993	0,892
BMI (kg/ m²)	-0,058	-0,078	-0,065	0,207	0,055	-0,118
	0,762	0,706	0,732	0,255	0,778	0,527
Περιφέρεια	0,263	0,064	0,085	0,141	0,098	0,062
μέσης (cm)	0,160	0,755	0,657	0,443	0,613	0,739
Περιφέρεια	0,114	0,011	0,049	0,131	-0,405	-0,141
ισχύων (cm)	0,547	0,959	0,798	0,476	0,029	0,449
ΣΑΠ (mmHg)	0,025	0,240	-0,342	-0,088	-0,262	-0,170
	0,895	0,238	0,065	0,630	0,170	0,361
ΔΑΠ (mmHg)	0,202	0,244	0,209	-0,068	0,027	0,136
	0,286	0,240	0,267	0,712	0,891	0,465
Ποσοστό	0,136	0,156	0,163	0,276	-0,131	-0,094
σωματικού	0,481	0,447	0,389	0,133	0,497	0,616
λίπους (%)						
Ολική	-0,359	0,086	0,044	0,060	-0,317	-0,115
χοληστερόλη	0,052	0,675	0,817	0,745	0,093	0,537
(mg/dL)						
LDL	-0,250	-0,099	-0,030	0,170	-0,139	-0,031
χοληστερόλη	0,182	0,630	0,876	0,352	0,471	0,868
(mg/dL)						
HDL	-0,203	-0,086	-0,077	-0,130	-0,087	0,075
χοληστερόλη	0,282	0,675	0,686	0,477	0,654	0,686
(mg/dL)						
apo-A1 (mg/dL)	-0,182	-0,215	-0,075	-0,193	-0,143	0,043
	0,336	0,291	0,695	0,289	0,461	0,819

(συνέχεια πίνακα 5.9)

ΜΕΤΑΒΑΛΗΤΕΣ	Γυναίκες			Άνδρες		
	Έναρξη	1ος μήνας	3ος μήνας	Έναρξη	1ος μήνας	3ος μήνας
apo-B (mg/dL)	-0,160 0,399	-0,035 0,866	-0,089 0,651	0,171 0,349	-0,278 0,152	0,077 0,693
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	-0,092 0,630	0,143 0,486	0,062 0,743	-0,141 0,441	-0,356 0,058	-0,201 0,278
Γλυκόζη (mg/dL)	-0,059 0,757	-0,073 0,722	-0,072 0,706	-0,024 0,897	-0,215 0,263	0,019 0,920
Ινσουλίνη (μUI/mL)	-0,002 0,992	0,131 0,525	0,162 0,392	-0,240 0,186	-0,251 0,189	0,066 0,724
Καροτενοειδή (mg/dL)	-0,052 0,786	-0,114 0,578	-0,185 0,328	-0,119 0,515	-0,130 0,500	-0,173 0,352
Βιταμίνη B12 (pg/mL)	0,152 0,423	0,166 0,417	-0,042 0,825	-0,094 0,609	0,335 0,076	0,364 0,044
Φυλλικό οξύ (ng/mL)	0,084 0,658	0,258 0,202	0,045 0,814	0,208 0,253	0,157 0,416	0,451 0,011
Ομοκυστεΐνη (μmol/L)	-0,021 0,911	0,082 0,690	0,031 0,872	-0,029 0,876	-0,210 0,284	-0,300 0,101
CRP (mg/dL)	0,265 0,158	0,037 0,856	0,012 0,951	0,067 0,714	-0,239 0,212	0,399 0,026
TAC (nmol/μL)	0,064 0,741	-0,362 0,069	-0,075 0,695	0,209 0,260	-0,032 0,868	0,316 0,083
TBARS (nmol/ 100 μL)	-0,156 0,465	-0,053 0,828	-0,226 0,301	-0,230 0,258	0,105 0,626	-0,252 0,224
LpPLA2 (nmol/min/mL)	0,064 0,742	-0,035 0,866	-0,089 0,651	0,179 0,345	-0,278 0,152	0,077 0,693
EPA (g)	0,250 0,175	-0,076 0,706	-0,091 0,627	0,138 0,458	0,181 0,357	0,460 0,011
DHA (g)	0,208 0,261	-0,032 0,874	-0,088 0,638	0,090 0,629	0,113 0,567	0,389 0,034

(συνέχεια πίνακα 5.9)

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	ΓΥΝΑΙΚΕΣ			ΑΝΔΡΕΣ		
	Έναρξη	1 ^{ος} μήνας	3 ^{ος} μήνας	Έναρξη	1 ^{ος} μήνας	3 ^{ος} μήνας
Βιταμίνη Α (IU)	-0,297 0,104	-0,027 0,895	-0,151 0,417	0,459 0,009	-0,154 0,433	0,057 0,766
β-καροτένιο (mg)	-0,267 0,146	0,019 0,926	-0,199 0,284	0,377 0,036	-0,126 0,521	0,030 0,876
Βιταμίνη Ε (IU)	0,003 0,986	0,078 0,699	0,295 0,107	ND	-0,025 0,899	0,483 0,007
Θειαμίνη (mg)	-0,036 0,849	-0,139 0,491	0,090 0,629	0,067 0,722	-0,017 0,933	0,378 0,039
Ισοδύναμα φρούτου	-0,041 0,825	0,038 0,851	0,082 0,662	0,027 0,887	-0,402 0,034	0,049 0,795

ND: Not Determined

Από τους πίνακες 5.8 και 5.9, προκύπτουν οι ακόλουθες παρατηρήσεις:

Η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT παρουσίασε ορισμένες σημαντικές συσχετίσεις με ανθρωπομετρικά, βιοχημικά και διατροφικά χαρακτηριστικά τόσο στην έναρξη της παρέμβασης όσο και στον 1ο και 3ο μήνα αυτής. Ως προς τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε την ύπαρξη ασθενούς θετικής γραμμικής συσχέτισης με το ποσοστό σωματικού λίπους, στο σύνολο του δείγματος, στην έναρξη της παρέμβασης. Αυτή η συσχέτιση δε βρέθηκε ούτε στον 1ο και 3ο μήνα της παρέμβασης, στο σύνολο του δείγματος, ούτε σε οποιαδήποτε χρονική φάση, σε κάθε φύλο χωριστά. Επίσης, η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT παρουσίασε αρνητική γραμμική συσχέτιση τόσο με το σωματικό βάρος όσο και με το δείκτη μάζας σώματος, στο σύνολο του δείγματος, στον 1ο μήνα της παρέμβασης, η οποία, όμως, δε βρέθηκε ούτε στην έναρξη της παρέμβασης ή στον 3ο μήνα αυτής, στο σύνολο του δείγματος ούτε σε οποιαδήποτε χρονική φάση της παρέμβασης, σε κάθε φύλο χωριστά. Τέλος, στον 1ο μήνα της παρέμβασης, βρέθηκε μέτρια αρνητική γραμμική συσχέτιση με την περιφέρεια ισχύων μόνο στους άνδρες.

Σε σχέση με τα βιοχημικά χαρακτηριστικά, η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT παρουσίασε ασθενή θετική γραμμική συσχέτιση με τη βιταμίνη B12 και μια μέτρια θετική γραμμική συσχέτιση με τη συγκέντρωση φυλλικού οξέος στο πλάσμα, στο σύνολο του δείγματος, στον 1ο μήνα της παρέμβασης. Στον 3ο μήνα της παρέμβασης, βρέθηκε οριακά σημαντική ασθενής θετική γραμμική συσχέτιση με τη συγκέντρωση φυλλικού οξέος στο πλάσμα, στο σύνολο του δείγματος. Επιπλέον, στους άνδρες βρέθηκε σημαντική, μέτρια θετική γραμμική συσχέτιση με τη συγκέντρωση βιταμίνης B12, φυλλικού οξέος και CRP στο πλάσμα, στον 3ο μήνα της παρέμβασης.

Αναφορικά με την αρτηριακή πίεση, βρέθηκε μια ασθενής θετική γραμμική συσχέτιση με τη διαστολική αρτηριακή πίεση και μια ασθενής αρνητική γραμμική συσχέτιση με τη συστολική αρτηριακή πίεση, στο σύνολο του δείγματος, στον 1ο και 3ο μήνα, αντίστοιχα, της παρέμβασης. Τέλος, σε ό,τι αφορά στα διατροφικά χαρακτηριστικά, βρέθηκαν ασθενείς αρνητικές γραμμικές συσχετίσεις με την πρόσληψη πρωτεϊνών, μαγνησίου και ισοδυνάμων λίπους, στο σύνολο του δείγματος, στον 1ο μήνα της παρέμβασης, καθώς και μέτρια θετική γραμμική συσχέτιση με την πρόσληψη βιταμίνης E, στο σύνολο του δείγματος, στον 3ο μήνα της παρέμβασης. Στους άνδρες, βρέθηκαν μέτριες θετικές γραμμικές συσχετίσεις με την πρόσληψη βιταμίνης A και β-καροτενίου, στην έναρξη της παρέμβασης και με την πρόσληψη EPA, DHA, βιταμίνης E και θειαμίνης, στον 3ο μήνα, ενώ στον 1ο μήνα βρέθηκε μέτρια αρνητική γραμμική συσχέτιση με την κατανάλωση ισοδυνάμων φρούτου.

Στη συνέχεια, η πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση αξιολόγησε την επίδραση ανθρωπομετρικών και βιοχημικών παραγόντων επί της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT. Οι ανθρωπομετρικοί και βιοχημικοί δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση αποτελούν τις ανεξάρτητες μεταβλητές για τις οποίες έχουν βρεθεί σημαντικές γραμμικές συσχετίσεις με την ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT, η οποία αποτελεί την εξαρτημένη μεταβλητή σε μια γραμμική εξίσωση που προβλέπει όσο το δυνατόν καλύτερα την τιμή της εξαρτημένης μεταβλητής. Στους πίνακες που ακολουθούν, φαίνονται τα αποτελέσματα της πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης για κάθε χρονική φάση της παρέμβασης.

Πίνακας 5.10. Ανάλυση πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης με εξαρτημένη μεταβλητή την ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT και με ανεξάρτητες μεταβλητές πρόβλεψης ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά, κατά την έναρξη της παρέμβασης

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	B	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	P
Φύλο	-1,31	0,89	0,15
Ηλικία (έτη)	0,05	0,06	0,40
Συγκέντρωση φυλλικού στο πλάσμα (ng/mL)	0,12	0,14	0,42
CRP (mg/dL)	0,26	0,17	0,13

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	B	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	P
Φύλο	-1,26	0,96	0,19
Ηλικία (έτη)	0,04	0,06	0,50
Σωματικό λίπος (%)	0,06	0,08	0,49
CRP (mg/dL)	0,25	0,19	0,19

Πίνακας 5.11. Ανάλυση πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης με εξαρτημένη μεταβλητή την ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT και με ανεξάρτητες μεταβλητές πρόβλεψης ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά, στον 1^ο μήνα της παρέμβασης

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	B	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	P
Φύλο	-2,7	1,37	0,055
Ηλικία (έτη)	0,01	0,08	0,940
Συγκέντρωση φυλλικού στο πλάσμα (ng/mL)	0,25	0,17	0,137
CRP (mg/dL)	0,003	0,27	0,990
BMI	-0,045	0,16	0,779

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	B	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	P
Φύλο	-3,13	1,23	0,014
Ηλικία (έτη)	-0,028	0,08	0,745
CRP (mg/dL)	-0,26	0,27	0,337
Σωματικό λίπος (%)	0,19	0,12	0,129

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	B	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	P
Φύλο	-2,73	1,56	0,087
Ηλικία (έτη)	0,06	0,07	0,462
Βιταμίνη B12 (pg/mL)	0,006	0,004	0,150
Περιφέρεια μέσης (cm)	-0,03	0,06	0,570

Πίνακας 5.12. Ανάλυση πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης με εξαρτημένη μεταβλητή την ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT και με ανεξάρτητες μεταβλητές πρόβλεψης ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά, στον 3^ο μήνα της παρέμβασης

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	B	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	P
Φύλο	-0,401	1,05	0,698
Ηλικία (έτη)	0,02	0,06	0,758
Συγκέντρωση φυλλικού στο πλάσμα (ng/mL)	0,21	0,12	0,089
BMI	-0,06	0,13	0,636
CRP (mg/dL)	0,53	0,32	0,103

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	B	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	P
Φύλο	-0,62	1,11	0,579
Ηλικία (έτη)	0,03	0,07	0,660
CRP (mg/dL)	0,29	0,32	0,365
Σωματικό λίπος (%)	0,08	0,11	0,443

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	B	ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ	P
Φύλο	-0,97	1,27	0,449
Ηλικία (έτη)	0,05	0,06	0,440
Βιταμίνη B12 (pg/mL)	0,004	0,003	0,246
Περιφέρεια μέσης (cm)	0,005	0,04	0,903

Κατά την έναρξη της παρέμβασης, η συσχέτιση που είχε βρεθεί ανάμεσα στην ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT και το ποσοστό σωματικού λίπους δεν εξακολουθεί

να υφίσταται μετά από έλεγχο ως προς πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες. Κατά τον 1^ο μήνα της παρέμβασης, παρατηρούμε ότι η συσχέτιση που βρέθηκε ανάμεσα στην ειδική δραστηριότητα του ενζύμου και το φυλλικό οξύ δεν εξακολουθεί να είναι σημαντική μετά από έλεγχο ως προς πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες. Φαίνεται ότι η επίδραση του φύλου μπορεί να ερμηνεύσει την έμμεση συσχέτιση που παρατηρήθηκε μεταξύ αυτών των δύο μεταβλητών. Το ίδιο ισχύει και για την περίπτωση της βιταμίνης B12. Τέλος, κατά τον 3^ο μήνα της παρέμβασης, η συσχέτιση της ειδικής δραστηριότητας του ενζύμου με το φυλλικό οξύ χάνεται μετά από έλεγχο για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες.

5.4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ ΣΤΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΛΥΣΟ-ΡΑΦ ΑΚΕΤΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ

Πίνακας 5.13. Ειδική δραστηριότητα λυσο-ΡΑΦ ΑΤ ανά ομάδα παρέμβασης, σε κάθε χρονική φάση της παρέμβασης

	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα εικονικού προϊόντος	Ομάδα πειραματικού προϊόντος	P
	Έναρξη παρέμβασης			
Άνδρες	3,0 ± 1,4 (N= 9)	3,2 ± 1,8 (N= 11)	4,3 ± 2,2 (N= 8)	> 0,05
Γυναίκες	5,0 ± 2,4 (N= 9)	4,5 ± 2,8 (N= 8)	5,4 ± 4,3 (N= 10)	> 0,05
Σύνολο	4,0 ± 2,2 (N=18)	4,5 ± 3,8 (N= 23)	4,9 ± 3,6 (N= 21)	> 0,05
	1^{ος} μήνας παρέμβασης			
Άνδρες	2,6 ± 1,6 (N= 9)	2,9 ± 1,1 (N= 11)	5,5 ± 3,1 (N= 8)	0,009
Γυναίκες	7,6 ± 6,4 (N= 9)	7,7 ± 6,0 (N= 8)	6,6 ± 4,8 (N= 10)	> 0,05
Σύνολο	5,1 ± 5,2 (N= 18)	4,9 ± 3,8 (N= 19)	6,1 ± 4,1 (N= 18)	> 0,05
	3^{ος} μήνας παρέμβασης			
Άνδρες	1,9 ± 1,0 (N= 9)	4,1 ± 2,7 (N= 11)	4,5 ± 2,8 (N= 8)	0,032
Γυναίκες	6,8 ± 5,4 (N= 9)	3,2 ± 2,6 (N= 8)	5,0 ± 3,4 (N= 10)	> 0,05
Σύνολο	4,4 ± 4,5 (N= 18)	4,4 ± 3,3 (N= 23)	5,4 ± 3,6 (N= 20)	> 0,05

Πίνακας 5.14. Σύγκριση της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT μεταξύ των ομάδων παρέμβασης στο σύνολο του δείγματος, σε κάθε χρονική φάση της παρέμβασης

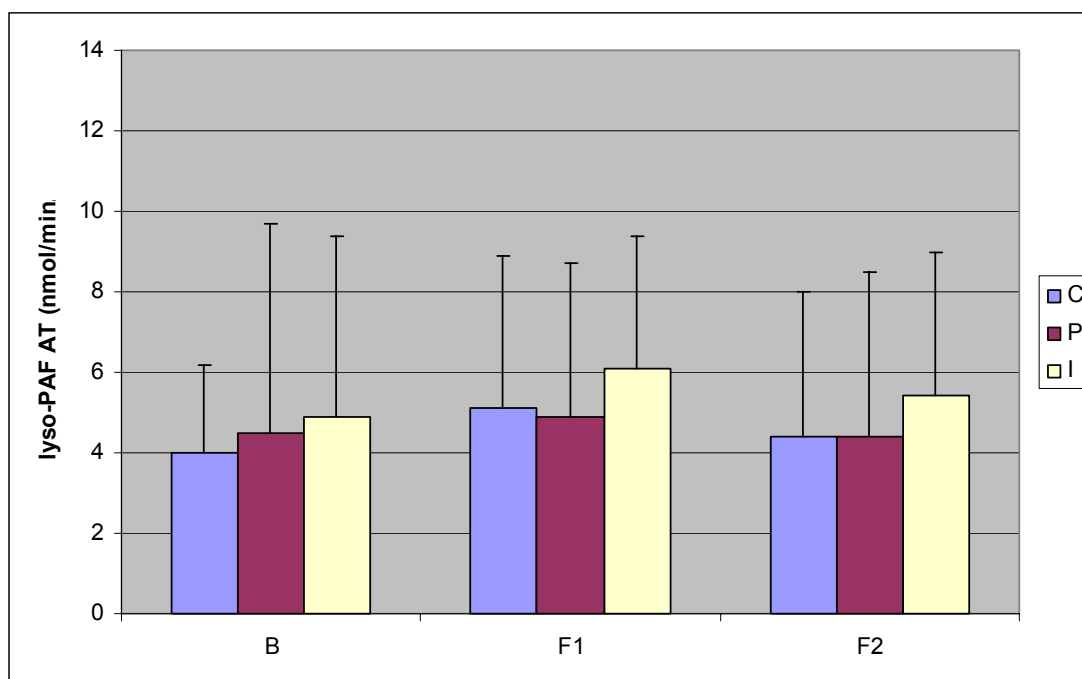
	Ομάδα παρέμβασης (I)	Ομάδα παρέμβασης (J)	Μέση διαφορά (I-J)	P
Έναρξη	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα συμβατικού γάλακτος	-0,49	1,000
	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος	-0,89	1,000
1^{ος} μήνας	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα συμβατικού γάλακτος	0,18	1,000
	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος	-0,99	1,000
3^{ος} μήνας	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα συμβατικού γάλακτος	-0,01	1,000
	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος	1,23	1,000

Πίνακας 5.15. Σύγκριση της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT μεταξύ των ομάδων παρέμβασης στους άνδρες, σε κάθε χρονική φάση της παρέμβασης

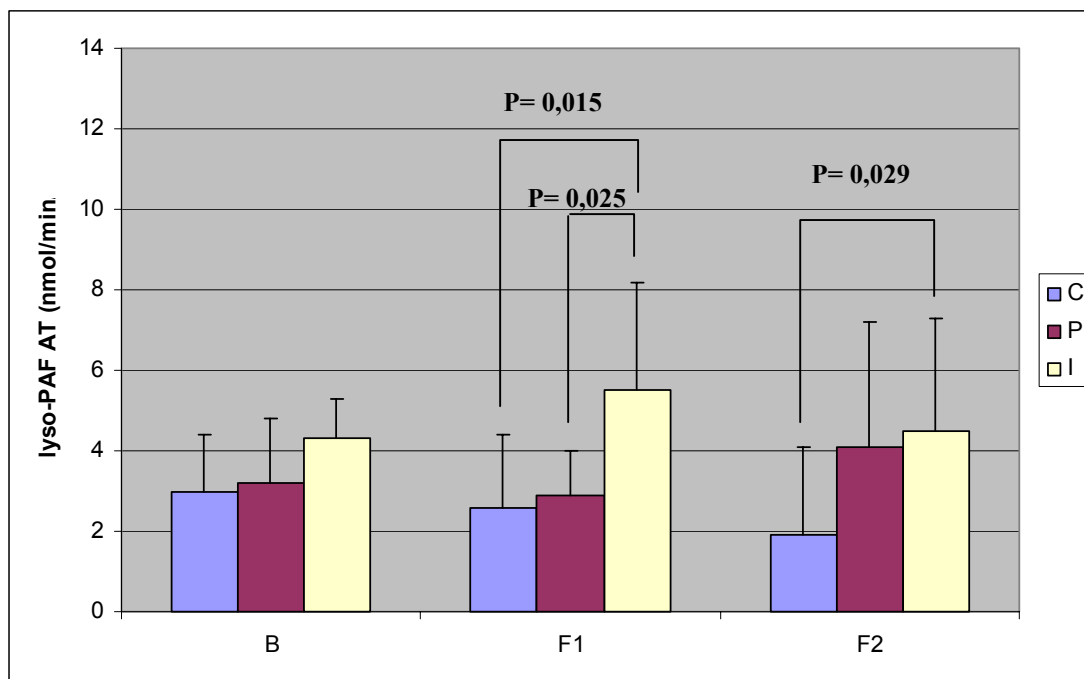
	Ομάδα παρέμβασης (I)	Ομάδα παρέμβασης (J)	Μέση διαφορά (I-J)	P
Έναρξη	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα συμβατικού γάλακτος	-0,15	1,000
	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος	-1,43	0,490
1^{ος} μήνας	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα συμβατικού γάλακτος	-0,32	1,000
	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος	-2,94	0,015
	Ομάδα συμβατικού γάλακτος	Ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος	-2,62	0,025
3^{ος} μήνας	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα συμβατικού γάλακτος	-2,19	0,319
	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος	-3,73	0,029

Πίνακας 5.16. Σύγκριση της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT μεταξύ των ομάδων παρέμβασης στις γυναίκες, σε κάθε χρονική φάση της παρέμβασης

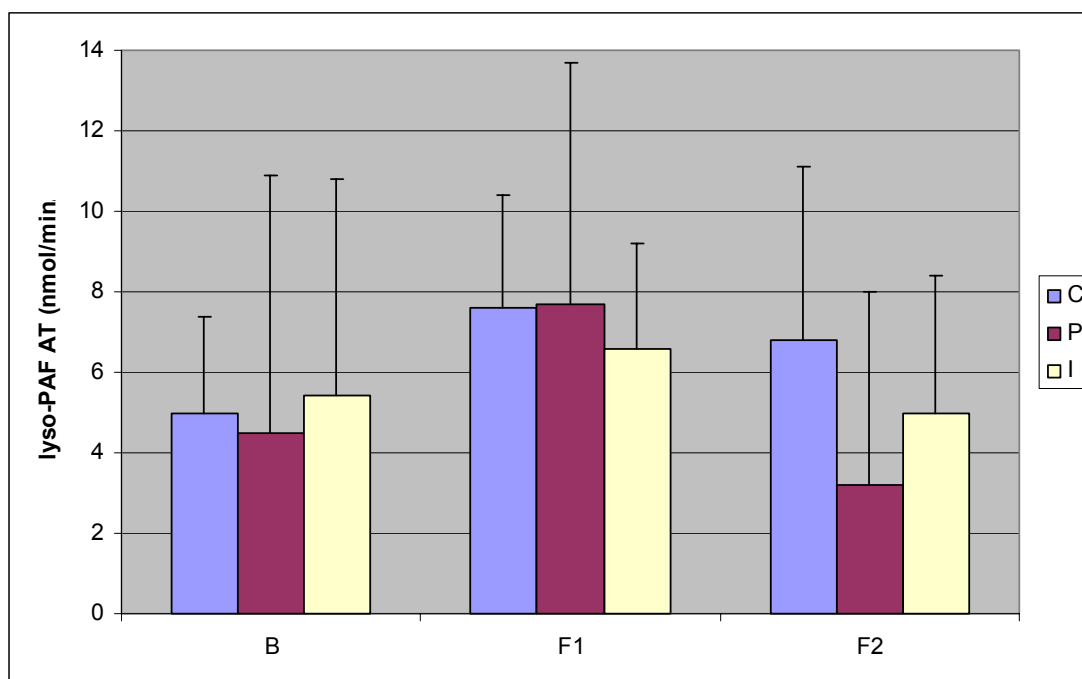
	Ομάδα παρέμβασης (I)	Ομάδα παρέμβασης (J)	Μέση διαφορά (I-J)	P
Έναρξη	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα συμβατικού γάλακτος	-0,72	1,000
	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος	-0,39	1,000
1^{ος} μήνας	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα συμβατικού γάλακτος	-0,078	1,000
	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος	1,08	1,000
3^{ος} μήνας	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα συμβατικού γάλακτος	2,18	0,748
	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος	1,75	1,000



Σχήμα 5.7. Ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT ανά ομάδα παρέμβασης, σε κάθε χρονική φάση της παρέμβασης, στο σύνολο του δείγματος όπου μετρήθηκε. Δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων σε καμία από τις 3 χρονικές φάσεις της παρέμβασης, μετά από τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni. Επεξήγηση σχημάτων και συμβόλων: Οι ράβδοι απεικονίζουν τη μέση ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT, ενώ οι γραμμές τις τυπικές αποκλίσεις. Οι μπλε ράβδοι αναφέρονται στην ομάδα ελέγχου (control), οι μωβ στην ομάδα συμβατικού γάλακτος (placebo) και οι κίτρινες στην ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος (intervention). Στον άξονα των χ: B= baseline (έναρξη παρέμβασης), F1= follow-up 1 (1^{ος} μήνας παρέμβασης), F2= follow-up 2 (3^{ος} μήνας παρέμβασης).



Σχήμα 5.8. Ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT ανά ομάδα παρέμβασης, σε κάθε χρονική φάση της παρέμβασης, στους άνδρες. Βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων μετά από τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni. Επεξήγηση σχημάτων και συμβόλων: Οι ράβδοι απεικονίζουν τη μέση ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT, ενώ οι γραμμές τις τυπικές αποκλίσεις. Οι μπλε ράβδοι αναφέρονται στην ομάδα ελέγχου (control), οι μωβ στην ομάδα συμβατικού γάλακτος (placebo) και οι κίτρινες στην ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος (intervention). Στον άξονα των χ: B= baseline (έναρξη παρέμβασης), F1= follow-up 1 (1^{ος} μήνας παρέμβασης), F2= follow-up 2 (3^{ος} μήνας παρέμβασης).



Σχήμα 5.9. Ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT ανά ομάδα παρέμβασης, σε κάθε χρονική φάση της παρέμβασης, στις γυναίκες. Δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων, σε καμία από τις 3 χρονικές φάσεις της παρέμβασης, μετά από τον έλεγχο πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni. Επεξήγηση σχημάτων και συμβόλων: Οι ράβδοι απεικονίζουν τη μέση ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT, ενώ οι γραμμές τις τυπικές αποκλίσεις. Οι μπλε ράβδοι αναφέρονται στην ομάδα ελέγχου (control), οι μωβ στην ομάδα συμβατικού γάλακτος (placebo) και οι κίτρινες στην ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος (intervention). Στον άξονα των χ: B= baseline (έναρξη παρέμβασης), F1= follow-up 1 (1^{ος} μήνας παρέμβασης), F2= follow-up 2 (3^{ος} μήνας παρέμβασης).

Από τη συσχετισμένη ανάλυση διακύμανσης για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις βρέθηκε ότι υπάρχει σημαντική διαφορά στη μέση ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT στις 3 χρονικές φάσεις της παρέμβασης ($F = 3,762$, $P = 0,026$, με την παραδοχή ότι έχουμε σφαιρικότητα). Αναλυτικότερα, σύμφωνα με τα αποτελέσματα του συσχετισμένου ελέγχου t , βρέθηκε ότι η μέση ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT είναι μεγαλύτερη στον 1^ο μήνα σε σύγκριση τόσο με την έναρξη της παρέμβασης ($5,4 \pm 4,6$ έναντι $4,2 \pm 2,7$ nmol PAF/min/mg, $P = 0,030$) όσο και με τον 3^ο μήνα ($5,4 \pm 4,6$ έναντι $4,3 \pm 3,5$ nmol PAF/min/mg, $P = 0,023$). Αντίθετα, η μέση ειδική δραστηριότητα κατά την έναρξη της παρέμβασης δε διαφέρει στατιστικά σημαντικά

από εκείνη στον 3^ο μήνα της παρέμβασης ($4,6 \pm 3,3$ έναντι $4,7 \pm 3,7$ nmol PAF/min/mg, $P = 0,748$). Ο διαχωρισμός του συνολικού δείγματος ως προς το είδος της παρέμβασης, έδειξε ότι δεν επηρεάζει σημαντικά τη μεταβολή της ειδικής δραστηριότητας του ενζύμου ($F = 0,079$, $P = 0,989$, με την παραδοχή ότι υπάρχει σφαιρικότητα).

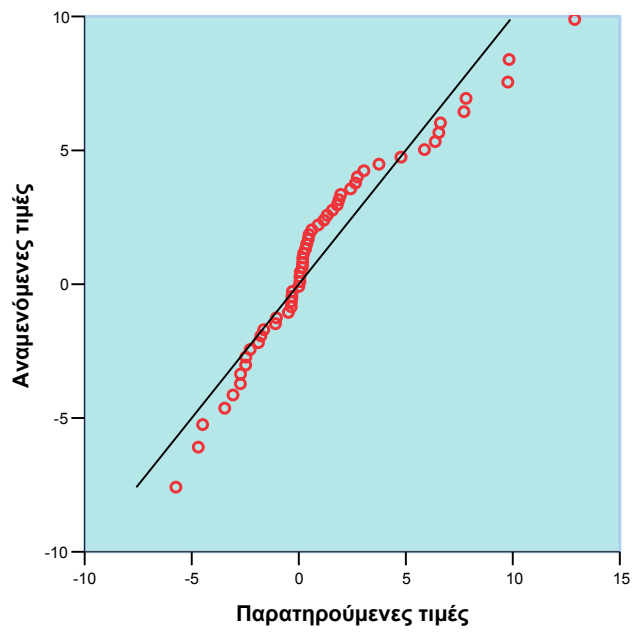
5.5. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΩΝ ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΗ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΛΥΣΟ-PAF ΑΚΕΤΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ

Οι διαφορές που θα εξεταστούν αφορούν στους συνδυασμούς F1 – B και F2 – B, όπου τα B, F1 και F2 αναφέρονται στην ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT στην έναρξη, στον 1^ο και 3^ο μήνα της παρέμβασης, αντίστοιχα.

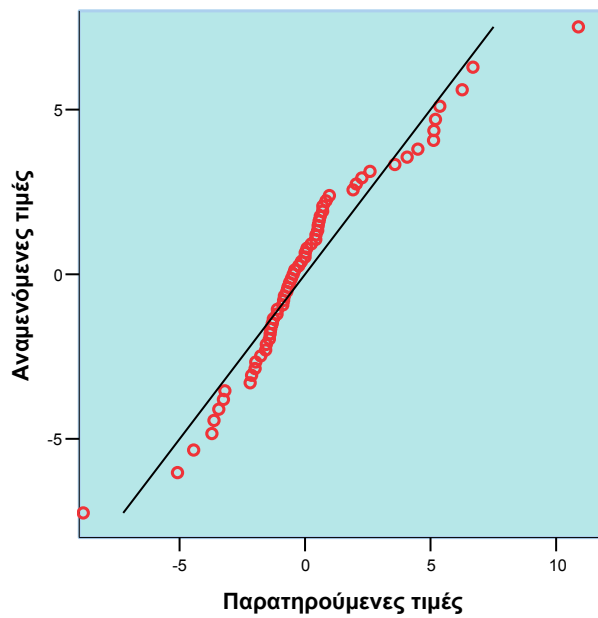
Πίνακας 5.17. Έλεγχος κανονικότητας της κατανομής των μεταβολών της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT μεταξύ 1^{ου} μήνα και έναρξης παρέμβασης και 3^{ου} μήνα και έναρξης παρέμβασης

	F1-B (nmol PAF/min/mg)	F2-B (nmol PAF/min/mg)
Z	1,152	1,303
P-value	0,141	0,067

Σύμφωνα με τον έλεγχο των Kolmogorov-Smirnov, η κατανομή συχνότητας των μεταβλητών F1 – B και F2 – B δε διαφέρει σημαντικά από την κανονική κατανομή ($P > 0,05$). Επομένως, φαίνεται ότι αυτές οι μεταβλητές ακολουθούν την κανονική κατανομή, κάτι το οποίο προκύπτει και από τα παρακάτω διαγράμματα Q-Q.

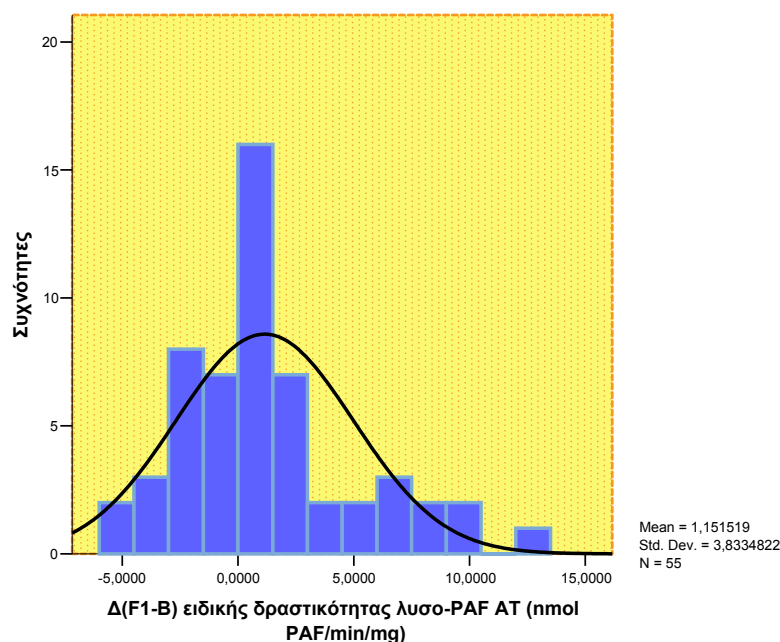


Σχήμα 5.10. Διάγραμμα Q-Q για τη μεταβλητή F1 – B.

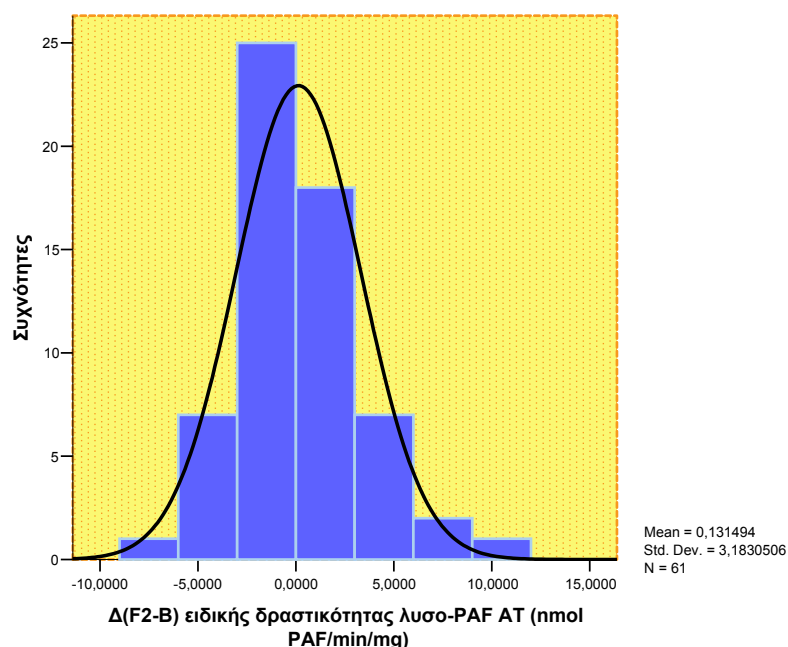


Σχήμα 5.11. Διάγραμμα Q-Q για τη μεταβλητή F2 – B.

Η κατανομή συχνότητας των παρατηρούμενων τιμών κάθε μεταβλητής απεικονίζεται στα παρακάτω ιστογράμματα.



Σχήμα 5.12. Κατανομή συχνότητας της μεταβλητής $\Delta(F1-B)$ για την ειδική δραστηριότητα του ενζύμου λυσο-PAF AT του διαστήματος μεταξύ 1^{ου} μήνα και έναρξης παρέμβασης.



Σχήμα 5.13. Κατανομή συχνότητας της μεταβλητής $\Delta(F2-B)$ για την ειδική δραστηριότητα του ενζύμου λυσο-PAF AT του διαστήματος μεταξύ 3^{ου} μήνα και έναρξης παρέμβασης.

Πίνακας 5.18. Παρουσίαση των στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων της διαφοράς της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT, μεταξύ δύο χρονικών περιόδων, με την αντίστοιχη διαφορά κλινικών και βιοχημικών δεικτών στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο

*	$\Delta(\text{F1-B})$ (nmol PAF/min/mg)			$\Delta(\text{F2-B})$ (nmol PAF/min/mg)		
	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες	Σύνολο	Γυναίκες	Άνδρες
$\Delta(\Sigma\text{ΑΠ})$ (mmHg)	-0,123 0,370 55	-0,040 0,848 26	-0,424 0,022 29	-0,037 0,778 60	0,052 0,790 29	-0,180 0333 31
$\Delta(\text{συγκέντρωση φυλλικού οξέος})$ (ng/mL)	0,190 0,164 55	-0,042 0,837 26	0,505 0,005 29	0,179 0,168 61	0,099 0,602 30	0,317 0,082 31

*Για κάθε μεταβλητή, αναφέρεται ο συντελεστής συσχέτισης Pearson (r), το ακριβές επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (P) και το μέγεθος του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε στην ανάλυση.

Σημαντικές συσχετίσεις παρατηρούνται μόνο στους άνδρες, για το χρονικό διάστημα ανάμεσα στον 1^ο μήνα και την αρχή της παρέμβασης. Αυτές είναι μια μέτρια αρνητική γραμμική συσχέτιση με τη μεταβολή της συστολικής αρτηριακής πίεσης και μια μέτρια θετική γραμμική συσχέτιση με τη μεταβολή της συγκέντρωσης του φυλλικού οξέος στο πλάσμα, για το ίδιο χρονικό διάστημα.

Πίνακας 5.19. Παρουσίαση των στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων της διαφοράς της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT, μεταξύ δύο χρονικών περιόδων, με την αντίστοιχη διαφορά κλινικών και βιοχημικών δεικτών ανά ομάδα παρέμβασης

*	$\Delta(F1-B)$ (nmol PAF/min/mg)			$\Delta(F2-B)$ (nmol PAF/min/mg)		
	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα εικονικού προϊόντος	Ομάδα πειραματικού προϊόντος	Ομάδα ελέγχου	Ομάδα εικονικού προϊόντος	Ομάδα πειραματικού προϊόντος
Δ (ολική χοληστε ρόλη) (mg/dL)	0,364 0,125 19	0,009 0,973 17	0,095 0,699 19	0,078 0,750 19	0,000 0,999 21	-0,563 0,008 21
Δ (LDL χοληστε ρόλη) (mg/dL)	0,197 0,420 19	0,044 0,867 17	0,083 0,736 19	0,085 0,730 19	0,070 0,764 21	-0,509 0,018 21
Δ (HDL χοληστε ρόλη) (mg/dL)	0,440 0,059 19	-0,718 0,001 17	0,064 0,794 19	-0,078 0,751 19	-0,202 0,379 21	-0,181 0,433 21
Δ (apo- A1) (mg/dL)	0,512 0,025 19	-0,302 0,239 17	0,094 0,701 19	0,136 0,578 19	0,015 0,949 21	-0,151 0,514 21

*Για κάθε μεταβλητή, αναφέρεται ο συντελεστής συσχέτισης Pearson (r), το ακριβές επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (P) και το μέγεθος του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε στην ανάλυση.

Στην ομάδα ελέγχου, η μεταβολή της ειδικής δραστηριότητας του ενζύμου, για το χρονικό διάστημα ανάμεσα στον 1^ο μήνα και την έναρξη της παρέμβασης, φαίνεται ότι παρουσιάζει σημαντική γραμμική θετική συσχέτιση με τη μεταβολή των συγκεντρώσεων της HDL-χοληστερόλης και της απολιποπρωτεΐνης A1, για το αντίστοιχο χρονικό διάστημα. Αντίθετα, στην ομάδα συμβατικού γάλακτος υπάρχει σημαντική αρνητική γραμμική συσχέτιση με τη συγκέντρωση της HDL χοληστερόλης.

Στην ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος, σημαντικές συσχετίσεις παρατηρούνται για το χρονικό διάστημα ανάμεσα στον 3^ο μήνα και την έναρξη της παρέμβασης. Αυτές είναι μια σημαντική αρνητική συσχέτιση με τη μεταβολή της ολικής χοληστερόλης πλάσματος και με τη μεταβολή στην LDL χοληστερόλη πλάσματος, για το ίδιο χρονικό διάστημα.

5.6. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΕΙΔΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΛΥΣΟ-ΡΑΦ ΑΚΕΤΥΛΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΥΠΕΡΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΑ

Δείγμα 52 φυσιολογικών ατόμων, ηλικίας 20 - 70 ετών, αποτελούμενο από 29 (56%) γυναίκες και 23 (44%) άνδρες, που συμμετείχε σε μία συγχρονική μελέτη, συγκρίθηκε με το δείγμα της παρούσας μελέτης διατροφικής παρέμβασης ως προς τα κυριότερα ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά. Τα αποτελέσματα της σύγκρισης φαίνονται στον πίνακα 5.20.

Πίνακας 5.20. Σύγκριση δείγματος φυσιολογικών ατόμων με δυσλιπιδαιμικούς ασθενείς ως προς τους κυριότερους ανθρωπομετρικούς και βιοχημικούς παράγοντες

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΙ Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (μέγεθος δείγματος)	ΥΠΕΡΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΚΟΙ Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (μέγεθος δείγματος)	P
Ηλικία (έτη)	37,5 ± 12,4 (N= 52)	49,6 ± 8,2 (N= 62)	< 0,001
Περιφέρεια μέσης (cm)	83,2 ± 12,6 (N= 50)	90,5 ± 11,6 (N= 62)	0,002
Περιφέρεια ισχύων (cm)	105,3 ± 14,9 (N= 50)	103,2 ± 6,5 (N= 62)	0,360
Γλυκόζη (mg/dL)	89,3 ± 8,9 (N= 52)	98 ± 9,7 (N= 62)	< 0,001

(συνέχεια πίνακα 5.19)

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΙ Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (μέγεθος δείγματος)	ΥΠΕΡΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΚΟΙ Μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (μέγεθος δείγματος)	P
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	182 ± 21,2 (N= 52)	251,4 ± 34,2 (N= 62)	< 0,001
HDL χοληστερόλη (mg/dL)	43,6 ± 8,4 (N= 52)	53,1 ± 15,1 (N= 62)	< 0,001
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	76,6 ± 35,7 (N= 52)	129 ± 44,8 (N= 62)	< 0,001
CRP (mg/dL)	4,4 ± 2,3 (N= 51)	2,7 ± 2,4 (N= 62)	< 0,001
λυσο-PAF AT (nmol/min/mg)	8,7 ± 5,7 (N= 51)	4,5 ± 3,3 (N= 62)	< 0,001

Από τη σύγκριση προκύπτει ότι οι ασθενείς με δυσλιπιδαιμία, ηλικίας $49,6 \pm 8,2$ ετών, χαρακτηρίζονται από σημαντικά υψηλότερες τιμές όλων των εξεταζόμενων χαρακτηριστικών, εκτός της περιφέρειας ισχύων, σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς, ηλικίας $37,5 \pm 12,4$ ετών.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF), ένα λιποειδές που ανήκει στην κατηγορία των γλυκεριναιθερικών φωσφολιποειδών, συμμετέχει σε πολλές παθοφυσιολογικές καταστάσεις, δρώντας σε διάφορα κύτταρα και ιστούς. Ποικίλα ερεθίσματα ενεργοποιούν τις βιοσυνθετικές πορείες του PAF που οδηγούν στο σχηματισμό του και χαρακτηρίζουν, κατά κύριο λόγο, τη θρόμβωση και τη φλεγμονή. Οι δράσεις του PAF στον οργανισμό ελέγχονται από μηχανισμούς του καταβολισμού του οι οποίοι όταν υπολειτουργούν, οδηγούν σε αυξημένη μεταγωγή σήματος του PAF, με αποτέλεσμα την πρόκληση διαταραχών που σχετίζονται με την αλλεργία, το άσθμα, την αθηροσκλήρυνση, το διαβήτη, τις νόσους των νεφρών, τον καρκίνο και τη νόσο του AIDS, κοινό χαρακτηριστικό των οποίων είναι η φλεγμονή. Ο PAF συμμετέχει στη φλεγμονή μέσω της ενεργοποίησης φλεγμονωδών κυττάρων, της ενδοκυτταρικής μεταγωγής σήματος και της μεσολάβησης διακυτταρικών αλληλεπιδράσεων. Πειράματα *in vitro*, μελέτες σε πειραματόζωα, καθώς και κλινικές παρατηρήσεις σε ανθρώπους έχουν δείξει ότι η αναστολή των δράσεων του PAF επιδρά θετικά στη ρύθμιση της φλεγμονής.

Η αθηροκλήρυνση είναι μια χρόνια εκφυλιστική νόσος χαρακτηριζόμενη από φλεγμονώδεις διεργασίες, οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν οξεία κλινικά συμβάματα εξαιτίας της θρόμβωσης και της ρήξης της αθηρωματικής πλάκας. Οι συνήθεις παράγοντες κινδύνου για αθηροσκλήρυνση, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, το κάπνισμα, η οξειδωμένη LDL και η συστηματική φλεγμονή έχουν κοινό χαρακτηριστικό τα αυξημένα επίπεδα του PAF και των αναλόγων του. Ο PAF συμμετέχει σε διάφορα στάδια της αθηροσκλήρυνσης και προάγει την οξείδωση της LDL χοληστερόλης, τη φλεγμονή και τη θρόμβωση. Μάλιστα, κλινικές μελέτες έχουν δείξει υψηλές συγκεντρώσεις του PAF σε στεφανιαίες αρτηρίες κλινικές μελέτες σε ανθρώπους με προχωρημένη αθηροσκλήρυνση [106].

Η λυσο-PAF ακετυλοτρανσφεράση έχει εντοπιστεί σε διάφορους τύπους κυττάρων και ιστών, όπως βακτήρια, κατώτερα και ανώτερα ευκαρυωτικά κύτταρα, καθώς και σε ζωικούς ιστούς. Παραδείγματα κυττάρων όπου έχει ανιχνευθεί η λυσο-PAF AT είναι η *Escherichia Coli* [141], κύτταρα ασπόνδυλων [142], τα ουδετερόφιλα [143], τα

ηωσινόφιλα [144] και τα μονοκύτταρα [145] του ανθρώπου, τα περιτοναϊκά κύτταρα του επίμυος [146], τα αιμοπετάλια του ανθρώπου [147], [148] και του κουνελιού [148], [149], οι οστεοβλάστες και οστεοκλάστες του ποντικού [150] και τα μεσαγγειακά κύτταρα του ανθρώπου [151]. Παραδείγματα ζωικών ιστών όπου έχει ανιχνευθεί το ένζυμο είναι ο φλοιός του εγκεφάλου κουνελιών [152], ο πνεύμονας αρουραίου [153] και οι νεφροί ανθρώπου [154].

Η λυσο-PAF AT καταλύει το τελικό και ρυθμιστικό βήμα της βιοσύνθεσης του PAF μέσω της πορείας ανασχηματισμού. Μέχρι πρότινος, θεωρείτο ότι καταλύει τη σύνθεση του PAF σε συνθήκες φλεγμονής. Ωστόσο, η πρόσφατη κλωνοποίηση του ενζύμου αποκάλυψε την ύπαρξη 2 ισομορφών του που διαθέτουν διαφορετικές ιδιότητες [155], [156]. Η μια ισομορφή αφορά σε ένα διλειτουργικό ένζυμο, το οποίο σε συνθήκες ηρεμίας καταλύει το σχηματισμό φωσφατιδυλοχολίνης από λυσο-φωσφατιδυλοχολίνη και ακυλο-CoA και συμμετέχει, με αυτόν τον τρόπο, στη βιογένεση των κυτταρικών μεμβρανών, ενώ σε συνθήκες φλεγμονής, το ένζυμο αποκτά δραστικότητα ακετυλοτρανσφεράσης και καταλύει το σχηματισμό του PAF από λυσο-PAF και ακετυλο-CoA [155]. Η δεύτερη ισομορφή είναι μια πρωτεΐνη που δρα σε μη φλεγμονώδεις συνθήκες, δεν ενεργοποιείται από φλεγμονώδη σήματα και δεν απαιτεί Ca^{2+} για τη δραστικότητά της. Κάθε ισομορφή καταλύει το σχηματισμό του PAF σε ποσότητες που εξαρτώνται από το είδος του κυττάρου [156].

Η δραστικότητα της λυσο-PAF AT έχει βρεθεί ότι εκφράζεται στις ενδοκυτταρικές μεμβράνες, στην πλασματική μεμβράνη και σε κλάσματα του πυρήνα των κυττάρων. Η λυσο-PAF AT ενεργοποιείται από διάφορους παράγοντες, όπως η βακτηριογενής [157] ή ιογενής λοίμωξη [158], οι μεσολαβητές της φλεγμονής (π.χ. IL-1 [159], IL-8 [160], TNF- α [161], VEGF [162], αραχιδονικό οξύ [163], PAF [164], [165]), το οξειδωτικό στρες [166], χημειοτακτικοί παράγοντες [167], ο αυξητικός παράγοντας [168], νευροπεπτίδια [169] και μεσολαβητές της θρόμβωσης (π.χ. θρομβίνη [170]). Επίσης, η διατροφή παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της δραστικότητας της λυσο-PAF AT. Συγκεκριμένα, μελέτες σε πειραματόζωα και κύτταρα ανθρώπου έχουν δείξει ότι η πρόσληψη $\omega 3$ πολυακόρεστων λιπαρών οξέων από τη διατροφή ή με τη μορφή συμπληρώματος μειώνει τη σύνθεση του PAF μέσω της λυσο-PAF AT [171], [172]. Επιπρόσθετα, έχει βρεθεί ότι οι πολυφαινόλες [173], [174], [175], το

λυκοπένιο [176], η βιταμίνη Ε [177] και το σελήνιο [178] μειώνουν τη σύνθεση του PAF μέσω αναστολής της λυσο-PAF AT.

Η λυσο-PAF AT έχει μετρηθεί σε δύο κλινικές μελέτες που περιλαμβάνουν άτομα με κάποιο καρδιαγγειακό νόσημα. Πρόκειται για μια έρευνα «ασθενών – μαρτύρων», όπου έλαβαν μέρος 10 άνδρες μετά από πρόσφατο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και συγκρίθηκαν με 10 υγιείς άνδρες. Το κυριότερο εύρημα ήταν η μειωμένη δραστικότητα της λυσο-PAF AT των ουδετερόφιλων στο δείγμα των ασθενών, σε αντιδιαστολή με τα υψηλά επίπεδα του PAF [179]. Η δεύτερη μελέτη πραγματοποιήθηκε σε δείγμα 12 νεοδιαγνωσθέντων ανδρών με καρδιακή ανεπάρκεια στους οποίους μετρήθηκαν, μεταξύ άλλων, ο PAF και η λυσο-PAF AT στον ορό και τα λευκοκύτταρα των συμμετεχόντων. Ένα από τα σημαντικότερα ευρήματα ήταν η θετική συσχέτιση της δραστικότητας της λυσο-PAF AT με μόρια της φλεγμονής και της ανοσίας, όπως η CRP και η IL-6, τα οποία ανιχνεύονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στην περίπτωση της καρδιακής ανεπάρκειας [180]. Δεν υπάρχει άλλη δημοσιευμένη μελέτη που να έχει μετρήσει την ειδική δραστικότητα της λυσο-PAF AT των λευκοκυττάρων υπό οποιεσδήποτε κλινικές συνθήκες. Ωστόσο, η ειδική δραστικότητα της λυσο-PAF AT δεν έχει προσδιοριστεί σε ανθρώπους με προδιαθεσικούς παράγοντες για εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων, όπως η αυξημένη συγκέντρωση ολικής και LDL χοληστερόλης στο αίμα, καθώς και το αυξημένο σωματικό βάρος ούτε έχει αξιολογηθεί στο πλαίσιο μιας μελέτης παρέμβασης που έχει ως σκοπό τη βελτίωση των διατροφικών συνθηκών και του τρόπου ζωής. Επομένως, ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο προσδιορισμός της ειδικής δραστικότητας της λυσο-PAF AT των λευκοκυττάρων που απομονώθηκαν από το αίμα υπέρβαρων ατόμων με υπερχοληστερολαιμία στην αρχή της μελέτης, καθώς και μετά από 1 και 3 μήνες παρέμβασης με διατροφή και άσκηση, όπως, επίσης, και ο έλεγχος της ύπαρξης συσχετίσεων με ανθρωπομετρικούς και βιοχημικούς δείκτες που προδιαθέτουν σε φλεγμονή. Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, ο PAF παίζει σημαντικό ρόλο στην αθηρογένεση δεδομένου ότι ενεργοποιείται σε συνθήκες φλεγμονής, προάγει το οξειδωτικό στρες και την οξείδωση της LDL χοληστερόλης και συμμετέχει σε διάφορα στάδια της αθηροσκλήρυνσης. Η λυσο-PAF AT, ως τελικό ένζυμο της βιοσύνθεσης του PAF στην πορεία ανασχηματισμού που ενεργοποιείται σε συνθήκες φλεγμονής, θεωρείται

ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην αθηροσκλήρυνση, αλλά, προς το παρόν, δεν υπάρχει κάποια δημοσιευμένη μελέτη που να αναφέρει την παρουσία άμεσης σχέσης ανάμεσα στην ειδική δραστικότητα της λυσο-PAF AT με την υπερχοληστερολαιμία.

Το δείγμα της μελέτης αποτελείται από υπέρβαρους, με αυξημένη ολική χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη και C-αντιδρώσα πρωτεΐνη και με φυσιολογική συγκέντρωση HDL χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων και γλυκόζης. Κατά την έναρξη της παρέμβασης, οι άνδρες, που αποτελούν το ήμισυ του δείγματος, είναι υπέρβαροι, με φυσιολογική περιφέρεια μέσης, αυξημένο ποσοστό σωματικού λίπους, φυσιολογική συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, αυξημένη συγκέντρωση ολικής και LDL χοληστερόλης, φυσιολογική συγκέντρωση HDL χοληστερόλης, απολιποπρωτεΐνης A1 και B, τριγλυκεριδίων και γλυκόζης, καθώς και αυξημένη συγκέντρωση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης. Οι γυναίκες είναι υπέρβαρες, με φυσιολογική περιφέρεια μέσης, αυξημένο ποσοστό σωματικού λίπους, φυσιολογική συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, αυξημένη συγκέντρωση ολικής και LDL χοληστερόλης, φυσιολογική συγκέντρωση HDL χοληστερόλης, απολιποπρωτεΐνης A1 και B, τριγλυκεριδίων και γλυκόζης, καθώς και αυξημένη συγκέντρωση C-αντιδρώσας πρωτεΐνης.

Το σημαντικότερο εύρημα του πίνακα 5.3 είναι η σημαντικά αυξημένη δραστικότητα της λυσο-PAF AT στα λευκοκύτταρα των γυναικών έναντι αυτής των αντρών. Παρόμοιες μελέτες στις οποίες έχει μετρηθεί η λυσο-PAF AT των λευκοκυττάρων δεν έχουν ξαναγίνει οπότε αυτό το δεδομένο είναι λογικό να εμφανίζεται πρώτη φορά. Για τον ίδιο λόγο δεν μπορούν να συγκριθούν οι τιμές της ειδικής δραστικότητα της λυσο-PAF AT με αντίστοιχες τιμές άλλων μελετών. Συγκρίνοντας τα βιοχημικά και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά αντρών-γυναικών, η μόνη διαφορά δείκτη που θα μπορούσε να εξηγήσει και τη διαφορά στην λυσο-PAF AT είναι η αυξημένη συγκέντρωση φυλλικού οξέος στις γυναίκες σε σχέση με τους άντρες. Δυστυχώς, μελέτες της επίδραση της δράσης των ορμονών στη λυσο-PAF AT δεν έχουν γίνει και έτσι δεν μπορεί με τα παρόντα δεδομένα να υποστηριχτεί ότι η παρατηρούμενη διαφορά είναι και ορμονικής φύσης.

Οι συμμετέχοντες στη μελέτη τυχαιοποιήθηκαν σε 3 ομάδες βάσει του είδους της παρέμβασης. Η ομάδα ελέγχου έλαβε γενικές συμβουλές σε θέματα διατροφής και άσκησης για την πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων, η ομάδα του εικονικού προϊόντος θα συμμετείχε σε 7 συνεδρίες επικεντρωμένες σε θέματα διατροφικής συμπεριφοράς και σωματικής άσκησης, θα ακολουθούσε διαιτητικό σχήμα εναρμονισμένο με τις αρχές της Μεσογειακής Διατροφής και θα κατανάλωνε 3 μερίδες συμβατικού γάλακτος ημερησίως, ενώ η ομάδα πειραματικού προϊόντος θα συμμετείχε σε 7 συνεδρίες επικεντρωμένες σε θέματα διατροφικής συμπεριφοράς και σωματικής άσκησης, θα ακολουθούσε διαιτητικό σχήμα εναρμονισμένο με τις αρχές της Μεσογειακής Διατροφής και θα κατανάλωνε 3 μερίδες γάλακτος εμπλουτισμένου, κυρίως, με φυτοστερόλες, ημερησίως. Κατά την έναρξη της παρέμβασης, οι 3 ομάδες δε διέφεραν, σημαντικά, μεταξύ τους ως προς την ηλικία, τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, την αρτηριακή πίεση, τα βιοχημικά χαρακτηριστικά και την ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT (πίνακας 5.6).

Από το σύνολο των συσχετίσεων που πραγματοποιήθηκαν ανάμεσα στην ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT και διάφορους ανθρωπομετρικούς, βιοχημικούς και διατροφικούς δείκτες, συνεπής συσχέτιση, δηλαδή και στους 3 χρόνους της παρέμβασης, βρέθηκε μόνο με τη συγκέντρωση φυλλικού οξέος στο πλάσμα. Μάλιστα, η συσχέτιση που βρέθηκε, ήταν θετική. Μελέτες που να έχουν συσχετίσει το φυλλικό οξύ με την λυσο-PAF AT δεν έχουν ξαναγίνει. Είναι πιθανόν ο μεσολαβητής στη σχέση μεταξύ φυλλικού οξέος και λυσο-PAF AT να είναι η ομοκυστεΐνη. Είναι γνωστό ότι το φυλλικό οξύ μειώνει την ομοκυστεΐνη. Στη δική μας μελέτη η ομοκυστεΐνη εμφανίζει μία οριακά στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με τη λυσο-PAF AT. Συνεπώς μέσω της μείωσης της ομοκυστεΐνης είναι δυνατόν το φυλλικό οξύ να επάγει την αύξηση της λυσο-PAF AT. Βέβαια αυτό δεν είναι αναμενόμενο με την έως τώρα βιβλιογραφία αφού είναι γνωστό ότι η ομοκυστεΐνη επάγει το οξειδωτικό στρες το οποίο μπορεί να ενεργοποιήσει την λυσο-PAF AT (Sakamoto, 2002). Είναι λοιπόν προφανές, λαμβάνοντας υπόψη και τα πρόσφατα δεδομένα από την κλωνοποίηση του ενζύμου, ότι η ο παγιωμένος μέχρι στιγμής προ-φλεγμονώδης ρόλος του ενζύμου αυτού ίσως πρέπει να αναθεωρηθεί. Ωστόσο, αυτή η συσχέτιση χάνεται μετά από έλεγχο για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες, με σημαντικότερο το φύλο για το οποίο φαίνεται ότι μπορεί να

ερμηνεύσει τη συσχέτιση που βρέθηκε μεταξύ της ειδικής δραστηριότητας του ενζύμου και των αυτών των δύο βιοχημικών δεικτών.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε σύγκριση μεταξύ των 3 ομάδων της παρέμβασης, σε κάθε χρονική φάση αυτής, ως προς την ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT. Οι 3 ομάδες δε διέφεραν στην έναρξη της παρέμβασης, αλλά στον 1ο και 3ο μήνα η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT διέφερε σημαντικά μεταξύ των ανδρών των ομάδων παρέμβασης. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι, στον 1ο μήνα, η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT ήταν σημαντικά υψηλότερη στην ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος σε σύγκριση τόσο με την ομάδα ελέγχου όσο και με την ομάδα συμβατικού γάλακτος. Στον 3ο μήνα, η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT εξακολουθούσε να είναι σημαντικά υψηλότερη στην ομάδα εμπλουτισμένου γάλακτος συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, αλλά δε διέφερε σημαντικά από την ομάδα συμβατικού γάλακτος. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφέρουμε ότι οι τυπικές αποκλίσεις των μέσων όρων της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT σε κάθε ομάδα και χρονική φάση της παρέμβασης ήταν σημαντικά μεγαλύτερες στις γυναίκες συγκριτικά με τους άνδρες, που σημαίνει ότι η διασπορά των παρατηρήσεων της λυσο-PAF AT ήταν μεγαλύτερη στις γυναίκες, ενώ το δείγμα των ανδρών παρουσίαζε μεγαλύτερη ομοιογένεια. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην επίδραση των ορμονών του φύλου, οι οποίες μεταβάλλονται με την έμμηνο ρύση, αν και, όπως έχει ήδη αναφερθεί, δεν υπάρχουν μελέτες που να συσχετίζουν τη λυσο-PAF AT με τις γυναικείες ορμόνες. Συνεπώς, παρατηρούμε ότι, στο σύνολο του δείγματος, το είδος της παρέμβασης δε διαφοροποιεί σημαντικά την ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT. Η ίδια τάση φαίνεται ότι ισχύει και στις γυναίκες. Αντίθετα, στους άνδρες το είδος της παρέμβασης και συγκεκριμένα η χορήγηση του εμπλουτισμένου γάλακτος φαίνεται ότι οδηγεί σε αύξηση της ειδικής δραστηριότητας της λυσο-PAF AT. Σε μία προσπάθεια να βρεθεί αν αυτές οι μεταβολές της δραστηριότητας της λυσο-PAF AT οφείλονται σε μεταβολές κάποιου συγκεκριμένου βιοχημικού δείκτη συσχετίστηκε η μεταβολή της δραστηριότητας της λυσο-PAF AT μεταξύ B και F1 και μεταξύ B και F2 με τις αντίστοιχες μεταβολές των βιοχημικών και ανθρωπομετρικών δεικτών. Φάνηκε ότι η μεταβολή της συγκέντρωσης του φυλλικού οξέος στον ορό συσχετίζεται θετικά με τη μεταβολή της λυσο-PAF AT, γεγονός που επιβεβαιώνει τις συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν στους τρεις χρόνους παρέμβασης. Δεδομένου ότι το πειραματικό

γάλα είναι εμπλουτισμένο με φυλλικό οξύ αυτό πιθανόν εξηγεί την αυξημένη δραστηριότητα της λυσο-PAF AT στην ομάδα πειραματικού προϊόντος στους άντρες και ειδικά τον πρώτο μήνα παρέμβασης. Το γεγονός ότι στις γυναίκες η διαφορά αυτή δεν ήταν σημαντική πιθανόν να οφείλεται στο ότι οι γυναίκες ξεκίνησαν με υψηλότερα επίπεδα φυλλικού οξέος σε σχέση με τους άντρες και άρα η διαφορά στην πρόσληψη φυλλικού οξέος δεν ήταν τόσο έντονη όσο στους άντρες. Παράλληλα, το γεγονός ότι οι γυναίκες εμφάνιζαν μεγαλύτερη διασπορά τιμών της λυσο-PAF AT ίσως εξηγεί την αδυναμία της στατιστικής να αναδείξει ισχυρές συσχετίσεις μεταξύ της διαφοράς φυλλικού οξέος και της διαφοράς λυσο-PAF AT.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει και ο τρόπος με τον οποίο μεταβλήθηκε η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT μεταξύ των 3 χρονικών φάσεων της παρέμβασης στο σύνολο του δείγματος, όπου μετρήθηκε. Αναλυτικότερα, βρέθηκε ότι η ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT είναι υψηλότερη στον 1ο μήνα σε σύγκριση τόσο με την έναρξη της παρέμβασης όσο και με τον 3ο μήνα, ενώ δε διαφέρει σημαντικά από εκείνη στον 3ο μήνα της παρέμβασης. Ο διαχωρισμός του συνολικού δείγματος ως προς το είδος της παρέμβασης, έδειξε ότι δεν επηρεάζει σημαντικά τη μεταβολή της ειδικής δραστηριότητας του ενζύμου. Επομένως, φαίνεται ότι το είδος της παρέμβασης δε διαφοροποιεί την ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT σε μεγαλύτερο βαθμό από τη χρονική φάση της παρέμβασης.

Οι 62 υπέρβαροι, υπερχοληστερολαιμικοί συμμετέχοντες στην παρούσα μελέτη διατροφικής παρέμβασης συγκρίθηκαν με 52 υγιείς ανθρώπους, που έλαβαν μέρος σε συγχρονική μελέτη, ως προς την ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT. Η σύγκριση αυτή έγινε για να βρεθεί κατά πόσο η υπερχοληστερολαιμία μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα της λυσο-PAF AT. Οι δύο ομάδες διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους ως προς την ηλικία, την περιφέρεια μέσης, τη συγκέντρωση γλυκόζης, ολικής χοληστερόλης, HDL χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων και CRP στο πλάσμα, καθώς και ως προς την ειδική δραστηριότητα της λυσο-PAF AT. Ειδικότερα, οι υπερχοληστερολαιμικοί ήταν μεγαλύτεροι σε ηλικία, είχαν μεγαλύτερη περιφέρεια μέσης, υψηλότερη συγκέντρωση γλυκόζης, ολικής χοληστερόλης, HDL χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων στο πλάσμα, αλλά είχαν μικρότερη συγκέντρωση CRP και μικρότερη ειδική δραστηριότητα λυσο-PAF AT συγκριτικά με τους φυσιολογικούς. Συνεπώς, οι

δύο ομάδες διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους ως προς αρκετά χαρακτηριστικά, τα οποία, με τη σειρά τους, θα μπορούσαν να ερμηνεύσουν την παρατηρούμενη διαφορά στην ειδική δραστικότητα της λυσο-PAF AT. Επιπλέον, επειδή οι δύο ομάδες συμμετείχαν σε διαφορετικές μελέτες, είναι δυνατόν η διαφορετική μεθοδολογία που εφαρμόστηκε να επηρέασε τα αποτελέσματα των μελετών, με συνέπεια αυτά να μην είναι συγκρίσιμα. Θα ήταν προτιμότερο να σχεδιαστεί μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων που να περιλαμβάνει μια ομάδα φυσιολογικών και μια ομάδα υπερχοληστερολαιμικών οι οποίοι θα συγκρίνονται ως προς την ειδική δραστικότητα της λυσο-PAF AT, διατηρώντας τους περισσότερους ανθρωπομετρικούς και βιοχημικούς δείκτες σταθερούς προκειμένου να ερευνηθεί η επίδραση αποκλειστικά της ολικής και LDL χοληστερόλης στην ειδική δραστικότητα του ενζύμου.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

Κωδικός εξεταζομένου:

Ημερομηνία :

Όνομα:

Επώνυμο:

Λαμβάνετε κάποιο φάρμακο σε τακτική/ημερήσια βάση? ΝΑΙ ΟΧΙ

Όνομα σκευάσματος	Αιτία πρόσληψης	Διάρκεια Πρόσληψης

Λαμβάνετε κάποιο διατροφικό συμπλήρωμα ή τρόφιμο εμπλουτισμένο με φυτικές στερόλες ή ω-3 λιπαρά οξέα ή βιταμίνη Α, C, Ε τουλάχιστον μέρα παρά μέρα? ΝΑΙ ΟΧΙ

Όνομα σκευάσματος ή τροφίμου	Συχνότητα πρόσληψης (Δόση ανά εβδομάδα ή ημέρα)	Διάρκεια Πρόσληψης

Παρακαλούμε απαντήστε στις παρακάτω ερωτήσεις εάν καπνίζετε ή αν καπνίζατε στο παρελθόν:

Αριθμός Συνολικών Τσιγάρων ανά ημέρα	Χρόνια Καπνίσματος	Καπνίζατε στο παρελθόν; ΝΑΙ ΟΧΙ
		Πρίν πόσα χρόνια διακόψατε το κάπνισμα;

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β

ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ-ΑΝΑΚΛΗΣΗ 24ΩΡΟΥ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: _____

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ: ____ / ____ / ____

Κωδ. [____]

Κατάλογος τροφίμων που καταναλώθηκαν κατά την προηγούμενη ημέρα:

Ωρα	Είδος τροφής	Μάρκα τροφίμου	Ποσότητα τροφίμου	Τόπος κατανάλωσης
Πρόγευμα				
Ενδιάμεσα				
Μεσημεριανό				
Απογευματινό				
Δείπνο				
Προ ύπνου				

Παίρνεις συμπληρώματα διατροφής; **Ναι** **Όχι** **Αν Ναι. Τί είδους και πόσο συχνά;**

Είναι η παραπάνω μια τυπική σου μέρα;

- ☐ Ναι
- ☐ Όχι, κάνω δίαιτα
- ☐ Όχι, ήμουν άρρωστος/ η
- ☐ Όχι. νήστευα

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ

ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

Τον τελευταίο χρόνο (δηλαδή τους τελευταίους περίπου 12 μήνες) κάνετε κάποιο είδος οργανωμένης (π.χ γυμναστήριο, ποδόσφαιρο, κολυμβητήριο, αερόμπικ, τένις) ή συστηματικής άσκησης (π.χ έντονο περπάτημα-σκάλες, ποδηλασία, ρακέτες, ορειβασία) για τουλάχιστον μία-δύο φορές την εβδομάδα και για περισσότερο από 20 λεπτά τη φορά στον ελεύθερο χρόνο σας;

Είδος άσκησης	Κατηγορία έντασης	Φορές * ώρες την εβδομάδα	Συνολικά χρόνια (ή μήνες) απασχόλησης
(παράδειγμα): γρήγορο περπάτημα	B	1,5 ώρες (3 φορές * 30 λεπτά)	9 μήνες

Πόσες ώρες, κατά μέσο όρο, βλέπετε τηλεόραση τις καθημερινές;

Πόσες ώρες, κατά μέσο όρο, βλέπετε τηλεόραση το Σαββατοκύριακο;.....

ΑΝΑΚΛΗΣΗ ΦΥΣΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: _____

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ: ____ / ____ / ____

Κωδ. [][][][]

Φυσικές δραστηριότητες που πραγματοποιήθηκαν κατά την προηγούμενη ημέρα:

Λέξεις ημερας	Διαρκεια οραστηριοτητας	Εισοδος οραστηριοτητας	Ενταση οραστηριοτητας
7-8 π.μ.			
8-9 π.μ.			
9-10 π.μ.			
10-11 π.μ.			
11-12 π.μ.			
12-1 μ.μ			
1-2 μ.μ.			
2-3 μ.μ.			
3-4 μ.μ.			
4-5 μ.μ.			
5-6 μ.μ.			
6-7 μ.μ.			
7-8 μ.μ.			
8-9 μ.μ.			
9-10 μ.μ.			
10-11 μ.μ.			
11-12 μ.μ.			

Κατηγοριοποίηση της εργασίας, άσκησης, δραστηριοτήτων αναψυχής σε 3 ομάδες με βάση τη μέση συχνότητά τους στο καρδιαγγειακό σύστημα.

A: Χαμηλής έντασης για το καρδιαγγειακό σύστημα (<4 MET)

A1: Χειρωνακτική εργασία.

A2: Δραστηριότητα αναψυχής.

B: Μέτριας έντασης για το καρδιαγγειακό σύστημα (4-7 MET)

B1: Χειρωνακτική εργασία.

B2: Δραστηριότητα αναψυχής

Γ: Μέτριας έντασης για το καρδιαγγειακό σύστημα (>7 MET)

Γ1: Χειρωνακτική εργασία με

Γ2: Δραστηριότητα αναψυχής

A1	Ελαφριές οικιακές εργασίες όπως: Πλύσιμο πιάτων, καθαρισμός δαπέδων, μαγείρεμα
A2	Ορθοστασία – κάθισμα, παίξιμο χαρτιών, ζωγραφική, σκάκι.
B1	Μέσης έντασης δραστηριότητες αναψυχής όπως: Κηπουρική, μεταφορά γλαστρών, ξύσιμο και καθαρισμός δαπέδων, μεταφορά αντικειμένων, σκάψιμο.
B2	Χορός, αεροβική (μέτριας έντασης), άσκηση με βάρη, Ποδηλασία (για ευχαρίστηση), περπάτημα (για ευχαρίστηση).
Γ1	Οικοδομικές εργασίες και γενικά βαριές χειρωνακτικές εργασίες,
Γ2	Ανέβασμα σε βουνό – σκαλοπάτια, αεροβική με στεπ, αεροβική έντονη με βάρη, Ποδηλασία σε βουνό, κολύμπι.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Δ

Theoretical framework and analytical contents of each session of the health and nutrition education program

Session	Theoretical framework	Analytical content
1	Perceived severity	• What is cardiovascular disease?
	Perceived susceptibility	• Epidemiology of cardiovascular disease
	Cues to action	• Ways to reduce risk factors
2	Perceived Benefits	• Guidelines for balanced diet
	Perceived Barriers	• Macronutrients (general introduction)
		• Food groups
3	Perceived Benefits	• Daily energy requirements
	Self-efficacy	• Meal planning
4	Perceived Benefits	• Guidelines for balanced diet
	Perceived Barriers	• Focus on lipids and dietary fatty acids
		• Fasting (benefits, healthy choices)
5	Perceived Barriers	• Physical activity guidelines
	Self-efficacy	• Balanced diet plan for men and women
6	Self-efficacy	• Food labels
		• Conservatives
7		• Review

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ε

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΕΞΕΤΑΣΕΩΝ

Παράμετρος	Φυσιολογική Τιμή
Χοληστερόλη Ολική (mg/ dL)	Φυσιολογική <200 Οριακά αυξημένη 200-240 Αυξημένη >240
Τριγλυκερίδια (mg/ dL)	Φυσιολογικά <150 Οριακά αυξημένα 150-200 Αυξημένα 200-400
Χοληστερόλη LDL (mg/ dL)	Φυσιολογική 80-130 Οριακά αυξημένη 130-160 Αυξημένη >160
Χοληστερόλη HDL (mg/ dL)	>40
Λόγος :Ολικής χοληστερόλης/HDL	<4
Γλυκόζη (mg/ dL)	70-115
Αλκαλική Φωσφατάση (U/L)	Άντρες 98-261 Γυναίκες 81-299
Οξαλοξική Τρανσαμινάση (U/L)	Άντρες <46 Γυναίκες <38
Πυροσταφυλική Τρανσαμινάση (U/L)	Άντρες <61 Γυναίκες <51
Κρεατινίνη (mg/ dL)	Άντρες 0.8-1.3 Γυναίκες 0.6-1.1
Ελεύθερη T4 (ng/ dL)	0.7-1.8
Θυρεοτρόπος Ορμόνη (mUI/mL)	0.350-4.940
Απολιποπρωτεΐνη A1 (mg/ dL)	Άντρες 94-178 Γυναίκες 101-199
Απολιποπρωτεΐνη B (mg/ dL)	Άντρες 55-140 Γυναίκες 55-125
C αντιδρώσα πρωτεΐνη (mg/ dL)	<0.38

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΣΤ

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ

1) ΔΕΙΚΤΗΣ ΜΑΖΑΣ ΣΩΜΑΤΟΣ: Το ύψος και το σωματικό σας βάρος προσδιορίζει τον Δείκτη Μάζας Σώματος σας $[\Delta\text{ΜΣ} = \text{βάρος} / (\text{ύψος})^2]$. Με βάση τον Δείκτη Μάζας Σώματος ανήκετε σε μία από τις παρακάτω κατηγορίες:

< 18.5 Ελλιποβαρής	18,5 – 25 Φυσιολογικός	25 – 30 Υπέρβαρος	>30 Παχύσαρκος
--	---	------------------------------------	------------------------------------

2) ΠΟΣΟΣΤΟ ΣΩΜΑΤΙΚΟΥ ΛΙΠΟΥΣ

ΑΝΔΡΕΣ	
Ηλικία 40-60	20-27%
ΓΥΝΑΙΚΕΣ	
Ηλικία 40-50	26-33%

3) ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ

ΑΝΔΡΕΣ	
< 102 cm	
ΓΥΝΑΙΚΕΣ	
< 88 cm	

4) ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΠΙΕΣΗ

ΣΥΣΤΟΛΙΚΗ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΠΙΕΣΗ	
<140 mmHg	
ΔΙΑΣΤΟΛΙΚΗ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΠΙΕΣΗ	
<90 mmHg	

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] Walter HJ. Statistical fact sheet-populations: International Cardiovascular Disease Statistics. In: American Heart Association, 2004.
- [2] www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/print.html
- [3] British Heart Foundation. European Cardiovascular Disease Statistics, 2008 Edition.
- [4] Atlas of Heart Disease and Stroke, WHO, September 2004.
- [5] www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/print.html
- [6] Statistical fact sheet-populations, 2009 Update: International Cardiovascular Disease Statistics. In: American Heart Association.
- [7] Τριχόπουλος Δ, Πετρίδου Ε. «Επιδημιολογία και πρόληψη στεφανιαίας νόσου». Στο βιβλίο Προληπτική Ιατρική και Δημόσια Υγεία, επιμέλεια Τριχόπουλος Δ. – Καλαποθάκη Β. – Πετρίδου Ε. Εκδόσεις «ΖΗΤΑ», Β' Έκδοση 2001.
- [8] Τριχόπουλος Δ, Πετρίδου Ε. «Η φιλοσοφία της προληπτικής ιατρικής». Στο βιβλίο Προληπτική Ιατρική και Δημόσια Υγεία, επιμέλεια Τριχόπουλος Δ. – Καλαποθάκη Β. – Πετρίδου Ε. Εκδόσεις «ΖΗΤΑ», Β' Έκδοση 2001.
- [9] Kris-Etherton PM, Etherton TD, Carlson J, Gardner C. Recent discoveries in inclusive food-based approaches and dietary patterns for reduction in risk for cardiovascular disease. Curr Opin Lipidol, 2002, 13: 397.
- [10] Vander A, Sherman J, Luciano D, Τσακόπουλος Μ. Φυσιολογία του ανθρώπου: Μηχανισμοί της λειτουργίας του οργανισμού. Επιμέλεια Γελαδάς Ν, Τσακόπουλος Μ. Ιατρικές εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης, 8^η έκδοση, 2001, τόμος II.

- [11] Ramzi S. Cotran, Vinay Kumar, Tucker Collins, Stanley L. Robbins. Robbins Pathologic Basis of Disease, Philadelphia: W.B Saunders Company, 1998.
- [12] Νομικός Τ. Διατροφή και συστηματική φλεγμονή. Πρακτικά Σεμιναρίου «Η Βιοχημεία της Διατροφής», 6^ο Σεμινάριο Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης, Ελληνική Εταιρεία Κλινικής Χημείας – Κλινικής Βιοχημείας, 2007.
- [13] Neha Mathur and Bente Klarlund Pedersen. Review Article: Exercise as a Mean to Control Low-Grade Systemic Inflammation. Mediators of Inflammation Volume 2008, Article ID 109502, 6 pages.
- [14] Russel Ross. Atherosclerosis - An Inflammatory disease. The New England Journal of Medicine, 1999, 340: 115 - 126.
- [15] Brian D. Lamon and David P. Hajjar. Inflammation at the Molecular Interface of Atherogenesis, An Anthropological Journey. Am J Pathol, 2008, 173: 1253 – 1264.
- [16] Godfrey S. Getz. Immune function in atherogenesis. Journal of Lipid Research, 2005, 46: 1 – 10.
- [17] McPhee Stephen, Μουτσόπουλος Χαράλαμπος. Παθολογική Φυσιολογία. Επιμέλεια – Μετάφραση Δουράτσος Δημήτριος, Λιναρδάκη Γαρυφαλλιά. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, 2000.
- [18] Göran K. Hansson, Peter Libby, Uwe Schönbeck, Zhong-Qun Yan. Innate and Adaptive Immunity in the Pathogenesis of Atherosclerosis. Circulation Research, 2002, 91: 281 – 291.
- [19] Göran K Hansson. Immune Mechanisms in Atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21: 1876 – 1890.
- [20] Vishal C. Mehra, Vinod S. Ramgolam, Jeffrey R. Bender. Cytokines and cardiovascular disease. Journal of Leukocyte Biology, 2005, 78: 805 – 818.

- [21] René R. S. Packard and Peter Libby. Inflammation in Atherosclerosis: From Vascular Biology to Biomarker Discovery and Risk Prediction. Clinical Chemistry, 2008, 54: 24 – 38.
- [22] P. P. Toth. Subclinical atherosclerosis: what it is, what it means and what we can do about it. Int J Clin Pract, 2008, 62:1246 – 1254.
- [23] M. John Chapman. Atherogenicity of Low-density Lipoproteins: Mechanisms. Στο Plasma Lipids and their Role in Disease, επιμέλεια Philip J. Barter και Kerry – Anne Rye. Harwood Academic Publishers, 1999.
- [24] Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Journal of the American Medical Association, 2001, 285: 2486 – 2497.
- [25] www.emedicine.com/med/topic182.htm
- [26] Alain Tedgui and Ziad Mallat. Cytokines in Atherosclerosis: Pathogenic and Regulatory Pathways. Physiological Reviews, 2006, 86: 515 – 581.
- [27] Daniel T. Price, Joseph Loscalzo. Cellular Adhesion Molecules and Atherogenesis. The American Journal of Medicine, 1999, 107: 85 – 97.
- [28] Bjarne Østerud and Eirik Bjørklid. Role of Monocytes in Atherogenesis. Physiol Rev, 2003, 83: 1069–1112.
- [29] Roland Stocker and John F. Keaney, JR. Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. Physiological Reviews, 2004, 84: 1381 – 1478.
- [30] E.A. Kaperonis, C.D. Liapis, J.D. Kakisis, D. Dimitroulis and V.G. Papavassiliou. Inflammation and Atherosclerosis. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2006, 31: 386 – 393.

- [31] Michel Félétou and Paul M. Vanhoutte. Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 291: 985 – 1002.
- [32] Yukihiro Higashi, Kensuke Noma, Masao Yoshizumi, Yasuki Kihara. Endothelial Function and Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases. *Circulation Journal* 2009; 73: 411 – 418.
- [33] Mitchell Richard Sheppard, Kumar Vinay, Abbas Abul K., Fausto Nelson (2007). *Robbins Basic Pathology: With STUDENT CONSULT Online Access*. Philadelphia: Saunders. pp. 345. [ISBN 1-4160-2973-7](#). 8th edition.
- [34] Rosa M. Ortega, Ana Palencia and Ana M López-Sobaler. Improvement of cholesterol levels and reduction of cardiovascular risk via the consumption of phytosterols. *British Journal of Nutrition*, 2006, 96: S89 – S93.
- [35] Alice H. Lichtenstein. Plant sterols and blood lipid levels. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 2002, 5: 147 - 152.
- [36] Mohammed H. Moghadasian, Jiri J. Frohlich. Effects of Dietary Phytosterols on Cholesterol Metabolism and Atherosclerosis: Clinical and Experimental Evidence. *The American Journal of Medicine*, 1999, 107: 588 –594.
- [37] Lars H. Ellegård, Susan W. Andersson, A. Lena Normén, and Henrik A. Andersson. Dietary Plant Sterols and Cholesterol Metabolism. *Nutrition Reviews*, 2007, 65: 39 – 45.
- [38] Gilbert R. Thompson and Scott M. Grundy. History and Development of Plant Sterol and Stanol Esters for Cholesterol-Lowering Purposes. *The American Journal of Cardiology*, 2005, 96: 3D – 9D.
- [39] Jean-Michel Lecerf. Phytostérols et risque cardiovasculaire. *Nutrition clinique et métabolisme*, 2007, 21: 17 – 27.

- [40] H.A.W. Neil, R.R. Huxley. Efficacy and therapeutic potential of plant sterols. *Atherosclerosis Supplements*, 2002, 3: 11 – 15.
- [41] Scott M. Grundy. Stanol Esters as a Component of Maximal Dietary Therapy in the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Report. *The American Journal of Cardiology*, 2005, 96: 47D – 50D.
- [42] Laura Calpe-Berdiel, Joan Carles Escolà-Gil, Francisco Blanco-Vaca. New insights into the molecular actions of plant sterols and stanols in cholesterol metabolism. *Atherosclerosis*, 2009, 203: 18 – 31.
- [43] Leena Seppo, Tiina Jauhiainen, Riikka Nevala, Tuija Poussa, Riitta Korpela. Plant stanol esters in low-fat milk products lower serum total and LDL cholesterol. *European Journal of Nutrition*, 2007, 46: 111 – 117.
- [44] Craig S Patch, Linda C Tapsell, Peter G Williams, Michelle Gordon. Plant sterols as dietary adjuvants in the reduction of cardiovascular risk: theory and evidence. *Vascular Health and Risk Management*, 2006, 2: 157 – 162.
- [45] Peter J.H. Jones and Suhad S. AbuMweis. Phytosterols as functional food ingredients: linkages to cardiovascular disease and cancer. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2009, 12: 147 – 151.
- [46] Jogchum Plat and Ronald P. Mensink. Plant Stanol and Sterol Esters in the Control of Blood Cholesterol Levels: Mechanism and Safety Aspects. *The American Journal of Cardiology*, 2005, 96:15D–22D.
- [47] J. Quílez, P. García-Lorda, J. Salas-Salvadó. Potential uses and benefits of phytosterols in diet: present situation and future directions. *Clinical Nutrition*, 2003, 22: 343 – 351.

- [48] Linda Van Horn, Mikelle McCain, Penny M. Kris-Etherton, Frances Burke, Jo Ann S. Carson, Catherine M. Champagne, Wahida Karmally, Geeta Sikand. The Evidence for Dietary Prevention and Treatment of Cardiovascular Disease. *Journal of the American Dietetic Association*, 2008, 108: 287 - 331.
- [49] Tricia L. Psota, Sarah K. Gebauer, and Penny Kris-Etherton. Dietary Omega-3 Fatty Acid Intake and Cardiovascular Risk. *The American Journal of Cardiology*, 2006, 98: 3i – 18i.
- [50] Maggie B. Covington. Omega-3 Fatty Acids. *American Family Physician*, 2004, 70: 133 - 140.
- [51] Philip C. Calder. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored. *Clinical Science*, 2004, 107: 1 – 11.
- [52] Gian Luigi Russo. Dietary n - 6 and n - 3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochemical pharmacology*, 2009, 77: 937 – 946.
- [53] Mahinda Y. Abeywardena, Richard J. Head. Longchain n-3 polyunsaturated fatty acids and blood vessel function. *Cardiovascular Research*, 2001, 52: 361 – 371.
- [54] Marguerite M. Engler, Mary B. Engler. Omega-3 Fatty Acids: Role in Cardiovascular Health and Disease. *Journal of Cardiovascular Nursing*, 2006, 21: 17 - 24.
- [55] Philip C Calder. n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2006, 83: 1505S – 19S.
- [56] Clemens von Schacky, William S. Harris. Cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids. *Cardiovascular Research*, 2007, 73: 310 – 315.

- [57] Eric J. Chan, Leslie Cho. What can we expect from omega-3 fatty acids? *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 2009, 76: 245 – 251.
- [58] Michael H. Davidson. Mechanisms for the Hypotriglyceridemic Effect of Marine Omega-3 Fatty Acids. *The American Journal of Cardiology*, 2006, 98: 27i – 33i.
- [59] Harold E. Bays, Ann P. Tighe, Richard Sadovsky, Michael H. Davidson. Prescription omega – 3 fatty acids and their lipid effects: physiologic mechanisms of action and clinical implications. *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.*, 2008, 6: 391 – 409.
- [60] U.N.Das. Beneficial effect(s) of n-3 fatty acids in cardiovascular diseases: but, why and how? *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential FattyAcids*, 2000, 63: 351 - 362.
- [61] John H. Lee, James H. O’Keefe, Carl J. Lavie, Roberto Marchioli and William S. Harris. Omega-3 Fatty Acids for Cardioprotection. *Mayo Clinic Proceedings*, 2008, 83: 324 - 332.
- [62] Artemis P. Simopoulos. The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Exp Biol Med*, 2008, 233: 674 – 688.
- [63] Alice H. Lichtenstein. Dietary fat, carbohydrate, and protein: effects on plasma lipoprotein patterns. *Journal of Lipid Research*, 2006, 47: 1661 – 1667.
- [64] Alberto Ascherio. Trans fatty acids and blood lipids. *Atherosclerosis Supplements*, 2006, 7: 25 – 27.
- [65] Frank M. Sacks, Martijn Katan. Randomized Clinical Trials on the Effects of Dietary Fat and Carbohydrate on Plasma Lipoproteins and Cardiovascular Disease. *The American Journal of Medicine*, 2002, 113: 13S – 24S.

- [66] Arpita Basu, Sridevi Devaraj and Ishwarlal Jialal. Dietary Factors That Promote or Retard Inflammation. *Arteriosclerosis. Thrombosis, and Vascular. Biology*, 2006, 26: 995 - 1001.
- [67] D Mozaffarian, A Aro and WC Willett. Health effects of trans-fatty acids: experimental and observational evidence. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2009, 63: S5 – S21.
- [68] J. Lunn. Monounsaturates in the diet. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*, 2007, 32: 378 – 391.
- [69] Javier S. Perona, Rosana Cabello-Moruno, Valentina Ruiz-Gutierrez. The role of virgin olive oil components in the modulation of endothelial function. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2006, 17: 429 – 445.
- [70] Frank B. Hu; Walter C. Willett. Optimal Diets for Prevention of Coronary Heart Disease. *JAMA*, 2002, 288: 2569 - 2578.
- [71] Parin Parikh, Michael C. McDaniel, M. Dominique Ashen, Joseph I. Miller, Matthew Sorrentino, Vicki Chan, Roger S. Blumenthal, Laurence S. Sperling. Diets and Cardiovascular Disease An Evidence-Based Assessment. *Journal of the American College of Cardiology*, 2005, 45: 1379 – 87.
- [72] Arja Erkkilä, Vanessa D.F. de Mello, Ulf Risérus, David E. Laaksonen. Dietary fatty acids and cardiovascular disease: An epidemiological approach. *Progress in Lipid Research*, 2008, 47: 172 – 187.
- [73] Donald K Layman, Peter Clifton, Mary C Gannon, Ronald M Krauss, and Frank Q Nuttall. Protein in optimal health: heart disease and type 2 diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2008, 87: 1571S – 5S.
- [74] J H Cummings, J I Mann, C Nishida, H H Vorster. Dietary fibre: an agreed definition. *The Lancet*, 2009, 373,: 365 – 366.

- [75] Arja T. Erkkilä, Alice H. Lichtenstein. Fiber and Cardiovascular Disease Risk: How Strong Is the Evidence? *Journal of Cardiovascular Nursing*, 2006, 21: 3 - 8.
- [76] JL Slavin, V Savarino, A Paredes-Diaz and G Fotopoulos. A Review of the Role of Soluble Fiber in Health with Specific Reference to Wheat Dextrin. *The Journal of International Medical Research*, 2009, 37: 1 – 17
- [77] James W Anderson, Pat Baird, Richard H Davis Jr, Stefanie Ferreri, Mary Knudtson, Ashraf Koraym, Valerie Waters, and Christine L Williams. Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 2009, 188: 188 – 205.
- [78] Elke Theuvsen, Ronald P. Mensink. Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. *Physiology & Behavior*, 2008, 94: 285 – 292.
- [79] Dana E. King. Dietary fiber, inflammation, and cardiovascular disease. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2005, 49: 594 – 600.
- [80] A.C. Kaliora, G.V.Z. Dedoussis, H. Schmidt. Dietary antioxidants in preventing atherogenesis. *Atherosclerosis*, 2006, 187: 1 – 17.
- [81] Richard J. Johnson, Eric A. Gaucher, Yuri Y. Sautin, George N. Henderson, Alex J. Angerhofer, Steven A. Benner. The planetary biology of ascorbate and uric acid and their relationship with the epidemic of obesity and cardiovascular disease. *Medical Hypotheses*, 2008, 71: 22 – 31.
- [82] S. Honarbakhsh and M. Schachter. Vitamins and cardiovascular disease. *British Journal of Nutrition*, 2009, 101: 1113 – 1131.
- [83] Yi Li and Herb E. Schellhorn. New Developments and Novel Therapeutic Perspectives for Vitamin C. *The Journal of Nutrition*, 2007, 137: 2171–2184.
- [84] Chandan K. Sen, Savita Khanna, Sashwati Roy. Tocotrienols in health and disease: The other half of the natural vitamin E family. *Molecular Aspects of Medicine*, 2007, 28: 692 – 728.

- [85] Sari Voutilainen, Tarja Nurmi, Jaakko Mursu, and Tiina H Rissanen. Carotenoids and cardiovascular health. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2006, 83: 1265 – 71.
- [86] Norman I. Krinsky, Elizabeth J. Johnson. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 2005, 26: 459 – 516.
- [87] An L. Moens, Christiaan J. Vrints, Marc J. Claeys, Jean-Pierre Timmermans, Hunter C. Champion, and David A. Kass. Mechanisms and potential therapeutic targets for folic acid in cardiovascular disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 294: H1971–H1977.
- [88] Giuseppe (Joe) Mazza. Anthocyanins and heart health. *Ann Ist Super Sanità*, 2007, 43: 369 - 374.
- [89] Augustin Scalbert, Ian T Johnson, and Mike Saltmarsh. Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2005, 81: 215S – 7S.
- [90] Ilja CW Arts and Peter CH Hollman. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2005, 81: 317S – 25S.
- [91] Joseph A Vita. Polyphenols and cardiovascular disease: effects on endothelial and platelet function. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2005, 81: 292S – 7S.
- [92] Michael R. Peluso. Flavonoids Attenuate Cardiovascular Disease, Inhibit Phosphodiesterase, and Modulate Lipid Homeostasis in Adipose Tissue and Liver. *Experimental Biology and Medicine*, 2006, 231: 1287 – 1299.
- [93] Carmela Santangelo, Rosaria Vari, Beatrice Scazzocchio, Roberta Di Benedetto, Carmela Filesi and Roberta Masella. Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanità*, 2007, 43: 394 - 405.

- [94] Joo-Heon Yoon and Seung Joon Baek. Molecular Targets of Dietary Polyphenols with Anti-inflammatory Properties. *Yonsei Med J.*, 2005, 46: 585 – 596.
- [95] Lionel H. Opie and Sandrine Lecour. The red wine hypothesis: from concepts to protective signalling molecules. *European Heart Journal*, 2007, 28: 1683 – 1693.
- [96] Mario Dell’Agli, Alessandra Buscialà, Enrica Bosisio. Vascular effects of wine polyphenols. *Cardiovascular Research*, 2004, 63: 593 – 602.
- [97] Gemma Flores-Mateo, Ana Navas-Acien, Roberto Pastor-Barriuso, and Eliseo Guallar. Selenium and coronary heart disease: a meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2006, 84: 762 – 773.
- [98] Ana Navas-Acien, Joachim Bleys, and Eliseo Guallar. Selenium intake and cardiovascular risk: what is new? *Current Opinion in Lipidology*, 2008, 19: 43 – 49.
- [99] Bleys J, Miller ER III, Pastor-Barriuso R, et al. Vitamin-mineral supplementation and the progression of atherosclerosis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*, 2006, 84: 880 – 887.
- [100] David R. Jacobs, and Linda C. Tapsell. Food, Not Nutrients, Is the Fundamental Unit in Nutrition. *Nutrition Reviews*, 2007, 65: 439 – 450.
- [101] Κωνσταντίνος Α. Δημόπουλος, Σμαραγδή Αντωνοπούλου. Βασική Βιοχημεία. Αθήνα 2000.
- [102] David L. Nelson, Michael M. Cox. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 4th edition, New York. Freeman and Company, 2005.
- [103] Benveniste J, Henson PM, and Cochrane CG. Leukocyte-dependent histamine release from rabbit platelets: the role of IgE, basophils, and platelet-activating factor. *J Exp Med*, 1972, 136: 1356 – 1377.

[104] Demopoulos CA, Pinckard RN, and Hanahan DJ. Platelet activating factor. Evidence for 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine as the active component (a new class of lipid chemical mediators). J Biol Chem, 1979, 254: 9355 – 9358.

[105] Νομικός Τ. Μελέτη του μεταβολισμού του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) σε ανθρώπινο νεφρό και της συμμετοχής του στην πρόκληση σπειραματονεφρίτιδας. Διδακτορική Διατριβή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας, Αθήνα 2002.

[106] Smaragdi Antonopoulou, Tzortzis Nomikos, Haralabos C. Karantonis, Elizabeth Fragopoulou and Constantinos A. Demopoulos. PAF, a potent lipid mediator. Bioactive Phospholipids. Role in Inflammation and Atherosclerosis, 2008: 85 - 134.

[107] Οικονόμου Αλεξάνδρα. Διδακτορική Διατριβή: «Διερεύνηση της ύπαρξης του Παράγοντα Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF) ή άλλων μεσολαβητών σε κυανοφύκη σπηλαίων», Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής, Αθήνα 2004.

[108] Tzortzis Nomikos, Elizabeth Fragopoulou, and Smaragdi Antonopoulou. Food Ingredients and Lipid Mediators. Current Nutrition & Food Science, 2007, 3: 255 - 276.

[109] Giuseppe MontRucchio, Giuseppe Alloatti, and Giovanni Camussi. Role of Platelet-Activating Factor in Cardiovascular Pathophysiology. Physiol Rev, 2000, 80: 1669 - 1699.

[110] Snyder F, Platelet-activating factor and its analogs, metabolic pathways and related intracellular processes. Biochim.Biophys.Acta, 1995, 1254, 231-249.

[111] Snyder F, Platelet-activating factor, the biosynthetic and catabolic enzymes. Biochem.J., 1995, 305, 689-705.

- [112] Baker RR. Lipid acetylation reactions and the metabolism of platelet-activating factor. *Neurochem Res.* 2000 May;25(5):677-83.
- [113] Fred Snyder. Platelet-activating factor: the biosynthetic and catabolic enzymes. *Biochem. J.*, 1995, 305: 689 - 705.
- [114] Tjoelker LW, Stafforini DM, Platelet-activating factor acetylhydrolases in health and disease. *Biochim.Biophys.Acta*, 2000, 1488, 102-123.
- [115] Derewenda ZS, Ho YS, PAF-acetylhydrolases. *Biochim.Biophys.Acta*, 1999, 1441, 229-236.
- [116] Stafforini DM, Tjoelker LW, Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. *Methods Mol.Biol.*, 1999, 109, 49-58.
- [117] Derewenda ZS, Derewenda U, The structure and function of platelet-activating factor acetylhydrolases. *Cell.Mol.Life Sci.*, 1998, 54, 446-455.
- [118] Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM, Platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma. *Methods Enzymol.*, 1990, 187, 344-357.
- [119] Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM, Platelet-activating factor acetylhydrolase in human erythrocytes. *Methods Enzymol.*, 1991, 197, 411-425.
- [120] Stafforini DM, Prescott SM, Zimmerman GA, McIntyre TM, Mammalian platelet-activating factor acetylhydrolases. *Biochim.Biophys.Acta*, 1996, 1301, 161-173.
- [121] Tjoelker LW, Eberhardt C, Wilder C, Dietsch G, Trong HL, Cousens LS, Zimmerman GA, McIntyre TM, Stafforini DM, Prescott SM, Gray PW, Functional and structural features of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. *Adv.Exp.Med.Biol.*, 1996, 416, 107-111.

- [122] Arai H, Koizumi H, Aoki J, Inoue K, Platelet-Activating Factor acetylhydrolase (PAF-AH). *J.Biochem (Tokyo)*, 2002, 131, 635-40.
- [123] Prescott SM, Zimmerman GA, Stafforini DM, McIntyre TM. Platelet activating factor and related lipid mediators. *Annu Rev Biochem*, 2000, 69: 419 – 445.
- [124] Honda Z, Ishii S, Shimizu T. Platelet-activating factor receptor. *J Biochem (Tokyo)*, 2002, 131: 773 - 9.
- [125] Izumi T, Honda Z, Mutoh H, Kume K, Shimizu T. Regulation and signal transduction of PAF receptor. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res*, 1995, 23: 461 - 6.
- [126] Marrache AM, Gobeil F, Zhu T, Chemtob S. Intracellular signaling of lipid mediators via cognate nuclear G protein-coupled receptors. *Endothelium*, 2005, 12: 63 - 72.
- [127] Liapikos TA, Antonopoulou S, Karabina SP, Tsoukatos DC, Demopoulos CA, Tselepis AD. Platelet-activating factor formation during oxidative modification of low-density lipoprotein when PAF-acetylhydrolase has been inactivated. *Biochim Biophys Acta*, 1994, 1212: 353 - 360.
- [128] Constantinos A. Demopoulos, Haralabos C. Karantonis, Smaragdi Antonopoulou. Platelet activating factor - a molecular link between atherosclerosis theories. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2003, 105: 705 – 716.
- [129] Bussolino F, Camussi G, Aglietta M, Braquet P, Bosia A, Pescarmona G, Sanavio F, D'Urso N, and Marchisio PC. Endothelial cells are targets for platelet activating factor. Platelet activating factor induces changes in cytoskeleton structure. *J Immunol*, 1987, 139: 2439 – 2446.
- [130] Prescott SM, Zimmerman GA, and McIntyre TM. Human endothelial cells in culture produce platelet-activating factor when stimulated with thrombin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81: 3534 – 3538.

- [131] Lorant DE, Tophan MK, Whatley RE, McEver RE, McIntyre RP, Prescott SM, and Zimmerman GA. Inflammatory roles of P-selectin. *J Clin Invest*, 1993, 92: 559 – 570.
- [132] Ewa Ninio. Phospholipid mediators in the vessel wall: involvement in atherosclerosis. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 2005, 8: 123 – 131.
- [133] C. A. Demopoulos, S. Antonopoulou: A discovery trip to compounds with PAF-like activity. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1996, 416: 59 - 63.
- [134] T. A. Liapikos, S. Antonopoulou, S. P. Karabina, D. C, Tsoukatos, C. A. Demopoulos, A. D. Tselepis. Platelet-activating factor formation during oxidative modification of low density lipoprotein when PAF-acetylhydrolase has been inactivated. *Biochim. Biophys. Acta* 1212 (1994) 353-360.
- [135] G. Ambrosio, A. Oriente, C. Napoli, G. Palumbo, P. Chiariello, G. Marone, M. Condorelli, M. Chiariello, M. Triggiani. Oxygen radicals inhibit human plasma acetylhydrolase, the enzyme that catabolizes platelet-activating factor. *J. Clin. Invest.* 93 (1994) 2408-2416.
- [136] Bradford MM, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 1976, 72, 248-254.
- [137] Οργανική χημεία και Δομική βιοχημεία, Εργαστηριακές ασκήσεις, τόμος II, Νικόλαος Κ. Ανδρικόπουλος, Δρ Χημικός, Αναπληρωτής Καθηγητής, Αθήνα, Καλλιθέα, 1998.
- [138] Kates M, *Techniques in Lipidology. Isolation, analysis and identification of lipids in Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, Editors Work TS, Work E, 1972, North-Holland Publishing.

- [139] Bligh EG, Dyer WJ, A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can.J.Biochem.Pharmacol.*, 1959, 37, 911-917.
- [140] Demopoulos CA, Pinckard RN, Hanahan DJ, Platelet-Activating Factor. Evidence for 1-O-Alkyl-2- acetyl-sn-glyceryl-3-phosphorylcholine as the active component (a new class of lipid chemical mediators). *J.Biol.Chem.*, 1979, 254, 9355-9358.
- [141] Denizot Y, Dassa E, Benveniste J, Thomas Y. PAF-acether production by *Escherichia coli*. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989, 161(2): 939 - 43
- [142] Suguira T, Fukuda T, Miyamoto T, Waku K. Distribution of alkyl and alkenyl ether-linked phospholipids and platelet-activating factor-like lipid in various species of invertebrates. *Biochim Biophys Acta.* 1992, 1126(3): 298 - 308
- [143] Lee TC, Malone B, Wasserman SI, Fitzgerald V, Snyder F. Activities of enzymes that metabolize platelet-activating factor (1-Alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine) in neutrophils and eosinophils from humans and the effect of a calcium ionophore. *Biochem Biophys Res Commun.* 1982, 105(4): 1303 - 8
- [144] Lee T, Lenihan DJ, Malone B, Roddy LL, Wasserman SI. Increased biosynthesis of platelet-activating factor in activated human eosinophils. *J Biol Chem.* 1984, 259(9): 5526 - 30
- [145] Jouvin-Marhe E, Ninio E, Beaurain G, Tence M, Niaudet P, Benveniste J. Biosynthesis of PAF-acether (platelet-activating factor). VII. Precursors of PAF-acether and acetyl-transferase activity in human leukocytes. *J Immunol.* 1984, 133(2): 892 - 8
- [146] Mencia-Huerta JM, Ninio E, Roubin R, Benveniste J. Is platelet-activating factor (PAF-acether) synthesis by murine peritoneal cells (PC) a two-step process? *Agents Actions.* 1981, 11(6-7):556-8.

- [147] Touqui L, Hatmi M, Vargaftig BB. Human platelets stimulated by thrombin produce platelet-activating factor (1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine) when the degrading enzyme acetyl hydrolase is blocked. *Biochem J.* 1985, 229(3): 811 - 6
- [148] Coëffier E, Ninio E, Le Couedic JP, Chignard M. Transient activation of the acetyltransferase necessary for PAF-acether biosynthesis in thrombin-activated platelets. *Br J Haematol.* 1986, 62(4):641-51.
- [149] Chap H, Mauco G, Simon MF, Benveniste J, Douste-Blazy L. Biosynthetic labelling of platelet activating factor from radioactive acetate by stimulated platelets. *Nature.* 1981, 289(5795):312-4.
- [150] Hikiji H, Ishii S, Shindou H, Takato T, Shimizu T. Absence of platelet-activating factor receptor protects mice from osteoporosis following ovariectomy. *J Clin Invest.* 2004, 114(1):85-93.
- [151] Fragopoulou E, Iatrou C, Demopoulos CA. Characterization of acetyl-CoA: lyso-PAF acetyltransferase of human mesangial cells. *Mediators Inflamm.* 2005, 2005(5):263-72.
- [152] Baker RR, Chang HY. Alkylglycerophosphate acetyltransferase and lyso platelet activating factor acetyltransferase, two key enzymes in the synthesis of platelet activating factor, are found in neuronal nuclei isolated from cerebral cortex. *Biochim Biophys Acta.* 1996, 1302(3):257-63.
- [153] Hoffman DR, Truong CT, Johnston JM. Metabolism and function of platelet-activating factor in fetal rabbit lung development. *Biochim Biophys Acta.* 1986 Oct 24;879(1):88-96. Erratum in: *Biochim Biophys Acta* 1987, 919(3):311

- [154] Nomikos TN, Iatrou C, Demopoulos CA. Acetyl-CoA:-O-alkyl-sn-glycero-3-phosphocholine acetyltransferase (lyso-PAF AT) activity in cortical and medullary human renal tissue. *Eur J Biochem.* 2003, 270(14):2992-3000.
- [155] Shindou H, Hishikawa D, Nakanishi H, Harayama T, Ishii S, Taguchi R, Shimizu T. A single enzyme catalyzes both platelet-activating factor production and membrane biogenesis of inflammatory cells. Cloning and characterization of acetyl-CoA:LYSO-PAF acetyltransferase. *J Biol Chem.* 2007, 282(9):6532-9
- [156] Harayama T, Shindou H, Ogasawara R, Suwabe A, Shimizu T. Identification of a novel noninflammatory biosynthetic pathway of platelet-activating factor. *J Biol Chem.* 2008, 283(17):11097-106
- [157] Egea L, Giménez R, Lúcia D, Modolell I, Badía J, Baldoma L, Aguilar J. Increased production of the ether-lipid platelet-activating factor in intestinal epithelial cells infected by *Salmonella enteridis*. *Biochim Biophys Acta.* 2008, 1781(5):270-6
- [158] Villani A, Cirino NM, Baldi E, Kester M, McFadden ER Jr, Panuska JR. Respiratory syncytial virus infection of human mononuclear phagocytes stimulates synthesis of platelet-activating factor. *J Biol Chem.* 1991, 266(9):5472-9
- [159] Biancone L, Tetta C, Turello E, Montrucchio G, Iorio EL, Servillo L, Balestrieri C, Camussi G. Platelet-activating factor biosynthesis by cultured mesangial cells is modulated by proteinase inhibitors. *J Am Soc Nephrol.* 1992, 2(7):1251-61
- [160] Bussolino F, Sironi M, Bocchietto E, Mantovani A. Synthesis of platelet-activating factor by polymorphonuclear neutrophils stimulated with interleukin-8. *J Biol Chem.* 1992, 267(21):14598-603

- [161] Camussi G, Tetta C, Bussolino F, Baglioni C. Tumor necrosis factor stimulates human neutrophils to release leukotriene B₄ and platelet-activating factor. Induction of phospholipase A₂ and acetyl-CoA:1-alkyl-sn-glycero-3-phosphocholine O₂-acetyltransferase activity and inhibition by antiproteinase. *Eur J Biochem.* 1989, 182(3):661-6
- [162] Bernatchez PN, Allen BG, G  linas DS, Guillemette G, Sirois MG. Regulation of VEGF-induced endothelial cell PAF synthesis: role of p42/44 MAPK, p38 MAPK and PI3K pathways. *Br J Pharmacol.* 2001, 134(6):1253-62
- [163] Naraba H, Ueno A, Matsumoto H, Oh-ishi S. Inhibitory effect of arachidonic acid on platelet-activating factor production in rat neutrophils. *Eur J Pharmacol.* 1996, 302(1-3):117-21
- [164] Doebber TW, Wu MS. Platelet-activating factor (PAF) stimulates the PAF-synthesizing enzyme acetyl-CoA:1-alkyl-sn-glycero-3-phosphocholine O₂-acetyltransferase and PAF synthesis in neutrophils. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987, 84(21):7557-61
- [165] Heller R, Bussolino F, Ghigo D, Garbarino G, Pescarmona G, Till U, Bosia A. Human endothelial cells are target for platelet-activating factor. II. Platelet-activating factor induces platelet-activating factor synthesis in human umbilical vein endothelial cells. *J Immunol.* 1992, 149(11):3682-8.
- [166] Sakamoto H, Tosaki T, Nakagawa Y. Overexpression of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase modulates acetyl-CoA, 1-O-alkyl-2-lyso-sn-glycero-3-phosphocholine acetyltransferase activity. *J. Biol Chem.* 2002, 277(52):50431-8.

- [167] Garcia C, Montero M, Alvarez J, Sanchez Crespo M. Biosynthesis of platelet-activating factor (PAF) induced by chemotactic peptide is modulated at the lyso-PAF:acetyl-CoA acetyltransferase level by calcium transient and phosphatidic acid. *J Biol Chem.* 1993, 268(6):4001-8
- [168] Aglietta M, Monzeglio C, Aprà F, Mossetti C, Stern AC, Giribaldi G, Bussolino F. In vivo priming of human normal neutrophils by granulocyte-macrophage colony stimulating factor: effect on the production of platelet activating factor. *Br J Haematol.* 1990, 75(3):333-9
- [169] Brunelleschi S, Ceni E, Giotti A, Fantozzi R. Tachykinins stimulate lyso-PAF:acetyl-CoA acetyltransferase activity in neutrophils. *Eur J Pharmacol.* 1990, 186(2-3):367-8
- [170] Alam I, Silver MJ. Acetyltransferase activity in human platelet microsomes and washed platelets. *Biochim Biophys Acta.* 1986, 884(1):67-72
- [171] Yeo YK, Philbrick DJ, Holub BJ. The effect of long-term consumption of fish oil on platelet-activating factor synthesis in rat renal microsomes. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989, 160(3):1238-42.
- [172] Shikano M, Masuzawa Y, Yazawa K. Effect of docosahexaenoic acid on the generation of platelet-activating factor by eosinophilic leukemia cells, Eo1-1. *J Immunol.* 1993, 150(8 Pt 1):3525-33.
- [173] Balestrieri ML, Castaldo D, Balestrieri C, Quagliuolo L, Giovane A, Servillo L. Modulation by flavonoids of PAF and related phospholipids in endothelial cells during oxidative stress. *J Lipid Res.* 2003, 44(2):380-7
- [174] Sugatani J, Fukazawa N, Ujihara K, Yoshinari K, Abe I, Noguchi H, Miwa M. Tea polyphenols inhibit acetyl-CoA:1-alkyl-sn-glycero-3-phosphocholine

acetyltransferase (a key enzyme in platelet-activating factor biosynthesis) and platelet-activating factor-induced platelet aggregation. *Int Arch Allergy Immunol.* 2004, 134(1):17-28

[175] Balestrieri C, Felice F, Piacente S, Pizza C, Montoro P, Oleszek W, Visciano V, Balestrieri ML. Relative effects of phenolic constituents from *Yucca schidigera* Roetzl. bark on Kaposi's sarcoma cell proliferation, migration, and PAF synthesis. *Biochem Pharmacol.* 2006, 71(10):1479-87

[176] Balestrieri ML, De Prisco R, Nicolaus B, Pari P, Moriello VS, Strazzullo G, Iorio EL, Servillo L, Balestrieri C. Lycopene in association with alpha-tocopherol or tomato lipophilic extracts enhances acyl-platelet-activating factor biosynthesis in endothelial cells during oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 2004, 36(8):1058-67

[177] Fukuzawa K, Kurotori Y, Tokumura A, Tsukatani H. Vitamin E. deficiency increases the synthesis of platelet-activating factor (PAF) in rat polymorphonuclear leucocytes. *Lipids.* 1989, 24(3):236-9

[178] Cao YZ, Cohen ZS, Weaver JA, Sordillo LM. Selenium modulates 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine (PAF) biosynthesis in bovine aortic endothelial cells. *Antioxid Redox Signal.* 2001, 3(6):1147-52

[179] Strahan ME, Graham RM, Eccleston DS, Sturm MJ, Taylor RR. Neutrophil platelet-activating factor production and acetyltransferase activity in clinical acute myocardial infarction. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1995, 22(2):102-6

[180] Detopoulou P, Nomikos T, Fragopoulou E, Antonopoulou S, Kotroyiannis I, Vassiliadou C, Panagiotakos DB, Chrysoshoou C, Pitsavos C, Stefanadis C. Platelet activating factor (PAF) and activity of its biosynthetic and catabolic enzymes in blood and leukocytes of male patients with newly diagnosed heart failure. *Clin Biochem.* 2009, 42(1-2):44-9