

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

**“ ΥΠΟΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΗΣ HDL ΚΑΙ ΥΠΟΚΛΑΣΜΑΤΑ ΤΗΣ
LDL ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΑΛΑΙΟ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ
ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ ”**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

(ΣΕ ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟ ΤΜΗΜΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΟΥ
ΓΕΝΙΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ “ Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ ”

ΘΕΟΔΩΡΑΚΗ ΘΕΟΔΩΡΑ
ΧΗΜΙΚΟΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2001

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
45 110 ΙΩΑΝΝΙΝΑ

ΤΟΜΕΑΣ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ
Εργαστήριο Βιοχημείας

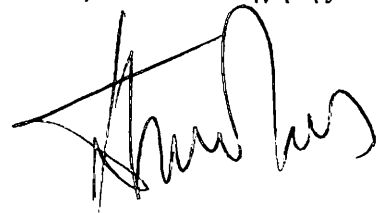
Δ. Κ. ΤΣΟΥΚΑΤΟΣ
Επίκουρος Καθηγητής
Τηλ. (+30651) 98368
FAX: (+30651) 47832
e-mail dtsoykat@cc.uoi.gr

Ιωάννινα, 19 Νοεμβρίου 2001

Προς Κο Κων. Σεφεριάδη Καθ Τμήματος Ιατρικής Πανεπ. Ιωαννίνων

Η εξέταση της διδακτορικής διατριβής της Κας Θεοδώρας Θεοδωράκη, της οποίας έχετε οριστεί εξεταστής με απόφαση της ΓΣ του τμήματος Χημείας, θα πραγματοποιηθεί τη Δευτέρα 29 Ιανουαρίου και ώρα 6μμ στην αίθουσα X3-230 (αίθουσα διαλέξεων του τμήματος Χημείας).

Με τιμή
Ο Επιβλέπων Καθηγητής



Δ.Κ. ΤΣΟΥΚΑΤΟΣ



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

Ιωάννινα, 13-11-2000

Αριθμ.Πρωτ: 423

Δ/ΝΣΗ: ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥΠΟΛΗ
ΤΗΛΕΦΩΝΟ: 97195
ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ:Σ.Βαμβέτσου

ΘΕΜΑ:" Ορισμός 7/μελούς
εξεταστικής επιτροπής για την
παρουσίαση της διδακτορικής
διατριβής της υποψήφιας κ.
θεοδ.Θεοδωράκη"

Προς
τους κ.κ.

- ✓ 1. Δημ. Τσουκάτο, επίκ.καθηγητή
Τμήματος Χημείας Παν/μίου Ιωαννίνων
(ως Επιβλέπων)
- ✓ 2. Μαίρη Σακαρέλλου, καθηγήτρια
Τμήματος Χημείας Παν/μίου Ιωαννίνων
- 3. Ορέστη Τσόλα, καθηγητή
Τμήματος Ιατρικής Παν/μίου Ιωαννίνων
- ✓ 4. Κων. Σεφεριάδη, καθηγητή
Τμήμ. Ιατρικής Παν/μίου Ιωαννίνων
- 5. Παντ. Αρζόγλου, αναπλ. καθηγητή
Τμήμ. Χημείας Α.Π.Θ
- ✓ 6. Μωϋσή Ελισάφ, αναπλ.καθηγητή
Τμημ. Ιατρικής Παν/μίου Ιωαννίνων
- ✓ 7. Αλέξ. Τσελέπη, αναπλ. καθηγητή
Τμημ.Χημείας Παν/μίου Ιωαννίνων

Σας γνωρίζουμε ότι η Γ.Σ.Ε.Σ του Τμήματος Χημείας στη συνεδρία της αριθμ.
433Α/ 10-11-2000 και σύμφωνα με το άρθρο 13 του Ν. 2083/92 αποφάσισε να σας
ορίσει μέλη της 7μελούς εξεταστικής επιτροπής ενώπιον της οποίας η υποψήφια κ.
θεοδώρα Θεοδωράκη θα παρουσιάσει την διδακτορική της διατριβή.

Κοινοποίηση

- κ. Θεοδώρα Θεοδωράκη



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
A. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	1
B. ΠΡΟΛΟΓΟΣ	3
Γ. ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ	5
Δ. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1. Λιπίδια	6
2. Λιποπρωτείνες	17
3. Μεταβολισμός λιποπρωτεϊνών	26
4. Δυσλιπιδαιμίες	41
5. Στεφανιαία νόσος	51
6. Παράγοντες κινδύνου στεφανιαίας νόσου	56
7. Πρόληψη και αντιμετώπιση της στεφανιαίας νόσου	73
E. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1. Σκοπός της μελέτης	79
2. Υλικό - Μέθοδοι	82
3. Εξετάσεις - Στατιστική ανάλυση	83
4. Αποτελέσματα πρώτου μέρους	107
5. Συζήτηση αποτελεσμάτων πρώτου μέρους	129
6. Αποτελέσματα δεύτερου μέρους ✓	133
7. Συζήτηση αποτελεσμάτων δεύτερου μέρους ✓	145
ΣΤ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	149

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Γεννήθηκα στην Αθήνα στις 02/04/1969. Απολύθηκα από το 26ο Λύκειο Μαρασλείου Αθηνών, με γενικό βαθμό : Αριστα 18 8/9 το 1987. Το ίδιο έτος έγινα δεκτή, ύστερα από επιτυχείς εξετάσεις, στο Χημικό Τμήμα του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Αποφοίτησα τον Ιούλιο του 1992 με βαθμό πτυχίου : Πολύ καλά (6,6).

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλική : Κάτοχος του Lower

ΠΡΟΥΠΗΡΕΣΙΑ

Από το έτος 1992 διδάσκω το μάθημα της Χημείας σε Φροντιστήρια μέσης εκπαίδευσης, ενώ τον Οκτώβρη του 1992 ξεκίνησα πρακτική εξάσκηση στο Βιοχημικό Εργαστήριο του νοσοκομείου " Ο Ευαγγελισμός"

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

Συμμετείχα στην πολυκεντρική μελέτη " European Atherosclerosis Research Study II " (EARS II) στο εργαστηριακό μέρος της έρευνας.

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Papageorgakis N, Melpidou A, Theodoraki Th, Jullien G, Pyrros J, Rallidis L, Tsitouris G and Anagnostou - Cacaras E (1993). Lipid profile in patients with coronary artery disease. 2nd International Symposium of dyslipidaemias and atherosclerosis, Greece, Athens.
2. Θεοδωράκη Γ.Θ, Καραμπίνα Σ-Α, Τσουκάτος Κ.Δ, Τσελέπης Δ.Α, Παπαγεωργάκης Η.Ν. (1996). Υποκλάσματα της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης σε ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου. 1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας, Αθήνα.
3. Θεοδωράκη Γ.Θ, Τσουκάτος Κ.Δ, Τσελέπης Δ.Α, Παπαγεωργάκης Η.Ν, Αναγνώστου Δ.Ε, Ζουλλιέν Α.Ζ. (1996). Λιπιδαιμικές και λιποπρωτεϊνικές

παράμετροι σε ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου. 1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας, Αθήνα.

4. Theodoraki G.Th, Tsoukatos C.D, Tselepis D.A, Papageorgakis H.N, Anagnostou D.E, Joullien L.G (1997). HDL-subfractions in patients with myocardial infarction. 5th International Symposium on Advances on Lipoproteins and Atherosclerosis, Greece, Athens.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Theodoraki G.Th, Tsoukatos C.D, Tselepis D.A, Rallidis S.L, Papageorgakis H.N, Anagnostou D.E and Joullien L.G (1999). HDL-subclasses and other lipid parameters in patients with old myocardial infarction. Clin Chem Enzym Commun, vol 8, 175-187
2. Theodoraki G.Th, Tsoukatos C.D, Karabina S-A, Rallidis S.L, Papageorgakis H.N, Tselepis D.A (2000). LDL-subfractions in patients with myocardial infarction. Effect of smoking and β -blocker treatment. Ann Clin Biochem

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η στεφανιαία νόσος αποτελεί την κυριότερη αιτία θανάτου στις Δυτικές κοινωνίες. Οι λιπώδεις ραβδώσεις ή λιπαρές γραμμώσεις όπως αλλιώς λέγονται, αποτελούν την πρωιμότερη εκδήλωση της αθηροσκλήρυνσης των στεφανιαίων αρτηριών. Η δράση λιπιδαιμικών και αιμοστατικών παραγόντων στην εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου, καθιστά επιτακτική τη διερεύνηση του ρόλου των παραγόντων αυτών στην πορεία της αθηροσκλήρυνσης. Μέσα από το πρίσμα αυτών των προβληματισμών, στην εργασία αυτή, μελετήσαμε το ρόλο λιπιδαιμικών παραγόντων όσον αφορά στο έμφραγμα του μυοκαρδίου λόγω στεφανιαίας νόσου.

Η εργασία πραγματοποιήθηκε στο Βιοχημικό Τμήμα του νοσοκομείου " Ο Ευαγγελισμός " (κάτω από την επίβλεψη της διευθύντριας κ. Ε.Δ. Αναγνώστου και του βιοχημικού κ. Ν.Η. Παπαγεωργάκη τους οποίους ευχαριστώ ιδιαίτερα για τη βοήθειά τους και το ενδιαφέρον τους. Ομοίως, ευχαριστίες οφείλω στον επιβλέποντα επίκουρο καθηγητή κ. Δ.Κ. Τσουκάτο για την ανάθεση της εργασίας και τις πολύτιμες υποδείξεις του καθώς και στον επίκουρο καθηγητή κ. Α.Δ. Τσελέπη για τις χρήσιμες συμβουλές του.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τις Α και Β Καρδιολογικές Κλινικές για το υλικό που μου προσέφεραν καθώς και το Ε.Ι.Ε για τη μεγάλη προθυμία με την οποία μου επέτρεψαν τη χρήση υπερφυγοκέντρου προκειμένου να επιτευχθεί ο διαχωρισμός των κλασμάτων της LDL.

Τέλος, αισθάνομαι την ανάγκη να πώ ένα μεγάλο ευχαριστώ στον άντρα μου Σπύρο για την κατανόηση και την υπομονή που έδειξε καθώς και τη βοήθειά του στα σχήματα της εργασίας.

Η διδακτορική διατριβή αποτελείται από από τρία μέρη :

- α) το γενικό μέρος, που παραθέτει στοιχεία για λιπιδαιμικούς και αιμοστατικούς παράγοντες καθώς και για το ρόλο τους στην αθηροσκλήρωση
- β) το ειδικό μέρος, που περιλαμβάνει το σκοπό, το υλικό, τη μεθοδολογία, τις εξετάσεις, τα αποτελέσματα καθώς και κάποια συζήτηση πάνω σε αυτά και
- γ) τη βιβλιογραφία

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ

ΠΛΗΡΗΣ ΛΕΞΗ	ΣΥΝΤΜΗΣΗ
Άκυλο-χοληστερολο-ακυλο-τρανσφεράση	ACAT
Απολιποπρωτείνες	Apos
Διάμετρος σε A°	d(A°)
Ελεύθερη χοληστερόλη	FC, CHOL
Έμφραγμα του μυοκαρδίου	E.M
Ενεργοποιητής του πλασμινογόνου	t-PA
Εστέρες χοληστερόλης	CE
Ηπατική λιπάση	HL, HPL
Λεκιθινο-χοληστερολο-ακυλο- τρανσφεράση	LCAT
Λιπαρά οξέα	FA
Λιποπρωτείνη ενδιάμεσης πυκνότητας	IDL
Λιποπρωτείνη πολύ χαμηλής πυκνότητας	VLDL
Λιποπρωτείνη υψηλής πυκνότητας	HDL
Λιποπρωτείνη χαμηλής πυκνότητας	LDL
Λιποπρωτεϊνική λιπάση	LPL
Πλασμινογόνο	Plg
Πυκνότητα σε gr/ml	d(gr/ml)
Στεφανιαία νόσος	ΣΝ
Τριγλυκερίδια	TG
Φωσφολιπίδια	PL
Χυλομικρά	CM

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΛΙΠΙΔΙΑ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σε αντίθεση με τα άλλα βιομόρια (πρωτείνες, νουκλεϊνικά οξέα, υδατάνθρακες) τα λιπίδια είναι χημικά ανομοιογενής τάξη μορίων. Η χημική τους ανομοιογένεια επιτρέπει διαφορετικές κατατάξεις σε επιμέρους κατηγορίες. Από αυτές, την ανάλυση λιπιδίων εξυπηρετεί η κατάταξη σε πολικά και ουδέτερα λιπίδια, ανάλογα με την ύπαρξη ή όχι πολικών ομάδων στο μόριό τους.

Έτσι τα ουδέτερα λιπίδια δεν έχουν ισχυρές πολικές ομάδες στο μόριό τους και παραλαμβάνονται με μη πολικούς διαλύτες όπως αιθέρας, βενζόλιο, π.αιθέρας, χλωροφόρμιο κ.ά. Κύρια ουδέτερα λιπίδια είναι τα τριγλυκερίδια (TG), οι εστέρες χοληστερόλης (CE), και τα λιπαρά οξέα (FA). Αντίθετα τα φωσφολιπίδια (PL) και η ελεύθερη χοληστερόλη (FC), είναι τα κυριότερα πολικά λιπίδια.(1),(2)

Κύριες λειτουργίες των λιπιδίων είναι:

1. Αποτελούν δομικά συστατικά της κυτταρικής μεμβράνης.
2. Αποτελούν σημαντική πηγή ενέργειας.
3. Χρησιμεύουν σαν μονωτικό υλικό.
4. Είναι πρόδρομοι σημαντικών ουσιών όπως στεροειδών ορμονών, χολικών οξέων, προσταγλανδινών ή άλλων λιπιδιακών βιοδραστικών μορίων. (3)

1.2 ΕΛΕΥΘΕΡΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ

Ελεύθερα λιπαρά οξέα υπάρχουν μόνο σε ίχνη στα κύτταρα ή στα βιολογικά υγρά. Αποτελούν όμως συστατικά άλλων τάξεων λιπιδίων. Έχουν γενικό τύπο $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ και μπορεί να είναι κορεσμένα ή ακόρεστα.

ΠΙΝΑΚΑΣ (1)

Τα κυριότερα κορεσμένα και ακόρεστα λιπαρά οξέα

Εμπειρική ονομασία

Τύπος συντομογραφίας

Κορεσμένα

Μυριστικό	$\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_2$	C14:O
Παλμιτικό	$\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$	C16:O
Στεατικό	$\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$	C18:O
Αραχιδικό	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$	C20:O
Βαξενικό	$\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{O}_2$	C22:O

Ακόρεστα

Παλμιτελαϊκό	$\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_2$	C16:1ω7
Ελαϊκό (cis)	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$	C18:1ω9
Ελαϊδικό (trans)	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$	C18:1ω9
Λινελαϊκό	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$	C18:2ω6
α-Λινολενικό	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$	C18:3ω3
Αραχιδονικό	$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$	C20:4ω6
Εικοσιπεντανοϊκό	$\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{O}_2$	C20:5ω3

Υποσημείωση : Το ω συμβολίζει τους διπλούς δεσμούς αριθμημένους από το άκρο της μεθυλομάδας π.χ C18:2ω6 σημαίνει ότι υπάρχουν δύο διπλοί δεσμοί και ο πρώτος ξεκινάει από τον έκτο άνθρακα. Ο επόμενος είναι πάντα τρεις θέσεις μετατοπισμένος. (3),(4)γ)

Τα πιο σημαντικά κορεσμένα λιπαρά οξέα είναι τα : παλμιτικό, στεατικό ενώ τα πιο διαδεδομένα ακόρεστα είναι τα : ελαϊκό, παλμιτελαϊκό, λινελαϊκό και αλινολενικό. Ο ανθρώπινος οργανισμός δεν μπορεί να συνθέσει τα οξέα ελαϊκό και λινολενικό. (Το αραχιδονικό προκύπτει από το λινολενικό.) Τα δύο αυτά απαραίτητα λιπαρά οξέα πρέπει να τα λάβει αποκλειστικά από την τροφή. Η σύνθεση των υπόλοιπων λιπαρών οξέων γίνεται μέσα στο κυτταροδιάλυμα (κυττοσόλιο), με πρόδρομες ενώσεις τα μόρια CO_2 , κιτρικό οξύ και συνένζυμο A. Το κυττοσολικό σύστημα βιοσύνθεσης λιπαρών οξέων μπορεί να συνθέσει μέχρι και το παλμιτικό οξύ. Τα λιπαρά οξέα με μεγαλύτερο αριθμό ανθράκων προέρχονται από επιμήκυνση της αλυσίδας του παλμιτικού οξέος.

Λιπαρά οξέα όμως προσλαμβάνουμε όπως είπαμε και από την τροφή με την μορφή τριγλυκεριδίων. Ο καταβολισμός των λιπαρών οξέων γίνεται στα μιτοχόνδρια όπου περνάει με τη βοήθεια της καρνιτίνης από το κυτταροδιάλυμα. Η πορεία του καταβολισμού γνωστή ως β-οξείδωση, παράγει μόρια ATP περισσότερα από οποιαδήποτε άλλη διάσπαση μορίου. Αυτό κάνει τα λιπαρά οξέα να παίζουν ένα σημαντικό βιολογικό ρόλο στην παραγωγή ενέργειας. Σημαντικές θέσεις καταβολισμού είναι η καρδιά, το ήπαρ όταν ξεκουραζόμαστε και οι σκελετικοί μύες κατά τη διάρκεια άσκησης όπου το ποσοστό της οξείδωσης μπορεί να φτάσει και το 60%.^{(1),(3)}

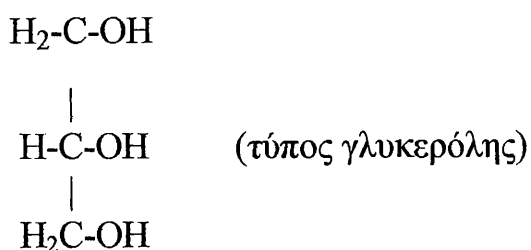
Σημαντικά είναι επίσης τα παράγωγα ακόρεστων λιπαρών οξέων με 20 άτομα άνθρακα, όπως το αραχιδονικό οξύ. Τα παράγωγα αυτά ονομάζονται εικοσανοειδή και είναι οι προσταγλανδίνες, οι θρομβοξάνες, τα υδροξυεικοσανοικά οξέα και τα λευκοτριένια.

Το αραχιδονικό οξύ, με την επίδραση της κυκλοοξυγενάσης, μετατρέπεται σε προσταγλανδίνες και θρομβοξάνες της σειράς 2. Από το λινελαϊκό και το αλινολενικό σχηματίζονται οι προσταγλανδίνες και θρομβοξάνες των σειρών 1 και

3. Επίσης με την επίδραση λιποοξυγενασών, τα ακόρεστα λιπαρά οξέα με 20 άτομα άνθρακα σχηματίζουν υδροξυεικοσιτετραενικά οξέα (HETE). Τέλος η 5-λιποοξυγενάση οδηγεί στο σχηματισμό των λευκοτριενίων.(3),(4)

1.3 ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ

Μία από τις πλέον συνήθεις αλκοόλες στον ανθρώπινο οργανισμό, η γλυκερόλη δημιουργεί εστέρες με λιπαρά οξέα.



Ανάλογα με τον αριθμό των υδροξυλομάδων που εστεροποιούνται έχουμε τα: μονο-, δι-, ή τρι-γλυκερίδια (μονοάκυλο,- διάκυλο,- τριάκυλο γλυκερόλες). Τα λιπαρά οξέα των τριγλυκεριδίων αποτελούν συνδυασμούς λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας (12-26C). Στο ανθρώπινο υποδόριο λίπος έχει βρεθεί : 50% ελαικό, 23% παλμιτικό, 10% λινελαικό και μικρές ποσότητες μυριστικού, στεατικού και παλμιτελαικού. Τα περισσότερα μόρια τριγλυκεριδίων στους ανθρώπινους ιστούς είναι μικτά δηλαδή αποτελούνται από διαφορετικά λιπαρά οξέα.(5)

Το ανθρώπινο σώμα αποθηκεύει μεγάλες ποσότητες λιπαρών οξέων δεσμευμένων σε εστέρες με γλυκερόλη, στο λιπώδη ιστό. Το 95% του λιπώδους ιστού είναι τριγλυκερίδια. Επίσης, τα τριγλυκερίδια επειδή αποθηκεύονται σε σχεδόν άνυδρη μορφή, (είναι αδιάλυτα στο νερό και δεν έχουν πολικές ομάδες), καταλαμβάνουν λιγότερο χώρο στα κύτταρα από τις πρωτεΐνες και τους υδατάνθρακες.(3),(6) Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με την απόδοση των λιπαρών οξέων σε ενέργεια, (β-

οξείδωση) κάνει τα τριγλυκερίδια πολύτιμες αποθήκες ενέργειας σε φυτά και ζώα.(3)

Υπάρχουν δύο είδη τριγλυκεριδίων: (2),(3)

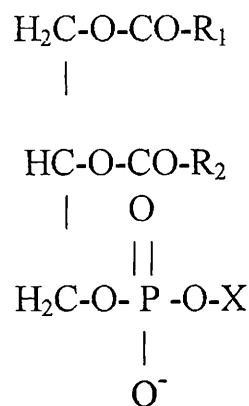
1. **ενδογενή**: αυτά συντίθενται στο ήπαρ και στο λιπώδη ιστό από γλυκερόλη και λιπαρά οξέα.

2. **τροφής** : τα τριγλυκερίδια της τροφής περνούν αναλλοίωτα άπο το στόμα και το στομάχι καθώς στις περιοχές αυτές δεν υπάρχουν λιπολυτικά ένζυμα και αποικοδομούνται στο λεπτό έντερο από την παγκρεατική λιπάση. Με τη λιπόλυση απελευθερώνονται ελεύθερα λιπαρά οξέα και 2-άκυλο γλυκερόλη στο πλάσμα. Η λιπόλυση προάγεται από : το στρες, την αυξημένη νηστεία, την έλλειψη ινσουλίνης. Τα λιπαρά οξέα εισέρχονται στο βλεννογόνο του εντέρου όπου ανασυντίθενται σε τριγλυκερίδια. Τα τριγλυκερίδια αυτά ενσωματώνονται σε λιποπρωτείνες (χυλομικρά) τα οποία μέσω της λέμφου μεταφέρονται στο αίμα και από κει στα διάφορα όργανα. Η υδρόλυση αυτών των τριγλυκεριδίων γίνεται από ένα ειδικό ένζυμο την λιποπρωτεϊνική ή εξωηπατική λιπάση (LPL) σε λιπαρά οξέα και γλυκερόλη. Η λιποπρωτεϊνική λιπάση βρίσκεται κυρίως στην καρδιά, λιπώδη ιστό και στους σκελετικούς μύες και δρά στα τοιχώματα των αρτηριών.(7)

Τα τριγλυκερίδια της τροφής έχουν σχετικά μικρό χρόνο ζωής στο πλάσμα. Τα επίπεδά τους παραμένουν υψηλά για αρκετές ώρες μετά την πέψη λιπαρού γεύματος αλλά έχουν απομακρυνθεί μέσα σε 12 ώρες.(6) Οι τιμές αναφοράς για τα τριγλυκερίδια είναι : 50-150 mg/dl.(8)

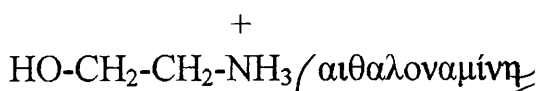
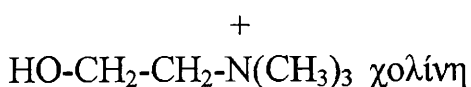
1.4 ΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΑ

Τα φωσφολιπίδια (PL) είναι σύνθετα λιπίδια που περιέχουν στο μόριο τους φωσφορική ρίζα. Έχουν το γενικό τύπο :



(Τύπος φωσφολιπιδίων)

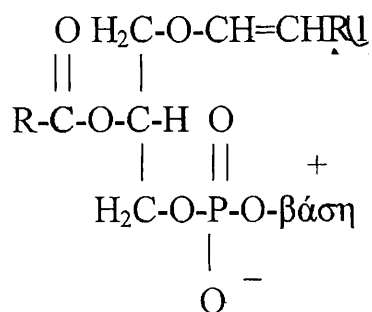
Η πολική ομάδα X μπορεί να είναι : χολίνη, σερίνη, αιθανολαμίνη, γλυκερόλη κ.ά.



Η αντίστοιχη ονομασία είναι φωσφατιδυλοχολίνη ή λεκιθίνη, φωσφατιδυλοσερίνη κ.λ.π.

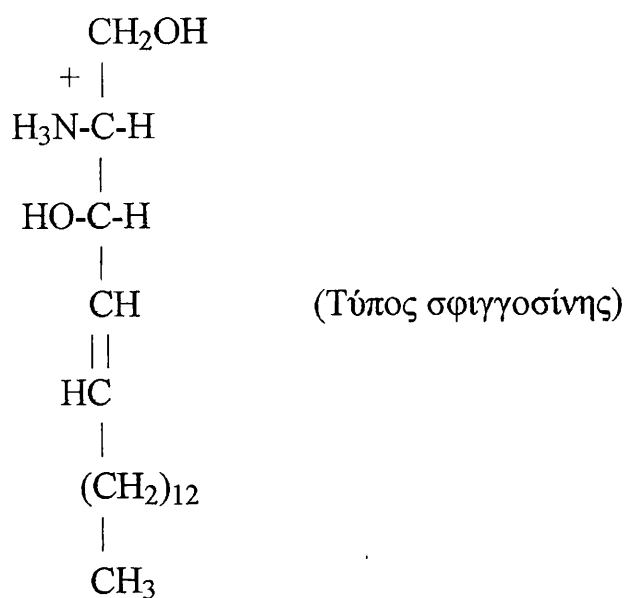
Από τα φωσφολιπίδια του πλάσματος, το 68-73% είναι λεκιθίνη, το 17-19% σφιγγομυελίνη, το 5-8% λυσολεκιθίνη, το 5% αιθανολαμίνη (κεφαλίνη), ενώ το υπόλοιπο αποτελείται από λυσοκεφαλίνες, λιποσιτόλες (σαν βάση είναι η ινοσιτόλη) και πλασμαλογόνα.(3),(6)

(Τύπος πλασμαλογόνων)



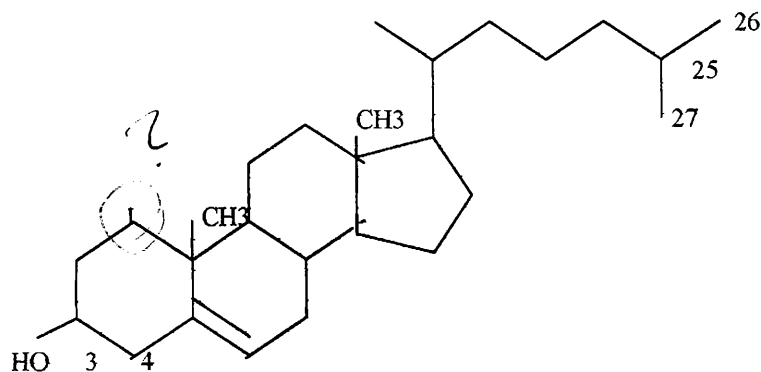
Η σύνθεση των φωσφολιπιδίων λαμβάνει χώρα στους περισσότερους ιστούς αλλά τα φωσφολιπίδια του πλάσματος παράγονται κυρίως στο ήπαρ.(6)

Τα φωσφολιπίδια είναι δομικά και λειτουργικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών. Έχουν αμφίφιλο χαρακτήρα λόγω των υδρόφοβων άκρων των λιπαρών οξέων και των πολικών ομάδων. Αυτό κάνει τα φωσφολιπίδια πολύτιμα δομικά συστατικά των βιολογικών μεμβρανών διότι σχηματίζουν αυθόρμητα διπλοστιβάδες. Όπως είδαμε η δομική μονάδα των φωσφολιπιδίων είναι η γλυκερόλη. Αν χρησιμοποιηθεί αντί γλυκερόλης σφιγγοσίνη, τότε οι ενώσεις ονομάζονται σφιγγολιπίδια.



1.5 ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Αποτελεί το 90-95% των στερόλων του πλάσματος. Απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1784 από τις πέτρες της χολής. Η χοληστερόλη (CHOL) είναι μία δευτεροταγής αλκοόλη με χημικό τύπο:



(Τύπος χοληστερόλης)

Η χοληστερόλη βρίσκεται μόνο στα ζώα και τον άνθρωπο. Αποτελεί σημαντικότατο συστατικό για τη δομή των κυττάρων και τις μεταβολικές λειτουργίες του οργανισμού διότι : (6)

1. Αποτελεί κύριο δομικό συστατικό των μεμβρανών όλων των κυττάρων.
2. Είναι πρόδρομη ένωση για τη βιοσύνθεση των στεροειδών ορμονών, των χολικών αλάτων, της βιταμίνης D και άλλων βιοδραστικών μορίων.

Ο πίνακας που ακολουθεί δείχνει κάποια βασικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της χοληστερόλης.

ΠΙΝΑΚΑΣ (2)Χαρακτηριστικά χοληστερόλης

Μοριακός τύπος : $C_{27}H_{46}O$

Μοριακό βάρος : 386,64

Άνθρακας (C) : 83,87%

Υδρογόνο (H) : 11,99%

Οξυγόνο (O) : 4,14%

Σ.Ζ : 233 °C

Γίνεται άνυδρη στους 70-80° C

Σ.Τ. άνυδρης χοληστερόλης: 148,5° C

Πρακτικά αδιάλυτη στο νερό

Ελαφρώς διαλυτή σε αλκοόλη

Περισσότερο διαλυτή σε θερμή αλκοόλη

Επίσης διαλύεται σε βενζόλιο, π.αιθέρα, λίπη, έλαια και στα διαλύματα των χολικών αλάτων. (9)

Απορρόφηση :

Ο ανθρώπινος οργανισμός περιέχει δύο περίπου / gr) CHOL/Κεφ¹ σωματικού βάρους. Η ελεύθερη χοληστερόλη απορροφάται από το λεπτό έντερο παρουσία χολικών αλάτων. Η χοληστερόλη των τροφών βρίσκεται σε εστεροποιημένη μορφή και υδρολύεται στο λεπτό έντερο από τις εστεράσες της χοληστερόλης σε ελεύθερη χοληστερόλη και λιπαρά οξέα ,οπότε η εντερική χοληστερόλη είναι σχεδόν όλη μη εστεροποιημένη.

ΕΝΔΟΑΓΓΕΙΑΚΑ

LCAT

Λεκιθίνη + CHOL \longrightarrow λυσολεκιθίνη + CE

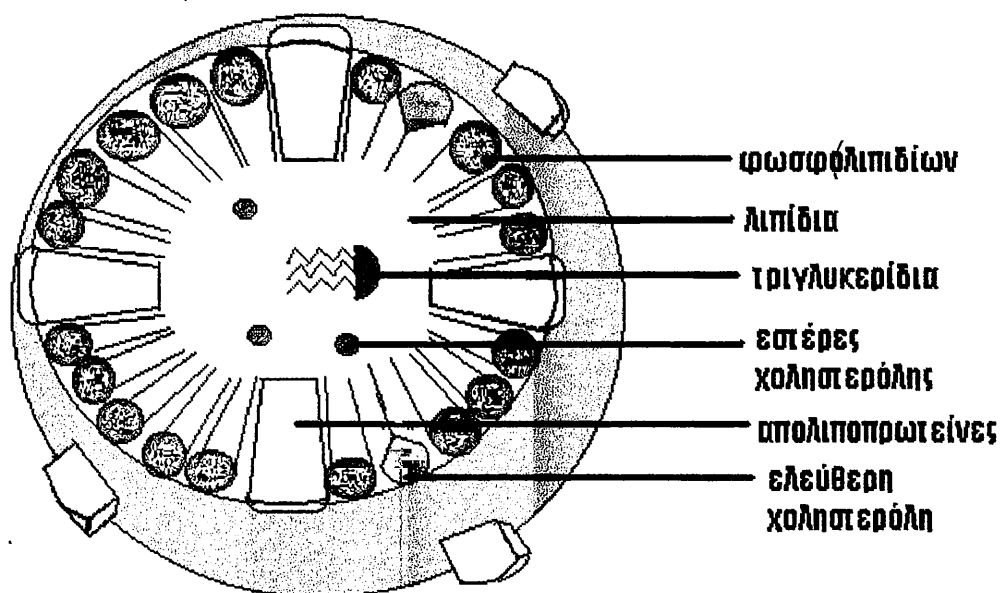
Η λεκιθινο-χοληστερολο-άκυλο-τρανσφεράση (LCAT) είναι ένα ένζυμο 67KDa που συντίθεται στο ήπαρ και καταλύει την αντίδραση εστεροποίησης της χοληστερόλης στο πλάσμα.(6) Οι τιμές αναφοράς της χοληστερόλης κυμαίνονται από : 130-220 mg/dl (8) ✓

2. ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

2.1 ΕΙΔΗ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΙΝΩΝ

Η μεταφορά των λιπιδίων στον οργανισμό γίνεται με το πλάσμα όπου τα λιπίδια είναι σχεδόν αδιάλυτα, λόγω της υδρόφοβης φύσης τους. Η δυσκολία αυτή υπερνικάται με τη δημιουργία των λιποπρωτεϊνών που είναι συμπλέγματα λιπιδίων και πρωτεϊνών.

Ο πυρήνας των λιποπρωτεϊνών αποτελείται από τις υδρόφοβες ομάδες : τριγλυκερίδια και εστέρες χοληστερόλης, ενώ το υδρόφιλο περίβλημα που υπάρχει, αποτελείται από : φωσφολιπίδια, ελεύθερη χοληστερόλη και πρωτεΐνες.(12)



Σχήμα (1) : Δομή λιποπρωτεΐνης

Βασικός ρόλος των λιποπρωτεϊνών είναι η μεταφορά των λιπιδίων.

Οι λιποπρωτεΐνες χωρίζονται (9),(13)

α) με βάση το διαχωρισμό τους ανάλογα με την πυκνότητα σε : χυλομικρά (CM), λιποπρωτείνες πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL), λιποπρωτείνες χαμηλής πυκνότητας (LDL), λιποπρωτείνες ενδιάμεσης πυκνότητας (IDL) και λιποπρωτείνες υψηλής πυκνότητας (HDL).

β) με βάση τον ηλεκτροφορητικό τους διαχωρισμό σε : χυλομικρά, τα οποία στερούνται ηλεκτρικού φορτίου και έτσι μένουν στην αρχή της ηλεκτροφόρησης, προ-β - λιποπρωτείνες (VLDL, Lp(a)), β - λιποπρωτείνες (IDL, LDL) οι οποίες μετακινούνται μαζί με τις β-σφαιρίνες, α - λιποπρωτείνες (HDL) οι οποίες μετακινούνται με τις α-σφαιρίνες.

Ο πίνακας που ακολουθεί δείχνει τις 6 βασικές τάξεις λιποπρωτεϊνών και τα χαρακτηριστικά τους. (6),(12),(14)

ΠΙΝΑΚΑΣ (3)

(Βασικές τάξεις λιποπρωτεϊνών και χαρακτηριστικά τους)

	CM	VLDL	IDL	LDL	Lp(a)	HDL
d (gr/ml)	< 0,95	0,95- 1,006	1,006- 1,019	1,019- 1,063	1,051- 1,1	1,063- 1,21
MBx10⁶	³ 10 - ⁴ 10	5 - 27	4,75	3,95	5,4	0,19 .
d (A°)	750-10 ³	550	250	200	236	100 .
TG %	90	55	29,5	5,1	2	2,2
FC %	1	7	5,8	8,5	9	2,7
CE %	3	12	22,7	42,3	38,2	17,5
PL %	4	18	24,2	23,6	14,6	24,1 .
πρωτείνες %	2	8	17,8	20,5	24,1	53,5 .

Πριν ασχοληθούμε με το μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών, είναι απαραίτητο να αναφερθούμε αναλυτικότερα στις απολιποπρωτεΐνες τους.

ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

Το 1971 ο Alaunovic καθιέρωσε την "ABC" ονοματολογία των απολιποπρωτεϊνών (apolipoproteins, apos). Οι απολιποπρωτεΐνες χαρακτηρίζονται με κεφαλαία γράμματα (A, B, C...), τα συστατικά τους πολυπεπίδια με ρωμαϊκούς αριθμούς (I, II, III, ...) και οι πολυμορφικοί τους τύποι με αραβικούς (1, 2, 3...). (11),(15)

Οι απολιποπρωτεΐνες παίζουν σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών και όχι μόνο. Συγκεκριμένα έχουν τους εξής ρόλους :

- είναι δομικά συστατικά των λιποπρωτεϊνών
- σαν πολικά μόρια βοηθούν μαζί με τα φωσφολιπίδια στη μεταφορά των εστέρων χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα
- συνδέονται με υποδοχείς της επιφάνειας των κυττάρων προσδιορίζοντας κατά αυτόν τον τρόπο τις θέσεις σύνδεσης και το ρυθμό αποικοδόμησης των συστατικών των λιποπρωτεϊνών, κυρίως βέβαια της χοληστερόλης
- ενεργοποιούν ή αναστέλλουν ειδικά ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών. (15),(16)

2.2 APO A

Πρωτεΐνη ετερογενής. Αποτελείται από τρία (3) υποκλάσματα τα : Apo A-I , Apo A-II , Apo A-IV.

APO A-I

Κύρια πρωτεΐνη της HDL. Παράγεται στο ήπαρ και στο λεπτό έντερο. Έχει MW: 28300 και πυκνότητα $d=1,063-1,210$ gr/ml.(12),(14) Αποτελείται από 243 αμινοξέα. Έχουν βρεθεί 22 ισομορφές της Apo A-I. Η Apo A-I(0) που είναι η κύρια ισομορφή και η Apo A-I(1), μικρότερη της προηγούμενης, είναι οι σπουδαιότεροι ισομορφικοί τύποι της Apo A-I. Οι υπόλοιποι 10 είναι σπάνιοι. Οι μορφές αυτές οφείλονται σε μεταλλάξεις ή διαγραφές στην αλληλουχία των νουκλεϊκών οξέων του γονιδίου. (16)

Βασική δράση της Apo A-I είναι η ενεργοποίηση του ενζύμου LCAT.(15)

APO A-II

Είναι και αυτή πρωτεΐνη των HDL.(14) Συντίθεται στα : ήπαρ και λεπτό έντερο και έχει M.W: 17.000. Είναι διμερές μόριο με δύο όμοιες αλυσίδες αποτελούμενες από 77 αμινοξέα συνδεόμενες με δισουλφιδική γέφυρα . Η Apo A-II είναι, σε αντίθεση με την Apo A-I, αναστολέας της LCAT και ίσως ενεργοποιεί την ηπατική λιπάση (HL) ένζυμο που βρίσκεται στα ηπατικά ενδοθηλιακά κύτταρα.(17)

APO A-IV

Η Apo A-IV συντίθεται στα : ήπαρ και λεπτό έντερο και υπάρχει κυρίως στα χυλομικρά.(13) Ο βιολογικός ρόλος της Apo A-IV είναι άγνωστος. Παρόλα αυτά μερικοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι ενεργοποιεί την LCAT και ρυθμίζει την ενεργότητα των ενζύμων λιποπρωτεϊνικής λιπάσης και της πρωτεΐνης μεταφοράς εστέρων χοληστερόλης (CETP). Ο ρόλος της CETP θα αναφερθεί παρακάτω αναλυτικά.(18)

Έχουν βρεθεί τουλάχιστον 8 ισόμορφες της Apo AIV οι : Apo AIV (0) - Apo AIV (7). Η πιο επικρατούσα ισόμορφη είναι η Apo AIV (1) με συχνότητα εμφάνισης : 0,885-0,986. Επίσης άλλη σημαντική ισόμορφη είναι η Apo AIV (2) λόγω αντικατάστασης γουανίνης (G) από θυμίνη (T) στο γονίδιο. Αυτό συνεπάγεται την ύπαρξη γλουταμίνης αντί ιστιδίνης στο αμινοξύ 360 της πρωτεΐνης. Άτομα με αυτήν την ισόμορφη, κυρίως Καυκάσιοι, εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα HDL και χαμηλά επίπεδα LDL όταν τρέφονται με μονοακόρεστα λίπη αντί για κορεσμένα. Ο ακριβής μηχανισμός του παραπάνω φαινομένου δεν είναι γνωστός.(18)

2.3 APO B

Η Apo B είναι και αυτή ετερογενής γλυκοπρωτεΐνη με MB 513000. (13) Αποτελείται από την Apo B-100 και την Apo B-48. Ονομάστηκαν έτσι επειδή το MB της Apo B-48 είναι το 48% του MB της ApoB-100. (14)

APO B-100

Συντίθεται στο ήπαρ και είναι σημαντική δομική πρωτεΐνη των LDL, VLDL και IDL.(14) Έχει MB : 512000 και πυκνότητα $d= 0,95-1,063$ gr/ml. Η Apo B-100 είναι σημαντική στη μεταφορά των τριγλυκεριδίων έξω από το ήπαρ. Επίσης

είναι ο κύριος μεταφορέας χοληστερόλης και ο προσδέτης που μεσολαβεί στην παραλαβή χοληστερόλης από τα κύτταρα μέσω των ειδικών υποδοχέων. (Αναλύεται παρακάτω).(13) Με λίγα λόγια η Apo B-100 παίζει κεντρικό ρόλο στο μεταβολισμό της χοληστερόλης.(14)

APO B-48

Συντίθεται κυρίως στο λεπτό έντερο. Παράγεται από το ίδιο γονίδιο που κωδικοποιεί την Apo B-100. Έχει MB : 241000 και πυκνότητα $d < 0,95 \text{gr/ml}$. Είναι δομική πρωτεΐνη των χυλομικρών και έτσι κατέχει σημαντικό ρόλο στη μεταφορά των τριγλυκεριδίων έξω από το έντερο. (14)

2.4 APO E

Η Apo E βρίσκεται σχεδόν σε όλες τις τάξεις των λιποπρωτεϊνών. Συντίθεται στο ήπαρ και στους περισσότερους περιφερειακούς ιστούς : λείες μυϊκές ίνες και επιθηλιακά κύτταρα. Το μοριακό της βάρος είναι 34000. Έχουν βρεθεί τρεις ισομορφές της Apo E : E2, E3, E4 και οι γονότυποι : E2/2, E3/3, E4/4, E4/2, E3/2 και E4/3. (13),(14) Τα ποσοστά των γονότυπων στους Καυκάσιους είναι: **E3/3 : 60% , E4/2 : 22% , E3/2 : 12% , E4/4 : 3% , E4/1 : 2% , E2/2 : 1%** . Οι μορφές E2, E3, E4 διαφέρουν ανάλογα με το αν υπάρχει Arg ή Cys στις θέσεις 112 και 158. Έτσι, η E2 έχει Cys και στις δύο θέσεις. Η E3 έχει Cys στην 112 και Arg στην 158. Τέλος, η E4 έχει Arg και στις δύο θέσεις.(14),(19),(20) Οι μορφές αυτές, λόγω της ύπαρξης ή μη κυστεΐνης, διαφέρουν κατά μία μονάδα στο φορτίο. Τελευταία ανακαλύφθηκε η μορφή E7 η οποία αντί για Glu - Glu στις θέσεις 244-245 έχει Lys - Lys.(21)

Η Apo E είναι σημαντική στο μεταβολισμό λιποπρωτεϊνών που περιέχουν αυτήν την απολιποπρωτεΐνη, όπως υπολείμματα χυλομικρών και IDL. Η Apo E παίζει

ενεργό ρόλο στη σύνδεση των παραπάνω λιποπρωτεϊνών στους Apo E υποδοχείς. Οι διάφορες παραλλαγές της απολιποπρωτεΐνης επηρεάζουν αυτήν τη σύνδεση. Έχει βρεθεί ότι η ισομορφή E2 παρέχει τη μικρότερη συγγένεια για τους εν λόγω υποδοχείς.(13)

2.5 APO C

Είναι και η Apo C ετερογενής πρωτεΐνη. Αποτελείται από την Apo C-I, Apo C-II, Apo C-III. Η Apo C-I έχει MB : 6600, η Apo C-II 8800 και η Apo C-III 8900. Η Apo C συντίθεται στο ήπαρ. Ο βιολογικός ρόλος της Apo C είναι γενικά άγνωστος. Η Apo C-I ίσως να εμποδίζει τον καταβολισμό των λιποπρωτεϊνών με Apo E μέσω των B/E υποδοχέων. Η Apo C-II πιστεύεται ότι ενεργοποιεί την LPL. (13),(14) Η Apo C-III ίσως έχει ένα ρόλο παρόμοιο της Apo C-I αναστέλλοντας τη δράση της LPL. (22)

2.6 ΑΛΛΕΣ ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Υπάρχουν και άλλες απολιποπρωτεΐνες όπως η Apo D και η Apo (a). Για τη δεύτερη γίνεται εκτενής αναφορά παρακάτω. Η Apo D συντίθεται στο έντερο και στο πάγκρεας. Έχει MB : 20000. Ο ρόλος της παραμένει άγνωστος. (15)

Στον πίνακα που ακολουθεί συνοψίζονται τα βασικά χαρακτηριστικά των απολιποπρωτεϊνών. (14),(15)

ΠΙΝΑΚΑΣ (4)

(Βασικά χαρακτηριστικά των απολιποπρωτεϊνών)

ΑΡΟs	MBx10³	ΣΥΝΘΕΣΗ	C(mg/dl)	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ
A-I	28,3	ήπαρ, έντερο	100-150	ενεργοποίηση της LCAT, δομική πρωτεΐνη της HDL
A-II	17,0	ήπαρ, έντερο	30-150	δομική πρωτεΐνη της HDL, ενεργοποίηση της HL, ικανότητα σύνδεσης με φωσφολιπίδια.
A-IV	46,0	ήπαρ, έντερο	15	ενεργοποίηση της LCAT
B-100	512	ήπαρ	60-120	δομική πρωτεΐνη των LDL, έκκριση των VLDL συμμετοχή στον καταβολισμό των LDL
B-48	241	έντερο	0-2	έκκριση χυλομικρών
C-I	6,6	ήπαρ	3-11	εμποδίζει τον καταβολισμό λιποπρωτεϊνών με Apo E
C-II	8,8	ήπαρ	1-17	ενεργοποίηση της LPL
C-III	8,9	ήπαρ	3-23	αναστολή ηπατικής πρόσληψης χυλομικρών και VLDL (αναστολή καταβολισμού τους μέσω B/E υποδοχέων
D	20	πάγκρεας, έντερο	10	άγνωστη
E	34	ήπαρ	2-6	καταβολισμός χυλομικρών και IDL
Apo a	300-700	ήπαρ	1-100	αναστολή ινωδόλυσης

Όσον αφορά την πρωτεϊνική σύνθεση των λιποπρωτεϊνών, αυτή φαίνεται στον παρακάτω πίνακα : (12)

ΠΙΝΑΚΑΣ (5)

(Πρωτεϊνική σύσταση λιποπρωτεϊνών % της ολικής πρωτεΐνης)

APOs	CM	VLDL	LDL	HDL
A-I	5	ίχνη	ίχνη	66
A-II	ίχνη	ίχνη	ίχνη	20
A-IV	14	–	–	ίχνη
B	5	37	97	–
C-I	15	3	ίχνη	3
C-II	15	7	ίχνη	ίχνη
C-III	40	40	2	4
D	–	–	–	5
E	4	13	1	1

3. ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΙΝΩΝ

3.1 VLDL

Βιοσύνθεση

Η λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) συντίθεται στο ήπαρ και μεταφέρει τα ενδογενή τριγλυκερίδια, αυτά δηλαδή που σχηματίζονται στο ήπαρ από γλυκερόλη και λιπαρά οξέα.(12) Αρχικά εκκρίνεται υπό μια μη δραστική μορφή, τη νεογενή VLDL (nascent VLDL). Αυτή περιέχει : τριγλυκερίδια, και εστέρες χοληστερόλης στον πυρήνα, ενώ εξωτερικά : ελεύθερη χοληστερόλη, φωσφολιπίδια, Apo B-100 και Apo E. Αμέσως μετά την είσοδο της στο πλάσμα, παραλαμβάνει Apo C-II, Apo C-III και Apo E από την HDL και μετατρέπεται στη δραστική μορφή της VLDL. Ταυτόχρονα μεταφέρονται φωσφολιπίδια στην HDL. (4),(23)

Ο καταβολισμός της VLDL γίνεται στα τριχοειδή. Εκεί υφίσταται την επίδραση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης όπου τα τριγλυκερίδια της VLDL υδρολύονται σε λιπαρά οξέα και γλυκερόλη. Οι Apo C-II και Apo C-III μεταφέρονται πίσω στην HDL, ενώ ανταλλάσσονται CE και PL.(7),(12) Η ανταλλαγή αυτή γίνεται με την CETP (cholesterol ester transfer protein) ειδική γλυκοπρωτεΐνη μεταφοράς λιπιδίων με 476 αμινοξέα. Η CETP συντίθεται στο ήπαρ, στο λεπτό έντερο, στο λιπώδη ιστό, στους νεφρούς και τους μύες και καταλύει τη μεταφορά εστέρων χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων ανάμεσα στις HDL/VLDL και HDL/LDL. Η CETP υπάρχει στο πλάσμα κυρίως πάνω στις HDL. Δεσμεύεται στις λιποπρωτεΐνες ιονικά μέσω των αρνητικών φορτίων της επιφάνειάς τους. Η μεταφορά των λιπιδίων που καταλύει φέρνει μια ισορροπία στα συστατικά των σωματιδίων. Έτσι, μεταφέρονται εστέρες χοληστερόλης από

σωματίδια πλούσια σε εστέρες χοληστερόλης και φτωχά σε τριγλυκερίδια όπως οι HDL, σε σωματίδια φτωχά σε εστέρες χοληστερόλης και πλούσια σε τριγλυκερίδια όπως οι VLDL ενώ τριγλυκερίδια ανταλλάσσονται κατά την αντίθετη φορά.(24),(25) Έτσι δημιουργείται η IDL.

3.2 IDL

Λιποπρωτεΐνη ενδιάμεσης πυκνότητας, προϊόν καταβολισμού της VLDL. Μέσα σε 2-6 ώρες μετά το σχηματισμό της έχει καταβολιστεί. Ο καταβολισμός της IDL περιλαμβάνει δύο μηχανισμούς. Σύμφωνα με τον έναν, ένα μέρος της IDL, το μικρότερο, συνδέεται με το ήπαρ όπου και καταβολίζεται. Η σύνδεση γίνεται σε υποδοχείς Apo E ή Apo B/E. (26)

Το μεγαλύτερο μέρος της λιποπρωτεΐνης όμως, υφίσταται την επίδραση της ηπατικής λιπάσης η οποία υδρολύει τα τριγλυκερίδια και τα φωσφολιπίδια της IDL. Έτσι η IDL μετατρέπεται στην LDL.(12) Πιστεύεται ότι οι μεγάλες VLDL (Sf : 60-400) μετατρέπονται σε IDL οι οποίες είναι δύσκολο να μεταβολιστούν σε LDL. Το μεγαλύτερο δηλαδή μέρος τους απομακρύνεται από το πλάσμα όπως είναι.(6),(27)

3.3 LDL

Λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας που σχηματίζεται από τον καταβολισμό της IDL. Η LDL είναι το κύριο όχημα μεταφοράς χοληστερόλης στα εξωηπατικά κύτταρα, τα οποία χρειάζονται χοληστερόλη για τη σύνθεση των κυτταρικών μεμβρανών τους και τη βιοσύνθεση των ορμονών.(28),(29),(30),(31)

Η λιποπρωτεΐνη αποτελείται από ένα πυρήνα κυρίως εστέρων χοληστερόλης και μικρού ποσού τριγλυκεριδίων, και ένα περίβλημα από φωσφολιπίδια, ελεύθερη χοληστερόλη και Apo B-100.

Υποκλάσματα LDL

Η LDL είναι ετερογενής πληθυσμός σωματιδίων. Αποτελείται από σωματίδια διαφορετικού μεγέθους και πυκνότητας. Η Austin και οι συνεργάτες της (28),(32) χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της ηλεκτροφόρησης (GGE), περιέγραψαν 3 φαινότυπους : **(A)** : μεγάλα και λιγότερο πυκνά σωματίδια, **(B)** : μικρά και πυκνά σωματίδια και έναν ενδιάμεσο τύπο.

Με τη μέθοδο της υπερφυγοκέντρωσης η LDL χωρίστηκε σε 5 τουλάχιστον υποκλάσματα, με βάση την πυκνότητα και το μέγεθος, στα : LDL-I, LDL-II, LDL-III, LDL-IV, LDL-V κατά αύξουσα πυκνότητα και ελάττωση μεγέθους.(33) Ο φαινότυπος της LDL που θα επικρατήσει φαίνεται να είναι κάτω από γενετικό έλεγχο. Ο Fisher είχε προτείνει ότι το MB της LDL ελέγχεται γενετικά και δικαιώνεται το 1986 όταν οι Austin-Krauss καταλήγουν στο ότι ο φαινότυπος (B) επηρεάζεται από ένα γονίδιο με συχνότητα εμφάνισης 15%.(34) Στο ίδιο συμπέρασμα καταλήγει και ο Nishina το 1992.(29)

Παρόλα αυτά ο φαινότυπος της LDL δεν φαίνεται να είναι κάτω από πλήρη γενετικό έλεγχο. Ίσως να επηρεάζεται από διάφορους περιβαντολογικούς παράγοντες όπως τα τριγλυκερίδια (35) τα οποία εμφανίζουν θετική σχέση με τον φαινότυπο B, η ηλικία, το κάπνισμα (36) που συγκλίνουν στο φαινότυπο B.

Ο καταβολισμός της LDL γίνεται στο ήπαρ και σε εξωηπατικούς ιστούς (ινωβλάστες, λείους μύες, λεμφοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα κ.α.). Η διαδικασία περιλαμβάνει σύνδεση της LDL λιποπρωτεΐνης με ειδικές θέσεις, τους υποδοχείς.

Υποδοχείς της LDL

Έρευνες στη δεκαετία του '70 που κατέληξαν στην απονομή του βραβείου Nobel το 1985 στους Braun- Goldstein, οδήγησαν στην ανακάλυψη των υποδοχέων της λιποπρωτεΐνης LDL.(37)

Ο υποδοχέας της LDL είναι μια πρωτεΐνη με μία πολυπεπτιδική αλυσίδα 839 αμινοξέων που κείται εγκάρσια στη μεμβράνη του κυττάρου. Η περιοχή πρόσδεσης περιλαμβάνει επτά επαναλαμβανόμενες και αρνητικά φορτισμένες ομάδες κυστεΐνης, που συνδέονται ηλεκτροστατικά με τις περιοχές της Apo B-100 που είναι πλούσιες σε αργινίνη και λυσίνη, δηλαδή θετικά φορτισμένες. (37),(38)

Ο κύριος ρόλος των υποδοχέων της LDL είναι να διανέμουν χοληστερόλη σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού για τη σύνθεση μεμβρανών και για τις ανάγκες ορισμένων οργάνων που χρειάζονται χοληστερόλη σαν υπόστρωμα για τα δικά τους μεταβολικά προϊόντα όπως : χολικά οξέα, ορμόνες, κορτικοστεροειδή. Επίσης, οι LDL υποδοχείς μπορούν να προσλάβουν τα υπολείμματα των VLDL και IDL. (6)

Ο αριθμός των υποδοχέων της LDL επηρεάζεται από την ηλικία. Συγκεκριμένα, η αύξηση της ηλικίας μειώνει τον αριθμό των υποδοχέων. Τα ηπατικά κύτταρα είναι εφοδιασμένα με το μεγαλύτερο αριθμό LDL υποδοχέων, λόγω της επιφάνειάς τους.

Ο καταβολισμός της LDL, μέσω των υποδοχέων της, ακολουθεί τα παρακάτω βήματα : (6),(37),(38)

1. Η LDL δεσμεύεται στους Apo B/E υποδοχείς.
2. Το σύμπλεγμα (υποδοχέας-LDL) ενσωματώνεται στο κύτταρο.
3. Ακολουθεί λυσοσωμική υδρόλυση η οποία συνεπάγεται αποικοδόμηση της Apo B-100 και υδρόλυση των εστέρων χοληστερόλης.
4. Απελευθερώνεται η ελεύθερη χοληστερόλη η οποία :
 - (α) Ρυθμίζει την HMG-CoA ρεδοκτάση. Έτσι ελέγχεται ο ρυθμός σύνθεσης χοληστερόλης.
 - (β) Η περίσσεια της χοληστερόλης εστεροποιείται στο κύτταρο από την ACAT.

(γ) Τέλος, η χοληστερόλη ρυθμίζει τη σύνθεση των υποδοχέων της LDL.

3.5 HDL

Λιποπρωτείνη υψηλής πυκνότητας, η μικρότερη σε μέγεθος. Σχηματίζεται από :

(α) την VLDL και τα χυλομικρά με τη λιπόλυση,

(β) απ'ευθείας έκκριση από ήπαρ και έντερο,

(γ) από εξωκυττάρια συνένωση αποπρωτεϊνών, φωσφολιπιδίων και ελεύθερης χοληστερόλης.(16),(39)

Αρχικά η HDL εκκρίνεται από το ήπαρ σαν νεογενή HDL (nascent), δισκοειδούς μορφής, αλλά με την επίδραση της LCAT στο πλάσμα μετατρέπεται στη σφαιρική HDL.(12),(39) Η τελευταία, αποτελείται από έναν υδρόφοβο πυρήνα από εστέρες χοληστερόλης και τριγλυκερίδια, ενώ περιβάλλεται από αποπρωτείνες, φωσφολιπίδια και ελεύθερη χοληστερόλη.(6) Το πρωτεϊνικό τμήμα αποτελείται κυρίως από Apo A-I, Apo A-II, Apo A-IV, Apo C-I, Apo C-II, Apo C-III και Apo E. (4),(23)

Η HDL αποτελεί το χώρο αποθηκείωσης των αποπρωτεϊνών Apo E και Apo C του πλάσματος. Επίσης λειτουργεί σαν αποδέκτης που παραλαμβάνει τα προερχόμενα από τα κύτταρα ή ως παραπροϊόντα της λιπόλυσης, πλεονάσματα των φωσφολιπιδίων και της χοληστερόλης. Τα λιπίδια αυτά ανακυκλώνονται μέσω μιας διεργασίας γνωστής ως 'αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης' .(39),(40)

Η διαδικασία περιλαμβάνει μεταφορά χοληστερόλης από τα περιφερειακά κύτταρα στο ήπαρ. Η χοληστερόλη αυτή εστεροποιείται με την LCAT. Αμέσως μετά την εστεροποίησή της, η χοληστερόλη μεταφέρεται στον πυρήνα της HDL ή μεταφέρεται στην VLDL ή στην LDL μέσω της CETP.(12)

Η πορεία της αντίστροφης μεταφοράς χοληστερόλης πραγματοποιείται σε δύο κύρια βήματα :

(1) Μεταφορά της χοληστερόλης από τα ενδοκυττάρια αποθέματα προς την κυτταρική μεμβράνη. Η μεταφορά διευκολύνεται από τη σύνδεση της Apo A-I της HDL σε συγκεκριμένη περιοχή της κυτταρικής επιφάνειας. Ελευθερώνεται διακυλγλυκερόλη η οποία ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C (PKC) και έτσι διευκολύνεται η ροή της χοληστερόλης προς την κυτταρική μεμβράνη.

(2) Εκροή χοληστερόλης από την κυτταρική μεμβράνη λόγω εκρόφησης ή διάχυσης. Έτσι, μετά από αυτή τη διαδικασία απομακρύνεται η συσσωρευμένη στους ιστούς χοληστερόλη.(41),(42),(43),(44)

Υποκατηγορίες της HDL

Η λιποπρωτεΐνη HDL είναι ένας ετερογενής πληθυσμός σωματιδίων. Με βάση την πυκνότητα και το μέγεθος χωρίζονται σε : HDL-I, HDL-II, HDL-III. Το κλάσμα HDL-I θεωρείται αμελητέο.(40)

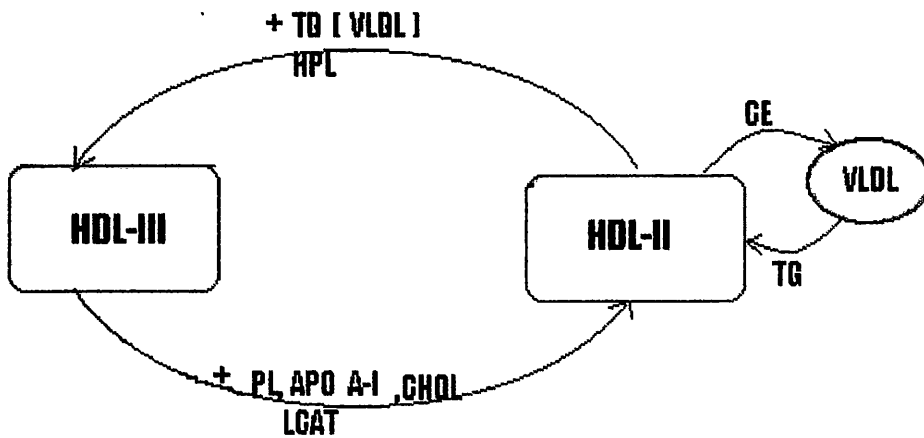
Στον πίνακα που ακολουθεί φαίνονται τα δύο κύρια κλάσματα της HDL και η σύστασή τους.(45),(46),(47)

ΠΙΝΑΚΑΣ (6)

(Σύσταση των κλασμάτων HDL-II και HDL-III)

Λιποπρω- τεΐνη	d (A°)	d(gr/ml)	CE (%)	PL (%)	FC (%)	TG (%)	APOs (%)	APOs
HDL-II	110	1,063- 1,120	18,8	25	3,6	8	43	A-I,II, C
HDL-III	88	1,120- 1,210	14,2	23	1,9	2	55	AII,I, IV,C, E

Οι μορφές (II), (III) μετατρέπονται η μία στην άλλη και οι μετατροπές συνοδεύονται από πρόσληψη ή απώλεια Apo A-I. Δηλαδή καθώς τα σωματίδια της HDL-III μετατρέπονται σε HDL-II, το ποσό της Apo A-I μεγαλώνει.



Σχήμα (2) : Μετατροπή των κλασμάτων HDL-II, HDL-III από τη μια μορφή στην άλλη.

Στο προηγούμενο σχήμα φαίνονται οι μετατροπές των κλασμάτων HDL-II, HDL-III. Δηλαδή, η αρχική μορφή της HDL-III με την επίδραση της LCAT και με πρόσληψη των Apo A-I, ελεύθερης χοληστερόλης, και φωσφολιπιδίων, μετατρέπονται στην HDL-II.(6)

Η LCAT καταλύει τη δημιουργία εστέρων χοληστερόλης στην HDL, στο πλάσμα και η CETP μεταφέρει αυτούς τους εστέρες από την HDL σε άλλες λιποπρωτείνες. Η ελεύθερη χοληστερόλη της HDL προέρχεται από τα κύτταρα ή τις λιποπρωτείνες (VLDL). Οι απολιποπρωτείνες προέρχονται από κυτταρική έκκριση ή απελευθέρωση κατά τη λιπόλυση λιποπρωτεϊνών, πλούσιων σε τριγλυκερίδια. Τα φωσφολιπίδια προέρχονται από τις κυτταρικές μεμβράνες και τις λιποπρωτείνες (VLDL). (Δηλαδή όλα αυτά είναι προϊόντα κυτταρικών μεμβρανών ή λιπόλυσης λιποπρωτεϊνών (VLDL)). Οι HDL-II με τη σειρά τους

μεταφέρουν εστέρες χοληστερόλης στις VLDL και παίρνουν τα τριγλυκερίδια τα οποία υδρολύονται από την HL. Έτσι οι HDL-II ξαναγυρίζουν στην αρχική τους μορφή.(48)

Η κατανομή των HDL- κλασμάτων ρυθμίζεται από διάφορες πρωτείνες όπως Apo A-II, CETP ή ένζυμα όπως ηπατική λιπάση, λιποπρωτεϊνική λιπάση, LCAT. Δηλαδή :

(1) Επειδή η Apo A-II είναι ίσως ενεργοποιητής της ηπατικής λιπάσης, έλλειψη της Apo A-II ίσως να συνεπάγεται μικρή μετατροπή της HDL-II σε HDL-III. (49)

(2) Απουσία της CETP, οι HDL δεν μπορούν να πάρουν τριγλυκερίδια από τις λιποπρωτείνες VLDL, χυλομικρά και έτσι υδρόλυση δεν γίνεται. Δηλαδή υπερισχύουν οι HDL-II.(8), (17), (39)

(3) Έλλειψη της ηπατικής λιπάσης συνεπάγεται χαμηλή συγκέντρωση της HDL-III και υψηλή συγκέντρωση της HDL-II.(39),(49)

(4) Όταν η ενεργότητα της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης είναι χαμηλή, τότε ο καταβολισμός λιποπρωτεϊνών πλούσιων σε τριγλυκερίδια είναι μειωμένος και τα τριγλυκερίδια της HDL-II είναι άφθονα λόγω ανταλλαγής. Αυτό σημαίνει ότι η ηπατική λιπάση υδρολύει συνεχώς τα τριγλυκερίδια και έτσι η συγκέντρωση της HDL-II μικραίνει και παράγονται αρκετά σωματίδια της HDL-III.(39),(49)

Το ίδιο συμβαίνει και με αυξημένη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων στο πλάσμα (17). Έτσι παρατηρούμε ότι μετά από ένα γεύμα πλούσιο σε λιπαρά, έχουμε πτώση της HDL-II και αύξηση της HDL-III.

(5) Απουσία της LCAT έχουμε μικρή συγκέντρωση της HDL-II και αυξημένη συγκέντρωση της HDL-III γιατί η μετατροπή της HDL-III σε HDL-II δεν γίνεται σωστά.(6)

Άλλος διαχωρισμός της HDL είναι με βάση την πρωτεϊνική τους σύνθεση σε Lp A-I, Lp A-I : A-II, Lp A-III, Lp A-I : A-IV. Όλοι οι τύποι έχουν παρόμοιο ποσό

πρωτεΐνης αλλά διαφορετικό ποσό λιπιδίων και συγκεκριμένα χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων.(41),(42) Ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί στο κλάσμα Lp A-I η σύσταση του οποίου φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.(41),(46),(50),(51)

ΠΙΝΑΚΑΣ (7)

(Σύσταση % της Lp A-I)

APOs %	PL %	TG %	T. CHOL %	F.CHOL %
62,0 ± 7,4	21,2 ± 4,4	5,0 ± 2,2	11,8 ± 4,1	2,8 ± 1,1

Η Lp A-I φαίνεται να υπάρχει σε όλες τις λιποπρωτεΐνες, αλλά να επικρατεί στην HDL.

Αποτελείται από δύο κύρια κλάσματα διαφορετικού μεγέθους, την (Lp A-I)1 με διάμετρο Stokes 10,8nm και την (Lp A-I)2 μικρότερη, με διάμετρο 8,5 nm. (47),(50) Η Lp A-I είναι το κύριο σωματίδιο μεταφοράς CETP στις γυναίκες και της LCAT σε γυναίκες και άντρες.(49),(52)

Ο καταβολισμός της HDL γίνεται στο ήπαρ. Η HDL παραλαμβάνεται από τα ηπατικά κύτταρα μέσω ειδικών θέσεων σύνδεσης, που είναι όμως διαφορετικές από τους υποδοχείς Apo E ή Apo B/E.(6) Ακολουθεί ενδοκύττωση και αποικοδόμηση η οποία αφορά τους εστέρες της χοληστερόλης αλλά και τις πρωτεΐνες. Η χοληστερόλη που ελευθερώνεται, ενσωματώνεται εκ νέου σε λιποπρωτεΐνες ή μετατρέπεται σε χολικά οξέα ή απεκκρίνεται με τη χολή από τον οργανισμό. (4),(23)

3.7 ΧΥΛΟΜΙΚΡΑ

Λιποπρωτεΐνη μεγάλων διαστάσεων, η μεγαλύτερη, που εκκρίνεται από τα κύτταρα του εντερικού επιθηλίου. Τα χυλομικρά μεταφέρουν τα τριγλυκερίδια των τροφών από το έντερο στην κυκλοφορία.(12)

Αρχικά εκκρίνονται υπό μία μη δραστική μορφή και αναφέρονται σαν νεογενή χυλομικρά.(nascent). Αυτά τα νεογενή χυλομικρά αποτελούνται από τριγλυκερίδια και εστέρες χοληστερόλης που περιβάλλονται από φωσφολιπίδια, ελεύθερη χοληστερόλη και απολιποπρωτεΐνες (A-I, IV, II, B-48). Αμέσως μετά την είσοδο τους στο πλάσμα παραλαμβάνουν Apo C-II, CIII, Apo E από την HDL και δίνουν φωσφολιπίδια και Apo A-I, A-IV. Έτσι μεταπίπτουν στη μεταβολικά δραστική μορφή των χυλομικρών. (23),(53)

Ο καταβολισμός των χυλομικρών γίνεται στα τριχοειδή. Τα τριγλυκερίδια των χυλομικρών υδρολύονται από την λιποπρωτεϊνική λιπάση. Τα απελευθερούμενα λιπαρά οξέα αποδίδονται στους ιστούς : λιπώδη και μυϊκό κυρίως. Η Apo C-II και η Apo C-III μεταφέρονται πίσω στην HDL. Έτσι τα σωματίδια των χυλομικρών μικραίνουν προοδευτικά σε μέγεθος και σχηματίζονται τα υπολείμματα των χυλομικρών (remnants).(12),(23)

Ο καταβολισμός αυτών των υπολειμμάτων γίνεται στο ήπαρ σε υποδοχείς της Apo E που είναι διαφορετικοί από τους υποδοχείς Apo B/E. Η ενεργότητα των υποδοχέων της Apo E, σε αντίθεση με τους υποδοχείς Apo B/E, δεν επηρεάζεται από την ηλικία. Θεωρητικά, τα υπολείμματα των χυλομικρών θα μπορούσαν να καταβολιστούν και σε υποδοχείς της LDL, αλλά λόγω συναγωνισμού με τις LDL, καταβολίζονται στους υποδοχείς της Apo E.(12),(14)

Με τον καταβολισμό των υπολειμμάτων μεταφέρονται χοληστερόλη και τριγλυκερίδια της τροφής στο ήπαρ. Ένα ποσό από τη χοληστερόλη επανεκκρίνεται σαν ελεύθερη χοληστερόλη ή σαν χολικά οξέα στο

έντερο.(Εντερο-ηπατική κυκλοφορία χοληστερόλης). Η κάθαρση των υπολειμμάτων των χυλομικρών επηρεάζεται από το ποσό της Apo E, τον υποθυροειδισμό και τον διαβήτη, παράγοντες που προκαλούν μειωμένη κάθαρση.(54)

3.8 LP(a)

Λιποπρωτεΐνη που ανακαλύφθηκε το 1963 από τον Berg. Παράγεται από το ήπαρ αλλά από διαφορετική οδό από αυτή των VLDL και μεταφέρει λιγότερο από το 15% της ολικής χοληστερόλης του πλάσματος.(55) Μοιάζει δομικά με την LDL μόνο που εδώ υπάρχει και η Apo(a) συνδεδεμένη με δισουλφιδικό δεσμό με την Apo B.(56),(57),(58)

Η Apo(a) έχει παρόμοια δομή με το πλασμινογόνο (plg), ζυμογόνο πρωτεάσης της σερίνης.(59) Έχει μάλιστα διαμορφωθεί η άποψη ότι η δομή της Apo(a) εξελίχθηκε από τη δομή του πλασμινογόνου με σειρά μεταλλάξεων. Το πλασμινογόνο παίζει σημαντικό ρόλο στη θρομβόλυση, μέσω παραγωγής πλασμίνης.

πλασμινογόνο → πλασμίνη → λύση θρόμβων
--

Το γονίδιο της Apo(a) είναι όπως και του πλασμινογόνου, στο χρωμόσωμα 6.(59) Η διαμόρφωση της αμινοτελικής τους περιοχής είναι παρόμοια και χαρακτηρίζεται από μία σειρά διαδοχικών δακτυλίων (kringles)(56),(60)

συνέπεια διαφορετική συγκέντρωση Lp(a), λόγω αντίστροφης σχέσης μεταξύ μεγέθους της Apo(a) και συγκέντρωσης της Lp(a).(56),(63),(64),(65) Οι επαναλήψεις του K-IV είναι περίπου 15-40.(55),(60)

Στον πίνακα που ακολουθεί φαίνονται οι χαρακτηριστικές ομοιότητες και διαφορές μεταξύ της Apo(a) και του πλασμινογόνου.(65)

ΠΙΝΑΚΑΣ (8)

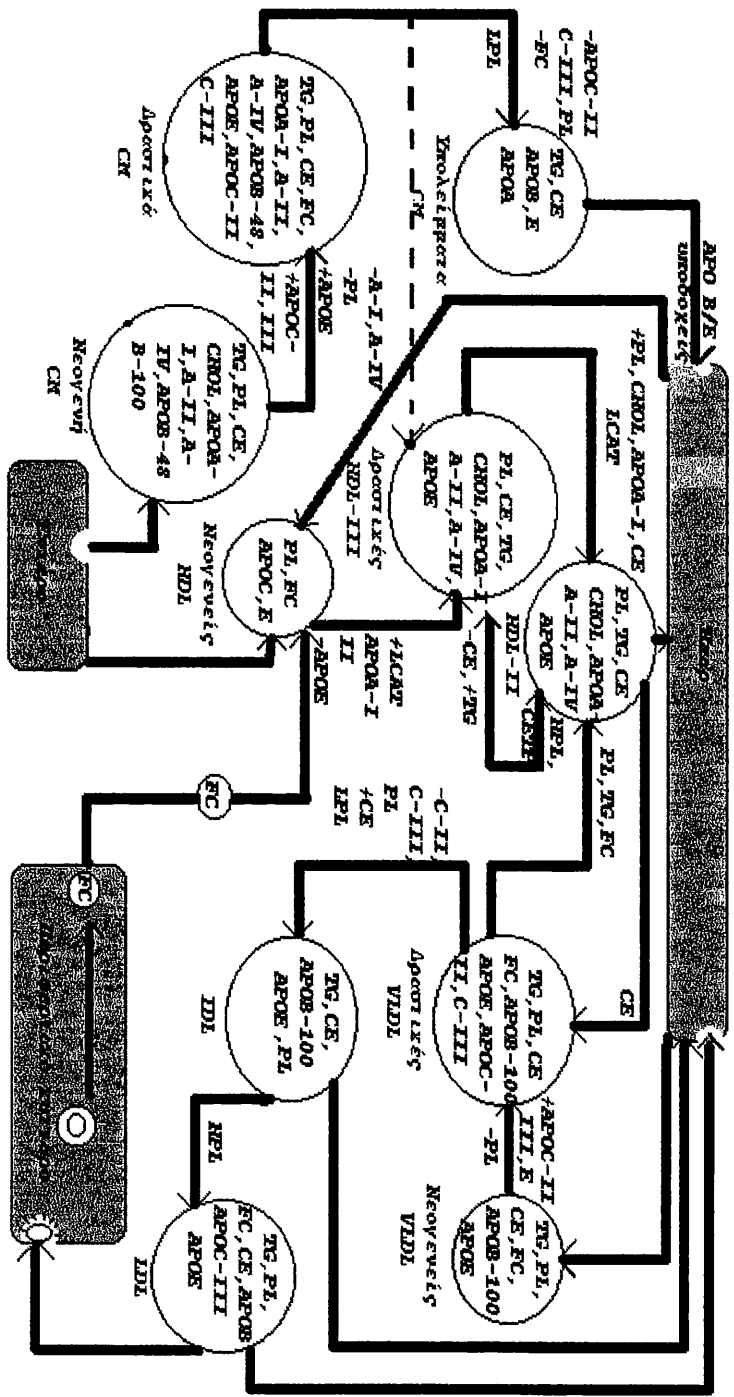
(Ομοιότητες και διαφορές μεταξύ Apo(a) και πλασμινογόνου)

	Apo(a)	πλασμινογόνο
MB	300000-700000	92000
χρωμόσωμα	6	6
αμινοξέα	4529	791
σύνδεση με λιποπρ.	+	-
δράση πρωτεάσης	-	+
τύποι δακτυλίων	K-IV, K-V	K-I, II, III, IV, V

Μεταβολισμός της LP(a)

Ο μεταβολισμός της Lp(a) είναι ανεξάρτητος από τις άλλες λιποπρωτεΐνες. Μερικές έρευνες έδειξαν ότι η Lp(a) δεσμεύεται στον υποδοχέα της LDL αφού βρήκαν αρκετά αυξημένες τιμές της λιποπρωτεΐνης σε ασθενείς με οικογενή υπερλιπιδαιμία (FH). Επίσης σε περιπτώσεις αυξημένης ενεργότητας των υποδοχέων της LDL βρέθηκε αυξημένος καταβολισμός της Lp(a).(57) Στις περισσότερες όμως έρευνες δεν βρέθηκε καμία σχέση μεταξύ υποδοχέων της LDL και Lp(a).(66) Μάλιστα η Gries πρότεινε ότι η Apo(a) είναι ένας πιθανός

λόγος για τον οποίο η $Lp(a)$ δεν μπορεί να δεσμευτεί με τους παραπάνω υποδοχείς, λόγω κάποιων αλλαγών που προκαλεί στην περιοχή σύνδεσης της Apo B. Ίσως το μεγαλύτερο ποσοστό της $Lp(a)$ να καταβολίζεται μέσω των υποδοχέων του πλασμινογόνου ή από τα μακροφάγα.(67)



Σχήμα (3) : Συνολικός μεταβολισμός λιπιδίων

4. ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΕΣ (6), (68), (69)

4.1 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΩΝ

Οι δυσλιπιδαιμίες χαρακτηρίζονται από την αύξηση των επιπέδων των λιπιδίων ή λιποπρωτεϊνών στο πλάσμα πάνω από τα επιθυμητά όρια και συνήθως οδηγούν σε πρόωμη αθηροσκλήρυνση. Τα επιθυμητά όρια της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων έχουν καθοριστεί από την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Αθηροσκλήρυνσης (European Atherosclerosis Society, EAS) και την ομάδα ειδικών στο Εθνικό Πρόγραμμα Επιμόρφωσης για τη χοληστερόλη των ΗΠΑ (National Cholesterol Education Program, NCEP) 1988 και έχουν ήδη αναφερθεί (βλέπε παρ.1.3, 1.5)

Το 1967 οι Fredrickson, Levy και Lees επιχείρησαν μια ταξινόμηση των δυσλιπιδαιμιών. Η ταξινόμηση αυτή έχει ομαδοποιήσει τις δυσλιπιδαιμίες σε 5 φαινότυπους, I έως V εκ των οποίων ο II έχει χωριστεί σε IIA και IIB. Η ταξινόμηση έγινε με βάση τις τιμές της χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων και τις ηλεκτροφορητικές ομάδες των λιποπρωτεϊνών. Δίνεται επίσης σημασία στην όψη του πλάσματος μετά από παραμονή στους 4°C για 16 ώρες. Εάν υπάρχουν χυλομικρά (φαινότυπος I και V) μετά από 12-14 ώρες νηστείας, το πλάσμα εμφανίζεται θολό και γαλακτώδες. Αν υπάρχει αύξηση των VLDL (φαινότυπος IV), το πλάσμα έχει ελαφρώς θολερή εμφάνιση. Στο φαινότυπο IIA το πλάσμα είναι καθαρό και λίγο κιτρινωπό λόγω αυξημένης LDL. Τέλος στον IIB είναι λίγο θολερό λόγω αυξημένης VLDL.

ΠΙΝΑΚΑΣ (9)

Ταξινόμηση των δυσλιπιδαιμιών κατά Fredrickson

ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ	ΠΛΑΣΜΑ	ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ	ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ
I	Γαλακτώδες	Φ ή ↑	↑↑↑
II	Καθαρό	↑↑↑	Φ ή ↑
III	Θολερό	↑↑	↑
IV	Θολερό	↑	↑↑
V	Θολερό ή γαλακτώδες	↑	↑↑

Φ: φυσιολογική

Η ταξινόμηση αυτή είναι ελλιπής γιατί δεν διαχωρίζει τις δυσλιπιδαιμίες σε πρωτοπαθείς και δευτεροπαθείς. Ο διαχωρισμός αυτός είναι απαραίτητος γιατί η θεραπεία των δευτεροπαθών δυσλιπιδαιμιών βασίζεται στη θεραπεία της υποκειμένης νόσου. Το ελλειπές της ταξινόμησης αυτής είναι εμφανές ακόμη και στις πρωτοπαθείς δυσλιπιδαιμίες όπου ένας φαινότυπος μπορεί να περιλαμβάνει νοσήματα με διαφορετική αιτιολογία. Ο φαινότυπος II π.χ εμφανίζεται στην οικογενή υπερχοληστερολαιμία και στην οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία.

4.2 ΠΡΩΤΟΠΑΘΕΙΣ ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΕΣ

Οι πρωτοπαθείς δυσλιπιδαιμίες ταξινομούνται με βάση την κληρονομική μεταβίβαση των γενετικών ανωμαλιών σε 3 ομάδες : Μονογονικές με επικρατούντα χαρακτήρα (οικογενής υπερχοληστερολαιμία, οικογενής

συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία, οικογενής υπερτριγλυκεριδαιμία και οικογενής υποβηταλιποπρωτεϊναιμία), μονογονικές με υπολειπόμενο χαρακτήρα (σύνδρομο χυλομικροναιμίας, έλλειψη του ενζύμου LCAT, fish eye disease) και πολυγονικές (κοινή πολυγονική υπερχοληστερολαιμία, υπερλιποπρωτεϊναιμία τύπου III, υπεραλφαλιποπρωτεϊναιμία).

Οικογενής υπερχοληστερολαιμία (FH)

Οφείλεται στις διαταραχές των υποδοχέων της LDL και παρουσιάζει αύξηση της LDL χοληστερόλης στο πλάσμα. Το γονίδιο του υποδοχέα LDL βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19 και τυχόν μεταλλάξεις του οδηγούν σε μείωση της αποικοδόμησης της LDL. Έχουν περιγραφεί δύο μορφές διαταραχών των υποδοχέων της LDL.

1. Στην πρώτη μορφή (Rbo), λόγω ανυπαρξίας των υποδοχέων, η LDL δεν δεσμεύεται.
2. Στη δεύτερη μορφή (Rb), λόγω ανωμαλίας των υποδοχέων, παρατηρείται είτε ελλιπή σύνδεση των σωματιδίων της LDL (Rb-), είτε αδυναμία μεταφοράς της LDL στο εσωτερικό των κυττάρων (Rb+).

Μελέτες στο γονίδιο του υποδοχέα της LDL δείχνουν ότι υπάρχουν τουλάχιστον εκατό μεταλλάξεις που οδηγούν στις πιο πάνω διαταραχές. Οι μεταλλάξεις αυτές κατατάσσονται σε τέσσερις ομάδες σύμφωνα με το στάδιο μεταβολισμού της που παρουσιάζεται η διαταραχή.

(α) Μεταλλάξεις που οδηγούν σε διαταραχές της σύνθεσης των υποδοχέων της LDL.

(β) Μεταλλάξεις που οδηγούν σε διαταραχές της μεταφοράς των υποδοχέων της LDL από το ενδοπλασματικό δίκτυο στη συσκευή Golgi.

(γ) Μεταλλάξεις που οδηγούν σε διαταραχές της σύνδεσης της LDL με τους υποδοχείς τους.

(δ) Μεταλλάξεις που οδηγούν σε διαταραχές της ενδοκύττωσης συμπλόκων ενώσεων της LDL με τους υποδοχείς.

Η ετερόζυγος μορφή της διαταραχής είναι συχνή γενετική νόσος, με συχνότητα εμφάνισης 1:500 ενώ η ομόζυγος μορφή εμφανίζεται με συχνότητα 1: 1.000.000. Η διάγνωση θεωρείται βέβαιη όταν εκτός από τα υψηλά επίπεδα LDL στο πλάσμα, ο ασθενής εμφανίζει και ξανθώματα τενόντων στους Αχιλλεύους και σπανιότερα στους εκτατικούς τένοντες του μεγάλου δακτύλου και του τρικεφάλου. Στην ετερόζυγο μορφή της παραπάνω διαταραχής εμφανίζεται στεφανιαία νόσος μετά τη δεύτερη δεκαετία. Το 50% των ανδρών και το 15% των γυναικών ασθενών αποβιώνουν μέχρι το εξηκοστό έτος τους, ενώ το 85% των ανδρών παρουσιάζουν έμφραγμα μέσα στην ίδια χρονική περίοδο αν μείνουν χωρίς θεραπεία. Στην ομόζυγο μορφή της οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας η στεφανιαία νόσος εκδηλώνεται στην παιδική ηλικία.

Η οικογενής υπερχοληστερολαιμία εμφανίζεται φαινοτυπικά σαν ΙΙΑ ή ΙΙΒ. Τα επίπεδα χοληστερόλης του πλάσματος των ασθενών με ετρόζυγο μορφή κυμαίνονται μεταξύ 270-800 mg/dl όταν δεν βρίσκονται υπό αγωγή. Η συνηθέστερη τιμή είναι στην περιοχή των 350 mg/dl. Στους ασθενείς με ομόζυγο μορφή τα επίπεδα είναι πάνω από 600 mg/dl και μπορεί να φτάσουν και τα 1000 mg/dl. Στην οικογενή υπερχοληστερολαιμία είναι πιθανόν να εμφανιστούν και αυξημένα τριγλυκερίδια(>200 mg/dl)

Οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία (FCH)

Η οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία εμφανίζεται γενικά στον πληθυσμό με συχνότητα 3-5% και ειδικότερα σε άτομα που έχουν υποστεί έμφραγμα του

μυοκαρδίου με συχνότητα 10-20%. Η FCH κάνει την εμφάνισή της μετά την δεύτερη δεκαετία αρχικά σαν υπερτριγλυκεριδαιμία και εξελίσσεται σε υπερχοληστερολαιμία. Κατά την εκδήλωσή της, η παραγωγή της Apo B-100 εμφανίζεται αυξημένη ενώ τα μόρια της VLDL παρουσιάζονται μικρότερα σε μέγεθος από τα φυσιολογικά με αποτέλεσμα να παρουσιάζονται υψηλά επίπεδα IDL. Η αύξηση της συγκέντρωσης της Apo B-100 παρατηρείται και σε άλλες περιπτώσεις όπως παχυσαρκία, οικογενή υπερτριγλυκεριδαιμία αλλά σε μικρότερο βαθμό. Βασικό χαρακτηριστικό της FCH είναι ότι στην ίδια οικογένεια μπορούν να εμφανιστούν όλες οι φαινοτυπικές μορφές (IIA, IIB, IV, V). Η FCH δεν εκδηλώνεται κλινικά με τον ίδιο τρόπο σε όλους τους πάσχοντες. Πολύ σπάνια εμφανίζεται σαν παγκρεατίτιδα ή σακχαρώδης διαβήτης και συχνά σαν πρόωμη αθηροσκλήρυνση. Τα άτομα με FCH παρουσιάζουν μέτρια αύξηση τριγλυκεριδίων ή χοληστερόλης ή και των δύο μαζί. Παρόλα αυτά ο κίνδυνος εμφράγματος μυοκαρδίου, λόγω της νόσου, είναι μεγάλος.

Οικογενής υπερτριγλυκεριδαιμία

Η συχνότητα εμφάνισέως της στον γενικό πληθυσμό είναι 0,2-0,3%. Τα άτομα που πάσχουν από τη νόσο αυτή εμφανίζουν μεγαλύτερα μόρια VLDL επειδή έχουν περισσότερα τριγλυκερίδια (ο λόγος : τριγλυκερίδια/Apo B είναι μεγάλος) ενώ τα επίπεδα της HDL είναι μειωμένα.

Ο καταβολισμός των σωματιδίων VLDL παρουσιάζει μια υστέρηση λόγω μειωμένης πρόσληψης των λιπαρών οξέων από το λιπώδη ιστό. Αυτό οδηγεί σε συσσώρευση των ελεύθερων λιπαρών οξέων και αναστολή της λιπόλυσης η οποία τελικά δεν οφείλεται σε μειωμένη συγκέντρωση λιποπρωτεϊνικής λιπάσης. Η αύξηση των επιπέδων VLDL όχι μόνο δεν οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων των παραγόμενων LDL αλλά αντίθετα σε μείωσή τους. Αυτό συμβαίνει διότι οι

συγκεκριμένες VLDL, λόγω του μεγαλύτερου μεγέθους τους, προσλαμβάνονται ευκολότερα από τους υποδοχείς της LDL. Έτσι τα άτομα που πάσχουν από οικογενή υπερτριγλυκεριδαιμία παρουσιάζουν μόνο αυξημένα τριγλυκερίδια.

Η οικογενής υπερτριγλυκεριδαιμία παρουσιάζεται στους ενήλικες και μπορεί να συνοδεύεται από παχυσαρκία ή να συνυπάρχει με δυσανεξία γλυκόζης ή υπερινσουλιαιμία. Πράγοντες όπως η υπερκατανάλωση αλκοόλ, η χρήση αντισυλληπτικών φαρμάκων μπορεί να επιδεινώσουν ή και να συμβάλλουν στην εμφάνιση της νόσου.

Σύμφωνα με την ταξινόμηση του Fredrickson τα άτομα που πάσχουν από οικογενή υπερτριγλυκεριδαιμία είναι τύπου IV και σπάνια V. Παρουσιάζουν οριακά επίπεδα χοληστερόλης (<240 mg/dl) και αυξημένα τριγλυκερίδια.

Οικογενής β-υπολιποπρωτεϊναιμία

Είναι πολύ σπάνια νόσος. Η διάγνωσή της γίνεται με τα ακόλουθα κριτήρια :

α. Πολύ χαμηλά επίπεδα LDL.

β. Ικανοποιητικά επίπεδα HDL.

γ. Χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων

δ. Ίδια χαρακτηριστικά της νόσου σε όλα τα πάσχοντα μέλη της οικογένειας.

Σπάνια προκαλεί κλινικά συμπτώματα όπως δυσανεξία στα λίπη ή νευρολογικές εκδηλώσεις. Λόγω της χαμηλής LDL χοληστερόλης στο πλάσμα, ο κίνδυνος στεφανιαίας νόσου είναι πολύ μικρός. Απεναντίας, έχουμε το σύνδρομο μακροζωίας.

Σύνδρομο χυλομικροναϊμίας

Είναι σπάνιο σύνδρομο (1:1000000) και χαρακτηρίζεται από σοβαρή υπερτριγλυκεριδαιμία και υπερχυλομικροναϊμία. Εμφανίζεται στην παιδική

ηλικία (πριν τα 10 χρόνια). Οφείλεται είτε σε έλλειψη του ενζύμου λιποπρωτεϊνική λιπάση (οικογενής δυσλιπιδαιμία τύπου I) είτε σε έλλειψη της απολιποπρωτεΐνης Apo CII.

A. Αν υπάρχει έλλειψη της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης τα χυλομικρά δεν υδρολύονται με αποτέλεσμα να συσσωρεύονται στο πλάσμα.

B. Αν υπάρχει έλλειψη της απολιποπρωτεΐνης η ενεργοποίηση του ενζύμου δεν είναι εφικτή με αποτέλεσμα την συσσώρευση των χυλομικρών και πάλι. Η συσσώρευση των χυλομικρών οδηγεί σε αύξηση των τριγλυκεριδίων και τελικά σε μείωση των VLDL, IDL και LDL.

Το σύνδρομο της υπερχυλομικροναϊμίας δεν οδηγεί σε πρόωμη αθηροσκλήρυνση επειδή τα χυλομικρά δεν διαπερνούν τα τοιχώματα των αγγείων.

Στην παραπάνω διαταραχή τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα πλησιάζουν τα 4000mg/dl.

Έλλειψη του ενζύμου LCAT

Πρόκειται για πολύ σπάνια νόσο. Εκδηλώνεται με αύξηση της ελεύθερης χοληστερόλης στο πλάσμα η οποία συνοδεύεται από αύξηση τριγλυκεριδίων. Η νόσος οφείλεται σε έλλειψη του ενζύμου LCAT το οποίο προκαλεί την εστεροποίηση της ελεύθερης χοληστερόλης. Η μοναδική εστεροποιημένη μορφή χοληστερόλης προέρχεται από τη δράση του εντερικού ενζύμου ACAT.

Υπάρχουν διάφορες μεταλλάξεις της LCAT που προκαλούν ανεπάρκεια όπως (Tyr171→stop) και (Arg147→Trp). Η πρώτη προκαλεί μείωση της μάζας της LCAT κατά 10% της κανονικής. Οι λιποπρωτεΐνες που τελικά σχηματίζονται (Lp-X) περιέχουν 25% ελεύθερη χοληστερόλη και 60% φωσφολιπίδια. Είναι σαν τις LDL αλλά χαμηλού μοριακού βάρους. Οι υπόλοιπες λιποπρωτεΐνες παρουσιάζουν ανωμαλίες στη σύνθεσή τους λόγω της έλλειψης εστεροποιημένης

χοληστερόλης. Η VLDL π.χ παρουσιάζει διαφορετική ηλεκτροφορητική ικανότητα ενώ η HDL διατηρεί την πρόδρομη μορφή της και η συγκέντρωσή της είναι αρκετά χαμηλή.

Άτομα με έλλειψη της LCAT εμφανίζουν συσσώρευση χοληστερόλης και φωσφολιπιδίων στους νεφρούς και παρουσιάζουν νεφρικές δυσλειτουργίες γύρω στα 40-50 χρόνια.

Νόσος Ταγγέρης (Tangiers) (οικογενής α-υπολιποπρωτεϊναιμία)

Η νόσος οφείλεται σε γενετική διαταραχή του μορίου της Apo A-I η οποία εκδηλώνεται με χαμηλά επίπεδα της HDL. Παράδειγμα : Η Apo A-I (Milano) (Arg173 →Cyst) προκαλεί μειωμένη σύνθεση της HDL. Άλλες μεταλλάξεις όπως η Apo A-I (Pro165→ Arg), Apo A-I (Iowa)(Gly26 → Arg), Apo A-I(Fukuoka)(Gln110→Lys) προκαλούν επίσης μειωμένη παραγωγή της Apo A-I άρα και της HDL.(9) Αυτό οδηγεί σε σοβαρή μείωση των επιπέδων της HDL και σε αποθήκευση της εστεροποιημένης χοληστερόλης στα μακροφάγα διαφόρων οργάνων όπως ήπαρ, σπλήνα, λεμφαδένες, μυελό των οστών αμυγδαλές και στα λεία μυϊκά κύτταρα του εντέρου. Τα τοιχώματα των αγγείων δεν προσβάλλονται από τη νόσο.

Fish eye disease

Στην πάθηση αυτή παρουσιάζεται αύξηση των τριγλυκεριδίων και μείωση των HDL, Apo A-I και LCAT.

Οικογενής ανωμαλία B-100 απολιποπρωτεΐνης

Αυτή η διαταραχή μεταβιβάζεται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα και οδηγεί σε ανωμαλία του μορίου ApoB-100. Η Apo B-100 αδυνατεί πλέον να

δεσμευτεί από τους υποδοχείς της LDL με αποτέλεσμα την αύξηση της LDL. Η λιποπρωτεΐνη VLDL επειδή διαθέτει ApoE μπορεί να δεσμευτεί από τους υποδοχείς και μετατρέπεται κανονικά σε LDL. Τα άτομα με τη συγκεκριμένη διαταραχή έχουν μόνο υψηλά επίπεδα χοληστερόλης (λίγο χαμηλότερα από αυτά της ετερόζυγης μορφής FH, 250-300mg/dl), ενώ δεν εμφανίζουν ξανθώματα τενόντων. Η επίπτωση της στεφανιαίας νόσου στην παραπάνω οικογενή ανωμαλία δεν είναι ακόμα γνωστή.

Κοινή πολυγονική υπερχοληστερολαιμία

Είναι η πιο συχνή μορφή υπερλιποπρωτεϊναιμίας που απαντάται στην καθημερινή πράξη. Παρατηρείται στο 0,5% του γενικού πληθυσμού και είναι λιγότερο σοβαρή από την FH. Οι διαταραχές που παρατηρούνται μπορούν να οφείλονται σε : Ελλιπή λειτουργία των υποδοχέων της LDL, ανωμαλία των μορίων της Apo B-100 ή της Apo E, αύξηση της σύνθεσης της Apo B-100, αύξηση της απορρόφησης της χοληστερόλης στο έντερο, μείωση του ρυθμού καταβολισμού της χοληστερόλης.

Ενώ η ολική χοληστερόλη του πλάσματος είναι αυξημένη και συναντάται πρόωμη αθηροσκλήρυνση, δεν παρατηρούνται ξανθώματα τενόντων.

Οικογενής δυσλιπιδαιμία τύπου III, υπολειμματική δυσλιπιδαιμία, οικογενής β-λιποπρωτεϊναιμία

Η γενετική διαταραχή οφείλεται σε ανωμαλία του γονιδίου της Apo E. Η Apo E παρουσιάζει 3 ισομορφές, οι οποίες είναι γενετικά καθορισμένες, τις E2, E3 και E4. Η Apo E2 παρουσιάζει τη μικρότερη συγγένεια δέσμευσης με τους υποδοχείς της LDL. Στα άτομα με οικογενή δυσλιπιδαιμία τύπου III παρουσιάζεται αύξηση της Apo E στο πλάσμα λόγω συσσώρευσης της στις λιποπρωτεΐνες και σπάνια

μείωσή της λόγω ανωμαλίας στη δομή της. Η συσσώρευση αυτή οδηγεί σε μειωμένο καταβολισμό των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών (χυλομικρά και VLDL). Αυτό οδηγεί σε αύξηση του σχηματισμού λιποπρωτεϊνών πλούσιων σε εστέρες χοληστερόλης με β-κινητικότητα στην ηλεκτροφόρηση. Τα μόρια αυτά είναι γνωστά σαν β-VLDL.

Για την εκδήλωση της νόσου απαιτείται και άλλη μεταβολική διαταραχή, εκτός από την ανωμαλία της Άπο Ε, όπως παχυσαρκία, σακχαρώδης διαβήτης κ.ά. Η νόσος εκδηλώνεται στην ενήλικη ζωή με δερματικά εξανθήματα, ξανθώματα τενόντων, ή πρόιμη στεφανιαία νόσο.

Άτομα με την παραπάνω διαταραχή εμφανίζουν αυξημένα τριγλυκερίδια και χοληστερόλη, ενώ η LDL παρατηρείται μειωμένη.

α-Υπερλιποπρωτεϊναιμία

Τα άτομα που εμφανίζουν αυτή τη διαταραχή παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα HDL χοληστερόλης (>70 mg/dl). Η διαταραχή χαρακτηρίζεται από μακροβιότητα.

4.3 ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΕΙΣ ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΕΣ

Οι δευτεροπαθείς δυσλιπιδαιμίες προκαλούνται από ορμονικές διαταραχές (υποθυροειδισμός, λήψη γυναικείων ορμονών), μεταβολικές διαταραχές (σακχαρώδη διαβήτη, ουρική αρθρίτιδα, παχυσαρκία), νεφρική δυσλειτουργία (νεφρωτικό σύνδρομο, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια), νοσήματα του ήπατος (χολόσταση, χολολιθίαση), τοξίνες (αλκοόλ), νοσήματα του ανοσοποιητικού (ερυθηματώδης λύκος, μυέλωμα) και τέλος ιατρογενείς παράγοντες (διουρητικά, αντιυπερτασικά, κορτικοειδή).

5. ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΣ

5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η στεφανιαία νόσος αποτελεί την κυριότερη αιτία θανάτου στις Δυτικές κοινωνίες. Οφείλεται στην αθηροσκλήρυνση των στεφανιαίων αρτηριών και θεωρείται πολυπαραγοντική νόσος. Η συνδυασμένη δράση πολλών περιβαντολλογικών και γενετικών παραγόντων στην γένεση της στεφανιαίας νόσου, στον κατάλογο των οποίων προστίθενται καθημερινά νέοι παράγοντες, εξηγεί τη δυσκολία κατανόησης της αιτιοπαθογένειας της.

Μολονότι οι κλινικές εκδηλώσεις της τοποθετούνται γύρω στην 5-6η δεκαετία της ζωής, η φυσική ιστορία της αρχίζει σιωπηρά από την παιδική ηλικία.(70),(71) Κύριες διεργασίες που μετέχουν στο σχηματισμό αθηροσκληρυντικής πλάκας είναι :

5.2 Ο τραυματισμός του αγγείου

Αυτός χωρίζεται σε 3 τύπους :(72),(73)

(α) ΤΥΠΟΣ Ι

Δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων χωρίς σημαντικές μορφολογικές αλλαγές. Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου είναι ένα πολύπλοκο φαινόμενο και πολυπαραγοντικό. Μερικά από τα αίτια που φαίνεται να προκαλούν ενδοθηλιακό τραυματισμό είναι : η υπερχοληστερολαιμία, το κάπνισμα, η υψηλή αρτηριακή πίεση, αιμοδυναμικοί παράγοντες, ιογενείς λοιμώξεις.(74),(75),(76),(77)

(β) ΤΥΠΟΣ ΙΙ

Χαρακτηρίζεται από επιφανειακή καταστροφή της ενδοθηλιακής στιβάδας.(78)

(γ) ΤΥΠΟΣ ΙΙΙ

Εδώ υπάρχει καταστροφή του ενδοθηλίου και της μέσης στιβάδας. Αποτέλεσμα της βλάβης του ενδοθηλίου είναι η αυξημένη διαπερατότητα σε λιπίδια του πλάσματος και μονοκύτταρα.(72),(73)

5.3 Προσέλκυση μονοκυττάρων και δημιουργία αφρωδών κυττάρων

Παράγοντες που διαδραματίζουν ρόλο στην προσέλκυση και προσκόλληση των μονοκυττάρων στον έσω χιτώνα είναι :

(α) Οι πρωτείνες προσκόλλησης GP-90, GP-155 και GP-160 που εκφράζονται στην επιφάνεια των μονοκυττάρων.(79)

(β) Η πρωτεΐνη προσκόλλησης V-CAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) (μόριο προσκόλλησης αγγειακών κυττάρων) που βρίσκεται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων.(80)

(γ) Ο χημειοτακτικός παράγοντας MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1) που εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα.(81),(82)

(δ) Οι πρωτείνες πλάσματος όπως το ινωδογόνο και οι λιποπρωτείνες.(83)

(ε) Η οξείδωση της LDL που ασκεί χημειοτακτική δράση και άμεσα και έμμεσα, μέσω διέγερσης έκκρισης του MCP-1.(84)

Ο ρόλος των μονοκυττάρων και των παραγόμενων μακροφάγων στην αθηρογέννηση, είναι πολλαπλός και γενικά άγνωστος. Στον πίνακα που ακολουθεί, παρουσιάζονται ορισμένες από τις ιδιότητες των προερχόμενων από τα μονοκύτταρα μακροφάγων που εμπλέκονται στην αθηρογέννηση.

ΠΙΝΑΚΑΣ (9)

ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ ΣΤΗΝ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ

- (1) Προάγουν την τοπική θρομβογένεση απελευθερώνοντας τον αναστολέα του ενεργοποιητή του Ptg-1, τον PAI-1.(81)
- (2) Έκκριση μιτογόνων παραγόντων όπως του macrophage derived growth factor (αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από τα μακροφάγα) που παίρνουν μέρος στον πολλαπλασιασμό των λείων μυικών κυττάρων.(85)
- (3) Έκλυση ενζύμων (κολλαγενάση, ελαστάση) που συμβάλλουν στην πρόκληση τραυματισμού τύπου III.(73)
- (4) Έκλυση ελευθέρων ριζών $O_2^{\bullet -}$ (ανιόν του σουπεροξειδίου) που ευοδώνουν την οξείδωση της LDL και τον σχηματισμό αφρωδών κυττάρων.

5.4 Λιπώδης διήθηση - Οξείδωση της LDL

Η εναπόθεση λιπιδίων στον υποενδοθηλιακό χώρο, αποτελεί ένα από τα βασικά στοιχεία της αθηρογεννητικής πορείας. Η χοληστερόλη μεταφέρεται κύρια με τη μορφή της LDL και ποσοστό αυτής διέρχεται τη στιβάδα των ενδοθηλιακών κυττάρων μέσω κυτταρικών υποδοχέων.(86) Η LDL βρισκόμενη στο μεσοκυττάριο χώρο υφίσταται οξειδωτική τροποποίηση από ελεύθερες ρίζες OH^{\bullet} ή $O_2^{\bullet -}$. Οι ρίζες αυτές παράγονται στο εσωτερικό του τοιχώματος των αγγείων από μακροφάγα ή άλλα φαγοκύτταρα.(87),(88),(89),(90)

Η πορεία της οξείδωσης χωρίζεται σε 3 φάσεις :

(α) Φάση επιβράδυνσης

Εδώ καταναλώνονται τα ενδογενή αντιοξειδωτικά και δεν συμβαίνει σημαντική οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs). Οι de Graaf et al έδειξαν ότι όσο μεγαλύτερη είναι η πυκνότητα της LDL, τόσο πιο σύντομη είναι η φάση αυτή.(36) Ίσως δηλαδή, η περιεκτικότητα της πυκνής LDL σε

φυσικά αντιοξειδωτικά να είναι χαμηλή. Επίσης, η ηλικία, η ολική χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια της HDL είναι αντιστρόφως ανάλογα με τη φάση αυτή.(91) Θετική σχέση με τη φάση επιβράδυνσης έχει ο λόγος (εστέρες χοληστερόλης / πρωτεΐνη)LDL (92)

(β) Φάση αναπαραγωγής

Στη φάση αυτή έχουμε την οξείδωση των PUFAs σε υπεροξειδία.

(γ) Φάση αποσύνθεσης

Εδώ συμβαίνει μετατροπή των υπεροξειδίων σε άλλα προϊόντα μεταξύ των οποίων είναι και αλδεύδες. Η οξείδωση της LDL οδηγεί σε προϊόντα κυτταροτοξικά όπως οξυστερόλες, οξειδωμένα λιπαρά οξέα, υδρουπεροξειδία. Η Apo B αποικοδομείται, οι πεπτιδικοί δεσμοί διασπώνται και η πυκνότητα της LDL αυξάνεται.(92),(93),(94),(95) Οι προκύπτουσες οξειδωμένες πλέον LDL παρουσιάζουν τις παρακάτω δράσεις :

(1) Διεγείρουν την έκκριση των χημειοτακτικών παραγόντων MCP-1 από τα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα και MCSF (monocyte colony stimulating factor) (παράγοντας διέγερσης μονοκυττάρων) από τα ενδοθηλιακά κύτταρα.(82),(96)

(2) Προκαλούν χημειοταξία και έλξη των μονοκυττάρων της κυκλοφορίας στον υποενδοθηλιακό χώρο.

(3) Αναγνωρίζονται από τους υποδοχείς : εκκαθαριστές (scavengers), CD 36, Fcγ. Οι υποδοχείς αυτοί δεν διαθέτουν το σύστημα αρνητικής ανάδρασης (negative fed back), δηλαδή δέχονται απεριόριστη ποσότητα χοληστερόλης LDL. (92),(93),(97)

(4) Αναστέλλουν την παραγωγή οξειδίου του αζώτου (EDRF) από το ενδοθήλιο των αρτηριών.(82)

(5) Διεγείρουν την έκκριση ιντερλευκίνης - 1 (IL-1) από τα μονοκύτταρα.(97)

(6) Έχουν κυτταροτοξική δράση για όλα τα κύτταρα : ινωδοβλάστες, λείες μυικές ίνες, ενδοθηλιακά κύτταρα. (93),(94),(97)

(7) Διεγείρουν τη συσσώρευση αιμοπεταλίων.(82),(96)

(8) Αναστέλλουν τη μετανάστευση μονοκυττάρων.(93)

Οι οξειδωμένες LDL προκαλούν περαιτέρω προσέλκυση μονοκυττάρων από την κυκλοφορία. Τα μονοκύτταρα, με τη σειρά τους, αφού διεισδύσουν υποενδοθηλιακά, μετατρέπονται σε μακροφάγα που παγιδεύονται αφού αναστέλλεται η μετανάστευσή τους. Τα μακροφάγα προσλαμβάνουν γρήγορα μεγάλες ποσότητες οξειδωμένης LDL, μέσω των ειδικών υποδοχέων. Έτσι, μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα (foam cells). Η ανεξέλεγκτη πρόσληψη της LDL από τα μακροφάγα, καταλήγει στη νέκρωση των αφρωδών κυττάρων και την απελευθέρωση της περιεχόμενης χοληστερόλης, που ασκεί τοξική δράση στο ενδοθήλιο.(93) Η χοληστερόλη υποενδοθηλιακά βρίσκεται είτε ενδοκυττάρια, εντός των μακροφάγων με τη μορφή εστέρων χοληστερόλης, είτε εξωκυττάρια, σαν αποτέλεσμα ρήξης- θανάτου των μακροφάγων.(92),(98)

5.5 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΛΕΙΩΝ ΜΥΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

(α) ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Η προσκόλληση των αιμοπεταλίων γίνεται πάνω στην προσβεβλημένη επιφάνεια του αγγείου λόγω του τραυματισμού του. Ακολουθεί η συγκόλλησή τους και η απελευθέρωση ουσιών, μεταξύ των οποίων, εξέχουσα θέση κατέχει ο PDGF (platelet derived growth factor) (αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από τα αιμοπετάλια). Ο PDGF αποτελεί τον κύριο μιτογόνο παράγοντα των λείων

μυικών ινών με παράλληλη χημειοτακτική δράση. PDGF εκκρίνεται επίσης από τα ενδοθηλιακά και μακροφάγα κύτταρα. (88),(99)

(β) ΜΕΤΑΝΑΣΤΕΥΣΗ/ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΛΕΙΩΝ ΜΥΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΙΝΩΔΟΥΣ ΙΣΤΟΥ

Από *in vitro* και *in vivo* μελέτες, έχει δειχθεί ότι επί αγγειακού τραυματισμού, οι λείες μυικές ίνες του μέσου χιτώνα μεταναστεύουν στον έσω χιτώνα κάτω από την επίδραση κύρια του PDGF όπου και πολλαπλασιάζονται. Εκεί, τα λεία μυικά κύτταρα αποκτούν επιπλέον και συνθετική ικανότητα παράγοντας κολλαγόνο, ελαστίνη και πρωτεογλυκάνες.(73) Η σύνθεση ινώδους ιστού με τελικό σχηματισμό την ινώδη κάψα, αποτελεί βασικό συστατικό της αθηρογενετικής πορείας.

6. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΤΗΣ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑΣ ΝΟΣΟΥ

6.1 Εισαγωγή

Η έννοια των παραγόντων κινδύνου προέκυψε μέσα από μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες στις οποίες αναλύθηκαν και συγκρίθηκαν τα χαρακτηριστικά υγιών πληθυσμών και πληθυσμών που έπασχαν από Σ.Ν. Παρακάτω απεικονίζονται οι παράγοντες κινδύνου όπως αυτοί καθορίστηκαν από τους ειδικούς του National Cholesterol Education Program το 1993.(100)

Παράγοντες κινδύνου ΣΝ

- (1) Χοληστερόλη πλάσματος $> 200 \text{ mg / dl}$ και LDL-χοληστερόλη $> 130 \text{ mg /dl}$
- (2) Ηλικία (α) άνδρες ≥ 45 χρόνων
(β) γυναίκες ≥ 55 χρόνων

- (3) Οικογενειακό ιστορικό (M.I ή αιφνίδιος θάνατος < 55 για πατέρα και < 65 για μητέρα ή αδελφή)
- (4) Κάπνισμα (> 10 τσιγάρα / μέρα)
- (5) ↑ BP (αρτηριακή πίεση \geq 140 / 90 mmHg).
- (6) HDL -χοληστερόλη < 35 mg /dl
- (7) Σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ)

(Η παχυσαρκία δεν αναφέρεται, αφού συνοδεύει καταστάσεις που ήδη αναφέρονται όπως αυξημένη αρτηριακή πίεση, μειωμένη HDL) Στον πίνακα δίνεται σημασία, όσον αφορά τους λιπιδαιμικούς παράγοντες, μόνο στη χοληστερόλη είτε ολική είτε HDL. Θα πρέπει όμως να προσθέσουμε την Lp(a) και τα TG λόγω της μεγάλης τους συμβολής άμεσα ή έμμεσα στην αθηρογένεση. Επίσης θα έπρεπε ίσως να αναφέρουμε και τους αιμοστατικούς-θρομβογενετικούς παράγοντες όπως το ινωδογόνο.

Μερικοί ερευνητές χωρίζουν τους παράγοντες κινδύνου σε τροποποιήσιμους και μη. Μη τροποποιήσιμοι θεωρούνται οι : οικογενής υπερχοληστερολαιμία, οικογενειακό ιστορικό, ηλικία, φύλο (οι άντρες διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο από τις γυναίκες). Τροποποιήσιμοι είναι οι : υπέρταση, κάπνισμα, παχυσαρκία και υπερχοληστερολαιμία περιβαλλοντολογικής προέλευσης.(101)

6.2 Ολική χοληστερόλη, LDL-χοληστερόλη

Μεγάλος αριθμός μελετών έχουν δείξει το μείζονα ρόλο της χοληστερόλης στην ανάπτυξη της στεφανιαίας νόσου σαν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου. Από τη Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT), μία από τις μεγαλύτερες μελέτες, προκύπτει ότι ο σχετικός κίνδυνος καρδιαγγειακού θανάτου είναι 4πλάσιος για τους άντρες με χοληστερόλη > 264 mg/dl σε σχέση με εκείνους που

έχουν χοληστερόλη < 168 mg /dl.(102) Ο Roberts επίσης, σε άρθρο σχολιάζοντας τους παράγοντες κινδύνου που καθόρισαν οι ειδικοί του National Cholesterol Education Program, θεώρησε σαν μοναδικό ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου της ΣΝ την αυξημένη χοληστερόλη και μάλιστα την LDL-χοληστερόλη.(103) Τους υπόλοιπους παράγοντες τους χαρακτήρισε σαν εξαρτώμενους από αυτή (cholesterol dependent risk factors).

Ειδικότερα, θεώρησε τους υπόλοιπους σαν επικουρικούς που εκδηλώνουν την αθηρογενετική δράση τους με χοληστερόλη >150 mg/dl. Όπως γράφτηκε πριν, η αύξηση της χοληστερόλης μπορεί να είναι άλλοτε περιβαντολογική και άλλοτε γονιδιακή. Στην πρώτη περίπτωση, αύξηση της χοληστερόλης έχουμε με δίαιτες πλούσιες σε κορεσμένα λίπη.

Υπάρχει όμως και η FH στην οποία τα μεγάλα επίπεδα χοληστερόλης οφείλονται όπως έχουμε πει στους γενετικά προβληματικούς υποδοχείς.

Όμως ο ρόλος της LDL στην αθηροσκλήρυνση δεν είναι μόνο ποσοτικός. Το είδος των σωματιδίων LDL παίζει πολύ μεγαλύτερο ρόλο από τη συγκέντρωση της LDL. Τα μικρά και πυκνά σωματίδια LDL, φαινότυπος (B), δείχνουν 3πλάσιο κίνδυνο για ΜΙ ανεξάρτητα αν είναι πολλά ή λίγα.(104),(105),(106) Μερικοί λόγοι που τα κάνουν αθηρογόνα είναι :

(Α) Λόγω του μεγέθους τους μπορούν εύκολα να διαπεράσουν το ενδοθήλιο και έτσι να αυξήσουν το χρόνο παραμονής τους στον έσω χιτώνα και να υποστούν οξειδωτική τροποποίηση.(107).

(Β) Η αυξημένη συγκέντρωση των PUFAs και η χαμηλή περιεκτικότητα σε αντιοξειδωτικά όπως βιταμίνη E, κάνουν ακόμα πιο εύκολη την οξείδωσή τους.(107)

(Γ) Τα μικρά και πυκνά LDL έχουν μικρό περιεχόμενο σιαλικού οξέος και ίσως έτσι να αυξάνεται η συγγένεια με τις πρωτεογλυκάνες των αρτηριακών

τοιχωμάτων. Το αποτέλεσμα είναι πάλι η αυξημένη πιθανότητα οξείδωσης.
(29), (33),(36)

Οι πρωτεογλυκάνες είναι θεικοί πολυσακχαρίτες, ένα από τα κύρια συστατικά του έσω χιτώνα μαζί με την ελαστίνη και το κολλαγόνο.

Έχουν υψηλό αρνητικό φορτίο λόγω των SO_4^- , COO^- ομάδων οπότε ενώνονται με θετικά φορτισμένα σωματίδια, όπως πρωτεΐνες με θετικά φορτισμένα αμινοξέα (λυσίνη, αργινίνη) που υπάρχουν στην Απο Β.(98),(107)

6.3 ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ

Πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει τη θετική σχέση των αυξημένων επιπέδων τριγλυκεριδίων με τη στεφανιαία νόσο. Αρκετές όμως από αυτές, όταν απομόνωσαν τα τριγλυκερίδια από τους υπόλοιπους παράγοντες κινδύνου με ανάλυση πολλών μεταβλητών, απέτυχαν να αποδείξουν ότι τα τριγλυκερίδια αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου.

Η PROCAM (Prospective Cardiovascular Munster study)(108) έδειξε ότι ο συνδυασμός υψηλών τιμών TG και αυξημένου λόγου LDL/HDL αποτελούν ισχυρό πρόσθετο παράγοντα κινδύνου. Παρόλα αυτά, η Framingham(109) και η Σουηδική έρευνα(110) έδειξαν τα τριγλυκερίδια σαν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση θανατηφόρων εμφραγμάτων του μυοκαρδίου σε ηλικιωμένες γυναίκες ή και στα δύο φύλα αντίστοιχα. Ιδιαίτερα αθηρογόνα θεωρούνται τα υπολείμματα λιποπρωτεϊνών πλούσιων σε τριγλυκερίδια όπως οι VLDL και τα υπολείμματα των χυλομικρών.

Ο ακριβής μηχανισμός σύμφωνα με τον οποίο τα τριγλυκερίδια θεωρούνται αθηρογόνα δεν είναι σαφής. Πιστεύεται ότι δρουν έμμεσα. Αυξημένα τριγλυκερίδια προκαλούν : (111)

- σύνδρομο χυλομικροναιμίας
- μείωση της HDL
- αύξηση του ινωδογόνου

Η μείωση της HDL οφείλεται στην αντίστροφη σχέση που υπάρχει μεταξύ HDL και TG. Αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων συνεπάγονται HDL πλούσιες σε τριγλυκερίδια λόγω της CETP. Αυτό έχει σαν συνέπεια τη μεγάλη δράση της ηπατικής λιπάσης, με σκοπό την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων της HDL. Έτσι εμφανίζονται χαμηλές συγκεντρώσεις HDL.

Επίσης, η αύξηση του ινωδογόνου προκαλεί μείωση του t-PA και γενικά προάγει τις διαδικασίες θρόμβωσης.(111) Τέλος σε καταστάσεις υψηλών επιπέδων τριγλυκεριδίων δημιουργούνται VLDL πλούσιες σε τριγλυκερίδια οι οποίες μετατρέπονται σε LDL πλούσιες σε τριγλυκερίδια και μέσω της ταυτόχρονης δράσης των : CETP και ηπατικής λιπάσης μετατρέπονται στα μικρά και πυκνά σωματίδια της LDL.(112),(113)

6.4 Lp(a)

Η σχέση της Lp(a) με την αθηροσκλήρυνση είναι αρκετά σημαντική λόγω της αθηρογόνου και θρομβογόνου δράση της. Υψηλές τιμές Lp(a)(> 30 mg/dl) αποτελούν σοβαρό κίνδυνο εμφράγματος μυοκαρδίου. Πιθανοί λόγοι είναι :

- (1) Μεταφέρεται στον υποενδοθηλιακό χώρο, προσλαμβάνεται από τα μακροφάγα και έτσι συνεισφέρει στη δημιουργία αθηρωματικής πλάκας. (57),(114),(115). Για ισοδύναμες ποσότητες (συγκεντρώσεις) πλάσματος, βρέθηκε ότι η Apo(a) συσσωρευόταν στις πλάκες κατά μεγαλύτερο βαθμό από την Apo B-100.(56),(116)
- (2) Συναγωνίζεται το πλασμινογόνο στη σύνδεσή του σε υποδοχείς στα ενδοθηλιακά κύτταρα και μονοκύτταρα.(62),(114),(117),(118)

(3) Αντιδρά με αιμοπετάλια και δημιουργεί συσσωματώματα.(57)

(4) Προκαλεί αύξηση του PAI - 1.(57)

(5) Λειτουργεί σαν ανταγωνιστικός αναστολέας του πλασμινογόνου από τον t-PA.(89)

(6) Διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυικών κυττάρων.(57)

Η Lp(a) αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου και οι τιμές της καθορίζονται γενετικά (μέγεθος Apo(a)).(57) Φαίνονται μάλιστα γενικά ανεπηρέαστες από τη διατροφή και τα περισσότερα υπολιπιδαιμικά φάρμακα , με εξαίρεση το νικοτινικό οξύ.(58),(119) Παρόλα αυτά, έρευνα έδειξε ότι :

1. Τιμές της Lp(a) > 30 mg/dl συνεπάγονται 2πλάσιο κίνδυνο για στεφανιαία νόσο ενώ όταν συνδυαστούν με υψηλή συγκέντρωση LDL ο κίνδυνος 5πλασιάζεται.

2. Σε άλλη έρευνα βρέθηκε μια αντίστροφη σχέση μεταξύ Lp(a) και TG.(61), (63),(120),(121)

3. Η εγκυμοσύνη και ο διαβήτης αυξάνουν την Lp(a).(122)

4. Το κάπνισμα στις γυναίκες αυξάνει την Lp(a).(117)

5. Ηπατοχολικές ασθένειες μειώνουν την Lp(a). (123)

6. Οι πολύ αδύνατοι άντρες εμφανίζουν υψηλή Lp(a).(57)

7. Τέλος, ο πολυμορφισμός της Apo E ίσως να επηρεάζει την συγκέντρωση της λιποπρωτεΐνης. Συγκεκριμένα η Apo E-2 προκαλεί μείωση των επιπέδων της Lp(a) ενώ η ισομορφή E-4 προκαλεί αύξηση.(124)

Κατά τη γέννηση, η συγκέντρωση της Lp(a) είναι χαμηλή. Στα δύο χρόνια όμως παίρνει κανονικές τιμές , με μια μικρή αύξηση κατά την ηλικία.(57) Οι τιμές της Lp(a) είναι γενικά χαμηλότερες στους Ευρωπαίους παρά στους μαύρους. Παρόλα αυτά, τα περιστατικά στεφανιαίας νόσου στους μαύρους λαούς είναι λιγότερα.

Ίσως τελικά η λιποπρωτεΐνη να γίνεται πιο επικίνδυνη σε υψηλές τιμές LDL κάτι που γενικά δεν συμβαίνει στους μαύρους.(55)

6.5 HDL

Πολλές επιδημιολογικές μελέτες (Framingham(125), PROCAM(126)), έχουν δείξει την ισχυρή και ανεξάρτητη αρνητική σχέση της HDL με τη ΣΝ. Πιθανοί μηχανισμοί είναι :

(1) Η βασική λειτουργία της HDL, δηλαδή η αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης. Με την ίδια διαδικασία, η HDL απομακρύνει τη χοληστερόλη από τα μακροφάγα και από την αθηρωματική πλάκα προς το ήπαρ.(42)

(2) Η HDL συνδέεται με την προστακυκλίνη του ορού μέσω της Apo A-I σταθεροποιώντας την στα τοιχώματα των αγγείων. Έτσι εμποδίζεται κατά κάποιο τρόπο η δημιουργία θρόμβων στις αθηρωματικές πλάκες.(127)

(3) Η HDL προστατεύει τα κύτταρα από την τοξικότητα της LDL.(41)

Οι έρευνες για τη σχέση της HDL-II/III με την αθηροσκλήρυνση συγκλίνουν στο ότι το κλάσμα HDL-II είναι το αντιαθηρογόνο.(17),(43),(49),(128) Παρόλα αυτά, έρευνα έδειξε ότι εμφραγματίες ασθενείς είχαν χαμηλά και τα δύο κλάσματα.(42),(45) Επίσης άλλη έρευνα έδειξε ότι οι ασθενείς είχαν μειωμένη την HDL-III ενώ η HDL-II δεν είχε καμιά διαφορά.(40)

Η LpA-I φαίνεται επίσης να προστατεύει από την αθηροσκλήρυνση.(129), (130),(131) Συγκεκριμένα, έκθεση λιποσωμάτων με LDL-χοληστερόλη σε LpA-I απομονωμένα από HDL έδειξε ότι τα σωματίδια της LpA-I ήταν ικανά να προκαλέσουν εκροή χοληστερόλης. Απουσία της LpA-I κάτι τέτοιο δεν παρατηρήθηκε.(131),(132),(133),(134) Μάλιστα τα πιο μικρά σωματίδια ήταν πιο ικανά στην εκροή αυτή. Άλλωστε επικρατεί η άποψη ότι οι μεγάλες LpA-I ίσως και να εμποδίζουν τη δράση των μικρότερων.(135)

Ίσως η LpA-I να δρά ανάλογα με την HDL όσον αφορά στην απομάκρυνση της συσσωρευμένης σε κύτταρα χοληστερόλης. Σύμφωνα με κάποιους ερευνητές, η λιποπρωτεΐνη παίζει σημαντικό ρόλο στο πρώτο βήμα της αντίστροφης μεταφοράς χοληστερόλης.(135) Ο μηχανισμός βέβαια είναι άγνωστος, αλλά ίσως η LpA-I να συνεισφέρει στην ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης.(136) Εξάλλου μια ομάδα Ιαπώνων ερευνητών έδειξε ότι η LpA-I προκαλεί εκροή χοληστερόλης από αφρώδη κύτταρα και μάλιστα το ποσό της LDL εμφανίζεται σαν εμπόδιο στη πορεία αυτή. Δηλαδή παρουσία υψηλού ποσού LDL η LpA-I προκαλούσε περισσότερη εκροή από τις LDL παρά από τα αφρώδη κύτταρα.(137) Μια άλλη πιθανή αιτία του αντιαθηρογόνου ρόλου της LpA-I είναι η Apo A-I λόγω της σχέσης της με την προστακυκλίνη. Παρόλα αυτά έρευνα σε Τουλούζη, Στρασβούργο, Μπέλφαστ, έδειξε ότι σε ίδια επίπεδα Apo A-I η LpA-I διέφερε σημαντικά.(138)

Χαμηλές τιμές της LpA-I (<30mg/dl) πρέπει να προκαλούν ανησυχία. Γενικά **χαμηλές τιμές** της λιποπρωτεΐνης έχουμε σε :

- (α) άτομα με υποαλφαλιποπρωτεϊναιμία (νόσος Ταγγιέρης)(6),(68)
- (β) άτομα με εμφραγματίες γονείς (άντρας < 55, γυναίκα < 60)(134),(138)
- (γ) χρόνια χρήση αλκοόλ. Αντίθετα ευκαιριακή χρήση φαίνεται να έχει θετική επίδραση.(134)
- (δ) δίαιτες πλούσιες σε PUFAs.(134),(136)
- (ε) φάρμακα όπως προμπουκόλη, φιμπράτες.(134),(136)

Αντίθετα **αυξημένες τιμές** LpA-I έχουμε σε :

- (α) αυξημένο καταβολισμό λιποπρωτεϊνών πλούσιων σε τριγλυκερίδια (139)
- (β) χρήση νικοτινικού οξέος (134),(136)

Επίσης οι γυναίκες εμφανίζουν μεγαλύτερες τιμές από τους άντρες(140) και οι 80άρηδες σε σχέση με τους 30-50άρηδες.(134)

Όλα αυτά δείχνουν την προστατευτική δράση της HDL στη στεφανιαία νόσο. Βέβαια έχει αναφερθεί και η οξείδωση της HDL η οποία ίσως να οφείλεται στην οξείδωση της LDL, λόγω της στενής τους σχέσης. Οι οξειδωμένες HDL έχουν μικρή ικανότητα μεταφοράς χοληστερόλης. Λαμβάνονται από τα μακροφάγα και τοποθετούνται ενδοκυττάρια με ένα τρόπο παρόμοιο με τις οξειδωμένες LDL, προφανώς από τον ίδιο εκκαθαριστή υποδοχέα.(41),(141)

Γενικά χαμηλές τιμές της HDL αποτελούν σήμα κινδύνου ιδίως όταν συνδυάζονται με υψηλές LDL, ενώ αντίθετα αυξημένες τιμές της σημαίνουν μακροζωία. Αύξηση των επιπέδων της HDL κατά 1mg/dl συνεπάγεται μείωση του κινδύνου για στεφανιαία νόσο κατά 2% σε άντρες και 3% σε γυναίκες.(39) Οι γυναίκες γενικά έμφανίζουν υψηλότερες τιμές από τους άντρες. Γυναίκες : > 45mg/dl, άντρες > 35mg/dl.(46)

Χαμηλά επίπεδα της HDL εμφανίζονται σε :

- (α) έλλειψη της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης(24)
- (β) χρήση κορτικοειδών(42)
- (γ) κάπνισμα(44),(45)
- (δ) αυξημένα τριγλυκερίδια (μειώνουν κυρίως την HDL-II)(49),(52)
- (ε) οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία(42)
- (ζ) έμφραγμα (43)

Υψηλά επίπεδα της HDL παρουσιάζονται σε :

- (α) άσκηση (44)
- (β) ανεπάρκεια της CETP(24)
- (γ) αλκοόλ(44)

Επίσης σε άντρες και γυναίκες 20-40 χρόνων βρέθηκε ότι όσο πιο μορφωμένοι ήταν τόσο μεγαλύτερες τιμές HDL είχαν.(45)

6.6 ΑΠΟΛΙΠΟΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

ΑΡΟ Α-Ι

Ο αντιαθηρογόνος ρόλος της έχει μελετηθεί από πολλούς και ο πιθανός μηχανισμός αναλύθηκε στα προηγούμενα, μέσω HDL και LpA-I. Γενικά χρειαζόμαστε αυξημένες τιμές Αρο Α-Ι.

Γυναίκες : 1,15-2,20 gr/lit

Άντρες : 1,15-1,90 gr/lit(14),(142)

Υψηλές τιμές Αρο Α-Ι έχουμε στην άσκηση, στην εγκυμοσύνη, στη χρήση αλκοόλ και στην οικογενή υπερ-αλφαλιποπρωτεϊναιμία. Αντίθετα, χαμηλές τιμές παρατηρούνται στη νόσο Ταγγιέρης, στο κάπνισμα, στη στεφανιαία νόσο και στη fish eye disease.(143),(144)

ΑΡΟ Β-100

Η σχέση της Αρο Β-100 με την αθηροσκλήρυνση έχει φανεί να είναι θετική. Ο μηχανισμός, σύμφωνα με τον οποίο η Αρο Β-100 είναι αθηρογόνος, δεν είναι σαφής. Ίσως να έχει κάποια σχέση με την LDL αφού η Αρο Β-100 είναι η κύρια απολιποπρωτεΐνη της.(145)

Άντρες : 0,7-1,6 gr/lit

Γυναίκες : 0,6-1,5 gr/lit(14)

Αυξημένες τιμές της Αρο Β-100 εμφανίζονται σε στεφανιαία νόσο, κάπνισμα, νεφρωτικό σύνδρομο. Μειωμένες τιμές της Αρο Β-100 έχουμε σε άσκηση, ηπατική νόσο, υποβηταλιποπρωτεϊναιμία, οικογενή ανωμαλία της Αρο Β-100.(146) Έχουν βρεθεί 9 τουλάχιστον ισομορφές της Αρο Β-100 και 5 γονότυποι: H1-H9, H3-H9, H4-H9, H1-H6 και H8-H9. Από αυτούς ο H1-H9 ήταν

συχνός σε καρδιαγγειακές παθήσεις, ενώ ο H4-H9 ήταν ο κανονικός (normal) γονότυπος.(147)

APO E

Γενικά ανεπάρκεια της Apo E σημαίνει πρόιμη αθηροσκλήρυνση. Επίσης η μορφή E4 συνδέεται με αυξημένα επίπεδα Apo B-100 και χοληστερόλης στο πλάσμα. Ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι γνωστός. Ίσως ο τύπος E4 να παρεμποδίζει με κάποιο τρόπο τη σύνδεση της χοληστερόλης με τους υποδοχείς της LDL.(19),(20)

6.7 ΑΛΛΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

(α) κάπνισμα

Υπάρχει αναλογική σχέση μεταξύ της στεφανιαίας νόσου και του καπνίσματος κυρίως στο διάστημα που είναι κάποιος τακτικός καπνιστής. Ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι γνωστός. Υπάρχει η άποψη ότι το κάπνισμα ανεβάζει τα επίπεδα του ινωδογόνου του πλάσματος.(148)

(β) υπέρταση

Η αυξημένη πίεση (BP > 90/160 mm Hg) αποτελεί παράγοντα κινδύνου για τη στεφανιαία νόσο. Πολλοί υποστηρίζουν ότι τόσο η συστολική όσο και η διαστολική πίεση πρέπει να αξιολογούνται. Παρόλα αυτά, σημαντικότερη θεωρείται η διαστολική.(6)

(γ) παχυσαρκία

Η παχυσαρκία συχνά σχετίζεται με άλλους παράγοντες κινδύνου όπως η υπέρταση ή η υπερλιπιδαιμία.(6) Δεν είναι σαφές ακόμη αν αποτελεί ανεξάρτητο

παράγοντα κινδύνου, ή αν αυξάνει τον κίνδυνο στεφανιαίας νόσου μόνο στο βαθμό που σχετίζεται με τους παραπάνω επιβαρυντικούς παράγοντες. Πάντως, η σχέση παχυσαρκίας και διαταραχών των λιπιδίων φαίνεται να είναι συζητήσιμη.(149) Σε μελέτη διαπιστώθηκε ότι παιδιά που δεν είχαν άλλους επιβαρυντικούς παράγοντες (οικογενειακό ιστορικό, διαταραχές θυροειδούς), η συχνότητα διαταραχών της ολικής, LDL- και HDL- χοληστερόλης παρέμενε περίπου σταθερή, ανεξάρτητα από το δείκτη σωματικής μάζας. Έχει επίσης αποδεικτεί ότι παχύσαρκα παιδιά είναι συνήθως και παχύσαρκοι ενήλικες. Ο έλεγχος του βάρους λοιπόν είναι πρωτεύουσας σημασίας ιδιαίτερα στην παιδική ηλικία.(150)

(δ) ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα

Διαιτητικοί παράγοντες μπορούν επίσης να επηρεάσουν την αθηρογόνο διαδικασία. Από τους παράγοντες αυτούς, ιδιαίτερη σημασία έχει δοθεί τα τελευταία χρόνια στα ω-3 και ω-6 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.(151) Ο ανθρώπινος οργανισμός δεν μπορεί να συνθέσει όλα τα λιπαρά οξέα που είναι απαραίτητα για τη ζωή. Ειδικότερα, δεν μπορεί να συνθέσει λιπαρά οξέα με διπλούς δεσμούς σε ορισμένες θέσεις, όπως στις θέσεις ω-3 και ω-6 ή τουλάχιστον δεν μπορεί να τα συνθέσει σε επαρκείς ποσότητες.

Έτσι είναι αναγκαία η πρόσληψη των αντίστοιχων οξέων από τις τροφές. Τα μεγαλομοριακά αυτά λιπαρά οξέα αποτελούν σημαντικά δομικά στοιχεία των κυτταρικών μεμβρανών, σε όλους τους ιστούς. Μέσα από μία σειρά οξειδωτικών διεργασιών, καταλήγουν στην παραγωγή προσταγλανδινών. Από αυτές ορισμένες και συγκεκριμένα οι προστακυκλίνες, αυξάνουν το χρόνο ροής και ελαττώνουν τη συγκολλητικότητα των αιμοπεταλίων. Μειώνουν επίσης το ινωδογόνο, οδηγώντας έτσι σε ελάττωση της τάσης για σχηματισμό θρόμβων και συνεπώς σε

μείωση του κινδύνου για στεφανιαία νόσο. Ειδικότερα τα ω-6 καταλήγουν όχι μόνο στην παραγωγή προστακυκλίνης αλλά και στην παραγωγή θρομβοξάνης. Επίσης τα ω-6 προκαλούν μείωση της LDL-χοληστερόλης και μάλιστα εντονότερη από τα ω-3. Παράλληλα όμως μειώνουν και την HDL-χοληστερόλη ενώ τα ω-3 την αυξάνουν. Σήμερα υπάρχει η άποψη ότι τα ω-6 ασκούν κυρίως αντιθηρογόνο δράση, ενώ τα ω-3 κυρίως αντιθρομβωτική.(152),(153)

6.8 ΑΙΜΟΣΤΑΤΙΚΟΙ - ΘΡΟΜΒΟΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΤΗΣ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑΣ ΝΟΣΟΥ

(1) ινωδογόνο

Πρόκειται για μία γλυκοπρωτεΐνη MB 340000 που το μόριό της παρουσιάζει μεγάλη ετερογένεια. Αποτελείται από 3 διαφορετικά ζεύγη αλύσεων 2Αα, 2Ββ, 2γ και συντίθεται κύρια στο ήπαρ. Έχει χρόνο ημιζωής 3-4 μέρες και καταβολίζεται από την πλασμίνη δίνοντας προϊόντα αποικοδόμησης του ινωδογόνου (FDP) τα ινωδοπεπτίδια D και E.

Η σύνθεσή του διεγείρεται από τις κυτταροκίνες, κύρια την ιντερλευκίνη 6, οι οποίες εκκρίνονται από τα διεγερμένα μακροφάγα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, σε περίπτωση ενδοθηλιακής βλάβης.(154) Η σύνθεση του ινωδογόνου βρίσκεται υπό τον αναδραστικό έλεγχο (feedback) των προϊόντων αποικοδόμησής του. Το ινωδογόνο υπάγεται στις πρωτεΐνες οξείας φάσης. Αυτό σημαίνει ότι τα επίπεδά του αυξάνονται σημαντικά (2-20 φορές) κατά τη διάρκεια οξείας φλεγμονώδους καταστάσεως. Η μέση συγκέντρωση στο πλάσμα είναι : 290 ± 60 mg/dl. Στον πίνακα που ακολουθεί φαίνονται καταστάσεις που συνοδεύονται από υψηλά επίπεδα ινωδογόνου.

ΠΙΝΑΚΑΣ (10)

Καταστάσεις υψηλών επιπέδων ινωδογόνου

(α) ΣΝ, περιφερειακή αγγειοπάθεια (155),(156)

(β) Κάπνισμα (σχέση δοσοεξαρτώμενη)(157)

(γ) Υπέρταση(158)

(δ) Σακχαρώδης διαβήτης(155)

(ε) Ηλικία (αύξηση κατά 10-20 mg/dl κάθε 10 έτη στους ενήλικες)

(ζ) Παχυσαρκία(159)

(η) Σοβαρή υπερτριγλυκεριδαιμία(160)

(θ) Γυναικείο φύλο, εγκυμοσύνη(159)

(ι) Λήψη αντισυλληπτικών(159)

(κ) Εμμηνόπαυση(159)

(λ) Ορισμένοι έχουν δείξει θετική συσχέτιση του ινωδογόνου με τα επίπεδα της LDL-χοληστερόλης αφού η τελευταία προκαλεί αύξηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου, απαραίτητο για τη μετατροπή της θρομβίνης σε ινωδογόνο.(161)

Ελάττωση των επιπέδων ινωδογόνου παρατηρείται στη λήψη φιμπρατών, κύρια μπεξαφιμπράτης, και μετά από σωματική άσκηση.(162) Οι διαιτητικές συνήθειες δεν φαίνεται να επηρεάζουν σημαντικά τα επίπεδα του ινωδογόνου με εξαίρεση τη λήψη οινοπνεύματος που τα μειώνει. Εκτός όμως από τους περιβαντολογικούς παράγοντες, τα επίπεδα του ινωδογόνου καθορίζονται σε σημαντικό βαθμό και από τον γενετικό πολυμορφισμό των γονιδίων του.(163) Μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες (Framingham(164), PROCAM (165)) έχουν δείξει ότι το ινωδογόνο αποτελεί σημαντικό και ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη της στεφανιαίας νόσου. Επίσης, τα υψηλά επίπεδά του αποτελούν παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση εγκεφαλικών επεισοδίων.(166)

Η σχέση του ινωδογόνου με τη θρομβογενετική διαδικασία γίνεται εύκολα αντιληπτή αφού το ινωδογόνο αποτελεί συστατικό του μηχανισμού πήξης στην τελική του φάση. Κάτω από τη δράση της θρομβίνης απελευθερώνονται τα ινωδοπεπτίδια Α και Β και καταλείπεται το ινώδες το οποίο πολυμερίζεται προσφέροντας υπόστρωμα για την ανάπτυξη του θρόμβου. Επίσης το ινωδογόνο αυξάνει τη θρομβογονικότητα του πλάσματος αφού : **(1)** Λόγω του μεγάλου μεγέθους του αποτελεί το βασικότερο προσδιοριστικό παράγοντα του ιξώδους του πλάσματος μετά τον αιματοκρίτη. **(2)** Από *in vitro* μελέτες πιστεύεται ότι αυξάνει τη συγκολλητικότητα των αιμοπεταλίων.(167)

Η ανεύρεση του ινωδογόνου και των προϊόντων αποικοδόμησής του στην αθηροσκληρυντική πλάκα και μάλιστα σε συγκεντρώσεις ανάλογες με τα επίπεδά του στο πλάσμα, κάνει πλέον πειστική τη συμμετοχή του και στη χρόνια αθηρογενετική διεργασία.(168),(169),(170),(171)

(2) παράγοντας πήξης VII

Είναι μια γλυκοπρωτεΐνη MB = 50000 που αποτελείται από μία πολυπεπτιδική αλυσίδα. Βρίσκεται στο πλάσμα σε ελάχιστες συγκεντρώσεις (500 ng/ml) και συντίθεται κύρια στο ήπαρ σαν αδρανής πρόδρομη μορφή. Πιθανολογείται ότι τα ενεργοποιημένα μακροφάγα αποτελούν μία σημαντική πηγή του παράγοντα VII στους ιστούς. Ο χρόνος ημιζωής του στο πλάσμα είναι περίπου 4-5 ώρες. Μέχρι σήμερα δεν έχει περιγραφεί ισχυρός αναστολέας της δράσης του.(172),(173)

Μειωμένες τιμές του παράγοντα VII έχουμε σε : (155),(174)

- ηπατικές διαταραχές
- λήψη αντιπηκτικών
- έλλειψη βιταμίνης Κ

Αντίθετα, οι τιμές της γλυκοπρωτεΐνης αυξάνονται σε :

- δίαιτες πλούσιες σε λιπαρά
- χρήση αντισυλληπτικών
- παχυσαρκία
- εγκυμοσύνη
- πρόοδο της ηλικίας

Από τη Northwick Park Heart Study (NPHS) βρέθηκε ότι τα υψηλά επίπεδα της πηκτικής δραστηριότητας του παράγοντα VII συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου.

(3) αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI -1)

Πρόκειται για μία γλυκοπρωτεΐνη MB = 52000 που αποτελείται από 379 αμινοξέα. Έχει παραχθεί σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων, ηπατοκυττάρων και λείων μυικών κυττάρων. Τα αιμοπετάλια αποτελούν την κύρια αποθήκη του στο αίμα. Περιέχουν 4000-8000 μόρια ανά κύτταρο.(175)

Κατά τα τελευταία έτη, σειρά εργασιών έχει δείξει ότι αυξημένα επίπεδα PAI-1 απαντούν σε στεφανιαίους ασθενείς και κυρίως κατά την οξεία φάση του εμφράγματος.(176) Πάντως η αιτιοπαθογενετική του σχέση με το έμφραγμα είναι δύσκολο να ερμηνευτεί καθ'όσον ο PAI-1 αυξάνει γενικά σε οξείες φλεγμονώδεις καταστάσεις. Αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την επανεμφάνιση εμφράγματος σε νεαρούς εμφραγματίες.(177) Οι τιμές του δεν φαίνεται να επηρεάζονται από το κάπνισμα. Αντίθετα αυξάνονται με την πρόοδο της ηλικίας και την αύξηση του σωματικού βάρους(178),(179)

Η ανεύρεση αυξημένων συγκεντρώσεων του PAI-1 στην αθηροσκληρυντική πλάκα επιτρέπει τη διατύπωση της υπόθεσης ότι ο PAI-1 ενέχεται και στην χρόνια αθηρογενετική διαδικασία.(180),(181)

(4) ομοκυστεΐνη

Αμινοξύ, παρόν στο πλάσμα, συνδεδεμένο κυρίως με πρωτεΐνη. Πάνω από το 50% της ομοκυστεΐνης ανακυκλώνεται σε μεθειονίνη, με μία αντίδραση τρανσ-μεθυλίωσης η οποία απαιτεί φολικό και B12. Αυξημένη ομοκυστεΐνη θεωρείται ένας σημαντικός καρδιαγγειακός παράγοντας κινδύνου. Αρκετές έρευνες έχουν δείξει θετική σχέση μεταξύ αυξημένης ομοκυστεΐνης και αγγειακών παθήσεων σε στεφανιαίες, εγκεφαλικές και περιφερειακές αρτηρίες. Ο μηχανισμός σύμφωνα με τον οποίο η ομοκυστεΐνη θεωρείται αθηρογόνος είναι ασαφής. Προτεινόμενοι μηχανισμοί αναφέρουν καταστροφή των ενδοθηλιακών κυττάρων, αυξημένη οξείδωση λιποπρωτεϊνών και επιδράσεις σε πολλαπλασιασμό κυττάρων.(182)

(5) λοιποί αιμοστατικοί παράγοντες σχετικοί με στεφανιαία νόσο

A. Αριθμός λευκοκυττάρων

Ο αυξημένος αριθμός λευκοκυττάρων συνεπάγεται και αυξημένο κίνδυνο για στεφανιαία νόσο.(183),(184)

B. Ιξώδες αίματος

Το μεγάλο ιξώδες αποτελεί κίνδυνο για στεφανιαία νόσο.(185),(186)

Γ. Ομάδα αίματος

Η ομάδα αίματος (A) συνδέεται με μεγαλύτερο κίνδυνο για ΣΝ σε σχέση με την ομάδα (O).(187),(188)

7. ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑΣ ΝΟΣΟΥ

7.1 ΠΡΟΛΗΨΗ

Παρά το μεγάλο όγκο των σχετικών μελετών, δεν υπάρχει ακόμα κοινά παραδεκτή στρατηγική σε ότι αφορά την πρόληψη της αθηροσκλήρυνσης. Οι τακτικές παρέμβασης που μπορούν να ακολουθηθούν είναι κυρίως δύο. Η παρέμβαση στο σύνολο του πληθυσμού από την παιδική ηλικία και η παρέμβαση στις ομάδες υψηλού κινδύνου.

Ο πρώτος τρόπος προσέγγισης είναι γενικότερος και έχει ως στόχο την υιοθέτηση “αντιαθηρογόνων” συνηθειών που αφορούν στη διατροφή, στη σωματική άσκηση, στο κάπνισμα αλλά και στην καθιέρωση περιοδικού ελέγχου της χοληστερόλης, της υπέρτασης, της παχυσαρκίας και του σακχαρώδη διαβήτη. Η πληθυσμιακή αυτή προσέγγιση στηρίζεται στο σκεπτικό ότι η μείωση των επιπέδων χοληστερόλης (κυρίως) με διαιτητικά ή φαρμακευτικά μέσα, μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της συνολικής θνησιμότητας.

Ο δεύτερος τρόπος προσέγγισης είναι επιλεκτικός και αποσκοπεί στην ανίχνευση των παιδιών υψηλού κινδύνου για την ανάπτυξη αθηρωμάτωσης και στην κατάλληλη τροποποίηση των παραγόντων κινδύνου στα συγκεκριμένα άτομα. Κατά τους υποστηρικτές της δεύτερης άποψης, υψηλού κινδύνου θεωρούνται τα παιδιά με βεβαρυμένο ιστορικό. Βέβαια έτσι κινδυνεύει να διαφύγει ένας σημαντικός αριθμός παιδιών που παρουσιάζουν διαταραχές λιπιδίων χωρίς την παρουσία βεβαρυμένου ιστορικού. Έτσι, φαίνεται ότι ο προληπτικός έλεγχος πρέπει να περιλαμβάνει το σύνολο του πληθυσμού από την παιδική ηλικία.(189),(190),(191)

7.2 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Επειδή τα βλήματα στρέφονται κυρίως στην ελάττωση της LDL, η αντιμετώπιση της υπερχοληστερολαιμίας είναι ο κύριος στόχος. Η αντιμετώπιση μπορεί να είναι διαιτολογική, φαρμακευτική ή και χειρουργική.

(α) ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΚΑ(192),(193),(194)

Έχει φανεί ότι τα κορεσμένα λίπη και η χοληστερόλη της διατροφής ελαττώνουν τους υποδοχείς της LDL και αναστέλλουν την απομάκρυνση της LDL από το πλάσμα στο ήπαρ. Αυτό γίνεται ακόμα πιο έντονο όταν υπάρχει ταυτόχρονα αυξημένη χοληστερόλη στο φαγητό. Επίσης όσο μεγαλύτερο είναι το λίπος της τροφής τόσο περισσότερα τα υπολείμματα των χυλομικρών. Αντίθετα, η απώλεια βάρους φαίνεται να ελαττώνει τη σύνθεση των VLDL, LDL.

Συνεπώς :

- (i) Χοληστερόλη < 100 mg /μέρα
- (ii) Ολικό λίπος : 20% (της ενέργειας /μέρα)
- (iii) Κορεσμένο λίπος : 6%
- (iv) Υδατάνθρακες : 65% (κυρίως πολυσακχαρίτες)
- (v) Πρωτεΐνη : 15%
- (vi) Ίνες : 30-50 gr /μέρα

Μια τέτοια δίαιτα μπορεί να ελαττώσει τη χοληστερόλη κατά 18-21%. Επίσης ελαττώνεται η πηκτικότητα του αίματος και η συγκόλληση των αιμοπεταλίων. Βέβαια, για άτομα με γενετικές διαταραχές που προκαλούν πολύ μεγάλες συγκεντρώσεις χοληστερόλης στο πλάσμα, είναι αδύνατον να μειωθούν τα επίπεδα χοληστερόλης μόνο με αλλαγή της διατροφής.

Γενικά θα πρέπει να έχουμε υπ'όψιν τα παρακάτω : Οι ιστοί των ζώων, επειδή περιέχουν σε μεγάλη αναλογία κορεσμένα λίπη, όπως και τα ζωικά προϊόντα,

είναι πλούσια σε χοληστερόλη. Ιδιαίτερα επικίνδυνα θεωρούνται τα αυγά και τα οστρακοειδή. Ακόμα όμως και ορισμένα φυτικά έλαια από καρύδα ή ώριμους καρπούς περιέχουν κεκορεσμένα λίπη. Το βούτυρο κακάο στη σοκολάτα είναι κεκορεσμένο. Το αβοκάντο είναι επίσης πλούσιο σε κεκορεσμένα λίπη. Οι τροφές που διαλέγουμε θα πρέπει να περιέχουν ακόρεστα (μονο- πολυ-ακόρεστα) λίπη. Μονοακόρεστο είναι το λάδι της ελιάς, πλούσιο σε ελαικό οξύ το οποίο αυξάνει τα επίπεδα της HDL. Ακόμα οι φυτικές ίνες (οι διαλυτές) αυξάνουν την πρόσληψη της LDL από το ήπαρ. Η πηκτίνη (όσπρια, μπάμιες, βρώμη, κριθάρι) ανήκει σε αυτή την κατηγορία. Οι αδιάλυτες ίνες (κελλουλόζη, λιγνίνη) δεν είναι τόσο αποτελεσματικές. Τέλος, τα ιχθυέλαια ελαττώνουν τη σύνθεση της VLDL.

(β) ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ

Αντιοξειδωτικά

Η οξειδωτική πορεία όπως είδαμε, ενοχοποιείται για την αθηρογένεση. Η οξείδωση της LDL οδηγεί σε βιολογικές διεργασίες που συνδέονται άμεσα με την αθηροσκλήρυνση. Πολλές από αυτές τις πορείες μπορούν ίσως να αναστραφούν με τη χρήση αντιοξειδωτικών. Η βιταμίνη E είναι ένα φυσικό αντιοξειδωτικό. Πειράματα σε ζώα έδειξαν ότι η κατανάλωση αντιοξειδωτικών αυξάνει την αντίσταση της LDL στην οξείδωση. Συγκεκριμένα, αύξηση της βιταμίνης E στο εσωτερικό της LDL και όχι στο μέσο επώασης είχε ένα τέτοιο αποτέλεσμα.(195) Επίσης αυξημένη κατανάλωση της βιταμίνης E είτε από την τροφή είτε σαν συμπλήρωμα σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο αθηροσκλήρυνσης.(196) Παρόλα αυτά πρόσθετες μελέτες χρειάζονται πριν την ευρεία χρήση αντιοξειδωτικών.

Ρητίνες

Φάρμακα αρκετά γνωστά, τα οποία μειώνουν τη χοληστερόλη έως 30%. Οι ρητίνες προκαλούν αυξημένη παραγωγή χολικών οξέων με κατανάλωση ηπατικής χοληστερόλης με αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητας των υποδοχέων της LDL στο ήπαρ.(197)

Νιασίνη

Η β.νιασίνη είναι ένα άλλο φάρμακο αρκετά αποτελεσματικό στην μείωση της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων ενώ αντίθετα η συγκέντρωση της HDL αυξάνεται. Είναι ίσως το μόνο φάρμακο που μπορεί να μειώσει τη συγκέντρωση της Lp(a) σε άτομα με υψηλά επίπεδα της λιποπρωτεΐνης.(197)

Φιμπράτες

Είναι φάρμακα που αυξάνουν τη δραστηριότητα της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης αυξάνοντας τον καταβολισμό των τριγλυκεριδίων της VLDL και προάγοντας τη μεταφορά χοληστερόλης στις HDL. Αν και δεν είναι γνωστοί οι βιοχημικοί μηχανισμοί, είναι γνωστό ότι αυτά τα φάρμακα αυξάνουν τα επίπεδα της HDL στο πλάσμα ενώ μειώνουν την LDL.(197)

Προμπουκόλη

Δεν είναι πολύ δημοφιλές αφού μειώνει στο ίδιο ποσοστό τις τιμές των LDL και HDL.(197)

Στατίνες

Είναι η μεγαλύτερη ελπίδα στη νέα γενιά των φαρμάκων. Αναστέλλουν το ένζυμο HMG CoA ρεδουκτάση που καταλύει το αποφασιστικό βήμα σχηματισμού της ενδογενούς χοληστερόλης.(197)

Ανταλλαγή πλάσματος

Πρωτοχρησιμοποιήθηκε το 1974 στο νοσοκομείο Hammersmith του Λονδίνου. Σύμφωνα με τη μέθοδο, 3-4 lt πλάσματος αντικαθίσταται εβδομαδιαία ή δύο φορές το μήνα για 5-10 χρόνια κυρίως σε ομοζυγότες της οικογενούς υπερλιπιδαιμίας. Βέβαια μπορεί έτσι να μειώνεται η LDL-χοληστερόλη αλλά συγχρόνως μπορεί να μειώνεται και η HDL. Έτσι καταλήξαμε σιγά - σιγά στην επιλεκτική αφαίρεση της LDL-χοληστερόλης.(6)

LDL αφαίρεση

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή το πλάσμα των ασθενών φιλτράρεται περνώντας μέσα από ειδικές χρωματογραφικές στήλες στις οποίες κατακρατείται η LDL-χοληστερόλη χωρίς να δεσμεύεται η HDL. Μετά από αυτή τη διαδικασία το αίμα επιστρέφει και πάλι στους ασθενείς με πολύ λιγότερο ποσοστό LDL χοληστερόλης.

Η μείωση της LDL φαρμακευτικά ή με δίαιτα, έχει δείξει την αναστροφή της πορείας της αθηροσκλήρυνσης σε πειραματόζωα και όχι μόνο.(6) Οι CLAS (cholesterol lowering atherosclerosis study) και FATS (familial atherosclerosis treatment study) έχουν πετύχει αναστροφή με μείωση της χοληστερόλης κατά 25% και της LDL-χοληστερόλης κατά 40%.(198)

Ερευνήθηκε όμως και η αύξηση της HDL όσον αφορά την αναστροφή της αθηροσκλήρυνσης. Έρευνα που έγινε σε κουνέλια, στη Γερμανία, τα οποία

τράφηκαν με δίαιτα πλούσια σε χοληστερόλη για 8 εβδομάδες, έδειξε ότι : η ομάδα εκείνη στην οποία έγινε ένεση HDL παρουσίασε τη μικρότερη συγκέντρωση χοληστερόλης και τις λιγότερες λιπώδεις ραβδώσεις.

Κάτι ανάλογο θα μπορούσε να συμβαίνει και στον άνθρωπο. Βέβαια, το πιο πιθανό είναι να καθυστερήσει η πορεία της αθηροσκλήρυνσης παρά να αναστραφεί.(199)

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Όπως είδαμε στο γενικό μέρος, αύξηση στα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων του πλάσματος αποτελεί παράγοντα κινδύνου για στεφανιαία νόσο.(βλέπε 6.2, 6.3 γενικού μέρους) Παρόλα αυτά, ο καθορισμός αυτών των λιπιδαιμικών παραμέτρων, μόνο κατά ένα μέρος χαρακτηρίζει τον κίνδυνο στεφανιαίας νόσου αφού οι διάφορες λιποπρωτείνες που μεταφέρουν χοληστερόλη και τριγλυκερίδια δείχνουν διαφορετική συμπεριφορά στην αθηρογένεση. Αν και η LDL είναι αθηρογόνος, με την HDL συμβαίνει ακριβώς το αντίθετο.(βλέπε 6.1 γ.μέρους) Η απολιποπρωτεϊνική σύσταση μιας συγκεκριμένης τάξης λιποπρωτεϊνών, είναι επίσης σημαντικός δείκτης για την αθηροσκλήρυνση. Πρόσφατα, παράγοντες όπως τα υποκλάσματα της HDL, η Apo B ή η Apo A-I έχουν προταθεί σαν σημαντικοί δείκτες για τη στεφανιαία νόσο.(βλέπε 6.5, 6.6 γ.μέρους)

Όπως αναφέρθηκε και στο γενικό μέρος, η HDL του πλάσματος διαχωρίζεται με βάση την πυκνότητα ή το μέγεθος στις HDL-I, II και III ή με βάση την απολιποπρωτεϊνική της σύσταση στις LpA-I και LpA-I:A-II.(βλέπε 3.6 γ.μέρους) Οι Apo A-I, Apo A-II είναι οι σημαντικές απολιποπρωτείνες της HDL. Η Apo A-I παίζει ένα σημαντικό ρόλο στην αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης.(6.5) Έτσι, τα υποκλάσματα της HDL έχουν διαφορετικούς ρόλους στην αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης, αντιπροσωπεύουν διαφορετικά στάδια στον μεταβολισμό της χοληστερόλης και ίσως διαφέρουν στην ικανότητά τους να προστατεύουν όσον αφορά τη στεφανιαία νόσο.

Γενικά θα μπορούσαμε να πούμε ότι η σχέση λιποπρωτεϊνών και στεφανιαίας νόσου είναι αρκετά πολύπλοκη και ο υπολογισμός και η αξιολόγηση λιποπρωτεϊνικών παραμέτρων της νόσου βρίσκεται ακόμα σε έρευνα στα εργαστήρια κλινικής χημείας.

Στο πρώτο μέρος της παρούσας μελέτης μετρήσαμε, στον ορό του αίματος, τα επίπεδα των αντιαθηρογόνων λιπιδαιμικών παραμέτρων Apo A-I, HDL-χοληστερόλη, HDL-II, HDL-III και LpA-I. Οι μετρήσεις έγιναν σε πληθυσμό αντρών μέσης ηλικίας με έμφραγμα του μυοκαρδίου και συγκρίθηκαν με πληθυσμό υγιών αντρών ανάλογης ηλικίας χωρίς ιστορικό στεφανιαίας νόσου.

Ο σκοπός μας ήταν να υπολογίσουμε τη διαγνωστική ευαισθησία των παραπάνω λιπιδαιμικών δεικτών σε σχέση με το έμφραγμα του μυοκαρδίου, σε μια ομάδα ασθενών με φυσιολογικά επίπεδα τριγλυκεριδίων, ολικής και LDL-χοληστερόλης, και να αξιολογήσουμε έτσι τη σημασία τους σαν εξετάσεις σε ένα Κλινικό Χημικό Εργαστήριο.

Στη συνέχεια, κάποια ευρήματα σχετικά με τους αθηρογόνους παράγοντες Apo B και τριγλυκερίδια, μας οδήγησαν σε ένα δεύτερο μέρος της μελέτης που σχετίζεται με τα υποκλάσματα της LDL.

Η LDL είναι ο κύριος μεταφορέας χοληστερόλης στο ανθρώπινο πλάσμα. Έτσι αύξηση της λιποπρωτεΐνης αυτής ίσως είναι καθοριστικός παράγοντας πρόωμης αθηροσκλήρυνσης.(βλέπε 6.2 γ.μέρους) Η LDL σαν ετερογενής λιποπρωτεΐνη βρίσκεται σε διάφορες μορφές που διαχωρίζονται με βάση το μέγεθος και την πυκνότητα. Τα υποκλάσματα της LDL διαφέρουν στη χημική τους σύσταση, στη μεταβολική τους συμπεριφορά και στην αθηρογόνο δράση τους.(βλέπε 3.3 γ.μέρους) Έχει αποδειχτεί ότι άτομα με μικρά πυκνά σωματίδια LDL βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου ακόμα και με επιθυμητά επίπεδα LDL-χοληστερόλης.(βλέπε 6.2 γ.μέρους) Παρόλα αυτά δεν είναι ξεκάθαρο αν τα

χαρακτηριστικά των LDL σωματιδίων είναι ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου για τη στεφανιαία νόσο ή τα αποτελέσματα άλλων αθηρογόνων ανωμαλιών. Σε αρκετές έρευνες ο κίνδυνος μειωνόταν μετά από ρύθμιση των τριγλυκεριδίων. Παρόλα αυτά, δύο έρευνες έχουν υποστηρίξει ότι ο κίνδυνος στεφανιαίας νόσου σχετίζεται με τις πυκνές LDL και είναι ανεξάρτητος από τη συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων. (βλέπε 6.2, 6.3 γ.μέρους)

Τα υποκλάσματα της LDL διαχωρίζονται συνήθως με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμιδίου (PAGE) ή με υπερφυγοκέντρωση. Χρησιμοποιώντας την πρώτη τεχνική, η LDL χωρίζεται σε δύο βασικούς τύπους Α και Β. Ο τύπος Β χαρακτηρίζεται από την παρουσία μικρών και πυκνών LDL σωματιδίων και ο τύπος Α από την παρουσία μεγάλων και λιγότερο πυκνών σωματιδίων. Η τεχνική της υπερφυγοκέντρωσης, αν και απαιτεί περισσότερο χρόνο και εξοπλισμό, πετυχαίνει τον ποσοτικό προσδιορισμό της % κατανομής των σωματιδίων αλλά και τον καθορισμό της χημικής τους σύστασης. (βλέπε 3.3 γ.μέρους)

Ο σκοπός του δεύτερου μέρους αυτής της εργασίας ήταν να καθορίσουμε την ετερογένεια της LDL σε μια ομάδα ασθενών με παλαιό έμφραγμα του μυοκαρδίου. Απομονώθηκαν 3 κύρια υποκλάσματα της LDL, με την τεχνική της υπερφυγοκέντρωσης, τα LDL-I (d=1,030-1,035 gr/ml), LDL-II (d=1,035-1,040 gr/ml) και LDL-III (d=1,040-1,045 gr/ml). Σκοπός μας ήταν να υπολογίσουμε το σχετικό κίνδυνο του αυξημένου ποσοστού της LDL-III όσον αφορά στο έμφραγμα του μυοκαρδίου και να καθορίσουμε πιθανές διαφορές στη χημική σύσταση των υποκλασμάτων μεταξύ ασθενών και υγιών. Επίσης να εξετάσουμε τη σχέση κάποιων παραγόντων όπως το κάπνισμα, τους β-αναστολείς και τα τριγλυκερίδια με τα αυξημένα ποσοστά της LDL-III.

Στόχος μας ήταν να συμβάλλουμε στην προσπάθεια διευκρίνησης αν ο προσδιορισμός της LDL-III έχει νόημα να εισαχθεί σε επίπεδο ρουτίνας σε ένα Κλινικό Χημικό Εργαστήριο.

2. ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΙ

Στο πρώτο μέρος επιλέχθηκαν 92 άντρες με παλαιό έμφραγμα του μυοκαρδίου (6-17 μηνών) από τις καρδιολογικές κλινικές του νοσοκομείου "Ευαγγελισμός" με μέση ηλικία $55 \pm 4,0$ έτη. Την ομάδα ελέγχου αποτέλεσαν 50 άντρες υγιείς παρόμοιας ηλικίας και δείκτη σωματικού βάρους με τους ασθενείς, χωρίς ιστορικό στεφανιαίας νόσου.

Στο δεύτερο μέρος, την ομάδα των ασθενών αποτέλεσαν 26 άντρες (μέσης ηλικίας $56,0 \pm 3,8$ χρόνων) με παλαιό έμφραγμα του μυοκαρδίου (6-17 μήνες πριν) από τις καρδιολογικές κλινικές του Ευαγγελισμού. Την ομάδα ελέγχου αποτέλεσαν 26 άντρες υγιείς παρόμοιας ηλικίας με τους ασθενείς χωρίς ιστορικό στεφανιαίας νόσου. Η διάγνωση του εμφράγματος έγινε και στις δύο περιπτώσεις με ενζυμική και ηλεκτροκαρδιογραφική εξέταση. Και από τις δύο ομάδες συμπληρώθηκε ένα μικρό ερωτηματολόγιο σχετικά με καρδιοαγγειακούς κινδύνους όπως υπέρταση, διαβήτης, κάπνισμα και κατανάλωση αλκοόλ. Αποκλείστηκαν από την έρευνα όσοι είχαν σακχαρώδη διαβήτη ή ήταν πρόσφατα βαριοί καπνιστές.

Από την ομάδα των ασθενών, σαν πρώην καπνιστές θεωρήθηκαν όσοι είχαν σταματήσει το κάπνισμα μετά το έμφραγμα και σαν καπνιστές όσοι κάπνιζαν περιστασιακά (λιγότερο από 5 τσιγάρα την ημέρα). Ο δείκτης σωματικού βάρους υπολογίστηκε σαν $\text{βάρος (Kgr)} / \text{ύψος}^2 (\text{m}^2)$.

3. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΧΗΜΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

Η αιμοληψία, και στις δύο ομάδες έγινε ύστερα από 12ωρη νηστεία μεταξύ 8:00-9:00 π.μ. Οι μετρήσεις που ακολούθησαν έγιναν σε ορό φρέσκο ή κατεψυγμένο στους -70°C . Μετρήθηκαν :

Ολική χοληστερόλη (TC) με την ενζυματική μέθοδο CHOD-PAP, Boehringer (Μανχάιμ, Γερμανία).

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PH 6,5) συγκέντρωσης 250 mmol/l

Πρότυπο διάλυμα χοληστερόλης 200 mg/dl ή 5 mmol/l

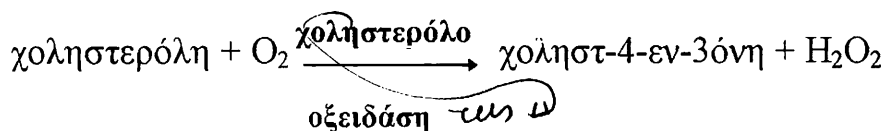
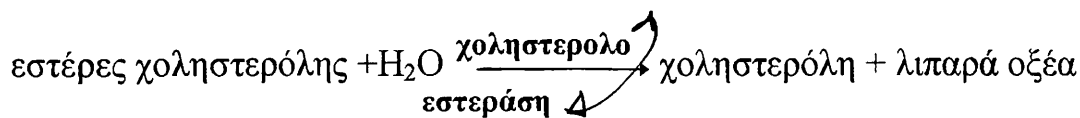
Ένζυμα (υπεροξειδάση, εστεράση της χοληστερόλης, οξειδάση της χοληστερόλης)

4-αμινο-αντιπυρίνη σαν χρωμογόνο 0,3 mmol/l

DHBS (βενζολοσουλφονυλογλωρίδιο) 8mmol/l

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η χοληστερόλη προσδιορίζεται μετά από ενζυματική υδρόλυση και οξείδωση. Το χρωμογόνο, παρουσία της υπεροξειδάσης, του H_2O_2 και του DHBS, οξειδώνεται σε ερυθρού χρώματος ένωση της οποίας η ένταση του χρώματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της χοληστερόλης του δείγματος.



ΠΟΡΕΙΑ

Σε κυψελίδες τοποθετούμε : το τυφλό (0,02ml απεσταγμένο νερό), 0,02ml από το πρότυπο διάλυμα, 0,02ml από το δείγμα ελέγχου και 0,02ml από τα δείγματα προσθέτοντας σε καθένα από αυτά 2.0 ml αντιδραστηρίου. Αναδεύουμε και φωτομετρούμε στα 580nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg/dl.

HDL-Χοληστερόλη (HDL-C) με την ενζυματική μέθοδο cholesterol enzymatique της bioMerieux (Λυόν, Γαλλία)

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Καταβυθιστικό διάλυμα φωσφοβολφραμικού οξέος συγκέντρωσης 40gr/lit και $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 100gr/lit

Αντιδραστήριο χοληστερόλης (ελεύθερη και εστεροποιημένη)

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Τα χυλομικρά οι VLDL και οι LDL καταβυθίζονται με φωσφοβολφραμικό οξύ, παρουσία ιόντων μαγνησίου. Το υπερκείμενο διάλυμα, μετά τη φυγοκέντρηση, περιέχει τις HDL στις οποίες μετράμε τη χοληστερόλη.

ΠΟΡΕΙΑ

Σε ειδικά φιαλίδια (erpendorffs) τοποθετούμε 200μl από τα δείγματα και 20μl από το καταβυθιστικό. Αναδεύουμε, αφήνουμε για 10' και φυγοκεντρούμε για 15' σε 5000 rpm. Τοποθετούμε το υπερκείμενο διάλυμα σε κυψελίδα βάζοντας στη θέση 1 το τυφλό (απεσταγμένο νερό), στη θέση 2 το πρότυπο (αντιδραστήριο χοληστερόλης) και στη θέση 3 το δείγμα ελέγχου. Φωτομετρούμε στα 500nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg/dl.

Τριγλυκερίδια (TG) με την ενζυματική μέθοδο G.P.O. της TRINDER (Μελβούρνη, Αυστραλία)

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

4-αμινο-αντιπυρίνη (χρωμογόνο)

Ένζυμα (κινάση γλυκερόλης, υπεροξειδάση, οξειδάση φωσφορικής γλυκερόλης, λιπάση)

DHBS(βενζολοσουλφονυλοχλωρίδιο) 1,6 mmol/l, ATP

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

τριγλυκερίδια + H_2O $\xrightarrow{\text{λιπάση}}$ γλυκερόλη + ελεύθερα λιπαρά οξέα

γλυκερόλη + ATP $\xrightarrow{\text{κινάση γλυκερόλης}}$ 3-φωσφορική γλυκερόλη + ADP

3-φωσφορική γλυκερόλη + O_2 $\xrightarrow{\text{οξειδάση}}$ διυδροξυ-φωσφορική-ακετόνη + H_2O_2

H_2O_2 + 4-αμινο-αντιπυρίνη + DHBS $\xrightarrow{\text{υπεροξειδάση}}$ κινονειμίνη + $2H_2O$

1. Τα τριγλυκερίδια υδρολύονται ενζυματικά από τη λιπάση σε ελεύθερα λιπαρά οξέα και γλυκερόλη.
2. Η γλυκερόλη φωσφορυλιώνεται με ATP και κινάση γλυκερόλης δίνοντας ADP και 3-φωσφορική γλυκερόλη.
3. Η 3-φωσφορική γλυκερόλη οξειδώνεται με την οξειδάση της σε διυδροξυ-φωσφορική ακετόνη και υπεροξείδιο του υδρογόνου.
4. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου με το χρωμογόνο (4-αμινο-αντιπυρίνη), το DHBS και την υπεροξειδάση παράγει την έγχρωμη ένωση κυνονειμίνη της οποίας η απορρόφηση είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των τριγλυκεριδίων.

ΠΟΡΕΙΑ

Σε κυψελίδες τοποθετούμε το τυφλό, το πρότυπο, το δείγμα ελέγχου και τα άγνωστα δείγματα προσθέτοντας σε καθένα από αυτά 2,0ml το αντιδραστήριο. Αναδεύουμε και φωτομετρούμε στα 520nm μηδενίζοντας με το τυφλό. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg/dl.

LDL- Χοληστερόλη (LDL-C) σύμφωνα με τον τύπο του Friedwald : $LDL=TC-TG/5-HDL$

Στον παραπάνω τύπο, οι μονάδες των : LDL, TG, HDL, TC είναι mg/dl. Ο τύπος του Friedwald δεν ισχύει για τριγλυκερίδια πάνω από 400 mg/dl.(12)

Αpo A-I, ΑpoB με τη νεφελομετρική μέθοδο της Hoechst (Μάρμπουργκ, Γερμανία).

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιπός απολιποπρωτεΐνης A και B αντίστοιχα.

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Με μία ανοσοχημική αντίδραση, οι απολιποπρωτείνες του ορού σχηματίζουν ανοσοσυμπλέγματα με συγκεκριμένα αντισώματα. Αυτά τα συμπλέγματα προκαλούν σκέδαση δέσμης φωτός που περνάει από το δείγμα. Η ένταση του σκεδασμένου φωτός είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των απολιποπρωτεϊνών στο δείγμα.

ΠΟΡΕΙΑ

Αρχικά φτιάχνεται η καμπύλη πολλαπλής διαβάθμισης. Αραιώνονται τα δείγματα (1:20) και ξεκινάει η μέτρηση των απολιποπρωτεϊνών. Όλα τα στάδια της μέτρησης γίνονται αυτόματα από το νεφελόμετρο της Boehringer. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg/dl.

HDL-II, HDL-III με διπλή καταβύθιση με $MgCl_2$ /θειική δεξτράνη.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 1) $MgCl_2$ 0,5M. Διαλύω 10,15gr $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ σε 80 ml νερού, ρυθμίζω το PH στο 7,0 με NaOH και προσθέτω νερό μέχρι τα 100 ml.
- 2) $MgCl_2$ 1,5M. Διαλύω 30,45gr $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ σε 80 ml νερού, ρυθμίζω το PH στο 7,0 με NaOH και αραιώνω μέχρι τα 100 ml.
- 3) HDL (T). Προσθέτω 0,5gr θειικής δεξτράνης MB 50000 σε 50 ml $MgCl_2$ 0,5 M.
- 4) HDL (3). Προσθέτω 0,5gr θειικής δεξτράνης σε 50 ml $MgCl_2$ 1,5M.

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Δύο καταβυθίσεις λαμβάνουν χώρα στο συγκεκριμένο προσδιορισμό. Στην πρώτη καταβυθίζονται οι λιποπρωτείνες LDL, VLDL ενώ στη δεύτερη καταβύθιση καταβυθίζεται και HDL-II ενώ η HDL-III βρίσκεται στο υπερκείμενο. Έτσι, η συγκέντρωση της HDL-II βρίσκεται με αφαίρεση της HDL-III από τη συνολική HDL-χοληστερόλη.

ΠΟΡΕΙΑ

Τοποθετούμε 1,0 ml από τα δείγματα σε ειδικά σωληνάρια (erpendorffs), προσθέτουμε 0,1 ml HDL (T), αναδεύουμε, αφήνουμε για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και φυγοκεντρούμε για 15 λεπτά σε 2300 rpm στους 4 °C. Παίρνουμε 0,5 ml από το υπερκείμενο, προσθέτουμε 0,05 ml HDL (3), αναδεύουμε, αφήνουμε 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και φυγοκεντρούμε για 15 λεπτά σε 2300 rpm στους 4 °C. Στο υπερκείμενο βρίσκονται οι HDL-III τις οποίες φωτομετρούμε στα 500 nm. Οι HDL-II προκύπτουν με αφαίρεση :

$$\text{HDL-II} = \text{HDL} - (\text{HDL-III})$$
 Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg/dl.

Lp(a) με micro-Elisa της biopool (Ούλμε, Σουηδία).

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

6 βάσεις με πηγαδάκια που έχουν στον πυθμένα τους πολυκλωνικά αντισώματα αντι-Lp(a)

Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει επίσης EDTA και Tween 20(απορρυπαντικό).

Υπεροξειδάση

H₂O₂

Πρότυπα διαλύματα της Lp(a) 0 mg/l και 600 mg/l

Υπόστρωμα με OPD(φαινυλενοδιαμίνη)

Αντίσωμα αντι-Lp(a) συνδεδεμένο με υπεροξειδάση

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η Lp(a) του πλάσματος δεσμεύεται στα αντισώματα της Lp(a) κατά τη διάρκεια επώασης στα ειδικά πηγαδάκια. Προστίθενται τα αντισώματα της Lp(a) συνδεδεμένα με την υπεροξειδάση δημιουργώντας έτσι τη μορφή "sandwich" δηλαδή αντίσωμα- Lp(a) -αντίσωμα. Το συζευγμένο αντίσωμα που δεν δεσμεύτηκε απομακρύνεται με το πλύσιμο και προστίθενται το υπόστρωμα της φαινυλενοδιαμίνης με το H₂O₂. Το ποσό του κίτρινου χρώματος που σχηματίζεται είναι ανάλογο της συγκέντρωσης της Lp(a) στο πλάσμα.

ΠΟΡΕΙΑ

Αραιώνουμε τα δείγματα προσθέτοντας 1ml από το ρυθμιστικό διάλυμα σε κάθε 20 μl πλάσματος. Αυτό το κάνουμε δύο φορές. Έτσι έχουμε μια αραιώση 1:2601. Προσθέτουμε 50 μl από το ρυθμιστικό των φωσφορικών σε κάθε πηγαδάκι. Αναταράζουμε για 1 λεπτό. Προσθέτουμε 20 μl από το πρότυπο της Lp(a) συγκέντρωσης 0 mg/l σε δύο πηγαδάκια και 20 μl από το πρότυπο Lp(a) συγκέντρωσης 600 mg/l σε άλλα δύο πηγαδάκια. Προσθέτουμε 20 μl από τα αραιωμένα δείγματα σε ξεχωριστά πηγαδάκια. Καλύπτω τις ταινίες με πλαστικό κάλυμμα και επωάζουμε για 60 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Αναταράζουμε στις 500 rpm. Προσθέτουμε 50 μl από ένα διάλυμα που προκύπτει με την προσθήκη 6ml ρυθμιστικού διαλύματος σε μία αμπούλα υπεροξειδάσης. Επωάζουμε για 15 λεπτά σε 25 °C αναταράζοντας στο ειδικό πιάτο. Αδειάζουμε

το πιάτο και πλένουμε τις ταινίες τέσσερις φορές με το ρυθμιστικό διάλυμα. Προσθέτουμε 100 μl από το υπόστρωμα σε κάθε πηγαδάκι και επωάζουμε για 15 λεπτά σε 25°C. Προσθέτουμε 50 μl H₂SO₄ σε κάθε πηγαδάκι, αναταράζουμε για 5 λεπτά για πλήρη ανάμειξη και σταθεροποίηση του χρώματος. Φωτομετρούμε στα 492 nm. Η καμπύλη απορρόφησης-συγκέντρωσης είναι γραμμική της μορφής : $y = 106,5 + 2,549x$ όπου y η απορρόφηση των δειγμάτων και x η συγκέντρωση της Lp(a) σε mg/dl.

LpA-I ηλεκτροφορητικά με μέθοδο της Sebia (Λυόν, Γαλλία).

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

5 πηκτές αγαρόζης με περιέχουν μονοκλωνικά αντισώματα Apo A-I και ApoA-II

Πρότυπα διαλύματα της LpA-I

Ρυθμιστικό διάλυμα TGM (Tris : 2-αμινο-2-μεθυλ-προπανοδιόλη1,3 /γλυκίνη /MES : 2-(N-μορφολινο(αιθανοσουλφονικό οξύ))

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Τα αντισώματα της Apo A-II ενσωματώνονται σε ικανοποιητική ποσότητα εμποδίζοντας έτσι την κίνηση των LpA-I:A-II σωματιδίων. Αντίθετα τα σωματίδια της LpA-I τρέχουν στην ηλεκτροφόρηση δημιουργώντας μία κορυφή της οποίας το ύψος είναι ανάλογο της συγκέντρωσης της LpA-I.

ΠΟΡΕΙΑ

Οι πηκτές αγαρόζης περιέχουν 16 πηγαδάκια με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της Αρο Α-Ι και Αρο Α-ΙΙ. Αραιώνουμε τα πρότυπα διαλύματα με φυσιολογικό ορό (NaCl 0,15M, 9g/l) όπως φαίνεται στον πίνακα

NaCl 9g/l	πρότυπα διαλύματα	συγκέντρωση
995 μl	5 μl	πρότυπο x 0,5
990μl	10 μl	πρότυπο x 1
985μl	15 μl	πρότυπο x 1,5
980μl	20 μl	πρότυπο x 2

Τοποθετούμε 5μl από τα δείγματα και τα αραιωμένα πρότυπα στα πηγαδάκια. Περιμένουμε 20 λεπτά για πλήρη διάχυση. Τοποθετούμε την πηκτή στο ειδικό μπανάκι (Sebia K20), με τα πηγαδάκια στην κάθοδο. Η πηκτή είναι αναποδογυρισμένη και βυθισμένη 1cm στο διάλυμα. Οι συνθήκες ηλεκτροφόρησης είναι οι παρακάτω :

Όγκος διαλύματος : 300ml

Σταθερή τάση : 50V

Ένταση ρεύματος : 21mA

Διάρκεια ηλεκτροφόρησης : 4h

Αφού τελειώσει η ηλεκτροφόρηση, μετά από 4 ώρες, τοποθετούμε την πηκτή σε επίπεδη επιφάνεια. Σκουπίζουμε προσεκτικά με διηθητικό χαρτί ποτισμένο σε φυσιολογικό ορό για την απορρόφηση των πρωτεϊνών που απέμειναν. Τοποθετούμε δύο χοντρά χαρτιά και ένα βάρος ενός κιλού για 20 λεπτά. Πλένουμε την πηκτή σε φυσιολογικό ορό για 60 λεπτά. Σκουπίζουμε πάλι προσεκτικά όπως αναφέραμε πιο πάνω, τοποθετούμε το βάρος και αφήνουμε για 10 λεπτά. Στεγνώνουμε την πηκτή με ζεστό αέρα και αφού κρυώσει το βυθίζουμε

στη χρωστική για 5 λεπτά. Ξεπλένουμε και τώρα διαγράφονται δύο κορυφές για κάθε δείγμα. Η μικρή και έντονα χρωματισμένη αφορά τα σωματίδια που περιέχουν Apo A-II, ενώ η υψηλή και αχνή κορυφή αφορά τα σωματίδια της LpA-I.

Με τα πρότυπα διαλύματα δημιουργούμε μια καμπύλη με τις συγκεντρώσεις τους στον άξονα X και τα ύψη των κορυφών στον άξονα Ψ. Μέσω της πρότυπης καμπύλης υπολογίζουμε τις συγκεντρώσεις των δειγμάτων εκφρασμένες σε g/l .

Φωσφολιπίδια, ενζυματικά με τη bioMerieux (Λυόν, Γαλλία).

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

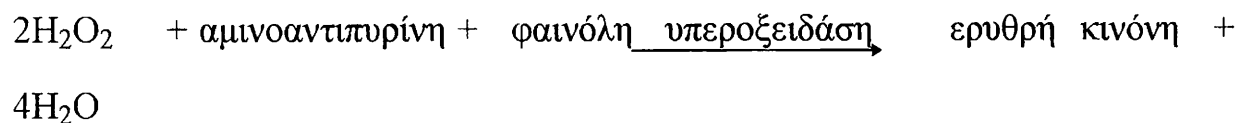
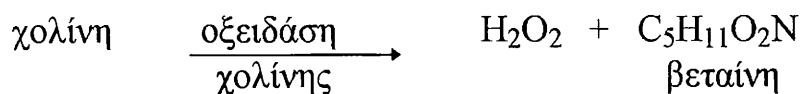
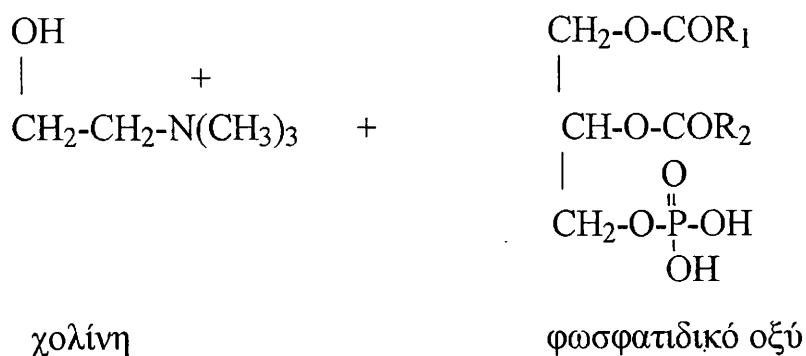
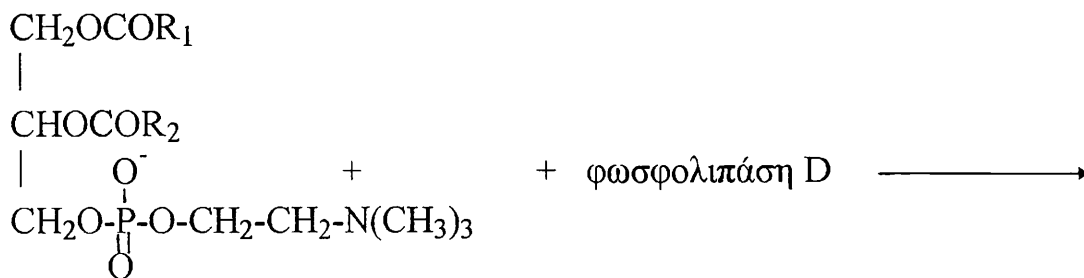
Πρότυπο διάλυμα χολίνης (χλωριούχος χολίνη) συγκέντρωσης 1mmol/l .

Φαινόλη, 4-αμινο-αντιπυρίνη

Ένζυμα (οξειδάση χολίνης, υπεροξειδάση, φωσφολιπάση)

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η φωσφολιπάση D υδρολύει τα φωσφολιπίδια απελευθερώνοντας χολίνη η οποία παρουσία οξειδάσης της χολίνης οξειδώνεται προς βεταΐνη. Το απελευθερούμενο H_2O_2 οξειδώνει τη φαινόλη με το ένζυμο υπεροξειδάση και παρουσία της 4-αμινο-αντιπυρίνης δίνει μια έγχρωμη ένωση (ερυθρή κινόνη) που απορροφά σε $\lambda=505\text{nm}$.



ΠΟΡΕΙΑ

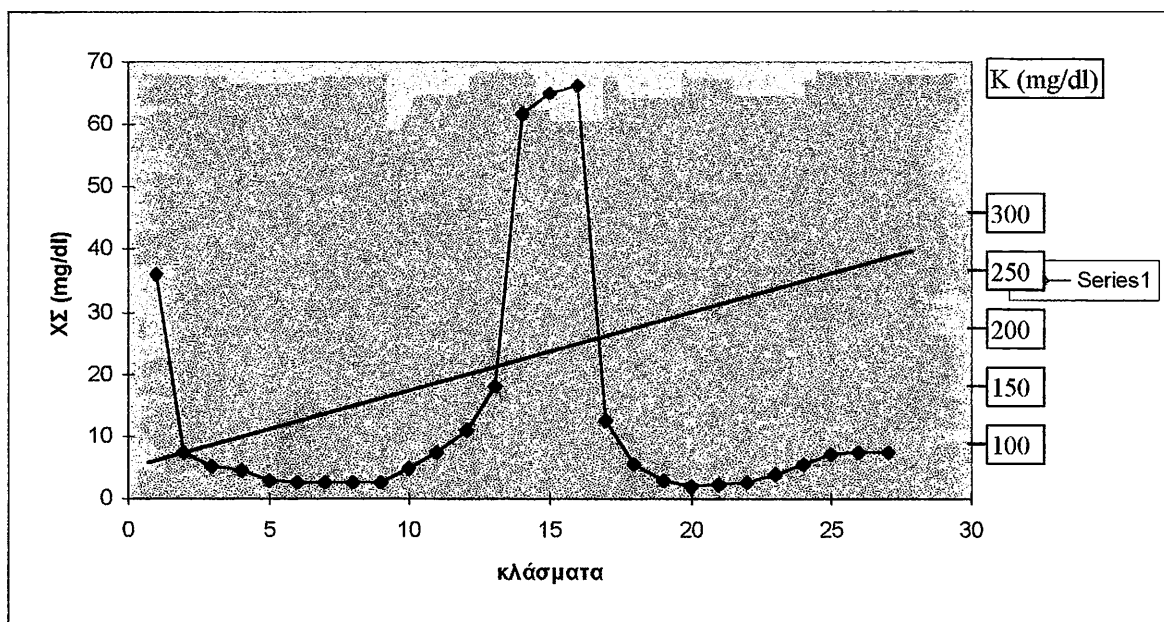
Τοποθετούμε το τυφλό, το πρότυπο, το δείγμα ελέγχου και τα άγνωστα δείγματα σε κυψελίδες. Προσθέτουμε στο κάθε δείγμα 1ml από το διάλυμα της χολίνης. Τοποθετούμε την κυψελίδα στον αναλυτή και στην ειδική θέση το αντιδραστήριο. Φωτομετρούμε στα 505nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg/dl.

ΚΛΑΣΜΑΤΩΣΗ ΤΗΣ LDL

Τα κλάσματα της LDL συλέχθηκαν μετά από υπερφυγοκέντρωση 18,5 ωρών σε 37000 rpm και 14°C. Χρησιμοποιήθηκε υπερφυγόκεντρος Beckman με ρότορα τιτανίου SW 41. Η υπερφυγοκέντρωση έγινε ως εξής :

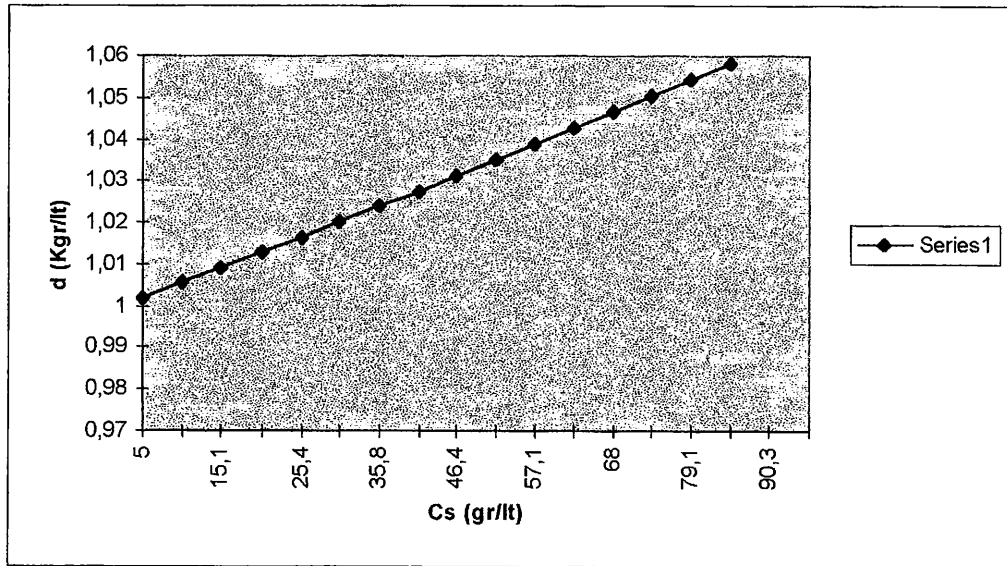
Σε 2,7 ml ορού προστέθηκαν 5μl/ml Na₂EDTA, 1,25μl/ml αντιβιοτικού (Garamycine), και 0,378gr KBr. Αμέσως μετά προστέθηκαν τα διαλύματα KBr διαφορετικών πυκνοτήτων : 1,7ml από το KBr πυκνότητας 1,063gr/ml, 2,7ml KBr 1,035gr/ml, 2,7ml KBr 1,019gr/ml και 1,2ml KBr 1,006gr/ml.

Μετά το τέλος της υπερφυγοκέντρωσης το περιεχόμενο του κάθε σωλήνα συλέχθηκε σε ειδικά φιαλίδια (0,4 ml στο κάθε ένα). Αυτά φυγοκεντρήθηκαν και στο υπερκείμενο διάλυμα μετρήθηκε η χοληστερόλη. Φτιάχτηκε έτσι μία καμπύλη της μορφής

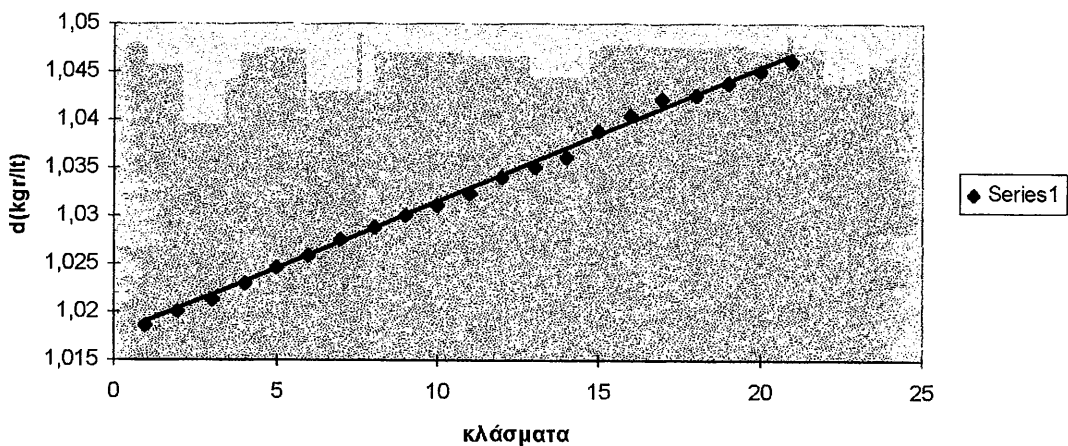


Η συγκέντρωση Καλίου (K) μετρήθηκε σε αυτόματο αναλυτή ηλεκτροδίων στην περιοχή των ούρων με αραιώση 1:11 για τα πρώτα 20 φιαλίδια και 1:20 για τα επόμενα. Για την επιλογή των κλασμάτων LDL-I, LDL-II, LDL-III

χρησιμοποιήθηκε η σχέση $d(\text{Kgr/l})=f(\text{Cs})$ από το Handbook of Chemistry-Physics, όπου d η δσχ στους $20\text{ }^\circ\text{C}$ σε kg/l και Cs άνυδρη συγκέντρωση σε gr/l .



Με βάση τις μετρήσεις καλίου των κλασμάτων της LDL στα φιαλίδια και τη προηγούμενη καμπύλη έγινε η γραφική παράσταση $d(\text{K})=f(\text{κλάσματα})$.



Έτσι, το κλάσμα LDL-I αντιστοιχούσε σε πυκνότητα $d=1,030-1,035\text{gr/ml}$, το LDL-II σε πυκνότητα $d=1,035-1,040\text{gr/ml}$ και το LDL-III σε πυκνότητα $d=1,040-1,045\text{gr/ml}$.

Στα υποκλάσματα LDL-I, LDL-II, LDL-III υπολογίστηκε η μάζα τους σε mg/dl πλάσματος και το % ποσοστό τους. Η μάζα του κάθε υποκλάσματος υπολογίστηκε σαν το άθροισμα των επιμέρους συστατικών του, δηλαδή της χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων, της πρωτεΐνης και των φωσφολιπιδίων. Γνωρίζοντας τους όγκους των υποκλασμάτων και του πλάσματος που χρησιμοποιήθηκαν, έγινε ο υπολογισμός της μάζας των υποκλασμάτων σε mg/dl πλάσματος.

Η χοληστερόλη και τα φωσφολιπίδια των υποκλασμάτων μετρήθηκαν με τις ενζυματικές μεθόδους που αναφέρθηκαν στα προηγούμενα και η ολική πρωτεΐνη με τη μέθοδο Lowry.

Ολική πρωτεΐνη με τη μέθοδο Lowry

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Na_2CO_3 2%

0,5% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ σε 1% Κιτρικό νάτριο

Αντιδραστήριο φαινόλης

NaOH 1M, NaOH 0,5M

Πρότυπο διάλυμα BSA 100 $\mu\text{g/ml}$ σε NaOH 0,5M

(Τα δύο πρώτα διαλύματα αναμιγνύονται πριν τη χρήση με αναλογία $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} : 50/1$)

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Αρχικά με την προσθήκη χαλκού δημιουργούνται τα σύμπλοκα Cu^{2+} - πρωτεϊνών. Μόλις προστεθεί το αντιδραστήριο της φαινόλης, τα αμινοξέα τυροσίνη και θρυπτοφάνη των συμπλεγμάτων ανάγουν το παραπάνω αντιδραστήριο μέσω του Cu^{2+} δημιουργώντας ένα μπλε χρώμα. Από την απορρόφηση των δειγμάτων στα 720nm υπολογίζουμε την περιεκτικότητα του δείγματος σε πρωτεΐνη.

ΠΟΡΕΙΑ

Σε 40μl δείγματος προσθέτουμε 40μl NaOH 1M και 920μl NaOH 0,5M. Αφήνουμε για επώαση 1h μέχρι το δείγμα να γίνει διαυγές. Τότε προσθέτουμε 5ml από τα δύο πρώτα αντιδραστήρια που αναμείξαμε και 0,5ml φαινόλης και αφήνουμε σε ηρεμία για 10 και 30 λεπτά αντίστοιχα. Φωτομετρούμε στα 720nm χρησιμοποιώντας τα πρότυπα :

T : 1ml NaOH 0,5M

Π1 : 250μl BSA και 750μl NaOH 0,5M

Π2 : 500μl και 500μl NaOH 0,5M

Π3 : 750μl και 250μl NaOH 0,5M

Π4 : 1000μl BSA

Από τις απορροφήσεις των προτύπων διαλυμάτων και τις συγκεντρώσεις τους κατασκευάζουμε μία καμπύλη της μορφής $y = 0,00272x$ όπου x η συγκέντρωση των δειγμάτων και y η απορρόφηση. Πάνω σε αυτήν την καμπύλη αντιστοιχούμε τις απορροφήσεις των δειγμάτων και κάνουμε αναγωγή στο 1ml. Έτσι τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $\mu\text{g/ml}$.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ(200),(201),(202)

Η στατιστική ανάλυση έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS της SPSS Inc Σικάγο, Ιλινόις, ΗΠΑ.

• Shapiro-Wilk test

Η κατανομή των μεταβλητών εξετάστηκε με τον έλεγχο Shapiro-Wilk. Η πρώτη δημοσίευσή του έγινε το 1965 και από τότε χρησιμοποιείται ευρέως για την κανονικότητα ή μη κάποιων μεταβλητών. Η βάση αυτής της δοκιμασίας είναι να συγκρίνει δύο μεταβλητές οι οποίες θα ήταν ίσες για μία κανονική κατανομή και μόνο για αυτήν. Ο μαθηματικός τύπος με τον οποίο δίνεται ο έλεγχος Shapiro-Wilk είναι :

$$W = \frac{\left[\sum_{i=1}^k \alpha_i (x_{(n-i+1)} - x_{(i)}) \right]^2}{n \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

όπου : x_i οι τιμές των δεδομένων

\bar{x} η μέση τιμή του x

k μια άλλη μορφή του $\frac{1}{2}n$ και

α_i συντελεστές των οποίων η τιμή εξαρτάται από το n

Οι τιμές του W είναι : $0 < W \leq 1$. Η τιμή $W=1$ ισχύει για κανονική κατανομή και γενικά χαμηλές τιμές του W είναι ένδειξη μη κανονικότητας. Η υπόθεση κανονικής κατανομής απορρίφθηκε για $p < 0,05$. Τα αποτελέσματα των μεταβλητών με κανονική κατανομή εκφράστηκαν σαν : μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση και η σύγκριση των δύο ομάδων έγινε με το student t-test.

• Student t-test

Το t-test είναι μία από τις συνηθέστερες περιπτώσεις ελέγχου υποθέσεων των μέσων όρων δύο δειγμάτων. Αυτός ο έλεγχος γίνεται προκειμένου να καθοριστεί κατά πόσο οι πληθυσμοί που αντιπροσωπεύουν τα δείγματα αυτά, διαθέτουν ίσους ή διαφορετικούς μέσους όρους. Με άλλα λόγια, με τη σύγκριση των μέσων όρων επιχειρείται να αποδειχθεί αν τα δείγματα διαφέρουν στατιστικά και να εξηγηθεί πού οφείλεται η στατιστική σημαντική διαφορά. Η δοκιμασία του t-test μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο σε ανεξάρτητα όσο και σε εξαρτημένα δείγματα. Όταν πρόκειται για ανεξάρτητα δείγματα, όπως στην περίπτωση μας, το στατιστικό κριτήριο υπολογίζεται από τον τύπο :

$$t\text{-κριτήριο} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{(N_1-1)S_1^2 + (N_2-1)S_2^2}{N_1+N_2-2} \times \frac{N_1+N_2}{N_1 \times N_2}}}$$

όπου \bar{x}_1, \bar{x}_2 οι μέσοι όροι των δύο ανεξάρτητων δειγμάτων, N_1, N_2 τα μεγέθη των δύο δειγμάτων και S_1, S_2 οι αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις. Οι βαθμοί ελευθερίας αυτού του κριτηρίου είναι $K=N_1+N_2-2$. $P<0,05$ θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό.

• Mann-Whitney U test

Η σύγκριση των δύο ομάδων, ασθενών και υγιών, για μεταβλητές με μη κανονική κατανομή, έγινε με το μη παραμετρικό Mann-Whitney U test υπολογίζοντας το zadjusted.

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σαν διάμεσος (20ο - 80ο) εκατοστιμόριο. $P < 0,05$ θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό. Το Mann-Whitney U test είναι μια συνηθισμένη τεχνική για σύγκριση δύο ανεξάρτητων ομάδων με μεταβλητές ελεύθερης κατανομής. Ας υποθέσουμε ότι έχουμε δύο ομάδες παρατηρήσεων. Ένα δείγμα n_1 παρατηρήσεων x_i από τον πληθυσμό x και ένα δείγμα n_2 παρατηρήσεων ψ_i από τον πληθυσμό ψ . Η υπόθεση που εξετάζεται είναι ότι η κατανομή του x στον πληθυσμό X είναι ακριβώς η ίδια με εκείνη του ψ στον πληθυσμό Ψ . Με βάση αυτά έχουμε : $U_{x\psi}$ είναι ο αριθμός των ζευγαριών για τα οποία $x_i < \psi_i$ και $U_{\psi x}$ είναι ο αριθμός των ζευγαριών για τα οποία : $x_i > \psi_i$. Οποιοσδήποτε από τους όρους $U_{x\psi}$ και $U_{\psi x}$ μπορεί να χρησιμοποιηθεί με τα ίδια ακριβώς αποτελέσματα. Υψηλές τιμές του $U_{\psi x}$ για παράδειγμα, υποδεικνύουν μια διαφορά μεταξύ των κατανομών με το x να παίρνει μεγαλύτερες τιμές από το ψ . Αντίστοιχα χαμηλές τιμές του $U_{\psi x}$ δείχνουν ότι το x τείνει να είναι μικρότερο του ψ .

• Ανάλυση συσχέτισης

Η ανάλυση έγινε με το δειγματικό συντελεστή συσχέτισης του Pearson. Ο συντελεστής του Pearson (r) χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της συσχέτισης μεταξύ δύο μεταβλητών με αριθμητικά δεδομένα. Δηλαδή με το συντελεστή αυτό μπορεί να εκφραστεί ο βαθμός και η κατεύθυνση της σχέσης δύο ποσοτικών μεταβλητών. Ο μαθηματικός τύπος του συντελεστή με βάση τις τυπικές αποκλίσεις είναι :

$$r = \frac{\frac{\sum x\psi}{N-1} - \frac{\sum x \times \sum \psi}{N(N-1)}}{S_x \times S_\psi}$$

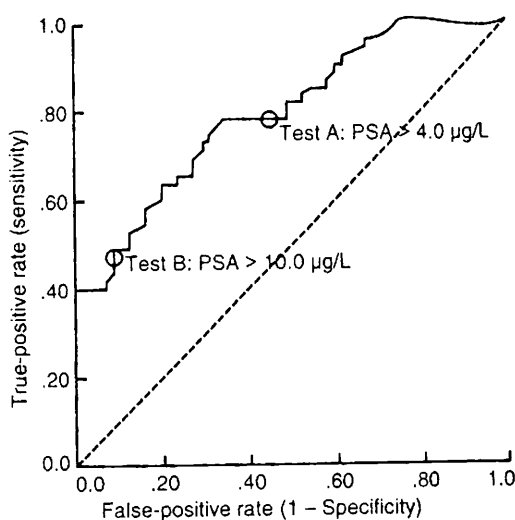
όπου $\Sigma\psi$ το άθροισμα των γινομένων των δύο τιμών, για κάθε υποκείμενο του δείγματος, N το μέγεθος του δείγματος και S_x, S_y οι τυπικές αποκλίσεις αντίστοιχα της πρώτης και δεύτερης μεταβλητής.

Ο δειγματικός συντελεστής συσχέτισης r είναι ένας καθαρός αριθμός και παίρνει τιμές μεταξύ -1 και $+1$. Το πρόσημο παριστάνει την αρνητική ή θετική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών. Με βάση εμπειρικά δεδομένα, όταν ο r βρίσκεται από $0-0,3$ η συσχέτιση θεωρείται αδύνατη, όταν r από $0,3-0,5$ η συσχέτιση είναι μέτρια, όταν r από $0,5-0,7$ η συσχέτιση είναι ικανοποιητική, όταν r από $0,7-0,9$ η συσχέτιση είναι μεγάλη, ενώ για r πάνω από $0,9$ η συσχέτιση είναι πολύ μεγάλη. Στα αποτελέσματα χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής διόρθωσης Bonferroni. Είναι μία τεχνική που χρησιμοποιείται για να αποφευχθεί σφάλμα τύπου I λόγω πολλαπλών συγκρίσεων των ομάδων. Ισχύει : $B' = K \cdot B$ όπου K ο αριθμός των συγκρίσεων και B ο συντελεστής Bonferroni. Μετά τη διόρθωση ορίζεται το P κάτω από το οποίο δεχόμαστε συσχέτιση.

• Διαγνωστική ευαισθησία

Η διαγνωστική ευαισθησία των διαφόρων μεθόδων, υπολογίστηκε σαν το ποσοστό των ασθενών που έδειξαν τον έλεγχο θετικό χρησιμοποιώντας το όριο αναφοράς που ορίζεται από την ανάλυση της χαρακτηριστικής καμπύλης ROC (receiver operating characteristic curve). Ο έλεγχος θεωρήθηκε θετικός σε τιμές χαμηλότερες από τα όρια αναφοράς για τους δείκτες HDL ή σε τιμές μεγαλύτερες από τα όρια αναφοράς για τις Apo B και $Lp(a)$. Η καμπύλη ROC είναι ένα διάγραμμα που εκθέτει τη σχέση μεταξύ του αληθώς θετικού (ευαισθησία) στον κάθετο άξονα y και του ψευδώς θετικού βαθμού ($1 -$ ειδικότητα) στον οριζόντιο άξονα x . Η τεχνική αυτή των διαγραμμάτων άρχισε να χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια του δευτέρου παγκοσμίου πολέμου. Σκοπός ήταν να εξετάσει την

διάρκεια του δευτέρου παγκοσμίου πολέμου. Σκοπός ήταν να εξετάσει την ευαισθησία και την ειδικότητα που σχετιζόταν με την ανίχνευση, μέσω ραντάρ, εχθρικών αεροσκαφών. Από τότε χρησιμοποιείται συχνά για να εκτιμήσει την ειδικότητα και την ευαισθησία διαφόρων εργαστηριακών μεθόδων, επιλέγοντας όσο καλύτερα γίνεται την κρίσιμη τιμή (critical value). Η τιμή αυτή βρίσκεται φέρνοντας τη διαγώνιο από το (0,0) έως το σημείο (1,1). Τότε η τιμή στην οποία η απόκλιση της καμπύλης είναι μέγιστη είναι η κρίσιμη τιμή.



Το παραπάνω σχήμα δείχνει μία καμπύλη ROC για τον καρκινικό δείκτη PSA. Κάθε σημείο της καμπύλης αντιπροσωπεύει και μία διαφορετική συγκέντρωση PSA. Οι αληθώς και ψευδώς θετικοί βαθμοί εκφράζονται χρησιμοποιώντας σαν όρια αναφοράς τα 4,0 και 10,0 µg/l.

Ποιοτικός έλεγχος - Εξωεργαστηριακός ποιοτικός έλεγχος

Ένα σημαντικό στοιχείο σε κάθε έρευνα είναι η ορθότητα των αποτελεσμάτων των αναλύσεων. Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων αντικατοπτρίζει την καλή λειτουργία

στο εθνικό σύστημα εξωτερικής αξιολόγησης εργαστηριακών αποτελεσμάτων γνωστό και ως ΕΣΕΑΠ και μάλιστα το παραπάνω νοσοκομείο αποτελεί την έδρα του ΕΣΕΑΠ. Το σύστημα αυτό αξιολόγησης αποτελεσμάτων λειτουργεί για πρώτη φορά σε εθνικό επίπεδο και έχει μια συμμετοχή πάνω από 150 εργαστήρια κρατικών νοσοκομείων, ιδιωτικών διαγνωστικών κέντρων και ιδιωτικά μικροβιολογικά εργαστήρια.

Σε κάθε εργαστήριο που συμμετέχει, αποστέλλονται ανά δίμηνο, δείγματα ορών ελέγχου τα οποία αναλύονται ως προς τα παρακάτω ζητούμενα : αλβουμίνη, ασβέστιο, γλυκόζη, κάλιο, κρεατινίνη, ολικά λευκώματα, νάτριο, ουρία, ουρικό οξύ, τριγλυκερίδια, χολερυθρίνη, χοληστερόλη, αλκαλική φωσφατάση, γ-γλουταμινική τρανσφεράση, γαλακτική αφυδρογονάση, κρετινοκινάση και τρανσαμινάσες. Μετά την ανάλυση τα εργαστήρια αποστέλλουν τα αποτελέσματά τους στον Ευαγγελισμό όπου και γίνεται η στατιστική επεξεργασία τους. Από τους υπεύθυνους του Κέντρου υπολογίζονται η τιμή-στόχος, η μέση τιμή κοινής αποδοχής για κάθε συστατικό και οι αποκλίσεις του κάθε εργαστηρίου από αυτή.

Για να είναι κατανοητή η έκθεση των αποτελεσμάτων από όλο το προσωπικό των εργαστηρίων, τα αποτελέσματα για κάθε συστατικό παρουσιάζονται με γραφικές παραστάσεις όπως ιστογράμματα, διαγράμματα Levey- Jenning και διαγράμματα Youden.

Ιστόγραμμα κατανομής : Με το διάγραμμα αυτό αποτυπώνεται η διακύμανση του συνόλου των αποτελεσμάτων γύρω από την τιμή-στόχο και η σχετική θέση του κάθε εργαστηρίου ως προς τα υπόλοιπα. Η κάθε στήλη αντιστοιχεί στον αριθμό εργαστηρίων που περιλαμβάνονται σε ένα διάστημα $0,5 \text{ SD}$. Όλες οι στήλες με πράσινο χρώμα καλύπτουν δύο σταθερές αποκλίσεις δεξιά και αριστερά από την τιμή-στόχο, ενώ οι στήλες με το γκριζό χρώμα αντιστοιχούν σε όσα εργαστήρια

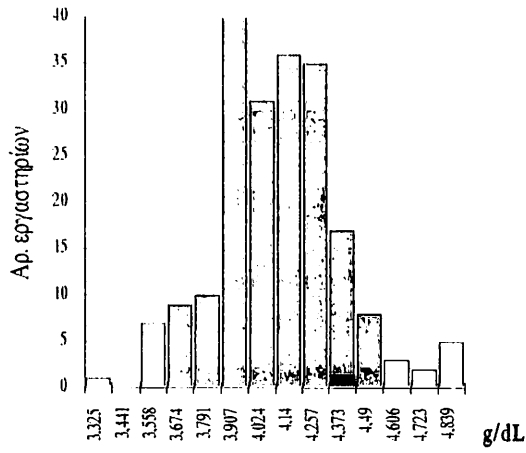
βρίσκονται έξω από τις 2 SD. Το διάγραμμα περιλαμβάνει όλες τις τιμές που βρίσκονται μέσα στις 3,5 SD.

Διάγραμμα Levey-Jennings : Με το διάγραμμα αυτό είναι δυνατή η διαχρονική παρακολούθηση της απόκλισης του εργαστηρίου από την τιμή-στόχο σε όλη την διάρκεια του κύκλου των 12 αποστολών. Σε κάθε αποστολή θα προστίθεται και από ένα σημείο. Το διάγραμμα περιλαμβάνει κάθε αποτέλεσμα που βρίσκεται μέσα στις 3 SD. Η τιμή-στόχος συμβολίζεται από την κεντρική οριζόντια μαύρη γραμμή που περνά από το μηδέν του άξονα ψ.

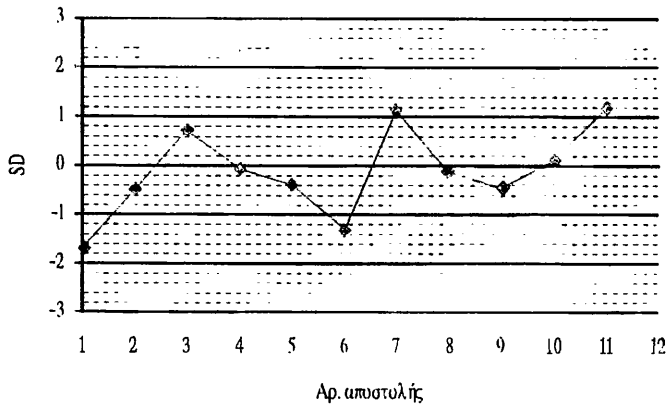
Διάγραμμα Youden : Το διάγραμμα αυτό καλύπτει ένα διάστημα 4 SD. Οι διάφορες κουκίδες μέσα στο διάγραμμα αντιστοιχούν στο ζεύγος των αποτελεσμάτων που στέλνουν τα εργαστήρια για το συγκεκριμένο συστατικό. Το ιδανικό σημείο-ζεύγος αποτελεσμάτων, βρίσκεται στο κέντρο του τετραγώνου το οποίο αποτελεί το σημείο τομής των συντεταγμένων που διέρχονται από την τιμή-στόχο. Επομένως όσο κοντύτερα βρίσκεται ένα σημείο στο κέντρο του τετραγώνου τόσο ακριβέστερα είναι τα αποτελέσματα.

Το ΕΣΕΑΠ λειτουργεί με απόφαση του Κεντρικού Συμβουλίου Υγείας και επίκειται η θεσμοθέτησή του.

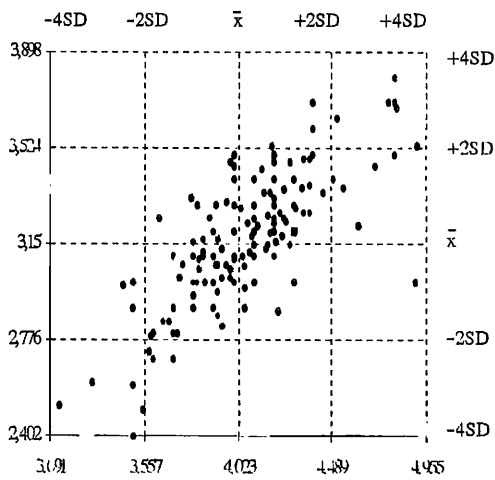
Ιστογράμμο κατανομής ορού Α



Διάγραμμα Levey - Jennings ορού Α



Διάγραμμα Youden (A + B)



• Λογιστική συμμεταβολή

Είναι μια τεχνική για να εκτιμήσουμε την πιθανότητα να συμβαίνει ένα γεγονός. Στην περίπτωση μιας και μόνο ανεξάρτητης μεταβλητής, το μοντέλο της λογιστικής συμμεταβολής μπορεί να γραφτεί ως εξής :

$$\text{πιθαν(να συμβαίνει ένα γεγονός)} = \frac{1}{1 + e^{-(B_0 + B_1 X)}}$$

όπου B_0 και B_1 είναι συντελεστές που προκύπτουν από τα δεδομένα, X είναι η ανεξάρτητη μεταβλητή και e η βάση των φυσικών λογαρίθμων, περίπου 2,718.

Για περισσότερες από μία ανεξάρτητες μεταβλητές η λογιστική συμμεταβολή μπορεί να δοθεί από τον τύπο

$$\text{πιθαν(να συμβαίνει ένα γεγονός)} = \frac{1}{1 + e^{-Z}}$$

όπου Z η γραμμική $Z = B_0 + B_1 X_1 + B_2 X_2 + \dots + B_v X_v$

Η πιθανότητα να μη συμβαίνει ένα γεγονός εκτιμάται ως :

$$\text{Πιθαν(να μη συμβαίνει)} = 1 - \text{Πιθαν(να συμβαίνει)}$$

Η πιθανότητα παίρνει τιμές μεταξύ 0 και 1 ανάλογα με την τιμή του Z .

ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

ΥΠΟΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΤΗΣ HDL ΣΕ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΙΕΣ

ΑΣΘΕΝΕΙΣ

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Χαρακτηριστικά των ασθενών και υγιών

Στο πρώτο μέρος της μελέτης, οι δύο ομάδες, ασθενείς και υγιείς, δεν διέφεραν σημαντικά στην ηλικία και στο δείκτη σωματικού βάρους (BMI). (Πίνακας I) Σύμφωνα με τις συνήθειές τους στο κάπνισμα οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 3 υποκατηγορίες : Ευκαιριακοί (30,4%), πρώην (18,5%) και μη καπνιστές (51,1%).(βλέπε Υλικό και Μέθοδοι)

Όσον αφορά στις υποκατηγορίες των ασθενών και τη φαρμακευτική τους αγωγή, όπως φαίνεται και στον πίνακα, το 36% των ασθενών ήταν υπερτασικοί, 52% έκαναν χρήση β-αναστολέων ενώ 14% από αυτούς ελάμβαναν διουρητικά. Επίσης, δεν υπήρξαν διαφορές στις συνήθειες κατανάλωσης αλκοόλ ανάμεσα στις 2 ομάδες.

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι

Χαρακτηριστικά ασθενών και υγιών που συμμετείχαν στην έρευνα

Χαρακτηριστικά	Ασθενείς	Υγιείς	P
αριθμός	92	50	–
ηλικία	55,5±4,0	54,6 ± 3,5	NS
BMI (kg/m ²)	27,6±2,0	27,9 ± 1,3	NS
μη καπνιστές (%)	47 (51%)	50 (100%)	
πρώην καπνιστές (%)	17 (18,5%)	0	
καπνιστές (%)	28 (30,4%)	0	
υπέρταση (%)	33 (35,9%)	0	
β-αναστολείς (%)	48 (52,2%)	0	
διουρητικά (%)	13 (14,1%)	0	

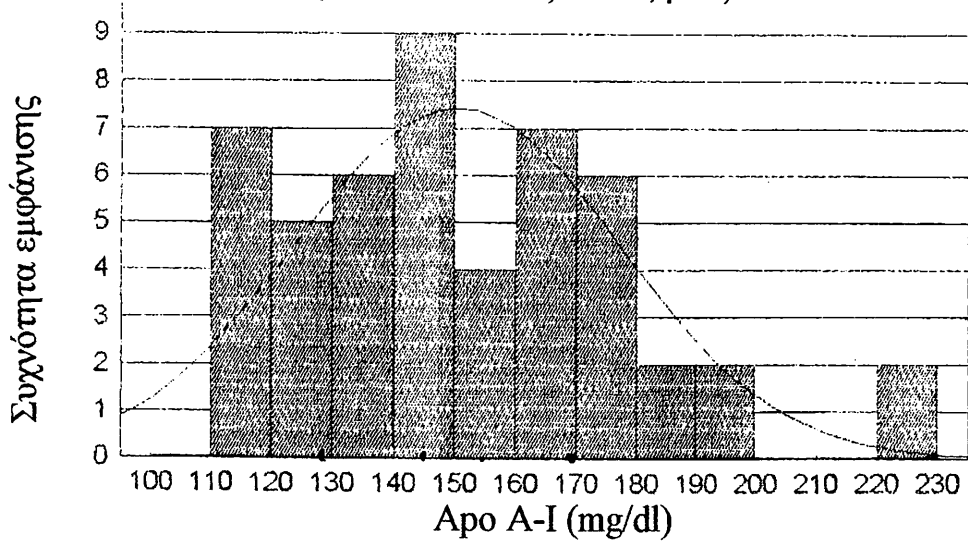
Υποσημείωση : Τα αποτελέσματα για την ηλικία και το δείκτη σωματικού βάρους εκφράζονται σαν μέση τιμή ± τυπική απόκλιση οι συγκρίσεις έγιναν με το Student t-test. P < 0,05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό. NS : μη σημαντικό.

4.2 Επίπεδα λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών

(α) Κατ' αρχάς έγιναν τα ιστογράμματα κατανομής των παραμέτρων σε υγιείς και ασθενείς. Χαρακτηριστικά παραδείγματα φαίνονται στα σχήματα που ακολουθούν.

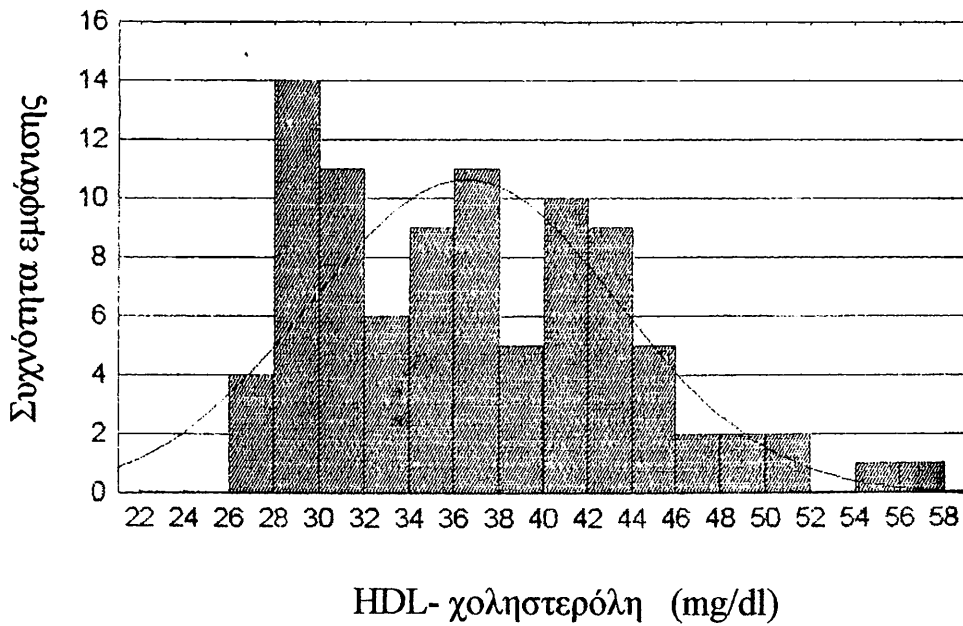
Apo A-I υγιών

Shapiro-Wilk $W=0,92876$, $p<0,0060$



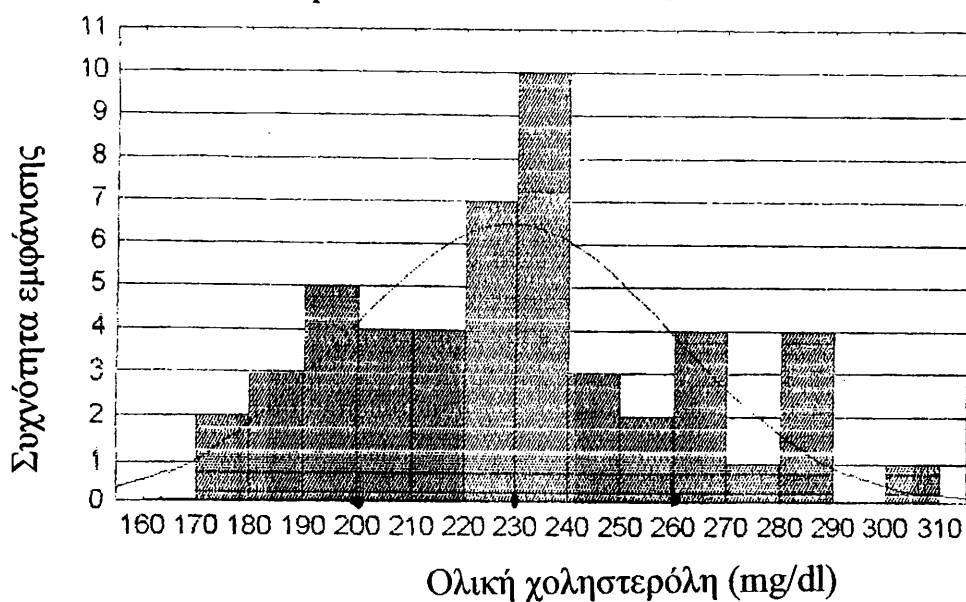
HDL- χοληστερόλη ασθενών

Shapiro-Wilk $W=0,94334$, $p<0,0011$



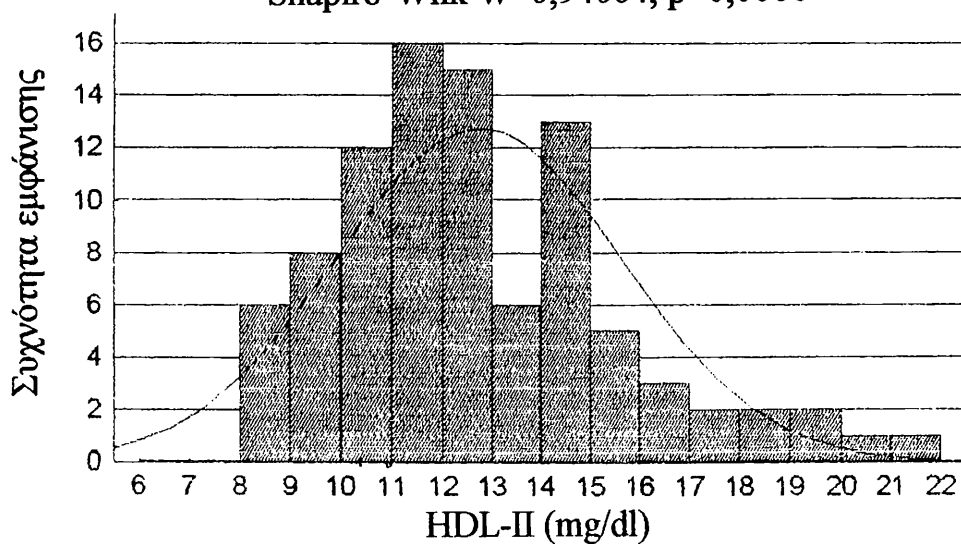
Ολική χοληστερόλη υγιών

Shapiro-Wilk $W=0,97014$, $p<0,3808$

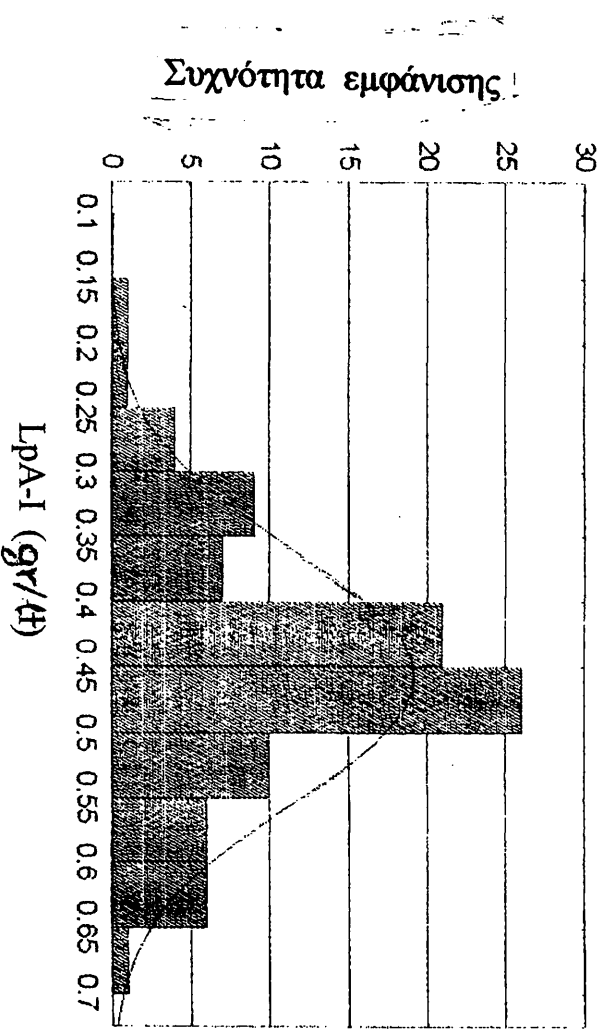


HDL-II ασθενών

Shapiro-Wilk $W=0,94064$, $p<0,0006$

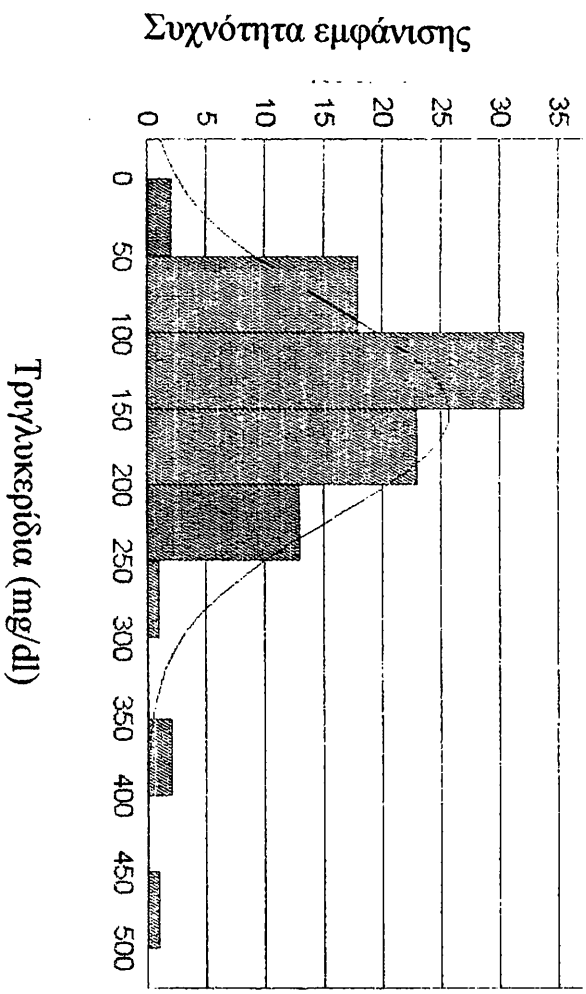


Shapiro-Wilk $W=0,97892$, $p<0,4972$



Τριγλυκερίδια ασθενών

Shapiro-Wilk $W=0,88598$, $p<0,0000$



LPΔ-I υγιών

Οι κατανομές χαρακτηρίστηκαν σαν τύπου Gauss (κανονικές) ή αποκλίνουσες από την κατανομή Gauss (μη κανονικές) με τον έλεγχο Shapiro-Wilk. (Με $p < 0,05$ η κατανομή θεωρήθηκε μη κανονική).

Οι παράμετροι με κανονική κατανομή παρουσιάζονται σαν μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση και στις μη κανονικές παραμέτρους παρουσιάζεται η διάμεση τιμή (20ο έως 80ο εκατοστιμόριο). Όταν και οι δύο παράμετροι είχαν κανονική κατανομή, η σύγκριση έγινε με τον έλεγχο Student t-test. Όταν μία τουλάχιστον ακολουθούσε μη κανονική κατανομή, τότε η σύγκριση έγινε με το μη παραμετρικό Mann -Whitney U test.

(β) Οι λιπιδαιμικές και λιποπρωτεϊνικές παράμετροι καθώς και οι συγκρίσεις μεταξύ ασθενών και υγιών παρουσιάζονται συνολικά στον πίνακα II.

Αρχικά η στατιστική ανάλυση έγινε με σύγκριση των διαφόρων υποκατηγοριών των ασθενών, σύμφωνα με το κάπνισμα, την υπέρταση και τη χρήση διουρητικών ή β-αναστολών. Επειδή δεν παρατηρήθηκε καμμία στατιστικά σημαντική διαφορά σε κάποια λιπιδαιμική παράμετρο των υποομάδων αυτών, όλοι οι ασθενείς στην έρευνα θεωρήθηκαν σαν μία ομάδα. Καμμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε επίσης ανάμεσα σε ασθενείς και υγιείς για τα τριγλυκερίδια, την ολική και την LDL-χοληστερόλη. Μεταξύ των προαθηρογόνων παραγόντων η Lp(a) έδειξε τη μεγαλύτερη διαφορά (Mann-Whitney U test, $z_{adjusted} = -4,41$, $P = 0,00001$). Η ανάλυση συσχέτισης έδειξε ότι η Lp(a) ήταν ανεξάρτητη από τις άλλες λιπιδαιμικές παραμέτρους που μετρήθηκαν και στις δύο ομάδες. Η ApoB, ο άλλος προαθηρογόνος παράγοντας, ήταν σημαντικά υψηλότερος στους εμφραγματίες ασθενείς (Mann-Whitney U test, $z_{adjusted} = -2,48$, $P = 0,013$). Χρησιμοποιώντας για την Apo B τα 150 mg/dl σαν όριο αναφοράς, (το 80ό εκατοστιμόριο για την ομάδα ελέγχου) καταλήξαμε στο ότι οι ασθενείς με ApoB μεγαλύτερη από 150 mg/dl, δεν διέφεραν σημαντικά

στην LDL χοληστερόλη τους συγκρινόμενοι με εκείνους που είχαν ApoB μικρότερη από 150 mg/dl. Παρόλα αυτά, ασθενείς με υψηλά επίπεδα ApoB έδειξαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων ($191,3 \pm 81,5$ mg/dl αντί $124,5 \pm 46,8$ mg/dl, $P=0,0000$ με τον έλεγχο Mann-Whitney) και ολικής χοληστερόλης ($244,2 \pm 34,2$ mg/dl αντί $218,4 \pm 40,5$ mg/dl, $P=0,002$ με το Student t-test).

ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙ

Επίπεδα λιπιδίων, λιποπρωτεϊνών και αποπρωτεϊνών σε ασθενείς και υγιείς

	Ασθενείς	Υγιείς	p
TG (mg/dl)	140,5(97,0-195,0)	127(96,5-175,5)	NS
CHOL (mg/dl)	229,1 ± 39,9	228,8 ± 30,8	NS
LDL-C (mg/dl)	162,2 ± 35,6	158,4 ± 29,8	NS
APO B (mg/dl)	142,0(103,0-166,0)	124,3 ± 31,3	0,013
Lp(a) (mg/dl)	20,8(9,1-50,1)	10,3(8,5-14,8)	0,00001
HDL-C (mg/dl)	36,0(30,0-42,0)	42,0(39,0-47,5)	0,000000
APO A-I (mg/dl)	134,7 ± 29,5	146,0(128,0-173,0)	0,0019

Υποσημείωση : Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέση τιμή ± τυπική απόκλιση για παραμέτρους με κανονική κατανομή ή σαν διάμεσος (20ο-80ο εκατοστιμόριο) για παραμέτρους με μη κανονική κατανομή (Shapiro-Wilk test, $P < 0,05$). Οι συγκρίσεις έγιναν με το Student t-test όταν οι κατανομές και των δύο ομάδων, ασθενών και υγιών, ήταν κανονικές ή με το μη παραμετρικό Mann-Whitney U test υπολογίζοντας το zadjusted. $P < 0,05$ θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό. NS : μη σημαντικό.

4.3 Επίπεδα της HDL και των υποκατηγοριών της

Όσον αφορά στις αντιαθηρογόνους λιποπρωτεϊνικές παραμέτρους, όπως φαίνεται και στον πίνακα II, τα επίπεδα της HDL και της Apo A-I ήταν σημαντικά χαμηλότερα στους ασθενείς (zadjusted = -5,38, P=0,0000 και zadjusted= -3,84, P=0,0019 αντίστοιχα).

Στον πίνακα III, παρουσιάζονται οι υποκατηγορίες της HDL. Όπως η HDL-χοληστερόλη έτσι και οι HDL-II, HDL-III και LpA-I ήταν σημαντικά χαμηλότερες στους ασθενείς. Ανάμεσα στην HDL-χοληστερόλη και στους δείκτες της, η HDL-II έδειξε την μεγαλύτερη διαφορά (zadjusted = -7,41, P=0,0000) συνεισφέροντας περισσότερο από την HDL-III στα χαμηλά επίπεδα της HDL που βρέθηκαν στους ασθενείς. Επίσης η LpA-I έδειξε σημαντική διαφορά (P=0,0001).

ΠΙΝΑΚΑΣ III

Επίπεδα των υποκλασμάτων της HDL σε ασθενείς και υγιείς

	Ασθενείς (n=92)	Υγιείς (n=50)	P
HDL-II (mg/dl)	12,4(10,2-14,8)	17,4(15,5-19,7)	0,000000
HDL-III (mg/dl)	23,7(18,3-28,9)	25,5±3,1	0,033
LpA-I (gr/l)	0,457±0,095	0,520±0,079	0,0001

Υποσημείωση : Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέση τιμή ± τυπική απόκλιση για παραμέτρους με κανονική κατανομή ή σαν διάμεση τιμή (20ο-80ο εκατοστιμόριο) για παραμέτρους με μη κανονική κατανομή (Shapiro-Wilk test, P < 0,05). Οι συγκρίσεις έγιναν με το Student t-test όταν οι κατανομές και των δύο ομάδων, ασθενών και υγιών, ήταν κανονικές και με το μη παραμετρικό Mann-Whitney U test υπολογίζοντας το zadjusted, όταν μία τουλάχιστον κατανομή ήταν μη κανονική. P < 0,05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό.

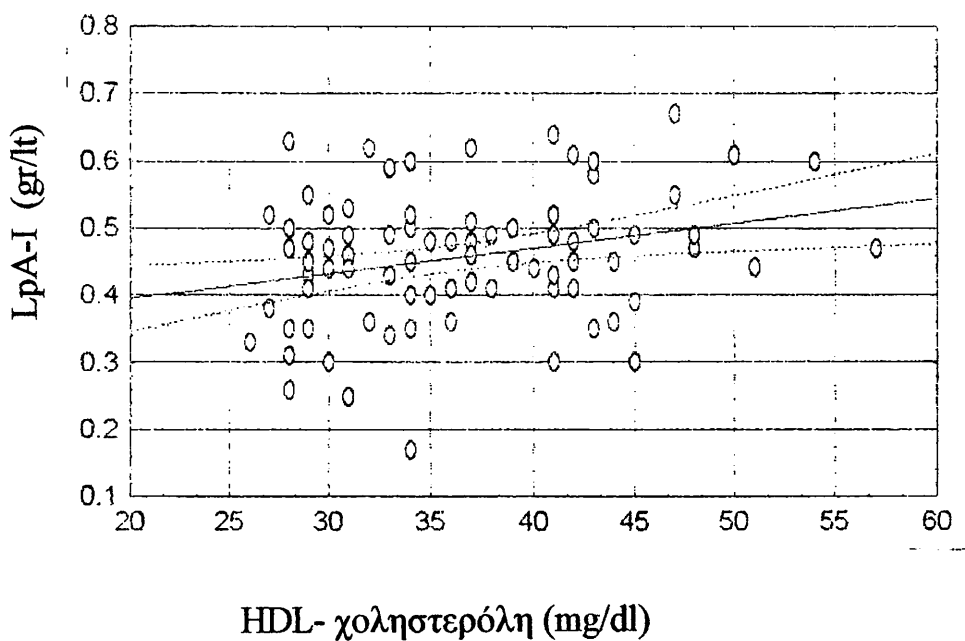
4.4 Συσχέτιση μεταξύ της HDL και των δεικτών της

Στα σχήματα που ακολουθούν, παρουσιάζονται ενδεικτικά οι καμπύλες συσχέτισης των διαφόρων λιπιδαιμικών παραμέτρων και ο συντελεστής συσχέτισης Pearson.

**HDL- χοληστερόλη σε σχέση με την LpA-I
ασθενών**

$$LpA-I = 0,32087 + 0,00373 * HDL\text{-}\chi\omicron\lambda\eta\sigma\tau\epsilon\rho\acute{o}\lambda\eta$$

Συντελεστής συσχέτισης $r = 0,26939$

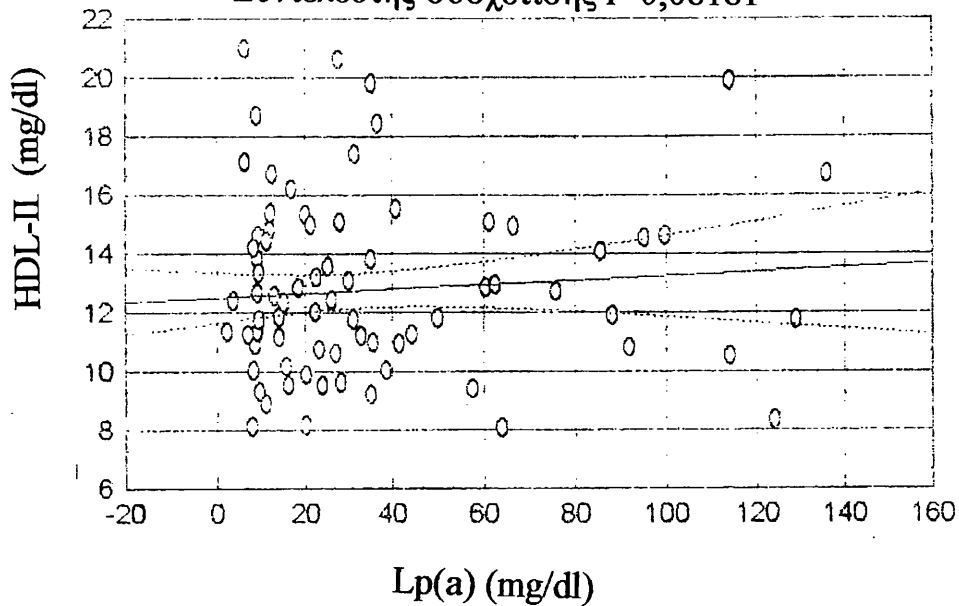


Lp(a) σε σχέση με την HDL-II

υγιών

$$\text{HDL-II} = 12,516 + 0,00738 * \text{Lp(a)}$$

Συντελεστής συσχέτισης $r=0,08181$

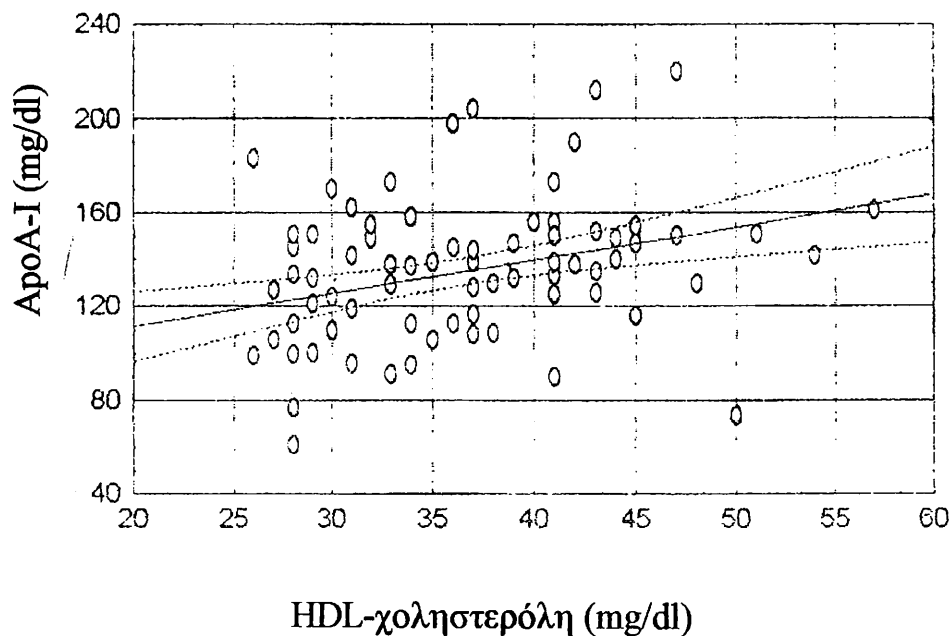


HDL-χοληστερόλη σε σχέση με την ApoA-I

ασθενών

$$\text{Apo A-I} = 83,409 + 1,4046 * \text{HDL-χοληστερόλη}$$

Συντελεστής συσχέτισης $r=0,32806$

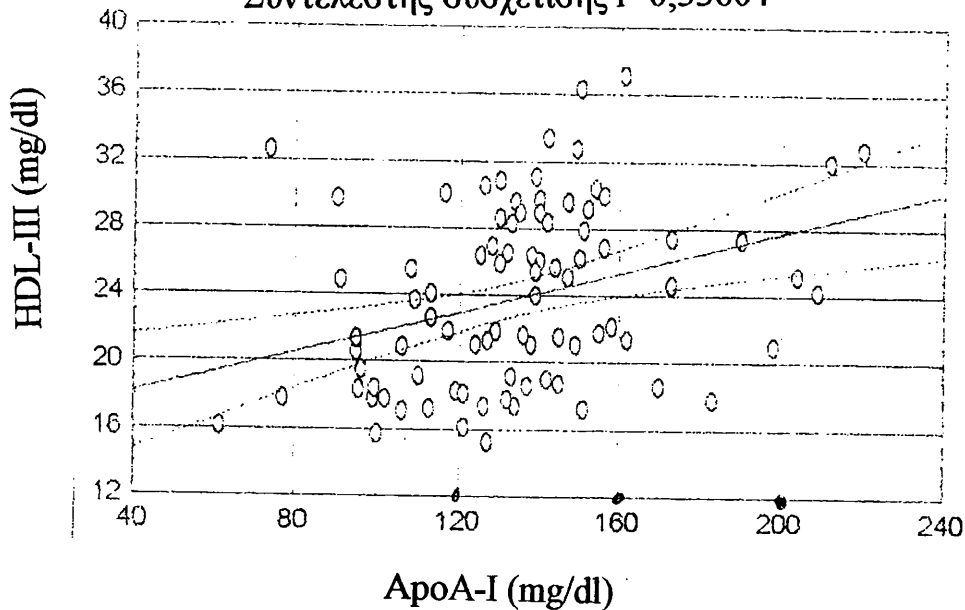


ΑποΑ-I σε σχέση με την HDL-III

ασθενών

$$\text{HDL-III} = 15,772 + 0,05984 * \text{ΑποΑ-I}$$

Συντελεστής συσχέτισης $r=0,33604$

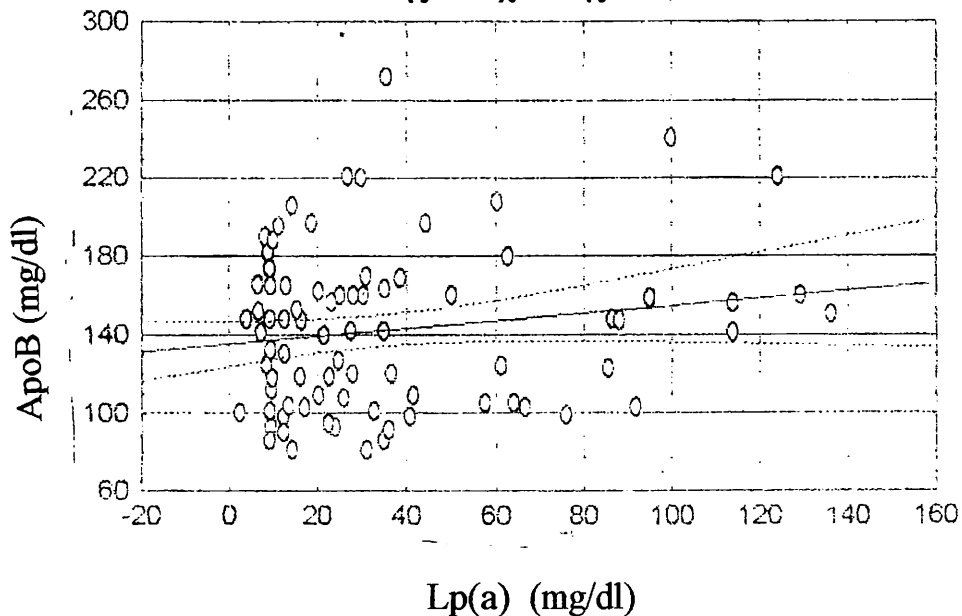


Lp(a) σε σχέση με την ApoB

υγιών

$$\text{ApoB} = 135,33 + 0,19442 * \text{Lp(a)}$$

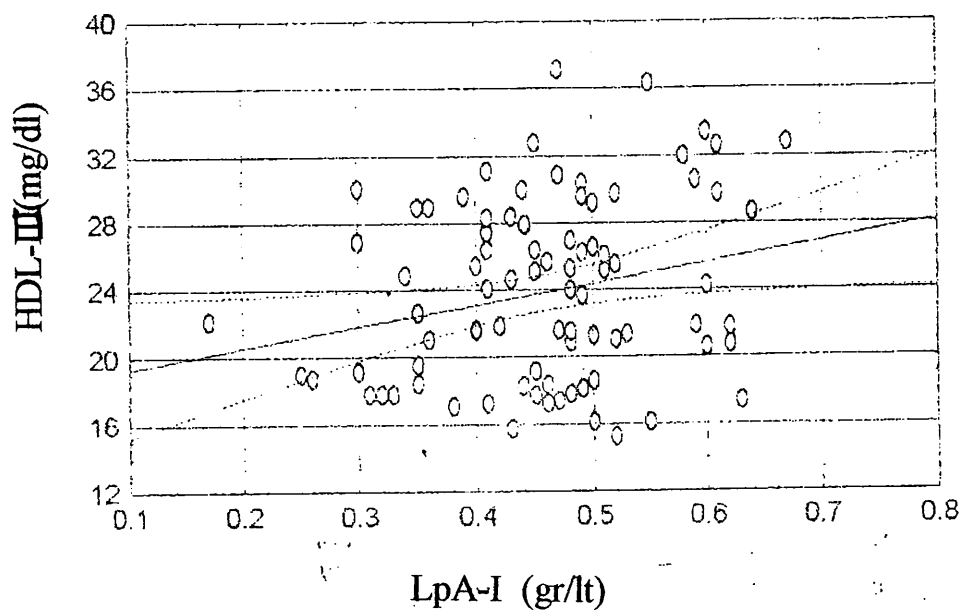
Συντελεστής συσχέτισης $r=0,15797$



**LpA-I σε σχέση με την HDL-III
ασθενών**

$$\text{HDL-III} = 18,070 + 12,608 * \text{LpA-I}$$

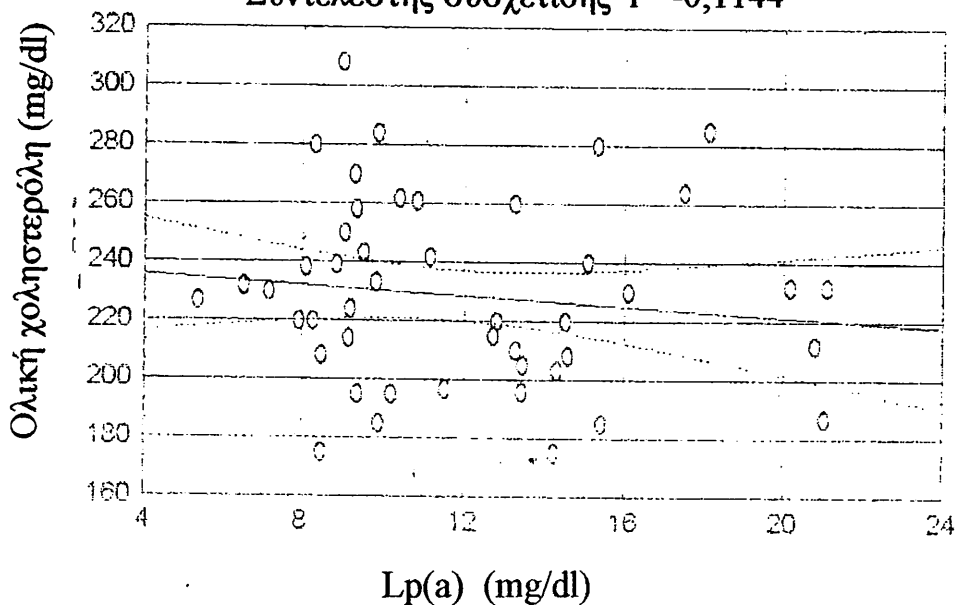
Συντελεστής συσχέτισης $r = 0,22878$



**Lp(a) σε σχέση με την ολική χοληστερόλη
υγιών**

$$\text{Ολική χοληστερόλη} = 239,31 - 0,8876 * \text{Lp(a)}$$

Συντελεστής συσχέτισης $r = -0,1144$



Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον πίνακα IV. Από εκεί φαίνεται ότι η HDL-II σχετίζεται με την HDL καλύτερα στους υγιείς παρά στους ασθενείς, σε αντίθεση με την HDL-III που παρουσιάζει το αντίθετο φαινόμενο.

Επιπλέον, χαμηλά επίπεδα HDL σχετίζονται με χαμηλή ApoA-I στους ασθενείς, κάτι που δεν παρατηρείται στους υγιείς. Η LpA-I δεν έδειξε συσχέτιση με κανένα άλλο δείκτη της HDL και στις δύο ομάδες ενώ η ApoA-I συσχετίστηκε με την HDL-III μόνο στους ασθενείς.

ΠΙΝΑΚΑΣ IV

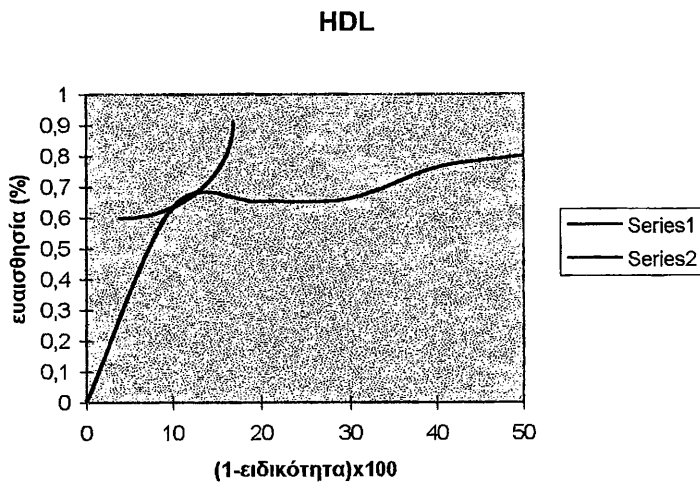
Συσχέτιση της HDL και των δεικτών της

		Ασθενείς	Ασθενείς	Υγιείς	Υγιείς
		r	p	r	p
HDL-C					
	LpA-I	0,269	NS	0,074	NS
	Apo A-I	0,328	0,001	- 0,193	NS
	HDL-II	0,626	0,000	0,781	0,000
	HDL-III	0,923	0,000	0,879	0,000
Lp A-I					
	Apo A-I	0,115	NS	0,006	NS
	HDL-II	0,140	NS	0,167	NS
	HDL-III	0,229	NS	- 0,008	NS
Apo A-I					
	HDL-II	0,165	NS	- 0,275	NS
	HDL-III	0,336	0,001	- 0,061	NS
HDL-II					
	HDL-III	0,77	0,000	0,557	0,000

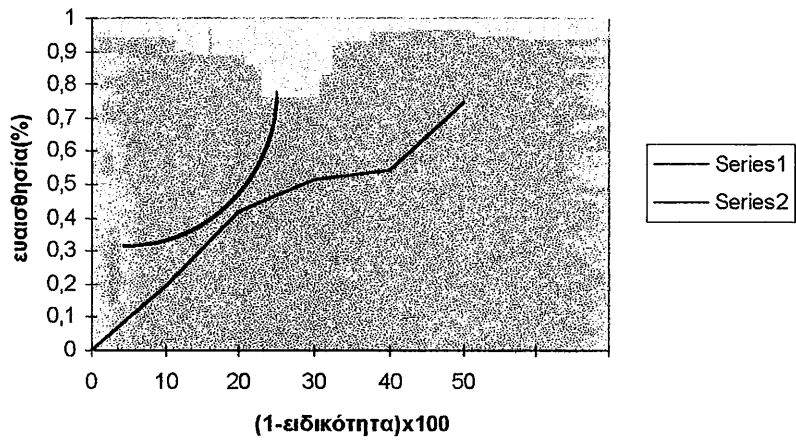
Υποσημείωση : P ≤ 0,001, r : συντελεστής συσχέτισης Pearson, NS : μη σημαντικό.

4.5 Διαγνωστική ευαισθησία των λιπιδαιμικών παραμέτρων

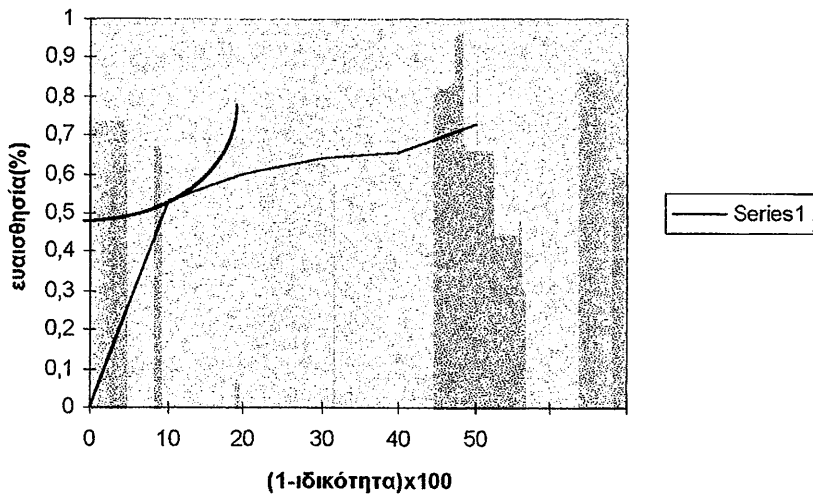
Με σκοπό να εκτιμήσουμε τη διαγνωστική ικανότητα των λιποπρωτεϊνικών παραμέτρων που μετρήθηκαν σε σχέση με το EM, υπολογίστηκε η διαγνωστική ευαισθησία των κλινικών χημικών εξετάσεων που είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ υγιών και ασθενών. Όπως αναφέρθηκε ήδη στη στατιστική ανάλυση, η διαγνωστική ευαισθησία είναι το ποσοστό των ασθενών με θετικό τον έλεγχο χρησιμοποιώντας σαν όριο αναφοράς μεταξύ υγιών και ασθενών αυτό που προκύπτει από τα διαγράμματα ROC.

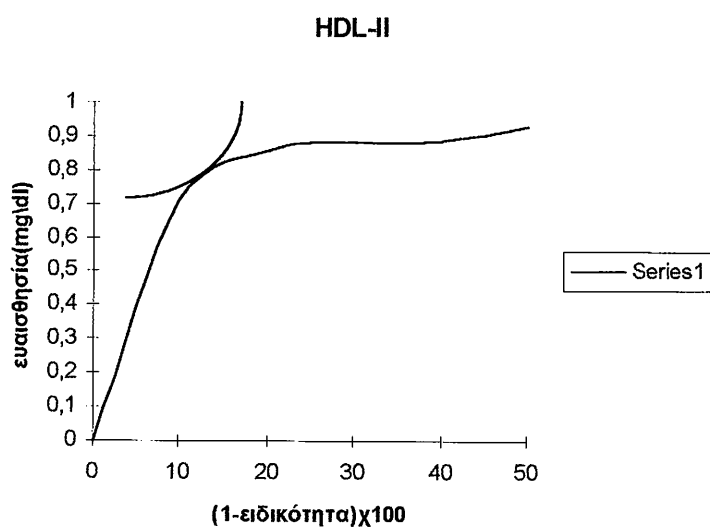
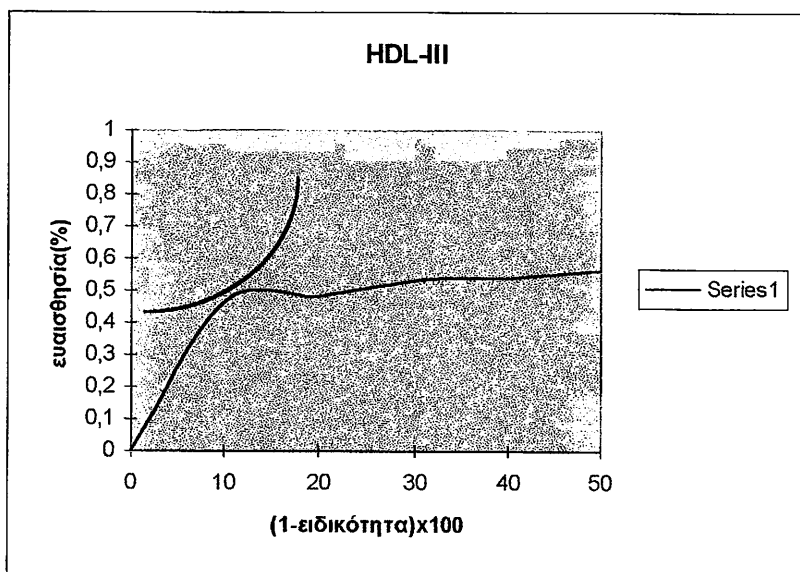


ΑποΒ

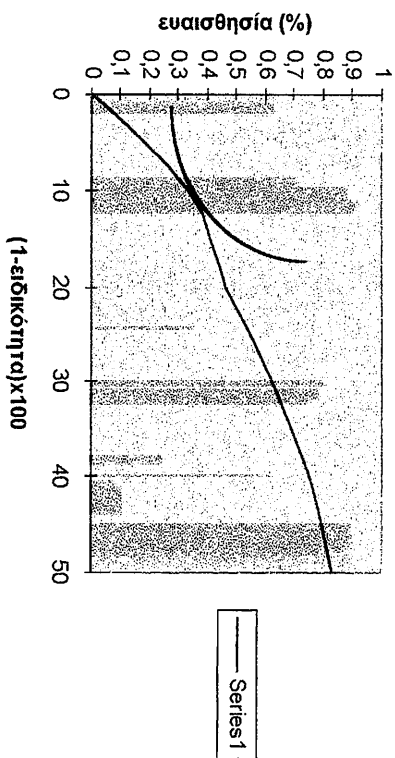


Lp(a)

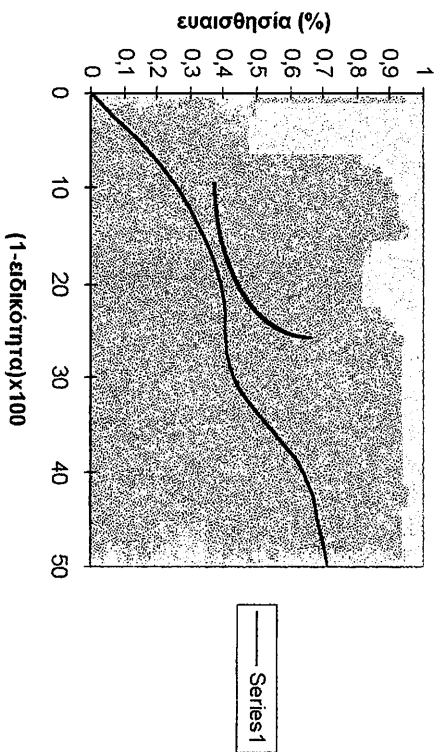




LPΑ-1



ΑποΔ-1



Οι τιμές με τις οποίες έγιναν οι καμπύλες φαίνονται στον πίνακα V.

ΠΙΝΑΚΑΣ V

ΥΓΙΕΙΣ

	εκατοστιμόριο	C (mg/dl)	Διαγν.ευαισθησία
HDL			
	10ο	38	0,6304
	20ο	39	0,6522
	30ο	40	0,6630
	40ο	41	0,7609
	50ο	42	0,7800

APOA-I			
	10ο	117,0	0,2609
	20ο	128,0	0,3913
	30ο	131,0	0,4348
	40ο	141,0	0,6413
	50ο	146,0	0,7065

LPA-I			
	10ο	0,425	0,3370
	20ο	0,455	0,4674
	30ο	0,480	0,6196
	40ο	0,490	0,7500
	50ο	0,520	0,8261

HDL-II			
	10o	14,400	0,7395
	20o	15,465	0,8696
	30o	16,035	0,8804
	40o	16,550	0,8913
	50o	17,420	0,9348

HDL-III			
	10o	21,97	0,4674
	20o	22,86	0,4891
	30o	24,13	0,5326
	40o	24,51	0,5435
	50o	25,10	0,5690

LP(a)			
	90o	17,81	0,5326
	80o	14,82	0,5978
	70o	13,43	0,6413
	60o	12,76	0,6522
	50o	10,29	0,7283

ΑΡΟΒ			
	90ο	166	0,1957
	80ο	150	0,4130
	70ο	142	0,5109
	60ο	135	0,5435
	50ο	133	0,5543

Τα αποτελέσματα των προηγούμενων σχημάτων και του πίνακα V συνοψίζονται στον πίνακα VI.

ΠΙΝΑΚΑΣ VI

Διαγνωστική ευαισθησία των μεθόδων

Έλεγχος	Εκατοστιμόριο	Όριο αναφοράς	Διαγν. Ευαισθ.
HDL-C (mg/dl)	20ο	39	0,6522
Apo A-I (mg/dl)	40ο	141,0	0,6413
LpA-I (gr/lt)	30ο	0,480	0,6196
HDL-II (mg/dl)	15ο	15,00	0,8261
HDL-III(mg/dl)	20ο	22,86	0,4891
Lp(a) (mg/dl)	80ο	14,82	0,5978
ApoB mg/dl	80ο	150	0,4130

Υποσημείωση : Όρια αναφοράς και εκατοστιμόρια υγιών όπως προκύπτουν από τις καμπύλες ROC.

Η HDL-χοληστερόλη έδειξε αυξημένη διαγνωστική ευαισθησία (0,6522 με 39 mg/dl σαν όριο αναφοράς το 20ο εκατοστιμόριο υγιών). Ανάμεσα στους δείκτες HDL, το κλάσμα HDL-II έδειξε τη μεγαλύτερη διαγνωστική ευαισθησία (0,8261 με όριο αναφοράς τα 15mg/dl στο 15ο εκατοστιμόριο υγιών). Όσον αφορά τους προαθηρογόνους παράγοντες η Lp(a) έδειξε τη μεγαλύτερη διαγνωστική ευαισθησία (0,5978 με 14,82 mg/dl σαν όριο αναφοράς το 80ο εκατοστιμόριο υγιών). Τέλος η ApoB έδειξε διαγνωστική ευαισθησία 0,4130 με όριο αναφοράς τα 150 mg/dl το 80ο εκατοστιμόριο των υγιών.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΠΡΩΤΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Τα αποτελέσματα του πρώτου μέρους της μελέτης καταλήγουν στο ότι η HDL - χοληστερόλη είναι ένας πολύ καλός λιπιδαιμικός δείκτης για τη στεφανιαία νόσο σε ασθενείς με κανονικά επίπεδα ολικής χοληστερόλης, LDL- χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων. Χρησιμοποιώντας τα 38 mg/dl σαν όριο αναφοράς, η HDL-χοληστερόλη έδειξε κλινική ευαισθησία 0,6304 σε ασθενείς με παλαιό έμφραγμα του μυοκαρδίου. Είναι γνωστό ότι τα υψηλά επίπεδα HDL-χοληστερόλης αντιπροσωπεύουν ένα προστατευτικό παράγοντα απέναντι στην αθηροσκλήρυνση και τη στεφανιαία νόσο, μέσω της αντίστροφης μεταφοράς χοληστερόλης (βλέπε γενικό μέρος, παρ.5)

Επίσης, μια σειρά δράσεων της HDL, άσχετες με την αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης, θεωρούνται επίσης προστατευτικές για τη στεφανιαία νόσο. Αυτές οι δράσεις περιλαμβάνουν παρεμπόδιση της προσκόλλησης των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο, προστατευτικό ρόλο στην οξείδωση της LDL και αυξημένη απομάκρυνση λιπιδίων από τα αφρώδη κύτταρα.(βλέπε γεν. μέρος, παρ.6.5) Εκτός από την HDL-χοληστερόλη και οι άλλοι δείκτες της ήταν σημαντικά χαμηλότεροι στους εμφραγματίες συγκρινόμενοι με την ομάδα ελέγχου. Τα σωματίδια της HDL-III είναι μικρά, φτωχά σε λιπίδια και προάγουν εκροή χοληστερόλης από τα κύτταρα *in vitro*, ενώ τα HDL-II σωματίδια είναι μεγαλύτερα, πλούσια σε χοληστερόλη που τη μεταφέρουν στο ήπαρ ή σε άλλα κύτταρα για τη σύνθεση ορμονών ή χολικού οξέος. Αν κάποιο από αυτά τα σωματίδια είναι πιο αντιαθηρογόνο δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί. Έτσι, κάποιοι ερευνητές κατέληξαν στο ότι υψηλά επίπεδα της HDL-II είχαν προστατευτικό ρόλο έναντι στο έμφραγμα (203,204) κάτι που δεν αποδείχτηκε από άλλες μελέτες (205,206). Τα

αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η HDL-II είναι καλύτερος δείκτης για τη στεφανιαία νόσο σε ασθενείς με παλαιό έμφραγμα του μυοκαρδίου σχέση με την HDL-III. Αρκετές έρευνες έχουν δείξει ότι ο προσδιορισμός των υποκλασμάτων της HDL δίνει διάφορα αποτελέσματα ανάλογα με την τεχνική του διαχωρισμού που χρησιμοποιήθηκε (υπερφυγοκέντρωση, ηλεκτροφόρηση, εκλεκτική καταβύθιση). Πρέπει όμως να τονίσουμε ότι τα αποτελέσματα της έρευνας μας όσον αφορά τα επίπεδα των HDL-II, HDL-III υπολογισμένα με τη μέθοδο της καταβύθισης, είναι παρόμοια με εκείνα που έχουν δημοσιευτεί χρησιμοποιώντας τη τεχνική της υπερφυγοκέντρωσης (205). Παρόλα αυτά, οι διαφοροποιήσεις των τιμών ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο πρέπει να λαμβάνονται υπόψη στην αξιολόγηση του Κλινικού Χημικού αυτού ελέγχου.

Όσον αφορά τα επίπεδα της ApoA-I, τα αποτελέσματα δείχνουν μια αντίστροφη σχέση με τη στεφανιαία νόσο, μια παρατήρηση που ευνοεί την άποψη ότι τα σωματίδια της HDL πλούσια σε ApoA-I ίσως να αντιπροσωπεύουν το αντιαθηρογόνο κλάσμα της HDL (132,133,134). Είναι σημαντικό να σημειώσουμε ότι στην ομάδα ελέγχου, σύμφωνα με την ανάλυση συσχέτισης, υψηλά επίπεδα της Apo A-I σχετίζονται με χαμηλά επίπεδα HDL-χοληστερόλης και αυτό θα μπορούσε να είναι μία επιπλέον ένδειξη για τον προστατευτικό ρόλο της Apo A-I. Επιπλέον, στην ομάδα ελέγχου, η Apo A-I ήταν εξίσου κατανεμημένη μεταξύ των HDL-II και HDL-III, ενώ στους ασθενείς ήταν καλύτερα συσχετισμένη με την HDL-III. Το εύρημα αυτό υποδεικνύει ότι μια μεγαλύτερη αναλογία της Apo A-I στα σωματίδια της HDL-II ίσως είναι ένας επίσης αντιαθηρογόνος δείκτης.

Ένας μικρός πληθυσμός σωματιδίων με Apo A-I, τα LpA-I, έχουν αναφερθεί σαν πιθανοί δέκτες κυτταρικής χοληστερόλης (βλέπε γεν. μέρος, παρ.6.5). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνάς μας, τα επίπεδα της LpA-I βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα στους ασθενείς σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, παρατήρηση που

επιβεβαιώνει προηγούμενες μελέτες (βλέπε γεν.μέρος, παρ.6.5). Επιπλέον η LpA-I έδειξε υψηλή διαγνωστική ευαισθησία και όπως έδειξε η ανάλυση συσχέτισης, ήταν ένας ανεξάρτητος λιπιδαιμικός παράγοντας και στις δύο ομάδες.

Όσον αφορά τη συσχέτιση της HDL και των δεικτών της με προαθηρογόνους παράγοντες, δεν βρέθηκε καμία αντίστροφη συσχέτιση στην παρούσα μελέτη. Δείξαμε, και σε συμφωνία με άλλες μελέτες (207, 208, 209, 210), ότι η Apo B ίσως είναι καλύτερος λιπιδαιμικός δείκτης για το έμφραγμα του μυοκαρδίου από την ολική χοληστερόλη ή την LDL- χοληστερόλη. Οι ασθενείς της παρούσας μελέτης είχαν αυξημένα επίπεδα Apo B ανεξάρτητα από τα επίπεδα της LDL-χοληστερόλης. Άλλες έρευνες έχουν δείξει ότι η συγκέντρωση της Apo B στην LDL είναι ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση της LDL- χοληστερόλης (211, 212). Η Apo B είναι δηλαδή, ένας καλός δείκτης για τη συγκέντρωση της LDL στο πλάσμα ενώ η LDL- χοληστερόλη είναι λιγότερο αξιόπιστη αφού η χοληστερόλη της LDL πιθανόν να ποικίλει. Μικρά πυκνά σωματίδια της LDL που περιέχουν χαμηλότερα ποσά χοληστερόλης είναι λιγότερο ανθεκτικά στη οξείδωση και θεωρούνται πιο αθηρογόνα (106, 107, 108). Τα παραπάνω εξηγούν γιατί υψηλά επίπεδα της Apo B είναι ένα σήμα κινδύνου για την πρόιμη αθηροσκλήρυνση ενώ μπορεί να μην παρατηρούμε αυξημένη LDL- χοληστερόλη, όπως στην παρούσα μελέτη.

Επιπλέον είναι σημαντικό να παρατηρήσουμε ότι ασθενείς με υψηλά επίπεδα Apo B έδειξαν επίσης υψηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων. Αυτό υποδεικνύει ότι λιποπρωτείνες πλούσιες σε τριγλυκερίδια που περιέχουν Apo B ίσως να είναι αθηρογόνες και ότι η μέτρηση της Apo B να είναι σημαντική σε ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαιμία και κανονική LDL- χοληστερόλη (213).

Όσον αφορά τέλος την Lp(a), τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν ότι είναι ένας ανεξάρτητος δείκτης στεφανιαίας νόσου (214, 215, 216, 217). Η Lp(a) έδειξε επίσης υψηλή διαγνωστική ευαισθησία.

Συνοψίζοντας :

- Ο προσδιορισμός της HDL- χοληστερόλης είναι ίσως ο πιο σημαντικός δείκτης για τη στεφανιαία νόσο σε ασθενείς με κανονικά επίπεδα τριγλυκεριδίων και χοληστερόλης.
- Ανάμεσα στις υποκατηγορίες της HDL το κλάσμα HDL-II, μετρημένο με τη μέθοδο της καταβύθισης, έδειξε τη μεγαλύτερη διαγνωστική ευαισθησία για τους εμφραγματίες ασθενείς, αλλά θα πρέπει για την αξιολόγησή του να λαμβάνουμε υπόψιν μας και τη μέθοδο προσδιορισμού του. (βλέπε σχόλιο, σελ 130)
- Η LpA-I μοιάζει να είναι ανεξάρτητος και αρκετά σημαντικός δείκτης για το έμφραγμα του μυοκαρδίου.
- Αυξημένη ποσότητα ApoA-I στην HDL-II ίσως δρα προστατευτικά για τη στεφανιαία νόσο.
- Όσον αφορά τους προαθηρογόνους δείκτες, ο συνδυασμός υψηλών επιπέδων Apo B και τριγλυκεριδίων σε ασθενείς με κανονική LDL-χοληστερόλη, δείχνει πολύτιμος στη διάγνωση πρόωρης στεφανιαίας νόσου.

ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΥΠΟΚΛΑΣΜΑΤΑ ΤΗΣ LDL ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΣΕ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΙΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.1 Χαρακτηριστικά και λιπιδαιμικές παράμετροι ασθενών και υγιών.

Όπως αναφέραμε και στον σκοπό της μελέτης, εκτός από τις υποκατηγορίες της HDL μελετήσαμε και τα υποκλάσματα της LDL σαν παράγοντα κινδύνου του εμφράγματος του μυοκαρδίου. Σε αυτό μας οδήγησαν και τα αποτελέσματα του πρώτου μέρους της μελέτης, που έδειξαν ότι η ApoB των ασθενών ήταν αυξημένη ανεξάρτητα από την LDL -χοληστερόλη.

Το δείγμα της μελέτης φαίνεται στον πίνακα VII. Ασθενείς με παλαιό έμφραγμα του μυοκαρδίου και υγιείς ήταν παρόμοιας ηλικίας. Οι ασθενείς είχαν σημαντικά υψηλότερο δείκτη σωματικού βάρους και παρουσίαζαν αθηρογόνο λιπιδαιμικό προφίλ σε σχέση με τους υγιείς. Είχαν υψηλότερη ολική και LDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια ενώ η HDL- χοληστερόλη τους ήταν σημαντικά χαμηλότερη. Ανάμεσα στους ασθενείς, οι καπνιστές και εκείνοι που έκαναν χρήση των β-αναστολών, σε αντίθεση με το ζευγάρι ασθενείς/υγιείς του πρώτου μέρους, έδειξαν ένα πιο αθηρογόνο λιπιδαιμικό παρουσιαστικό. Είναι σημαντικό να παρατηρήσουμε ότι οι ασθενείς που δεν κάπνιζαν, ούτε χρησιμοποιούσαν β-αναστολείς δεν διέφεραν σημαντικά από την ομάδα ελέγχου στα χαρακτηριστικά τους και στις λιπιδαιμικές παραμέτρους που μετρήθηκαν.

ΠΙΝΑΚΑΣ VII : Χαρακτηριστικά και λιπιδαιμικό προφίλ της ομάδας ελέγχου, των ασθενών και των υποομάδων τους.

	Ασθενείς					
	Υγιείς (n=26)	όλοι (n=26)	με β- αναστολείς (n=16)	χωρίς β- αναστολείς (n=10)	καπνιστές (n=11)	μη καπνιστές (n=15)
ηλικία	55,2±3,7	56,0±3,8	56,2±3,3	55,7±4,7	56,6±3,0	55,5±4,3
BMI	25,8±0,8	27,7±3,1**	28,7±3,5°	26,0±0,4	29,8±3,7••	26,1±0,5
ολική ΧΣ	213±37	237±22**	245±22°	225±16	248±37•	230±24
LDL-ΧΣ	152±34	175±21**	181±23°	165±14	185±14•	168±23
τριγλυκερίδια	101(90-128)	130(112-166)**	159(133-176)°°	114(105-119)	160(155-176)••	114(11-136)
HDL-ΧΣ	37(35-46)	33(30-40)*	32(30-37)°	39(32-42)	30(30-32)••	39(33-42)

Υποσημείωση : Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέση τιμή ± τυπική απόκλιση για μεταβλητές με κανονική κατανομή, ή σαν διάμεση τιμή (20ο-80ο εκατοστιμόριο) για μεταβλητές με μη κανονική κατανομή (έλεγχος Shapiro-Wilk, $P < 0,05$). Οι συγκρίσεις έγιναν με το Student's t-test όταν και οι δύο κατανομές ήταν κανονικές, ή με το μη παραμετρικό Mann-Whitney U test όταν μία τουλάχιστον κατανομή ήταν μη κανονική. * $P < 0,05$, ** $P < 0,006$ για τη σύγκριση με τους υγιείς. ° $P < 0,05$, °° $P < 0,006$ για σύγκριση με ασθενείς χωρίς β- blockers. • $P < 0,05$, •• $P < 0,006$ για τη σύγκριση με τους μη καπνιστές. Ηλικία : σε χρόνια, BMI : δείκτης σωματικού βάρους σε Kg/m^2 , ολική ΧΣ: ολική χοληστερόλη σε mg/dl , LDL-ΧΣ : LDL- χοληστερόλη σε mg/dl , HDL-ΧΣ : HDL-χοληστερόλη σε mg/dl , τριγλυκερίδια σε mg/dl .

6.2 Κατανομή της μάζας των LDL υποκλασμάτων σε ασθενείς και υγιείς

Όπως φαίνεται στον πίνακα VIII, οι ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς είχαν σημαντικά μεγαλύτερη μάζα καθώς και ποσοστό του πυκνού κλάσματος LDL-III και χαμηλότερη μάζα και ποσοστό του λιγότερο πυκνού LDL-I. Το ενδιάμεσο κλάσμα LDL-II, που επικρατούσε και στις δύο ομάδες, δεν διέφερε σημαντικά ανάμεσα σε υγιείς και ασθενείς. Οι καπνιστές είχαν σημαντικά υψηλότερη μάζα και ποσοστό από το κλάσμα LDL-III συγκρινόμενοι με τους μη καπνιστές. Επίσης οι ασθενείς με β-αναστολείς έδειξαν να έχουν χαμηλότερο ποσοστό του LDL-I.

ΠΙΝΑΚΑΣ VIII

Μάζα και κατανομή των υποκλασμάτων LDL στην ομάδα ελέγχου, στους ασθενείς και στις υποομάδες τους.

	Ασθενείς			
	Υγιείς (n=26)	όλοι (n=26)	β-αναστολείς (n=16)	χωρίς β- αναστολείς (n=10)
LDL-I(mg/dl)	58(45-76)	32(28-42)***	32(27-37)	33±8 (n=11)
LDL-I (%)	28,0 (24,1-37,2)	15,3±4,0***	14,3 (11,8-16,1) ^ο	14,4 (11,8-18,2)
LDL-II(mg/dl)	90±30	93(81-124)	88(80-125)	84(71-95)●
LDL-II (%)	47,0±10,6	44,6±10,3	41,9±11,6	38,2±10,8●●
LDL-III(mg/dl)	32(22-57)	82 (67-127)***	101±31 ^ο	108±30●
LDL-III (%)	19,8±6,9	36,2 (31,0-52,8)***	45,3 (30,6-37,7)	46,5 (40,7-56,5)●
				32,9 (30,4-37,7)***

Υποσημείωση : Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέση τιμή ± τυπική απόκλιση για μεταβλητές με κανονική κατανομή, ή σαν διάμεση τιμή(20ο-80ο) εκατοστημόριο για μεταβλητές με μη κανονική κατανομή(έλεγχος Shapiro-Wilk, P<0,05). Οι συγκρίσεις έγιναν με το Student t-test όταν και οι δύο κατανομές ήταν κανονικές, αλλιώς χρησιμοποιήθηκε το μη παραμετρικό Mann-Whitney U test. *P<0,05, **P<0,005, ***P<0,000 για σύγκριση με υγιείς. ^οP<0,005 για σύγκριση με ασθενείς χωρίς β-αναστολείς. ●P<0,005, ●●P<0,005 για σύγκριση με μη καπνιστές.

6.3 Συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού της μάζας LDL και άλλων παραμέτρων.

Εξετάστηκε η συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού της μάζας των LDL υποκλασμάτων και των άλλων παραμέτρων και στις δύο ομάδες καθώς και στις υποομάδες των ασθενών. Η ανάλυση συσχέτισης έγινε όπως και στο πρώτο μέρος της μελέτης. Μια ισχυρή θετική συσχέτιση παρουσιάστηκε μεταξύ του ποσοστού της LDL-III και των τριγλυκεριδίων ή του δείκτη σωματικού βάρους στην υποομάδα των ασθενών που έκαναν χρήση των β-αναστολέων. ($R=0,75$, $P<0,001$ και $R=0,73$, $P<0,001$ για τα τριγλυκερίδια και το δείκτη σωματικού βάρους αντίστοιχα). Καμμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση δεν ανιχνεύθηκε στην ομάδα ελέγχου ή σε κάποια άλλη υποομάδα των ασθενών.

6.4 Το LDL-III υποκλάσμα σαν παράγοντας κινδύνου για το έμφραγμα του μυοκαρδίου

Με τη μέθοδο πολλαπλής λογιστικής συμμεταβολής υπολογίσαμε τον παράγοντα κινδύνου σαν λόγο πιθανότητας (odds ratio). Κατηγοριοποιήσαμε το ποσοστό LDL-III % σαν : αυξημένο (μεγαλύτερο από το 95ο εκατοστημόριο των υγιών), σε σχέση με αυξημένο δείκτη σωματικού βάρους και σε σχέση με αυξημένα τριγλυκερίδια (πάνω από 150 mg/dl).

Στους πίνακες που ακολουθούν φαίνεται η ανάλυση της πολλαπλής λογιστικής συμμεταβολής. Β είναι ο συντελεστής συμμεταβολής, df οι βαθμοί ελευθερίας, P η σημαντικότητα και R ο συντελεστής συσχέτισης Pearson.

1. Αυξημένη LDL-III παρουσία υψηλού BMI σαν παράγοντας κινδύνου για το έμφραγμα του μυοκαρδίου

Μεταβλητές συμμεταβολής της εξίσωσης

Μεταβλητή συμμεταβολής	Συντελεστής συμμεταβολής	SE	Wald	df	p	συντελεστής συσχέτισης r
LDL-III	1,8336	0,5722	10,2670	1	0,0014	0,3386
BMI	0,7402	0,5814	1,6211	1	0,2029	0,0000
σταθερά	-18,4796	15,0304	1,5116	1	0,2189	

Όριο εμπιστοσύνης : 95%

Μεταβλητή συμμεταβολής	Παράγ. Κινδύνου	κατώτερη τιμή	ανώτερη τιμή
LDL-III	6,2563	2,0381	19,2051
BMI	2,0964	0,6708	6,0515

2. Αυξημένη LDL-III παρουσία αυξημένων τριγλυκεριδίων σαν παράγοντας κινδύνου για το έμφραγμα του μυοκαρδίου

Μεταβλητές συμμεταβολής της εξίσωσης

Μεταβλητή συμμεταβολής	Συντελεστής συμμεταβολής	SE	Wald	df	p	Συντελεστής συσχέτισης r
LDL-III	1,9391	0,5631	11,8579	1	0,0006	0,3698
TG	-0,5384	1,0109	0,2837	1	0,5943	0,0000
σταθερά	1,2652	0,9363	1,8260	1	0,1766	

Όριο εμπιστοσύνης 95%

Μεταβλητή	Παράγ. Κινδύνου	Κατώτερη τιμή	Ανώτερη τιμή
LDL-III	6,9523	2,3058	20,9625
TG	0,5837	0,0805	4,2329

3. Αυξημένη LDL-III παρουσία αυξημένων τριγλυκεριδίων και υψηλού BMI σαν παράγοντας κινδύνου για το έμφραγμα του μυοκαρδίου
Μεταβλητές συμμεταβολής της εξίσωσης

Μεταβλητή συμμεταβολής	Συντελεστής συμμεταβολής	SE	Wald	df	p	Συντελεστής συσχέτισης r
LDL-III	1,8311	0,5759	10,1102	1	0,0015	0,3354
TG	-0,4334	1,1588	0,1399	1	0,7084	0,0000
BMI	0,7474	0,5835	1,6407	1	0,2002	0,0000
σταθερά	-18,2873	15,0427	1,4770	1	0,2241	

Όριο εμπιστοσύνης 95%

Μεταβλητή	Παράγ. Κινδύνου	Κατώτερη τιμή	Ανώτερη τιμή
LDL-III	6,2408	2,0186	19,2943
TG	0,6483	0,0669	6,2830
BMI	2,1116	0,6728	6,6265

Τα αποτελέσματα, συνοψίζονται στον πίνακα ΙΧ σαν λόγος πιθανότητας (παράγοντας κινδύνου) για αυξημένο ποσοστό LDL-III %. Περιλαμβάνοντας τα τριγλυκερίδια και το δείκτη σωματικού βάρους στο λογιστικό μοντέλο, ο κίνδυνος μειώθηκε μόνο ελαφρά. Οι άλλες παράμετροι δεν είχαν καμμία επίδραση στη σχέση αυτή.

Έτσι μπορούμε να πούμε ότι το υψηλό ποσοστό της LDL-III στη μελέτη αυτή, έδειξε να είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για το Ε.Μ από τις παραμέτρους που μετρήθηκαν, και είναι μεγαλύτερος από τον παράγοντα κινδύνου των τριγλυκεριδίων, του δείκτη σωματικού βάρους ή της ολικής χοληστερόλης.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΧ

Ο σχετικός κίνδυνος του υψηλού ποσοστού της κατηγοριοποιημένης LDL-III σε σχέση με το έμφραγμα μυοκαρδίου.

Παράμετροι συμμεταβολής	Λόγος πιθανότητας	95% όριο εμπιστοσύνης
καμμία	7,5	2,5 - 22,1
BMI	6,3	2,0 - 19,2
τριγλυκερίδια	7,0	2,3 - 21,0
BMI και τριγλυκερίδια	6,2	2,0 - 19,3
κάπνισμα	6,1	2,0-18,9

Επίσης, στον πίνακα που ακολουθεί φαίνεται ο σχετικός κίνδυνος των αυξημένων τριγλυκεριδίων, της υψηλής χοληστερόλης και της χαμηλής HDL σε σχέση με το έμφραγμα του μυοκαρδίου.

ΠΙΝΑΚΑΣ Χ

Ο σχετικός κίνδυνος των υψηλών επιπέδων χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων και της μειωμένης HDL σε σχέση με το έμφραγμα του μυοκαρδίου.

	Παράμετροι συμμεταβολής	Λόγος πιθανότητας	95% εμπιστοσύνης	Όριο
Υψηλά TG	καμμία	2,2	1,1-4,5	
Αυξημένη ΧΣ	καμμία	2,5	1,4-4,6	
Χαμηλή HDL	καμμία	1,9	1,1-4,3	

Υποσημείωση : Λόγος πιθανότητας και 95% όριο εμπιστοσύνης υπολογισμένα με την πολλαπλή λογιστική συμμεταβολή. BMI : δείκτης σωματικού βάρους.

6.5 Χημική σύσταση των υποκλασμάτων LDL σε υγιείς και ασθενείς.

Η υπερφυγοκεντρική παρασκευή των υποκλασμάτων της LDL, σε αντίθεση με την μέθοδο της ηλεκτροφόρησης, επιτρέπει τη μελέτη της χημικής τους σύστασης (βλέπε Υλικό και Μέθοδοι, σελ 93). Η χημική σύσταση των υποκλασμάτων της LDL φαίνεται στον πίνακα X. Στους ασθενείς δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στις υποκατηγορίες τους και έτσι στον πίνακα παρουσιάζονται σαν μία ομάδα. Όσον αφορά το κλάσμα LDL-I, οι ασθενείς έδειξαν υψηλότερα ποσοστά τριγλυκεριδίων και φωσφολιπιδίων ενώ εμφάνισαν μικρότερο ποσοστό χοληστερόλης.

Επίσης οι ασθενείς είχαν σημαντικά αυξημένο ποσοστό τριγλυκεριδίων στο LDL-II. Όσον αφορά το πυκνό κλάσμα της LDL, το LDL-III, οι ασθενείς εμφάνισαν αυξημένο ποσοστό φωσφολιπιδίων.

ΠΙΝΑΚΑΣ XI

Η σύνθεση των LDL υποκλασμάτων σε υγιείς και ασθενείς

		ΥΓΙΕΙΣ	ΑΣΘΕΝΕΙΣ	ΤΙΜΗ P
LDL-I	χοληστερόλη %	50,3 ± 2,0	48,6 ± 0,6	0,000
	τριγλυκερίδια %	4,1 ± 0,2	4,4 ± 0,1	0,000
	φωσφολιπίδια %	20,6 ± 1,3	21,5 ± 0,3	0,002
	πρωτεΐνη %	25,0 ± 2,4	25,4 ± 0,5	NS

LDL-II	χοληστερόλη %	48,2 ± 2,5	48,1 ± 0,5	NS
	τριγλυκερίδια %	4,2 ± 0,2	4,4 ± 0,1	0,000
	φωσφολιπίδια %	20,9 ± 0,9	21,1 ± 0,3	NS
	πρωτεΐνη %	26,4 (25,9-27,6)	26,4 ± 0,6	NS

LDL-III	χοληστερόλη %	44,0(42,2-46,2)	43,6 ± 1,5	NS
	τριγλυκερίδια %	5,9 (5,7-6,3)	5,9 ± 0,2	NS
	φωσφολιπίδια %	18,1 (17,5-18,3)	19,5 ± 0,7	0,000
	πρωτεΐνη %	32,2 (29,1-34,0)	31,1 ± 1,4	NS

Υποσημείωση : Τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέση τιμή ± τυπική απόκλιση για παραμέτρους με κανονική κατανομή και σαν διάμεση τιμή (20ο-80ο εκατοστιμόριο) για παραμέτρους με μη κανονική κατανομή. P < 0,05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό. NS μη σημαντικό.

7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΔΕΥΤΕΡΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Τα αποτελέσματα του δεύτερου μέρους της μελέτης, σε συμφωνία με την υπόθεση εργασίας που κάναμε από το πρώτο μέρος, έδειξαν ότι οι εμφραγματίες ασθενείς έχουν ένα πλεόνασμα μικρών και πυκνών σωματιδίων LDL στο πλάσμα τους. Παρά τη μεγάλη ποικιλία στον καθορισμό των διαφορετικών σωματιδίων της LDL οι έρευνες μέχρι τώρα επιμένουν ότι ένα πλεόνασμα μικρών και πυκνών σωματιδίων LDL σχετίζεται με στεφανιαία νόσο. (βλέπε Γενικό Μέρος, σελ 56)

Η κατανομή των LDL υποκλασμάτων επηρεάζεται σημαντικά από διάφορους παράγοντες. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν, σε συμφωνία με άλλες έρευνες, ότι ασθενείς που έκαναν χρήση β-αναστολέων είχαν μια σημαντικά χαμηλότερη αναλογία της LDL-I και σημαντικά υψηλή μάζα LDL-III, σε σχέση με ασθενείς που δεν ελάμβαναν τα παραπάνω φάρμακα (218, 219, 220). Επιπλέον ασθενείς που ήταν καπνιστές πριν το έμφραγμα είχαν σημαντικά υψηλότερο ποσοστό και μάζα LDL-III από τους μη καπνιστές. Σε μια πρόσφατη έρευνα το κάπνισμα συνδέεται με αυξημένη LDL- χοληστερόλη και τριγλυκερίδια σε νορμολιπιδαιμικά άτομα (221). Στην ομάδα των ασθενών με β-αναστολείς, το ποσοστό της LDL-III ήταν θετικά συσχετισμένο με τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων και το δείκτη σωματικού βάρους.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι αυξημένη παρουσία μικρών και πυκνών LDL σωματιδίων δεν είναι ανεξάρτητος δείκτης κινδύνου για τη στεφανιαία νόσο (104, 218, 219, 222). Μετά από ρύθμιση με άλλους παράγοντες κινδύνου, τα τριγλυκερίδια ειδικά, ο σχετικός κίνδυνος μειωνόταν. Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι ασθενείς που δεν έκαναν χρήση των β-αναστολέων και οι μη καπνιστές, διέφεραν σημαντικά από τους υγιείς μόνο στην κατανομή των LDL υποκλασμάτων και ο σχετικός κίνδυνος του υψηλού ποσοστού της

LDL-III δεν επηρεαζόταν από τα τριγλυκερίδια και το δείκτη σωματικού βάρους σημαντικά. Τα παραπάνω υποδεικνύουν ότι αυξημένη αναλογία μικρών και πυκνών LDL σωματιδίων είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για τη στεφανιαία νόσο στην παρούσα μελέτη. Άλλες δύο έρευνες έχουν επίσης δείξει ότι ο κίνδυνος της στεφανιαίας νόσου είναι ανεξάρτητος από τη συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων (102, 223).

Τα υποκλάσματα της LDL δημιουργούνται από δύο ξεχωριστές μεταβολικές διεργασίες που ρυθμίζονται από τα τριγλυκερίδια. Σε χαμηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων οι LDL-I και LDL-II αντιπροσωπεύουν το κυριότερο είδος της LDL. Αυτές παράγονται από μικρή VLDL σχετικά φτωχή σε τριγλυκερίδια. Η σύνθεση της LDL από την άλλη διεργασία σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων. Στην περίπτωση αυτή, το κλάσμα της LDL-II μειώνεται με μία αντίστοιχη αύξηση του LDL-III κλάσματος. Στη διεργασία αυτή, αυξημένη παραγωγή μεγάλων πλούσιων σε τριγλυκερίδια VLDL μπορούν να αυξήσουν μέσω της πορείας αυτής, τα μικρά πυκνά σωματίδια της LDL και με τη CETP και τη ηπατική λιπάση τα μεγαλύτερα LDL-II σωματίδια μετατρέπονται στα μικρότερα LDL-III.

Η κύρια μεταβολική διεργασία της ομάδας των υγιών ήταν η πρώτη, το ποσοστό της LDL-III ήταν χαμηλό και παρατηρήθηκε μια αντίστροφη σχέση των LDL-I και LDL-II. Σε αντίθεση όμως, στους ασθενείς η κύρια διεργασία ήταν η δεύτερη. Το υψηλό ποσοστό της LDL-III, η θετική σχέση της με τα τριγλυκερίδια στους ασθενείς με β-αναστολείς και η αντίστροφη σχέση της με την LDL-II ήταν τα χαρακτηριστικά αυτής της ομάδας. Οι διαφορές του μεταβολικού συστήματος μέσα στο οποίο συντέθηκε η LDL ασθενών και υγιών εξηγεί τις διαφορές στην χημική σύσταση των υποκλασμάτων. Τα υποκλάσματα LDL-I και LDL-II των

ασθενών που προήλθαν από λιποπρωτείνες πλουσιότερες σε τριγλυκερίδια από ότι των υγιών, είχαν σημαντικά υψηλότερο ποσοστό τριγλυκεριδίων.

Σημαντικό εύρημα ήταν το υψηλότερο ποσοστό φωσφολιπιδίων στα σωματίδια της LDL-III στους ασθενείς. Η περίσσεια της μεταφοράς εστέρων χοληστερόλης και των προιόντων της λιπόλυσης στην LDL-III κατά το σχηματισμό της μπορεί να εξηγεί αυτήν την παρατήρηση.

Κάποιοι βασικοί λόγοι που κάνουν τα μικρά και πυκνά σωματίδια της LDL-III πιο αθηρογόνα είναι η μειωμένη αντίσταση στην οξείδωση, μια πιθανή μείωση της σχέσης τους με τον LDL- υποδοχέα, η ευκολότερη διείσδυσή τους στο εσωτερικό των αγγείων και η αυξημένη τους σύνδεση με πρωτεογλυκάνες του εξωκυτταρικού τοιχώματος των αγγείων (βλέπε Γενικό Μέρος, παρ.6.2). Τα παραπάνω έχουν σαν αποτέλεσμα τον καταβολισμό της LDL-III μέσω της αθηρογόνου οδού στο αρτηριακό τοίχωμα, δηλαδή μέσω των εκκαθαριστών υποδοχέων των μακροφάγων που προέρχονται από τα μονοκύτταρα. Αλλαγές στην επιφάνεια των σωματιδίων της LDL-III που οφείλονται στις αλλαγές του λιπιδαιμικού στρώματος της επιφάνειας τους και στη δομή των μορίων της συνδεδεμένης σε αυτό Apo B, ίσως είναι η βασική αιτία των παραπάνω αθηρογόνων χαρακτηριστικών. Η επιφάνεια της LDL αποτελείται από φωσφολιπίδια και ελεύθερη χοληστερόλη. Το αυξημένο ποσοστό φωσφολιπιδίων στην επιφάνεια της LDL-III, στους εμφραγματίες ασθενείς της μελέτης, ίσως είναι ένας πρόσθετος λόγος του αθηρογόνου χαρακτήρα της LDL-III που χρειάζεται πάντως παραπέρα μελέτη.

Συνοψίζοντας :

- οι παράγοντες κάπνισμα και β-αναστολείς επηρεάζουν τα υποκλάσματα της LDL προς ένα πιο αθηρογόνο τύπο
- οι πυκνές LDL κυριαρχούν στο έμφραγμα του μυοκαρδίου ανεξάρτητα από το κάπνισμα, τους β-αναστολείς ή τις άλλες παραμέτρους που μετρήθηκαν στην έρευνα.
- Οι γενετικοί παράγοντες μπορεί να είναι υπεύθυνοι για την ετερογένεια της LDL (221, 224, 225).

ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Από το πρώτο και δεύτερο μέρος της έρευνας θα μπορούσαμε να καταλήξουμε γενικά στα παρακάτω :

- Η HDL- χοληστερόλη είναι ο πιο σημαντικός λιπιδαιμικός δείκτης για τη στεφανιαία νόσο σε ασθενείς με κανονικά επίπεδα τριγλυκεριδίων, ολικής και LDL- χοληστερόλης.
- Τα υποκλάσματα της LDL έδειξαν ότι έχουν μεγάλη προγνωστική σημασία σαν παράγοντας κινδύνου για τη στεφανιαία νόσο. Θα ήταν σκόπιμο λοιπόν να ληφθεί σοβαρά υπόψιν η μέτρηση των υποκλασμάτων αυτών σαν ρουτίνα στα Κλινικά Χημικά Εργαστήρια.

ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

1. Gurr, M.I. and James, A.R. (1971). *Lipid Biochemistry : An Introduction*. Chapman and Hall, London, UK.
2. Campbell, P.N. and Smith, A.D. (1988). *Biochemistry illustrated*, 2nd edition Churchill Livingstone, London, UK.
3. Goodwin, T.W. (1974). *Biochemistry of Lipids*, Biochemistry Series One. Butterworths - London, UK.
4. Stryer, L. (1997). *Biochemistry*. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, Ελλάδα.
5. Paoletti, R. and Kritchevsky, D. (1976). *Advances in Lipid Research*, Academic Press ed, New York and London, USA, UK.
6. Thompson, G.R. (1990). *A Handbook of Hyperlipidaemia*, Current Science Ltd, London, UK.
7. Pacy, P.J.H., Mitropoulos, K.A., Venkatesan, S., Watts, G.F., Reeves, B.E.A. and Halliday, D. (1993). Metabolism of apolipoprotein B-100 and of triglyceride-rich lipoprotein particles in the absence of functional lipoprotein lipase. *Atherosclerosis*, **103**, 231-243.
8. Phillips, N.R., Havel, R.J., and Kane, J.P. (1981). Levels and interrelationships of serum and lipoprotein cholesterol and triglycerides. Association with adiposity and the consumption of ethanol, tobacco and beverages containing caffeine. *Arteriosclerosis*, **1**, 13-24.
9. Reichl, D. (1994). Extravascular circulation of lipoproteins : their role in reverse transport of cholesterol. *Atherosclerosis*, **105**, 117-129.

10. Wilson, D.M. and Rudel, L.L. (1994). Review of cholesterol absorption with emphasis on dietary and biliary cholesterol. *J. Lipid Res.*, **35**, 943-952.
11. Grundy, S.M., Ahrens, E.H., and Davignon, J. (1969). The interaction of cholesterol absorption and cholesterol synthesis in man. *J. Lipid Res.*, **10**, 304-315.
12. Bachorik, S.P. and Kwiterovich, P. (1988). Apolipoprotein measurements in clinical biochemistry and their utility vis-a-vis conventional assays. *Clin. Chim. Acta*, **178**, 1-34.
13. Havel, R.J. and Kane, J.P. (1989). Structure and metabolism of plasma lipoproteins. *The metabolic basis of inherited diseases*. Scriver, C.V.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S. and Vale, D. eds, 6th edn. Mc Graw - Hill, NY, USA.
14. Bhatnagar, D. and Durrington, P.N. (1991). Clinical value of apolipoprotein measurement. *Ann. Clin. Biochem.*, **28**, 427-437.
15. Alaupovic, P. (1971). Apolipoproteins and lipoproteins. *Atherosclerosis*, **13**, 141-146.
16. Assman, G., Eckardstein, A. and Funke, H. (1993). High density lipoproteins, reverse transport of cholesterol and coronary artery disease. *Circulation*, **87**, Suppl III, III-28 - III-34.
17. Pussinen, J.P., Jauhainen, M. and Ehnolm, C. (1997). Apo A-II/A-I molar ratio in the HDL particle influences phospholipid transfer protein-mediated HDL interconversion. *J. Lipid Res.*, **38**, 12-21.
18. Jansen, S., Lopez-Miranda, J., Ordovas, M.J., Zambrana, J.L., Marin, C., Gostis, M.A., Castro, P., Mc Pherson, R., Segura, F., Blanco, A., Jimenez, J.A. and Jimenez, F. (1997). Effect of 360 His mutation in apo A-IV on plasma cholesterol response to dietary fat. *J. Lipid Res.*, **38**, 1995-2002.

19. Ehnholm, C., Lukka, M., Kuusi, T., Nikkila, E. and Uterman, G. (1986). Apolipoprotein E polymorfism in the Finnish population : gene frequencies and relation to lipoprotein concentrations. *J. Lipid Res.*, **27**, 227-234.
20. Karvinen, K., Savolainen, J.M., Salokannel, J., Hynninen, A., Heikkinen, J., Ehnholm, C., Koistinen, M.J. and Kesaniemi, Y.A. (1994). Apolipoprotein E and B polymorfisms-longevity factors assessed in nonagenarians. *Atherosclerosis*, **105**, 89-95.
21. Yanagi, K., Yamashita, S., Hiraoka, H., Ishigami, M., Kihara, S., Hirano, K., Sakai, N., Nozaki, S., Funahashi, T. and Matsuzawa, Y. (1997). Increased serum remnant lipoproteins in patients with apolipoprotein E7 (apo E5/7). *Atherosclerosis*, **131**, 49-58.
22. Ribalta, J., La Ville, A., Valve, J., Humpries, S., Turner, P. and Masana, L. (1997). A variation in the apolipoprotein C-III gene is associated with an increased number of circulating VLDL and IDL particles in familial combined hyperlipidemia. *J. Lipid Res.*, **38**, 1061-1069.
23. Montgomery, R., Conway, T., and Spector, A. (1990). *Biochemistry. A case-oriented approach*. 5th ed, Mosby Comp. St. Louis-Baltimore-Philadelphia-Toronto, Kanada.
24. Clee, M.S., Zhang, H., Bisada, N., Miao, L., Ehrenborg, E., Benlian, P., Shen, G., Angel, A., LeBoeuf, R.C. and Hayden, M.R. (1997). Relationship between lipoprotein lipase and high density lipoprotein cholesterol in mice : modulation by cholesteryl ester transfer protein and dietary status. *J. Lipid Res.*, **38**, 2079-2088.
25. Bagdade, J.D. and Ritter, M.C. (1996). Reduced cholesteryl ester transfer in plasma of patients with lipoprotein lipase deficiency. *J. Lipid Res.*, **37**, 1696-1703.
26. Yang, C., Gu, Z., Valentinova, N., Pownall, H., Lee, B., Yang, M., Xie, Y., Guyton, J.R., Vlasic, T.N., Fruchard, J.C. and Gotto, A.M. (1993). Human very

low density lipoprotein structure : interaction of the C apolipoproteins with apolipoprotein B-100. *J. Lipid Res.*, **34**, 1311-1321.

27. Bradley, A.W., Booyse, M.F. and Gianturco, H.S. (1994). Fibrinolytic and thrombotic factors in atherosclerosis and IHD : the influence of triglyceride rich lipoproteins (TRLP). *Atherosclerosis*, **108**, (Suppl.) S31-S39.

28. Rudel, L.L., Parks, S. J., Johnson, L.F. and Babiak, J. (1986). Low density lipoproteins in atherosclerosis. *J. Lipid Res.*, **27**, 465-473.

29. Barbosa, S.D., Maranhao, C.R., Araujo, F.B., Chang, Y.I.H., Hirata, M.H. and Abdalla, D.S.P. (1995). Sialic acid and oxidizability of low density lipoprotein subfractions of hyperlipidemic patients. *Clin. Biochem.*, **28**, 435-441.

30. Chapman, M.J., Laplaud, P.M., Luc, G., Forgez, P., Bruckert, E., Goulinet, S. and Lagrange, D. (1988). Further resolution of the low density lipoprotein spectrum in normal human plasma : physicochemical characteristics of discrete subspecies separated by gradient ultracentrifugation. *J. Lipid Res.*, **29**, 442-458.

31. Austin, M.A. (1992). Genetic epidemiology of low-density lipoprotein subclass phenotypes. *Ann. Med.*, **24**, 477-481.

32. Nikkila, M., Solakivi, T., Lehtimaki, T., Kiovula, T., Laippala, P. and Astrom, B. (1994). Postprandial plasma lipoprotein changes in relation to apolipoprotein E phenotypes and low density lipoprotein size in men with and without coronary artery disease. *Atherosclerosis*, **106**, 149-157.

33. Krauss, R.M. (1992). Dense low density lipoproteins and coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.*, **75**, (53B-57B).

34. Babiak, A.V., Gebecki, J.M. and Sullivan, D.R. (1990). Vitamin E content and low density lipoprotein oxidizability induced by free radicals. *Atherosclerosis*, **81**, 175-182.

35. Tornval, P., Karpe, F., Carlson, A.L. and Hamsten, A. (1991). Relationships of low density lipoprotein subfractions to angiographically defined coronary artery disease in young survivors of myocardial infarction. *Atherosclerosis*, **90**, 67-80.
36. Chait, A., Brazg, L.R., Tribble, L.D. and Krauss, M.R. (1993). Susceptibility of small, dense low-density lipoproteins to oxidative modification in subjects with the atherogenic lipoprotein phenotype, pattern B. *Am. J. Med.*, **94**, 350-356.
37. Goldstein, J.L., Brown, M.S., Anderson, R.G.W., Russel, D.W. and Schneider, N.J. (1985). Receptor-mediated endocytosis : concepts emerging from the LDL receptor system. *Annu. Rev. Cell Biol.*, **1**, 1-39.
38. Zannis, V.L. and Breslow, J.L. (1984). Genetic mutation affecting human lipoprotein metabolism. *Adv. Hum. Genet.*, **14**, 125-215 and 383-386.
39. Patsch, R.J. (1994). Triglyceride-rich lipoproteins and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, **110**, (Suppl.) S23-S26.
40. Marques-Vidal, P., Ruidanets, J.B., Cambou, J.P., Cambien, F., Chap, H. and Perret, B. (1995). Distribution, fatty acid composition and apolipoprotein A-I immunoreactivity of high density lipoprotein subfractions in myocardial infarction. *Atherosclerosis*, **112**, 29-38.
41. Agnes, E.V., Sola, R., Balanya, J., Turner, P.R. and Masana, L. (1994). In vitro oxidised HDL is recognised by the scavenger receptor of macrophages, implications for its protective role in vivo. *Atherosclerosis*, **105**, 179-189.
42. Barter, P.J. and Rye, K-A. (1996). High density lipoproteins and coronary heart disease. *Atherosclerosis*, **121**, 1-12.
43. Buring, E.J., O'Connor, T.G., Goldhaber, S.Z., Rosner, B., Herbert, P.N., Blum, C.B., Breslow, J.L. and Hennekens C.H. (1992). Decreased HDL-2 and HDL-3 cholesterol, Apo A-I and Apo A-II and increased risk of myocardial infarction. *Circulation*, **85**, 22-29.

44. Patsch, W., Sharret, A.R., Sorlie, P.D., Davis, C.E., Brown, S.A. and the ARIC Investigators. (1992). The relation of high density lipoprotein cholesterol and its subfractions to apolipoprotein A-I and fasting triglycerides : The role of environmental factors. *Am. J. Epidemiol.*, **136**, 546-557.
45. Diehl, K.A., Fuller, H.J., Mattock, M.B., Salter, A.M., El-Gohari, R. and Keen, H. (1988). The relationship of high density lipoprotein subfractions to alcohol consumption, other lifestyle factors and coronary heart disease. *Atherosclerosis*, **69**, 145-153.
46. Atger, V., Wirbel, E., Roche, D., Apfelbaum, M., Burstein, M. and Girard-Globa, A. (1990). Distribution of HDL-2 and HDL-3 in a random population of healthy French males and females - evaluation by a two step precipitation procedure. *Clin. Chim. Acta*, **189**, 111-122.
47. Farish, E. and Fletcher, D.C. (1983). A comparison of two micro-methods for the determination of HDL-2 and HDL-3 cholesterol. *Clin. Chim. Acta*, **124**, 221-228.
48. Kostner, G.M. and Day, C.E. ed (1981). *High - Density Lipoproteins*, Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
49. Patsch, R.J., Prasad, S., Gotto, M.A. and Patsch, W. (1987). High density lipoprotein 2. *J. Clin. Invest.*, **80**, 341-347.
50. Vallance, T.D., Byrne, J.D. and Winder, F.A. (1994). Precipitation procedures used to isolate high density lipoprotein with particular referenee to effects on Apo A-I only particles and lipoprotein (a). *Clin. Chim. Acta*, **229**, 77-85.
51. Bausserman, L.L., Saritelli, L.A. and Milosavljevic, D. (1994). High-density lipoprotein subfractions measured in stored serum. *Clin. Chem.*, **40/9**, 1713-1716.

52. Lamarche, B. and Despres, J-P. (1996). Triglycerides and HDL-cholesterol as risk factors for ischemic heart disease. Results from the Quebec cardiovascular study. *Atherosclerosis*, **119**, 235-245.
53. Chait, A. and Brunzell, J. (1991). Chylomicronemia syndrome. *Adv. Int. Med.*, **37**, 249-269.
54. Cooper, A.D. (1997). Hepatic clearance of plasma chylomicron remnants. Hellenic Society of Lipidology. 2nd Physicians Education Course on Clinical Management of Lipid Disorders.
55. Albers, J.J., Marcovina, M.S. and Lodge, S.M. (1990). The unique lipoprotein (a) : Properties and immunochemical measurement. *Clin. Chem.*, **36/12**, 2019-2026.
56. Cremer, P., Nagel, D., Labrot, B., Mann, H., Muehle, R., Elster, H. and Seidel, D. (1994). Lipoprotein Lp(a) as predictor of myocardial infarction in comparison to fibrinogen, LDL cholesterol and other risk factors. Results from the prospective Gottingen Risk Incidence and Prevalence Study (GRIPS). *Eur. J. Clin. Invest.*, **24**, 444-453.
57. Karmansky, I. and Gruener, N. (1994). Structure and possible biological roles of Lp(a). *Clin. Biochem.*, **27**, 151-162.
58. Kim, Q.J. and Song, H.J. (1994). High allele frequency of apolipoprotein (a) phenotype Lp²⁴ is associated with low serum Lp(a) concentrations in Koreans. *Clin. Biochem.*, **27-1**, 57-62.
59. McLean, W.J., Tomlinson, E.J., Kuang, W.J., Eaton, D.L., Chen, E.Y., Fless, G.M., Scanu, A.M. and Lawn, R.M. (1987). C DNA sequence of human apolipoprotein (a) is homologous to plasminogen. *Nature*, **300**, 132-137.

60. Gavish, D., Acrolan, N. and Breslow, L.J. (1989). Plasma Lp(a) concentration is inversely correlated with the ratio of Kringle IV /Kringle V encoding domains in the apo(a) gene. *J. Clin. Invest.*, **84**, 2021-2027.
61. Jenner, L.J., Ordovas, M.J., Lamon-Fava, S., Schaefer, M.M., Wilson, P., Castelli, W.P. and Schaefer, E.J. (1993). Effects of age, sex and menopausal status on plasma lipoprotein (a) levels. The Framingham offspring study. *Circulation*, **87**, 1135-1141.
62. Scanu, A. (1995). Identification of mutations in human apolipoprotein (a) Kringle 4/37 from the study of the DNA of peripheral blood lymphocytes : Relevance to the role of lipoprotein (a) in atherothrombosis. *Am. J. Cardiol.*, **75**, 58B-61B.
63. Ingmar, J., Shanthi, M. and Bjellerup, P. (1995). Lipoprotein (a) : Levels in a Swedish population in relation to other lipid parameters and in comparison with a male Sri Lankan population. *Clin. Biochem.*, **28/4**, 427-434.
64. Pedro - Bolet, J., Senti, M., Auguet, T., Nogues, X., Rubies-Prat, J., Aubo, C. and Vidal-Barraquer, F. (1993). Apolipoprotein (a) genetic polymorfism and serum lipoprotein (a) concentration in patients with peripheral vascular disease. *Atherosclerosis*, **104**, 87-94.
65. Azrolan, N., Gavish, D. and Breslow, L.J. (1991). Plasma lipoprotein (a) concentration is controlled by apolipoprotein (a) (Apo(a)) protein size and the abundance of hepatic Apo(a) mRNA in a cynomolgus monkey model. *J. Biol. Chem.*, **266/21**, 13866-13872.
66. Mbewu, A.D. and Durrington, P.N. (1990). Lipoprotein (a) : structure, properties and possible involvement in thrombogenesis and atherogenesis. *Atherosclerosis*, **85**, 1-14.

67. Reblin, T., Niemeir, A., Meyer, N., Willnow, T.E., Kronenberg, F., Dieplinger, H., Greten, H. and Beisiegel, U. (1997). Cellular uptake of lipoprotein (a) by mouse embryonic fibroblasts via the LDL receptor and the LDL receptor related protein. *J. Lipid Res.*, **38**, 2103-2110.
68. Clay, F.S. (1997). Hyperlipidaemias. Hellenic Lipid Society. 2nd Physician's Education Course on Clinical Management of Lipid Disorders. Athens, Greece.
69. Beaumont, J.L., Carlson, L.A. and Cooper, G.R. (1970). Classification of hyperlipidaemias and hyperlipoproteinaemias. *Bull WHO*, **43**, 881-908.
70. Holman, R.L., Gill, H.C., Strong, J.P. and Geer, J.C. (1958). The natural history of atherosclerosis. The early aortic lesions as seen in New Orleans in the middle of the 20th century. *Am. J. Pathol.*, **34**, 209-235.
71. Enos, W.F., Holmes, R.H. and Beyer, J. (1953) Coronary disease among United States soldiers killed in action in Korea : preliminary report. *J. Am. Med. Assoc.*, **152**, 1090-1093.
72. Ip, J.H., Fuster, V., Badimon, L., Badimon, J.J., Taubman, M.B. and Chesebro, J.H. (1990). Syndromes of accelerated atherosclerosis : role of vascular injury and smooth muscle cell proliferation. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **15**, 1667-1687.
73. Padimon, J.J., Fuster, V., Chesebro, J.H. and Badimon, L. (1993). Coronary atherosclerosis. A multifactorial disease. *Circulation*, **87**, (Suppl II) II3-II16.
74. Nerem, R.M. and Cornhill, J.F. (1980). Hemodynamics and atherogenesis. *Atherosclerosis*, **36**, 151-157.
75. Hansson, G.K., Jonasson, L., Seifert, P.S. and Stemme, S. (1989). Immune mechanisms in atherogenesis. *Atherosclerosis*, **9**, 567-578.
76. Fabricant, C.G. (1981). Herpes virus-included atherosclerosis. *Diabetes*, **30**, 29-31.

77. Ross, R. (1986). The pathogenesis of atherosclerosis - un update. *N. Engl. J. Med.*, **314**, 488-500.
78. Mitchinson, M.S. and Ball, R.V. (1982). Macrophages and atherogenesis. *Lancet*, **2**, 146-147.
79. Patarago, M., Prieto, J., Beatty, P.G., Clark, E.A. and Gahmerg, C.G. (1988). Adhesion-mediating molecules of human monocytes. *Cell Immunol.*, **113**, 278-280.
80. Rober, J.S. and Cotran, R.S. (1991). What can be learned from the expression of endothelial adhesion molecules in tissues. *Lab. Invest.*, **64**, 301-305.
81. Valente, A.J., Rozek, M.M., Sprague, E.A. and Schwartz, C.J. (1992). Mechanisms in intimal monocyte-macrophage recruitment. A special role for monocyte chemotactic protein - 1. *Circulation*, **86**, (Suppl III) III 20- III 25.
82. Schwartz, C.J., Valente A.J. and Sprague, E.A. (1993). A modern view of atherogenesis. *Am. J. Cardiol.*, **71**, 9B-14B.
83. Valente, A.J., Sprague, E.A. and Nassiri, M.R. (1984). Influence of plasma proteins on blood monocyte adherence to vascular endothelium. *Arteriosclerosis*, **4**, 405a.
84. Berliner, J.A., Territo, M.C. and Sevanian, A. (1990). Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte - endothelium interactions. *J. Clin. Invest.*, **85**, 1260-1266.
85. Shimokado, K., Raines, E.W., Madtes, D.K., Barrett, T.B., Benditt, E.P. and Ross, R. (1985). A significant part of macrophage derived growth factor consists of at least two forms of PDGF. *Cell*, **93**, 277-286.
86. Virchow, R. (1856). Phogose und thrombose in gefasystem, Virchow, R., ed. (1856). Meidinger Sohn and Co., Berlin, Germany.

87. Berenson, G.S., Wattigney, W.A. and Tracy, R.E. (1992). Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (The Bogalusa Heart Study). *Am. J. Cardiol.*, **70**, 851-858.
88. Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T.E., Khoo, J.C. and Witztum, J.L. (1989). Beyond cholesterol modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N. Engl. J. Med.*, **320**, 915-924.
89. Palinski, W., Rosenfeld, M.E. and Yla-Herttuala, S. (1989). Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **86**, 1372-1376.
90. Morgan, J. and Leake, S.D. (1995). Oxidation of low density lipoprotein by iron or copper at acidic PH. *J. Lipid Res.*, **36**, 2504-2512.
91. Regnstrom, J., Nilsson, J., Tornvall, P., Landou, C. and Hamsten, A. (1992). Susceptibility to low density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *The Lancet*, **339**, 1183-1186.
92. De Rijke, Y.B., Verwey, H.F., Vogelesang, J.M.V., Van Der Velde, E.A., Princen, H.M.G., Van Der Laarse, A., Bruschke, A.V.G. and Van Berkel, T.J.C. (1995). Enhanced susceptibility of low - density lipoproteins to oxidation in coronary bypass patients with progression of atherosclerosis. *Clin. Chim. Acta*, **243**, 137-149.
93. Visioli, F., Bellomo, G., Montedoro, G.F. and Galli, C. (1995). Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vivo by olive oil constituents. *Atherosclerosis*, **117**, 25-32.
94. Lyons, T.J. (1993). Glycation and oxidation : A role in the pathogenesis of atherosclerosis. *Am. J. Cardiol.*, **71**, 26B-31B.

95. Hurtado, I., Fiol, C., Gracia, V. and Caldu, P. (1996). In vitro oxidised HDL exerts a cytotoxic effect on macrophages. *Atherosclerosis*, **125**, 39-46.
96. Penn, S.M. and Chilsom, G.M. (1994). Oxidised lipoproteins, altered cell function and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, **108**, (Suppl.) S21-S29.
97. Tribble, D., Holl, G.L., Wood, P.D. and Krauss, R.M. (1992). Variations in oxidative susceptibility among six low density lipoprotein subfractions of differing density and particle size. *Atherosclerosis*, **93**, 189-199.
98. Camejo, G., Hurt, E., Thubricar, M. and Bondjers, G. (1991). Modification of low density lipoprotein association with the arterial intima. A possible environment for the antiatherogenic action of β -blockers. *Circulation*, **84**, (Suppl VI) VI 17-VI 22.
99. Steinberg, D. (1987). Lipoproteins and the pathogenesis of atherosclerosis. *Circulation*, **76**, 508-514.
100. Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults : summary of the second report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel II). *J. Am. Med. Assoc.*, 1993, **269**, 3015-3023.
101. Bernard, J. (1994). Atherosclerosis, a multifactor lesion justifying multirisk care. *Atherosclerosis*, **110**, (Suppl.) SI-S2.
102. Stamler, J., Wentworth, D. and Neaton, J.D. (for the MRFIT research group) (1986). Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356222 primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *J. Am. Med. Assoc.*, **256**, 2823-2828.

103. Roberts, W.C. (1992). Atherosclerotic risk factors - are there ten or is there only one? Review article. *Atherosclerosis*, **97**, 55-59.
104. Coresh, J., Kwiterovich, P.O., Smith, H.H and Bachoric, P.S.. (1993). Association of plasma triglyceride concentration and LDL particle diameter, density and chemical composition with premature coronary artery disease in men and women. *J. Lipid Res.*, **34**, 1687-1697.
105. Anber, V., Griffin, B.A., Connell, M., Packard, C.J. and Shepherd, J. (1996). Influence of plasma lipid and LDL-subfraction profile on the interaction between low density lipoprotein with human arterial wall proteoglycans. *Atherosclerosis*, **124**, 261-271.
106. Griffin, B.A., Freeman, D.J., Tait, G.W., Thomson, J., Caslake, M.J., Packard, C.J. and Shepherd, J. (1994). Role of plasma triglyceride in the regulation of plasma low density lipoprotein (LDL) subfractions : relative contribution of small, dense LDL to coronary heart disease risk. *Atherosclerosis*, **106**, 241-253.
107. Hans Jansen, Wim Hop, et.al. (1994). Hepatic lipase and lipoprotein lipase are not major determinants of the low density lipoprotein subclass pattern in human subjects with coronary heart disease. *Atherosclerosis*, **107**, 45-54.
108. Assmann, G. and Schulte, H. (1992). Relation of high - density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease (the PROCAM experience). *Am. J. Cardiol.*, **70**, 733-737.
109. Kannel, W.B. (1987). Metabolic risk factors for coronary heart disease in women : perspective from the Framingham study. *Am. Heart J.*, **114**, 413-419.
110. Carlson, L.A. and Bottinger, L.E. (1985). Risk factors for ischaemic heart disease in men and women. Results of the 19-year follow-up of the Stockholm Prospective Study. *Acta Med. Scand.*, **218**, 207-211.

111. Clay, S. (1997). Hypertriglyceridaemia. Hellenic Society of Lipidology. 2nd Physician's Education Course on Management of Lipid Disorders. Athens, Greece.
112. Gambert, P., Bouzerand - Gambert, C., Athias, A., Farnier, M. and Lallemand, C. (1990). Human low density lipoprotein subfractions separated by gradient gel electrophoresis : composition, distribution and alterations induced by cholesteryl ester transfer protein. *J. Lipid Res.*, **31**, 1199-1210.
113. Zambon, A., Austin, M.A., Brown, B.G., Hokanson, J.E. and Brunzell, J.D. (1993). Effect of hepatic lipase on LDL in normal men and those with coronary artery disease. *Arteriosclerosis Thromb.*, **13**, 147-153.
114. Tjark Reblin, Nicolette Meyer, Christine Labeur et.al. (1995). Extraction of lipoprotein (a), apo B and apo E from fresh human arterial wall and atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis*, **113**, 179- 188.
115. Walter Bowie EJ, DM (1992). Lipid - related clotting reactions of clinical significance. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **116**, 1345-1349.
116. Hoff, H., O'Neil, J. and Yashiro, A. (1993). Partial characterization of lipoproteins containing apo(a) in human atherosclerotic lesions. *J. Lipid Res.*, **34** 789-798.
117. Slunga, L., Asplund, K., Johnson, O. and Dahlen, G. (1993). Lipoprotein (a) in a randomly selected 25-64 year old population : the Northern Sweden Monica Study. *J. Clin. Epidemiol.*, **46**, 617-624.
118. Wong, W.L., Eaton, D.L., Berloui, A., Fendly, B. and Hass, P.E. (1990). A monoclonal-antibody-based-enzyme-linked immunosorbent assay of lipoprotein (a). *Clin. Chem.*, **36/2**, 192-197.

119. Bartens, W., Rader, D.J., Talley, G. and Brewer, B. (1994). Decreased plasma levels of lipoprotein (a) in patients with hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis*, **108**, 149-157.
120. Boomsma, D.I., Kaptein, A., Kampen, H.J.M., Gevers, L.J.A. and Princen, H.M.G. (1993). Lipoprotein (a) : relation to other risk factors and genetic heritability. Results from a Dutch parent-twin study. *Atherosclerosis*, **99**, 23-33.
121. Ledue, B.T., Neveux, M.L., Palomaki, E.G., et.al. (1993). The relationship between serum levels of lipoprotein (a) and proteins associated with the acute phase response. *Clin. Chem. Acta*, **223**, 73-82.
122. Alesandri, C., Basili, S., Maurelli, M., Andreozzi, P., Violi, F. and Cordova, C. (1994). Relationship between lipoprotein (a) levels in serum and some indices of protein synthesis in liver cirrhosis. *Clin. Chim. Acta*, **224**, 125-129.
123. Istvan Karadi, Gerhard M. Kostner, Annie Gries, Johannes Nimpf, et.al. (1988). Lipoprotein (a) and plasminogen are immunochemically related. *Biochim. Biophys. Acta*, **960**, 91-97.
124. Iaina Korhonen, Markku J Savolainen, Juhani Koistinen, Markku Ikaheimo et.al. (1996). Association of lipoprotein cholesterol and triglycerides with the severity of coronary artery disease in men and women. *Atherosclerosis*, **127**, 213-220.
125. Gordon, T., Castelli, W.P., Hjortland, M.C., Kannel, W.B. and Dawber, T.R. (1977). High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham study. *Am. J. Med.*, **62**, 707-714.
126. Assmann, G., Schulte, H., Eckardstein, A. and Huang, Y. (1996). High density lipoprotein cholesterol as a predictor of coronary heart disease risk. The PROCAM experience and pathophysiological implications for reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*, **124**, S11-S20.

127. Yui, Y., Aoyama, T., Morishita, H., Takahashi, M., Takatsu, Y. and Kawai, C. (1988). Serum prostacyclin stabilizing factor is identical to apolipoprotein A-I (apo A-I). *J. Clin. Invest.*, **82**, 803-807.
128. Clay, M.A. and Barter, P.J. (1996). Formation of new HDL particles from lipod - free apolipoprotein A-I. *J. Lipid Res.*, **37**, 1722-1732.
129. Coste - Burel, M., Malnard, F., Chivot, L., Auget, J.L. and Modec, Y. (1990). Study of lipoprotein particles LpA-I and LpA-I:A-II in patients before coronary bypass surgery. *Clin. Chem.*, **36/11**, 1889-1891.
130. Dobiasova, M. and Frohlich J.J. (1994). Structural and functional assessment of high-density-lipoprotein heterogeneity. *Clin. Chem.*, **40/8**, 1554-1558.
131. James, R. and Pometta, D. (1994). Postprandial lipemia differentially influences high density lipoprotein subpopulations LpA-I and LpA-I:A-II. *J. Lipid Res.*, **35**, 1583-1591.
132. Barbaras, R., Puchois, P., Fruchart, J.C. and Ailhaud, G. (1987). Cholesterol efflux from cultured adipose cells is mediated by LpA-I particles but not by LpA-I:A-II particles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **142**, 63-69.
133. Frey, I., Kamps, H., Baumstark, M.W., Berg, A. and Keul, J. (1992). Distribution of lipoprotein species (LpA-I, LpA-I:A-II) in serum and HDL subfractions of untrained and trained normolipemic men. *Clin. Chim. Acta*, **211**, 167-173.
134. Fruchart, J.C., Ailhaud, G. and Bard, J.M. (1993). Heterogeneity of high density lipoprotein particles. *Circulation*, **87**, (Suppl III) : III22-III27.
135. Takashi, M., Koichi, I., Toshio, Y., Takashi, T. and Masahiko, O. (1997). LpA-I levels do not reflect pre β 1 - HDL levels in human plasma. *Atherosclerosis*, **133**, 221-226.

136. Bard, J.M. and Fruchart, J.C. (1993). HDL particle measurements : Impact for diagnosis and therapy. *Clin. Biochem.*, **26**, 65-68.
137. Nakamura, R., Ohta, T., Ikeda, Y. and Matsuda, I. (1993). LDL inhibits the mediation of cholesterol efflux from macrophage foam cell by apoA-I containing lipoproteins. A putative mechanism for foam cell formation. *Arterioscler. Thromb.*, **9**, 1307-1316.
138. Fruchart, J.C., Gerteire, C., Delfly, B. and Castro, G.R. (1994). Apolipoprotein A-I containing particles and reverse cholesterol transport : Evidence for connection between cholesterol efflux and atherosclerosis risk. *Atherosclerosis*, **110**, (Suppl.) S35-S39.
139. Mowri, H.O., Patsch, J.R., Ritsch, A. Foger, B., Brown, S. and Patsch, W. (1994). High density lipoproteins with differing apolipoproteins : relationships to postprandial lipemia cholesteryl ester transfer protein and activities of lipoprotein lipase, hepatic lipase and lecithin : cholesterol acyltransferase. *J. Lipid Res.*, **35**, 291-300.
140. Roche, D., Miguères, M.L., Lequarg, N.Y., Burstein, M., Ekindjian, O.G. and Girard-Globa, A. (1991). Concentrations of high density lipoprotein subfraction HDL-2 and lipoprotein A-I in a random population of healthy subjects. *Clin. Chem.*, **37/12**, 2111-2113.
141. Rifichi, V.A. and Khachadurian, A.K. (1996). Effects of dietary vitamin C and E supplementation on the copper mediated oxidation of HDL and on HDL mediated cholesterol efflux. *Atherosclerosis*, **127**, 19-26.
142. Phillips, N.R., Havel, R.J. and Kane, J.P. (1982). Serum apolipoprotein A-I levels : relationship to lipoprotein lipid levels and selected demographic variables. *Am. J. Epidemiol.*, **116**, 302-313.

143. Moore, R.D., Smith, C.R. and Kwiterovich, P.O. (1988). Effect of low - dose alcohol use versus abstention on apolipoproteins A-I and B. *Am. J. Med.*, **84**, 884-890.
144. Haffner, S.M., Applebaum-Bowden, D., Wahl PW, et.al. (1985) Epidemiological correlates of high density lipoprotein subfractions, apolipoproteins A-I, A-II and D, and lecithin cholesterol acyltransferase : effects of smoking, alcohol and adiposity. *Arteriosclerosis*, **5**, 169-177.
145. Durrington, P.N., Hant, L., Ishola, M., Kane, J. and Stephens, W.P. (1986). Serum apolipoprotein A-I and B and lipoproteins in middle aged men with and without previous myocardial infarction. *Br. Heart J.*, **56**, 206-212.
146. Alaupovic, P. (1980). Structure and function of plasma lipoproteins. *Ann. Biol. Clin.*, **38**, 83-93.
147. Ogbonna, G., Cheung, R., Wong, J. and Adeli, K. (1992). Apolipoprotein B gene polymorphism and plasma lipids and lipoproteins in a Canadian Caucasian population. *Clin. Biochem.*, **25**, 471-478.
148. Powell, T.J., Edwards, J.R., Worrell, C.P. et.al. (1997). Risk factors associated with the development of peripheral arterial disease in smokers : a case control study. *Atherosclerosis*, **129**, 41-48.
149. Brunzel, J. (1997). Central obesity. 2nd Physician's Education Course on Clinical Management of Lipid Disorders.
150. Καβαζαράκης, Ε. (1993). Πράγοντες κινδύνου και πρόληψη της στεφανιαίας νόσου. Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας και Βιοχημείας.
151. Simopoulos, A.P. (1991). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.*, **54**, 438-446.

152. Kinsella, J.E., Lokesh, B. and Stone, R.A. (1990). Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease : possible mechanisms. *Am. J. Clin. Nutr.*, **1**, 52-58.
153. Ulbricht, T.W. and Southgate, D.A.T. (1991). Coronary heart disease : seven dietary factors. *Lancet*, **12**, 338-385.
154. Cook, N.S. and Ubben, D. (1990). Fibrinogen as a major risk factor in cardiovascular disease. *Trends Pharmacol. Sci.*, **11**, 444-451.
155. Folsom, A.R., Wu, K.K., Davis, C.E., Conlan, M.G., Sorlie, P.D. and Seclo, M. (1991). Population correlates of plasma fibrinogen and factor VII putative cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis*, **91**, 191-205.
156. Folsom, A.R. (1995). Epidemiology of fibrinogen. *Eur. Heart J.*, **16**, (Suppl A) : 21-24.
157. Kannel, W.B., D'Agostino, R.B. and Belanger, A.J. (1987). Fibrinogen cigarette smoking and risk of cardiovascular disease : insights from the Framingham Study. *Am. Heart J.*, **113**, 1006-1010.
158. Letcher, R.L., Chien, S., Picckering, T.C., Sealey, J.E. and Laragh, J.H. (1981). Direct relationship between blood pressure and blood viscosity in normal and hypertensive subjects : role of fibrinogen concentration. *Am. J. Med.*, **70**, 1195-1202.
159. Folsom, A.R., Qamhien, H.T., and Flack, J.M. (1993). Plasma fibrinogen : levels and correlates in young adults. *Am. J. Epidemiol.*, **138**, 1023-1036.
160. Simpson, H.R., Meade, T.W., Stirling, Y., Mann, J.I., Chakrabarti, R. and Woolf, L. (1983). Hypertriglyceridaemia and hypercoagulability. *Lancet*, **1**, 786-790.

161. Seewald, S., Nickening, G., Yon Ko Hans, V. and Sachinidis, A. (1997). Low density lipoprotein enhances the thrombin-induced growth of vascular smooth muscle cells. *Cardiov. Res.*, **36**, 92-100.
162. Pazzucconi F, Manucci L, Gianfranceschi G, et.al. (1992). Bezafibrate lowers plasma lipids, fibrinogen and platelet aggregability in hypertriglyceridaemia. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **43**, 219-223.
163. Humphries, S.E. (1995). Genetic regulation of fibrinogen. *Eur. Heart J.*, **16**, (Suppl A) : 16-20.
164. Kannel, W.B., Wolf, P.A., Castelli, W.P. and D'Agostino R.B. (1987). Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. *J. Am. Med. Assoc.*, **258**, 1183-1186.
165. Heinrich, J., Balleisen, L., Schulte, H., Assmann, G. and Van de Loo, J. (1994). Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk. Results from the PROCAM study in healthy men. *Arterioscler. Thromb.*, **14**, 54-59.
166. Wilhelmsen, L., Svardsudd, K., Korsan-Bengsten, K., Larsson, B., Welin, L. and Tibblin, G. (1984). Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.*, **311**, 501-505.
167. Mead, T.W., Vickers, M.V., Thompson, S.G. and Seghatchian, M.J. (1985). The effect of physiological levels of fibrinogen on platelet aggregation. *Thromb. Res.*, **38**, 527-534.
168. Haust, M.D., Wyllie, J.C and Moke, R.H. (1965). Electron microscopy of fibrin in human atherosclerotic lesions. *Exp. Mol. Pathol.*, **4**, 205-216.
169. Gurewich, V., Lipinski, B. and Hyde, E. (1976). The effect of the fibrinogen concentration and the leukocyte count on intravascular fibrin deposition from soluble fibrin monomer complexes. *Thromb. Haemost.*, **36**, 605-614.

170. Rabbani, L.E. and Loscalzo, J. (1994). Recent observations on a role of hemostatic determinants in the development of the atherothrombotic plaque. *Atherosclerosis*, **105**, 1-7.
171. Thompson, W.D. and Smith, E.B. (1989). Atherosclerosis and the coagulation system. *J. Pathol.*, **159**, 97-106.
172. Broze, G.J. and Majerus, P.W. (1980). Purification and properties of human coagulation factor VII. *J. Biol. Chem.*, **255**, 1242-1247.
173. Kisiel, W. and Mc Mullen, B.A. (1981). Isolation and characterization of human factor VIIa. *Thromb. Res.*, **22**, 375-380.
174. Miller GJ, Martin JC, Webster J, et.al. (1986). Association between dietary fat intake and plasma factor VII coagulant activity. A predictor of cardiovascular mortality. *Atherosclerosis*, **60**, 269-277.
175. Stringer, H.A.R., Swieten, P., Heijnen, H.F.G., Sixma, J.J. and Pannekoek, H. (1994). Plasminogen activator inhibitor - 1 released from activated platelets plays a key role in thrombolysis resistance. *Arterioscler. Thromb.*, **14**, 1452-1458.
176. Almer, L.O. and Oehlin, H. (1987). Elevated levels of the rapid inhibitor of plasminogen activator (t-PA) in the acute myocardial infarction. *Thromb. Res.*, **47**, 335-339.
177. Hamsten A, De Faire U, Walldius G, et.al. (1987). Plasminogen activator inhibitor in plasma : risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet*, **2**, 3-9.
178. Hashimoto, Y., Kobayashi, A., Yamazaki, N., Sugawara, Y., Takada, Y. and Takada, A. (1987). Relationship between age and plasma t-PA, PA-inhibitor and PA activity. *Thromb. Res.*, **46**, 625-633.
179. Juhan-Vague I, Alessi MC (1993). Plasminogen activator inhibitor 1 and atherothrombosis. *Thromb Haemost*, **70**, 138-143.

180. Chomiki, N., Henry, M., Alessi, M.C., Anfosso, F. and Juhan-Vague, I. (1994). Plasminogen activator inhibitor-1 expression in human liver and healthy or atherosclerotic vessel walls. *Thromb. Haemost.*, **72**, 44-53.
181. Lupu F, Bergonzelli GE, Heim DA, et.al. (1993). Localization and production of plasminogen activator inhibitor-1 in human healthy and atherosclerotic arteries. *Artrioscler. Thromb.*, **13**, 1090-1100.
182. Malinow, M.R. (1996). Plasma homocysteine : A risk factor for arterial occlusive diseases. *J. Nutr.*, **126**, 1238S-1243S.
183. Yarnell JWG, Baker IA, Sweetnam PM, et.al. (1991). Fibrinogen viscosity and white blood cell count are major risk factors for ischemic heart disease : the Caerphilly and Speedwell Collaborative Heart Disease Studies. *Circulation*, **83**, 836-844.
184. Ernst, E., Hammerschidt, D.E., Bagge, U., Matrai, A. and Dormandy, J.A. (1987). Leukocytes and the risk of ischemic diseases. *J. Am. Med. Assoc.*, **257**, 2318-2324.
185. Lowe, G.D.O., Wood, D.A., Douglas, J.T., et.al. (1991). Relationships of plasma viscosity, coagulation and fibrinolysis to coronary risk factors and angina. *Thromb. Haemost.*, **65**, 339-343.
186. Lowe, G.D.O. (1992). Blood viscosity, lipoproteins and cardiovascular risk. *Circulation*, **85**, 2329-2331.
187. Medalie, J.H., Levene, C., Papier, C., et.al. (1971). Blood groups, myocardial infarction and angina pectoris among 10000 adult males. *N. Engl. J. Med.*, **285**, 1348-1353.
188. Whincup, P.H., Cook, D.G., Philips, A.N. and Shaprt, A.G. (1990). ABO blood groups and ischaemic heart disease in British men. *Br. Med. J.*, **300**, 1679-1682.

189. Καβαζαράκης, Ε., Τσουκάτου, Θ., Σκούρου, Δ., Φουστούκου, Μ., Τσόλας, Γ. και Παναγούλια, Μ. (1991). Προληπτικός έλεγχος των λιπιδίων στα παιδιά. 29ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο.
190. Τσόλας, Γ., Καβαζαράκης, Ε., Τσουκάτου, Θ., Δήμου, Σ., Παναγούλια, Μ. και Σκούρου-Χατζηαργυρού, Δ. (1992). Προγνωστικοί δείκτες για την ανίχνευση παιδιών με διαταραχές των λιπιδίων. 30ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο.
191. Nora, J.J. (1980). Identifying the child at risk for coronary disease as an adult. A strategy for prevention. *J. Pediatr.*, **27**, 706-712.
192. Mc Namara, D.J. (1987). Effects of fat-modified diets on cholesterol and lipoprotein metabolism. *Annu. Rev. Nutr.*, **7**, 273-290.
193. Schaefer, E.J., Levy, R.I., Ernst, N.D., Van Sant, F.D. and Brewer, H.B. (1981). The effects of low cholesterol, high polyunsaturated fat and low fat diets on plasma lipid and lipoprotein cholesterol levels in normal and hypercholesterolemic subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 1756-1763.
194. Καφάτος, Α. (1993). Διαιτολογική αντιμετώπιση της υπερχοληστεριναιμίας. Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας.
195. Milfred, S., Albano, E. and Bellomo, J. (1997). Suitability of chemical in vitro models to investigate LDL oxidation : study with different initiating conditions in native and a-tocopherol-supplemented LDL. *Clin. Chem.*, **43/8**, 1436-1441.
196. Witzum, J.L. (1994). The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* (comment), **344**, 1363-1364.
197. Zambon, A. (1997). Lipid lowering drugs. Use individually and in combination. 2nd Physician's Education Course on Clinical Management of lipid Disorders. Athens, Greece.

198. Thomas, D., Richard, J.L., Emmerich, J., Bruckert, E. and Delahaye, F. (1992). La regression de l'atherosclerose est-elle possible? *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.*, **85/3**, 47-57.
199. Shepherd, J. (1991). Progression and regression of atheroma. *Postgrad. Med. J.*, **67**, (Suppl) S29-S32.
200. Armitage, P. and Berry, G. (1994). *Statistical methods in medical research*. Blackwell Science Ltd Oxford, UK.
201. Witmer, S. (1999). *Statistics for the life sciences*. Prentice Hall, New Jersey, USA.
202. Riffenburgh, R.H. (1999). *Statistics in Medicine*. Academic Press UK, USA.
203. Miller, N.E. (1987). Association of high- density lipoprotein subclasses and apolipoproteins with ischaemic heart disease and coronary atherosclerosis. *Am. Heart J.*, **113**, 589-597.
204. Robinson, D., Ferns, G.A. and Bevan, E.A. (1987). High density lipoprotein subfractions and coronary risk factors in normal men. *Atherosclerosis*, **7**, 341-347.
205. Sweetman, P.M., Bolton, C.H., Yarnell, J., Bainton, D., Baker, I.A., Elwood, P. and Miller, N.E. (1994). High density lipoprotein subclasses as coronary heart disease risk factors in British men : the Speedwell Study. *Circulation*, **80**, II-207.
206. Sweetman, P.M., Bolton, C.H., Yarnell, J., Bainton, D., Baker, I.A., Elwood, P. and Miller, N.E. (1994). Associations of the HDL2 and HDL3 cholesterol subfractions with the development of ischaemic heart disease in British men. The Caerphilly and Speedwell Collaborative heart disease studies. *Circulation*, **90**, 769-774.
207. Kannel, W.B., Castelli, W.P., Gordon, T. and Mc Namara, P.M. (1971). Serum cholesterol, lipoproteins and the risk of coronary heart disease. *Ann. In. Med.*, **74**, 1-12.

208. Kannel, W.B., Dawber, T.R., Friedman, G.D., Glennon, W.E. and Mc Namara, P.M. (1964). Risk factors in coronary heart disease. The Framingham study. *Ann. In. Med.*, **61**, 888-899.
209. Dawber, T.R. (1980). *The Framingham Study : the epidemiology of atherosclerotic disease*. Cambridge Massachusetts : Harvard University Press.
210. Durrington, P.N., Hunt, L., Ishola, M., Kane, J. and Stephens, W.P. (1986). Serum apolipoproteins A-I and B and lipoproteins in middle aged men with and without previous myocardial infarction. *British Heart Journal*, **56**, 206-212.
211. Collet, X., Perret, B., Simard, G., Raffai, E. and Marcel, Y.L. (1991). Differential effects of lecithin and cholesterol on the immunoreactivity and conformation of apolipoprotein A-I in high density lipoproteins. *J. Biol. Chem.*, **266**, 9145-9152.
212. Calabresi, L., Meng, Q.H., Castro, G.R. and Marcel, Y.L. (1993). Apolipoprotein A-I conformation in discoidal particles : evidence for alternate structures. *Biochemistry*, **32**, 6477-6484.
213. Austin, M.A. (1991). Plasma triglycerides and coronary heart disease. *Arterioscler. Thromb.*, **11**, 2-14.
214. Dahlen, G.H. (1994). Lp(a) lipoprotein in cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, **108**, 111-126.
215. Durrington, P.N., Hunt, L., Ishola, M., Arrol, S. and Bhatnagar, D. (1988). Apolipoproteins (a), A-I and B and parental history in men with early onset ischaemic heart disease. *Lancet*, **I**, 1070-1073.
216. Armstrong, V.W., Creamer, P., Eberle, E., et. al. (1986). The association between serum Lp(a) concentration and angiographically assessed coronary atherosclerosis. Dependence on serum LDL levels. *Arteriosclerosis*, **6**, 249-257.

217. Kostner, G.M., Avogaro, P., Cozzolato, G., Marth, E., Billoto-Bon, G. and Quinci, G.B. (1981). Lipoprotein Lp(a) and the risk for myocardial infarction. *Atherosclerosis*, **39**, 51-61.
218. Campos, H., Genest, J.J., Blijlevens, E. et.al. (1992). *Arterioscler. Thromb.*, **12**, 187-195.
219. Swinkels, D.W., Demacker, P.N.M., Hendrics, J.C.M. and Van't Laar, A. (1989). Low density lipoprotein subfractions and relationship to other risk factors for coronary artery disease in healthy individuals. *Arteriosclerosis*, **9**, 604-613.
220. Superko, H.R., Haskell, W.L., Krauss, R.M. (1993). Association of lipoprotein subclass distribution with the use of selective and non-selective beta-blocker medications in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis*, **101**, 1-18.
221. Freeman, D.J., Griffin, B.A., Murray, E. and Linsay, G.M. (1993). Smoking and plasma lipoproteins : effects on low density lipoprotein cholesterol levels and high density lipoprotein subfraction distribution. *Eur. J. Clin. Invest.*, **23**, 630-640.
222. Austin, M.A., Breslow, J.L., Hennekens, C.H., Buring, J.E., Willett, W.C. and Krauss, R.M. (1988). Low density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *J. Am. Med. Assoc*, **260**, 1917-1921.
223. Rajman, I., Kendall, M.J., Cramb, R., Holder, R.L., Salih, M. and Gammage, M.D. (1996). Investigation of low density lipoprotein subfractions as a coronary risk factor in normotriglyceridaemic men. *Atherosclerosis*, **125**, 231-242.
224. Austin, M.A. and Krauss, R.M. (1986). Genetic control of low density lipoprotein subclasses. *Lancet*, **ii**, 592-597.
225. Austin, M.A., King, M-C., Vranizan, K.M. and Krauss, R.M. (1990). Atherogenic lipoprotein phenotype : a proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation*, **82**, 495-506.