

ΕΘΝΙΚΟΝ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΝ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΝ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Β' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
Διευθύντρια: Μαρία Τσολιά, Αν. Καθηγήτρια Παιδιατρικής

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ - ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗΣ
Διευθυντής: Δημήτριος Γουργιώτης, Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Θέμα: «Πρόσθετοι δείκτες αθηρωμάτωσης σε παιδιά με δυσλιπιδαιμία».

ΣΤΥΛΙΑΝΗ Ν. ΒΟΡΡΕ
ΕΙΔΙΚΕΥΟΜΕΝΗ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΑΘΗΝΑ, 2015

ΕΘΝΙΚΟΝ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΝ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΝ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Β' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθύντρια: Μαρία Τσολιά, Αν. Καθηγήτρια Παιδιατρικής

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ - ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗΣ

Διευθυντής: Δημήτριος Γουργιώτης, Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Θέμα: «Πρόσθετοι δείκτες αθηρωμάτωσης σε παιδιά με δυσλιπιδαιμία».

ΣΤΥΛΙΑΝΗ Ν. ΒΟΡΡΕ

ΕΙΔΙΚΕΥΟΜΕΝΗ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ

Τόπος εκπόνησης της Διδακτορικής Διατριβής

Ιατρείο Διαταραχών των Λιπιδίων

Β' Πανεπιστημιακής Παιδιατρικής Κλινικής

Υπεύθυνη: Αναστασία Γαρούφη, Αν. Καθηγήτρια Παιδιατρικής

ΑΘΗΝΑ, 2015

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΑΙΤΗΣΗΣ ΓΙΑ ΕΚΠΟΝΗΣΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: 01/10/2007

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 14/11/2007

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΘΕΜΑΤΟΣ: 29/06/2009

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: 29/09/2014

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

Δημήτριος Καφετζής: Ομότιμος Καθηγητής Παιδιατρικής, Ιατρική Σχολή
Πανεπιστημίου Αθηνών

ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δημήτριος Καφετζής: Ομότιμος Καθηγητής Παιδιατρικής, Ιατρική Σχολή
Πανεπιστημίου Αθηνών

Σταμάτης Θεοχάρης: Αναπληρωτής Καθηγητής, Α' Εργαστήριο Παθολογικής
Ανατομικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

Αναστασία Γαρούφη: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής, Β'ΠΠΚ, Ιατρική
Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δημήτριος Καφετζής: Ομότιμος Καθηγητής Παιδιατρικής, Ιατρική Σχολή
Πανεπιστημίου Αθηνών

Δημήτριος Γουργιώτης: Διευθυντής Εργαστηρίου Κλινικής Βιοχημείας -
Μοριακής Διαγνωστικής, Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας, Ιατρική Σχολή
Πανεπιστημίου Αθηνών

Μαρία Τσολιά: Διευθύντρια Β'ΠΠΚ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής,
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

Αναστασία Γαρούφη: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής, Β'ΠΠΚ, Ιατρική
Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

Σταμάτης Θεοχάρης: Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής, Α'
Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

Χριστίνα Κανακά: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας,
Μεταβολισμού και Διαβήτη, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

Αλεξάνδρα Σολδάτου: Επίκουρη Καθηγήτρια Παιδιατρικής, Β'ΠΠΚ, Ιατρική
Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

NATIONAL AND KAPODISTRIAN
UNIVERSITY OF ATHENS

SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE

2ND DEPARTMENT OF PEDIATRICS

P. & A. KYRIAKOU CHILDREN'S HOSPITAL

Director: Maria Tsolia, Associate Professor of Pediatrics, Athens University

**RESEARCH LABORATORY OF CLINICAL BIOCHEMISTRY- MOLECULAR
DIAGNOSTICS**

Director: Dimitrios Gourgiotis, Professor of Clinical Biochemistry, Athens
University

THESIS

Title: **“Additional markers of atheromatosis in children with dyslipidemia”.**

**STYLIANI N. VORRE
RESIDENT IN PAEDIATRICS**

LIPID OUTPATIENT CLINIC

Director: Anastasia Garoufi, Associate Professor of Pediatrics, Athens
University

ATHENS 2015

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ – ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	Σελίδα 4
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	5- 8
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ ΟΡΩΝ	9- 10

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	12-13
----------	-------

A. ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ

1. Ορισμός	14
2. Παθοφυσιολογία – Παθογένεια	14-16
3. Αίτια αθηρωμάτωσης	16-19
4. Κλινικές εκδηλώσεις αθηρωμάτωσης	19
5. Υποκλινική αθηρωμάτωση	20
5.1. cIMT	21-22
5.2. FMD	23-24
5.3. PWV	24-25

B. ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΕΣ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ

1. Λιποπρωτεΐνες (TC, LDL-C, HDL-C, TGs, non-HDL-C)	26-27
2. Απολιποπρωτεΐνες (apoA-I, apoB)	28
3. Λιποπρωτεΐνη α (Lpα)	28-29
4. Ορισμός δυσλιπιδαιμίας	29-30
5. Τύποι δυσλιπιδαιμίας στα παιδιά	30-36
5.1. Οικογενής υπερχοληστερολαιμία (FH)	32-34
5.2. Οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία (FCH)	34
5.3. Πολυγονιδιακή υπερχοληστερολαιμία	34-35
5.4. Δευτεροπαθείς δυσλιπιδαιμίες	35-36
6. Αντιμετώπιση δυσλιπιδαιμίας στα παιδιά	36
6.1. Αλλαγές στον τρόπο ζωής	36
1.1. Αλλαγές στη διατροφή	36-39
1.2. Φυσική άσκηση	40
6.2. Φαρμακευτική αγωγή	40-43
6.3. Άλλες θεραπείες – Νεώτερες θεραπείες	43

Γ. ΠΡΟΣΘΕΤΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗΣ

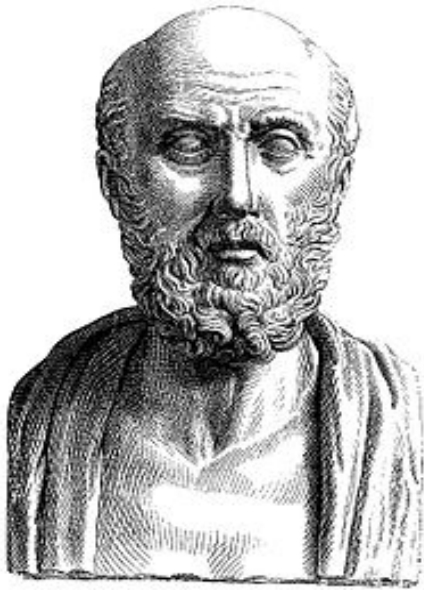
1. sdLDL-C	44-51
2. U-II	52-56
3. Ox-LDL-Abs	57-60

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	62
B. ΥΛΙΚΟ & ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΜΕΛΕΤΗΣ	63-69
B.1. Μέθοδοι προσδιορισμού	66-69
1.1. Προσδιορισμός λιποπρωτεϊνών – απολιποπρωτεϊνών	66
1.2. Προσδιορισμός sdLDL-C	66
1.3. » U-II	66
1.4. » Ox-LDL-Abs	66,67
B.2. Στατιστική ανάλυση	70
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΛΕΤΗΣ	
Γ.1. Επίπεδα της sdLDL-C	71-77
1.1. Στο σύνολο των παιδιών	71-74
1.2. Επίδραση των φυτικών στερολών στα επίπεδα της sdLDL-C	74-77
1.3. Επίδραση της φαρμακευτικής αγωγής στα επίπεδα της sdLDL-C	73
Γ.2. Επίπεδα της ουροτενσίνης II	78-79
Γ.3. Αντισώματα έναντι της oxLDL	80-82
Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	
Δ.1. sdLDL-C	83-84
Δ.2. U-II	84-85
Δ.3. Ox-LDL-Abs	85-87
Δ.4. Περιορισμοί της μελέτης	87
E. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	88
ΣΤ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	89-90
Z. ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ - SUMMARY	91-92
H. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	93-105
Θ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α	
I. Ιστορικό ασθενών	106-109
II. Ενημερωτικό σημείωμα για τους γονείς	110
III. Έντυπο συγκατάθεσης συμμετοχόντων στο ερευνητικό πρωτόκολλο	111
I. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β - ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ	112-117

ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ

ΑΡΧΑΙΟ ΚΕΙΜΕΝΟ



Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ
Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ
Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ
πάσας, ἱστορας ποιεύμενος,
ἐπιτελέα ποιήσῃν κατὰ δύναμιν καὶ
κρίσιν ἐμὴν ὄρκον τόνδε καὶ
συγγραφὴν τήνδε. ἡγήσασθαι μὲν
τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην
ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου
κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι
μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ
ἐξ ωυτέου ἀδελφοῖς ἴσον

ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξῃν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μανθάνειν, ἄνευ
μισθοῦ καὶ συγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης
μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ
μαθηταῖσι συγγεγραμμένοις τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί.
Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ
δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρξῃν. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς
θανάσιμον, οὐδὲ ὑφηγήσομαι συμβουλίην τοιήνδε. ὁμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν
φθόριον δώσω. Ἀγνῶς δὲ καὶ ὁσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμήν.
Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε.
Ἐς οἰκίας δὲ ὁκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν
πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίης, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε
γυναικείων σωμάτων καὶ ἀνδρώων, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ
ἦ ἴδω, ἦ ἀκούσω, ἦ καὶ ἄνευ θεραπειῆς κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρή ποτε
ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἡγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν
μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιεόντι, καὶ μὴ συγχέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης
δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. παραβαίνοντι δὲ καὶ
ἐπιορκοῦντι, τάναντία τουτέων.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ

ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

Ορκίζομαι στον Απόλλωνα το γιατρό, και στον Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και όλους τους θεούς και όλες τις θεές μάρτυρες βάζω, πως θα τηρήσω τον όρκο μου αυτό, και αυτό το συμβόλαιο, όσο θα διατηρώ τις δυνάμεις μου και την κρίση μου.

Το μεν διδάξαντα με την τέχνη αυτή, θα τιμώ όσο και τους δικούς μου γονείς, και θα τον κάνω κοινωνό του δικού μου βίου και θα του οφείλω τα νενομισμένα.

Τους δε γιους του, θα θεωρώ ίσους προς αδερφούς μου, και θα τους διδάξω την τέχνη αυτή, αν νοιώθουν την ανάγκη να την μάθουν, χωρίς μισθό και χωρίς έγγραφο συμβόλαιο.

Θα διδάξω τα προφορικά και γραπτά μαθήματα και όλη γενικά την υπόλοιπη εξάσκηση του επαγγέλματος, μόνο στους δικούς μου γιους, στους γιους του διδασκάλου μου, και σε μαθητές που με όρκο και σύμβολαιο, κατά τους άγραφους νόμους της ιατρικής, θα έχουν συνδεθεί μαζί μου. Σε κανέ-νυν άλλο.

Θα χρησιμοποιήσω τις θεραπευτικές δίαιτες, μόνο προς όφελος των ασθενών, όσο μπορώ και όπως κρίνω ορθό, να αποφύγω δε κάθε βλάβη και αδικία.

Δεν θα χορηγήσω κανένα θανατηφόρο φάρμακο, όποιος κι αν μου το ζητήσει και δεν θα δώσω καμία τέτοια συμβουλή.

Επίσης δεν θα δώσω σε καμία γυναίκα φάρμακο εκτρωτικό.

Αγνό και θείο θα διατηρήσω όλο μου το βίο, καθώς και την τέχνη μου.

Να μην ευνουχήσω δε κανένα, όπως το ζητούν, αφήνοντας την εργασία αυτή, για άλλους που ασχολούνται με τέτοιες πράξεις.

Σε όσα σπίτια πηγαίνω, θα εισέρχομαι μόνο προς όφελος των ασθενών, μακριά από κάθε θεληματική αδικία και βλάβη. Και μακριά από αφροδίσιες πράξεις, επί γυναικεύον σο)μάτο)ν και αντρικών, ελευθέρων ή δούλων.

Οσα κατά τις θεραπείες ακούσω ή θα δω ή και πέραν της ασχολίας μου στην καθημερινή ζωή των ανθρώπων, για τα οποία δεν πρέπει να λέγεται τίποτε, Οα σιωπώ θεωρώντας τα ως εμπιστευτικά μυστικά. Όσο τον όρκο μου λοιπόν θα τηρώ και δεν θα τον παραβαίνω, είθε να έχω καλό όνομα και στη ζωή και στη τέχνη μου και να με εκτιμούν για πάντα όλοι οι άνθρωποι.

Εάν δε παραβώ τον όρκο μου και επιορκήσω, να πάθω τα αντίθετα.

Στην οικογένειά μου

Στους συνεργάτες μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ..

Αποτελεί ιδιαίτερη χαρά για εμένα η ευκαιρία που μου δίνεται, μέσω αυτού του συγγράμματος, να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στην δημιουργία και ολοκλήρωση του.

Πρωταρχικά, νοιώθω ιδιαίτερη τιμή που ο Καθηγητής Παιδιατρικής, **κος Ανδρέας Κωνσταντόπουλος** με βοήθησε στο αρχικό ξεκίνημα της Διδακτορικής Διατριβής και με εμπιστεύτηκε ώστε να μπορώ να παρακολουθώ το έργο της Β' Παιδιατρικής Πανεπιστημιακής Κλινικής, με σκοπό να επιλέξω το αντικείμενο της έρευνάς μου.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα επίσης να αποδώσω στον Καθηγητή Παιδιατρικής, **κ. Δημήτριο Καφετζή**, που ανέλαβε να είναι ο Επιβλέπων της Τριμελούς Επιτροπής της ερευνητικής μου εργασίας και να με συνεπικουρεί όπου χρειαζόταν.

Δε θα μπορούσα να μην εκφράσω την ιδιαίτερη εκτίμηση, αγάπη, αφοσίωση και ευγνωμοσύνη μου στην Επιστημονικά Υπεύθυνη της ερευνητικής εργασίας, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, **κα Αναστασία Γαρούφη**.

Θερμά συναισθήματα εκφράζω προς τον αγαπημένο Καθηγητή, **κ. Δημήτριο Γουργιώτη** και **το προσωπικό του εργαστηρίου του**, χωρίς την συμβολή των οποίων αυτή η διατριβή δε θα μπορούσε να επιτελεστεί. Πάντα, πρόθυμα, με βοηθούσαν και με εμψύχωναν σε όλη τη πορεία της ερευνητικής εργασίας μέχρι την ολοκλήρωσή της.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω προς τη Διευθύντρια - Συντονίστρια του Βιοχημικού τμήματος, **κα Ειρήνη Παρασκάκη** και στους συνεργάτες της, Βιοχημικό, **κ. Αντώνιο Δρακάτο** και Βιολόγο, **κα Αλέκα Παναγούλια**, δίχως τη βοήθεια των οποίων η ολοκλήρωση της Διδακτορικής Διατριβής δεν θα ήταν εφικτή.

Ο Αναπληρωτής Καθηγητής, **κος Σταμάτης Θεοχάρης**, υποστήριξε σημαντικά την προσπάθειά μου αυτή και θα ήθελα επίσης να τον ευχαριστήσω θερμά.

Στο σημείο αυτό, νοιώθω την εσωτερική ανάγκη να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια, **κα Χρύσα Μπακούλα** και στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια και Διευθύντρια της Β' ΠΠΚ, **κα Μαρία Τσολιά** για την ένθερμη υποστήριξή τους.

Επιπροσθέτως, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου **προς όλους τους συναδέλφους** με τους οποίους συνεργάστηκα σε όλη τη διαδρομή της Διδακτορικής Διατριβής.

Θα ήταν παράλειψη εκ μέρους μου να μην αναφερθώ στην πολύτιμη βοήθεια του **νοσηλευτικού προσωπικού της Β' ΠΠΚ**, που παρά τις εργασιακές δυσκολίες στηρίζουν τις προσπάθειες των υποψηφίων Διδακτόρων.

Σε όλη αυτή την προσπάθεια μέγας αρωγός ήταν **η οικογένειά μου**, την οποία ευχαριστώ από καρδιάς.

Προσωπικά, η εκπόνηση της παρούσης Διδακτορικής Διατριβής ήταν πάνω από όλα μία μοναδική ευκαιρία, την οποία αγάπησα πολύ και **σας ευχαριστώ όλους σας** γι αυτό.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Όνοματεπώνυμο	Στυλιανή Βορρέ του Νικολάου	
Ημερομηνία γεννήσεως	11 Ιουνίου 1979	
Τόπος γεννήσεως	Αθήνα	
Υπηκοότητα	Ελληνική	
Διεύθυνση	Ηρακλειδών 4 Βούλα Τ.Κ. 16673	
Τηλέφωνα	Κιν: 697 - 20 32 569	Σταθερό: 210- 8991983
E-mail	stellavor@gmail.com	

1. ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- 06/2011 - σήμερα: **Ειδικότητα Παιδιατρικής Β'** Πανεπιστημιακή Παιδιατρική Κλινική, Νοσοκομείο Παίδων «Π. & Α.» Κυριακού
- 2007-2014: Συνεργάτης στο Ιατρείο Διαταραχών των Λιπιδίων της Β' Πανεπιστημιακής Παιδιατρικής Κλινικής του Νοσοκομείου Παίδων «Π. & Α.» Κυριακού, Υπεύθυνη Ιατρείου, Αν. Καθηγήτρια Παιδιατρικής, Αναστασία Γαρούφη
- 2007-2014: **Εκπόνηση διδακτορικής διατριβής** με θέμα: «πρόσθετοι δείκτες αθηρωμάτωσης σε παιδιά με υπερλιπιδαιμία» (κατάθεση τίτλου 01/10/2007)
- 07/2010: **European school**, Summer courses "**Public Health Approaches to Maternal, Neonatal, Child and Adolescent Health**"
- 20/5/2007: **Απόκτηση τίτλου APLS παρόχου** (Επείγουσα αναζωογόνηση στα παιδιά)
- 09/2005-11/2005: **Τρίμηνη εκπαίδευση ως αγροτικός ιατρός** στο Γ.Ν.Κορίνθου
- 1999-2005: **Απόφοιτος της Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Πατρών**, 25/07/2005 με βαθμό πτυχίου «Λίαν καλώς»
- 1997: **Απόφοιτος Ελληνικού Λυκείου** με βαθμό 19 κ 5/9

ΕΡΓΑΣΙΑΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 06/2011- σήμερα : Ειδικευόμενη Παιδιατρικής Β'ΠΠΚ
- 09/2007- σήμερα: Επιστημονικός συνεργάτης Ιατρείου Διαταραχών Λιπιδίων Β'ΠΠΚ, υποψήφια διδάκτορας με θέμα «πρόσθετοι δείκτες αθηρωμάτωσης σε παιδιά με υπερλιπιδαιμία»
- 2007-2008: Μαθήματα Ιατρικής Ορολογίας σε ΙΕΚ του Δημοσίου
- 2006-2007: Ελεγκτής Ιατρός του ΟΠΑΔ
- 11/2005-02/2007: Αγροτικός Ιατρός, ΠΙ Πύργου Κορινθίας

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- 2005: Συμμετοχή σε Ευρωπαϊκά μαθήματα κατόπιν επιλογής από την σχολή ESO (European School of Oncology) πάνω σε θέματα ογκολογίας
- 2005: Κλινικές επιλογής: Επείγουσα Ιατρική, Λοιμώδη νοσήματα, Ογκολογία
- Παρουσίαση προπτυχιακής εργασίας «Λαπαροσκοπική χολοκυστεκτομή» κατά τη διάρκεια της Χειρουργικής Κλινικής
- 2004: Συμμετοχή στο πρόγραμμα της Ε.Ε.Φ.Ι.Ε. «Απόβαση στα Ακριτικά Νησιά», 15ημερο στην Τήλο, χρήση του συστήματος Τηλεϊατρικής
- 2004: Απόφοιτος μαθημάτων επείγουσας ιατρικής του Ερυθρού Σταυρού
- 2003-2004: Παρακολούθηση στην Κλινική της Παθολογίας και στο ερευνητικό κέντρο Διαβήτη του Γ.Ν. Ευαγγελισμού κατά την διάρκεια των καλοκαιρινών διακοπών.
- 2003: Παρακολούθηση στην Παθολογική Κλινική ιδιωτικού νοσοκομείου (Ιατρικό Αθηνών) κατά τις καλοκαιρινές διακοπές

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΜΕ ΟΜΙΛΙΕΣ

1. 1^ο Μετεκπαιδευτικό φροντιστήριο με θέμα «Δυσλιπιδαιμίες σε Παιδιά και Εφήβους». Ομιλία με θέμα «Φυσική δραστηριότητα»
2. 2^ο Μετεκπαιδευτικό φροντιστήριο με θέμα «Χοληστερόλη και Παιδί», Όσα πρέπει να γνωρίζει ο Παιδίατρος. Ομιλίες με θέμα «Πρωτοπαθείς δυσλιπιδαιμίες» και «Αλλαγές στη φυσική δραστηριότητα»

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΓΓΡΑΦΗ ΒΙΒΛΙΩΝ

1. Δυσλιπιδαιμίες σε Παιδιά και Εφήβους, Α.Γαρούφη και Γ. Τσόλας, Αθήνα 2009
2. «Χοληστερόλη και Παιδί», Όσα πρέπει να γνωρίζει ο Παιδίατρος. Α.Γαρούφη, Αθήνα 2014

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

A. ΔΙΕΘΝΗ

1. Effectiveness of dietary plant sterols on lowering LDL-cholesterol in children and adolescents.
S. Vorre, E. Klinaki, E. Tsouvalas, A. Drakatos, A. Marmarinos, A. Garoufi . Second Excellence in Paediatrics 2010, London, Acta Paediatrica 2010, 99(462): 41.
2. Comparative abnormal lipid disorders in overweight and obese children in a rural area of a Greek Island.
E. Grammatikos, E. Grammatikos, E. Karagiaouri, E. Klinaki, A. drakatow, H. Critseli, S. Vorre, A. Garoufi. Second Excellence in Paediatrics 2010, London, Acta Paediatrica 2010, 99(462): 62-63.

B. ΕΛΛΗΝΙΚΑ

1. Η θέση των φυτικών στερολών στην αντιμετώπιση παιδιών με δυσλιπιδαιμία.
Α. Παγώνη, Χ. Τσεντίδης, Σ. Βορρέ, Ε.Κλινάκη, Α. Δρακάτος, Π. Δροσάτου, Α. Γαρούφη. 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λιπιδιολογίας, Αθηροσκλήρωσης και Αγγειακής Νόσου, Ρ25, σελ 56, Αθήνα 2012
2. Μελέτη των αντισωμάτων έναντι της οξειδωμένης LDL σε παιδιά και εφήβους με υπερχοληστερολαιμία.
Α. Γαρούφη, Ε. Παρασκάκη, Α. Δρακάτος, Σ. Βορρέ, Ε. Κλινάκη, Α. Παγώνη, Α. Μαρμαρινός, Δ. Γουργιώτης. 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λιπιδιολογίας, Αθηροσκλήρωσης και Αγγειακής Νόσου, Ρ24, σελ 55 Αθήνα 2012
3. Μελέτη των αντισωμάτων της οξειδωμένης LDL σε παιδιά και εφήβους με και χωρίς διαταραχές των λιπιδίων.
Π. Χλαπουτάκη, Α. Δρακάτος, Δ.Γουργιώτης, Σ. Βορρέ, Ε. Γραμματικός, Α. Μαρμαρινός, Σ. Δήμου, Α. Γαρούφη, Ε. Παρασκάκη (4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατρικής Βιοχημείας, Ρ28, σελ 121, Θεσσαλονίκη 2012)
4. Παρουσίαση ερευνητικής εργασίας :«Πρόσθετοι παράγοντες κινδύνου σε παιδιά με δυσλιπιδαιμία» (3^ο Συνέδριο Παιδιατρικής της Β΄ΠΠΚ, Λήμνος 2010)
5. Παρουσίαση προπτυχιακής εργασίας “Πρόληψη και Ογκολογία, πρωτογενής και δευτερογενής πρόληψη” στο συνέδριο «Εξελίξεις στην Ογκολογία», Πάτρα 2005, και στο συνέδριο της Ε.Ε.Φ.Ι.Ε. στην Αλεξανδρούπολη (2005)

ΠΛΗΡΕΙΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. **Plant sterols-enriched diet decreases small, dense LDL-cholesterol levels in children with hypercholesterolemia: a prospective study.**
Garoufi A, **Vorre S**, Soldatou A, Tsentidis C, Kossiva L, Drakatos A, Marmarinos A, Gourgiotis D. Ital J Pediatr. 2014 May 3;40:42.
2. **A toddler with acute flaccid paralysis due to West Nile virus infection.**
Soldatou A, Vartzelis G, **Vorre S**, Papa A, Voudris K, Garoufi A. Pediatr Infect Dis J. 2013 Sep;32(9):1023-4.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΥΠΟ ΜΟΡΦΗ ABSTRACT

1. **Effectiveness of dietary plant sterols on lowering LDL-cholesterol in children and adolescents.**
S. Vorre, E. Klinaki, E. Tsouvalas, A. Drakatos, A. Marmarinos, A. Garoufi . Acta Paediatrica 2010, 99(462): 41.
2. **Comparative abnormal lipid disorders in overweight and obese children in a rural area of a Greek Island.**
E. Grammatikos, E. Grammatikos, E. Karagiaouri, E. Klinaki, A. drakatow, H. Critseli, S. Vorre, A. Garoufi. Acta Paediatrica 2010, 99(462): 62-63.

ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ

- Ελληνικά: 32 (22 Παιδιατρικά)
- Διεθνή και Ευρωπαϊκά: 3 (1 Παιδιατρικό)

ΜΗΤΡΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

ΠΤΥΧΙΑ ΞΕΝΩΝ ΓΛΩΣΣΩΝ

ΑΓΓΛΙΚΑ : Michigan Proficiency (03/2002),
ΓΑΛΛΙΚΑ: B1 (05/2009)

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ ΟΡΩΝ

ΑΕΕ	Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο
ΔΜΣ	Δείκτης Μάζας Σώματος
ΚΑΝ	Καρδιαγγειακή νόσος
ΜΣ	Μεταβολικό σύνδρομο
ΟΕΜ	Οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου
ΠΑΝ	Περιφερική αγγειακή νόσος
ΠΙ	Περίμετρος ισχίων
ΠΚΑΝ	Πρώιμη καρδιαγγειακή νόσος
ΠΜ	Περίμετρος μέσης
ΠΟΥ	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
Προ-προ-U-II	Πρόδρομο μόριο της U-II
ΣΔ-1	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1
ΣΔ-2	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2
ΧΝΑ	Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια
ACAT-1	Acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase-1
AHA	American Heart Association
aIMT	Πάχος του έσω και μέσου χιτώνα της κοιλιακής αορτής
apoB	Απολιποπρωτεΐνη Β
apoB100	Απολιποπρωτεΐνη Β100
apoA-I	Απολιποπρωτεΐνη Α-I
c-IMT	Πάχος του έσω και μέσου χιτώνα των καρωτίδων
FCH	Οικογενής συνδυασμένη υπερχοληστερολαιμία
FH	Οικογενής υπερχοληστερολαιμία
FMD	Flow Mediated Dilatation
HDL	Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
HDL-C	Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης-χοληστερόλη
HeFH	Ετερόζυγη οικογενής υπερχοληστερολαιμία
HoFH	Ομόζυγη οικογενής υπερχοληστερολαιμία
hU-II	Ανθρώπινη U-II
IDL	Ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
IMT	Intima Media Thickness
LDL	Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
LDL-C	Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης- χοληστερόλη
IdLDL	μεγάλα, μικρότερης πυκνότητας μόρια της LDL
LDL-R	Υποδοχέας της LDL
Log UII	Λογάριθμος ουροτενσίνης II
Lp(a)	Λιποπρωτεΐνη α
NAHNES	National Health and Nutrition Examination Surveys
N-BNP	N-terminal brain natriuretic peptide
NCEP	National Cholesterol Education Program
NHLBI	National Heart, Lung and Blood Institute

NO	Οξείδιο του αζώτου
non-HDL-C	TC - (HDL-C)
oxLDL	Οξειδωμένη LDL
ox-LDL-Abs	Αντισώματα έναντι της οξειδωμένης LDL-C
oxLDL-C	Οξειδωμένα μόρια της LDL-C
Pattern A	Φαινότυπος A, επικράτηση των μεγάλων, μικρότερης πυκνότητας μορίων της LDL
Pattern B	Φαινότυπος B, επικράτηση των μικρών και πυκνών μορίων της LDL
PDAY	Pathological Determinants in Youth
PWV	Pulse Wave Velocity
ROS	reactive oxygen species
sdLDL	μικρά και πυκνά μόρια της LDL
sdLDL-C	Μικρά και πυκνά μόρια της LDL-C
TC	Ολική χοληστερόλη
TGs	Τριγλυκερίδια
U-II	Ουροτενσίνη II
UT	Υποδοχέας της U-II
VLDL	Πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η κλινικά έκδηλη αθηρωμάτωση αποτελεί την πρώτη αιτία θανάτου παγκοσμίως, με μεγάλη νοσηρότητα και συναισθηματικό βάρος. Για παράδειγμα, ένας στους πέντε αμερικανούς άρρενες πολίτες θα υποστεί έκδηλη στεφανιαία νόσο πριν τα εξηκοστά γενέθλιά του¹.

Από τις αρχές του 19^{ου} αιώνα επιβεβαιώθηκε η παρουσία αθηρωματικών βλαβών στο τοίχωμα των αγγείων παιδιών, γεγονός που οδήγησε τους ειδικούς να θεωρούν αναγκαία την πρόληψη και πρώιμη αντιμετώπιση της αθηρωμάτωσης, ήδη από την παιδική ηλικία². Η καλύτερη κατανόηση της παθοφυσιολογίας της νόσου και των πρόσθετων παραγόντων που επιδρούν στην εξέλιξή της είναι το κλειδί για την μείωση της επίπτωσής της.

Η δυσλιπιδαιμία είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου εμφάνισης αθηρωματικής και πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου (KAN)³. Αν και τα παιδιά και οι έφηβοι δεν έχουν κλινικές εκδηλώσεις αθηρωματικής νόσου, η παρουσία παραγόντων κινδύνου όπως είναι η δυσλιπιδαιμία, συμβάλουν στην εγκατάσταση και γρηγορότερη εξέλιξη της αθηρωματικής διεργασίας, με τελικό αποτέλεσμα την εμφάνιση των επιπλοκών της στην ενήλικη ζωή τους⁴.

Μέτρα πρόληψης με στόχο τη μείωση του κινδύνου πρώιμης KAN, πρέπει να λαμβάνονται όσο το δυνατόν νωρίτερα, ήδη από την παιδική ηλικία⁵. Η σωστή επομένως εκτίμηση του κινδύνου που διατρέχει το παιδί ή ο έφηβος, έτσι ώστε να αποφασιστεί ο καταλληλότερος χρόνος και τρόπος παρέμβασης, προβάλλει επιτακτική.

Η μελέτη μόνο των κλασικών παραγόντων κινδύνου όπως είναι οι διαταραχές των λιπιδίων και η υπέρταση, δεν αρκούν πάντα για την εκτίμηση του κινδύνου στα παιδιά⁶. Επομένως, η μελέτη όσο το δυνατόν περισσότερων δεικτών, οι οποίοι σχετίζονται στενά με την αθηρωματική διεργασία, μπορεί να μας βοηθήσει να ξεχωρίσουμε, με περισσότερη ασφάλεια, τα παιδιά που βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο.

Τα μικρά και πυκνά μόρια της LDL-C (sdLDL-C), η παρουσία αντισωμάτων έναντι των οξειδωμένων μορίων της LDL-C (ox-LDL-Abs) και η ουροτενσίνη II (U-II), είναι μερικοί από τους παράγοντες που έχουν μελετηθεί, κυρίως σε ενήλικες, σε σχέση με την

αθηρωματική και καρδιαγγειακή νόσο. Επομένως, η μελέτη αυτών των παραγόντων σε παιδιά με δυσλιπιδαιμία, ιδιαίτερα οικογενή, θα μπορούσε ίσως να συμβάλλει στην επιλογή των παιδιών που απαιτούν πιο πρώιμη και πιο επιθετική παρέμβαση.

Ακόμη, η μέτρηση του πάχους του μέσου και έσω χιτώνα των καρωτίδων (c-IMT), αποτελεί μια απλή, μη επεμβατική και χωρίς ιδιαίτερο κόστος μέθοδο, με την οποία μπορεί να εκτιμηθεί η υποκλινική αθηρωμάτωση, ήδη από τη μικρή ηλικία⁷.

Δεδομένου ότι οι πρώιμες αθηρωματικές βλάβες της παιδικής ηλικίας είναι αναστρέψιμες^{2,8,9}, η έγκαιρη αναγνώρισή τους και η αποτελεσματική αντιμετώπιση των παραγόντων κινδύνου, ιδιαίτερα στα παιδιά με πρωτοπαθή δυσλιπιδαιμία, είναι πολύ σημαντική για τη μείωση του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου αργότερα στην ενήλικη ζωή τους.

A. ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ

A1. Ορισμός

Ο όρος αθηρωμάτωση ή αθηροσκλήρυνση ή αρτηριοσκλήρυνση αναφέρεται σε χρόνια φλεγμονή των αρτηριών, η οποία είναι αποτέλεσμα της επίδρασης κάποιου βλαπτικού παράγοντα και οδηγεί σε πάχυνση του τοιχώματος, προοδευτική στένωση του αυλού και τελικά δυσλειτουργία τους. Επομένως, η αθηρωμάτωση είναι μια χρόνια φλεγμονώδης νόσος¹⁰.

A2. Παθοφυσιολογία

Σύμφωνα με την Αμερικάνικη Καρδιολογική Εταιρία (American Heart Association, ΑΗΑ), οι αθηροσκληρυντικές βλάβες ταξινομούνται ιστολογικά σε 6 κατηγορίες (Πίνακας 1)^{8,9}. Μονοκύτταρα του αίματος, μετά από βλάβη του ενδοθηλίου, προσκολλώνται σε αυτό και μεταναστεύουν υπενδοθηλιακά. Εκεί, ως μακροφάγα, προσλαμβάνουν λιποπρωτεΐνες, κατά το πλείστον οξειδωμένες LDL, και μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. Οι υπενδοθηλιακές αυτές βλάβες, μεγέθους μέχρι 1mm, εμφανίζονται ως κίτρινες κηλίδες του έσω χιτώνα, χαρακτηρίζονται ως «λιπώδη στίγματα» και αποτελούν την κατηγορία I των αθηροσκληρυντικών βλαβών. Τέτοιες βλάβες έχουν βρεθεί στα στεφανιαία αγγεία και στην αορτή ακόμη και βρεφών, ενώ είναι οι πρώτες βλάβες που παρατηρούνται σε μοντέλα ζώων στα οποία προκαλείται υπερχοληστερολαιμία. Οι βλάβες προοδευτικά μεγεθύνονται, υπεργείρονται και επιμηκύνονται. Λεία μυϊκά κύτταρα μεταναστεύουν από το μέσο στον έσω χιτώνα, δεσμεύουν επίσης λιποπρωτεΐνες και σχηματίζουν πρόσθετα αφρώδη κύτταρα. Τα μακροφάγα και τα λεία μυϊκά κύτταρα συσσωρεύονται, πολλαπλασιάζονται και συνεχίζουν, όσο επιμένει η υπερχοληστερολαιμία, να εγκολπώνουν λιπίδια, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται οι «λιπώδεις γραμμώσεις» (κατηγορία II αθηροσκληρυντικών βλαβών). Λίγες εναποθέσεις εξωκυτταρίων λιπιδίων μπορεί επίσης να παρατηρηθούν. Οι δύο αυτοί τύποι αλλοιώσεων εμφανίζονται από την παιδική ηλικία και υποστρέφουν στις περιπτώσεις που βελτιώνεται η υπερχοληστερολαιμία. Στην κατηγορία III κατατάσσονται οι ενδιάμεσες, μεταξύ των «λιπωδών γραμμώσεων» και των «αθηρωμάτων» (κατηγορία IV αθηροσκληρυντικών βλαβών), βλάβες. Χαρακτηρίζονται από πρόσθετες μικρές

συσσωρεύσεις εξωκυττάρων λιπιδίων και μορίων που διαρρηγνύουν τη συνέχεια των λείων μυϊκών κυττάρων του έσω χιτώνα. Μέχρι αυτό το στάδιο οι βλάβες δεν προκαλούν πάχυνση του αρτηριακού τοιχώματος και δεν εμποδίζουν ούτε διαταράσσουν τη ροή του αίματος στα αγγεία⁸. Η περαιτέρω εξέλιξη των βλαβών και η δημιουργία ενός πυρήνα από εξωκυττάρια λιπίδια -προϊόντα αποδόμησης αφρωδών κυττάρων- συνεπάγεται τη γένεση του «αθηρώματος». Η παραγωγή και εναπόθεση κολλαγόνου, ελαστίνης και γλυκοπρωτεϊνών και ο πολλαπλασιασμός των λείων μυϊκών κυττάρων γύρω από την εστία των αφρωδών κυττάρων μετατρέπει το «αθήρωμα» στο «ινώδες αθήρωμα» (κατηγορία V αθηροσκληρυντικών βλαβών). Τέλος, την κατηγορία VI των αθηροσκληρυντικών βλαβών αποτελούν οι «επιτεπλεγμένες πλάκες», δηλαδή τα αθηρώματα (κατηγορίας IV ή V) που έχουν υποστεί αλλοιώσεις με αποτέλεσμα ρήξη, αιμορραγία, θρόμβωση, ασβέστωση και δημιουργία εμβόλων⁹.

Πίνακας Α1. Στάδια αθηροσκληρυντικών βλαβών (Stary H et al. Circulation 1995;92:1355-1374)^{8,9}

Nomenclature and main histology	Sequences in progression	Main growth mechanism	Earliest onset	Clinical correlation
Type I (initial) lesion isolated macrophage foam cells	<pre>graph TD; I((I)) --> II((II)); II --> III((III)); III --> IV((IV)); IV --> V((V)); IV --> VI((VI)); V --> VI;</pre>	growth mainly by lipid accumulation	from first decade	clinically silent
Type II (fatty streak) lesion mainly intracellular lipid accumulation			from third decade	
Type III (intermediate) lesion Type II changes & small extracellular lipid pools				
Type IV (atheroma) lesion Type II changes & core of extracellular lipid		accelerated smooth muscle and collagen increase	from fourth decade	clinically silent or overt
Type V (fibroatheroma) lesion lipid core & fibrotic layer, or multiple lipid cores & fibrotic layers, or mainly calcific, or mainly fibrotic				
Type VI (complicated) lesion surface defect, hematoma-hemorrhage, thrombus		thrombosis, hematoma		

Αλλαγές στο χιτώνα των αγγείων και βλάβες όπως είναι οι λιπώδεις γραμμώσεις έχουν παρατηρηθεί σε υψηλού κινδύνου έμβρυα από την 34^η εβδομάδα κύησης². Στα μεγάλα αγγεία ατόμων ηλικίας 30 ετών, που κατέληξαν από άλλες αιτίες, έχουν διαπιστωθεί αθηροσκληρυντικές βλάβες όλων των σταδίων. Ο McGill, το 1974,

περιέγραψε τρεις κατηγορίες λιπωδών γραμμώσεων με διαφορές στη σύσταση και στη δυνατότητα εξέλιξης σε περαιτέρω στάδια¹¹. Γενικά, φαίνεται ότι η σύσταση των λιπιδίων στις αθηρωματικές βλάβες αλλάζει με την πάροδο του χρόνου. Μετά τα 20 έτη αυξάνεται ο αριθμός των εστέρων χοληστερόλης και υπερτερούν οι C18:2 εστέρες¹². Η ανεύρεση εστέρων χοληστερόλης στις βλάβες και η σύγχρονη απουσία τους από το πλάσμα, υποστηρίζουν την *in situ* εστεροποίηση της χοληστερόλης εντός του χιτώνα των αγγείων¹³. Επιπρόσθετα, πειράματα με σεσημασμένη χοληστερόλη έδειξαν ότι ο μεγαλύτερος όγκος χοληστερόλης των αθηρωματικών πλακών προέρχεται από το πλάσμα B¹⁴. Ο τρόπος με τον οποίο η χοληστερόλη εισχωρεί στο τοίχωμα των αγγείων δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως, αν και υπάρχουν ενδείξεις μικροπινοκύτωσης¹⁵. Μελέτες έδειξαν ότι για την εξέλιξη μιας βλάβης σε αθήρωμα είναι απαραίτητος ο πολλαπλασιασμός των λείων μυικών κυττάρων, που φαίνεται να είναι μονοκλωνικός. Η πρόκληση βλάβης στην αορτή χοίρου -της οποίας το πάχος του τοιχώματος είναι ανάλογο με της αορτής νεαρού παιδιού- οδήγησε σε δωδεκαπλάσια αύξηση του πάχους του ενδοθηλίου εστιακά λόγω του πολλαπλασιασμού των λείων μυικών κυττάρων¹⁶.

A3. Αίτια αθηρωμάτωσης

Στην εγκατάσταση, στην εξέλιξη και στην εκδήλωση της αθηρωματικής νόσου συμβάλλουν πολλοί, γενετικοί και περιβαλλοντικοί, παράγοντες.

Το 1969 ερευνητές παρατήρησαν διαφορές στο πάχος του τοιχώματος των αγγείων, μεταξύ των διαφόρων φυλών, οι οποίες ήταν ανάλογες της επίπτωσης της κλινικής στεφανιαίας νόσου σε αυτές¹⁷.

Στα παιδιά, η πρώιμη αθηρωμάτωση αποδεδειγμένα συνδέεται με υπερλιπιδαιμία και κυρίως με τις κληρονομικές διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων. Οι γενετικές διαταραχές που συνδέονται με υψηλά επίπεδα χοληστερόλης αποτελούν το βιολογικό μοντέλο της επίδρασης παράγοντα - κινδύνου στην αθηρωματική διεργασία. Για παράδειγμα, στα παιδιά που έχουν ομόζυγο οικογενή υπερχοληστερολαιμία (HoFH), τα επίπεδα της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης – χοληστερόλης (LDL-C) ξεπερνούν τα 800mg/dl από τη βρεφική ηλικία και ο κίνδυνος ενός πρώιμου καρδιαγγειακού επεισοδίου, ακόμη και κατά την εφηβεία, είναι σημαντικός, το δε προσδόκιμο επιβίωσης ιδιαίτερα βραχύ. Στα παιδιά αυτά τα

ξανθώματα μπορεί να είναι εμφανή ήδη από την παιδική ηλικία¹⁸. Επίσης, τα παιδιά με ετερόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία (HeFH) έχουν συνήθως επίπεδα LDL-C >160mg/dl (συνήθως >200mg/dl) και συχνά εμφανίζουν πρώιμη υποκλινική αθηρωμάτωση, ενώ έχουν και θετικό οικογενειακό ιστορικό πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου (ΠΚΑΝ). Το πιο αξιοσημείωστο είναι ότι το 50% των αρρένων και το 25% των θηλέων θα βιώσουν κλινικά έκδηλα στεφανιαία επεισόδια μέχρι την ηλικία των 50 χρόνων¹⁹.

Ξεκάθαρη συσχέτιση μεταξύ διαταραχών των λιπιδίων-λιποπρωτεϊνών και της έναρξης, της βαρύτητας και της εξέλιξης της αθηρωμάτωσης σε παιδιά, εφήβους και νεαρούς ενήλικες έχει διαπιστωθεί σε σειρά μελετών παρατήρησης.

Επιδημιολογικές μελέτες σε ενήλικες έχουν δείξει ότι το οικογενειακό ιστορικό επιβεβαιωμένης ΠΚΑΝ σε 1^{ου} βαθμού συγγενείς, αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου μελλοντικής ΚΑΝ²⁰. Ο κίνδυνος ΚΑΝ του απογόνου έχει ισχυρή αρνητική συσχέτιση με την ηλικία του γονέα κατά το συμβάν. Το οικογενειακό ιστορικό πρώιμης αθηρωματικής ΚΑΝ αντιπροσωπεύει την επίδραση, όχι μόνο γενετικών, αλλά και άλλων παραγόντων όπως είναι οι περιβαλλοντικοί²⁰.

Στους ενήλικες, μελέτες έχουν δείξει ότι εκτός από τα γενετικά αίτια, πολλοί περιβαλλοντικοί παράγοντες οι οποίοι δρουν άμεσα ή δια μέσου διαταραχών των λιπιδίων ή και της ινσουλίνης, αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο αθηρωματικής και πρώιμης ΚΑΝ. Σε αυτούς περιλαμβάνονται η παχυσαρκία, ο σακχαρώδης διαβήτης, η αρτηριακή υπέρταση και το κάπνισμα, οι περισσότεροι από τους οποίους ενδεχομένως να υπάρχουν ήδη από την παιδική ηλικία^{21,22}. Ακόμη, πολλοί από τους παράγοντες κινδύνου, όπως για παράδειγμα η παχυσαρκία, η υπερχοληστερολαιμία και η υπέρταση, συχνά μεταφέρονται από την παιδική στην ενήλικη ζωή. Επίσης, τα επίπεδα της φυσικής δραστηριότητας και το κάπνισμα μεταφέρονται αλλά σε μικρότερο βαθμό. Ιδιαίτερα σημαντικό είναι το γεγονός ότι το άθροισμα των παραγόντων κινδύνου που παρατηρούνται στην παχυσαρκία και στο μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ), όπως είναι η αντίσταση στην ινσουλίνη, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔ-2) και οι διαταραχές των λιπιδίων, πολύ συχνά μεταφέρονται στην ενήλικη ζωή^{23,24}.

Παρόλα αυτά, ο βαθμός στο οποίο οι περιβαλλοντικοί παράγοντες ευθύνονται για την εκδήλωση κλινικής αθηρωμάτωσης αποτελεί αντικείμενο διαφωνιών. Μελέτη υποστηρίζει ότι μόνο στο 10-20 % των ασθενών με στεφανιαία νόσο απουσιάζει έστω ένας από τους προαναφερθέντες παράγοντες, ενώ σε προηγούμενες μελέτες το ποσοστό αυτό άγγιζε το ήμισυ των ασθενών^{22,25}. Την μεγάλη επίδραση του περιβάλλοντος στην εκδήλωση κλινικής αθηρωματικής νόσου επιβεβαιώνει επιδημιολογική μελέτη σε Ιάπωνες μετανάστες, στους οποίους η επίπτωση της νόσου άλλαξε σύμφωνα με την επίπτωσή της στη χώρα που μετοίκησαν²⁶.

Το γεγονός ότι η αυξημένη χοληστερόλη συσχετίζεται με την έκταση και την ένταση των βλαβών έχει επιβεβαιωθεί σε δύο μεγάλες επιδημιολογικές - παθολογοανατομικές μελέτες σε παιδιά, εφήβους και νεαρούς ενήλικες που κατέληξαν από μη καρδιαγγειακά αίτια, την Bogalusa (Bogalusa Heart Study)²⁷ και την PDAY (Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth)²⁴. Λιπώδεις γραμμώσεις έως ινώδεις πλάκες διαπιστώθηκαν στις στεφανιαίες αρτηρίες, στην κοιλιακή αορτή και στις καρωτιδικές αρτηρίες των ατόμων με υπερχοληστερολαιμία. Συγκεκριμένα,

Στη μελέτη Bogalusa κύριοι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως τα λιπίδια, η αρτηριακή πίεση, ο BMI και η χρήση καπνού, που είχαν αρχικά εκτιμηθεί στα πλαίσια επιδημιολογικής μελέτης σε σχολεία, είχαν ισχυρή συσχέτιση με την έκταση και τη βαρύτητα των αθηρωματικών βλαβών που διαπιστώθηκαν στις αυτοψίες²⁷.

Στη μελέτη PDAY, υπεργερμένες πλάκες στα στεφανιαία αγγεία και στην κοιλιακή αορτή και λιπώδεις γραμμώσεις στη θωρακική αορτή διαπιστώθηκαν σε άτομα 15-34 ετών που κατέληξαν από εξωτερικές αιτίες π.χ. ατυχήματα. Στην ηλικία 15-19 ετών οι υπεργερμένες βλάβες στη δεξιά στεφανιαία αρτηρία καταλάμβαναν το 0.5 % του συνολικού μήκους του αγγείου, στους άντρες ηλικίας 30-34 ετών περισσότερο από 2 %, ενώ οι γυναίκες σε όλες τις ηλικίες παρουσίαζαν το ήμισυ του ποσοστού των προχωρημένων βλαβών. Η ίδια μελέτη ανέλυσε την επίπτωση των παραγόντων κινδύνου στα νεαρά άτομα. Έτσι, στο ένα πέμπτο των ατόμων ηλικίας >20 ετών που ήταν καπνιστές οι υπεργερμένες βλάβες ήταν τριπλάσιες στον αριθμό σε σύγκριση με των μη καπνιστών. Ακόμη, διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση του δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) με την παρουσία υπεργερμένων βλαβών στα στεφανιαία αγγεία των αρρένων ατόμων. Η υπέρταση (μέση πίεση > 110mmHg) και η αυξημένη

συγκέντρωση γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης χαρακτηρίζονταν από αυξημένο αριθμό υπεργερμένων πλακών στην αορτή και στα στεφανιαία αγγεία. Τέλος, η πιθανότητα ανεύρεσης βλαβών ήταν τριπλάσια στα άτομα με δυσλιπιδαιμία [υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη-χοληστερόλη (HDL-C) < 42mg/dl, non-HDL-C (=TC - HDL-C) > 150mg/dl]. Τέλος, θετική συσχέτιση του ΔΜΣ με τις αθηρωματικές αλλοιώσεις της αορτής και των στεφανιαίων αρτηριών, έχει επίσης διαπιστωθεί σε αυτοψίες σε παιδιά²⁴.

Γενικά, στη μελέτη PDAY, η βαρύτητα και η έκταση της αθηρωμάτωσης είχε ισχυρή συσχέτιση με την ηλικία, τη non-HDL-C, την HDL-C, την υπέρταση, τη χρήση καπνού, το σακχαρώδη διαβήτη και την παχυσαρκία. Αντίθετα, η απουσία παραγόντων κινδύνου συνοδευόταν από απουσία προχωρημένης αθηρωμάτωσης, ακόμη και στα άτομα μεγαλύτερης ηλικίας²⁴.

A4.Κλινικές εκδηλώσεις και επιπλοκές αθηρωμάτωσης

Ο σχηματισμός των αθηρωματικών πλακών και η παθολογική αναδιαμόρφωση των αγγειακών τοιχωμάτων οδηγούν σε ιστική διάχυση και ισχαιμία, με αποτέλεσμα τον κίνδυνο θρόμβωσης, αγγειακής ρήξης ή οξέων ισχαιμικών συνδρόμων.

Οι κλινικές συνέπειες των παραπάνω, που εμφανίζονται στην ενήλικη ζωή, περιλαμβάνουν: το οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου (ΟΕΜ), το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ), την περιφερική αγγειακή νόσο (ΠΑΝ) και τη ρήξη ανευρυσμάτων της αορτής.

Συγκεκριμένα,

Η στένωση των στεφανιαίων αγγείων μπορεί να οδηγήσει σε στηθάγχη, ΟΕΜ, καρδιακή ανεπάρκεια ακόμη και στο θάνατο.

Η στένωση των καρωτίδων μπορεί να εκδηλωθεί ως ΑΕΕ ή παροδική ισχαιμία οργάνων, όπως των οφθαλμών.

Η προσβολή των αγγείων των άκρων είναι γνωστή ως περιφερική αρτηριοπάθεια και οδηγεί σε αυξημένη ευαισθησία των άκρων στο θερμό και ψυχρό, άλγος στην κόπωση, χωλότητα και σε μεγάλες ηλικίες γάγγραινα.

Τέλος, η σκλήρυνση των αγγείων μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή της αιματικής ροής εντός του αυλού τους και στη δημιουργία ανευρυσμάτων σε ευένδοτα σημεία του αγγειακού δικτύου, με όλες τις συνέπειες που μπορεί να έχουν αυτά²⁸.

A5.Υποκλινική αθηρωμάτωση

Επειδή οι κλινικές εκδηλώσεις και οι επιπλοκές της αθηρωματικής νόσου απαντώνται κυρίως στην ενήλικη ζωή, η πρόληψη αρχικά αφορούσε σε ενήλικες που είχαν εκδηλώσεις αθηρωματικής νόσου ή σε υγιείς ενήλικες που είχαν γνωστούς παράγοντες κινδύνου εμφάνισης αθηρωμάτωσης.

Όμως, η αθηρωμάτωση έχει μια μακρά προ-κλινική φάση, με ανάπτυξη παθολογικών αλλοιώσεων στις αρτηρίες πολύ πριν εμφανιστούν οι κλινικές εκδηλώσεις. Οι Strong και McGill έδειξαν ότι η αθηροσκλήρυνση είναι μία διαδικασία που ξεκινά από την παιδική ηλικία και επομένως η πρόληψη πρέπει να ξεκινά ενωρίς. Μελετώντας δείγματα αυτοψίας από 4737 άτομα ηλικίας 10-39 ετών, διαπίστωσαν λιπώδεις γραμμώσεις στην αορτή σχεδόν όλων των παιδιών ηλικίας 10-14 χρόνων και στα στεφανιαία αγγεία των περισσότερων ατόμων ηλικίας 20-29 χρόνων. Επίσης, βρήκαν ότι υπεργερμένες αθηρωματικές βλάβες μπορεί να εμφανιστούν στη αορτή και στα στεφανιαία αγγεία ατόμων νεότερων των 20 ετών και ότι οι ινώδεις πλάκες σχηματίζονται νωρίτερα σε πληθυσμούς με υψηλή επίπτωση και θνητότητα από καρδιαγγειακά συμβάματα²⁴.

Οι πρόοδοι στην απεικονιστική ιατρική έδωσαν τη δυνατότητα αναγνώρισης της υποκλινικής αθηρωμάτωσης από τα πρώτα στάδια δημιουργίας των αθηρωματικών αγγειακών αλλοιώσεων. Μη επεμβατικές μέθοδοι υψηλής ευκρίνειας και ανάλυσης χρησιμοποιούνται σήμερα για την αναγνώριση ασθενών με υποκλινική αθηρωματική νόσο, πιθανότατα υποψήφιων για πρώιμη πρωτογενή πρόληψη. Η μέτρηση του πάχους του έσω και μέσου χιτώνα των αγγείων (Intima Media Thickness - IMT), η διατατική ικανότητά τους μετά από ενεργητική υπεραιμία (Flow Mediated Dilatation - FMD) καθώς και η «σκληρότητα» των αγγείων (Pulse Wave Velocity - PWV) αποτελούν τις πιο διαδεδομένες απεικονιστικές τεχνικές στη σύγχρονη αξιολόγηση της πρώιμης αθηρωματικής νόσου.

Την τελευταία 10ετία, με τη χρησιμοποίηση των παραπάνω επεμβατικών μεθόδων, η σύνδεση της αθηρωμάτωσης με τους παράγοντες κινδύνου στην παιδική ηλικία, έχει πλέον αποδειχθεί.

A5.1. Πάχος του έσω και μέσου χιτώνα των αγγείων (Intima Media Thickness-IMT)

Πρόκειται για ένα δείκτη αθηρωμάτωσης αποδεκτό από διεθνείς φορείς (US Food & Drug Administration, European Agency for the Evaluation of Medicinal Products). Το 1986 οι Pignoli et al συγκρίνοντας in vitro και in vivo μετρήσεις σε αγγεία ανθρώπων έδειξαν ότι το υπερηχογράφημα Β' επιπέδου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της υποκλινικής αθηρωματικής νόσου, με μεγάλη ακρίβεια, αλλά και για τη μέτρηση του πάχους του έσω και μέσου χιτώνα των αγγείων υγείων ατόμων^{7,29}.

Διαφορές στο πάχος του έσω και μέσου χιτώνα των αγγείων αναφέρονται τόσο μεταξύ των δύο φύλων, με τους άρρενες να εκδηλώνουν πιο πεπαχυσμένο τοίχωμα, όσο και μεταξύ ατόμων διαφορετικών εθνικοτήτων²⁹.

Οι Amato et al, συγκρίνοντας αλλοιώσεις των στεφανιαίων αγγείων και των καρωτίδων ασθενών, απέδειξαν ότι η μέτρηση του πάχους του τοιχώματος των καρωτιδικών αρτηριών (cIMT) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της συστηματικής αθηρωμάτωσης³⁰. Ωστόσο, η μέτρηση του cIMT δεν χρησιμοποιείται ακόμη ως εξέταση ρουτίνας για την πρωτογενή πρόληψη και εκτίμηση της καρδιαγγειακής νόσου³¹. Ακόμα δεν έχει απαντηθεί το ερώτημα κατά πόσο το cIMT μπορεί να προβλέψει την έλευση καρδιαγγειακού επεισοδίου. Δύο μετα-αναλύσεις κλινικών μελετών καταλήγουν σε αντίθετα συμπεράσματα, με τη μία να δείχνει θετική συσχέτιση και την άλλη καμία συσχέτιση, ενώ μία ακόμη μετα-ανάλυση απορρίπτει τη συσχέτιση του cIMT με την κλινική καρδιαγγειακή νόσο στο γενικό πληθυσμό^{32,33}.

Η απουσία ενός ενιαίου πρωτοκόλλου στην εφαρμογή των υπερήχων υψηλής ευκρίνειας για τη μέτρηση του IMT ήταν ένας ανασταλτικός παράγοντας στην κλινική πράξη. Όμως το 2008 η Αμερικάνικη Εταιρία Υπερηχοκαρδιογραφίας (American Society of Echocardiography) σε συνεργασία με την Εταιρία Αγγειακής Ιατρικής και Βιολογίας (Society of Vascular Medicine and Biology) δημοσιοποίησαν ομόφωνες οδηγίες για τη χρησιμοποίηση του cIMT στην αναγνώριση της υποκλινικής αθηρωμάτωσης και στην εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου³⁴.

Μια ανασκόπηση των μελετών παρατήρησης σε παιδιά με παράγοντες κινδύνου για ΠΚΑΝ έδειξε ότι αυτά είχαν υψηλότερο cIMT σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Στις 55 από τις 67 μελέτες τα παιδιά που είχαν δυσλιπιδαιμία ή ινσουλινοεξαρτώμενο διαβήτη ή υπέρταση ή χρόνια νεφρική ανεπάρκεια παρουσίαζαν σημαντικά

υψηλότερο cIMT συγκριτικά με τους μάρτυρες. Η επίδραση περισσότερων του ενός παραγόντων κινδύνου στα παιδιά συσχετιζόταν με ακόμη υψηλότερο cIMT, εύρημα ανάλογο με αυτό στον ενήλικο πληθυσμό και με τη μελέτη αυτοψίας σε άτομα ηλικίας 2-39 ετών από την Bogalusa Heart Study³⁵. Τέλος, οι Wiegman et al. έδειξαν ότι σε παιδιά με οικογενή υπερχοληστερολαιμία (FH) το cIMT ήταν σημαντικά υψηλότερο μετά την ηλικία των 12 ετών και ο ρυθμός αύξησής του πενταπλάσιος σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Η ηλικία, το άρρεν φύλο και τα επίπεδα της LDL-C ήταν ανεξάρτητοι παράγοντες του cIMT³⁶. Επιπρόσθετα, παιδιά με FH που έλαβαν πραβαστατίνη για 2 χρόνια μείωσαν σημαντικά το cIMT³⁷.

Παιδιά με διαβήτη και υπελιπιδαιμία είχαν μεγαλύτερη αύξηση του πάχους του έσω και μέσου χιτώνα της κοιλιακής αορτής (aIMT) από ότι των κοινών καρωτίδων. Δεδομένου ότι οι πρώτες βλάβες δημιουργούνται στην αορτή και ακολουθούν χρονικά οι βλάβες των καρωτίδων, η μελέτη του aIMT ίσως να αποτελεί καλύτερο δείκτη εκτίμησης της πρώιμης υποκλινικής αθηρωμάτωσης^{38,39}. Όμως, η μέτρηση του aIMT είναι πολύ πιο δύσκολη αφού πρόκειται για ένα εν τω βάθει αγγείο, σε αντίθεση με τις καρωτίδες που είναι επιφανειακά αγγεία και προσεγγίζονται πολύ πιο εύκολα.

Μελέτες υποστηρίζουν ότι το cIMT είναι ένας δείκτης αναπαραγώγιμος, σχετίζεται με παράγοντες κινδύνου και την αθηροσκλήρυνση των αγγείων, δείχνει μια σταθερή σχέση με τη εκδήλωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων, η μέτρησή του στη διάρκεια του χρόνου είναι εφικτή και φαίνεται τελικά ότι επηρεάζεται θετικά από τις θεραπευτικές παρεμβάσεις³⁰. Η AHA συνιστά τη μέτρηση του cIMT σε ασθενείς ενδιάμεσου κινδύνου κατά τη βαθμονόμηση Framingham ως σημαντικού προγνωστικού παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου, πέραν των παραδοσιακών παραγόντων κινδύνου. Δεδομένου ότι η εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου με τη χρήση των παραδοσιακών παραγόντων κινδύνου, όπως αναφέρεται στη μελέτη Framingham, υπόκειται σε περιορισμούς (πληθυσμιακούς, φύλου), καθίσταται ακόμη πιο αναγκαία η εισαγωγή ενός πρόσθετου δείκτη, όπως είναι το cIMT, για την εκτίμηση της υποκλινικής αθηρωμάτωσης. Η χρήση των σταθμισμένων πλέον πρωτοκόλλων θα οδηγήσει σε περισσότερες εφαρμογές του νέου αυτού δείκτη στην κλινική πράξη.

A5.2. Διατατική ικανότητα των αγγείων μετά από ενεργητική υπεραιμία (Flow Mediated Dilatation-FMD)

Είναι τεχνική που εκτιμά την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τη σκληρότητα των αγγείων.

Ο ασθενής είναι σε ύπτια θέση και ένα πιεσόμετρο τοποθετείται στο ύψος της βραχιονίου αρτηρίας. Με υπερηχογράφημα υψηλής ευκρίνειας καταγράφονται τα τοιχώματά της, το κέντρο της και μία διαμήκης τομή της. Οι εικόνες μεγεθύνονται και οι ρυθμίσεις του μηχανήματος παραμένουν σταθερές σε όλη τη διάρκεια της εξέτασης. Μετά από 10 λεπτά ασκείται περιόδωση στον ασθενή που φθάνει τα 60mmHg πάνω από τη συστολική του αρτηριακή πίεση για 5 λεπτά. Με αυτό τον τρόπο προκαλείται ενεργητική υπεραιμία στο αγγείο του ασθενούς. Στη συνέχεια η περιόδωση λύεται. Μετρήσεις καταγράφονται 30 δευτερόλεπτα πριν και 90 δευτερόλεπτα μετά την άσκηση της ισχαιμικής περιόδωσης, ενώ ο ασθενής παραμένει σε ύπτια θέση. Ταυτόχρονα, από την αρχή της εξέτασης έως και 2 λεπτά μετά τη λύση της περιόδωσης, μετράται η αρτηριακή ταχύτητα ροής με το παλμικό doppler τοποθετημένο σε γωνία 60° από το κέντρο του αγγείου. Υπερηχογραφικές καταγραφές γίνονται από την αρχή της εξέτασης, σε όλο το ενεργητικό στάδιο και επίσης 10 λεπτά μετά τη λύση της ισχαιμικής φάσης. Η μέση τιμή των διαστάσεων των αγγείων στις διάφορες φάσεις αντιπροσωπεύει το FMD. Η συνολική διάρκεια της εξέτασης είναι περίπου 30 λεπτά.

Φυσιολογικά κατά την ισχαιμική φάση η αιματική ροή και οι πιέσεις αυξάνονται, ενώ με τη λύση της ακολουθεί μείωση της αιματικής ροής και ανάλογη διάταση του αγγείου. Τα αρτηριοσκληρωτικά αγγεία παρουσιάζουν ελαττωμένη διατατική ικανότητα, κάτι που μπορεί να διακρίνει η συγκεκριμένη τεχνική.

Επίσης, μπορεί να καταγραφεί η διαστολή του αγγείου-που δεν εξαρτάται από το ενδοθήλιο- μετά τη λήψη 400 μg του αγγειοδιασταλτικού τρινιτρικής γλυκερίνης (glycerin trinitrate -GTN) υπογλωσσίως. Η υπερηχογραφική καταγραφή γίνεται από τη λήψη του φαρμάκου έως και 3 λεπτά μετά και εκφράζεται ως το % ποσοστό της επιπλέον μέγιστης διαστολής του αγγείου από την αρχική του διάμετρο³⁸.

Δημοσίευση στο Lancet (1992) έδειξε ότι η διατατική ικανότητα των αγγείων είναι σημαντικά επηρεασμένη σε παιδιά με FH και σε καπνιστές σε σύγκριση πάντα με εκείνη των μαρτύρων³⁹. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία των

αγγείων σε παιδιά με FH αποκαθίσταται, σε διάστημα 1- 6 μήνες, μετά από φαρμακευτική θεραπεία με στατίνες^{40,41}.

A5.3. «Σκληρότητα ή ανελαστικότητα» του τοιχώματος των αγγείων (Pulse Wave Velocity-PWV)

Η ταχύτητα του σφυγμικού κύματος (Pulse Wave Velocity-PWV) είναι μία μέθοδος μέτρησης της «ανελαστικότητας» του τοιχώματος των αγγείων. Στους ενήλικες, μπορεί να μετρηθεί επεμβατικά με την τοποθέτηση δύο καθετήρων πίεσης σε δύο διαφορετικά σημεία εντός του αγγείου και να καταγραφεί ο χρόνος που χρειάζεται το σφυγμικό κύμα να μεταφερθεί από το ένα καθετήρα στον άλλο. Η απόσταση μεταξύ των καθετήρων προς το χρόνο διάδοσης του κύματος αντιπροσωπεύει τη ταχύτητα του σφυγμικού κύματος PWV⁴².

Όμως, η μέτρηση της ταχύτητας του σφυγμικού κύματος μπορεί να γίνει και μη επεμβατικά, με τη χρήση ειδικών μηχανημάτων. Ειδικά τονόμετρα τοποθετούνται στα σημεία καταγραφής του σφυγμικού κύματος. Η πρόκληση του σφυγμικού κύματος ακολουθεί τη καταγραφή του διαστήματος που αυτό καλύπτει σε ορισμένο χρόνο. Με τον ίδιο τύπο όπως και στην επεμβατική μέθοδο υπολογίζεται η ταχύτητα του σφυγμικού κύματος, που αντανακλά την ελαστικότητα του τοιχώματος των αγγείων. Η «σκληρότητα» ή «ανελαστικότητα» των αγγείων αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την εκδήλωση καρδιαγγειακών νοσημάτων και η μέτρηση της ταχύτητας του σφυγμικού κύματος θεωρείται αξιόπιστος δείκτης της⁴².

Λειτουργικές και μορφολογικές αλλοιώσεις στο αρτηριακό τοίχωμα, δηλαδή μειωμένη ενδοθηλιακή λειτουργία (FMD) και αυξημένο c-IMT, έχουν διαπιστωθεί σε παιδιά με HeFH^{37,40}.

Γενικά, μελέτες σε παιδιά με υπερλιπιδαιμία αναφέρουν ενδοθηλιακή δυσλειτουργία^{39,43}, αυξημένο c-IMT^{43,44,45}, μειωμένη διατατική ικανότητα και αυξημένη ασβέστωση της στεφανιαίας αρτηρίας στην ενήλικη ζωή τους^{44,45}. Επιπλέον, σε παιδιά και σε νεαρούς ενήλικες με οικογενειακό ιστορικό εμφράγματος μυοκαρδίου, έχουν βρεθεί αύξηση του c-IMT, ασβεστώσεις στα στεφανιαία αγγεία και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία⁴⁵.

Σημαντική διαταραχή της ενδοθηλιακής λειτουργίας και, σε μερικές μελέτες, αυξημένο c-IMT έχουν αναφερθεί επίσης σε παιδιά με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1

(ΣΔ-1)⁴⁶. Γενικά, το αυξημένο c-IMT που παρατηρείται σε παιδιά με ΣΔ-1 ή ΣΔ-2 φαίνεται να συσχετίζεται τόσο με την υπεργλυκαιμία όσο και με τη δυσλιπιδαιμία. Αυξημένο c-IMT και αυξημένη μάζα της αριστερής κοιλίας (LVM) έχει επίσης βρεθεί σε παιδιά με υπέρταση²⁷.

Μία άλλη ομάδα παιδιών με στοιχεία υποκλινικής αθηρωμάτωσης είναι τα παχύσαρκα. Παχύσαρκα παιδιά με στοιχεία μεταβολικού συνδρόμου (ΜΣ) όπως υπέρταση, δυσλιπιδαιμία ή μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη, έχουν αυξημένο c-IMT. Επιπλέον, στα παιδιά με σοβαρού βαθμού παχυσαρκία έχει βρεθεί υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας, η οποία έχει συνδεθεί με αυξημένη θνησιμότητα στην ενήλικη ζωή τους⁴⁷. Η εφαρμογή συστηματικής άσκησης αναφέρεται ότι βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία. Επιπλέον, η μείωση του βάρους και η επαναφορά σε φυσιολογικά επίπεδα των δεικτών του ΜΣ συνοδεύεται από μείωση του c-IMT. Ακόμη, αυξημένο c-IMT έχει αναφερθεί σε έφηβες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, γεγονός που αποδίδεται εν μέρει στα αυξημένα ανδρογόνα⁴⁸.

Τέλος, ενδοθηλιακή δυσλειτουργία έχει παρατηρηθεί σε αυτούς που εκτίθενται σε καπνό (παθητικό και ενεργητικό κάπνισμα)⁴⁹.

B. ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΕΣ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ

Οι διαταραχές των λιπιδίων, των λιποπρωτεϊνών και των απολιποπρωτεϊνών του αίματος φέρονται ως δυσλιπιδαιμίες και περιλαμβάνουν αύξηση της ολικής χοληστερόλης (TC), της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης - χοληστερόλης (LDL-C), των τριγλυκεριδίων (TGs), της απολιποπρωτεΐνης Β (apoB) και της λιποπρωτεΐνης α [Lp(a)], μείωση της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης - χοληστερόλης (HDL-C) και της απολιποπρωτεΐνης Α1 (apoA-I), μεμονωμένα ή σε συνδυασμούς^{50,51,5}.

B1. Λιποπρωτεΐνες (χυλομικρά, VLDL, IDL, LDL, HDL)

Οι λιποπρωτεΐνες αίματος είναι μόρια που αποτελούνται από λιπίδια και πρωτεΐνες - τις απολιποπρωτεΐνες- που σκοπό έχουν τη μεταφορά των αδιάλυτων λιπιδίων, δηλαδή της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων από το σημείο παραγωγής τους στο σημείο μεταβολισμού και αποθήκευσής τους. Κάθε λιποπρωτεΐνη έχει ένα υδρόφοβο κέντρο, που το αποτελούν τα τριγλυκερίδια και οι εστέρες χοληστερόλης και ένα υδατοδιαλυτό περίβλημα από πρωτεΐνες και φωσφολιπίδια. Υπάρχουν πέντε κατηγορίες λιποπρωτεϊνών ανάλογα με την υδατική πυκνότητα τους: τα χυλομικρά, η πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη - VLDL, η ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνη - IDL, η χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη - LDL και η υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη HDL, κατά σειρά πυκνότητας, από τη λιγότερο στην περισσότερο πυκνή λιποπρωτεΐνη. Ένα μόριο λιποπρωτεΐνης είναι τόσο πιο πυκνό όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση πρωτεΐνης και μικρότερη η συγκέντρωση τριγλυκεριδίων. Η LDL λιποπρωτεΐνη είναι γνωστή ως «κακή» χοληστερόλη γιατί έχει ως ρόλο τη μεταφορά της χοληστερόλης στους περιφερικούς ιστούς. Εκεί η απολιποπρωτεΐνη B100 (apoB100) που βρίσκεται στην επιφάνεια του μορίου συνδέεται με τον υποδοχέα της LDL λιποπρωτεΐνης με αποτέλεσμα τη μεταφορά της χοληστερόλης στα αγγεία. Η HDL λιποπρωτεΐνη θεωρείται η «καλή» χοληστερόλη, διότι μεταφέρει την χοληστερόλη από τους περιφερικούς ιστούς στο ήπαρ για καταβολισμό, ενώ συγχρόνως επιδεικνύει αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Και οι δύο προαναφερθέντες τύποι λιποπρωτεΐνης αποτελούν έναν ετερογενή πληθυσμό μορίων με διαφορετικό μέγεθος και πυκνότητα, γνωστές ως υποτάξεις⁵⁰. Αναγνωρίζονται έως επτά υποτάξεις των LDL λιποπρωτεϊνών (LDL1-7) με τα μικρά και πυκνά μόρια (sdLDL, pattern B) να είναι πιο αθηρογόνα σε σύγκριση με

τα μεγαλύτερα και λιγότερα πυκνά (IdLDL, pattern A). Αντίστοιχα, έχουν αναγνωριστεί πέντε υποτάξεις για τις HDL λιποπρωτεΐνες, με τα πιο πυκνά και μικρά μόρια να είναι λιγότερο αποτελεσματικά στην αντίστροφη μεταφορά της χοληστερόλης από την περιφέρεια στο ήπαρ, σε σύγκριση με τα πιο μεγάλα και λιγότερο πυκνά μόρια^{6,52}.

Non-HDL-C

Η non-HDL-C εκφράζει το άθροισμα της χοληστερόλης που μεταφέρεται από όλα τα αθηρογενετικά μόρια, δηλαδή τη χοληστερόλη των LDL, IDL, VLDL, υπολειμμάτων VLDL, χυλομικρών και Lp(a). Ορίζεται ως η διαφορά μεταξύ της TC και της HDL-C, υπολογίζεται δηλαδή από την εξίσωση: $\text{non-HDL-C} = [\text{TC} - \text{HDL}]$. Δεν απαιτεί δείγμα νηστείας διότι στον υπολογισμό της δεν συμπεριλαμβάνονται τα τριγλυκερίδια, γεγονός που καθιστά εύκολη τη χρήση της στα παιδιά⁵⁰. Ακόμη, ο προσδιορισμός της είναι ιδιαίτερα χρήσιμος στη σοβαρή υπερτριγλυκεριδαιμία (TGs > 350 mg/dl), όπου ο ακριβής υπολογισμός της LDL-C από την εξίσωση Friedewald είναι αδύνατος⁵³. Σύμφωνα με τη Bogalusa Heart Study, επίπεδα της non-HDL-C <120 mg/dl, 120-144 mg/dl και ≥ 145 mg/dl θεωρούνται σαν «αποδεκτά», «οριακά αυξημένα» και «υψηλά» αντιστοίχως και είναι ισοδύναμα με τα cut points για την LDL-C του NCEP Pediatric Panel (Expert Panel, Pediatrics 2011)⁵. Θεωρείται ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας ύπαρξης αθηρωματικής νόσου και συστήνεται από τους ειδικούς να χρησιμοποιηθεί για ανιχνευτικό έλεγχο των παιδιών με πιθανή δυσλιπιδαιμία⁵.

Μία από τις μελέτες που αναδεικνύει τη χρησιμότητα της non-HDL-C είναι η PDAY, όπου φάνηκε ότι η non-HDL-C και η HDL-C ήταν καλύτεροι λιπιδαιμικοί δείκτες των αθηρωματικών βλαβών που διαπιστώθηκαν σε αυτοψίες παιδιών που κατέληξαν από μη-καρδιακά αίτια⁵⁴.

Οι Ruminska et al αξιολόγησαν τη χρησιμότητά της στις διαταραχές λιπιδίων παιδιών και εφήβων με απλή παχυσαρκία. Τα παιδιά με αυξημένη non-HDL-C (>123mg/dl) είχαν σημαντικά μεγαλύτερη περίμετρο μέσης (ΠΜ), υψηλότερα επίπεδα TC, LDL-C και TGs, υψηλότερη σχέση TC/HDL-C και χαμηλότερα επίπεδα HDL-C⁵⁵. Η επίδραση των TGs στον υπολογισμό της LDL-C με την εξίσωση Friedewald είναι ενδεικτική της υπεροχής της non-HDL-C στην εκτίμηση του κινδύνου αθηρωμάτωσης και ΚΑΝ των ατόμων με υπερτριγλυκεριδαιμία.

B2. Απολιποπρωτεΐνες (apoA-I, apoB)

Οι απολιποπρωτεΐνες ή αποπρωτεΐνες, δηλαδή οι πρωτεΐνες των λιποπρωτεϊνών, καθιστούν ευδιάλυτες τις λιποπρωτεΐνες στο πλάσμα, συμμετέχουν στη δέσμευσή τους από τους υποδοχείς τους, ενώ ταυτόχρονα ρυθμίζουν τη δράση ενζύμων υπεύθυνων για το μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών⁵⁰.

Η απολιποπρωτεΐνη Α (apoA) απαντά κυρίως στην HDL χοληστερόλη και διακρίνεται σε apo-AI, apo-AII και apo-AIV. Η apo-AI συμμετέχει στην «αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης» από τους περιφερικούς ιστούς πίσω στο ήπαρ. Επιπλέον έχει αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές δράσεις και *in vitro* βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία⁵⁶.

Η απολιποπρωτεΐνη Β (apoB) είναι η πρωτεΐνη των LDL, VLDL, Lp(a) και IDL μορίων. Ένα μόριο απολιποπρωτεΐνης Β απαντά σε κάθε ένα από τα παραπάνω αθηρογόνα μόρια, με αποτέλεσμα ο υπολογισμός της να εκφράζει το σύνολο των αθηρωματικών μορίων. Το 90% των apoB μορίων προέρχεται από τις λιποπρωτεΐνες LDL-C, γεγονός που δικαιολογεί τη στενή συσχέτιση των δύο αυτών παραμέτρων στην κλινική πράξη⁵⁰. Στον γενικό πληθυσμό φαίνεται ότι ο υπολογισμός των apoB δεν προσφέρει πρόσθετες πληροφορίες από τη μέτρηση μόνο της LDL-C. Σε άτομα όμως αυξημένου κινδύνου για πρώιμη καρδιαγγειακή νόσο, επειδή οι LDL λιποπρωτεΐνες δεν συνθέτουν έναν ομοιογενή πληθυσμό και άτομα με ίδια επίπεδα LDL-C μπορεί να έχουν διαφορετικούς φαινότυπους LDL-C (pattern A/ pattern B), ο υπολογισμός της LDL-C και των apoB ταυτόχρονα, ενδεχόμενα να υπερέχει σε κλινικό επίπεδο⁵⁷.

B3. Λιποπρωτεΐνη α (Lp(a))

Η λιποπρωτεΐνη α [Lp(a)] παράγεται στο ήπαρ, αποτελείται από ένα μόριο LDL και μία γλυκοπρωτεΐνη, την απολιποπρωτεΐνη ή αποπρωτεΐνη α και έχει μέγεθος μεταξύ LDL και HDL. Είναι γενετικώς καθοριζόμενη και ελέγχεται από το apo(a) γονίδιο που εδράζεται στο χρωμόσωμα 6q26-27⁵⁰.

Η Lp(a) μοιάζει δομικά με το πλασμινογόνο και την πλασμίνη, ανταγωνίζεται αυτό στις θέσεις δέσμευσής του, αλλά δεν επιδεικνύει ανάλογες ινωδολυτικές ιδιότητες καθιστώντας την θρομβογόνο. Συγκεκριμένα, δεσμεύεται στο ινωδογόνο και στην ινική και εμποδίζει τη δράση του πλασμινογόνου, δεσμεύεται στους υποδοχείς του πλασμινογόνου στα ενδοθηλιακά κύτταρα και εμποδίζει το σχηματισμό της ινικής,

έχει μεγάλη συγγένεια με την ινική του τοιχώματος των αγγείων και συσσωρεύεται στις αθηρωματικές πλάκες, ενώ τέλος παράγει χημειοτακτικούς παράγοντες των μονοκυττάρων, οδηγώντας στη συσσώρευση μακροφάγων στο αγγειακό τοίχωμα. Επίσης, η λιποπρωτεΐνη α είναι ένα μόριο πλούσιο σε χοληστερόλη όπως και η LDL που βρίσκεται στο τοίχωμα των αγγείων και μεταφέρει εκεί μόρια χοληστερόλης. Υφίσταται οξειδωτική τροποποίηση και έχει βρεθεί ότι η Lp(a) και πολύ περισσότερο η οξειδωμένη μορφή της δρουν ως μιτογόνα των λείων μυικών κυττάρων και ευνοούν τη μετανάστευσή τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τέλος, η οξειδωμένη Lp(a) διεγείρει ακόμη πιο ισχυρά την προσκόλληση μονοκυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα και τη μετατροπή τους σε μακροφάγα⁵⁰.

Σήμερα υπάρχουν ενδείξεις ότι τα αυξημένα επίπεδα της Lp(a) σχετίζονται θετικά με τη σοβαρότητα της αθηροσκληρωτικής νόσου, αν και υπήρξαν έρευνες που δεν έδειξαν ανάλογη συσχέτιση. Δεδομένου ότι ο ακριβής ρόλος της δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί πλήρως, η Ευρωπαϊκή Εταιρεία Αθηροσκληρώσεως (European Atherosclerosis Society) συνιστά τη μέτρησή της μόνο σε ασθενείς μετρίου ή αυξημένου κινδύνου για ΚΑΝ νόσο, όπως σε ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό δυσλιπιδαιμίας ή πρώιμης ΚΑΝ.

Τα επιθυμητά επίπεδα της Lp(a) ορίζονται σε <30mg/dl. Η νιασίνη σε φαρμακολογικές δόσεις μπορεί να μειώσει αποτελεσματικά τα επίπεδά της, αν και λόγω των πολλών ανεπιθύμητων δράσεων χορηγείται με μεγάλη φειδώ ακόμη και στους ενήλικες⁵⁰.

B4. Ορισμός δυσλιπιδαιμίας - «Φυσιολογικά» επίπεδα λιπιδίων – λιποπρωτεϊνών - απολιποπρωτεϊνών

Επιδημιολογικές μελέτες συνέβαλαν στην θέσπιση «φυσιολογικών» και «παθολογικών» επιπέδων λιπιδίων, λιποπρωτεϊνών και απολιποπρωτεϊνών στα παιδιά και στους εφήβους με σκοπό την αναγνώριση εκείνων με δυσλιπιδαιμία και ανάγκη πρώιμης παρέμβασης (Πίνακας B4.1)⁵.

Στην πραγματικότητα ο όρος «φυσιολογικά» δεν είναι δόκιμος και έχει αντικατασταθεί από τους όρους «επιθυμητά» ή «αποδεκτά».

Πίνακας Β4.1. Επίπεδα λιπιδίων - λιποπρωτεϊνών - απολιποπρωτεϊνών (mg/dl) σε παιδιά και εφήβους 2-19 χρόνων*(Expert Panel 2011)⁵

	«Αποδεκτά» ή «Επιθυμητά»	Οριακά «Αυξημένα» ή Οριακά «Μειωμένα»	«Υψηλά» ή «Χαμηλά»
TC	<170	170-199	≥200
LDL-C	<110	110-129	≥130
Non-HDL-C	<120	120-144	≥145
ApoB	<90	90-109	≥110
TGs <10χρ	<75	75-99	≥100
≥10χρ	<90	90-129	≥130
HDL-C	>45	40-45	<40
ApoA-I	>120	115-120	<115
Lp(a)	<30		

*Τα επίπεδα λιπιδίων & λιποπρωτεϊνών προέρχονται από το NCEP Expert Panel on Cholesterol Levels in Children. Τα επίπεδα της non-HDL-C προέρχονται από τη Bogalusa Heart Study και είναι ισοδύναμα με τα cut points για την LDL-C του NCEP Pediatric Panel. Τα επίπεδα των απολιποπρωτεϊνών B και A1 προέρχονται από τη National Health and Nutrition Examination Survey III.

B5. Τύποι δυσλιπιδαιμίας

Οι διαταραχές των λιπιδίων διακρίνονται σε πρωτοπαθείς και δευτεροπαθείς. Οι πρωτοπαθείς αφορούν σε γενετικές διαταραχές και συνδέονται με σοβαρή δυσλιπιδαιμία από τη νεαρή ηλικία, με πρώιμη αθηρωμάτωση και μελλοντικά πρώιμη ΚΑΝ^{50,5}.

Οι κληρονομικές δυσλιπιδαιμίες ταξινομούνται, κατά Fredrickson, σε πέντε διαφορετικούς φαινότυπους (Πίνακας Β5.1):

Πίνακας B5.1. Ταξινόμηση οικογενών υπερλιποπρωτεϊναιμιών κατά Fredrickson

Τύπος	Διαταραχές Λιπιδίων	Υπεύθυνη Διαταραχή
I	TG>1000 mg/dl + χυλομικρά	Ανεπάρκεια LPL / apoCII
IIA	LDL-C>130mg/dl	FH, FCH, πολυγονιδιακή
IIB	LDL-C>130mg/dl + TGs>125mg/dl	FH, FCH, πολυγονιδιακή
III	↑TGs, ↑IDL + remnants	Ομοζυγωτία apoE2 (E2/E2)
IV	TG>125 mg/dl, ↑VLDL	FH, FCH
V	TG> 1000mg/dl, ↑VLDL+ χυλομικρά	Συνδιασμός 2 καταστάσεων που προκαλούν τύπου IV

Η κατάταξη αυτή δεν χρησιμοποιείται πλέον και στην κλινική πράξη η ταξινόμησή τους γίνεται σύμφωνα με την επικρατούσα διαταραχή των λιπιδίων (Πίνακας B5.2).

Πίνακας B5.2. Συνήθεις δυσλιπιδαιμίες που απαντώνται στην κλινική πράξη

Αύξηση της LDL-C

Οικογενής υπερχοληστερολαιμία (FH)

Οικογενής διαταραχή της apoB

Οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία (FCH)

Πολυγονιδιακή πρωτοπαθής αύξηση της LDL-C

Αύξηση των TGs: ήπιας -μέτριας βαρύτητας

Οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία (FCH)

Οικογενής δυσβηταλιποπρωτεϊναιμία (τύπος III)

Οικογενής υπερτριγλυκεριδαιμία

Μείωση της HDL-C

Οικογενής υποαλφαλιποπρωτεϊναιμία

Αύξηση της Lp(a)

Αύξηση των TGs: σοβαρή (σύνδρομο χυλομικροναϊμίας)

Οικογενής ανεπάρκεια της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LPL)

Οι γενετικές δυσλιπιδαιμίες συνήθως είναι πιο σοβαρές και εκδηλώνονται πιο πρώιμα σε σχέση με τις δευτεροπαθείς⁵⁰.

B.5.1. Οικογενής υπερχοληστερολαιμία (Familial Hypercholesterolemia - FH)

Κληρονομείται με αυτοσωματικό επικρατητικό τρόπο και η ετερόζυγη μορφή (HeFH) αποτελεί τη συχνότερη μορφή πρωτοπαθούς υπερχοληστερολαιμίας που απαντάται στα παιδιά. Γενικά, η επίπτωσή της στην Ευρώπη είναι 1/400-1/500 γεννήσεις.

Οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη του LDL υποδοχέα (LDL-R), με συνέπεια είτε μειωμένο αριθμό LDL-R (ανεπάρκεια) ή ρύθμιση σε ένα χαμηλότερο επίπεδο λειτουργίας στο ηπατικό κύτταρο (διαταραγμένη λειτουργία). Τελικό αποτέλεσμα αυτών είναι η μειωμένη κάθαρση της LDL-C από την κυκλοφορία και η αύξηση των επιπέδων της στο αίμα⁵⁰.

Στην ομόζυγη μορφή της νόσου (HoFH), η οποία είναι εξαιρετικά σπάνια (1/1.000.000 γεννήσεις) παρατηρείται σχεδόν πλήρης απουσία λειτουργικών LDL-R. Τα επίπεδα της LDL-C στο αίμα ξεπερνούν τα 500 mg/dl και οι κλινικές εκδηλώσεις (π.χ. γεροντότοξο, ξανθώματα) και οι επιπλοκές της νόσου (στεφανιαία νόσος) μπορούν να εμφανιστούν από την 1^η 10ετία της ζωής^{5,50}.

Άλλοι φαινότυποι της FH περιλαμβάνουν⁵⁰:

B5.1.1. FH που συνδέεται με την αροΒ (FDP)

Κληρονομείται με επικρατητικό γονίδιο και οφείλεται σε διαταραχή στην αναγνώριση της αροΒ από τον LDL-R, με αποτέλεσμα ανεπαρκή κάθαρση της LDL-C από την κυκλοφορία. Οι LDL-R είναι φυσιολογικοί. Η κλινική της εικόνα είναι ανάλογη της κλασικής FH.

B5.1.2. FH που συνδέεται με το ένζυμο PCSK9

Το ένζυμο PCSK9 συνδέεται στον LDL-R και προάγει τη διάσπαση, μειώνοντας το ρυθμό μετακίνησης της LDL από την κυκλοφορία. Μεταλλάξεις στο γονίδιο που ελέγχει τη λειτουργία του και οδηγούν σε αυξημένη λειτουργία έχουν σαν αποτέλεσμα εικόνα FH. Η διαταραχή κληρονομείται με επικρατητικό γονίδιο.

Αντίθετα, μεταλλάξεις που οδηγούν σε μειωμένη λειτουργία του ενζύμου συνδέονται με χαμηλά επίπεδα της LDL, μειωμένο κίνδυνο ΚΑΝ και μακροζωία.

B5.1.3. FH που κληρονομείται με υπολειπόμενο σωματικό γονίδιο (ARH)

Οφείλεται σε διαταραχή στη μεταφορά του σύμπλοκου LDL/LDL-R από την επιφάνεια του κυττάρου στο εσωτερικό του (endocytosis). Η κλινική εικόνα είναι σοβαρή, μεταξύ HoFH και HeFH.

Η πιθανότητα ένα παιδί να πάσχει από HeFH είναι μεγάλη όταν η $LDL \geq 95^{\text{η}}$ Ε.Θ για την ηλικία και το φύλο. Για τη διάγνωσή της στα παιδιά και στους εφήβους χρησιμοποιούνται τα κριτήρια Simon Broome και τα κριτήρια της Dutch Lipid Network, τα οποία στηρίζονται σε στοιχεία από το οικογενειακό ιστορικό, κλινικά στοιχεία (ιδίως ξανθώματα τενόντων), στη συγκέντρωση της χοληστερόλης και στη μοριακή ανάλυση (Πίνακες B5.3 & B5.4)^{5,50}.

Η διάγνωση μπορεί να επιβεβαιωθεί με μοριακή ανάλυση⁵⁰.

Πίνακας B5.3. Κριτήρια Dutch Lipid Network για τη διάγνωση της HeFH

A) Οικογενειακό ιστορικό: 1^{ου} βαθμού συγγενής με:

- | | |
|---|---|
| α) γνωστή πρώιμη στεφανιαία νόσο* | 1 |
| β) LDL-C $>95^{\text{η}}$ Ε.Θ σε ενήλικο συγγενή | 1 |
| LDL-C $>95^{\text{η}}$ Ε.Θ σε συγγενή < 18 χρόνων | 2 |
| γ) ξανθώματα τενόντων ή γεροντότοξο | 2 |

B) Κλινικό ιστορικό: ασθενής με πρώιμη*

- | | |
|--------------------|---|
| α) στεφανιαία νόσο | 2 |
| β) ΑΕΕ ή ΠΑΝ | 1 |

Γ) Φυσική εξέταση: ασθενής με:

- | | |
|-----------------------|---|
| α) ξανθώματα τενόντων | 6 |
| β) γεροντότοξο | 4 |

Δ) Επίπεδα LDL-C

- | | |
|---|---|
| α) $\geq 330\text{mg/dl}$ ή $8,5\text{mmol/L}$ | 8 |
| β) $250-329\text{mg/dl}$ ή $6,5-8,4\text{mmol/L}$ | 5 |
| γ) $190-249\text{mg/dl}$ ή $5-6,4\text{mmol/L}$ | 3 |
| δ) $155-189\text{mg/dl}$ ή $4-4,9\text{mmol/L}$ | 1 |

Ε) Ανεύρεση μεταλλάξεων του LDL-R ή άλλων γονιδίων που σχετίζονται με HeFH

8

Οριστική διάγνωση: >8 βαθμοί

Πολύ πιθανή διάγνωση: 6-8 βαθμοί

Πιθανή διάγνωση: 3-5 βαθμοί

Σημ. ΑΕΕ: Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο, ΠΑΝ: Περιφερική Αγγειακή Νόσος, LDL-R: Υποδοχέας της LDL. * Άνδρας ≤ 55 χρόνων ή Γυναίκα ≤ 60 χρόνων.

Πίνακας B5.4. Κριτήρια Simon Broome Register για τη διάγνωση της HeFH

- A. TC > 290mg/dl (ενήλικες) και > 260mg/dl (σε <16 χρόνων)
LDL-C >190mg/dl (ενήλικες) και >155mg/dl (σε <16 χρόνων)
- B. Ξανθώματα σε ασθενή ή σε 1^{ου} ή 2^{ου} βαθμού συγγενή
- Γ. DNA-βασισμένη απόδειξη μετάλλαξης στον υποδοχέα της LDL-C, οικογενούς διαταραχής της apoB-100 ή μιας PCSK9 μετάλλαξης, σε ασθενή
- Δ. Οικογενειακό ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου σε:
1^{ου} ή 2^{ου} βαθμού συγγενή ηλικίας < 50 χρόνων ή
1^{ου} βαθμού συγγενή ηλικίας <60 χρόνων
- Ε. Οικογενειακό ιστορικό TC >290mg/dl σε οποιονδήποτε 1^{ου} ή 2^{ου} βαθμού συγγενή

Οριστική διάγνωση: A+B ή Γ

Πιθανή διάγνωση: A+Δ ή A+E

B5.2. Οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία (FCH)

Κληρονομείται με επικρατητικό αυτοσωματικό γονίδιο και απαντάται σε συχνότητα 1/100. Οφείλεται σε υπερπαραγωγή μορίων VLDL, με αποτέλεσμα μειωμένη κάθαρση των χυλομικρών & των υπολειμμάτων τους. Χαρακτηρίζεται από αύξηση της LDL-C και της VLDL-C, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό. Η διαταραχή γίνεται συνήθως πιο εμφανής κατά την 4^η - 5^η 10ετία της ζωής, με τη συγκέντρωση των λιποπρωτεϊνών να αυξάνεται, ακολουθώντας συνήθως αύξηση του βάρους σώματος. Τα παιδιά κατά κανόνα εμφανίζουν ήπιες αυξήσεις. Οι πάσχοντες ενήλικες εμφανίζουν συχνότερα αγγειακή νόσο, ενώ συχνές είναι οι μεταβολικές διαταραχές π.χ. σακχαρώδης διαβήτης, υποθυρεοειδισμός και παχυσαρκία, οι οποίες επιτείνουν έτι περαιτέρω την αύξηση των λιποπρωτεϊνών. Η διάγνωση βασίζεται μόνο στο οικογενειακό ιστορικό και στον αποκλεισμό άλλων δευτεροπαθών αιτίων υπερλιπιδαιμίας.

Ο κίνδυνος πρώιμης KAN είναι μέτρια αυξημένος, ενώ όταν τα TGs $\geq$ 500mg/dl ο κίνδυνος παγκρεατίτιδας είναι αυξημένος⁵⁰.

B5.3. Πολυγονιδιακή υπερλιπιδαιμία

Είναι η συχνότερη μορφή δυσλιπιδαιμίας στους ενήλικες. Δεν υπάρχει ξεκάθαρος τύπος κληρονομικότητας. Οφείλεται στη συνεπίδραση περισσότερων του ενός γενετικών καθώς και περιβαλλοντικών παραγόντων, κυρίως της παχυσαρκίας. Χαρακτηρίζεται από ηπατική υπερπαραγωγή VLDL μορίων, που μετατρέπονται με

γρήγορο ρυθμό σε LDL, έτσι ώστε τα επίπεδα των VLDL και των TGs να είναι φυσιολογικά ή σχεδόν φυσιολογικά και των LDL αυξημένα⁵⁰.

B5.4. Δευτεροπαθείς δυσλιπιδαιμίες

Η συχνότερη αιτία δευτεροπαθούς δυσλιπιδαιμίας στα παιδιά και στους εφήβους είναι η παχυσαρκία, η οποία τα τελευταία χρόνια αποτελεί τη συχνότερη χρόνια νόσο της παιδικής και εφηβικής ηλικίας και ένα σημαντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας παγκοσμίως. Η παχυσαρκία στην παιδική ηλικία συνήθως συνοδεύεται από ήπια αύξηση των επιπέδων της TC και της LDL-C, μέτρια έως σοβαρή αύξηση των TGs και μείωση των επιπέδων της HDL-C (μικτή δυσλιπιδαιμία)^{5,50}.

Η πιθανότητα δυσλιπιδαιμίας αυξάνει όσο αυξάνεται ο BMI με τα ποσοστά να φθάνουν το 22,3% και το 42,9% στα υπέρβαρα και στα παχύσαρκα παιδιά αντιστοίχως, ενώ στα παιδιά με φυσιολογικό BMI το ποσοστό είναι 14,2%. Μελέτη των Manios Y et al έδειξε ότι το αυξημένο βάρος ήταν ανιχνευτικός δείκτης της αυξημένης LDL-C και της μειωμένης HDL-C, διαχρονικά⁵⁷.

Παρόμοιες διαταραχές χαρακτηρίζουν το μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ), του οποίου η συχνότητα συνεχώς αυξάνεται σαν αποτέλεσμα της ανθυγιεινής διατροφής και της παχυσαρκίας.

Σύμφωνα με την πρόσφατη πολιτική της Αμερικάνικης Παιδιατρικής Ακαδημίας, οι υπέρβαροι έφηβοι ανήκουν σε ειδική κατηγορία κινδύνου και απαιτούν έλεγχο για δυσλιπιδαιμία, με πλήρες λιπιδόγραμμα, ανεξάρτητα από την παρουσία θετικού οικογενειακού ιστορικού ή άλλων παραγόντων κινδύνου για πρόωμη καρδιαγγειακή νόσο⁵.

Εκτός από τα παραπάνω, οι καταστάσεις που μπορούν να οδηγήσουν σε δυσλιπιδαιμία είναι πολλές, όπως φαίνονται στον Πίνακα B5.5.

Πίνακας B5.5. Αιτίες δευτεροπαθούς δυσλιπιδαιμίας

- Αυξημένο ΒΣ - παχυσαρκία
- Μεταβολικό σύνδρομο
- Κάπνισμα
- Κατανάλωση αλκοόλ
- «Ειδικές» δίαιτες π.χ. κετογόνες
- Διατροφή με υψηλά ποσά κεκορεσμένου λίπους και χοληστερόλης

Πίνακας B5.5. Αιτίες δευτεροπαθούς δυσλιπιδαιμίας (συνέχεια)

- Μειωμένη φυσική δραστηριότητα
- Χαμηλό βάρος γέννησης
- Νευρογενής ανορεξία
- Υποθυρεοειδισμός
- Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 και 2
- Χρόνια νεφρική νόσος
- Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών
- Ηπατοπάθεια
- Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος
- Μεταμοσχεύσεις οργάνων
- Φάρμακα

B6. Αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας στα παιδιά

Στα μέτρα που προτείνονται για την αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας στα παιδιά και στους εφήβους και για την πρόληψη της πρώιμης αθηρωματικής και μελλοντικής ΚΑΝ, περιλαμβάνονται οι αλλαγές στον τρόπο ζωής (υγιεινή διατροφή, φυσική δραστηριότητα και διακοπή ανθυγιεινών για την καρδιά συμπεριφορών όπως είναι το κάπνισμα και το αλκοόλ) και η φαρμακευτική αγωγή^{5,51}.

B6.1. Αλλαγές στον τρόπο ζωής

B6.1.1. Αλλαγές στη διατροφή

Η **υγιεινή διατροφή** φαίνεται να σχετίζεται θετικά με την καθυστέρηση στην εξέλιξη της αθηρωματικής διεργασίας και τη μείωση του καρδιαγγεακού κινδύνου. Για το λόγο αυτό η υγιεινή διατροφή προτείνεται για όλα τα παιδιά ηλικίας μεγαλύτερης των 2 χρόνων, με στόχο τη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης σε επίπεδο κοινότητας (πληθυσμιακή προσέγγιση - πρωτογενής πρόληψη). Η δίαιτα σταδίου 1 που προτείνεται και περιλαμβάνει μείωση του ολικού λίπους σε ~30% των θερμίδων με το κεκορεσμένο να μην ξεπερνά το 10% και μείωση της προσλαμβανόμενης χοληστερόλης σε <300 mg ημερησίως, είναι ουσιαστικά συνώνυμη με την υγιεινή διατροφή⁵.

Η υγιεινή διατροφή αποτελεί επίσης την 1η επιλογή για τη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης σε παιδιά και εφήβους υψηλού κινδύνου (ατομική προσέγγιση -

δευτερογενής πρόληψη). Στα παιδιά αυτά μπορεί να απαιτηθεί μεγαλύτερη μείωση του κεκορεσμένου λίπους (<7%) και της χοληστερόλης (<200 mg ημερησίως), χωρίς περαιτέρω μείωση του ολικού λίπους (δίαιτα σταδίου 2). Τα παιδιά αυτά πρέπει να βρίσκονται υπό ιατρική παρακολούθηση.

Σημειώνεται ότι και στους δύο τύπους διατροφής οι υδατάνθρακες και οι πρωτεΐνες αποτελούν το 50-55% και το 15-20% των θερμίδων αντιστοίχως. Ακόμη τα υδρογονωμένα ή trans-λιπαρά δεν πρέπει να ξεπερνούν το 1% των ολικών θερμίδων. Τονίζεται ότι κανένας περιορισμός δεν συστήνεται σε παιδιά μικρότερα των 2 χρόνων, στα οποία δεν επιτρέπεται η χορήγηση προϊόντων με μειωμένα ή μηδενικά λιπαρά.

Η δίαιτα μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της LDL-C το πολύ μέχρι 15%. Ειδικά στα παιδιά με οικογενή υπερλιπιδαιμία, όπου τα επίπεδα της LDL-C είναι πολύ υψηλά, η δίαιτα από μόνη της δεν επαρκεί για τη μείωση των επιπέδων κοντά στα «επιθυμητά»⁵.

Έτσι, στα πλαίσια των θεραπευτικών αλλαγών στον τρόπο ζωής (Therapeutic Lifestyle Changes, National Cholesterol Education Program ATP III, modified form) προκειμένου για παιδιά με δυσλιπιδαιμία προτείνεται η καθημερινή πρόσληψη συμπληρωματικών **φυτικών ινών** και **φυτικών στερολών/στανολών**. Σημειώνεται ότι οι φυτικές ίνες δεν χορηγούνται σε απεριόριστα ποσά. Η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη σε g είναι: ηλικία παιδιού + 5g/ ημέρα, με μέγιστη ημερήσια πρόσληψη για παιδιά 15 χρόνων τα 20g και μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της LDL-C του ορού περίπου 7%. Επιπρόσθετα, η καθημερινή κατανάλωση 2gr φυτικών στερολών οδηγεί σε μείωση της LDL-C του αίματος από 9-20%⁵.

Οι στερόλες, ζωικές και φυτικές, είναι ουσίες που φυσιολογικά υπάρχουν στις μεμβράνες των κυττάρων^{58,59}. Έτσι, η χοληστερόλη είναι στερόλη ζωικής προέλευσης η οποία συμβάλει στην ακεραιότητα της κυτταρικής μεμβράνης και του ρόλου που αυτή εξυπηρετεί. Στη φύση όμως υπάρχουν πολλές στερόλες φυτικής προέλευσης (φυτοστερόλες), με πιο γνωστές τη σιτοστερόλη, την καμπιστερόλη και τη στιγμαστερόλη, η πρόσληψη των οποίων οδηγεί σε μείωση των επιπέδων της LDL-C. Η δράση των φυτοστερολών επιτυγχάνεται δια μέσου ανταγωνισμού στις θέσεις δέσμευσης της LDL-C στο γαστρεντερικό σωλήνα, με αποτέλεσμα αυτή να μην απορροφάται από το έντερο και τελικά να αποβάλλεται με τις κενώσεις⁶⁰.

Σημειώνεται ότι οι εστεροποιημένες μορφές των φυτικών στερολών είναι, σε μικρότερα ποσά, πιο αποτελεσματικές στη μείωση της χοληστερόλης.

Τροφές πλούσιες σε φυτικές στερόλες είναι τα φρούτα, τα λαχανικά, τα καρύδια, οι σπόροι, τα όσπρια και τα έλαια, όπως τα έλαια της σόγιας και του πεύκου. Εκτός από τις στερόλες, στις ίδιες τροφές περιέχονται οι στανόλες, οι οποίες αποτελούν υδρογονωμένες ή κεκορεσμένες μορφές στερόλης. Σημειώνεται ότι οι στανόλες απορροφώνται στη γαστρεντερική οδό σε πολύ μικρότερο βαθμό σε σύγκριση με τις στερόλες⁵⁹.

Μια Δυτικού τύπου διατροφή παρέχει μόνο 150-350 mg φυτοστερολών ημερησίως. Για το λόγο αυτό έχουν παρασκευαστεί και κυκλοφορούν στο εμπόριο πολλά τρόφιμα εμπλουτισμένα με φυτοστερόλες. Η κατανάλωσή τους συστήνεται σε άτομα με υπερλιπιδαιμία, με κύριο στόχο τη μείωση της LDL-C⁵⁸. Τέτοια προϊόντα είναι: φυτικές μαργαρίνες, μαγιονέζες, γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα με χαμηλά λιπαρά (π.χ. γιαούρτι), χυμοί πορτοκαλιού και φυτικά έλαια. Η κατανάλωση των προϊόντων αυτών πρέπει να γίνεται μετά από γεύμα, δεδομένου ότι η παρουσία της ρεδουκτάσης της χοληστερόλης είναι υπεύθυνη για την υδρόλυση των εστεροποιημένων φυτοστερολών και την ενεργοποίησή τους. Οι συνιστώμενες ποσότητες κυμαίνονται από 1-3g. Μικρότερες ή μεγαλύτερες ποσότητες δεν έχουν αποτέλεσμα ή πρόσθετο αποτέλεσμα αντιστοίχως⁵⁹.

Όσον αφορά στην αποτελεσματικότητα των φυτικών στερολών σε βάθος χρόνου και κυρίως στην αποτελεσματική μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων δεν υπάρχουν προς το παρόν ξεκάθαρα ερευνητικά δεδομένα. Παρόλα αυτά μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν ότι οι φυτοστερόλες προλαμβάνουν το σχηματισμό αθηρωμάτων, κατά ένα δόσοεξαρτώμενο τρόπο, αλλά δεν συμβάλλουν στην υποστροφή τους. Η δράση των φυτοστερολών ξεκινά συνήθως μετά από 2-3 εβδομάδες χορήγησης και η διακοπή τους συνεπάγεται την επιστροφή της LDL-C στα αρχικά της επίπεδα. Ιδιαίτερα σημαντικό είναι το γεγονός ότι ενώ μειώνουν τα επίπεδα των TC και LDL-C, δεν φαίνεται να μειώνουν τα επίπεδα της HDL-C. Όσον αφορά στην επίδρασή τους στα επίπεδα των TGs οι περισσότερες μελέτες υποστηρίζουν ότι δεν επιφέρουν καμία μεταβολή. Όμως, μερικοί ερευνητές διαπίστωσαν σημαντική μείωση των επιπέδων τους. Μελέτη σε άτομα με μεταβολικό

σύνδρομο έδειξε ότι η χορήγηση φυτοστερολών είχε σαν αποτέλεσμα όχι μόνο τη μείωση της non-HDL-C αλλά και των TGs^{61,62}.

Στα παιδιά οι μελέτες είναι αρκετά περιορισμένες. Παιδιά με δυσλιπιδαιμία που ήταν σε δίαιτα με χαμηλά λιπαρά και συμπληρωματική χορήγηση φυτικών στερολών παρουσίασαν μείωση της LDL-C ανάλογη με εκείνη που παρατηρείται σε ενήλικες. Η καθημερινή χορήγηση 1.5 g φυτικών στανολών, σε παιδιά με φυσιολογικά λιπίδια αίματος, οδήγησε σε μείωση της LDL-C κατά 7.5 %. Όμως, γενικά η κατανάλωσή τους δεν συνιστάται σε παιδιά που δεν πάσχουν από υπερλιπιδαιμία. Επιπλέον, η χρήση τους συνιστάται να αρχίζει μετά από την ηλικία των 5 χρόνων, αν και σύμφωνα με τις πρόσφατες οδηγίες των εμπειρογνομόνων (Expert Panel 2011) για την αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας στα παιδιά η καθημερινή χορήγησή τους στην ποσότητα των 2 g συμπεριλαμβάνεται πλέον στις διατροφικές οδηγίες για παιδιά με υπερχοληστερολαιμία ηλικίας μεγαλύτερης των 2 χρόνων⁵.

Γενικά, οι φυτοστερόλες είναι καλά ανεκτές, χωρίς σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες, και θεωρούνται ασφαλείς για τα παιδιά. Συνηθέστερες ανεπιθύμητες δράσεις είναι οι ήπιες γαστρεντερικές διαταραχές όπως δυσπεψία, ναυτία, δυσκοιλιότητα, διάρροια και γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση. Μείωση των επιπέδων των λιποδιαλυτών βιταμινών A και E και κυρίως των καροτενίων, λόγω μειωμένης απορρόφησης, έχει αναφερθεί. Όμως, μόνο τα καροτένια μειώθηκαν στα χαμηλότερα φυσιολογικά επίπεδα. Για τους λόγους αυτούς, στα παιδιά που λαμβάνουν προϊόντα εμπλουτισμένα με φυτικές στερόλες συνιστάται η κατανάλωση τροφών που είναι πλούσιες σε καροτένια όπως είναι τα καρότα, τα μπρόκολα, οι ντομάτες, το σπανάκι, οι κολοκύθες και τα βερίκοκα⁶³.

Τέλος, τα **ω3 λιπαρά οξέα** είναι πολυακόρεστα λιπαρά οξέα με αντιθρομβωτική, αντιφλεγμονώδη, αντιαθηρογενετική και αντιαρρυθμική δράση. Μειώνουν τη σύνθεση και έκκριση των VLDL και ευνοούν τη μετακίνηση των TGs και τη μείωση των επιπέδων τους. Ιδιαίτερη σημασία φαίνεται να έχει ο λόγος ω6/ω3 λιπαρά οξέα που πρέπει να είναι από 4:1-1:1. Ο ρόλος τους στη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου φαίνεται να είναι τόσο σημαντικός που σήμερα παρασκευάζονται τροφές εμπλουτισμένες με αυτά. Παρόλα αυτά μέχρι σήμερα στα παιδιά προτείνεται η πρόσληψη ω3 λιπαρών μόνο μέσω μιας υγιεινής διατροφής όπως αυτή διατυπώθηκε παραπάνω⁵.

B6.1.2. Φυσική Άσκηση

Στους ενήλικες, η φυσική άσκηση από τη μία και η αποφυγή καθιστικής ζωής από την άλλη φαίνεται ότι μειώνουν τον κίνδυνο μελλοντικού καρδιαγγειακού επεισοδίου.

Η εκμάθηση από τη νεαρή ηλικία στο σωστό τρόπο άσκησης οδηγεί στην διατήρησή του στην ενήλικη ζωή. Στα παιδιά ηλικίας άνω των 5 ετών, ικανοποιητική θεωρείται η καθημερινή ωριαία άσκηση μέτριας έως μεγάλης έντασης (τουλάχιστον 3 φορές/εβδομάδα άσκηση μεγάλης έντασης). Ταυτόχρονα προτείνεται ο χρόνος μπροστά σε οθόνες να μην ξεπερνά τις 2 ώρες ημερησίως. Η υιοθέτηση των παραπάνω συμπεριφορών σχετίζεται θετικά με τη μείωση βασικών παραγόντων κινδύνου στην εκδήλωση κλινικής αθηρωμάτωσης, όπως η υπερλιπιδαιμία, η υπέρταση, το μεταβολικό σύνδρομο^{5,58}.

Μελέτη έδειξε ότι τα επίπεδα της CRP στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία που ασκούσαν ήταν παρόμοια με αυτά παιδιών, ανάλογης ηλικίας, χωρίς δυσλιπιδαιμία. Πιθανολογήθηκε ότι η απελευθέρωση αντι-φλεγμονωδών κυτταροκινών που συνοδεύει την άθληση ίσως ευθύνεται για την μη αύξηση της CRP στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία⁶⁴. Σημειώνεται ότι ο ασκούμενος σκελετικός μυς είναι πηγή αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών (π.χ. IL-6), οι οποίες μειώνουν σημαντικά την επίπτωση φλεγμονωδών δεικτών όπως είναι η CRP⁶⁵.

B6.2. Φαρμακευτική Αγωγή

Η απόφαση για την έναρξη φαρμακευτικής αγωγής σε παιδιά και εφήβους με υπερλιπιδαιμία πρέπει να βασίζεται σε αυστηρά κριτήρια επιλογής. Αφορά κατεχορήν παιδιά με οικογενή υπερχοληστερολαιμία με πολύ υψηλά επίπεδα LDL-C, με σοβαρό οικογενειακό ιστορικό ή και παρουσία άλλων παραγόντων που αυξάνουν τον κίνδυνο πρώιμης έναρξης και ταχείας εξέλιξης της αθηρωματικής νόσου⁵.

Σύμφωνα με πρόσφατες οδηγίες φαρμακευτική αγωγή συστήνεται σε παιδιά ηλικίας ≥ 10 χρόνων με:

1. LDL-C ≥ 190 mg/dl
2. LDL-C ≥ 160 mg/dl και θετικό οικογενειακό ιστορικό πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου σε 1^{ου} ή 2^{ου} βαθμού συγγενείς ή ένα υψηλού βαθμού παράγοντα κινδύνου ή δύο μετρίου βαθμού παράγοντες κινδύνου (Πίνακας B6.1.)

εφόσον η σωστή εφαρμογή, για 6 ή καλύτερα για 12 μήνες, των αλλαγών στον τρόπο ζωής αποτύχει να μειώσει την LDL-C στα επιθυμητά επίπεδα⁵.

Στόχος της φαρμακευτικής αντιμετώπισης είναι η μείωση της LDL-C σε επίπεδα $\leq 130 \text{ mg/dl}$, δηλαδή $< 95^{\text{η}}$ ΕΘ της LDL-C.

Πίνακας B6.1. Παράγοντες κινδύνου σε παιδιά με δυσλιπιδαιμία

Θετικό οικογενειακό ιστορικό	Στεφανιαία νόσος/ αιφνίδιος θάνατος καρδιακής αιτίας σε 1 ^{ου} βαθμού συγγενείς ηλικίας < 55 ετών για άντρες και < 65 ετών για γυναίκες
Υψηλού βαθμού παράγοντες κινδύνου	ΑΠ $\geq 99^{\text{ης}}$ ΕΘ + 5 mmHg Κάπνισμα BMI $\geq 97^{\text{ης}}$ ΕΘ ΣΔ τύπου I ή II ΧΝΑ Kawasaki με ανευρύσματα Μεταμόσχευση καρδιάς
Μετρίου βαθμού παράγοντες κινδύνου	ΑΠ $< 99^{\text{ης}}$ ΕΘ + 5 mmHg $95^{\text{ης}} \geq \text{BMI} < 97^{\text{ης}}$ ΕΘ HDL-C $< 40 \text{ mg/dl}$ Kawasaki χωρίς ανευρύσματα Νεφρωτικό σύνδρομο Χρόνια Φλεγμονώδης Νόσος (ΣΕΛ, ΡΑ) Λοίμωξη HIV

Υπολιπιδαιμικά φάρμακα που χορηγούνται στα παιδιά

Ι). Ουσίες που μειώνουν την απορρόφηση της χοληστερόλης

Ρητίνες: Πρόκειται για ουσίες που δεσμεύουν τα χολικά άλατα στο έντερο με επακόλουθο την αποβολή αυτών από το γαστρεντερικό και τη μειωμένη απορρόφηση μέσω του έντερο-ηπατικού κύκλου. Από αυτές κυρίως χρησιμοποιείται η χολεστυραμίνη.

Κολεσεβελάμη: Μη ρητινοειδής ουσία, η οποία έχει τον ίδιο τρόπο δράσης με τις ρητίνες.

Η χρήση τους φαίνεται να είναι ασφαλής, καθόσον δεν απορροφώνται από το έντερο και μειώνουν ικανοποιητικά τα επίπεδα της LDL-C. Όμως, τόσο οι ρητίνες που

κυκλοφορούν σε σκόνη όσο και η κολεσεβελάμη που κυκλοφορεί σε χάπια μεγάλου μεγέθους, είναι δυσληπτες. Επιπλέον, οι ρητίνες συχνά συνοδεύονται από γαστρεντερικά ενοχλήματα όπως κοιλιακό άλγος, ναυτία και δυσκοιλιότητα. Όλα τα παραπάνω έχουν σαν συνέπεια τη μη συμμόρφωση στην αγωγή και τελικά την μη ικανοποιητική αποτελεσματικότητα. Οι ρητίνες έχουν επίσης ενοχοποιηθεί για μείωση των επιπέδων των λιποδιαλυτών βιταμινών και του φυλλικού οξέος.

Εζετιμίμη: Είναι νεότερο φάρμακο, το οποίο μειώνει την απορρόφηση της LDL-C. Η εμπειρία στα παιδιά και στους εφήβους είναι περιορισμένη. Συνήθως χορηγείται σε συνδυασμό με στατίνη. Η μεμονωμένη χορήγησή της σε εφήβους οδήγησε σε ικανοποιητική μείωση των επιπέδων της LDL-C.

II) Ουσίες που αναστέλλουν τη σύνθεση της χοληστερόλης

Στατίνες: Είναι φάρμακα πρώτης γραμμής στην αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας στους ενήλικες. Η δράση τους επιτυγχάνεται μέσω αναστολής του ενζύμου υδροξυ-μεθυλο-γλουταριλο-συνενζυμο Α ρεδοουκτάση, το οποίο συμμετέχει στην ηπατική σύνθεση της χοληστερόλης. Γενικά, θεωρούνται αποτελεσματικές και ασφαλείς και αποτελούν πλέον φάρμακα πρώτης επιλογής και στα παιδιά ηλικίας άνω των 10 χρόνων. Στα κορίτσια η χορήγησή τους συνιστάται να ξεκινά μετά από την έναρξη της εμμήνου ρύσεως και να δίνονται οδηγίες αντισύλληψης. Οι στατίνες επιπλέον έχουν αντιφλεγμονώδη και αντιαθηρωματική δράση αφού μειώνουν το πάχος του έσω και μέσω χιτώνα των αρτηριών σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία. Μελέτες υποστηρίζουν ότι δεν επηρεάζουν αρνητικά τη σωματική αύξηση, την ανάπτυξη και την ενήβωση. Ο κίνδυνος ηπατο- και μυο-τοξικότητας είναι μικρός. Οι ανεπιθύμητες αυτές ενέργειες είναι δοσοεξαρτώμενες και μπορεί να παρατηρηθούν σε περιπτώσεις συγχορήγησης φαρμάκων που επίσης μεταβολίζονται από το σύστημα P-450, όπως και οι στατίνες. Για τη χορήγησή τους στα παιδιά και την παρακολούθηση έχουν εκδοθεί κατευθυντήριες οδηγίες^{5,50,51}.

III) Άλλα φάρμακα

Η νιασίνη και οι φιβράτες, φάρμακα που μειώνουν τα επίπεδα των TGs και αυξάνουν την HDL-C, δεν συστήνονται στα παιδιά, λόγω των σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών τους. Οι φιβράτες έχουν χορηγηθεί στις πολύ σπάνιες περιπτώσεις σοβαρής υπερτριγλυκεριδαιμίας που δεν ανταποκρίνονται στη διατροφή και τη

συμπληρωματική χορήγηση ω3-λιπαρών οξέων, προς αποφυγή της εμφάνισης παγκρεατίτιδας.

B6.3. Άλλες Θεραπείες-Νεότερες Θεραπείες⁵⁰

Εκλεκτική LDL-αφαίρεση: Εφαρμόζεται σε παιδιά με ομόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία, που συνήθως δεν ανταποκρίνονται στη φαρμακευτική αγωγή.

Μεταμόσχευση ήπατος: Εφαρμόζεται σε πολύ σοβαρές περιπτώσεις ομόζυγης υπερχοληστερολαιμίας.

Άλλες νεότερες θεραπείες οι οποίες βρίσκονται σε διάφορα στάδια κλινικών μελετών και δοκιμάζονται, προς το παρόν, σε ενήλικες με ομόζυγη υπερχοληστερολαιμία περιλαμβάνουν:

1. Αναστολείς της MTP (Microsomal Triglyceride Transfer Protein): Το MTP έχει σημαντικό ρόλο στη σύνθεση και έκκριση των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB, στο ήπαρ και στο έντερο
2. Antisense oligonucleotides: Δρουν δια μέσου επιλεκτικής αναστολής του mRNA της apoB
3. Αναστολείς της PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin type 9): Στρατηγικές μείωσης της δραστηριότητας της PCSK9 π.χ. ειδικά ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα που συνδέονται στην καταλυτική θέση της PCSK9
4. Αναστολείς της CETP (Cholesterol Ester Transfer Protein): Σε τελικό στάδιο κλινικών δοκιμών είναι 4 αναστολείς της CETP

Γ. ΠΡΟΣΘΕΤΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗΣ

Γ1. Μικρά, πυκνά μόρια της LDL-C (Small dense LDL - sdLDL-C)

Η συγκέντρωση της LDL-C φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση μελλοντικών καρδιαγγειακών επεισοδίων⁶⁶. Παρόλα αυτά η μείωση της LDL-C με υπολιπιδαιμικά φάρμακα μειώνει τον κίνδυνο καρδιαγγειακών συμβαμάτων μόνο έως 30%. Οι ερευνητές πιστεύουν ότι πρόσθετοι παράγοντες κινδύνου αθηρωμάτωσης συμβάλλουν στην αύξηση του κινδύνου ΚΑΝ⁶. Ένας από αυτούς πιθανολογείται να είναι τα μικρά και πυκνά μόρια της LDL-C.

Τα μόρια της LDL-C αποτελούν έναν ετερογενή πληθυσμό όσον αφορά στο μέγεθος, στην πυκνότητα, στη σύνθεση των λιπιδίων, στο ηλεκτρικό φορτίο και στις ιδιότητές τους⁵². Σήμερα έχουν αναγνωριστεί δύο κύριοι φαινότυποι. Τα μικρά και πυκνά μόρια της LDL-C (sdLDL) που συνιστούν το φαινότυπο Β και τα μεγάλα, μικρότερης πυκνότητας μόρια της LDL-C (IdLDL) που συνιστούν το φαινότυπο Α⁵².

Τα sdLDL μόρια είναι περισσότερο αθηρογόνα καθώς διέρχονται ευκολότερα στο αρτηριακό τοίχωμα⁶⁷, έχουν μεγαλύτερο χρόνο κάθαρσης από την κυκλοφορία καθώς έχουν μικρότερη συγγενεια με τον υποδοχέα της LDL-C σε σύγκριση με τα IdLDL μόρια⁶⁸, αυξημένη δέσμευση στις πρωτεογλυκάνες με αποτέλεσμα μεγαλύτερο χρόνο παραμονής υπενδοθηλιακά⁶⁹ και υπόκεινται εύκολα σε οξειδωτική τροποποίηση λόγω έλλειψης βιταμίνης Ε⁷⁰. Επιπλέον, η apoB των sdLDL μορίων υφίσταται γλυκοζυλίωση πιο εύκολα από την apoB των IdLDL μορίων^{71,72}. Όμως η γλυκοζυλίωση και οξείδωση της LDL-C την καθιστά περισσότερο αθηρογόνο, γεγονός που φαίνεται να συνδέεται στενά με την κλινική εκδήλωση της αθηρωματικής νόσου, ανεξάρτητα από την επίδραση άλλων επιβεβαιωμένων παραγόντων κινδύνου^{71,73}.

Ο φαινότυπος των LDL μορίων φαίνεται ότι καθορίζεται κυρίως από γενετικούς παράγοντες^{74,75}. Όμως, η μελέτη Framingham δείχνει ότι περιβαλλοντικοί παράγοντες επίσης επηρεάζουν το μέγεθος των LDL μορίων, αφού το 15% των συμμετεχόντων στη μελέτη άλλαξε φαινότυπο στη διάρκεια παρακολούθησής τους μετά από θεραπευτική παρέμβαση⁷⁶.

Οι Arisaka και συν., διαπίστωσαν ότι περίπου το 9,3 % από 250 υγιή παιδιά, ηλικίας 7-13 ετών, είχαν τον φαινότυπο Β και ότι η παρουσία των sdLDL μορίων συσχετίζεται θετικά με τον αυξημένο ΔΜΣ, τα υψηλά επίπεδα TG και apoB, αλλά και με τα χαμηλά

επίπεδα της HDL-C και της apoA1. Στα παιδιά αυτά δε βρέθηκε συσχέτιση του φαινότυπου B με το φύλο, την αρτηριακή πίεση (ΑΠ), την TC και την LDL-C⁷⁷.

Μελέτη από την Αυστραλία, σε 50 υγιή παιδιά, μικρότερα των 10 ετών, έδειξε ότι η επικράτηση του φαινότυπου B άγγιζε το 7,5 %, ενώ στους γονείς τους το αντίστοιχο ποσοστό ήταν 17% για τους πατέρες και 5% για τις μητέρες. Ο φαινότυπος B στα παιδιά είχε θετική συσχέτιση μόνο με τα χαμηλά επίπεδα της HDL-C⁷⁸.

Σε άλλη μελέτη που περιελάμβανε περισσότερα από 500 υγιή παιδιά, ηλικίας 7-12 ετών, διαπιστώθηκε ότι στα αγόρια ο φαινότυπος B απαντούσε σε ποσοστό 10,8%, ενώ στα κορίτσια σε ποσοστό μόλις 4,4%. Σημειώνεται ότι οι δύο πληθυσμοί διέφεραν στα χαρακτηριστικά τους, με τα αγόρια να έχουν σημαντικά μεγαλύτερο ΔΜΣ, υψηλότερα επίπεδα γλυκόζης αίματος και αντίσταση στην ινσουλίνη. Στα ίδια παιδιά διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση των sdLDL μορίων με τον ΔΜΣ, την αντίσταση στην ινσουλίνη, τα TGs και την apoB και αρνητική συσχέτιση με την HDL-C. Μάλιστα, οι ερευνητές υποστηρίζουν ότι στα παιδιά η HDL-C αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα του μεγέθους των LDL μορίων, ενώ τα TGs δεν αποδεικνύεται να εξυπηρετούν αυτό το ρόλο, εύρημα που έρχεται σε αντίθεση με τα ευρήματα μελετών που έγιναν σε ενήλικες⁷⁹.

Σε 229 υγιή παιδιά, 10-13 ετών, εκ των οποίων το 18% ήταν παχύσαρκα, βρέθηκε ότι το 8,2% των παιδιών παρουσίαζε το φαινότυπο B και στο 83% των περιπτώσεων παρατηρήθηκε συσχέτισή του με τις αυξημένες συγκεντρώσεις των TGs και της TC. Η αυξημένη συγκέντρωση των TGs σχετιζόταν με τις sdLDL-C στο 55% των περιπτώσεων⁸⁰.

Οι Freedman και συν., μελετώντας περίπου 1000 υγιή παιδιά, ηλικίας 10-17 ετών, έδειξαν ότι η επικράτηση του φαινότυπου B στα αγόρια λευκής φυλής έφθανε το 13%, ενώ στα αγόρια της μαύρης φυλής μόλις το 5%. Ακόμη, τα αγόρια της αφρικανικής φυλής είχαν σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις TGs και σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις HDL-C, κάτι που μπορεί να σχετίζεται με τη διαφορετική επικράτηση του φαινότυπου ανάμεσα στους δύο πληθυσμούς. Τα κορίτσια πάλι είχαν σε μικρότερο ποσοστό sdLDL μόρια σε σύγκριση με τα αγόρια. Τα επίπεδα των TGs και της ινσουλίνης και ο ΔΜΣ επίσης συσχετίζονταν με το μέγεθος των LDL μορίων⁸¹.

Οι Stan και συν., από το Καναδά, μελέτησαν περισσότερα από 2000 παιδιά (ηλικίας 9, 13 και 16 ετών) και διαπίστωσαν ότι μόλις το 2% από αυτά είχε το φαινότυπο B. Όμως, το ποσοστό αυτό άγγιζε το 7% στα υπέρβαρα παιδιά και το 10% σε εκείνα που παρουσίαζαν αντίσταση στην ινσουλίνη. Ανάμεσα στα δύο φύλα υπήρχε μικρή διαφορά με τα μεγαλύτερα, λιγότερα πυκνά μόρια της LDL-C να υπερέχουν στα κορίτσια. Ανάλογη διαφορά παρατηρήθηκε στα μικρότερα σε σύγκριση με τα μεγαλύτερης ηλικίας παιδιά. Στην ίδια μελέτη το μέγεθος των LDL μορίων συσχετιζόταν κυρίως με την HDL-C και τα TGs, με ανάλογη σχέση με αυτή που ανέφεραν προηγούμενες μελέτες⁸².

Η μελέτη STRIP έρχεται να δείξει ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των sdLDL μορίων και του ΔΜΣ, των TGs, του apoE₄ φαινότυπου καθώς και του οικογενειακού ιστορικού καρδιαγγειακής νόσου, σε παιδιά ηλικίας 7 ετών. Ο συγκεκριμένος πληθυσμός παιδιών είχε χαμηλά επίπεδα TGs συγκριτικά με τους πληθυσμούς των προαναφερθέντων μελετών, κάτι που ίσως εξηγεί την μη ύπαρξη συσχέτισης των μορίων sdLDL με τα TGs. Οι μελετητές υποθέτουν ότι η ενήβωση του ατόμου ίσως είναι απαραίτητος παράγοντας στην εκδήλωση του φαινότυπου B⁸³.

Οι sdLDL επικρατούν σε παιδιά με διαβήτη τύπου I και σε παχύσαρκα^{84,85}. Διαβητικά παιδιά και έφηβοι παρουσιάζουν το φαινότυπο B σε ποσοστό που αγγίζει το 85% σε αντίθεση με υγιείς συνομήλικούς τους που έχουν ανάλογα επίπεδα λιπιδίων και στους οποίους το ποσοστό είναι μόλις 11%⁸⁴. Μελέτη από την Αμερική έδειξε ότι η επικράτηση του φαινοτύπου B σε 80 παχύσαρκα παιδιά, ηλικίας 13-16 ετών, έφθανε στο 54% αυτών. Επίσης, διαπιστώθηκε σημαντική θετική συσχέτιση με τη σπλαχνική εναπόθεση λίπους, τα επίπεδα της apoB, των TGs, του λόγου TC/HDL-C και σημαντική αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα της HDL-C. Οι ίδιοι ερευνητές δε βρήκαν συσχέτιση των sdLDL μορίων με το ολικό λίπος, γεγονός που επιβεβαιώνουν και άλλες έρευνες⁸⁵.

Άλλη μελέτη από την Ιαπωνία, σε 30 παχύσαρκα παιδιά μέσης ηλικίας 12,6 χρόνων, σημειώνει επίσης την υψηλή επικράτηση των sdLDL μορίων στο 40% των παχύσαρκων παιδιών, εκ των οποίων το 33% είχε δυσλιπιδαιμία τύπου IIb, το 50% είχε μόνο υπερτριγλυκεριδαιμία (δυσλιπιδαιμία τύπου IV), ενώ το υπόλοιπο 17% είχε φυσιολογικά λιπίδια. Στη συγκεκριμένη μελέτη κανένα από τα παιδιά με το φαινότυπο B δεν είχε δυσλιπιδαιμία τύπου IIa, δηλαδή μόνο υψηλή LDL-C⁸⁶. Ένα

χρόνο αργότερα οι Gali και συν., από τη μελέτη 49 παχύσαρκων παιδιών μέσης ηλικίας 15 ετών, παρατήρησαν ότι η ηπατική στεάτωση έχει σημαντική θετική συσχέτιση με τις sdLDL, εύρημα ανάλογο με αυτό σε ενήλικο πληθυσμό⁸⁷. Ακόμη, η απώλεια βάρους σε 75 παχύσαρκα παιδιά, 8-18 ετών, οδήγησε σε μείωση των TGs και του αριθμού των sdLDL μορίων, και η μείωση των TGs, στο 1/5 από αυτά, προέβλεπε την αλλαγή του φαινοτύπου⁸⁸.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει μελέτη από τον Καναδά που συμπεριέλαβε 381 νορμολιπιδαιμικά και 1955 δυσλιπιδαιμικά άτομα, ηλικίας 2-86 ετών. Οι παρατηρήσεις από τη συγκεκριμένη μελέτη ήταν ότι η επικράτηση του φαινότυπου B έχει άμεση σχέση με τον τύπο της δυσλιπιδαιμίας και ότι τα άτομα με αυξημένα επίπεδα TGs έχουν πιο μικρά μόρια LDL-C. Επίσης σημαντικό ήταν το ότι τα άτομα με δυσλιπιδαιμία τύπου IIa δεν είχαν επικράτηση του φαινότυπου B, σε σύγκριση με τα άτομα που είχαν άλλους τύπους δυσλιπιδαιμίας⁸⁹.

Η σύγκριση 17 παιδιών με μεταμόσχευση νεφρού με 32 υγιή παιδιά αντίστοιχης ηλικίας και φύλου, με διαφορές μόνο στα επίπεδα των TC, TGs και apoB, έδειξε ότι τα μεταμοσχευμένα παιδιά είχαν πιο πυκνά HDL και sdLDL μόρια και παρουσίαζαν μεγαλύτερο cIMT όταν επικρατούσαν τα πιο πυκνά μόρια HDL. Έτσι, το βασικό λιπιδόγραμμα σε αυτά τα παιδιά δεν αρκούσε για την αναγνώριση εκείνων με πιο προχωρημένη υποκλινική αθηρωμάτωση. Στα ίδια παιδιά παρατηρήθηκε, όπως και στις προηγούμενες έρευνες σημαντική θετική συσχέτιση των επιπέδων TGs με τον αριθμό των sdLDL μορίων, όπως επίσης σημαντική αρνητική συσχέτιση των επιπέδων TGs με το μέγεθος των HDL μορίων και επιπρόσθετα με την αυξημένη δραστηριότητα του ενζύμου CETP (Colesteryl Ester Transfer Protein), δηλαδή του ενζύμου που είναι υπεύθυνο για τη μεταφορά εστέρων χοληστερόλης από τα HDL στα VLDL και στα LDL μόρια⁹⁰.

Σε ενήλικες, μελέτες δείχνουν ότι η επικράτηση των sdLDL μορίων είναι περίπου τριπλάσια, από 34,7 – 44%⁹¹. Ακόμη, η διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα όσον αφορά στο μέγεθος των μορίων της LDL-C είναι ακόμα πιο έκδηλη, με τις γυναίκες να έχουν πιο μεγάλα, λιγότερο πυκνά μόρια. Σε άλλη μελέτη 30% των ενηλίκων αρρένων είχαν το φαινότυπο B σε σύγκριση με το 10% ατόμων <20 ετών και των δύο φύλων και με το 15-25% των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών^{92,93,94}. Επιδημιολογική μελέτη σε πληθυσμό της μεσογείου έδειξε ότι ο φαινότυπος B απαντά στο 15% περίπου,

ανδρών και γυναικών, και ότι συσχετίζεται θετικά με τον ΔΜΣ, την επίπτωση του διαβήτη, τη συγκέντρωση των TGs και τα χαμηλά επίπεδα της HDL-C. Επιπλέον, τάση μείωσης του μεγέθους των LDL μορίων διαπιστώθηκε με την πάροδο της ηλικίας και στα δύο φύλα. Τα TGs φάνηκε να είναι ο μόνος ανεξάρτητος παράγοντας σχετιζόμενος με το μέγεθος των μορίων της LDL-C⁹⁵.

Από τα μέχρι τώρα ερευνητικά δεδομένα φαίνεται ότι η παρουσία των sdLDL μορίων αυξάνει τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου^{96,97}. Σε άτομα με υπερ-αποβηταλιποπρωτεϊναιμία και επικράτηση των sdLDL μορίων ο κίνδυνος για καρδιαγγειακά επεισόδια ήταν μεγαλύτερος, αν και δεν έγινε ανεξάρτητη συσχέτιση των apoB και των sdLDL μορίων με τα επεισόδια⁹⁸. Το μέγεθος της LDL-C συσχετίζεται θετικά με τα επίπεδα της HDL-C στο πλάσμα και αρνητικά με τη συγκέντρωση των TGs⁹³.

Η συνύπαρξη sdLDL μορίων, χαμηλών συγκεντρώσεων της HDL-C και υψηλών επιπέδων των TGs στο πλάσμα έχει χαρακτηριστεί ως αθηρογόνος λιποπρωτεϊνικός φαινότυπος (atherogenic lipoprotein phenotype)⁷⁵. Πρόκειται για έναν κληρονομικά μεταβιβαζόμενο φαινότυπο που φαίνεται να αυξάνει τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου. Οι Berneis και συν. ισχυρίζονται ότι και ο φαινότυπος B έχει ανάλογη δράση. Άλλοι ερευνητές βρήκαν ότι ο φαινότυπος B σχετίζεται θετικά με την αθηρωμάτωση και τη δυσλιπιδαιμία στο διαβήτη τύπου II και την εκδήλωση μεταβολικού συνδρόμου⁹⁹. Μελέτη έδειξε ότι η επικράτηση του φαινότυπου B τριπλασιάζει τον κίνδυνο στεφανιαίας νόσου, με σχέση ανεξάρτητη από την ηλικία, το φύλο και το ΔΜΣ⁹⁶. Το National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP III) έχει αναγνωρίσει τα sdLDL μόρια ως ένα αναδυόμενο παράγοντα κινδύνου καρδιαγγειακών συμβαμάτων¹⁰⁰.

Όσον αφορά στη σχέση της υποκλινικής αθηρωμάτωσης και των sdLDL μορίων, από μελέτη σε 326 ενήλικες φάνηκε ότι το c-IMT συσχετιζόταν πιο ισχυρά με τα sdLDL μόρια και λιγότερο κατά σειρά με την apoB, την LDL-C, την non-HDL-C και τα TGs. Αρνητική συσχέτιση παρατηρήθηκε με την HDL-C, την apoA-I και το ρυθμό σπειραματικής διήθησης (GFR). Άτομα με αρτηριακή υπέρταση και σακχαρώδη διαβήτη παρουσίαζαν πολύ μεγαλύτερο c-IMT, ενώ παραδόξως το κάπνισμα δεν επηρέαζε σημαντικά το πάχος του τοιχώματος των αγγείων. Τέλος, η υψηλή CRP συνδεόταν με υψηλή συγκέντρωση sdLDL¹⁰¹.

Δεδομένου ότι τα sdLDL μόρια έχουν αναγνωριστεί ως τα πλέον αθηρογόνα, η μελέτη της επίδρασης των διαφόρων θεραπευτικών παρεμβάσεων σε αυτά είναι ιδιαίτερα σημαντική.

Το 2000 οι Krauss και συν. έδειξαν ότι παιδιά μέσης ηλικίας 14 ετών (με ηλικιακό εύρος 7-28 έτη) μετά από δεκαήμερη δίαιτα πτωχή σε λιπαρά και πλούσια σε υδατάνθρακες, μείωναν το μέγεθος των LDL μορίων τους ανάλογα με το φαινότυπο των γονέων τους. Δηλαδή παιδιά που προέρχονταν από δύο γονείς με φαινότυπο B παρουσίαζαν μεγαλύτερη μείωση στο μέγεθος των LDL μορίων και αλλαγή φαινοτύπου σε σύγκριση με εκείνα που προέρχονταν από δύο γονείς με διαφορετικό φαινότυπο μεταξύ τους ή από δύο γονείς με φαινότυπο A. Οι ερευνητές δηλαδή έδειξαν ότι αν και ο φαινότυπος των LDL μορίων επηρεάζεται σε ένα μεγάλο βαθμό γενετικά, παρόλα αυτά η αλλαγή στις διατροφικές συνήθειες του ατόμου, ακόμη και νεαρής ηλικίας επιδρά σε αυτόν σημαντικά¹⁰². Σε πληθυσμό αρρένων έχει επίσης παρατηρηθεί μετατροπή των μεγαλύτερων σε μικρότερου μεγέθους μόρια μετά από την κατανάλωση τροφών με χαμηλά λιπαρά αλλά πλούσιων σε υδατάνθρακες¹⁰³. Αν και οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες έχουν το φαινότυπο B σε πολύ μικρότερο βαθμό από τους συνομήλικους τους άντρες, ανάλογο μοτίβο παρατηρήθηκε και σε αυτές μετά από την εφαρμογή της παραπάνω δίαιτας¹⁰⁴.

Σχετικά πρόσφατα βρέθηκε ότι η ημερήσια κατανάλωση 4 gr φυτικών στερολών από ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο μείωσε σημαντικά τον αριθμό των sdLDL μορίων σε χρονικό διάστημα 2 μηνών¹⁰⁵.

Όσον αφορά στα φάρμακα, αποδεικνύεται ότι οι στατίνες μειώνουν τον αριθμό όλων των υποτάξεων των sdLDL μορίων με αποτέλεσμα να μην προκαλούν αλλαγή από το φαινότυπο B στον φαινότυπο A¹⁰⁶. Αντίθετα, άλλα φάρμακα που μειώνουν τα πλούσια σε TGs VLDL μόρια – από τα οποία προέρχονται τα sdLDL μόρια – όπως είναι οι φιβράτες και η νιασίνη, επιδρούν θετικά στην αλλαγή του φαινοτύπου των LDL μορίων^{94,106,107}.

Η ατορβαστατίνη, η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη στατίνη, σύμφωνα με τις περισσότερες μελέτες μάλλον φαίνεται να επιδρά θετικά στο φαινότυπο των LDL μορίων¹⁰⁶. Ανάλογη δράση έχει η φλουβαστατίνη¹⁰⁸, ενώ τα αποτελέσματα των μελετών που αναφέρονται στη σιμβαστατίνη¹⁰⁶ και στην πραβαστατίνη είναι αντικρουόμενα¹⁰⁶. Αντίθετα, η ροσουβαστατίνη, μία νεότερη, αρκετά υποσχόμενη

στατίνη, χορηγούμενη σε δόση 40mg ημερησίως σε ενήλικες με υπερχοληστερολαιμία οδήγησε στη μείωση των sdLDL μορίων και παράλληλη αύξηση του φαινοτύπου A¹⁰⁹. Τρεις μελέτες που σύγκριναν την σχέση των στατινών και των sdLDL μορίων, σε σχέση πάντα με την μείωση μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβαμάτων έδειξαν ότι η τροποποίηση των sdLDL μορίων από τις στατίνες μείωνε τον καρδιαγγειακό κίνδυνο¹⁰⁶.

Η εξετιμίμπη είναι ένα νεότερο φάρμακο στην αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας στον ενήλικο πληθυσμό. Το θεραπευτικό της αποτέλεσμα επιτυγχάνεται μέσω εκλεκτικής μείωσης της απορρόφησης της LDL-C από την πεπτική οδό. Σε μια πρόσφατη μελέτη ανασκόπησης οι Rizzo και συν., παρατηρούν ότι αν και η εξετιμίμπη μειώνει σημαντικά την LDL-C στο πλάσμα των ασθενών, ωστόσο δεν επιδρά στο φαινότυπο B¹¹⁰. Αν και λίγες οι μελέτες -πέντε- που εστίασαν στην επίδραση του φαρμάκου στο μέγεθος των μορίων της LDL-C, από το σύνολό τους προκύπτει ότι η εξετιμίμπη δεν προκαλεί μεταστροφή του φαινοτύπου B σε φαινότυπο A, γεγονός που φαίνεται να μειώνει την αξία της ευεργετικής της επίδρασης στα επίπεδα της LDL-C¹¹¹. Τη διαπίστωση αυτή ενισχύει επίσης μελέτη που έδειξε ότι η προσθήκη της εξετιμίμπης στην υπολιπιδαιμική θεραπεία με στατίνες σε ασθενείς με FH, δεν οδήγησε σε βελτίωση του c-IMT μετά από διαιτητική θεραπεία¹¹².

Οι Bays και συν., σε συγκριτική μελέτη, που περιέλαβε περισσότερα από 500 δυσλιπιδαιμικά άτομα, της επίδρασης του συνδυασμού εξετιμίμπης και 40mg ατορβαστατίνης με την επίδραση της χορήγησης 80mg ατορβαστατίνης, διαπίστωσαν εφάμιλλα αποτελέσματα στη μείωση των LDL-C, apoB και non-HDL-C. Όμως, διαπίστωσαν επίσης ότι μειώνουν το φαινότυπο A και αυξάνουν το φαινότυπο B, ανεξάρτητα από τα επίπεδα των TGs¹¹³. Αντίθετα ήταν τα αποτελέσματα μελέτης από τη συγχορήγηση εξετιμίμπης και φενοφιμπράτης, όπου παρατηρήθηκε, εκτός από τη σημαντική μείωση των LDL-C, apoB και non-HDL-C, και μείωση του φαινοτύπου B¹¹⁴. Τέλος, σε υγιείς άρρενες η χορήγηση εξετιμίμπης μόνης ή σε συνδυασμό με σιμβαστατίνη οδήγησε σε αύξηση του αριθμού των sdLDL μορίων¹¹⁵.

Σήμερα, για τη μέτρηση των υποτάξεων της LDL-C χρησιμοποιούνται διάφορες μέθοδοι όπως οι: ηλεκτροφόρηση πηκτής με βαθμίδωση (gradient gel electrophoresis, GGE), υπερφυγοκέντρωση- κατακόρυφου αυτόματου προφίλ (ultracentrifugation-vertical auto profile, VAP), πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός

(nuclear magnetic resonance, NMR), ηλεκτροφόρηση πηκτής σε σωλήνα (tube gel electrophoresis, TGE). Η GGE, είναι για πολλά χρόνια μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος με την οποία οι υποτάξεις των μορίων της LDL-C ταξινομούνται ποιοτικά σε δύο κατηγορίες, τα μικρά και πυκνά μόρια ή φαινότυπο B και τα μεγάλα και αραιότερα μόρια ή φαινότυπο A¹¹⁶. Η NMR τεχνική είναι μία μέθοδος που επιτρέπει την ποσοτική και ποιοτική μέτρηση των υποτάξεων της LDL-C, ωστόσο απαιτεί ειδικό εξοπλισμό και είναι δύσχρηστη¹¹⁷. Διάφορες άλλες ηλεκτροφορητικές μέθοδοι και μέθοδοι υπερφυγοκέντρωσης έχουν περιγραφεί, οι οποίες μειονεκτούν κατά το ότι είναι χρονοβόρες και δύσχρηστες¹¹⁸. Την τελευταία δεκαετία οι Hirano και συν., ανακάλυψαν μία νέα ποσοτική μέθοδο, πολύ πιο γρήγορη και εύκολη στην καθημερινή χρήση. Με τη μέθοδο αυτή υπολογίζεται η συγκέντρωση της sdLDL σε αυτόματο αναλυτή με τη χρήση ενός σταθμισμένου kit¹¹⁹.

Δεδομένου ότι οι sdLDL ίσως παίζουν ρόλο κλειδί στην εγκατάσταση και στην εξέλιξη των αθηρωματικών βλαβών και στην εκδήλωση μελλοντικά καρδιαγγειακών επεισοδίων στα άτομα με δυσλιπιδαιμία, η χρησιμοποίηση μιας μόνο σταθμισμένης μεθόδου για την ταξινόμηση των υποτάξεων της LDL-C είναι αναγκαία. Όμως, μεταξύ των διαφόρων μεθόδων που χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα υφίσταται ετερογένεια¹²⁰ και η εξαγωγή συγκρίσιμων και ασφαλών συμπερασμάτων στο σύνολο των ερευνών είναι αδύνατη. Ακόμη, από πρόσφατη μελέτη φάνηκε ότι η συγκέντρωση των sdLDL παρουσιάζει κιρκάδιο ρυθμό, με τα υψηλότερα επίπεδα να παρατηρούνται σε πρωινό ορό νηστείας¹²¹.

Γ2. Ουροτενσίνη II (Urotensin II, U-II)

Η ουροτενσίνη II (Urotensin II, U-II) απομονώθηκε αρχικά τη δεκαετία του 1970 από το ψάρι γωβίος (goby) των ακτών της Καλιφόρνιας¹²². Πιο συγκεκριμένα απομονώθηκε από το νευροενδοκρινικό σύστημα του ουραίου τμήματος του νωτιαίου μυελού του ψαριού, το οποίο προσομοιάζει λειτουργικά με τον άξονα υποθαλάμου - υπόφυσης του ανθρώπου.

Η ουροτενσίνη, με τη γνωστή διεγερτική δράση της στις λείες μυικές ίνες, έχει σημαντική επίδραση στη λειτουργία του κυκλοφορικού, του γαστρεντερικού, του αναπαραγωγικού, του ωσμωρρυθμιστικού και του μεταβολικού συστήματος του ψαριού¹²³. Αρχικά είχε δοθεί η εντύπωση ότι η U-II ήταν αποκλειστικά προϊόν του συγκεκριμένου ψαριού, αλλά κατόπιν διαπιστώθηκαν ομόλογά της σε ιστούς και άλλων ζώων, όπως του αρουραίου, της μαϊμούς, του χοίρου και αργότερα του ανθρώπου¹²³⁻¹²⁶.

Όλες οι ισομορφές της U-II περιέχουν μια σταθερή κυκλική εξαπεπτιδική ακολουθία άνθρακα που ασκεί το μεγαλύτερο μέρος της βιολογικής της δραστηριότητας¹²⁷, ενώ η αμινοτελική ακολουθία της U-II είναι αυτή που διαφέρει μεταξύ των ζωικών ειδών^{124,125,128}.

Η ανθρώπινη ουροτενσίνη (hU-II) αποτελείται από ένα κυκλικό πεπτίδιο 11 αμινοξέων, προερχόμενο από ένα μεγαλύτερο πρόδρομο πεπτίδιο περίπου 130 αμινοξέων (προ-προ-UII)¹²⁹. Το γονίδιο το οποίο κωδικοποιεί αυτό το πεπτίδιο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1p36 και περιέχει 5 εξόνια. Είναι σύνδεσμος με τον ορφανό συνδυασμένο με την G πρωτεΐνη υποδοχέα GPR14¹³⁰.

Μολονότι, το ανθρώπινο προ-προ-UII mRNA βρίσκεται κυρίως στον εγκέφαλο και στο νωτιαίο μυελό έχει βρεθεί επίσης σε καρδιά, αορτή, αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα, λευκοκύτταρα, νεφρούς, πνεύμονες, ήπαρ, σπλήνα, λεπτό έντερο, κόλον, πλακούντα, επινεφρίδια, υπόφυση, θύμο και προστάτη. Ανάλογα, η hU-II και οι υποδοχείς της (UT) ανιχνεύονται σχεδόν σε όλα τα όργανα και τους ιστούς¹²⁹.

Η ουροτενσίνη έχει 10 φορές πιο ισχυρή δράση από την ενδοθηλίνη-1, συνεπώς αποτελεί την πιο ισχυρή αγγειοσυσπαστική ουσία των θηλαστικών που έχει ανακαλυφθεί έως σήμερα^{123,129,130}. Κυκλοφορεί στο πλάσμα των υγιών ανθρώπων και αποτελεί μια αγγειοδραστική ορμόνη στην κυκλοφορία, ενώ τοπικά δρα ως παρακρινής ή αυτοκρινής παράγοντας της καρδιαγγειακής ρύθμισης. Παρόλο που

έχει κυρίως αγγειοσυσπαστική δράση, διαφορές στη δράση της στα διάφορα αγγειακά στρώματα και στα αιμοφόρα αγγεία ορισμένων ειδών έχουν παρατηρηθεί^{131,132}. Η U-II προκαλεί αγγειοσύσπαση στις κύριες πνευμονικές αρτηρίες, στις σαφηνείς και στις ομφαλικές φλέβες, ενώ δεν δρα στις μικρές υποδόριες αρτηρίες και φλέβες αντίστασης¹²⁹. Η αγγειοσυσπαστική της δράση μειώνεται από άλλους παράγοντες όπως είναι η πυκνότητα του υποδοχέα της^{129,133}. Η U-II ρυθμίζει τη συνθάση του ενδοθηλιακού νιτρικού οξειδίου (NO). Δεδομένου ότι το NO παίζει σημαντικό ρόλο στην καρδιακή λειτουργία και στον αγγειακό τόνο, η αγγειοσυσπαστική δράση της U-II πιθανόν να εκδηλώνεται στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, όπου η παραγωγή του NO είναι μειωμένη^{134,135}. Είναι πλέον ξεκάθαρο ότι η U-II ασκεί διπλή δράση, αγγειοσυσπαστική που δεν εξαρτάται από το ενδοθήλιο και αγγειοδιασταλτική που εξαρτάται από το ενδοθήλιο, με το καθαρό αποτέλεσμα της δράσης της να εξαρτάται από το ισοζύγιο μεταξύ αγγειοσύσπασης και αγγειοδιαστολής. Η αγγειοδιασταλτική δράση της μπορεί να επικαλύψει την αγγειοσυσπαστική της δράση αλλά αυτή η σχέση μπορεί να αντιστραφεί σε περιπτώσεις δυσλειτουργίας του αγγειακού ενδοθηλίου, όπως προαναφέρθηκε¹³⁶⁻¹⁴². Οι συγκεντρώσεις της U-II σε υγιείς εθελοντές κυμαίνονταν από 2 έως 20 pmol/l¹⁴⁰. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι μέτρησης των επιπέδων της, όπως ραδιοανοσολογικές, ενζυμικές και ανοσολογικές¹⁴². Τα επίπεδά της δεν φαίνεται να διαφέρουν ανάμεσα στα δύο φύλα¹⁴³⁻¹⁴⁵. Σημειώνεται ότι σε μία μόνο μελέτη αναφέρονται υψηλότερα επίπεδα στα θήλεα άτομα¹⁴⁶.

Σήμερα, ο ακριβής ρόλος της hU-II σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις παραμένει εν πολλοίς αδιευκρίνιστος. Έρευνες έχουν δείξει ότι η hU-II έχει πλειοτρόπες δράσεις, σε μερικές περιπτώσεις αγγειοπροστατευτικές και σε άλλες αγγειοβλαπτικές.

Αυξημένα επίπεδα hU-II έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με αρτηριοσκλήρυνση¹⁴⁷⁻¹⁴⁹, καρδιακή ανεπάρκεια¹³⁹, υπέρταση^{149,151}, προεκλαμψία^{150,129}, διαβήτη^{138,150}, νεφρική¹⁴² και ηπατική νόσο¹⁴².

Η υπέρταση είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες κινδύνου στην εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης, αποτελεί μέρος του μεταβολικού συνδρόμου (MΣ) και έχει προγνωστική αξία για την εκδήλωση μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβαμάτων, μάλιστα η συσχέτιση είναι γραμμική¹⁵². Καθώς η U-II έχει ισχυρή αγγειοσυσπαστική

δράση, ο ρόλος της στην εκδήλωση αρτηριακής υπέρτασης έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Η ενδοφλέβια χορήγηση hU-II σε πειραματόζωα οδήγησε σε αύξηση της μέσης αρτηριακής πίεσης και των συστηματικών αγγειακών αντιστάσεων¹⁵³. Η U-II δρα συνεργικά με την αγγιοτενσίνη II στην εκδήλωση αγγειοσυστολής στο ενδοθήλιο της αορτής του αρουραίου που έχει υποστεί βλάβη, ενώ αυτή η συνέργεια δεν παρατηρείται στο φυσιολογικό ενδοθήλιο¹⁵⁴. Καθώς η υπέρταση βλάπτει τη λειτουργία του αρτηριακού τοιχώματος του ενδοθηλίου, αυτό στη συνέχεια δεν μπορεί να ρυθμίσει τη συνεργική αγγειοσυσπαστική δράση U-II - αγγιοτενσίνης II¹⁴⁷ και εν τέλει παραμένει χρονικά η βλαπτική επίδραση της υψηλής αρτηριακής πίεσης¹⁵⁵. Επίσης, μελέτη 60 περίπου υπερτασικών ασθενών έδειξε αυξημένα επίπεδα U-II σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες, τα οποία συσχετιζόνταν με τη συστολική αρτηριακή πίεση¹⁵⁶. Ασθενείς με σημαντική (essential) υπέρταση απέκριναν αυξημένα ποσά U-II στα ούρα σε σύγκριση με τους μάρτυρες, όπως επίσης οι ασθενείς με νεφρική νόσο και υπέρταση σε σύγκριση με τους ασθενείς με νεφρική νόσο αλλά φυσιολογική αρτηριακή πίεση¹⁴¹. Τέλος, σε ασθενείς με φαιοχρωμοκύττωμα παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση με το σύστημα U-II/UT, γεγονός που ενισχύει μια πιθανή σχέση της αρτηριακής υπέρτασης με τη δράση της hU-II¹⁵⁷.

Η U-II φαίνεται να παίζει ρόλο στην πολύπλοκη διεργασία της αθηρωμάτωσης. Αυξημένη έκφραση του πεπτιδίου διαπιστώθηκε στις αθηρωματικές βλάβες των καρωτιδικών αρτηριών και της αορτής, όπως επίσης και στα αθηρώματα των στεφανιαίων αρτηριών¹⁵⁸. Ακόμη, η hU-II δρα συνεργικά με τα οξειδωμένα μόρια της LDL-C (oxLDL-C), καθώς και με τη σεροτονίνη των αιμοπεταλίων στην υπερπλασία των λείων μυικών κυττάρων, κύτταρα με ρόλο κλειδί στην εξέλιξη της αθηρωματικής διεργασίας¹⁵⁸. Σε άτομα με δυσλειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου η hU-II παύει να δρα ως ισχυρό αγγειοδιασταλτικό, αντίθετα προκαλεί αγγειοσυστολή και ισχαιμία¹⁵⁹. Εκτός των ανωτέρω, η hU-II ενεργοποιεί την οξειδάση NADPH, που είναι υπεύθυνη για την οξείδωση διαφόρων βιοδραστικών μορίων, γνωστών ως ROS (reactive oxygen species)¹⁶⁰. Σήμερα είναι γνωστό ότι τα μόρια ROS συμμετέχουν στην αθηρωματική διεργασία, αφενός οδηγώντας με τη σειρά τους στην παραγωγή oxLDL μορίων, αφετέρου δρώντας ως μιτογόνα των λείων μυικών κυττάρων. Ένα άλλο ένζυμο που η hU-II ενεργοποιεί είναι η ACAT-1 (Acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase-1), το οποίο μετατρέπει την ενδοκυττάρια ελεύθερη χοληστερόλη σε

εστέρες χοληστερόλης, με συνέπεια το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων¹⁶¹. Η φλεγμονή είναι χαρακτηριστικό της αθηρογενετικής διεργασίας. Είναι αξιοσημείωτο ότι τα λεμφοκύτταρα, κυρίως αυτά της φλεγμονής, παράγουν U-II, ενώ τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα παράγουν κυρίως UT¹⁴⁷. Γνωστοί διαμεσολαβητές της φλεγμονής, όπως είναι ο TNF-α και η INF-γ, χαρακτηρίζονται από αυξημένη έκφραση του mRNA του UT, παρατήρηση που ενισχύει την πεποίθηση ότι η hU-II διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη χρόνια φλεγμονή και στην αθηρωματική διεργασία¹⁶².

Μελέτη αναφέρει θετική συσχέτιση της hU-II με το βάρος σώματος¹⁵⁶. Επιπλέον, το πεπτίδιο φαίνεται να επιδρά στην τριγλυκεριδική λιπάση οδηγώντας σε δυσλιπιδαιμία¹⁶³. Ακόμη, η U-II πιθανότατα συνδέεται με την εμφάνιση αντίστασης στην ινσουλίνη και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ-2). Αυξημένες συγκεντρώσεις της hU-II και του UT ανευρίσκονται στα κύτταρα του παγκρέατος, ενώ σε πειραματόζωα η hU-II εμποδίζει την έκκριση ινσουλίνης σε περίπτωση υπεργλυκαιμίας^{164,165}. Άτομα με πολυμορφισμούς στα γονίδια του υποδοχέα της παρουσιάζουν αντίσταση στην ινσουλίνη¹⁶¹ και ασθενείς με ΣΔ-2 παρουσιάζουν διπλάσια επίπεδα hU-II στο πλάσμα σε σύγκριση με τους μάρτυρες¹⁵⁰ και αυξημένη απέκκριση στα ούρα στις περιπτώσεις μειωμένης νεφρικής λειτουργίας λόγω διαβητικής νεφροπάθειας¹⁶¹. Όλα τα παραπάνω δείχνουν ότι η hU-II συσχετίζεται θετικά με την εκδήλωση ΜΣ, αφού συμμετέχει στην εκδήλωση όλων των συνιστωσών που το απαρτίζουν.

Οι ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια έχουν αυξημένα επίπεδα hU-II. Τόσο τα επίπεδα της hU-II όσο και του UT αυξάνονται αναλογικά με τη βαρύτητα της ανεπάρκειας και αντιστρόφως ανάλογα με το κλάσμα εξώθησης της καρδιάς^{166,167}. Η hU-II φαίνεται ότι αποτελεί πιο αξιόπιστο ορολογικό δείκτη της χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας από ότι το νατριουρητικό εγκεφαλικό πεπτίδιο (N-terminal pro-brain natriuretic peptide, N-BNP), καθώς δεν εξαρτάται από το φύλο, την ηλικία και το στάδιο καρδιακής ανεπάρκειας κατά New York Heart Association (NYHA)¹⁴⁶.

Ασθενείς με ηπατική νόσο και πυλαία υπέρταση έχουν τόσο πιο αυξημένα επίπεδα όσο πιο σοβαρή είναι η νόσος, ενώ στις περιπτώσεις που συνυπάρχει ασκίτης τα επίπεδα είναι ακόμη υψηλότερα^{168,169}.

Μελέτες έχουν δείξει υψηλά επίπεδα U-II στην κυκλοφορία ασθενών με τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια και τα επίπεδά της έχουν συνδεθεί με την αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα που παρουσιάζουν οι ασθενείς. Ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια και αυτοί υπό αιμοκάθαρση παρουσιάζουν διπλάσια και τριπλάσια επίπεδα U-II στο πλάσμα αντιστοίχως, σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες¹⁷⁰. Οι Totsune et al., έδειξαν ότι η αύξηση της U-II πλάσματος ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς με κάθαρση κρεατινίνης $< 30\text{ml/min}^{-1}$ (συγκρινόμενη με $\geq 70\text{ml/min}^{-1}$), και στους ασθενείς υπό αιμοκάθαρση. Πιθανολογούν ότι τα αυξημένα επίπεδα οφείλονται στη μειωμένη απέκκριση του πεπτιδίου από τους νεφρούς, παρά στην αυξημένη έκφρασή του. Είναι γνωστό ότι η U-II όπως και ο ενδογενής υποδοχέας της UT εκφράζονται στο νεφρικό ιστό, γεγονός που δείχνει ότι ο νεφρικός ιστός αποτελεί σημαντικό σημείο παραγωγής ή και δράσης του πεπτιδίου. Ακόμη, στη μελέτη τους διαπίστωσαν αρνητική συσχέτιση μεταξύ της U-II πλάσματος και των δεικτών της συμπαθητικής λειτουργίας, γεγονός που δείχνει ότι είναι εν δυνάμει καρδιοπροστατευτικός παράγοντας. Δηλαδή, η U-II αντιρροπεί την αυξημένη συμπαθητική και νατριουρική δραστηριότητα, που παρατηρείται σε ασθενείς με τελικού σταδίου νεφρική ανεπάρκεια¹⁴⁵.

Στα παιδιά οι μελέτες είναι ελάχιστες και αφορούν σε παιδιά με πυλαία υπέρταση¹⁷¹, νεφρωσικό σύνδρομο¹⁷², σπειραματονεφρίτιδα¹⁷³ και συγγενή καρδιοπάθεια¹⁷⁴. Δεν υπάρχει καμία μελέτη σε παιδιά με δυσλιπιδαιμία. Τα παιδιά με πυλαία υπέρταση λόγω ηπατικής νόσου είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα U-II σε σύγκριση με υγιή παιδιά, ενώ στην ίδια μελέτη δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση των επιπέδων της U-II με την ηλικία¹⁷¹. Παιδιά με συγγενή καρδιοπάθεια είχαν επίσης σημαντικά υψηλότερη U-II στο πλάσμα τους από τα υγιή, ενώ βρέθηκε ότι η U-II δεν συσχετιζόταν με την ηλικία στα φυσιολογικά άτομα, σχετιζόταν όμως σημαντικά αρνητικά με την ηλικία στα παιδιά με νόσο¹⁷⁴.

Γ3. Αντισώματα έναντι της οξειδωμένης LDL χοληστερόλης (Ox-LDL-C-Abs)

Η αθηρωματική νόσος αποτελεί διεργασία χρόνιας φλεγμονής στην οποία το ανοσοποιητικό σύστημα και κατ' επέκταση τα αντισώματα φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο⁵. Στη διαδικασία της χρόνιας φλεγμονής τα μόρια της LDL-C υπόκεινται σε οξειδωτικό stress και μετατρέπονται σε οξειδωμένα μόρια χοληστερόλης¹⁷⁵. Τα οξειδωμένα αυτά μόρια ανευρίσκονται σε όλα τα στάδια των αθηρωματικών πλακών και δεσμεύονται στον υποδοχέα των μακροφάγων με συνέπεια το σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων, δηλαδή των κυττάρων - κλειδί στην αθηρωματική διεργασία¹⁷⁶.

Η οξειδωμένη μορφή της LDL-C δεν υπάρχει, *in vivo*, στο τοίχωμα των φυσιολογικών αγγείων, παρά μόνο στον αθηροσκληρωτικούς. Επίσης, η δέσμευση της μη οξειδωμένης LDL-C από τα μακροφάγα δεν οδηγεί στο σχηματισμό αφρωδών κυττάρων. Επομένως η οξειδωτική τροποποίηση των μορίων της LDL-C ενδεχομένως αποτελεί βασικό στάδιο στην αθηρωματική διεργασία¹⁷⁷. Το γεγονός αυτό υποστηρίζεται από την ανακάλυψη ότι η δέσμευση των υποδοχέων που αναγνωρίζουν τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια των μορίων της LDL-C οδηγεί σε βελτίωση της αθηροσκλήρυνσης. Ανάλογα είναι τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την απενεργοποίηση των ενζύμων που συμμετέχουν στην οξειδωτική τροποποίηση της LDL-C. Μελέτες σε μοντέλα ζώων δείχνουν ότι οι αντιοξειδωτικές ουσίες επιβραδύνουν την πρόοδο της αθηρωματικής διεργασίας¹⁷⁸.

Η HDL-C περιέχει πρωτεΐνες και ένζυμα που αποτρέπουν την οξείδωση των λιπιδίων. Τα ίδια αυτά ένζυμα έχουν αυτοκρινή έλεγχο της δράσης τους και σε καταστάσεις στρες ή χρόνιας φλεγμονής η HDL-C αποκτά προφλεγμονώδη δράση¹⁷⁹. Αν και η Ox-LDL-C φαίνεται να έχει, *in vivo*, αρκετές αθηρογόνες ιδιότητες, οι Avagaro et al¹⁸⁰ και οι Sevanian et al¹⁸¹, έδειξαν ότι υπάρχουν διαβαθμίσεις στην τροποποίηση της LDL-C, με αποτέλεσμα να υπάρχουν ελάχιστα τροποποιημένα μόρια τα οποία δεν αναγνωρίζονται από τους υποδοχείς των μακροφάγων και δεν οδηγούν στο σχηματισμό αφρωδών κυττάρων. Τα μόρια της Ox-LDL-C παρουσιάζουν διαφορετικούς επίτοπους μετά την οξειδωτική τροποποίηση τους, σύμφωνα μάλιστα με τους Holvoet et al¹⁸² η ανεύρεση συγκεκριμένων μορφών Ox-LDL-C διαχωρίζει τους ασθενείς με αθηρωμάτωση από τους υγιείς. Παρόλα αυτά, δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί ποιοι είναι εκείνοι οι επίτοποι που παίζουν βασικό ρόλο στην εξέλιξη

ενός καρδιαγγειακού επεισοδίου και πώς αυτοί μπορούν να συνδυαστούν με άλλους δείκτες αθηρωμάτωσης, κυρίως δείκτες αυξημένης υπεροξειδωσής των λιπιδίων. Όμως οι Holvoet et al σε μια πολυεθνική μελέτη έδειξαν ότι η oxLDL συσχετίζεται σημαντικά θετικά με την TC, τη LDL-C, τη HDL-C, τα TGs, τη γλυκόζη, την ινσουλίνη, το ΔΜΣ, το φύλο (άρρεν), τη φυλή (μαύρη), τη φλεγμονή (μετρούμενη ως IL-6, CRP, ινωδογόνο) και το κάπνισμα, όπως επίσης και με την υποκλινική αθηρωμάτωση¹⁸³. Οι ίδιοι μελετητές αναφέρονται στη διαπίστωση των προγενέστερων τους ότι η oxLDL έχει σημαντική θετική σχέση με την παρουσία καρδιαγγειακής νόσου και μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβαμάτων¹⁸⁴.

Τη στιγμή που η oxLDL φαίνεται να έχει καίριο ρόλο στη διεργασία της αθηρωμάτωσης, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι ανοσογονικές της ιδιότητες, δηλαδή η παραγωγή αντισωμάτων κατά των οξειδωμένων μορίων της. Τα αντισώματα έναντι της oxLDL-C επιδρούν στο ανοσοποιητικό σύστημα, για παράδειγμα παρουσιάζουν αντιγόνα στα T λεμφοκύτταρα και ενεργοποιούν το επίκτητο ανοσοποιητικό σύστημα^{185,186}. Σήμερα έχουν αναγνωριστεί διαφορετικές τάξεις και υποτάξεις Ox-LDL-C-Abs^{187,188}, αν και είναι αδιευκρίνιστο αν αυτά δρουν ως «αθηροπροστατευτικά» ή ως «αθηρογόνα». Οι Fukumoto et al υποστηρίζουν ότι τα Ox-LDL-C-Abs υπάρχουν σε φυσιολογικά άτομα και ο ρόλος τους είναι να εξουδετερώνουν και να καταβολίζουν τα οξειδωμένα μόρια της LDL-C¹⁸⁹. Οι Tinaohones et al διαπίστωσαν ότι τα επίπεδα των αντισωμάτων κατά της οξειδωμένης LDL-C είναι σημαντικά υψηλότερα στα νεαρά άτομα και στα θήλεα άτομα, όπως σημαντικά υψηλότερα είναι και τα ανοσοσυμπλέγματα της oxLDL με τα αντισώματα αυτής¹⁹⁰. Αντίθετα, άλλοι ερευνητές υποστήριξαν ότι τα Ox-LDL-C-Abs σχετίζονται θετικά με την ηλικία, ωστόσο δεν συσχετίζονται με την εκδήλωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε χρονικό διάστημα περίπου 10 ετών¹⁹¹. Μελέτες των Ox-LDL-C-Abs σε σχέση με το IMT, σε υγιή πληθυσμό, κατέληξαν σε αντιφατικά αποτελέσματα, με κάποιες να έχουν θετική^{192,193} και κάποιες αρνητική σχέση με αυτό^{194,195}. Άλλη μελέτη σε υγιείς ενήλικες, χωρίς κλινικά σημεία αθηροσκλήρυνσης, κατέληξε σε αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ του IMT και των επιπέδων των Ox-LDL-C-Abs¹⁸⁹. Τα Ox-LDL-C-Abs, τόσο τα IgM όσο και τα IgG δε διέφεραν μεταξύ ατόμων με FH και νορμολιπιδαιμικών, ούτε παρατηρήθηκε συσχέτιση αυτών με το IMT¹⁹⁶. Επιπρόσθετα, ερευνητές βρήκαν ότι ασθενείς με επιβεβαιωμένη αθηρωματική νόσο

στα στεφανιαία αγγεία, τις καρωτίδες και τα περιφερικά αγγεία παρουσίαζαν σημαντική αύξηση των Ox-LDL-C-Abs¹⁹⁷⁻²⁰⁰, αλλά άλλοι ερευνητές καταρρίπτουν τις διαφορές των επιπέδων των Ox-LDL-C-Abs σε υγιή άτομα και άτομα με αγγειακή νόσο²⁰¹. Οι Tsimikas et al έδειξαν ότι τα επίπεδα της Ox-LDL-C μπορούν, από μόνα τους, να αποτελέσουν δείκτη στεφανιαίας νόσου σε ασθενείς κάτω των 60 χρόνων ή σε συνδυασμό με την Lp(a) σε μεγαλύτερα άτομα¹⁷⁸.

Μελέτη σε μητέρες και στα νεογνά τους έδειξε ότι τα επίπεδα των IgG Ox-LDL-C-Abs είναι σημαντικά υψηλότερα και στους δύο σε σύγκριση με μάρτυρες και επιπλέον ότι αυτά σχεδόν διπλασιάζονται στα βρέφη μετά την πάροδο τριών μηνών²⁰². Σε υγιή παιδιά έχουν βρεθεί υψηλότεροι τίτλοι Ox-LDL-C-Abs και υψηλότερη συγγένεια των IgG Ox-LDL-C-Abs σε σύγκριση με τον ενήλικο πληθυσμό²⁰³. Μελέτη σε εφήβους υπο αιμοδιάλυση λόγω χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας (ΧΝΑ) έδειξε ότι τα IgG Ox-LDL-C-Abs ήταν σημαντικά χαμηλότερα σε σύγκριση με μάρτυρες. Οι ίδιοι ασθενείς παρουσίαζαν υψηλότερους τίτλους hs-CRP και χαμηλότερες συγκεντρώσεις apoA-I και HDL-C. Ακόμα, οι ασθενείς σε αιμοδιάλυση με δυσλιπιδαιμία είχαν σημαντικά χαμηλότερους τίτλους IgG Ox-LDL-C-Abs συγκριτικά με τους νορμολιπιδαιμικούς ασθενείς σε αιμοδιάλυση²⁰⁴. Σε παιδιά με ΣΔ-1 βρέθηκαν υψηλότερα επίπεδα IgG Ox-LDL-C-Abs συγκρινόμενα με τα επίπεδα υγιών ατόμων αντίστοιχης ηλικίας και φύλου. Τα επίπεδα αυτά ήταν σημαντικά υψηλότερα στα διαβητικά παιδιά με καλή ρύθμιση του διαβήτη τους ($HbA1c \leq 9\%$) σε σχέση με εκείνα με κακή ρύθμιση του διαβήτη τους, ενώ παρατηρήθηκε αντίστροφη σχέση της συγκέντρωσης της HbA1c με τη συγκέντρωση των IgG Ox-LDL-C-Abs στο πλάσμα, εύρημα ανάλογο με μελέτη σε ενήλικο πληθυσμό²⁰⁵. Παιδιά με FH είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ανοσοσυμπλεγμάτων έναντι της oxLDL και IgM Ox-LDL-C-Abs συγκριτικά με υγιείς μάρτυρες και η λήψη στατίνης για 2 χρόνια μείωσε σημαντικά τα ποσοστά των πρώτων (ανοσοσυμπλέγματα έναντι της oxLDL και IgM Ox-LDL-C-Abs), ταυτόχρονα όμως αύξησε τα επίπεδα της oxLDL/apoB και της Lp(a). Τα επίπεδα των IgG Ox-LDL-C-Abs δεν διέφεραν στα παιδιά με FH και τους μάρτυρες¹⁸⁴. Τέλος, παιδιά με γονείς που έχουν FH, έχουν σημαντικά χαμηλότερους τίτλους IgG Ox-LDL-C-Abs από τα υγιή παιδιά, ανεξάρτητα τα επίπεδα της LDL-C και της oxLDL²⁰⁶.

Όσον αφορά στη διατροφή, γυναίκες με μεταβολικό σύνδρομο μετά από τρίμηνη μεσογειακή διατροφή μείωσαν κατά 12% τα επίπεδα της oxLDL-C, μείωσαν

σημαντικά τα επίπεδα της LDL-C και επίσης τα επίπεδα sdLDL μορίων. Τα καροτένια, άφθονα στη μεσογειακή διατροφή, επιδεικνύουν αντιοξειδωτικές ικανότητες συνδεδεμένα με τις μεμβράνες μορίων, όπως αυτές των LDL μορίων. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η οξειδωτική τροποποίηση των LDL μορίων εξαρτάται από τη συγκέντρωση των καροτενίων στο πλάσμα, με τις περισσότερες μελέτες να δείχνουν ότι τα καροτένια μειώνουν τα επίπεδα της oxLDL-C²⁰⁷. Οι ερευνητές Miller et al έδειξαν ότι η υγιεινή δίαιτα μειώνει σημαντικά το οξειδωτικό στρες, αυξάνει την αντιοξειδωτική δραστηριότητα, καθώς και τα επίπεδα των IgG Ox-LDL-C-Abs στο πλάσμα, τα οποία φαίνεται να συσχετίζονται ισχυρά με την αντιοξειδωτική δραστηριότητα στο πλάσμα και καθόλου με τα επίπεδα της LDL-C²⁰⁸.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στόχος της προοπτικής αυτής μελέτης ήταν να αναζητήσει:

1^ο) πρόσθετους δείκτες αθηρωμάτωσης και συγκεκριμένα τα μικρά και πυκνά μόρια της LDL-C (sdLDL-C), τα αντισώματα έναντι της oxLDL (ox-LDL-Abs), και την ουροτενσίνη II (U-II), σε παιδιά και εφήβους με δυσλιπιδαιμία,

2^ο) τη συσχέτισή τους με τα επίπεδα των λιπιδίων-λιποπρωτεϊνών,

3^ο) την επίδραση των διατροφικών παρεμβάσεων (π.χ. δίαιτα, χορήγηση φυτικών στερολών) και της φαρμακευτικής αγωγής σε αυτούς και

4^ο) τη συμβολή τους στην εκτίμηση του κινδύνου που διατρέχουν τα δυσλιπιδαιμικά παιδιά για την εμφάνιση πρώιμης αθηρωμάτωσης

B. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν συνολικά 648 παιδιά και έφηβοι, 325 αγόρια και 323 κορίτσια ηλικίας 4 έως 18 χρόνων.

Τα 316 παιδιά είχαν επίπεδα LDL-C ≥ 130 mg/dl και τα 332 παιδιά είχαν LDL-C < 130 mg/dl και απετέλεσαν την ομάδα των μαρτύρων. Τα επίπεδα σε όλους τους ασθενείς και σε μέρος των μαρτύρων είχαν επιβεβαιωθεί με τουλάχιστον δύο μετρήσεις, σε διαφορετικούς χρόνους, πριν συμπεριληφθούν στη μελέτη.

Τα παιδιά που συμμετείχαν στη μελέτη προέρχονταν από το Ιατρείο Διαταραχών των Λιπιδίων της Β'ΠΠΚ. Στην ομάδα των μαρτύρων συμπεριλήφθηκαν επίσης παιδιά και έφηβοι που ελέγχθηκαν στα πλαίσια προληπτικού ελέγχου που έγινε σε συνεργασία με τη Β'ΠΠΚ. Σε όλες τις περιπτώσεις υπήρξε έγγραφη ενημέρωση των γονέων και συγκατάθεση τους. Η μελέτη εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Γενικού Νοσοκομείου Παίδων Αθηνών «Π. & Α. Κυριακού».

Η συλλογή του υλικού έγινε κατά τα έτη 2009 έως 2012.

Από τη μελέτη αποκλείστηκαν παιδιά και έφηβοι με:

- Χρόνια νοσήματα
- Ηπατική νόσο
- Νεφρική νόσο
- Θυρεοειδοπάθεια
- Σακχαρώδη διαβήτη
- Άλλη ενδοκρινοπάθεια
- Χρόνια φαρμακευτική αγωγή

Σε όλα τα παιδιά ελήφθη πλήρες ατομικό (περιγεννητικό ιστορικό, συχνές λοιμώξεις, νοσηλίες στο νοσοκομείο, διατροφικές συνήθειες, φυσική δραστηριότητα, έκθεση σε καπνό) και οικογενειακό ιστορικό (δυσλιπιδαιμία, καρδιαγγειακά νοσήματα, θάνατος από καρδιαγγειακή νόσο, αιφνίδιος θάνατος, σακχαρώδης διαβήτης, υπέρταση ή θυρεοειδοπάθεια σε 1^{ου} και 2^{ου} βαθμού συγγενείς).

Σε όλα τα παιδιά, κατά την εισαγωγή τους στη μελέτη και κατά τους επανελέγχους γινόταν λεπτομερής κλινική εξέταση.

Συγκεκριμένα,

- Το βάρος σώματος (ΒΣ) μετρήθηκε σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας στο πλησιέστερο 0.1 kg.
- Το ύψος (Υ) μετρήθηκε με αναστημόμετρο στο πλησιέστερο 0.1 cm.
- Ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ ή BMI) υπολογίστηκε από τη σχέση βάρους προς ύψος σε kg/m^2 .
- Για την ταξινόμηση των παιδιών, με βάση το ΔΜΣ, σε φυσιολογικού βάρους, υπέρβαρα και παχύσαρκα, χρησιμοποιήθηκαν οι διεθνείς καμπύλες αύξησης²⁰⁹.
- Η αρτηριακή πίεση μετρήθηκε με αυτόματο σφυγμομανόμετρο με το παιδί σε καθιστή θέση. Έγιναν τρεις μετρήσεις και καταγράφηκε μόνο η 3^η μέτρηση
- Καταγραφή του σταδίου ήβης κατά Tanner²¹⁰.

Σε όλα τα παιδιά ελήφθη πρωινό φλεβικό αίμα (8.00-10.00 π.μ), μετά από 10-12 ώρες νηστεία. Στα παιδιά με υπερλιπιδαιμία, κατά τον αρχικό έλεγχο, προσδιορίστηκαν βιοχημικοί δείκτες της ηπατικής (τρανσαμινάσες, γ γλουταμυλτρανσπεπτιδάση) και νεφρικής (ουρία, κρεατινίνη) λειτουργίας καθώς επίσης η θυρεοειδοτρόπος και οι θυρεοειδικές ορμόνες, προς αποκλεισμό δευτεροπαθών αιτίων δυσλιπιδαιμίας.

Στα παιδιά που τέθηκαν σε δίαιτα σταδίου 2, χορήγηση φυτικών στερολών ή και φαρμακευτική αγωγή, οι δείκτες της ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας και του μεταβολισμού του ασβεστίου, προσδιορίστηκαν και κατά τους χρόνους επανελέγχου, που κυμαίνονταν από 6-12 μήνες. Στα παιδιά που τέθηκαν σε αγωγή με στατίνη, ελέγχονταν εκτός από τα ηπατικά και τα μυϊκά ένζυμα, σύμφωνα με το πρωτόκολλο παρακολούθησης που προτείνεται διεθνώς⁵.

Όλα τα παιδιά κατά τους χρόνους της αιμοληψίας, καθώς και 10 ημέρες πριν από τον έλεγχο ήταν απολύτως υγιή και δεν ελάμβαναν οποιαδήποτε φαρμακευτική ή άλλη αγωγή, με εξαίρεση αυτά που ήταν σε υπολιπιδαιμική αγωγή.

Τα λιπίδια, οι λιποπρωτεΐνες και οι απολιποπρωτεΐνες προσδιορίστηκαν στον ορό, στο Βιοχημικό Εργαστήριο του Νοσοκομείου Παιδων «Π. & Α. Κυριακού» (Συντονιστής Διευθυντής: Ε. Παρασκάκη, Βιοχημικός: Α. Δρακάτος).

Η θυρεοειδοτρόπος και οι θυρεοειδικές ορμόνες προσδιορίστηκαν στον ορό στο Ορμονολογικό Εργαστήριο του Νοσοκομείου Παιδων «Π. & Α. Κυριακού» (Διευθύντρια: Α. Φωτεινού).

Η sdLDL-C προσδιορίστηκε στο πλάσμα. Ολικό φλεβικό αίμα λαμβανόταν σε σωληνάρια με EDTA, τα οποία αμέσως μετά την αιμοληψία τοποθετούνταν σε πάγο, φυγοκεντρούνταν σε φυγόκεντρο ψύξεως (4° C), σε 4000 rpm για 10 λεπτά και το υπερκείμενο φυλασσόταν στους -80° C, μέχρι τη στιγμή του προσδιορισμού. Ο προσδιορισμός έγινε στο Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας και Μοριακής Διαγνωστικής της Β'ΠΠΚ (Διευθυντής: Καθηγητής Δ. Γουργιώτης, Βιολόγος: Α. Μαρμαρινός) σε συνεργασία με το Βιοχημικό Τμήμα του Νοσοκομείου (Συντονιστής Διευθυντής: Ε. Παρασκάκη, Βιολόγος: Α. Παναγούλια).

Η U-II προσδιορίστηκε σε πλάσμα. Ολικό φλεβικό αίμα λαμβανόταν σε σωληνάρια με EDTA και ακολουθείτο η ίδια διαδικασία με αυτή που ακολουθείτο στη sdLDL-C, με μόνη διαφορά ότι στα σωληνάρια προστίθετο απροτινίνη (αναστολέας πρωτεασών). Ο προσδιορισμός έγινε στο Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας και Μοριακής Διαγνωστικής της Β'ΠΠΚ (Διευθυντής: Καθηγητής Δ. Γουργιώτης, Βιολόγος: Α. Μαρμαρινός).

Τα ολικά αντισώματα έναντι της oxLDL-C προσδιορίστηκαν στον ορό. Μετά τη φυγοκέντρωση τα δείγματα τοποθετούνταν επίσης στους -80° C, μέχρι τη στιγμή του προσδιορισμού, ο οποίος έγινε στο Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας και Μοριακής Διαγνωστικής της Β'ΠΠΚ (Διευθυντής: Καθηγητής Δ. Γουργιώτης, Βιολόγος: Α. Μαρμαρινός). Τα αντιδραστήρια για το προσδιορισμό παρείχε η Διευθύντρια του Βιοχημικού Τμήματος του Νοσοκομείου Ε. Παρασκάκη.

B1. Μέθοδοι Προσδιορισμού

B1.1. Προσδιορισμός λιποπρωτεϊνών - απολιποπρωτεϊνών

Η ολική χοληστερόλη (TC), η υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη-χοληστερόλη (HDL-C) και τα τριγλυκερίδια (TGs) μετρήθηκαν στον ορό με ενζυμική χρωματομετρική μέθοδο σε αναλυτή Cobas Integra 800 (Εταιρία διάθεσης αντιδραστηρίων και αναλυτή - Roche Diagnostics).

Η χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη –χοληστερόλη (LDL-C) μετρήθηκε άμεσα στον ορό με τη χρήση μιας ομοιογενούς ενζυμικής χρωματομετρικής μεθόδου σε αναλυτή Cobas Integra 800 (Roche Diagnostics).

Η απολιποπρωτεΐνη A-I (ApoA-I), η απολιποπρωτεΐνη B (ApoB) και η λιποπρωτεΐνη α [Lp(a)] προσδιορίστηκαν με ανοσονεφελομετρία σε αναλυτή της Siemens (τύπος νεφελομέτρου: BN II).

Η non-HDL-C υπολογίστηκε αφαιρώντας την HDL-C από την TC.

B1.2. Προσδιορισμός sdLDL-C

Η *μικρού μεγέθους, υψηλής πυκνότητας LDL-C (sdLDL-C)* προσδιορίστηκε ποσοτικά με ένα εμπορικά διαθέσιμο kit (sLDL-EX “SEIKEN”, Randox Laboratories Ltd, UK). Τα διαστήματα αναφοράς της μεθόδου προσδιορίστηκαν σε ενήλικο πληθυσμό και τα 35 mg/dl, που αντιστοιχούν στην 75^η εκατοστιαία θέση, επελέγησαν σαν το όριο για την εκτίμηση του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου. Το γραμμικό εύρος (linearity range) της μεθόδου είναι 4.0 -100mg/dl^{119,211}.

B1.3. Προσδιορισμός U-II

Τα επίπεδα της *ουροτενσίνης II* προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της ELISA. Τα χαρακτηριστικά του kit ήταν: Human Urotensin II EIA (Phoenix Pharmaceuticals, Inc. 330 Beach Road, Burlingame, CA 94010, USA), Intra Assay Variation CV% <5%, Inter Assay Variation CV% <14%, Detection Limit 0.04 ng/ml. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ng/ml.

B1.4. Προσδιορισμός Ox-LDL-Abs

Τα *ολικά αντισώματα έναντι της oxLDL* [anti-oxLDL (IgG+IgM)-Abs] προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της ELISA. Αρχικά έγινε επώαση των δειγμάτων ορού με την oxLDL-C και τη native LDL-C. Στη συνέχεια όμως με τη χρήση ενός δευτερογενούς αντισώματος σεσημασμένο με περοξειδάση, ανιχνεύτηκε η

δέσμευση των ολικών ox-LDL-Abs στον ορό. Το Kit που χρησιμοποιήθηκε (IMTEC oxLDL) είναι της εταιρίας Human GmbH και έχει Intra Assay Variation 11,7%, Inter Assay Variation 9,9%, με ευαισθησία <2,7 U/ml. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε U/ml²¹².

Τα επίπεδα της sdLDL-C προσδιορίστηκαν σε 149 δείγματα από 106 παιδιά, 60 αγόρια και 46 κορίτσια, ηλικίας 4 έως 16 χρόνων, μέσης ηλικίας $9,3 \pm 2,7$ χρόνων και διάρμεσης 9,2 χρόνων. Τα 34 από τα 106 παιδιά είχαν LDL-C < 130mg/dl και αποτελέσαν την ομάδα μαρτύρων και τα 72 είχαν υπερχοληστερολαιμία με επίπεδα LDL-C ≥ 130 mg/dl. Από τα 72 παιδιά με υπερλιπιδαιμία πάρθηκαν 115 δείγματα σε διαφορετικούς χρόνους, πριν και μετά από κάποια παρέμβαση π.χ. φυτικές στερόλες ή φαρμακευτική αγωγή. Τα 50 δείγματα πάρθηκαν ενώ τα παιδιά ήταν μόνο σε δίαιτα, τα 46 ενώ έπαιρναν και φυτικές στερόλες και τα 19 ενώ βρίσκονταν σε φαρμακευτική υπολιπιδαιμική αγωγή.

Σε 25 από τα παιδιά με επίπεδα LDL-C ≥ 130 mg/dl, ο προσδιορισμός έγινε πριν και 6-12 μήνες μετά από την καθημερινή χορήγηση 2 g φυτικών στερολών, υπό τη μορφή ενός ροφήματος γιαουρτιού. Στα παιδιά πριν την εισαγωγή τους στη μελέτη είχε εφαρμοστεί δίαιτα σταδίου 1 ή 2 και είχε ελεγχθεί η ανταπόκρισή τους σε αυτή. Κατά τη διάρκεια χορήγησης των φυτικών στερολών τα παιδιά συνέχισαν τη δίαιτα, ενώ συμβουλευτήκαν να καταναλώνουν τροφές πλούσιες σε καροτένια, βιταμίνες A και E, λόγω της αρνητικής επίδρασης των φυτικών στερολών στην απορρόφηση των λιποδιαλυτών βιταμινών. Τα παιδιά που έπαιρναν συγχρόνως άλλα συμπληρώματα διατροφής ή που δεν συμμορφώθηκαν στην καθημερινή λήψη των φυτικών στερολών ή έπαιρναν άλλα προϊόντα που περιείχαν φυτικές στερόλες, δεν συμπεριελήφθησαν στη μελέτη. Επίσης, δεν συμπεριελήφθησαν παιδιά που, κατά τη διάρκεια της μελέτης, μεταπήδησαν από την προ-εφηβική στην εφηβική ηλικία ή άλλαξαν κατηγορία ΔΜΣ, λόγω των αλλαγών των επιπέδων των λιπιδίων τόσο κατά την εφηβεία όσο και κατά την παχυσαρκία. Τέλος, οι αλλαγές των επιπέδων των λιπιδίων μετά από τη χορήγηση φυτικών στερολών επιβεβαιώθηκαν με δύο, σε διαφορετικό χρόνο, μετρήσεις.

Σε 7 παιδιά τα επίπεδα της sdLDL-C μετρήθηκαν πριν και μετά από τη χορήγηση φαρμακευτικής αγωγής.

Τα ανθρωπομετρικά στοιχεία των παιδιών στα οποία προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της sdLDL-C φαίνονται στον Πίνακα Β1.

Πίνακας Β1. Ανθρωπομετρικά στοιχεία παιδιών στα οποία προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της sdLDL-C

N=106	
Φύλο (Α/Κ)	60 (56,6%)/46 (43,4%)
Ηλικία (χρόνια)	9,3 ± 2,7
Υπερλιπιδαιμία	72 (67,9%)
Μάρτυρες	34 (32,1%)
ΔΜΣ	18,10 ± 3,07

Τα επίπεδα της ουροτενσίνης II προσδιορίστηκαν σε 232 παιδιά, 110 αγόρια και 122 κορίτσια, ηλικίας 4 έως 16,8 χρόνων, μέσης ηλικίας 10,2 ± 3,1 χρόνια και διάμεσης ηλικίας 10 χρόνων. Τα 125 παιδιά (53,9 %) είχαν υπερλιπιδαιμία (LDL-C ≥130 mg/dl) και τα 107 (46,1 %) είχαν επίπεδα LDL-C < 130 mg/dl και αποτέλεσαν την ομάδα των μαρτύρων.

Τα ανθρωπομετρικά στοιχεία των παιδιών στα οποία προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της ουροτενσίνης II φαίνονται στον Πίνακα Β2.

Πίνακας Β2. Ανθρωπομετρικά στοιχεία παιδιών στα οποία προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της ουροτενσίνης II

N=232	
Φύλο (Α/Κ)	110 (47,4%)/ 122 (52,6%)
Ηλικία (χρόνια)	10,2 ± 3,1
Υπερλιπιδαιμία	125 (53,9%)
Μάρτυρες	107 (46,1%)
ΔΜΣ	18,42±3,28
ΦΥΣ-ΔΜΣ	168 (73,4%)
Υπέρβαρα/Παχύσαρκα	61 (26,6%)
Δ-ΑΠ	62 ± 9,4
Σ-ΑΠ	113 ± 12,8

Τα επίπεδα των αντισωμάτων έναντι της ox-LDL-C προσδιορίστηκαν σε 310 παιδιά και εφήβους, 155 αγόρια και 155 κορίτσια, ηλικίας από 4 έως 18, μέσης ηλικίας $11,48 \pm 3,32$ χρόνων και διάμεσης 12 χρόνια. Τα 119 παιδιά είχαν υπερλιπιδαιμία ($\text{LDL-C} \geq 130 \text{ mg/dl}$) και τα 191 είχαν επίπεδα $\text{LDL-C} < 130 \text{ mg/dl}$ (ομάδα μαρτύρων). Τα ανθρωπομετρικά στοιχεία των παιδιών στα οποία προσδιορίστηκαν τα αντισώματα έναντι της ox-LDL-C φαίνονται στον Πίνακα Β3.

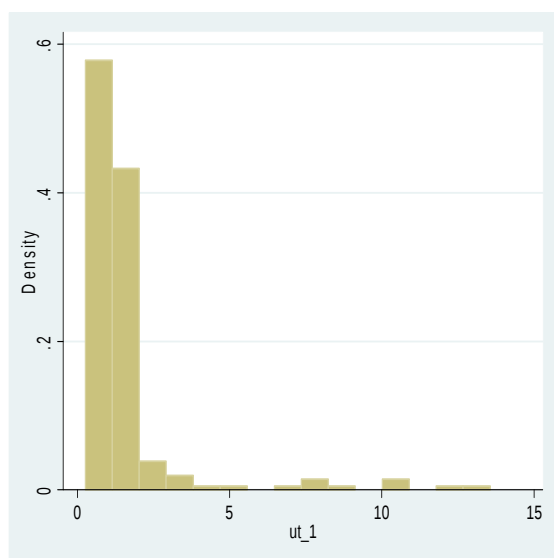
Πίνακας Β3. Ανθρωπομετρικά στοιχεία παιδιών στα οποία προσδιορίστηκαν τα επίπεδα των αντισωμάτων έναντι της oxLDL-C

N=310	
Φύλο (Α/Κ)	155 (50%)/ 155 (50%)
Ηλικία (χρόνια)	$11,48 \pm 3,32$
Υπερλιπιδαιμία	119 (38,4%)
Μάρτυρες	191 (61,6%)
ΔΜΣ	$19,55 \pm 3,56$
Φυσιολογικός ΔΜΣ	238 (76,6%)
Υπέρβαρα/Παχύσαρκα	72 (23,4%)

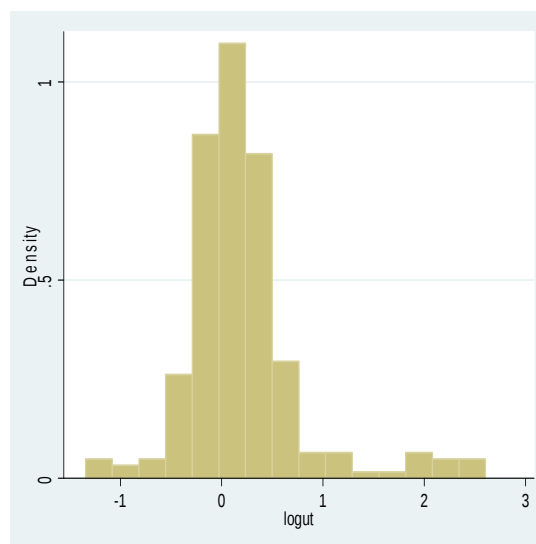
B2. Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 17.0 (SPSS Inc, Chicago, IL). Τα δεδομένα παρουσιάζονται σαν μέσες τιμές και σταθερές αποκλίσεις ($\text{Mean} \pm \text{SD}$), διάμεσες τιμές και εκατοστιαίες θέσεις ($25^{\text{η}}$, $50^{\text{η}}$, $75^{\text{η}}$). Μη παραμετρικές μέθοδοι (Wilcoxon paired test, Mann-Whitney U test και Kruskal-Wallis test) χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση των διαφόρων παραμέτρων μεταξύ των ομάδων καθώς και των διαφορετικών μετρήσεων στην ίδια ομάδα. Στις ομάδες με μεγάλο αριθμό παιδιών οι συγκρίσεις έγιναν και με τη χρήση παραμετρικών μεθόδων όπως η δοκιμασία ανάλυσης της διακύμανσης ANOVA και η δοκιμασία της γραμμικής παλινδρόμησης. Για τη συσχέτιση των διαφόρων παραμέτρων χρησιμοποιήθηκαν ο μη παραμετρικός συντελεστής συσχέτισης Spearman's rho καθώς και ο συντελεστής συσχέτισης Pearson. $P < 0,05$ θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό.

Δεδομένου ότι η κατανομή της ουροτενσίνης II ήταν έντονα ασύμμετρη και ισχυρά λοξή δεξιά (Εικόνα B1), αυτή λογαριθμήθηκε (Εικόνα B2) και τα λογαριθμικά επίπεδα χρησιμοποιήθηκαν στις διάφορες συγκρίσεις μεταξύ των μεταβλητών. Τα επίπεδα της ουροτενσίνης II δίδονται μόνο για περιγραφικούς σκοπούς.



Εικόνα B1. Κατανομή επιπέδων ουροτενσίνης II.



Εικόνα B2. Κατανομή λογαριθμικών επιπέδων ουροτενσίνης II.

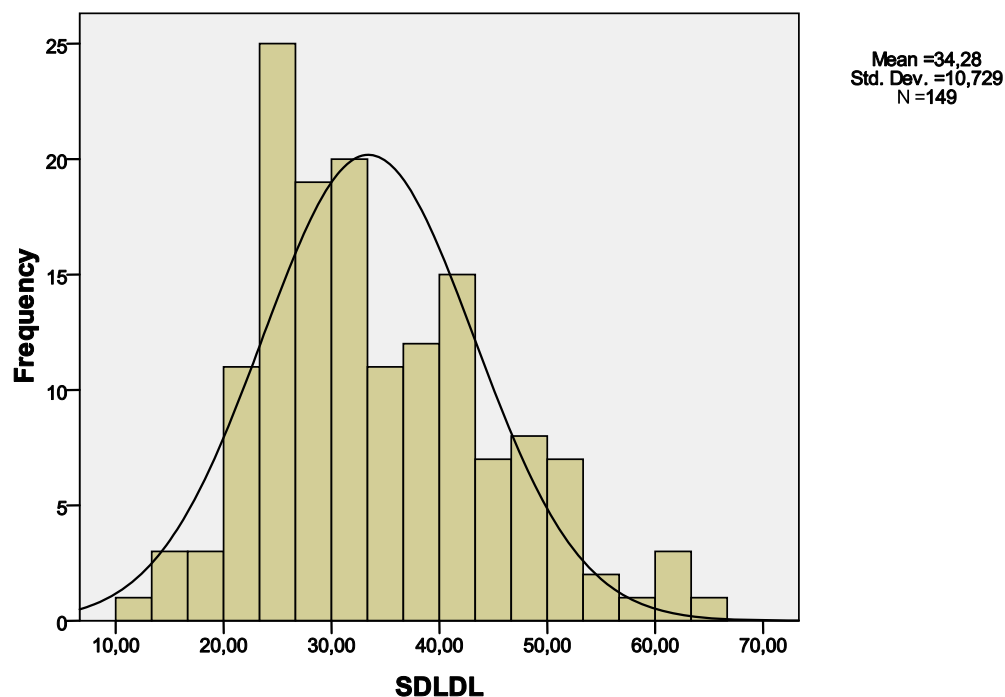
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΛΕΤΗΣ

Γ1. Επίπεδα της sdLDL-C

Ι). Στο σύνολο των παιδιών

Τα μέσα επίπεδα της sdLDL-C στο σύνολο των παιδιών της μελέτης ήταν $34,28 \pm 10,73$ mg/dl, τα διάμεσα 32 mg/dl, η 25^η ΕΘ 25,8 mg/dl και η 75^η 41,7 mg/dl.

Η κατανομή των επιπέδων της sdLDL-C στα 149 δείγματα φαίνεται στην Εικόνα Γ1.

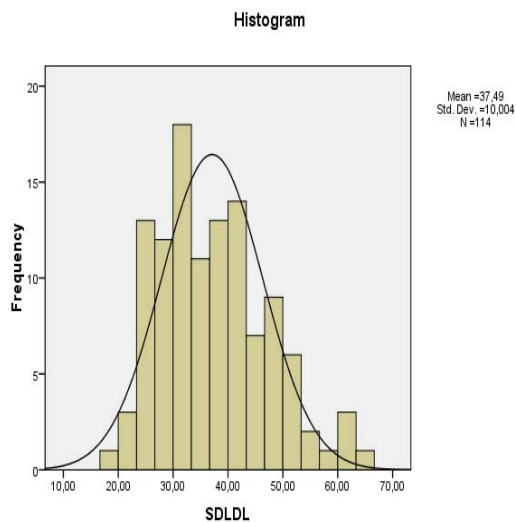


Εικόνα Γ1. Κατανομή των επιπέδων της sdLDL-C στα 149 δείγματα των παιδιών της μελέτης.

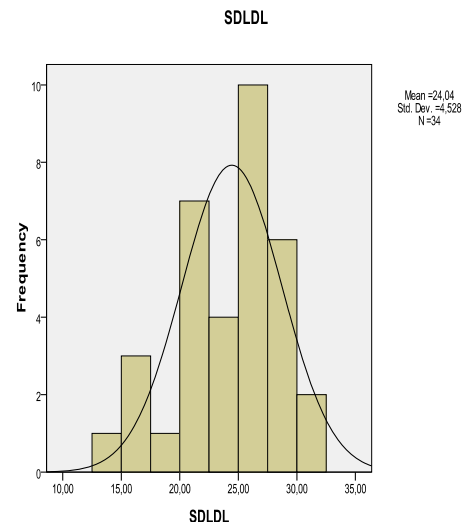
Τα επίπεδα της sdLDL-C στο σύνολο των παιδιών με LDL-C ≥ 130 mg/dl ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σύγκριση με αυτά των παιδιών με LDL-C < 130 mg/dl ($p < 0,001$) (Πίνακας Γ1). Η κατανομή τους στις δύο ομάδες δείχνεται στις Εικόνες Γ2 & Γ3.

Πίνακας Γ1. Μέσα επίπεδα των sdLDL-C, TC, LDL-C, non-HDL-C, HDL-C και TGs, σε mg/dl, στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία και στους μάρτυρες

	Δυσλιπιδαιμία	Μάρτυρες	P
Ηλικία	9±2,6	10±2,8	0,071
sdLDL-C	37,5±10,0	24,0±4,5	<0,001
TC	255±59	177±23	<0,001
LDL-C	185±57	104±17	<0,001
non-HDL-C	196±59	114±18	<0,001
HDL-C	58±15	63±17	0,262
TG	64±31	57±24	0,497



Εικόνα Γ2. Κατανομή των επιπέδων της sdLDL-C στα παιδιά με LDL-C ≥ 130 mg/dl.



Εικόνα Γ3. Κατανομή των επιπέδων της sdLDL-C στα παιδιά με LDL-C < 130 mg/dl.

Στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία με τη χρήση του παραμετρικού συντελεστή συσχέτισης Pearson διαπιστώθηκε ισχυρή συσχέτιση των επιπέδων της sdLDL-C με τον τρόπο αντιμετώπισης των παιδιών ($p = 0,033$). Τα επίπεδα της sdLDL-C και των υπόλοιπων λιπιδίων - λιποπρωτεϊνών, στις διάφορες ομάδες ανάλογα με τον τρόπο αντιμετώπισης δείχνονται στον Πίνακα Γ2.

Τέλος, τα παιδιά που ήταν σε φαρμακευτική υπολιπιδαιμική αγωγή είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα της sdLDL-C μόνο σε σύγκριση με τους μάρτυρες ($p < 0,001$) (Πίνακες Γ1 & Γ2, Εικόνα Γ4).

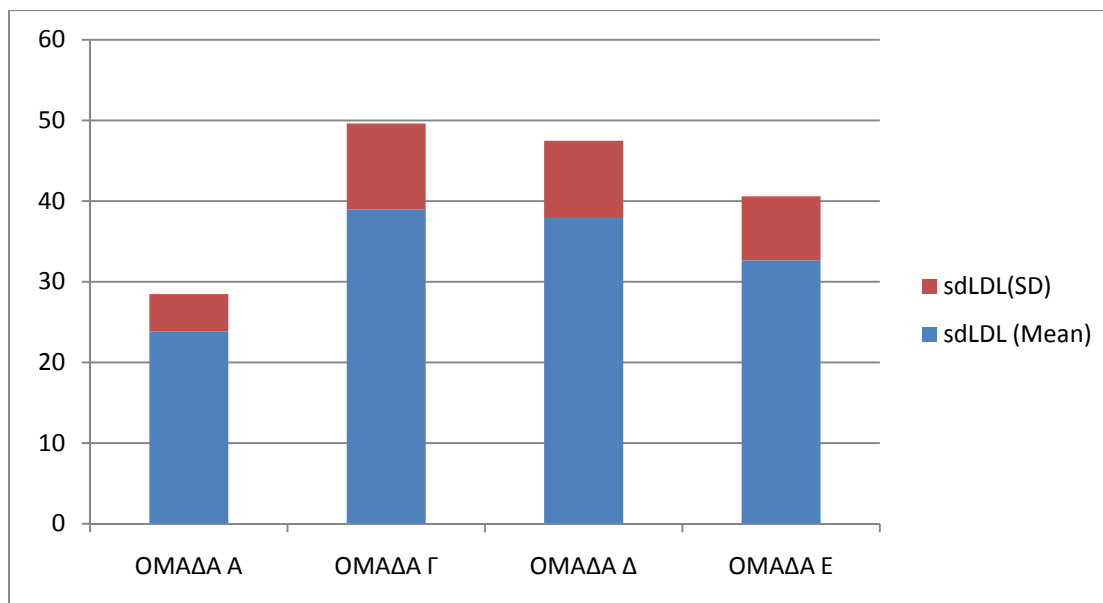
Τα επίπεδα της sdLDL-C δεν είχαν καμία συσχέτιση με το φύλο, την ηλικία και τον ΔΜΣ ($p > 0,05$).

Πίνακας Γ2. Μελέτη μεταξύ των διαφόρων ομάδων δυσλιπιδαιμικών παιδιών και κάθε ομάδας με τους μάρτυρες (Mann-Whitney U)

	Δυσλιπιδαιμία	Δυσλιπιδαιμία	Δυσλιπιδαιμία	Μάρτυρες
	Υπό δίαιτα	Δίαιτα + ΦΣ*	Υπό ΦΑ**	
Ηλικία	8,4±2,6	8,9±2,0	11,6±2,6	10±2,8
sdLDL-C	38,9±10,7	37,9±9,6	32,6±7,9	24,0±4,5
TC	271±59	257±57	209±37	177±23
LDL-C	199±60	186±56	146±34	104±17
non-HDL-C	211±62	196±58	158±34	114±18
HDL-C	60±15	60±15	51±17	63±17
TG	70±38	58±22	61±27	57±24

* ΦΣ: φυτικές στερόλες

**ΦΑ: φαρμακευτική αγωγή



Εικόνα Γ4. Κατανομή της sdLDL-C στις ομάδες μελέτης.

Ομάδα Α: Μάρτυρες

Ομάδα Γ: Παιδιά με υπερλιπιδαιμία που ήταν μόνο σε υγιεινή διατροφή

Ομάδα Δ: παιδιά με υπερλιπιδαιμία που ελάμβαναν συγχρόνως με τη δίαιτα και φυτικές στερόλες

Ομάδα Ε: Παιδιά με υπερλιπιδαιμία υπό φαρμακευτική αγωγή

II). Επίδραση των φυτικών στερολών στα επίπεδα της sdLDL-C

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων στα 25 παιδιά στα οποία τα επίπεδα της sdLDL-C προσδιορίστηκαν πριν και μετά από τη χορήγηση 2 g φυτικών στερολών, διαπιστώθηκε λίαν σημαντική μείωσή τους στους 6 - 12 μήνες χορήγησης των φυτικών στερολών ($p < 0,001$, Πίνακας Γ3). Παρά τη σημαντική μείωσή τους, αυτά παρέμεναν σημαντικά υψηλότερα από τα επίπεδα των μαρτύρων ($p < 0,001$, Πίνακας Γ3). Τα κατώτερα και ανώτερα επίπεδα, τα μέσα και διάμεσα επίπεδα και οι εκατοστιαίες θέσεις των επιπέδων της sdLDL-C σε κάθε ομάδα φαίνονται στον Πίνακα Γ4.

Η κατανομή των επιπέδων της sdLDL-C στους μάρτυρες και στους ασθενείς πριν και μετά τη διαιτητική παρέμβαση φαίνεται στην Εικόνα Γ5.

Η χορήγηση των φυτικών στερολών οδήγησε επίσης σε σημαντική μείωση των επιπέδων των TC, LDL-C, non-HDL-C και ApoB ($p < 0,001$, Πίνακας Γ3). Αντιθέτως, η χορήγησή τους δεν είχε καμία σημαντική επίδραση στα επίπεδα των HDL-C, TGs, ApoA-I και Lp(a) ($p > 0,05$, Πίνακας Γ3). Επιπλέον, τα επίπεδα των παραπάνω

παραμέτρων, πλην της Lp(a), δεν διέφεραν από αυτά των μαρτύρων ($p > 0,05$, Πίνακας Γ3).

Η μέση % μείωση ήταν 13,3 %, 13,6 % και 13,0 % για τις sdLDL-C, LDL-C και non-HDL-C αντιστοίχως, ενώ ήταν μικρότερη (10,7 %) για την ApoB. Τα 16 από τα 25 παιδιά (64%) μείωσαν τα επίπεδα της sdLDL-C $> 10\%$, ενώ άλλα 3 παιδιά παρουσίασαν μείωση $\geq 5\%$, αλλά $< 10\%$. Δηλαδή το 76% των παιδιών παρουσίασε μείωση της sdLDL-C $\geq 5\%$. (Πίνακας Γ5).

Από τη μελέτη δεν προέκυψε καμία διαφορά στη μείωση των sdLDL-C, LDL-C, non-HDL-C και ApoB, σαν απάντηση στη χορήγηση φυτικών στερολών, ανάμεσα σε αγόρια - κορίτσια. Επίσης, η % μείωση ήταν ανεξάρτητη από το ύψος των αρχικών τους επιπέδων.

Πίνακας Γ3. Επίπεδα της sdLDL-C, των λιπιδίων, λιποπρωτεϊνών και απολιποπρωτεϊνών, πριν και μετά από τη χορήγηση φυτικών στερολών (Mean $\pm$ SD, mg/dl)

	Παιδιά με δυσλιπιδαιμία (N=25)		p	Μάρτυρες N=34	p*	p**
	Προ ΦΣ*	Μετά ΦΣ**				
sdLDL-C	40,95 $\pm$ 8,96	35,49 $\pm$ 9,82	<0,001	23,25 $\pm$ 4,28	<0,001	<0,001
TC	270,5 $\pm$ 55,7	245 $\pm$ 61	<0,001	174,3 $\pm$ 21,2	0,001	<0,001
LDL-C	201 $\pm$ 53	176 $\pm$ 61	<0,001	100 $\pm$ 15	<0,001	<0,001
non-HDL-C	212 $\pm$ 58	186 $\pm$ 64	<0,001	111 $\pm$ 18	<0,001	<0,001
HDL-C	59 $\pm$ 17	59 $\pm$ 16	0,58	64 $\pm$ 18	0,38	0,31
TGs	65 $\pm$ 29	58 $\pm$ 21	0,28	60 $\pm$ 22	0,68	0,74
APO-AI	143 $\pm$ 27	153 $\pm$ 35	0,22	149 $\pm$ 29	0,48	0,82
APOB	131 $\pm$ 32	115 $\pm$ 29	0,004	72 $\pm$ 13	<0,001	<0,001
Lp(a)	29 $\pm$ 25	33 $\pm$ 22	0,91	17 $\pm$ 19	0,03	0,002

ΦΣ: φυτικές στερόλες

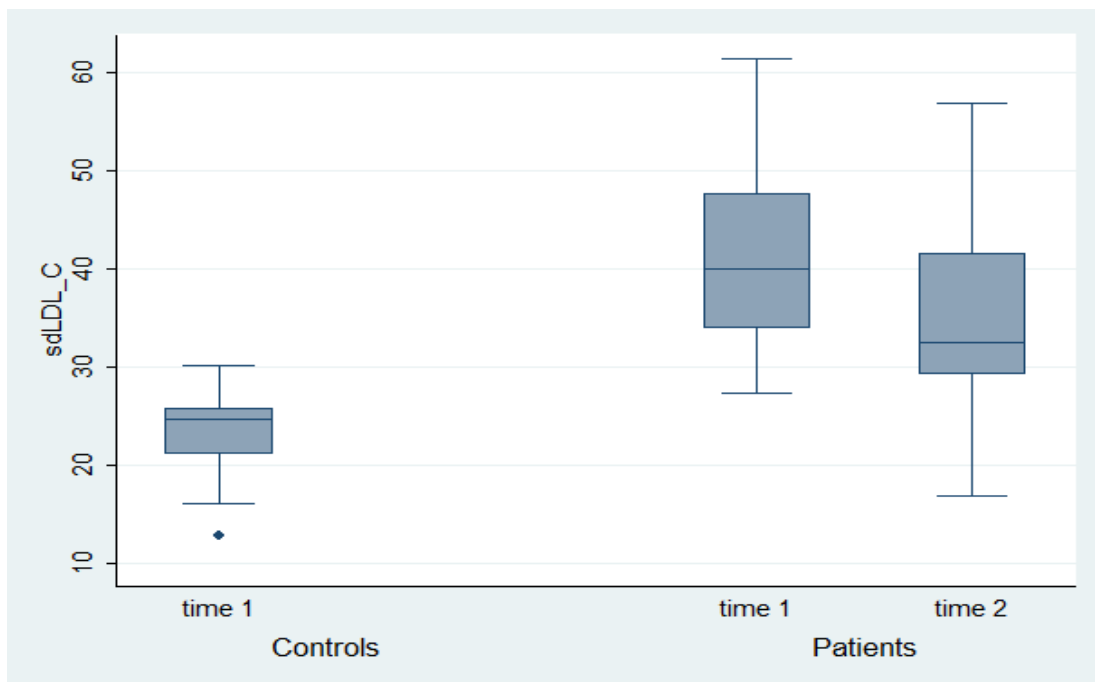
Πίνακας Γ4. SdLDL-C στα παιδιά με υπερχοληστερολαιμία, πριν και μετά από τη χορήγηση φυτικών στερολών, και στους μάρτυρες

SdLDL-C	Προ ΦΣ (N=25)	Μετά ΦΣ (N=25)	Μάρτυρες (N=34)
Mean	40,95	35,49	23,72
SD	8,96	9,82	3,88
Median	40	32,4	24,8
Minimum	27,3	16,8	16,1
Maximum	61,4	56,9	30,1
25 ^η ΕΘ	33,5	27,95	21,05
50 ^η ΕΘ	40	32,4	24,8
75 ^η ΕΘ	47,9	41,8	26

ΦΣ: φυτικές στερόλες

Πίνακας Γ5. Η % μείωση των sdLDL-C, LDL-C, non-HDL-C και APOB μετά από τη χορήγηση φυτικών στερολών

	Μείωση %	Μείωση ≥10 %	Μείωση <10 %	Μείωση 5 - 10%
sdLDL-C	13,3 ± 16,1	16/25 = 64%	9/25 = 36%	3/25 = 12%
		23,2 ± 7,2	4,3 ± 11,7	7,5 ± 2,0
LDL-C	13,6 ± 12,6	15/25 = 60%	10/25 = 40%	4/25 = 16%
		21,7 ± 8,2	1,6 ± 7,1	8,2 ± 0,8
non-HDL-C	13,0 ± 13,1	15/25 = 60%	10/25 = 40%	2/25 = 8%
		20,7 ± 9,8	1,2 ± 7,2	7,4 ± 0,6
APOB	10,7 ± 14,1	11/20 = 55%	9/20 = 45%	1/20 = 5%
		21,3 ± 6,6	2,3 ± 8,8	9,6



Εικόνα Γ5. Κατανομή της sdLDL-C σε παιδιά με δυσλιπιδαιμία και σε μάρτυρες.

Γ2. Επίπεδα της ουροτενσίνης II

Τα μέσα επίπεδα της U-II στο σύνολο των παιδιών που ελέγχθηκαν ήταν $1,6 \pm 1,8$ ng/ml και τα διάμεσα $1,13$ ng/ml. Τα επίπεδα ήταν σημαντικά χαμηλότερα στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία ($LDL-C \geq 130$ mg/dl), σε σύγκριση με των παιδιών με $LDL-C < 130$ mg/dl ($1,06 \pm 0,35$ και $2,21 \pm 2,53$ αντιστοίχως, $p < 0,001$) (Πίνακας Γ6).

Η επίδραση της LDL-C στα επίπεδα της U-II και στο λογάριθμο της U-II ($\log U-II$) ήταν αρνητική και στατιστικά λίαν σημαντική και ανεξάρτητη από το φύλο, την ηλικία και το ΔΜΣ ($F=8,63$ $p < 0,001$ και Spearman's rho $-0,378$ $p < 0,001$ & $F=13,03$ $p < 0,001$ αντιστοίχως). Παρόμοια ήταν η επίδραση των TC, non-HDL-C, TGs και apoB στην $\log U-II$ ($p = 0,001$, $p < 0,001$, $p = 0,006$ και $p < 0,001$ αντιστοίχως). Αντιθέτως, η HDL-C και η apoA-I είχαν μεν λίαν σημαντική, αλλά θετική, επίδραση στα επίπεδά της ($p = 0,002$ και $p < 0,001$ αντιστοίχως) (Πίνακας Γ7). Καμία συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της Lp(a) και της $\log U-II$, καθώς επίσης μεταξύ της $\log Lp(a)$ και της $\log U-II$ δεν διαπιστώθηκε ($p = 0,812$).

Τα επίπεδα της $\log U-II$ είχαν λίαν σημαντική συσχέτιση με το φύλο με όλες τις στατιστικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν (Spearman's rho $-0,163$, $p = 0,01$, ANOVA: $p = 0,02$ & παραμετρική δοκιμασία γραμμικής παλινδρόμησης: $p = 0,02$). Τα κορίτσια είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα από τα αγόρια ($1,38 \pm 1,43$ & $1,82 \pm 2,17$ και διάμεσα $1,09$ & $1,28$ αντιστοίχως).

Σε αντίθεση με το φύλο, η ηλικία δεν είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στα επίπεδα της $\log U-II$, με καμία από τις στατιστικές μεθόδους ($p > 0,05$). Επιπλέον, καμία επίδραση δεν διαπιστώθηκε όταν τα παιδιά διαχωρίστηκαν σε δύο ομάδες, μικρότερα των 12 χρόνων και ≥ 12 χρόνων ($p > 0,05$).

Όσον αφορά στο ΔΜΣ, αρχικά δεν φαινόταν να συσχετίζεται με τα επίπεδα της $\log U-II$ (Spearman's Rho: $-0,0346$, $p = 0,6$ & παραμετρική δοκιμασία της γραμμικής παλινδρόμησης: $p = 0,282$). Όμως, όταν έγινε κατηγοριοποίηση των παιδιών, σε παιδιά με φυσιολογικό ΔΜΣ και σε υπέρβαρα/παχύσαρκα, διαπιστώθηκε σημαντική συσχέτισή του με την $\log U-II$ (Spearman's Rho: $-0,134$, $p = 0,04$, δοκιμασία γραμμικής παλινδρόμησης: $p = 0,001$ & δοκιμασία ANOVA: $p = 0,05$). Τα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα από τα παιδιά με φυσιολογικό ΔΜΣ ($1,13 \pm 0,62$ & $1,72 \pm 2,05$ και διάμεσα $1,16$ & $0,98$ αντιστοίχως).

Καμία σημαντική συσχέτιση δε βρέθηκε μεταξύ της log U-II και της συστολικής και διαστολικής αρτηριακής πίεσης ($p = 0,216$ & $p = 0,481$ αντιστοίχως).

Το ιστορικό δυσλιπιδαιμίας στους 1^{ου} ή στους 2^{ου} βαθμού συγγενείς και το ιστορικό πρώιμης ΚΑΝ στις ίδιες κατηγορίες συγγενών, δεν αποτέλεσαν παράγοντα επίδρασης στα επίπεδα της U-II ($p > 0,05$).

Πίνακας Γ6. Επίπεδα U-II, επίπεδα λιπιδίων, λιποπρωτεϊνών και απολιποπρωτεϊνών στα παιδιά με υπερλιπιδαιμία ($LDL-C \geq 130mg/dl$) και στους μάρτυρες ($LDL-C < 130mg/dl$)

	Υπερλιπιδαιμία N=125	Μάρτυρες N=107	P
U-II	1,06±0,35	2,21±2,53	<0,001
TC	269±62	156±20	<0,001
LDL-C	186±58	87±17	<0,001
Non-HDL-C	194±64	94±18	<0,001
HDL-C	57±14	63±15	0,001
TGs	74±43	52±22	<0,001
apoA-I	148±22	160±22	<0,001
apoB	133±33	71±12	<0,001
Lp(a)	24±24	17±17	0,013

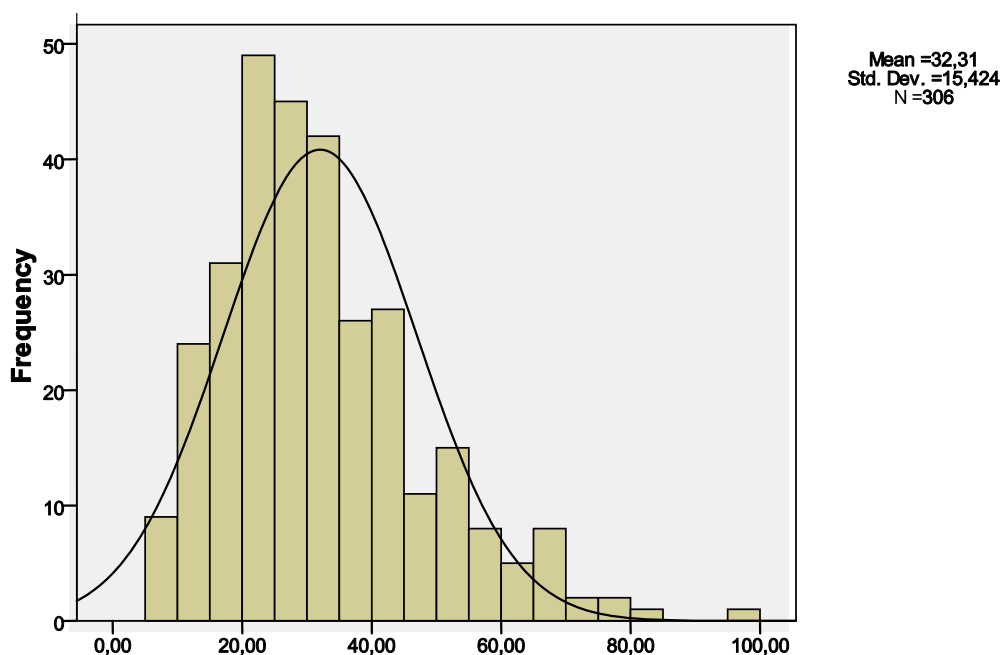
Πίνακας Γ7. Συσχετίσεις της log U-II, με το μη παραμετρικό συντελεστή συσχέτισης Spearman's rho, με τις διάφορες μεταβλητές

Μεταβλητή	P	Μεταβλητή	P
Φύλο	0,013	TC	0,001
Ηλικία	0,07	LDL-C	<0,001
Ηλικιακή ομάδα	0,347	Non-HDL-C	<0,001
ΔΜΣ	0,602	HDL-C	0,002
Κατηγορία ΔΜΣ	0,040	TGs	0,006
Σ-ΑΠ	0,216	apoA1	<0,001
Δ-ΑΠ	0,481	apoB	<0,001
		Lp(a)	0,811

Γ3. Αντισώματα έναντι της oxLDL-C

Η κατανομή των αντισωμάτων στο σύνολο των παιδιών φαίνεται στην εικόνα Γ6.

Τα μέσα επίπεδα ox-LDL-Abs ήταν $32,31 \pm 15,42$ U/ml, τα διάμεσα $29,47$ U/ml, η 25^η ΕΘ $21,62$ U/ml και η 75^η ΕΘ $40,73$ U/ml.



Εικόνα Γ6. Κατανομή ox-LDL-Abs στο σύνολο των παιδιών.

Τα επίπεδα των ox-LDL-Abs δεν διέφεραν μεταξύ των παιδιών με LDL-C ≥ 130 mg/dl και των παιδιών με LDL-C < 130 mg/dl ($p = 0,833$) (Πίνακας Γ8, Εικόνα Γ7).

Τα επίπεδα ήταν σημαντικά υψηλότερα στα κορίτσια ($p = 0,004$), ενώ δεν υπήρχε καμία διαφορά στη μέση ηλικία και στα επίπεδα της LDL-C μεταξύ αγοριών -κοριτσιών ($p > 0,05$) (Πίνακας Γ8, Εικόνα Γ8).

Καμία σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των παιδιών προ-εφηβικής και εφηβικής ηλικίας ($33,0 \pm 17,0$ U/ml και $34,1 \pm 19,4$ U/ml αντιστοίχως, $p = 0,603$).

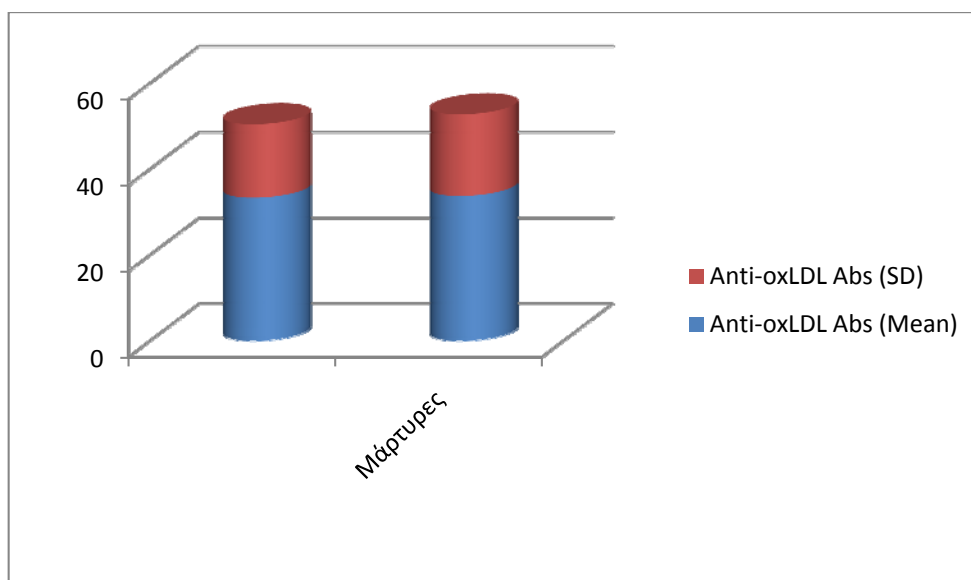
Ακόμη, δεν υπήρχε διαφορά μεταξύ των παιδιών με φυσιολογικό και αυξημένο ΔΜΣ ($p = 0,169$). Να σημειωθεί ότι η μέση ηλικία των παιδιών στις δύο ομάδες δεν διέφερε ($p = 0,119$).

Τα επίπεδα των αντισωμάτων δεν διέφεραν μεταξύ των παιδιών με «υψηλή», «οριακή» και «χαμηλή» HDL-C ($p > 0,05$).

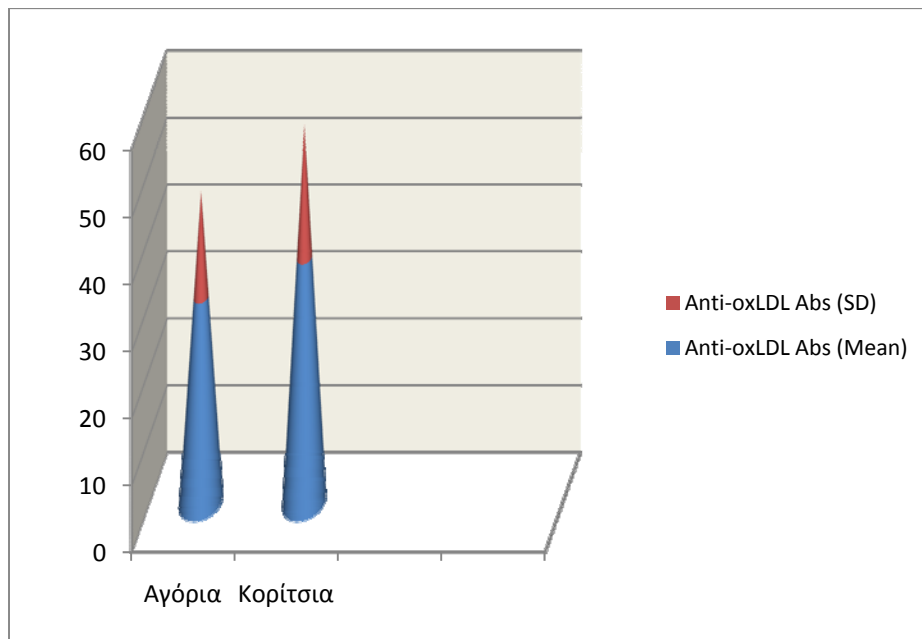
Τα αντισώματα έναντι της οξειδωμένης LDL είχαν ισχυρή συσχέτιση μόνο με το φύλο ($p = 0,004$), ενώ δεν είχαν καμία συσχέτιση με την ηλικία, τον ΔΜΣ, τα επίπεδα της TC, της LDL-C, της HDL-C και των TG ($p > 0,05$, Pearson Correlation & Spearman's rho).

Πίνακας Γ8. Μέσα επίπεδα και σταθερές αποκλίσεις των ox-LDL-Abs και των λιπιδίων-λιποπρωτεϊνών, σε παιδιά με και χωρίς υπερχοληστερολαιμία, σε αγόρια και κορίτσια

	LDL <130(N=191)	LDL ≥130 (N=119)	P	Αγόρια	Κορίτσια	P
Ηλικία	12,8±2,8	9,4±3,0	<0,001	11,7±3,3	11,2±3,4	0,170
ox-LDL-Abs	33,7±19,0	33,3±17,1	0,833	30,6±15,9	36,5±19,9	0,004
TC	160±24	251±44	<0,001	191±53	199±57	0,179
LDL-C	90±17	182±43	<0,001	121±51	130±56	0,118
HDL-C	56±14	60±14	0,025	58±15	57±14	0,555
TG	57±22	74±42	0,005	68±35	74±42	0,368



Εικόνα Γ7. Κατανομή των ox-LDL-Abs στα υπερλιπιδαιμικά παιδιά και στους μάρτυρες.



Εικόνα Γ8. Κατανομή των ox-LDL-Abs στα δύο φύλα.

Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Δ1. sdLDL-C

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι τα μικρά και πυκνά μόρια της LDL-C (sdLDL) είναι σημαντικά περισσότερα στα παιδιά με υπερχοληστερολαιμία σε σύγκριση με τα παιδιά με φυσιολογικά λιπίδια. Τα sdLDL μόρια έχουν ελάχιστα μελετηθεί στον παιδιατρικό πληθυσμό^{77-90,102} και ακόμα λιγότερο στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία^{85,86,88}. Οι μελέτες είναι λίγες για να διεξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την επικράτηση του φαινοτύπου Β στα δυσλιπιδαιμικά παιδιά. Ωστόσο, από τη μέχρι τώρα έρευνα φαίνεται ότι ο φαινότυπος Β επικρατεί στα παιδιά με παράγοντες κινδύνου πρώιμης αθηρωμάτωσης, όπως η δυσλιπιδαιμία, η νεφρική ανεπάρκεια, το μεταβολικό σύνδρομο, ο ΣΔ⁷⁷⁻⁹⁰. Σε ενήλικες μάλιστα ο τύπος της δυσλιπιδαιμίας φαίνεται να επιδρά στην εκδήλωση του φαινοτύπου⁸⁹. Φαινότυπο Β είχαν τάση να παρουσιάζουν και ενήλικες με μεταβολικό σύνδρομο^{95,100}.

Διαφορά σε σχέση με το φύλο παρατηρήθηκε μόνο στον ενήλικο πληθυσμό, με τους άντρες να έχουν υψηλότερα ποσοστά sdLDL μόρια, γεγονός που συμβαδίζει με το μεγαλύτερο κίνδυνο που διατρέχουν αυτοί σε σχέση με τα θήλεα άτομα για την εκδήλωση ενός πρώιμου καρδιαγγειακού επεισοδίου⁹²⁻⁹⁴. Στη μελέτη μας δεν παρατηρήθηκε διαφορά στα επίπεδα μεταξύ των δύο φύλων, αν και η διεξαγωγή τέτοιων συμπερασμάτων απαιτεί μεγαλύτερο δείγμα πληθυσμού και ειδικές μελέτες. Σε ότι αφορά στην ηλικία, δεν υπήρχε συσχέτιση με τα επίπεδα των sdLDL μορίων στα παιδιά της μελέτης, εύρημα ανάλογο με τις προαναφερθείσες μελέτες στα παιδιά. Βέβαια, μελέτη έδειξε ότι ίσως το στάδιο της ενήβωσης παίζει ρόλο στην έκφραση του φαινοτύπου⁸³. Στον ενήλικο πληθυσμό παρατηρήθηκε αύξηση της επικράτησης των sdLDL μορίων με την πρόοδο της ηλικίας⁹⁵, γεγονός που υποδηλώνει ότι και άλλοι παράγοντες πλην ενδεχόμενα της δυσλιπιδαιμίας συμβάλλουν στην παρουσία των sdLDL μορίων στην κυκλοφορία.

Η επίδραση των φυτικών στερολών στα sdLDL μόρια αναφέρεται σε μία μόνο μελέτη σε ενήλικες, όπου φάνηκε να είναι θετική στην μείωση των επιπέδων τους¹⁰⁵. Στα παιδιά η πρώτη μελέτη είναι η παρούσα, όπου αναδείχθηκε ανάλογη επίδραση των φυτικών στερολών, όπως αυτή στους ενήλικες. Αξιοσημείωτο ωστόσο παραμένει το εύρημα ότι παρά την μείωση, τα επίπεδα των sdLDL μορίων παρέμειναν σημαντικά υψηλά σε σύγκριση με τους μάρτυρες και με το πέρας της θεραπευτικής παρέμβασης.

Τέλος, το εύρημα ότι παιδιά που ήταν σε υπολιπιδαιμική αγωγή είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα sdLDL-C συγκριτικά με τους μάρτυρες ($p < 0,001$), αλλά σημαντικά χαμηλότερα από τα παιδιά με υπερλιπιδαιμία που ήταν μόνο σε δίαιτα ($p = 0,033$) ή σε δίαιτα και φυτικές στερόλες ($p = 0,037$) μπορεί να δικαιολογηθεί ως εξής: παιδιά που είναι σε υπολιπιδαιμική φαρμακευτική αγωγή έχουν σοβαρότερη δυσλιπιδαιμία και ενδεχόμενα την ύπαρξη και πρόσθετων παραγόντων κινδύνου αθηρωμάτωσης άρα είναι λογικό να έχουν υψηλότερα επίπεδα sdLDL μορίων από τα παιδιά με φυσιολογικό λιπιδόγραμμα. Ακόμη τα παιδιά αυτά έχουν χαμηλότερα επίπεδα από τα παιδιά με δυσλιπιδαιμία σε δίαιτα ίσως επειδή τα φάρμακα να συμβάλλουν στην μείωση των επιπέδων, χωρίς ωστόσο όπως προκύπτει σε ενήλικες να οδηγούν σε αλλαγή φαινοτύπου, δηλαδή από το φαινότυπο Β στον Α^{6,106}.

Δ2. U-II

Η μελέτη μας είναι η πρώτη στη διεθνή βιβλιογραφία που μελετά τα επίπεδα της U-II σε παιδιά με δυσλιπιδαιμία.

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων δε βρέθηκε συσχέτιση της ηλικίας των παιδιών, υγιών και παιδιών με δυσλιπιδαιμία, με τα επίπεδα της U-II. Ανάλογο ήταν το εύρημα σε παιδιά με πυλαία υπέρταση λόγω ηπατικής νόσου¹⁷¹, ενώ σε παιδιά με συγγενή καρδιοπάθεια η U-II δεν συσχετιζόταν με την ηλικία στα φυσιολογικά άτομα, σχετιζόταν όμως σημαντικά αρνητικά με την ηλικία στα παιδιά με νόσο¹⁷⁴.

Τα κορίτσια είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα U-II, εύρημα αντίθετο από μελέτες άλλων στον ενήλικο πληθυσμό, όπου κάποιοι ερευνητές δε βρήκαν διαφορές με το φύλο¹⁴³⁻¹⁴⁵, ενώ κάποιοι άλλοι βρήκαν υψηλότερα επίπεδα στα θήλεα άτομα¹⁴⁶. Η διεξαγωγή συμπερασμάτων θα ήταν ασφαλής μόνο μετά από επιδημιολογικές μελέτες σε μεγάλο δείγμα ατόμων.

Όσον αφορά στο ΔΜΣ προγενέστερη μελέτη αναφέρει θετική συσχέτιση της hU-II με αυτόν¹⁵⁶. Εμείς, ναι μεν δείξαμε τάση για σημαντική επίδραση του ΔΜΣ στα επίπεδα της U-II όταν κατηγοριοποιήσαμε τα παιδιά σε υπέρβαρα, παχύσαρκα ή φυσιολογικού βάρους σώματος, παρόλα αυτά δεν αποδείξαμε σημαντική σχέση συγκρίνοντας μόνο το ΔΜΣ ως μεταβλητή με τα επίπεδα της U-II.

Στο σύνολο του πληθυσμού μας παρατηρήθηκαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα U-II στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία, λαμβάνοντας πάντα υπόψη την επίδραση που

ενδεχόμενα έχουν η ηλικία, το φύλο και ο ΔΜΣ. Αν και φαίνεται από την βιβλιογραφία ότι η διεργασία της αθηρωμάτωσης σχετίζεται στενά με το πεπτίδιο^{147,158-162}, παραμένει αδιευκρίνιστο το πώς επηρεάζονται τα επίπεδά της στο πλάσμα. Οι λίγες μελέτες που αναφέρονται στα παιδιά δείχνουν υψηλότερα επίπεδα U-II σε αυτά με νόσο των νεφρών^{172,173}, του ήπατος¹⁷¹ ή της καρδιάς¹⁷⁴. Στους ενήλικες πλήθος νοσημάτων οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων του πεπτιδίου στο πλάσμα σε σχέση με τους μάρτυρες^{129,138,142,147-150}. Τα ευρήματα της μελέτης μας ίσως συσχετίζονται με κάποια εμπλοκή του μορίου της U-II στα αθηρωματικά αγγεία που τελικά μειώνει τα επίπεδά της στα παιδιά με υπερχοληστερολαιμία. Να σημειωθεί ότι σε νεφρική νόσο η U-II αυξάνεται ή μειώνεται ανάλογα με τη νεφρική λειτουργία γεγονός που οι ερευνητές το αποδίδουν ίσως στον τρόπο κάθαρσής της από τους νεφρούς^{145,172,170}. Επομένως, στο μέλλον ίσως θα ήταν χρήσιμη η μέτρηση των επιπέδων του πεπτιδίου στο πλάσμα αλλά ταυτόχρονα και στα ούρα, αφού οι νεφροί φαίνεται να παίζουν βασικό ρόλο στη ρύθμιση αυτής.

Σε ότι αφορά στα λιπίδια, παραμένει άγνωστη η επίδρασή τους στο πεπτίδιο της U-II. Αντίστοιχες μελέτες σε παιδιά και ενήλικες δε βρέθηκαν. Στην παρούσα μελέτη τα επίπεδα της U-II φαίνεται να συσχετίζονται στατιστικά σημαντικά με τις TC, LDL-C, non-HDL-C, τα TGs, την apoA-I, την apoB και την HDL-C, ενώ καμία συσχέτιση δε βρέθηκε με την Lp(a). Μελέτη σε ενήλικες έδειξε ότι το πεπτίδιο φαίνεται να επιδρά στην τριγλυκεριδική λιπάση οδηγώντας σε δυσλιπιδαιμία¹⁶³.

Τέλος, το γεγονός ότι δεν βρήκαμε κάποια σχέση ανάμεσα στην αρτηριακή πίεση και τα επίπεδα της U-II, όπως αναφέρουν άλλες μελέτες σε υπερτασικούς ασθενείς^{141,156}, πιθανότατα να οφείλεται στο ότι τα παιδιά της μελέτης μας δεν παρουσίαζαν υπέρταση.

Δ3. Ox-LDL-Abs

Η μέχρι τώρα έρευνα έχει αποδείξει ότι η αθηροσκλήρυνση είναι μία διαδικασία χρόνιας φλεγμονής με βλαπτικές συνέπειες στο τοίχωμα των αγγείων. Η οξειδωτική τροποποίηση της LDL-C θεωρείται πάλι να αποτελεί βήμα-κλειδί στην περαιτέρω αλλοίωση του αγγειακού ενδοθηλίου κατά την αθηροσκληρυντική διεργασία. Η ενεργοποίηση στη συνέχεια του ενδογενούς ανοσοποιητικού μηχανισμού γνωρίζουμε

πλέον ότι οδηγεί στην παραγωγή αντισωμάτων κατά των oxLDL μορίων, που όμως ο ρόλος τους παραμένει αδιευκρίνιστος^{185-189,213}.

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι δεν υπάρχει διαφορά στα επίπεδα των ολικών ox-LDL-Abs μεταξύ των παιδιών με δυσλιπιδαιμία και των παιδιών με φυσιολογικό λιπιδόγραμμα. Ανάλογη μελέτη σε παιδιά δε βρήκαμε. Όμως μελετητές επίσης δε βρήκαν διαφορά στα ox-LDL-Abs μεταξύ ενηλίκων με FH και νορμολιπιδαιμικών ατόμων¹⁹⁶. Η μόνη μελέτη που αναφέρεται σε παιδιά με FH έδειξε ότι αυτά έχουν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ανοσοσυμπλεγμάτων έναντι της oxLDL και IgM ox-LDL-Abs συγκριτικά με υγιείς μάρτυρες και ότι η λήψη στατίνης για 2 χρόνια μείωσε σημαντικά τα ποσοστά αυτών¹⁸⁴. Επομένως, είναι πιθανόν η μέτρηση των IgG και των IgM Abs αντί των ολικών να είχε αναδείξει ανάλογη διαφορά.

Μελέτες που αναφέρονται στο ρόλο και στα επίπεδα των ox-LDL-Abs σε ασθενείς αυξημένου κινδύνου για πρόωμη αθηρωμάτωση, αλλά και στο γενικό πληθυσμό καταλήγουν σε αντικρουόμενα συμπεράσματα. Η πλειοψηφία των ερευνητών μελέτησε κυρίως τα IgG ox-LDL-Abs, αλλά πάλι τα συμπεράσματα είναι αμφιλεγόμενα^{185-206,208}. Έτσι, σε ένα άρθρο ανασκόπησης, φαίνεται ξεκάθαρα ότι το θέμα των αντισωμάτων και της ανοσιακής απάντησης στην οξειδωτική τροποποίηση είναι τόσο πολύπλοκο, που μόνο η πληρέστερη κατανόηση αυτών θα οδηγήσει σε σαφή δεδομένα²¹³.

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι τα κορίτσια είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα Ox-LDL-Abs σε σύγκριση με τα αγόρια, παρόλο που η ηλικία μεταξύ των δύο φύλων δεν διέφερε. Σε ανάλογο συμπέρασμα είχαν καταλήξει οι Tinahones et al¹⁹⁰ σε ενήλικες.

Κατά τα άλλα δε βρήκαμε διαφορές στους υπό μελέτη πληθυσμούς σχετικά με τα επίπεδα των ολικών ox-LDL-Abs και την ηλικία, το ΔΜΣ και τα επίπεδα της HDL-C. Τα ευρήματα αυτά είναι σε διαφωνία με μελέτες που ήδη προαναφέρθηκαν και όπου μελετήθηκαν κυρίως τα IgG ox-LDL-Abs, γι αυτό οποιοδήποτε συμπέρασμα είναι επισφαλές. Επιπλέον, οι προαναφερθείσες μελέτες είναι στους ενήλικες και ανάλογες μελέτες στα παιδιά, ειδικά με δυσλιπιδαιμία, δεν αναφέρονται.

Είναι σημαντικό στην μελέτη ενός παράγοντα να χρησιμοποιείται μία συγκεκριμένη σταθμισμένη μέθοδος μέτρησης και σύγκρισης, πράγμα που δεν συμβαίνει για τα ox-

LDL-Abs. Όπως διαπίστωσαν οι ερευνητές οι επίτοποι της ox-LDL είναι πολλοί και ο ανοσολογικός μηχανισμός που ενεργοποιούν ίσως διαφορετικός.

Συμπερασματικά,

Σχετικά με **τα επίπεδα της sdLDL-C**

- Τα επίπεδα της sdLDL-C στα παιδιά με LDL-C ≥ 130 mg/dl ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σύγκριση με αυτά με LDL-C < 130 .
- Στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία τα επίπεδα της sdLDL-C είχαν ισχυρή συσχέτιση με τον τρόπο αντιμετώπισης των παιδιών ($p = 0,033$).
- Η κατανάλωση των φυτικών στερολών οδήγησε μετά από 6 - 12 μήνες σε σημαντική μείωση των επιπέδων της sdLDL-C, ανάλογη με την μείωση των επιπέδων της LDL-C.
- Τα παιδιά που ήταν σε φαρμακευτική αγωγή παρουσίαζαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα sdLDL-C από τα παιδιά που δεν είχαν υπερλιπιδαιμία.
- Τα επίπεδα της sdLDL-C δεν είχαν καμία συσχέτιση με το φύλο, την ηλικία και τον ΔΜΣ ($p > 0,05$).

Ακόμη, **τα επίπεδα της ουροτενσίνης II**

- Ήταν σημαντικά χαμηλότερα στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία, σε σύγκριση με τα παιδιά με LDL-C < 130 mg/dl.
- Τα κορίτσια είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα από τα αγόρια, ενώ η ηλικία δεν είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στα επίπεδά της.
- Τα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα από τα παιδιά με φυσιολογικό ΔΜΣ.
- Η επίδραση της LDL-C, TC, non-HDL-C, των TGs και της apoB στο λογάριθμο της U-II ($\log U-II$) ήταν αρνητική και στατιστικά λίαν σημαντική και ανεξάρτητη από το φύλο, την ηλικία και το ΔΜΣ, ενώ αντίθετα θετική, ισχυρή συσχέτιση φάνηκε με τα επίπεδα της HDL-C και της apoA-I.

Τέλος, **στα επίπεδα των ολικών ox-LDL-Abs**

- Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των παιδιών με LDL-C ≥ 130 mg/dl και των μαρτύρων.

Περιορισμοί της μελέτης

Ένας περιορισμός της μελέτης είναι ότι δεν κατέστη δυνατός ο προσδιορισμός όλων των παραγόντων συγχρόνως στα ίδια παιδιά και υπό τις ίδιες συνθήκες. Αυτό οφείλεται κυρίως στη δυσκολία ανεύρεσης οικονομικών πόρων για την αγορά αντιδραστηρίων. Έτσι, μερικές από τις παραμέτρους όπως η sdLDL-c προσδιορίστηκαν σε δείγματα που συγκεντρώθηκαν μεταγενέστερα. Επίσης, δεν

κατέστη δυνατόν να προσδιοριστούν ξεχωριστά τα IgG και IgM αντισώματα έναντι της oxLDL-C. Τέλος, ο αριθμός των παιδιών που τέθηκαν σε φαρμακευτική αγωγή είναι μικρός, ώστε να εκτιμηθεί η επίδραση της υπολιπιδαιμικής αγωγής στους παράγοντες που μελετήθηκαν.

Ε. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Τα επίπεδα της sdLDL-C είναι ένας σημαντικός δείκτης, εύκολος στη χρήση, που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση κινδύνου αθηρωμάτωσης και πρώιμης KAN και την ανταπόκριση στη φαρμακευτική αγωγή
2. Τα επίπεδα της U-II προς το παρόν δε φαίνεται να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης
3. Τα επίπεδα των ολικών ox-LDL-Abs δεν μπορούν να χρησιμεύσουν σαν δείκτης εκτίμησης του κινδύνου αθηρωμάτωσης και μελλοντικής καρδιαγγειακής νόσου. Οι τίτλοι των IgM και IgG, ξεχωριστά, ίσως είναι χρήσιμοι.

ΣΤ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η αθηρωματική νόσος, γνωστή για τη μεγάλη νοσηρότητα και θνησιμότητά της, αποτελεί μία χρόνια εξελικτική φλεγμονώδη διεργασία, η οποία ξεκινά ενωρίς, από την παιδική ήδη ηλικία. Η δυσλιπιδαιμία είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου πρώιμης αθηρωματικής και καρδιαγγειακής νόσου και η αντιμετώπισή της ενδεχόμενα να συμβάλλει στον έλεγχο της επίπτωσης της αθηρωμάτωσης, ειδικά στα παιδιά με πρωτοπαθή διαταραχή των λιπιδίων. Ωστόσο, οι κλασικοί παράγοντες κινδύνου, όπως είναι οι διαταραχές των λιπιδίων, και η αντιμετώπισή τους, αποδεικνύεται ότι δεν επαρκούν για τη μείωση της επίπτωσης της νόσου. Πρόσθετοι παράγοντες φαίνεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη των αθηρωματικών βλαβών και η μελέτη τους πιθανά να βοηθήσει στην διάκριση των δυσλιπιδαιμικών παιδιών που βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο για πρώιμη αθηρωμάτωση.

Σκοπός: Η διερεύνηση της συμβολής των επιπέδων των μικρών και πυκνών μορίων της LDL-C (sdLDL-C), της ουροτενσίνης II (U-II) και των ολικών αντισωμάτων (IgM και IgG) έναντι των οξειδωμένων μορίων της LDL-C (ox-LDL-Abs) στην εκτίμηση α) του κινδύνου που ανατρέχουν τα παιδιά με δυσλιπιδαιμία να αναπτύξουν πρώιμη αθηρωματική νόσο και β) της απάντησης στα διάφορα θεραπευτικά μέτρα

Μεθοδολογία: Η μελέτη είναι προοπτική και περιέλαβε 648 παιδιά και εφήβους, (325 αγόρια), ηλικίας 4 έως 18 χρόνων. Τα 316 παιδιά είχαν επίπεδα LDL-C ≥ 130 mg/dl και τα υπόλοιπα LDL-C < 130 mg/dl (ομάδα μαρτύρων). Τα λιπίδια, οι λιποπρωτεΐνες, οι απολιποπρωτεΐνες και τα ox-LDL-Abs προσδιορίστηκαν στον ορό μετά από νηστεία (10-12 ωρών), ενώ η sdLDL-C και η U-II προσδιορίστηκαν στο πλάσμα. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 17.0 (SPSS Inc, Chicago, IL). Παραμετρικές και μη παραμετρικές μέθοδοι χρησιμοποιήθηκαν ανάλογα με τις μεταβλητές παρατήρησης και τον αριθμό παρατηρήσεων. $P < 0,05$ θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό.

Αποτελέσματα: Τα επίπεδα της sdLDL-C στο σύνολο των παιδιών με LDL-C ≥ 130 mg/dl ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σύγκριση με αυτά των παιδιών με LDL-C < 130 mg/dl ($p < 0,001$) και διέφεραν σημαντικά ανάλογα με τον τρόπο αντιμετώπισης των

παιδιών ($p = 0,033$). Η κατανάλωση των φυτικών στερολών οδήγησε σε σημαντική μείωση των επιπέδων της sdLDL-C, ανάλογη με την μείωση των επιπέδων της LDL-C. Τα παιδιά που ήταν σε φαρμακευτική αγωγή παρουσίαζαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα sdLDL-C από τους μάρτυρες. Τα επίπεδα της sdLDL-C δεν είχαν καμία συσχέτιση με το φύλο, την ηλικία και τον ΔΜΣ ($p > 0,05$). Ακόμη, τα επίπεδα της ουροτενσίνης II ήταν σημαντικά χαμηλότερα στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία, σε σύγκριση με τα παιδιά με LDL-C < 130 mg/dl. Τα κορίτσια είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα από τα αγόρια, ενώ η ηλικία δεν είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στα επίπεδα της U-II. Τα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα από τα παιδιά με φυσιολογικό ΔΜΣ. Τέλος, η επίδραση της LDL-C, TC, non-HDL-C, των TGs και της apoB στο λογάριθμο της U-II ($\log U-II$) ήταν αρνητική και στατιστικά λίαν σημαντική και ανεξάρτητη από το φύλο, την ηλικία και το ΔΜΣ, ενώ αντίθετα θετική, ισχυρή συσχέτιση φάνηκε με τα επίπεδα της HDL-C και της apoA-I. Αναφορικά με τα επίπεδα των ολικών ox-LDL-Abs δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των παιδιών με LDL-C ≥ 130 mg/dl και των μαρτύρων. Τα κορίτσια είχαν υψηλότερα επίπεδα σε σύγκριση με τα αγόρια.

Συμπεράσματα: Από τη μελέτη των τριών αυτών δεικτών αθηρωμάτωσης στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία α) ο προσδιορισμός των επιπέδων της sdLDL-C θα μπορούσε να είναι ιδιαίτερα χρήσιμος τόσο στην εκτίμηση του κινδύνου όσο και στην εκτίμηση της απάντησης στις διάφορες θεραπευτικές παρεμβάσεις. β) Για την εκτίμηση της αξίας της U-II περισσότερες μελέτες είναι απαραίτητες και με μεγαλύτερο αριθμό παιδιών. γ) Ο προσδιορισμός των ολικών (IgM και IgG) ox-LDL-Abs δεν προσφέρει καμία χρήσιμη πληροφορία. Ίσως ο προσδιορισμός των IgM ή IgG αντισωμάτων χωριστά, να είναι χρήσιμος.

SUMMARY

Background: Atheromatosis, beginning early in childhood, is a progressive inflammatory disease with severe universal mortality and morbidity. Dyslipidemia has been identified as one of the main risk factors of early atheromatosis and cardiovascular disease. Nevertheless the treatment of dyslipidemia alone has proven insufficient enough in the reduction of early cardiovascular events. Additional markers of atheromatosis seem to play significant role in disease progression and a better knowledge of their function may help distinguish children with hyperlipidemia, especially primary, in high risk for early atheromatosis and in need for primary prevention.

Aim: To evaluate the importance of levels of small and dense LDL particles (sdLDL-C), urotensin II (U-II) and total (IgM και IgG) antibodies against oxidized LDL-C (ox-LDL-Abs) in the assessment of a) the risk that children with dyslipidemia have for early atheromatosis and b) their response to different therapeutic measures.

Methods: Six hundred and 48 children, (325 males), 4-18 years old were included in this prospective study. Three hundred and 16 children had levels of LDL-C $\geq$ 130 mg/dl and the rest had LDL-C < 130 mg/dl (controls). Lipids, lipoproteins, apolipoproteins and ox-LDL-Abs were measured in serum, after 10-12 hours overnight fasting. Levels of sdLDL-C and U-II were measured in plasma. Statistical analysis was performed using SPSS 17.0 (SPSS Inc, Chicago, IL). Parametric and non-parametric methods were used to compare differences of the numerical variables. $P < 0,05$ was considered as statistically significant.

Results: Children with LDL-C $\geq$ 130 mg/dl had statistically significant higher concentrations of sdLDL-C compared with controls ($p < 0,001$). Levels of sdLDL-C were significantly different depending on the treatment of children ($p = 0,033$). The consumption of plant sterols resulted in a significant decrease of sdLDL-C levels, in accordance to the reduction of LDL-C levels. Children under hypolipidaimic medication had statistically significant higher levels of sdLDL-C compared with controls. There was no correlation between levels of sdLDL-C and sex, age and BMI ($p > 0,05$). Furthermore, children with hyperlipidemia had statistically significant lower levels of U-II compared

with children with LDL-C < 130 mg/dl. Girls had statistically significant lower levels compared with boys, but age had no significant effect on U-II levels. Overweight/obese children had statistically significant lower levels compared with children of normal BMI. LDL-C, TC, non-HDL-C, TGs and apoB had a statistically significant negative effect on the logarithm of U-II (log U-II), independent of sex, age and BMI. In contrast, HDL-C and apoA-I had a statistically significant positive effect on the logarithm of U-II (log U-II). Finally, children with hyperlipidemia and controls had no statistically significant differences on levels of total ox-LDL-Abs, but girls had statistically significant higher levels compared with boys.

Conclusions: a) Levels of sdLDL-C could be a useful tool for the assessment of risk of children with dyslipidemia for early atheromatous disease and the assessment of their response to different therapeutic measures. b) More studies with larger number of children are needed for the assessment of value of U-II. c) Measurement of total (IgM και IgG) ox-LDL-Abs do not offer any useful information. Perhaps, measurement of IgM or IgG apart, proves useful.

Keywords: Atheromatosis, Dyslipidemia, sdLDL-C, U-II, ox-LDL-Abs, Phytosterols

H. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Keys A, Aravanis C, Blackburn H et al. **Probability of middle-aged men developing coronary heart disease in five years.** Circulation 1972;45(4):815-828.
2. Sinzinger H, Feigl W, Dadak C et al. **Intimal alterations of the aorta and the great arteries of newborn and children.** Pathol Microbiol (Basel) 1975;43(2-O):129-133.
3. Prospective Studies Collaboration, Lewington S, Whitlock G et al. **Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths** Lancet. 2007 Dec 1;370(9602):1829-1839.
4. Mabuchi H, Koizumi J, Shimizu M et al. **Development of coronary heart disease in familial hypercholesterolemia.** Circulation 1989;79:225-232.
5. Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents; National Heart, Lung, and Blood Institute. **Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report.** Pediatrics 2011;128;S213.
6. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE et al. **Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity.** N Engl J Med 1989; 320: 915-924.
7. Pignoli P, Tremoli E, Poli A et al. **Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging.** Circulation 1986;74(6): 1399-1406.
8. Stary HC, Chandler AB, Glagov S et al. **A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association.** Circulation 1994;89(5):2462-2478.
9. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE et al. **A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association.** Circulation 1995;92(5):1355-1374.
10. Ross R. **Atherosclerosis-- an inflammatory disease.** N Engl J Med 1999;340(2):115-126.
11. McGill HC Jr. **The lesion.** In: Atherosclerosis III (Proceedings of the Third International Symposium). (Ed. by Schettler, G. & Weizel A.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and New York. 1974.
12. Smith EB. **The relationship between plasma and tissue lipids in human atherosclerosis.** Adv Lipid Res 1974;12(0):1-49.
13. Woolf N. **The origins of atherosclerosis.** Postgrad Med J 1978;54(629):156-162.
14. Field H, Swell L, Schools PE et al. **Dynamic aspects of cholesterol metabolism in different areas of the aorta and other tissues in man and their relation to atherosclerosis.** Circulation 1960;22:547-558.
15. Stein Y, Stein O. **Lipid synthesis and degradation and lipoprotein transport in mammalian aorta. Atherogenesis: Initiating Factors.** In CIB Foundation

- Symposium 12. (Ed. by Porter, R. & Knight, J.) Elsevier Excerpta Medica. North-Holland Associated Scientific Publishers, Amsterdam, London and New York.1973.
16. Woolf N, Bradley JW, Crawford T et al. **Experimental mural thrombi in the pig aorta. The early natural history.** Br J Exp Pathol 1968;49(3):257-264.
 17. Strong JP, McGill HC Jr. **The pediatric aspects of atherosclerosis.** J Atheroscler Res 1969;9(3):251-265.
 18. Sprecher DL, Schaefer EJ, Kent KM et al. **Cardiovascular features of homozygous familial hypercholesterolemia: analysis of 16 patients.** Am J Cardiol 1984;54(1):20-30.
 19. Slack J. **Risks of ischaemic heart-disease in familial hyperlipoproteinaemic states.** Lancet 1969; 2:1380–1382.
 20. Friedlander Y, Siscovick DS, Weinmann S et al. **Family history as a risk factor for primary cardiac arrest.** Circulation 1998;97(2):155-60.
 21. Hennekens CH. **Increasing burden of cardiovascular disease: current knowledge and future directions for research on risk factors.** Circulation 1998;97(11):1095-1102.
 22. Khot UN, Khot MB, Bajzer CT et al. **Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease.** JAMA 2003;290(7):898-904.
 23. Berenson GS, Srinivasan SR; Bogalusa Heart Study Group. **Cardiovascular risk factors in youth with implications for aging: the Bogalusa Heart Study.** Neurobiol Aging 2005;26(3):303-307.
 24. Strong JP, Malcom GT, McMahan CA et al. **Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults: implications for prevention from the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth Study.** JAMA 1999; 281(8) :727-735.
 25. Futterman LG, Lemberg L. **Fifty percent of patients with coronary artery disease do not have any of the conventional risk factors.** Am J Crit Care 1998;7(3):240-244.
 26. Worth RM, Kato H, Rhoads GG et al. **Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California: mortality.** Am J Epidemiol 1975;102(6):481-490.
 27. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W et al. **Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study.** N Engl J Med 1998;338(23):1650-1656.
 28. <http://www.mayoclinic.com/health/arteriosclerosis/DS00525/SECTION=complications>.
 29. Stary HC, Blankenhorn DH, Chandler AB et al. **A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association.** Circulation 1992;85(1):391-405.
 30. Amato M, Montorsi P, Ravani A et al. **Carotid intima-media thickness by B-mode ultrasound as surrogate of coronary atherosclerosis: correlation with quantitative coronary angiography and coronary intravascular ultrasound findings.** Eur Heart J 2007;28(17):2094-2101.

31. Robson J, Boomla K, Hart B et al. **Estimating cardiovascular risk for primary prevention: outstanding questions for primary care.** BMJ 2000;320(7236):702-704.
32. Coll B, Feinstein SB. **Carotid intima-media thickness measurements: techniques and clinical relevance.** Curr Atheroscler Rep 2008;10(5):444-450.
33. Nambi V, Pedroza C, Kao LS. **Carotid intima-media thickness and cardiovascular events.** Lancet 2012;379(9831):2028-2030.
34. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT et al. **Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine.** J Am Soc Echocardiogr 2008;21(2):93-111.
35. Jarvisalo MJ, Jartti L, Nanto-Salonen K et al. **Increased aortic intima-media thickness: a marker of preclinical atherosclerosis in high-risk children.** Circulation 2001;104(24):2943-2947.
36. Wiegman A, de GE, Hutten BA et al. **Arterial intima-media thickness in children heterozygous for familial hypercholesterolaemia.** Lancet 2004;363(9406):369-370.
37. Wiegman A, Hutten BA, de GE et al. **Efficacy and safety of statin therapy in children with familial hypercholesterolemia: a randomized controlled trial.** JAMA 2004; 292(3):331-337.
38. Aggoun Y, Beghetti M. **Noninvasive assessment of arterial function in children: clinical applications.** Images Paediatr Cardiol 2002;4(4):12-18.
39. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM et al. **Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis.** Lancet 1992;340(8828): 1111-1115.
40. de Jongh S, Lilien MR, op't Roodt J et al. **Early statin therapy restores endothelial function in children with familial hypercholesterolemia.** J Am Coll Cardiol 2002; 40(12):2117-2121.
41. Ferreira WP, Bertolami MC, Santos SN et al. **One-month therapy with simvastatin restores endothelial function in hypercholesterolemic children and adolescents.** Pediatr Cardiol 2007;28(1):8-13.
42. <http://www.datasci.com/solutions/cardiovascular/pulse-wave-velocity>.
43. Urbina EM, Srinivasan SR, Tang R et al. **Impact of multiple coronary risk factors on the intima-media thickness of different segments of carotid artery in healthy young adults (The Bogalusa Heart Study).** Am J Cardiol 2002;90(9):953-958.
44. Davis PH, Dawson JD, Riley WA et al. **Carotid intimal-medial thickness is related to cardiovascular risk factors measured from childhood through middle age: The Muscatine Study.** Circulation 2001;104(23):2815-2819.
45. Morrison KM, Dyal L, Conner W et al. **Cardiovascular risk factors and non-invasive assessment of subclinical atherosclerosis in youth.** Atherosclerosis 2010;208(2): 501-505.
46. Jarvisalo MJ, Raitakari M, Toikka JO et al. **Endothelial dysfunction and increased arterial intima-media thickness in children with type 1 diabetes.** Circulation 2004 ;109(14):1750-1755.

47. Meyer AA, Kundt G, Steiner M et al. **Impaired flow-mediated vasodilation, carotid artery intima-media thickening, and elevated endothelial plasma markers in obese children: the impact of cardiovascular risk factors.** Pediatrics 2006;117(5):1560-1567.
48. Vural B, Caliskan E, Turkoz E et al. **Evaluation of metabolic syndrome frequency and premature carotid atherosclerosis in young women with polycystic ovary syndrome.** Hum Reprod 2005;20(9):2409-2413.
49. Davis PH, Dawson JD, Mahoney LT et al. **Increased carotid intimal-medial thickness and coronary calcification are related in young and middle-aged adults. The Muscatine study.** Circulation 1999;100(8):838-842.
50. Γαρούφη Α., - **Δυσλιπιδαιμίες σε παιδιά και εφήβους, Παιδιατρική (τόμος III),** Ματσανιώτης Ν., Καρπάθιος Θ., Εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα 1999.
51. Γαρούφη Α., Κουκουτσάκης Π. **Κατευθυντήριες οδηγίες για τη διάγνωση και αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας σε παιδιά και εφήβους.** Παιδιατρική, 73 (4); Εκδόσεις Γριβέα, Αθήνα 2010.
52. **Krauss RM, Burke DJ.** Identification of multiple subclasses of plasma low density lipoproteins in normal humans. **J Lipid Res 1982;23(1):97-104.**
53. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. **Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge.** Clin Chem 1972;18(6):499-502.
54. Rainwater DL, McMahan CA, Malcom GT et al. **Lipid and apolipoprotein predictors of atherosclerosis in youth: apolipoprotein concentrations do not materially improve prediction of arterial lesions in PDAY subjects. The PDAY Research Group.** Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999;19(3):753-761.
55. Ruminska M, Czerwonogrodzka A, Pyrzak B et al. **Evaluation of usefulness of non-HDL-C in children and adolescents with abdominal obesity.** Ped Pol 2010;85(1):35-40.
56. Lee J, Leeson PC. **Lipoproteins and the endothelium: past, present and future.** Hellenic J Cardiol 2006;47(3):158-159.
57. Manios Y, Magkos F, Christakis G et al. **Changing relationships of obesity and dyslipidemia in Greek children: 1982-2002.** Prev Med 2005;41(5-6):846-851.
58. Lichtenstein AH, Deckelbaum RJ. AHA Science Advisory. **Stanol/sterol ester-containing foods and blood cholesterol levels. A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism of the American Heart Association.** Circulation 2001;103(8):1177-1179.
59. Thompson GR, Grundy SM. **History and development of plant sterol and stanol esters for cholesterol-lowering purposes.** Am J Cardiol 2005;96(1A):3D-9D.
60. Nissinen M, Gylling H, Vuoristo M et al. **Micellar distribution of cholesterol and phytosterols after duodenal plant stanol ester infusion.** Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2002;282(6):G1009-G1015.
61. Devaraj S, Jialal I. **The role of dietary supplementation with plant sterols and stanols in the prevention of cardiovascular disease.** Nutr Rev 2006;64:348-354.
62. O'Neill FH, Sanders TA, Thompson GR. **Comparison of efficacy of plant stanol ester and sterol ester: short-term and longer-term studies.** Am J Cardiol 2005; 96(1A): 29D-36D.

63. Malinowski JM, Gehret MM. **Phytosterols for dyslipidemia.** Am J Health Syst Pharm 2010;67(14):1165-1173.
64. Salazar Vázquez MA, Salazar Vázquez BY, Intaglietta MP. **Non obese, exercising children diagnosed with dyslipidemia have normal C-reactive protein.** Vasc Health Risk Manag 2009;5: 65–72.
65. Keller Ch, Keller P, Marshal S, Pedersen BK. **IL-6 Gene Expression in Human Adipose Tissue in Response to Exercise – Effect of Carbohydrate Ingestion.** J Physiol 2003; 550(Pt 3):927–931.
66. Ross R, Harker L. **Hyperlipidemia and atherosclerosis.** Science 1976;193(4258):1094-1100.
67. Bjornheden T, Babyi A, Bondjers G et al. **Accumulation of lipoprotein fractions and subfractions in the arterial wall, determined in an in vitro perfusion system.** Atherosclerosis 1996;123(1-2):43-56.
68. Campos H, Arnold KS, Balestra ME et al. **Differences in receptor binding of LDL subfractions.** Arterioscler Thromb Vasc Biol 1996;16(6):794-801.
69. Anber V, Millar JS, McConnell M et al. **Interaction of very-low-density, intermediate-density, and low-density lipoproteins with human arterial wall proteoglycans.** Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997;17(11):2507-2514.
70. Tribble DL, Holl LG, Wood PD et al. **Variations in oxidative susceptibility among six low density lipoprotein subfractions of differing density and particle size.** Atherosclerosis 1992;93(3):189-199.
71. Younis N, Charlton-Menys V, Sharma R et al. **Glycation of LDL in non-diabetic people: small dense LDL is preferentially glycated both in vivo and in vitro.** Atherosclerosis 2009;202:162-168.
72. Soran H, Durrington PN. **Susceptibility of LDL and its subfractions to glycation.** Curr Opin Lipidol 2011;22:254-261.
73. Tsimikas S, Miller YI. **Oxidative modification of lipoproteins: mechanisms, role in inflammation and potential clinical applications in cardiovascular disease.** Curr Pharm Des 2011;17:27-37.
74. Austin MA, King MC, Vranizan KM et al. **Inheritance of low-density lipoprotein subclass patterns: results of complex segregation analysis.** Am J Hum Genet 1988;43(6):838-846.
75. Austin MA, King MC, Vranizan KM et al. **Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk.** Circulation 1990; 82(2): 495-506.
76. McNamara JR, Jenner JL, Li Z, Wilson PW et al. **Change in LDL particle size is associated with change in plasma triglyceride concentration.** Arterioscler Thromb 1992;12(11):1284-1290.
77. Arisaka O, Fujiwara S, Yabuta K et al. **Characterization of low-density lipoprotein subclasses in children.** Metabolism 1997;46(2):146-148.
78. Steinbeck KS, Birmingham MA, Mahajan D et al. **Low-density lipoprotein subclasses in children under 10 years of age.** J Paediatr Child Health 2001;37(6):550-553.
79. Shimabukuro T, Sunagawa M, Ohta T. **Low-density lipoprotein particle size and its regulatory factors in school children.** J Clin Endocrinol Metab 2004;89(6):2923-2927.

80. Arisaka O, Kojima M, Yamazaki Y et al. **Relationship between the presence of small, dense low-density lipoprotein and plasma lipid phenotypes in Japanese children.** J Atheroscler Thromb 2004;11(4):220-223.
81. Freedman DS, Bowman BA, Otvos JD et al. **Levels and correlates of LDL and VLDL particle sizes among children: the Bogalusa heart study.** Atherosclerosis 2000; 152(2):441-449.
82. Stan S, Levy E, Delvin EE et al. **Distribution of LDL particle size in a population-based sample of children and adolescents and relationship with other cardiovascular risk factors.** Clin Chem 2005;51(7):1192-1200.
83. Kaitosaari T, Ronnema T, Viikari J et al. **Low-density lipoprotein (LDL) particle size in healthy prepubertal children: the STRIP study.** Acta Paediatr 2006;95(12):1668-1673.
84. Ohta T, Nishiyama S, Nakamura T et al. **Predominance of large low density lipoprotein particles and lower fractional esterification rate of cholesterol in high density lipoprotein in children with insulin-dependent diabetes mellitus.** Eur J Pediatr 1998;157(4):276-281.
85. Owens S, Gutin B, Ferguson M et al. **Visceral adipose tissue and cardiovascular risk factors in obese children.** J Pediatr 1998;133(1):41-45.
86. Miyashita M, Okada T, Kuromori Y et al. **LDL particle size, fat distribution and insulin resistance in obese children.** Eur J Clin Nutr 2006;60(3):416-420.
87. Cali AM, Zern TL, Taksali SE et al. **Intrahepatic fat accumulation and alterations in lipoprotein composition in obese adolescents: a perfect proatherogenic state.** Diabetes Care 2007;30(12):3093-3098.
88. Hobkirk JP, King RF, Davies I et al. **The metabolic inter-relationships between changes in waist circumference, triglycerides, insulin sensitivity and small, dense low-density lipoprotein particles with acute weight loss in clinically obese children and adolescents.** Pediatr Obes 2014;9(3):209-217.
89. Decary S, Dumont G, Lamarche B et al. **Assessment of the validity of the frequently used lipid indices for predicting LDL peak particle diameter in a large cohort of 1955 normal and dyslipidemic subjects.** Clin Biochem 2010;43(4-5):401-406.
90. Zeljkovic A, Vekic J, Spasojevic-Kalimanovska V et al. **Characteristics of low-density and high-density lipoprotein subclasses in pediatric renal transplant recipients.** Transpl Int 2011;24(11):1094-1102.
91. McNamara JR, Campos H, Ordovas JM, et al. **Effect of gender, age, and lipid status on low density lipoprotein subfraction distribution. Results from the Framingham Offspring Study.** Arteriosclerosis 1987;7(5):483-490.
92. Berneis KK, Krauss RM. **Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity.** J Lipid Res 2002;43:1363-1379.
93. Campos H, Blijlevens E, McNamara JR et al. **LDL particle size distribution. Results from the Framingham Offspring Study.** Arterioscler Thromb 1992;12(12):1410-1419.
94. Rizzo M, Berneis K. **Low-density lipoprotein size and cardiovascular risk assessment.** QJM 2006;99:1-14.
95. Rizzo M, Barbagallo CM, Severino M et al. **Low-density-lipoprotein peak particle size in a Mediterranean population.** Eur J Clin Invest 2003;33(2):126-133.

96. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH et al. **Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction.** JAMA 1988;260(13):1917-1921.
97. Campos H, Genest JJ Jr, Blijlevens E et al. **Low density lipoprotein particle size and coronary artery disease.** Arterioscler Thromb 1992;12(2):187-195.
98. Kwiterovich PO Jr, Coresh J, Bachorik PS. **Prevalence of hyperapobetalipoproteinemia and other lipoprotein phenotypes in men (aged < or = 50 years) and women (< or = 60 years) with coronary artery disease.** Am J Cardiol 1993;71(8):631-639.
99. Nikolic D, Katsiki N, Montalto G et al. **Lipoprotein subfractions in metabolic syndrome and obesity: clinical significance and therapeutic approaches.** Nutrients 2013;18;5(3):928-948.
100. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. **National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III).** Circulation 2002;106:3143-3421.
101. Shoji T, Hatsuda S, Tsuchikura S et al. **Small dense low-density lipoprotein cholesterol concentration and carotid atherosclerosis.** Atherosclerosis 2009;202(2):582-588.
102. Dreon DM, Fernstrom HA, Williams PT et al. **Reduced LDL particle size in children consuming a very-low-fat diet is related to parental LDL-subclass patterns.** Am J Clin Nutr 2000;71(6):1611-1616.
103. Dreon DM, Fernstrom HA, Miller B et al. **Low-density lipoprotein subclass patterns and lipoprotein response to a reduced-fat diet in men.** FASEB J 1994;8(1):121-126.
104. Dreon DM, Fernstrom HA, Williams PT et al. **LDL subclass patterns and lipoprotein response to a low-fat, high-carbohydrate diet in women.** Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997;17(4):707-714.
105. Sialvera TE, Pounis GD, Koutelidakis AE et al. **Phytosterols supplementation decreases plasma small and dense LDL levels in metabolic syndrome patients on a westernized type diet .** Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2012 Oct;22(10):843-848.
106. Rizzo M, Berneis K. **The clinical relevance of low-density-lipoproteins size modulation by statins.** Cardiovasc Drugs Ther 2006;20(3):205-217.
107. Packard C, Caslake M, Shepherd J. **The role of small, dense low density lipoprotein (LDL): a new look.** Int J Cardiol 2000;74(Suppl. 1):S17-22.
108. Afilalo J, Majdan AA, Eisenberg MJ. **Intensive statin therapy in acute coronary syndromes and stable coronary heart disease: a comparative meta-analysis of randomised controlled trials.** Heart 2007;93:914-921.
109. Caslake MJ, Stewart G, Day SP et al. **Phenotype-dependent and -independent actions of rosuvastatin on atherogenic lipoprotein subfractions in hyperlipidaemia.** Atherosclerosis 2003;171(2):245-253.
110. Rizzo M, Rini GB, Spinaz GA, Berneis K. **The effects of ezetimibe on LDL-cholesterol: quantitative or qualitative changes?** Atherosclerosis 2009;204(2):330-333.

111. Hirayama S, Miida T. **Small dense LDL: An emerging risk factor for cardiovascular disease.** Clin Chim Acta. 2012 Dec 24;414:215-224.
112. Kastelein JJ, Akdim F, Stroes ES et al. **Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia.** N Engl J Med 2008;358(14):1431-1443.
113. Bays H, Conard S, Leiter LA et al. **Are post-treatment low-density lipoprotein subclass pattern analyses potentially misleading?** Lipids Health Dis 2010;9:136.
114. Tribble DL, Farnier M, Macdonell G et al. **Effects of fenofibrate and ezetimibe, both as monotherapy and in coadministration, on cholesterol mass within lipoprotein subfractions and low-density lipoprotein peak particle size in patients with mixed hyperlipidemia.** Metabolism 2008;57(6):796-801.
115. Berneis K, Rizzo M, Berthold HK et al. **Ezetimibe alone or in combination with simvastatin increases small dense low-density lipoproteins in healthy men: a randomized trial.** Eur Heart J 2010;31(13):1633-1639.
116. Nichols AV, Krauss RM, Musliner TA. **Nondenaturing polyacrylamide gradient gel electrophoresis.** Methods Enzymol 1986;128:417-431.
117. Otvos JD, Jeyarajah EJ, Bennett DW. **Quantification of plasma lipoproteins by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy.** Clin Chem 1991;37(3):377-386.
118. Chung BH, Segrest JP, Ray MJ et al. **Single vertical spin density gradient ultracentrifugation.** Methods Enzymol 1986;128:181-209.
119. Hirano T, Ito Y, Saegusa H et al. **A novel and simple method for quantification of small, dense LDL.** J Lipid Res 2003;44(11):2193-2201.
120. Ensign W, Hill N, Heward CB. **Disparate LDL phenotypic classification among 4 different methods assessing LDL particle characteristics.** Clin Chem 2006; 52(9): 1722-1727.
121. Ogita K, Ai M, Tanaka A et al. **Circadian rhythm of serum concentration of small dense low-density lipoprotein cholesterol.** Clin Chim Acta 2007;376(1-2):96-100.
122. Berlind A. **Teleost caudal neurosecretory system: release of urotensin II from isolated urophyses.** Gen Comp Endocrinol 1972;18(3):557-560.
123. Thanassoulis G, Huyhn T and Giaid A. **Urotensine II and cardiovascular diseases.** Peptides 2004;25:1789-1794.
124. Coulouarn Y, Jegou S, Tostivint H et al. **Cloning, sequence analysis and tissue distribution of the mouse and rat urotensin II precursors.** FEBS Lett 1999;457(1):28-32.
125. Conlon JM, O'Harte F, Smith DD et al. **Isolation and primary structure of urotensin II from the brain of a tetrapod, the frog Rana ridibunda.** Biochem Biophys Res Commun 1992;188(2):578-583.
126. Yamada C, Owada K, Ichikawa T et al. **Immunohistochemical localization of urotensins I and II in the caudal neurosecretory neurons of the carp Cyprinus carpio and the sharks Heterodontus japonicus and Cephaloscyllium umbratile.** Arch Histol Jpn 1986;49(1):39-44.
127. Bern HA, Pearson D, Larson BA et al. **Neurohormones from fish tails: The caudal neurosecretor system. I "Urophysiology" and the caudal necrosecretory system in fishes.** Recent Prog Horm Res 1985;41:533-552.

128. Coulouarn Y, Lihrmann I, Jegou S et al. **Cloning of the cDNA encoding the urotensine II precursor in frog and human reveals intense expression of the urotensine II gene in the motoneurons of the spinal cord.** *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:15803-15808.
129. Ong KL, Lam KS, Cheung BM. **Urotensin II: its function in health and its role in disease.** *Cardiovasc Drugs Ther* 2005;19(1):65-75.
130. Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. **Orphan-receptor ligand human urotensin II: receptor localization in human tissues and comparison of vasoconstrictor responses with endothelin-1.** *Br J Pharmacol* 2000;131(3):441-446.
131. Hillier C, Berry C, Petrie MC et al. **Effects of urotensin II in human arteries and veins of varying caliber.** *Circulation* 2001;103(10):1378-1381.
132. Yoshimoto T, Matsushita M, Hirata Y. **Role of urotensin II in peripheral tissue as an autocrine/paracrine growth factor.** *Peptides* 2004;25(10):1775-1781.
133. Camarda V, Rizzi A, Calo G et al. **Effects of human urotensin II in isolated vessels of various species; comparison with other vasoactive agents.** *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2002;365(2):141-149.
134. Li L, Yuan WJ, Su DF. **Effects of rat urotensin II on coronary flow and myocardial eNOS protein expression in isolated rat heart.** *Acta Pharmacol Sin* 2004;25(11): 1444-1449.
135. Zhang AY, Chen YF, Zhang DX et al. **Urotensin II is a nitric oxide-dependent vasodilator and natriuretic peptide in the rat kidney.** *Am J Physiol Renal Physiol* 2003;285(4):F792-F798.
136. Affolter JT, Newby DE, Wilkinson IB et al. **No effect on central or peripheral blood pressure of systemic urotensin II infusion in humans.** *Br J Clin Pharmacol* 2002; 54(6):617-621.
137. Wilkinson IB, Affolter JT, de Haas SL et al. **High plasma concentrations of human urotensin II do not alter local or systemic hemodynamics in man.** *Cardiovasc Res* 2002;53(2):341-347.
138. Bohm F, Pernow J. **Urotensin II evokes potent vasoconstriction in humans in vivo.** *Br J Pharmacol* 2002;135(1):25-27.
139. Russell FD, Molenaar P, O'Brien DM. **Cardiostimulant effects of urotensin-II in human heart in vitro.** *Br J Pharmacol* 2001;132(1):5-9.
140. Richards AM, Charles C. **Urotensin II in the cardiovascular system.** *Peptides* 2004;25(10):1795-1802.
141. Matsushita M, Shichiri M, Imai T et al. **Co-expression of urotensin II and its receptor (GPR14) in human cardiovascular and renal tissues.** *J Hypertens* 2001;19(12):2185-2190.
142. Zoccali C, Mallamaci F. **Urotensin II: a cardiovascular and renal update.** *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008;17(2):199-204.
143. Bicak U, Karabiber H, Ozerol HI et al. **Possible pathogenic link between migraine and urotensin-II.** *J Child Neurol* 2008;23(11):1249-1253.
144. Cheung BM, Leung R, Man YB et al. **Plasma concentration of urotensin II is raised in hypertension.** *J Hypertens* 2004;22(7):1341-1344.
145. Totsune K, Takahashi K, Arihara Z et al. **Role of urotensin II in patients on dialysis.** *Lancet* 2001;358(9284):810-811.
146. Ng LL, Loke I, O'Brien RJ et al. **Plasma urotensin in human systolic heart failure.** *Circulation* 2002;106(23):2877-2880.

147. Bousette N, Patel L, Douglas SA et al. **Increased expression of urotensin II and its cognate receptor GPR14 in atherosclerotic lesions of the human aorta.** *Atherosclerosis* 2004;176(1):117-123.
148. Hassan GS, Douglas SA, Ohlstein EH et al. **Expression of urotensin-II in human coronary atherosclerosis.** *Peptides* 2005;26(12):2464-2472.
149. Suguro T, Watanabe T, Ban Y et al. **Increased human urotensin II levels are correlated with carotid atherosclerosis in essential hypertension.** *Am J Hypertens* 2007;20(2):211-217.
150. Totsune K, Takahashi K, Arihara Z et al. **Increased plasma urotensin II levels in patients with diabetes mellitus.** *Clin Sci (Lond)* 2003;104(1):1-5.
151. Watanabe T, Kanome T, Miyazaki A et al. **Human urotensin II as a link between hypertension and coronary artery disease.** *Hypertens Res* 2006;29(6):375-387.
152. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D et al. **Prediction of coronary heart disease using risk factor categories.** *Circulation* 1998;97:1837-1847.
153. Behm DJ, Doe CP, Johns DG et al. **Urotensin-II: A novel systemic hypertensive factor in the cat.** *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2004;369:274-280.
154. Wang YX, Ding YJ, Zhu YZ et al. **Role of PKC in the novel synergistic action of urotensin II and angiotensin II and in urotensin II-induced vasoconstriction.** *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;292(1):H348-H359.
155. Ong KL, Wong LY, Cheung BM. **The role of urotensin II in the metabolic syndrome.** *Peptides* 2008;29(5):859-867.
156. Cheung BM, Leung R, Man YB et al. **Plasma concentrations of urotensin II is raised in hypertension.** *J Hypertens* 2004;22:1341-1344.
157. Liu GQ, Zeng ZP, Li HZ, et al. **Expression of urotensin II and G-protein coupled receptor 14 mRNA in human pheochromocytoma tissues.** *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2005;27:457-460.
158. Watanabe T, Pakala R, Katagiri T et al. **Synergistic effect of urotensin II with mildly oxidized LDL on DNA synthesis in vascular smooth muscle cells.** *Circulation* 2001; 104:16-18.
159. Paysant J, Rupin A, Simonet S et al. **Comparison of the contractile responses of the human coronary bypass grafts and monkey arteries to human urotensin-II.** *Fundam Clin Pharmacol* 2001;15:227-231.
160. Djordjevic T, Belaiba RS, Bonell S et al. **Human urotensin II is a novel activator of NADPH oxidase in human pulmonary artery smooth muscle cells.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:519-525.
161. Ross B, McKendry K, Giaid A. **Role of urotensin II in health and disease.** *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010;298:1156-1172.
162. Segain JP, Rolli-Derkinderen M, Gervois N et al. **Urotensin II is a new chemotactic factor for UT receptor-expressing monocytes.** *J Immunol* 2007;179(2):901-909.
163. Sheridan MA, Plisetskaya EM, Bern HA et al. **Effects of somatostatin-25 and urotensin II on lipid and carbohydrate metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*.** *Gen Comp Endocrinol* 1987;66(3):405-414.
164. Silvestre RA, Egido EM, Hernandez R et al. **Urotensin-II is present in pancreatic extracts and inhibits insulin release in the perfused rat pancreas.** *Eur J Endocrinol* 2004;151(6):803-809.

165. Silvestre RA, Rodriguez-Gallardo J, Egido EM et al. **Inhibition of insulin release by urotensin II--a study on the perfused rat pancreas.** Horm Metab Res 2001;33(6): 379-381.
166. Gruson D, Rousseau MF, Ahn SA et al. **Circulating urotensin II levels in moderate to severe congestive heart failure: its relations with myocardial function and well established neurohormonal markers.** Peptides 2006;27(6):1527-1531.
167. Tzanidis A, Hannan RD, Thomas WG et al. **Direct actions of urotensin II on the heart: implications for cardiac fibrosis and hypertrophy.** Circ Res 2003;93(3):246-253.
168. Kemp W, Roberts S, Krum H. **Increased circulating urotensin II in cirrhosis: potential implications in liver disease.** Peptides 2008;29(5):868-872.
169. Kemp W, Krum H, Colman J et al. **Urotensin II: a novel vasoactive mediator linked to chronic liver disease and portal hypertension.** Liver Int 2007;27(9):1232-1239.
170. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G et al. **Urotensin II is an inverse predictor of incident cardiovascular events in end-stage renal disease.** Kidney Int 2006;69(7): 1253-1258.
171. Pawar R, Kemp W, Roberts S et al. **Urotensin II levels are an important marker for the severity of portal hypertension in children.** J Pediatr Gastroenterol Nutr 2011; 53(1):88-92.
172. Balat A, Pakir IH, Gok F et al. **Urotensin-II levels in children with minimal change nephrotic syndrome.** Pediatr Nephrol 2005;20(1):42-45.
173. Balat A, Karakök M, Yilmaz K et al. **Urotensin-II immunoreactivity in children with chronic glomerulonephritis.** Ren Fail 2007;29(5):573-578.
174. Simpson CM, Penny DJ, Stocker CF et al. **Urotensin II is raised in children with congenital heart disease.** Heart Jul 2006;92(7): 983–984.
175. Leitinger N. **Oxidized phospholipids as modulators of inflammation in atherosclerosis.** Curr Opin Lipidol 2003;14(5):421-430.
176. Podrez EA, Poliakov E, Shen Z et al. **A novel family of atherogenic oxidized phospholipids promotes macrophage foam cell formation via the scavenger receptor CD36 and is enriched in atherosclerotic lesions.** J Biol Chem 2002; 277(41):38517-38523.
177. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE et al. **Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity.** N Engl J Med 1989;320(14): 915-924.
178. Tsimikas S, Witztum JL. **The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis.** In: Keane JF, ed. Oxidative stress and Vascular Disease. Boston, Mass: Kluwer Academic Publishers; 2000:49-74.
179. Berliner JA, Watson AD. **A role for oxidized phospholipids in atherosclerosis.** N Engl J Med 2005;353(1):9-11.
180. Avogaro P, Bon GB, Cazzolato G. **Presence of a modified low density lipoprotein in humans.** Arteriosclerosis 1988;8(1):79-87.
181. Hodis HN, Kramsch DM, Avogaro P et al. **Biochemical and cytotoxic characteristics of an in vivo circulating oxidized low density lipoprotein(LDL-).** J Lipid Res 1994; 35(4):669-677.

182. Holvoet P. **Oxidized LDL and coronary heart disease.** Acta Cardiol 2004;59(5):479-484.
183. Holvoet P, Jennyb NS, Schreiner PJ et al. **The relationship between oxidized LDL and other cardiovascular risk factors and subclinical CVD in different ethnic groups: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA).** Atherosclerosis 2007; 194:245–252.
184. Rodenburg J, Vissers MN, Wiegman A et al. **Oxidized Low-Density Lipoprotein in Children With Familial Hypercholesterolemia and Unaffected Siblings.** J Am Coll Cardiol 2006;47(9):1803-1810.
185. Yla-Herttuala S, Palinski W, Butler SW et al. **Rabbit and human atherosclerotic lesions contain IgG that recognizes epitopes of oxidized LDL.** Arterioscler Thromb 1994;14(1):32-40.
186. Virella G, Atchley D, Koskinen S et al. **Proatherogenic and proinflammatory properties of immune complexes prepared with purified human oxLDL antibodies and human oxLDL.** Clin Immunol 2002;105(1):81-92.
187. Wu R, Shoenfeld Y, Sherer Y et al. **Anti-idiotypes to oxidized LDL antibodies in intravenous immunoglobulin preparations--possible immunomodulation of atherosclerosis.** Autoimmunity 2003;36(2):91-97.
188. Mironova M, Virella G, Lopes-Virella MF. **Isolation and characterization of human antioxidized LDL autoantibodies.** Arterioscler Thromb Vasc Biol 1996;16(2):222-229.
189. Fukumoto M, Shoji T, Emoto M et al. **Antibodies against oxidized LDL and carotid artery intima-media thickness in a healthy population.** Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000;20(3):703-707.
190. Tinahones FJ, Gómez-Zumaquero JM, Garrido-Sánchez L et al. **Influence of age and sex on levels of anti-oxidized LDL antibodies and anti-LDL immune complexes in the general population.** J Lipid Res. 2005;46(3):452-457.
191. Wilson PW, Ben-Yehuda O, Mc Namara J et al. **Autoantibodies to oxidized LDL and cardiovascular risk: The Framingham Offspring Study.** Atherosclerosis 2006;189: 364–368.
192. Orekhov AN, Tertov W, Kabakov AE et al. **Autoantibodies against modified low density lipoprotein.** Arterioscler Thromb 1991; 11: 316.
193. Salonen JT, Ylä-Herttuala S, Yamamoto R et al. **Autoantibody against oxidised LDL and progression of carotid atherosclerosis.** Lancet 1992; 339:883.
194. Maggi E, Finardi G, Poli M et al. **Specificity of autoantibodies against oxidized LDL as an additional marker for atherosclerotic risk.** Coronary Artery Disease 1993; 4: 1119.
195. Craig WY, Poulin SE, Nelson CP et al. **Elisa of IgG antibody to oxidized Low Density Lipoprotein: effects of blocking buffer and method of data expression.** Clin Chem 1994;40: 882.
196. Hulthe J, Wikstrand J, Lidell A et al. **Antibody titers against oxidized LDL are not elevated in patients with familial hypercholesterolemia.** Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998;18:1203-1211.
197. Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H et al. **The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL.** Free Rad Biol Med 1992; 13:341.

198. Palinski W, Ylä-Herttuala S, Rosenfeld ME et al. **Antisera and monoclonal antibodies specific for epitopes generated during oxidative modification of low density lipoprotein.** *Arteriosclerosis* 1990; 10: 325.
199. Parums DV, Brown DL, Mitchinson MJ. **Serum antibodies to oxidized low density lipoprotein and ceroid in chronic periaortitis.** *Arch Pathol Lab Med* 1990; 114:383.
200. Palinski W, Rosenfeld ME, Ylä-Herttuala S et al. **Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo.** in: *Proc Natl Acad Sci* 86; 1989:1372.
201. Van De Vijver L, Steyger R, Van Poppel G et al. **Autoantibodies against MDA-LDL in subjects with severe and minor atherosclerosis and healthy population controls.** *Atherosclerosis* 1996; 122(2):245–253.
202. Steinerová A, Racek J, Stozický F et al. **Autoantibodies against oxidized LDL in the first phase of life. Low density lipoproteins.** *Clin Chem Lab Med* 1999;37(9):913-917.
203. Lughetti L, Volta C, Maggi E et al. **Circulating antibodies recognizing oxidatively modified low-density lipoprotein in children.** *Pediatr Res* 1999;45(1):94-99.
204. Cengiz N, Baskin E, Sezgin N et al. **Oxidative stress in children on hemodialysis: value of autoantibodies against oxidized low-density lipoprotein.** *Pediatr Nephrol* 2009;24:387-393.
205. Kara C, Cxetinkaya S, Sezgin N et al. **The effects of metabolic control on oxidized low-density lipoprotein antibodies in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus.** *Pediatric Diabetes* 2008;9:17-22.
206. Barros MR, Bertolami MC, Abdalla DS et al. **Identification of mildly oxidized low-density lipoprotein (electronegative LDL) and its auto-antibodies IgG in children and adolescents hypercholesterolemic offsprings.** *Atherosclerosis* 2006;184(1):103-107.
207. Barona J, Jonesa JJ, Kopecc ER et al. **A Mediterranean-style low-glycemic-load diet increases plasma carotenoids and decreases LDL oxidation in women with metabolic syndrome.** *J Nutr Bioch* 2012;23:609-615.
208. Miller III ER, Erlinger TP, Sacksb FM et al. **A dietary pattern that lowers oxidative stress increases antibodies to oxidized LDL: Results from a randomized controlled feeding study.** *Atherosclerosis* 2005;183:175-182.
209. Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. **Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey.** *BMJ* 2000;320(7244):1240- 1243.
210. Marshall WA, Tanner JM. **Variations in the Pattern of Pubertal Changes in Boys.** *Arch Dis Child* 1970;45:13–23.
211. http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501491_eng.pdf.
212. Marshall WA, Tanner JM. **Variations in pattern of pubertal changes in girls.** *Arch Dis Child* 1969;44:291–303.
213. Leibundgut G, Witztum JL, Tsimikas S. **Oxidation-specific epitopes and immunological responses: Translational biotheranostic implications for atherosclerosis.** *Curr Opin Pharmacol* 2013;13(2):168-79.

Θ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

Ι. Ιστορικό ασθενών

Πρωτόκολλο Μελέτης			
			ΑΑ: Ομάδα:
• Ονοματεπώνυμο ασθενούς: _____		Ημ.Γέννησης: ____/____/____ Ηλ.: ____	
• Ονομα πατέρα: _____			
• Ονομα μητέρας: _____		Τηλ: _____ Κιν: _____	
• Δ/ση: _____		Τ.Κ.: _____ Φαχ: _____	
Ημ/νία 1 ^{ης} επίσκεψης: _____ Παραπομπή- αιτία επίσκεψης: _____ Ημ/νία διάγνωσης: _____ Αριθμός κάρτας λιπιδαιμικού ιατρείου: _____ Α.Μ. _____			
<u>Οικογενειακό ιστορικό</u>			
❖ Στεφανιαία νόσος:	ναι Ηλ/α Αγωγή	όχι Ηλ/α διάγνωσης Συντηρητική	ποιος; Χειρουργική
❖ Υπέρταση	ναι Ηλ/α	όχι Ηλ/α διάγνωσης	ποιος; Αγωγή
❖ Υπερχοληστερολαιμία	ναι Ηλ/α Αγωγή	όχι Ηλ/α διάγνωσης ΥΔ	ποιος; Τιμές: Φ
❖ ΑΕΕ	ναι Ηλ/α	όχι Ηλ/α διάγνωσης	ποιος;
❖ Θυρεοειδική νόσος	ναι	όχι	Τις; Αγωγή
❖ Κάπνισμα	ναι	όχι	διάρκεια
❖ Άλλα χρόνια νοσήματα	ναι	όχι	ποια;
❖ Φάρμακα	ναι	όχι	ποια;
❖ BMI πατέρας	κφ	Υπέρβαρος	Παχύσαρκος
: μητέρα	κφ	Υπέρβαρη	Παχύσαρκτη
<u>Ατομικό ιστορικό</u>			
Περι- γεννητικά	ΣΔ κύησης Εβδ. κύησης Μ.Θηλασμός	Ορμόνες; Τελειόμηνο Μήνες	Άλλα προβλήματα κύησης, Πρόωρο ΒΓ Περγεννητικά προβλήματα; ΦΤ

Εργαστηριακός Έλεγχος

Γεν. Αίματος	WBC	P	L	E	HB	HCT	PLTs	Βιοχ/κός	Fe	Φερίνη
Ημ/νία								Ημ/νία		
»								»		
»								»		
»								»		

Βιοχ/κός	Glu	U	Cr	UA	SGOT	SGPT	gGT	ALP	T PR	ALB
Ημ/νία										
»										
»										
»										

Βιοχ/κός	TC	LDL-C	HDL-C	TGs	ApoA1	ApoB	Lp(a)	hsCRP
Ημ/νία								
»								
»								
»								

Άλλες εξετάσεις	K	Na	Ca	P	TSH	FT3	FT4	A0A	Anti-TPO
Ημ/νία									
»									
»									
»									

Άλλες εξετάσεις	OxLDL	LDL1-LDL5	UR-II	Ομοκυστεΐνη	Ινσουλίνη
Ημ/νία					
»					
»					
»					

Άλλοι δείκτες					

Οδηγίες

Ημένια	Υγιεινή διατροφή [A]	Σταδίου I [B]	Σταδίου II [C]	Φυτικές Στερόλες [D]	Φάρμακο Ναι Όχι [E]	Επανελέγχος (μήνες)
1 ^{ος} έλεγχος						
2 ^{ος} έλεγχος						
3 ^{ος} έλεγχος						
4 ^{ος} έλεγχος						

Παρατηρήσεις:

II. Ενημερωτικό Σημείωμα για τους Γονείς



Ιατρείο Διαταραχών των Λιπιδίων

Β' Παιδιατρική Πανεπιστημιακή Κλινική

Διευθυντής: Καθηγητής Δ. Καφετζής

Ενημερωτικό Σημείωμα για τους Γονείς

Είναι πλέον επιβεβαιωμένο ότι η αυξημένη χοληστερόλη οδηγεί σε αρτηριοσκλήρυνση που μπορεί να προκαλέσει καρδιαγγειακή νόσο (έμφραγμα, στηθάγχη, κ.λ.π) στην ενήλικη ζωή και μάλιστα πριν την ηλικία των 50 χρόνων.

Επειδή οι βλάβες που δημιουργούνται στην παιδική ηλικία είναι συνήθως αναστρέψιμες είναι σημαντικό να διαγνώσουμε και να αντιμετωπίσουμε έγκαιρα την αυξημένη χοληστερόλη.

Στην εγκατάσταση των αθηρωματικών βλαβών, εκτός από την αυξημένη «κακή» χοληστερόλη δηλαδή την LDL, σημαντικό ρόλο παίζουν τα χαμηλά επίπεδα της «καλής» χοληστερόλης δηλαδή της HDL καθώς και τα αυξημένα επίπεδα μιας άλλης λιποπρωτεΐνης της Lp(a) και των τριγλυκεριδίων.

Τελευταία, ιδιαίτερη σημασία δίνεται όχι μόνο στο πόσο αυξημένη είναι η LDL αλλά και στην ποιότητα της. Δηλαδή όσο πιο μεγάλο είναι το ποσό που είναι οξειδωμένο και όσο πιο μικρά και πιο πυκνά είναι τα μόρια της, τόσο πιο μεγάλος είναι ο κίνδυνος βλάβης των αγγείων.

Τελευταία, το υπερηχογράφημα καρωτίδων χρησιμοποιείται και στα παιδιά για να εκτιμηθεί η αθηροσκλήρυνση. Είναι μια εξέταση χωρίς επιβάρυνση (δεν έχει ακτινοβολία) και χωρίς ταλαιπωρία για το παιδί και μπορεί να βοηθήσει στην παρακολούθηση του.

Η μελέτη όλων των παραπάνω παραγόντων μπορεί να μας βοηθήσει στην καλύτερη εκτίμηση του μελλοντικού κινδύνου που διατρέχει το παιδί σας και στην απόφαση για την πιο κατάλληλη και αποτελεσματική αντιμετώπιση.

Υπεύθυνοι Ιατρείου

Δ. Κουκουτσακης, Επίκουρος καθηγητής

Α. Γαρούφη, Λέκτορας

III. Έντυπο Συγκατάθεσης συμμετεχόντων στο ερευνητικό πρωτόκολλο

Συγκατάθεση Γονέων

Ο (Η), πατέρας (μητέρα) του (της) που έχει υπερχοληστερολαιμία, αφού ενημερώθηκα πλήρως για τον επιπλέον έλεγχο και τους λόγους για τους οποίους πρόκειται να γίνει, συμφωνώ να ληφθεί κατά την αιμοληψία που θα γίνει στο παιδί μου. Ενημερώθηκα επίσης ότι ο έλεγχος αυτός δεν θα επιβαρύνει εμένα ή το ασφαλιστικό μου ταμείο και ότι θα ενημερώνομαι για τα αποτελέσματα του. Αν από τη διεθνή έρευνα προκύψει κάποιος νέος παράγοντας, που μπορεί να βοηθήσει στην εκτίμηση και αντιμετώπιση της αθηρωματικής νόσου, μπορεί να προσδιοριστεί στο αίμα που έχει ληφθεί, αφού βεβαίως ενημερωθώ. Επίσης, έχω ενημερωθεί ότι θα τηρούνται πλήρως τα προσωπικά δεδομένα του παιδιού μου.

Αθήνα --/--/--

Ο παιδίατρος

Ο γονέας

RESEARCH

Open Access

Plant sterols-enriched diet decreases small, dense LDL-cholesterol levels in children with hypercholesterolemia: a prospective study

Anastasia Geroufi^{1*}, Styliani Vouri¹, Alexandra Soldatou², Charalampos Tsernidis², Lydia Kussira², Antonios Drakatos³, Antonios Marmarinos⁴ and Dimitrios Gourgiotis⁴

Abstract

Background: Small dense low density lipoprotein-cholesterol (sdLDL-C) molecules are more atherogenic compared with large buoyant ones. Phytosterols-enriched diets are effective in decreasing total cholesterol (TC) and low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) concentrations in hyperlipidemic children without significant adverse effects. Limited data on the impact of such a diet on sdLDL-C levels is available in adults while there are no reports concerning children. The purpose of this study is to prospectively evaluate the effect of the daily consumption of 2 g of plant sterols on sdLDL-C levels in children with hypercholesterolemia.

Methods: Fifty-nine children, 25 with LDL-C ≥ 3.4 mmol/l (130 mg/dl) and 34 with LDL-C < 3.4 mmol/l, aged 4.5-15.9 years, were included in the study. A yogurt-drink enriched with 2 g of plant sterols was added to the daily diet of hypercholesterolemic children and 6-12 months later lipid profiles were reassessed. Direct quantitative methods were used to measure LDL-C and sdLDL-C levels.

Results: The consumption of plant sterols reduced sdLDL-C significantly ($p < 0.001$), but levels remained higher compared with controls ($p < 0.001$). TC, LDL-C, non-high density lipoprotein-cholesterol (NonHDL-C) and apolipoprotein B (ApoB) levels also decreased significantly ($p < 0.05$). The median reduction of sdLDL-C and LDL-C was 16.6% and 13%, respectively. These variables decreased > 10% in sixteen children (54%), independently from baseline levels, sex, age and body mass index (BMI). High density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), lipoprotein a (Lp(a)), and triglycerides (TGs) levels remained unaffected.

Conclusions: Plant sterols decrease sdLDL-C significantly and may be beneficial for children with hypercholesterolemia.

Keywords: sdLDL, LDL-C, Dyslipidemia, Phytosterols

Background

Low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) comprises a heterogeneous group of particles that vary in size, density, lipid composition, electrical charge and functional properties. Two subtypes are recognized, small dense LDL (sdLDL), also known as phenotype B and the large, buoyant LDL (lbLDL) particles or phenotype A [1]. Genetic and non-genetic factors influence the distribution of LDL subclasses in the plasma [2,3]. Compared with lbLDL, sdLDL subclasses have been suggested to

be more atherogenic as a result of their prolonged plasma half-life, lower binding affinity for LDL receptors, higher degree of penetration to the arterial wall, and lower resistance to oxidative stress [4]. An increased risk for coronary heart disease (CHD) in subjects with phenotype B has been previously documented [5,6].

Many studies in adults and children with dyslipidemia have shown that phytosterols-enriched diets decrease TC and LDL-C concentrations effectively, without any serious adverse effects, albeit with heterogeneity in their response [7]. Expert Panel on Integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents recommend the use of plant sterols/sterols, up to 2 g/day as a supportive action in children older

* Correspondence: geroufi@yaho.co.gr

¹Lipid Outpatient Clinic, Second Department of Pediatrics, Athens University, Athens, Greece

Full list of author information is available at the end of the article



© 2014 Geroufi et al.; licensee BioMed Central Ltd. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly credited. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

than 2 years old with familial hypercholesterolemia (FH) [8]. In a recent report of the Maastricht meeting, based on the results of more than 200 clinical trials, the use of plant sterols is thought to be favorable although their potentially atherogenic action remains to be clarified [9].

The data regarding the effect of phytosterol supplements on the more atherogenic sdLDL particles is limited in adults, while lacking in children with hyperlipidemia.

In the present prospective study we investigated the changes in sdLDL-C levels following the daily consumption of 2 g of plant sterols in the form of a yogurt-drink in children and adolescents with hypercholesterolemia.

Methods

Sixty-four children and adolescents (34 boys), aged 4.5 to 16 years, median age 9 years, were enrolled in an open-label two years' prospective study. All children were recruited from the Lipid Outpatient Clinic of the 2nd Department of Pediatrics of Athens University at "P. & A. Kyriakou" Children's Hospital. The study was in accordance and approval by the Institutional Review Board of "P. & A. Kyriakou" Children's Hospital. Written informed parental consent was obtained prior to participation.

Exclusion criteria included renal, hepatic or thyroid dysfunction, diabetes mellitus, chronic illness, long-term drug therapy and use of lipid-lowering drugs or dietary supplements known to affect cholesterol levels.

Children were assigned to two groups based on LDL-C levels which were verified more than once. Thirty children with LDL-C levels ≥ 3.4 mmol/l (130 mg/dl) comprised the hypercholesterolemic group and thirty four children with LDL-C levels < 3.4 mmol/l the control group.

Hypercholesterolemic children were placed on a Step-II diet [8] according to the instructions of our Dietary Department. Six to 12 months later, a yogurt-drink, containing 2 g of plant sterols, replaced a dairy product with similar fat and carbohydrate content in their daily diet. Lifestyle and eating habits were maintained. Twenty five out of thirty children with hypercholesterolemia were re-examined within 6 to 12 months after the introduction of the sterol-enriched yogurt drink. Children who did not comply with daily sterol supplementation or dietary modifications, altered their pubertal status or BMI category or received other supplements known to affect cholesterol levels were considered dropouts. Finally, four children were excluded due to non-compliance (compliance rate 86.6%) and one child due to shift in Tanner's stage.

Height was measured to the nearest 0.1 cm for all the children, using a manual height board, weight was measured using an electronic scale to the nearest 0.1 kg and BMI was calculated using the standard formula kg/m^2 . International growth charts were used [10]. In addition, a standardized age- and sex-specific growth reference was

used to calculate body mass index standard deviation scores (BMI-SDS).

Venous blood samples were collected in the morning (8.00-9.00 a.m.) after 12-hour overnight fasting. All participants were healthy at the time of blood sampling. TC, HDL-C and TGs levels were measured in serum samples using enzymatic methods (Roche Diagnostics, Cobas Integra 800). Apolipoprotein A-I (ApoA-I), ApoB, and Lp(a) levels were determined using an immunonephelometric assay (Siemens BNI Nephelometer Analyser). NonHDL-C was calculated as TC minus HDL-C. A direct homogeneous assay was used to measure LDL-C levels (Roche Diagnostics, Cobas Integra 800). All values are expressed either in mmol/l or $\mu\text{mol/l}$. For the determination of sdLDL-C, samples were collected in EDTA tubes, were placed in ice and were immediately centrifuged at 4000 rpm ($2000 \times g$) for 10 minutes at 4°C. The supernatant was isolated and stored at -80°C until further analysis. A commercially available kit (sdLDL-EX "SEIKEN", Randox Laboratories Ltd, UK) was used for the direct quantitative determination of sdLDL-C (Roche Diagnostics, Cobas Integra 800). Reference intervals were investigated in adult population and the 75th percentile value, being 0.906 mmol/l (35 mg/dl), was selected as the cut-off point for CHD risk assessment. The linearity range of the assay was 0.1036-2.59 mmol/l (4.0-100 mg/dl), Intra-Assay $< 2\%$, Inter-Assay $< 3\%$ and Sensitivity 0.170-0.230 mg/dl [11]. Serum liver enzymes, creatinine, calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, thyrotropin and thyroid hormones were evaluated in all children and re-evaluated in the hypercholesterolemic group within 6-12 months after the dietary intervention.

Statistical analysis was performed using STATA for Windows v8.5, (StataCorp, Texas, USA, 2008). Data are presented as mean $\pm$ SD, median and range. Non-parametric methods were used (Wilcoxon paired test, Mann-Whitney U test and Kruskal-Wallis test, where applicable) to compare differences of numerical variables between the groups. Further correlations between the variables were made with the use of the non parametric Spearman's rho statistic. $P < 0.05$ was considered as statistically significant.

Results

The comparison of the body mass index standard deviation scores (BMI-SDS) between the control and the hypercholesterolemic group did not yield any statistically significant results ($p = 0.547$). Furthermore the BMI-SDS of the latter group did not change significantly after the introduction of the yogurt-drink ($p = 0.621$) (Table 1).

Children and adolescents with hypercholesterolemia had statistically significant higher concentrations of sdLDL-C compared with controls ($p < 0.001$). The introduction of the sterol-enriched yogurt drink resulted in a significant

Table 1 Anthropometric measurements and lipid profile in the study population

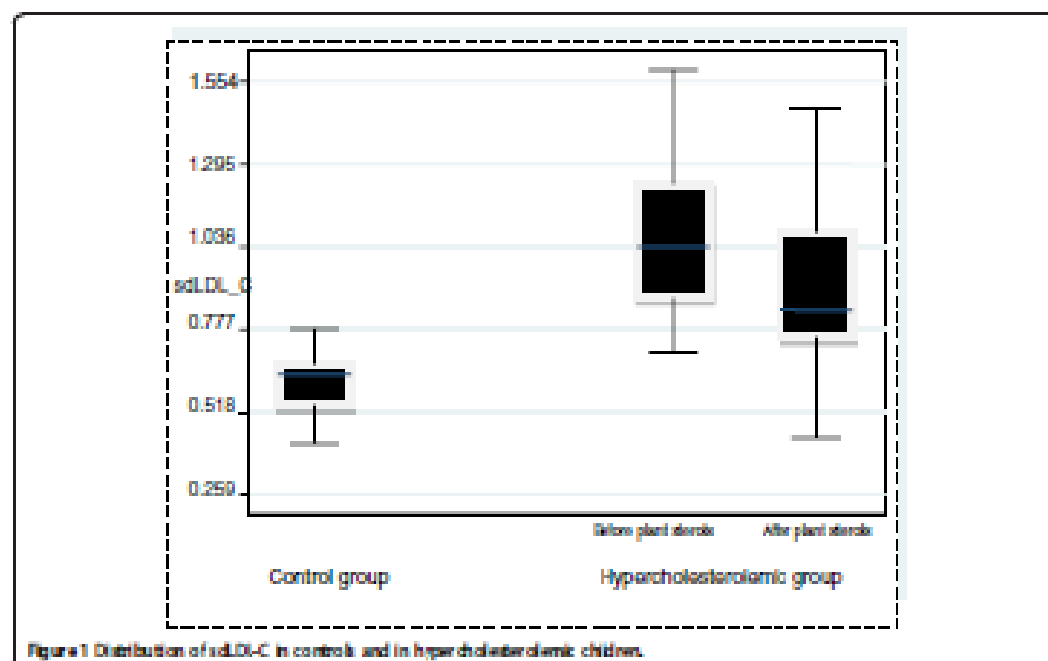
	Hypercholesterolemic group		P	Controls baseline	P*	P**
	Before plant sterols*	After plant sterols**				
BMI	16.93 ± 2.64 (16.63-17.14)	17.7 ± 2.89 (17.1-18.2)		16.29 ± 3.08 (16.8-17.8)		
BMI-SDS	0.29 ± 1.31 (0.23-1.39)	0.48 ± 1.34 (0.68-1.91)	0.62	0.77 ± 1.28 (0.9-2.2)	0.55	0.68
sdLDL-C	1.06 ± 0.25 (0.94-1.18)	0.92 ± 0.25 (0.84-1.07)	<0.001	0.60 ± 0.11 (0.64-0.58)	<0.001	<0.001
TC	7.00 ± 1.45 (6.93-7.14)	6.34 ± 1.57 (6.33-6.35)	<0.001	4.50 ± 0.54 (4.60-4.36)	<0.001	<0.001
LDL-C	5.20 ± 1.37 (4.91-5.49)	4.55 ± 1.57 (4.27-4.83)	<0.001	2.59 ± 0.36 (2.64-2.54)	<0.001	<0.001
NonHDL-C	5.46 ± 1.50 (5.39-5.53)	4.81 ± 1.66 (4.37-5.25)	<0.001	2.87 ± 0.44 (3.03-2.71)	<0.001	<0.001
HDL-C	1.53 ± 0.44 (1.53-1.53)	1.53 ± 0.41 (1.53-1.53)	0.58	1.66 ± 0.41 (1.58-1.74)	0.38	0.31
TG	0.73 ± 0.33 (0.64-0.82)	0.65 ± 0.24 (0.60-0.70)	0.28	0.68 ± 0.25 (0.63-0.74)	0.68	0.74
ApoA4	50.88 ± 9.60 (51.25-50.51)	54.45 ± 10.46 (53.02-55.88)	0.22	53.02 ± 10.32 (53.02-53.02)	0.48	0.82
ApoB	2.38 ± 0.58 (2.33-2.43)	2.09 ± 0.53 (1.98-2.20)	0.004	1.31 ± 0.24 (1.41-1.21)	<0.001	<0.001
Lp(a)	1.04 ± 0.91 (0.77-1.31)	1.2 ± 0.72 (0.97-1.43)	0.91	0.60 ± 0.68 (0.31-0.89)	0.03	0.02

Laboratory data are expressed as mean ± SD; median and interquartile range in [§]mol/L.
Abbreviations: BMI: body mass index; BMI-SDS: body mass index standard deviation score; sdLDL-C: small dense low density lipoprotein-cholesterol; TC: total cholesterol; LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol; NonHDL-C: non high density lipoprotein-cholesterol; HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol; TG: triglycerides; ApoA4: apolipoprotein A4; ApoB: apolipoprotein B; Lp(a): lipoprotein (a).
*comparison between hypercholesterolemic group before plant sterols and controls baseline **comparison between hypercholesterolemic group after plant sterols and controls baseline

decrease of sdLDL-C levels ($p < 0.001$), as well as TC, LDL-C, NonHDL-C ($p < 0.001$) and ApoB ($p < 0.004$, Table 1). Nevertheless, sdLDL-C remained significantly higher compared with controls ($p < 0.001$, Figure 1). HDL-C, ApoA-I, Lp(a) and TG levels were unaffected (Table 1).

LDL-C and sdLDL-C levels decreased by ≥10% in 16 out of 25 children (64%), while in 3 more children a

decrease between 6% -9% was achieved. Moreover, the median decrease was 16.6% and 13% for sdLDL-C and LDL-C respectively. The percentage of decrease was independent of baseline LDL-C and sdLDL-C levels ($p = 0.34$). Additionally, no significant correlation was observed between sdLDL-C concentration and sex, age or BMI in both groups. Similarly, sdLDL-C did not correlate



with HDL-C, TGs or Lp(a) levels ($\rho = 0.13$ $p = 0.31$, $\rho = -0.07$ $p = 0.57$ and $\rho = 0.13$ $P = 0.33$ respectively). All other serum biochemical and hormonal markers remained within normal range.

Discussion

In the present study we observed that hypercholesterolemic children had significantly higher sdLDL-C levels compared with controls. The distribution of sdLDL-C subclasses in children with primary dyslipidemia is yet to be assessed. In an adult study, patients with FH had decreased LDL peak particle diameter- i.e. the diameter of most abundant subclasses of LDL particles- compared with controls and an accumulation of midsize LDL molecules [12]. In another study, adults with familial combined hyperlipidemia (FCH) had significantly higher concentrations of ApoB and sdLDL compared with healthy individuals [13]. With respect to secondary dyslipidemia, 54% of obese adolescents included in a study were characterized by phenotype B [14]; according to existing literature only 2-13% of the healthy pediatric population is characterized by this phenotype [15-22]. In a later study, forty percent of obese children with lipid abnormalities were found to have sdLDL particles [23]. This predominance is even more profound in children and adolescents with diabetes mellitus, reaching 86.7%, whereas only 11% of controls belonged to phenotype B. Additionally, youths with diabetes had significantly smaller mean LDL diameter than controls [24].

Studies have shown that sdLDL particles are found over 3 times more often in healthy adults than in children. Individuals with this predominance exhibit a three-fold higher risk for myocardial infarction compared with those with phenotype A [5].

The present study demonstrated that the daily consumption of 2 g of plant sterols in children and adolescents with dyslipidemia significantly decreased sdLDL-C levels. To the best of our knowledge there are no previous reports of the effect of plant sterols on sdLDL-C in children. Previous data in adults was scarce and conflicting, partly due to multiple interventions placed concurrently, thus making it difficult to attribute the positive effect on LDL size solely to sterols [25,26]. A recent adult study in patients with metabolic syndrome reported a significant decrease in sdLDL-C levels after a two month supplementation with phytosterols [27]. This decrease in the sdLDL-C levels when a plant sterol supplementation diet was used, could be an additive benefit to the well documented lipid-lowering one. More studies in adult and pediatric population, at high risk of atherosclerosis, are needed in order to understand up to what extent and how plant sterols influence the phenotype of LDL particles. Interestingly, in our study, children with hypercholesterolemia presented significantly higher sdLDL-C levels in

comparison to controls even after dietary modification, implying that simultaneous interventions might be necessary to adequately decrease atherogenic LDL particles.

No correlation was observed between sdLDL-C levels and BMI, age or sex in youths with or without lipid abnormalities. The literature concerning these parameters is controversial [16-22]. In the Bogalusa heart study, weight was negatively associated to LDL size and boys had smaller mean LDL particle size than girls [17]. A Canadian study of more than 2000 healthy youths found that the prevalence of phenotype B was only 2% and reached 7% in children with increased BMI, while no sex differences were observed [21]. Two other studies showed similar distribution of sdLDL particles in boys and girls, the latter study also found no correlation between LDL particle size and weight-for-height [16,22]. In our study the majority of children had normal BMI, which may explain the absence of correlation between BMI and sdLDL-C levels. Finally, research has not yet established a correlation between age and phenotype B in children [21].

There is sufficient data to support the lipid-lowering effect of phytosterols in patients with lipid abnormalities. Meta-analysis of clinical trials in adults has shown that daily intake of 2 g of phytosterols significantly decreases TC and LDL-C with no effect in the majority of studies on HDL and TGs levels [7]. In children, fewer studies have evaluated the effect of plant sterols on lipids. An approximate 10% decrease in LDL-C levels was observed in children with FH after daily consumption of 1.6 g of a plant sterols-enriched spread. TC and ApoB concentrations were also decreased to a significant degree, with no serious adverse effects [28]. Based on current data experts recommend the use of plant sterols only for children with hypercholesterolemia who do not achieve desired LDL-C levels after lifestyle changes [8].

The present study demonstrated that in hypercholesterolemic youths TC, LDL-C and NonHDL-C concentrations were significantly decreased within 6 to 12 months from the initiation of a diet supplemented with plant sterols. ApoB levels were also reduced to a smaller degree. LDL-C and NonHDL-C levels were reduced more than 10% in almost two thirds of the children studied, while the median reduction was approximately 13%. The percentage reduction in lipid concentrations was independent of the baseline levels. Plant sterols supplementation had no effect on HDL-C, TGs and Lp(a) levels. The yogurt-drink was well tolerated with no side effects. The main limitation of our study was the small number of participants, necessitated by cost constraints for laboratory measurements.

Conclusions

In conclusion, in our population of hyperlipidemic children and adolescents, plant sterol supplementation had

a beneficial effect not only on the levels of total LDL-C but also on its more atherogenic small, dense particles. It seems to be a safe and efficacious approach in an attempt to lower the cholesterol levels in children with hyperlipidemia at high risk of early atherosclerotic disease, thus postponing the initiation of medical treatment. In addition, plant sterols do not decrease HDL-C concentration and therefore their use can be a tempting first line choice along with other dietary modifications for hyperlipidemic children and adolescents. Finally, more studies in pediatric populations at high risk of atherosclerosis are needed in order to reinforce the significance of our findings and elucidate the role that plant sterols play in the phenotype of LDL particles.

Abbreviations

LDL-C: Small dense low density lipoprotein-cholesterol; TC: Total cholesterol; LDL-C: Low density lipoprotein-cholesterol; Non-HDL-C: Non high density lipoprotein-cholesterol; ApoB: Apolipoprotein B; BMI: Body mass index; HDL-C: High density lipoprotein-cholesterol; Lp(a): Lipoprotein a; TG: Triglycerides; sLDL: Small dense LDL; sLDL: Large buoyant LDL; CHD: Coronary heart disease; FH: Familial hypercholesterolemia; BMI-SD: Body mass index standard deviation score; ApoB: Apolipoprotein B; FH: Familial combined hypercholesterolemia.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

AG and SV contributed to the design of the study, the enrollment of the participants and the interpretation of data. DG, AM and AD designed and performed the laboratory measurements. AG and CT conducted the statistical analysis. AG, SV, AG and LI participated in the writing of this manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

The authors would like to thank Nancy Pagoni, MD for her contribution to the enrollment of the participants of the study.

Author details

¹Lipid Outpatient Clinic, Second Department of Pediatrics, Athens University, Athens, Greece. ²Second Department of Pediatrics, Athens University, Athens, Greece. ³Biochemistry Laboratory "P & A Kyriakou" Children's Hospital, Athens, Greece. ⁴Research Laboratories, Second Department of Pediatrics, Athens University, Athens, Greece.

Received: 11 February 2014 Accepted: 22 April 2014

Published: 3 May 2014

References

- Kraus RM, Bute CJ: Identification of multiple subclasses of plasma low density lipoprotein in normal humans. *J Lipid Res* 1983, **24**:1037-1044.
- Austin MA: Genetic and environmental influences on LDL subclass phenotype. *Clin Genet* 1994, **46**:66-70.
- McNamara JR, Jenner L, Li Z, Wilson PW, Schaefer E: Change in LDL particle size is associated with change in plasma triglyceride concentration. *Arterioscler Thromb* 1993, **13**:1384-1390.
- Bjornheden T, Babyl A, Bondjers G, Wiklund O: Accumulation of lipoprotein fractions and subfractions in the arterial wall, determined in an in vitro perfusion system. *Atherosclerosis* 1986, **12**:43-55.
- Austin MA, Bivens JL, Hennkens CH, Buring JE, Willet WC, Kraus RM: Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1990, **263**:1917-1921.
- Campos H, Groot JJ, Bjornsen E, McNamara JR, Jenner L, Ordovas JM, Wilson PW, Schaefer EJ: Low density lipoprotein particle size and coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1993, **13**:187-195.
- Milneski M, Ghevi MM: Phyto-sterols for dyslipidemia. *Am J Health Syst Pharm* 2010, **67**:1165-1173.
- Diet Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents; National Heart, Lung, and Blood Institute Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. *Pediatrics* 2011, **128**(Suppl 5):S213-S256.
- Pir J, MacLay D, Baumgartner S, Clifton PM, Gylling H, Jones PJ: Progress and perspective of plant sterol and plant sterol esters: report of the Munich meeting. *Atherosclerosis* 2011, **225**:321-333.
- Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Diet WH: Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ* 2000, **320**:1-6.
- Hama T, Ito Y, Saegusa H, Yoshino G: A novel and simple method for quantification of small, dense LDL. *J Lipid Res* 2001, **42**:331-337.
- Hogue JC, Lamerche B, Gaudet D, Lefebvre M, Tremblay AJ, Bergeron J, Lefebvre L, Despres JC, Gagne C, Couture P: Relationship between cholesterol ester transfer protein and LDL heterogeneity in familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 2004, **45**:1037-1043.
- Ayoubi AP, McGeevay SH, McNeely M, Austin MA, Mohanty AG, Berzeli JD: Small, dense LDL and elevated apolipoprotein B are the common characteristics for the three major lipid phenotypes of familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003, **23**:1289-1294.
- King HS, Gulin B, Brouss P, Linder MS, Allison J, Le NA: Low-density lipoprotein particle size, central obesity, cardiovascular fitness, and insulin resistance syndrome markers in obese youths. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003, **28**:1030-1035.
- Campos H, Bjornsen E, McNamara JR, Ordovas JM, Pomeroy SM, Wilson PW, Schaefer EJ: LDL particle size distribution: Results from the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb* 1993, **13**:1410-1419.
- Araki O, Fujisawa S, Yabuta K, Mokuo H, Minag Y: Myocyte characterization of low-density lipoprotein subclasses in children. *Metabolism* 1997, **46**:145-149.
- Friedman DS, Rosman BA, Chou D, Srinivasan SR, Berenson GS: Levels and correlates of LDL and VLDL particle sizes among children: the Bogalusa heart study. *Atherosclerosis* 2000, **152**:441-449.
- Stinbeck KS, Birmingham MA, Mohr J, Blair LA: Low-density lipoprotein subclasses in children under 10 years of age. *J Pediatr Child Health* 2001, **37**:550-553.
- Araki O, Kojima M, Yamazaki Y, Kuzawa S, Koyama S, Shimura N, Okada T: Relationship between the presence of small, dense low-density lipoprotein and plasma lipid phenotypes in Japanese children. *J Arterioscler Thromb* 2004, **14**:320-323.
- Shimabukuro T, Sugawara M, Ohba T: Low-density lipoprotein particle size and its regulatory factors in school children. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, **88**:3230-3237.
- Shi S, Levy E, Delin E, Hanley JA, Lamerche B, O'Leughin J, Parodi G, Lambert M: Distribution of LDL particle size in a population-based sample of children and adolescents and relationship with other cardiovascular risk factors. *Clin Chem* 2005, **51**:1185-1190.
- Korostoff T, Romanova T, Viloff J, Leino A, Ikinen E, Small Ch: Low-density lipoprotein (LDL) particle size in healthy prepubertal children: the STRIP study. *Ann Pediatr* 2006, **90**:166-167.
- Mavridis M, Gladi T, Kroumel Y, Hatzis K: LDL particle size, fat distribution and insulin resistance in obese children. *Eur J Clin Nutr* 2005, **59**:416-420.
- Alibekovic S, Labudovic DD, Todorovic W, Spisic MZ, Todorovic SS: Low density lipoprotein subclass distribution in children with diabetes mellitus. *Brazil J Med Biol Res* 2008, **109**:155-159.
- Lamerche B, Desroches S, Jenkins DJ, Kendall CW, Mordale A, Pauliner D, Vilgen E, Lapsley KG, Tauschke DA, Poirier T, Jones RG, Leber LA, Connolly PW: Combined effects of a dietary portfolio of plant sterols, vegetable protein, viscous fibre and almonds on LDL particle size. *Br J Nutr* 2004, **92**:657-663.
- Gleason L, Jenkins DJ, Kendall CW, Mordale A, Pauliner DA, Wong BM, deSouza R, Evans A, Parier TL, Tauschke DA, Lapsley KG, Connolly PW, Lamerche B: Comparison of a dietary portfolio diet of cholesterol-lowering foods and a statin on LDL particle size phenotype in hypercholesterolemic participants. *Br J Nutr* 2007, **98**:1219-1225.
- Silveira TE, Pounis GG, Koutalides AG, Bitter DJ, Yfanti G, Papadimitriou M, Gomes G, Chiotelis V, Diamantopoulou E, Zampieri A: Phytosterols

supplementation decreases plasma small and dense LDL levels in metabolic syndrome patients on a westernized type diet. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2013, **23**:840-848.

38. Arundsen AJ, Ose L, Nerøster MS, Nordica FY: Plant-based ester-enriched spread lowers plasma total and LDL cholesterol in children with familial hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 2002, **76**:133-140.

doi:10.1186/1124-7208-40-42

Cite this article as: Garoufi et al.: Plant sterols-enriched diet decreases small, dense LDL-cholesterol levels in children with hypercholesterolemia: a prospective study. *Italian Journal of Pediatrics* 2014 **40**:42.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit

