



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Β΄ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθύντρια: Καθηγήτρια Μ. Τσολιά

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ
ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗΣ

Διευθυντής: Καθηγητής Δ. Γουργιώτης

«ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΣΕ
ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ ΜΕ ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ»

Κλινάκη Ελένη
Ιατρός, Ειδικευόμενη Παιδιατρικής

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Αθήνα 2019

«Η έγκριση διδακτορικής διατριβής υπό της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνώμων του συγγραφέως»

(Νόμος 5343/1932, άρθρο 202, παρ.2)

Ημερομηνία αίτησης:	19.04.2010
Ημερομηνία ορισμού τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής:	26.07.2010
Ημερομηνία ορισμού θέματος:	25.05.2011
Ημερομηνία κατάθεσης διδακτορικής διατριβής:	07.09.2018
Ημερομηνία υποστήριξης διδακτορικής διατριβής:	14.02.2019

Επιβλέπων Καθηγητής

Αναστασία Γαρούφη	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής
-------------------	--------------------------------------

Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή

Δημήτριος Γουργιώτης	Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας
Αναστασία Γαρούφη	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής
Λυδία Κόσσυβα	Επίκουρη Καθηγήτρια Παιδιατρικής

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής Αθηνών

Πέτρος Π. Σφηκάκης	Καθηγητής Παθολογίας
--------------------	----------------------

Επταμελής εξεταστική επιτροπή

Δημήτριος Γουργιώτης	Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας
Αναστασία Γαρούφη	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής
Λυδία Κόσσυβα	Επίκουρη Καθηγήτρια Παιδιατρικής
Μαρία Τσολιά	Καθηγήτρια Παιδιατρικής Λοιμωξιολογίας
Γιώργος Βάρτζελης	Επίκουρος Καθηγητής Παιδιατρικής Νευρολογίας
Νικόλαος Σπυρίδης	Επίκουρος Καθηγητής Παιδιατρικής Λοιμωξιολογίας
Αχιλλέας Αττιλάκος	Επίκουρος Καθηγητής Παιδιατρικής

Συνοπτικό Βιογραφικό Σημείωμα Ελένης Κλινάκη

Ημερομηνία γέννησης: 09 Ιουλίου 1985

☎: +30 210 9966258, +30 6979236827

E-mail: eleni.t.klinaki@gmail.com

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- 07.2010 - σήμερα • Εκπόνηση διδακτορικής διατριβής με τίτλο «Εκτίμηση παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου σε παιδιά και εφήβους με δυσλιπιδαιμία» / Ιατρική Σχολή / Πανεπιστήμιο Αθηνών
- 08.2009 • Πτυχίο Ιατρικής / Ιατρική Σχολή / Πανεπιστήμιο Αθηνών
- 06.2003 • Απολυτήριο λυκείου με γενικό βαθμό 19,7 (Άριστα) / 5ο ενιαίο λύκειο Ηλιούπολης / Αθήνα

Πρόσθετη εκπαίδευση

- 10.2014 • Master class " Diet and Cancer: from prevention to survival " / Graduate School VLAG, Division of Human Nutrition in Wageningen University, World Cancer Research Fund International (WCRF International) and Wereld Kanker Onderzoek Fonds (WCRF NL)
- 03.2014 • Σεμινάριο "Εισαγωγή στην στατιστική ανάλυση βιο-ιατρικών δεδομένων με πρακτική εφαρμογή σε Η/Υ" / Εργαστήριο Υγιεινής, Επιδημιολογίας και Ιατρικής Στατιστικής / Πανεπιστήμιο Αθηνών
- 05.2012 • Σεμινάριο Ανάνηψης Νεογέννητου και χορήγηση σχετικής πιστοποίησης (NLS Provider Course) / European Resuscitation Council (ERC)

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 09.2015 – σήμερα • Ειδικευόμενη Παιδιατρικής / Β΄ Παιδιατρική Κλινική / Πανεπιστήμιο Αθηνών / Γενικό Νοσοκομείο Παιδών «Παναγιώτη & Αγλαΐας Κυριακού»
- 09.2012 - 11.2012 • Επιστημονικός συνεργάτης σε ερευνητικά προγράμματα / Ελληνικό Ίδρυμα Υγείας / Αθήνα
- 07.2013 - 06.2014
- 02.2015 – 09.2015
- 12.2012 • Επιστημονικός συνεργάτης σε ερευνητικά προγράμματα / Ιατρική Σχολή / Πανεπιστήμιο Αθηνών
- 02.2013 - 06.2013
- 07.2014 – 01.2015
- 01.2012 - 09.2012 • Ειδικευόμενη Παιδιατρικής / Νεογνολογικό τμήμα Β΄ Μαιευτικής-Γυναικολογικής Κλινικής / Πανεπιστήμιο Αθηνών / Αρεταίειο Νοσοκομείο
- 04.2011 - 12.2011 • Ιατρικός Σύμβουλος (Medical Advisor) / Medwork Pharma Research & Consulting / Αθήνα
- 10.2009 - 09.2012 • Εξωτερικός επιστημονικός συνεργάτης / «Ιατρείου Διαταραχών των Λιπιδίων» & «Πνευμονολογικού Ιατρείου» / Β΄ Παιδιατρική Κλινική ΕΚΠΑ/ ΓΝΠ «Π. & Α. Κυριακού»

Διδακτική εμπειρία

- | | |
|-------------------|---|
| 10.2014 | • Διάλεξη με θέμα “Η χρήση των διατροφικών συμπληρωμάτων” / Σεμινάριο για τη Μεσογειακή Διατροφή / Citizen University – Ελληνικό Ίδρυμα Υγείας |
| 05.2014, 05.2015 | • Διαλέξεις με θέμα “Η ιστορία της Μεσογειακής Διατροφής” και “Η επίδραση της Μεσογειακής Διατροφής στην Υγεία” / "The Anthropology of Food in Greece: the Mediterranean Diet" summer course / College Year in Athens / International centre for Hellenic and Mediterranean studies (DIKEMES) |
| 10.2009 - 02.2010 | • Μαθήματα με θεματολογία αναφορικά με: 1) Παχυσαρκία και μεταβολισμός, 2) Νοσοκομειακές λοιμώξεις / Σιβιτανίδειος Δημόσια Σχολή Τεχνών και Επαγγελματιών / Αθήνα |

ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ - ΒΡΑΒΕΙΑ

- | | |
|---------|---|
| 10.2014 | • Υποτροφία από τον οργανισμό WCRF NL για την κάλυψη των δαπανών συμμετοχής στο Master class "Diet and Cancer: from prevention to survival" |
| 12.2010 | • "Best abstract award" για εργασία με τίτλο "Effectiveness of dietary plant sterols on lowering LDL-Cholesterol in children and adolescent" (δεύτερος συγγραφέας) / Acta Paediatrica. Volume 99, Issue Supplement s462, pages 40–46 / Excellence in Paediatrics Conference / Λονδίνο |

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. **Klinaki E**, Soldatou A, Marmarinos A, Pagoni A, Tsentidis C, Gourgiotis D, Garoufi A. **The role of Asymmetric Dimethylarginine and Lipoprotein-associated phospholipase A2 in children and adolescents with dyslipidemia.** Health. Jun 2014;6(12):1440-1446.
[doi: 10.4236/health.2014.612177](https://doi.org/10.4236/health.2014.612177)
2. Garoufi A, Drakatos A, Tsentidis C, **Klinaki E**, Paraskakis I, Marmarinos A, Gourgiotis D. **Comparing calculated LDL-C with directly measured LDL-C in healthy and in dyslipidemic children.** Clin Biochem. 2017 Jan;50(1-2):16-22.
[doi: 10.1016/j.clinbiochem.2016.05.026](https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2016.05.026).
3. Bamia C, Orfanos P, Juerges H, Schöttker B,**Klinaki E**,....., Trichopoulou A, Trichopoulos D. **Self-rated health and all-cause and cause-specific mortality of older adults: Individual data meta-analysis of prospective cohort studies in the CHANCES Consortium.** Maturitas 2017 Sep;103:37-44.
[doi: 10.1016/j.maturitas.2017.06.023](https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2017.06.023).
4. Karakatsani A, Katsoulis M, **Klinaki E**, Trichopoulou A. **Corticosteroids and hip fracture risk in elderly respiratory patients: EPIC-Greece cohort.** Adv Respir Med. 2017;85(2):124-125.
[doi: 10.5603/ARM.2017.0021](https://doi.org/10.5603/ARM.2017.0021).

5. **Klinaki E, Katsoulis M, La Vecchia C, Trichopoulou A. Rheumatoid arthritis and cancer risk . results from the Greek European prospective investigation into cancer and nutrition cohort.** Eur J Cancer Prev. 2017 Apr 4. [Epub ahead of print]
6. Perez-Cornago A, Appleby PN, Tipper S, Key TJ, Allen NE, Nieters A,.....**Klinaki E....., Riboli E, Vineis P, Travis RC. Prediagnostic circulating concentrations of plasma insulin-like growth factor-I and risk of lymphoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition.** Int J Cancer. 2017 Mar 1;140(5):1111-1118.
[doi: 10.1002/ijc.30528.](https://doi.org/10.1002/ijc.30528)
7. Navarrete-Muñoz EM, Wark PA, Romaguera D, Bhoo-Pathy N, Michaud D,....**Klinaki E,..... Freisling H, Riboli E, Bueno-de-Mesquita HB. Sweet-beverage consumption and risk of pancreatic cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC).** Am J Clin Nutr. 2016 Sep;104(3):760-8.
[doi: 10.3945/ajcn.116.130963](https://doi.org/10.3945/ajcn.116.130963)
8. Peters SA, van der Schouw YT, Wood AM, Sweeting MJ, Moons KG,....**Klinaki E,.... Riboli E, Wareham NJ, Danesh J, Butterworth AS. Parity, breastfeeding and risk of coronary heart disease: A pan-European case-cohort study.** Eur J Prev Cardiol. 2016 Nov;23(16):1755-1765
9. Dewi NU, Boshuizen HC, Johansson M, Vineis P, Kampman E, Steffen A,.....**Klinaki E..... Norat T, Riboli E, Fanidi A, Muller D, Bueno-de-Mesquita HB. Anthropometry and the Risk of Lung Cancer in EPIC.** Am J Epidemiol. 2016 Jul 15;184(2):129-39.
[doi: 10.1093/aje/kwv298.](https://doi.org/10.1093/aje/kwv298)
10. Lu Y, Cross AJ, Murphy N, Freisling H, Travis RC, Ferrari P, Katzke VA, Kaaks R,...**Klinaki E,.... Racine A, Weiderpass E, Gunter MJ, Riboli E. Comparison of abdominal adiposity and overall obesity in relation to risk of small intestinal cancer in a European Prospective Cohort.** Cancer Causes Control. 2016 Jul;27(7):919-27.
[doi: 10.1007/s10552-016-0772-z.](https://doi.org/10.1007/s10552-016-0772-z)
11. Obón-Santacana M, Lujan-Barroso L, Travis RC, Freisling H, Ferrari P, Severi G, Baglietto L,**Klinaki E.....,Lundin E, Weiderpass E, Vesper HW, Riboli E, Duell EJ. Acrylamide and Glycidamide Hemoglobin Adducts and Epithelial Ovarian Cancer: A Nested Case-Control Study in Nonsmoking Postmenopausal Women from the EPIC Cohort.** Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2016 Jan;25(1):127-34.
[doi: 10.1158/1055-9965.EPI-15-0822.](https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-15-0822)
12. Zamora-Ros R, Rinaldi S, Tsilidis KK, Weiderpass E, Boutron-Ruault MC, Rostgaard-Hansen AL,.....**Klinaki E....., Schmidt JA, Khaw KT, Wareham NJ, Cross AJ, Slimani N, Byrnes G, Romieu I, Riboli E, Franceschi S. Energy and macronutrient intake and risk of differentiated thyroid carcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study.** Int J Cancer. 2015 Jul 18. [Epub ahead of print]
[doi: 10.1002/ijc.29693.](https://doi.org/10.1002/ijc.29693)

13. Leenders M, Siersema PD, Overvad K, Tjønneland A, Olsen A,.....**Klinaki E**....., Romieu I, Huybrechts I, Cross AJ, Murphy N, Riboli E, Bueno-de-Mesquita HB. **Subtypes of fruit and vegetables, variety in consumption and risk of colon and rectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition.** Int J Cancer. 2015 Jun 15. [Epub ahead of print]
[doi: 10.1002/ijc.29640](https://doi.org/10.1002/ijc.29640)
14. Benetou V, Orfanos P, Feskanich D, Michaëlsson K, Pettersson-Kymmer U,.....**Klinaki E**....., Boffetta P, Trichopoulou A. **Education, marital status and risk of hip fractures in older men and women: the CHANCES project.** Osteoporos Int. 2015 Jun;26(6):1733-46.
[doi: 10.1007/s00198-015-3054-9](https://doi.org/10.1007/s00198-015-3054-9)
15. Stepien M, Duarte-Salles T, Fedirko V, Trichopoulou A, Lagiou P, Bamia C,.....**Klinaki E**....., Jenab M. **Consumption of soft drinks and juices and risk of liver and biliary tract cancers in a European cohort.** Eur J Nutr. 2014 Dec 21. [Epub ahead of print]
16. Papaevangelou V, Koutsoumbari I, Vintila A, **Klinaki E**, Zellos A, Achilleas A, Tsolia M and Kafetzis D. **Determinants of vaccination coverage and adherence to the Greek national immunization program among infants aged 2-24 months at the beginning of the economic crisis (2009-2011).** BMC Public Health. 2014 Nov 20;14(1):1192.
[doi: 10.1186/1471-2458-14-1192](https://doi.org/10.1186/1471-2458-14-1192)
17. Leenders M, Leufkens AM, Siersema PD.....**Klinaki E**.....Bueno-de-Mesquita HB. **Plasma and dietary carotenoids and vitamins A, C and E and risk of colon and rectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition.** Int J Cancer. 2014 Dec 15;135(12):2930-9. Epub 2014 May 14.
[doi: 10.1002/ijc.28938](https://doi.org/10.1002/ijc.28938)
18. Fedirko V, Duarte-Salles T, Bamia C.....**Klinaki E**.....Jenab M. **Pre-diagnostic circulating vitamin D levels and risk of hepatocellular carcinoma in European populations: A nested case-control study.** Hepatology. 2014 Oct;60(4):1222-30. Epub 2014 Aug 28.
[doi: 10.1002/hep.27079](https://doi.org/10.1002/hep.27079)
19. Fedirko V, Romieu I, Aleksandrova K.....**Klinaki E**.....Jenab M. **Pre-diagnostic anthropometry and survival after colorectal cancer diagnosis in Western European populations.** Int J Cancer. 2014 Oct 15;135(8):1949-60. Epub 2014 Apr 7.
[doi: 10.1002/ijc.28841](https://doi.org/10.1002/ijc.28841)
20. Roura E, Castellsagué X, Pawlita M.....**Klinaki E**.....Riboli E. **Smoking as a major risk factor for cervical cancer and pre-cancer: results from the EPIC cohort.** Int J Cancer. 2014 Jul 15;135(2):453-66. Epub 2014 Jan 6.
[doi: 10.1002/ijc.28666](https://doi.org/10.1002/ijc.28666)
21. Castellsagué X, Pawlita M, Roura E.....**Klinaki E**.....Riboli E. **Prospective seroepidemiologic study on the role of Human Papillomavirus and other**

infections in cervical carcinogenesis: evidence from the EPIC cohort. Int J Cancer. 2014 Jul 15;135(2):440-52. Epub 2014 Jan 6.
[doi: 10.1002/ijc.28665](https://doi.org/10.1002/ijc.28665)

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

- | | |
|---------------|---|
| 2011 - σήμερα | <ul style="list-style-type: none">• 8 προφορικές ανακοινώσεις (συμπεριλαμβανομένης παρουσίασης ενδιαφέροντος περιστατικού) σε πανελλήνια και διεθνή συνέδρια• 9 αναρτημένες ανακοινώσεις σε πανελλήνια και διεθνή συνέδρια |
|---------------|---|

ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ

- | | |
|---------------|--|
| Ξένες γλώσσες | <ul style="list-style-type: none">• Αγγλικά: Certificate of Proficiency in English / Cambridge and Michigan Universities• Γαλλικά: Diplome d'etudes en langue francaise (DELFI), 1er Degree |
| Πληροφορική | <ul style="list-style-type: none">• Χρήση Windows, Word, Excel, PowerPoint, Email και εφαρμογών διαδικτύου |

ΟΡΚΟΣ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ
ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ
ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ
ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ· ΠΡΗΞΕΣΘΑΙ
ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗ;
ΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ
ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΣΟΥΤΟΥ ΑΔΕΛ-
ΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΚΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ
ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΘΗΤΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓ-
ΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΘΕΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ
ΑΠΑΞΗΣ ΜΑΘΗΤΕΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣ
ΚΑΙ ΤΟΙΣ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΗΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜ-
ΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ.
ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΨΥΧΑΙΣΙ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ
ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙΔΡΑΜΗΣ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΣ, ΕΙΡΕΣΙΝ.
ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙ-
ΜΟΝ ΟΥΔΕ ΥΟΝ ΨΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ· ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ
ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ, ΔΩΣΩ ΔΕ ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΞΙΩΣ
ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΩ
ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΑΒΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΞΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ
ΠΡΗΤΕΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΞ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΞΙΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ
ΕΠ' ΨΥΧΑΙΣΙ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚ ΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙ-
ΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΔΟΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ
ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ
ΔΟΥΛΩΝ. Α ΔΕ ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ, Η ΪΔΩ Η ΑΚΟΥΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ
ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑ-
ΛΕΙΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ ΑΡΡΗΤΑ ΠΡΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙ-
ΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ
ΜΗ ΣΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑ-
ΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ·
ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

ΟΡΚΟΣ

ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΗΝ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΕΙΣ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΚΑΙ ΕΙΣ ΟΛΑΣ ΤΑΣ ΘΕΑΣ, ΕΠΙΚΑΛΟΥΜΕΝΟΣ ΑΥΤΟΥΣ ΩΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ, ΟΤΙ ΘΑ ΤΗΡΗΣΩ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΡΙΣΙΝ ΜΟΥ ΑΥΤΟΝ ΕΔΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟΝ ΚΑΙ ΑΥΤΗΝ ΕΔΩ ΤΗΝ ΕΓΓΡΑΦΟΝ ΣΥΜΦΩΝΙΑΝ. ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΜΕΝ ΕΚΕΙΝΟΝ, Ο ΟΠΟΙΟΣ ΜΕ ΕΔΙΔΑΞΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΑΥΤΗΝ, ΙΣΟΝ ΠΡΟΣ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΚΑΜΩ ΚΟΙΝΩΝΟΝ ΤΟΥ ΒΙΟΥ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΒΟΗΘΩ ΟΤΑΝ ΕΥΡΙΣΚΕΤΑΙ ΕΙΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗΝ ΑΝΑΓΚΗΝ, ΚΑΙ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΟΥ ΩΣ ΑΔΕΛΦΟΥΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥΣ ΔΙΔΑΞΩ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΑΥΤΗΝ, ΕΑΝ ΘΕΛΟΥΝ ΝΑ ΤΗΝ ΜΑΘΟΥΝ, ΧΩΡΙΣ ΑΜΟΙΒΗΝ ΚΑΙ ΕΓΓΡΑΦΟΝ ΣΥΜΦΩΝΙΑΝ, ΘΑ ΠΑΡΕΧΩ ΔΕ ΣΥΜΒΟΥΛΑΣ, ΕΙΔΙΚΑ ΠΡΟΦΟΡΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΟΛΑΣ ΤΑΣ ΥΠΟΛΟΙΠΟΥΣ ΓΝΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΤΟΥ ΔΙΔΑΣΚΑΛΟΥ ΜΟΥ ΚΑΙ ΕΙΣ ΤΟΥΣ ΜΑΘΗΤΑΣ, ΟΙ ΟΠΟΙΟΙ ΚΑΙ ΕΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙ ΕΙΝΑΙ ΚΑΙ ΕΧΟΥΝ ΔΩΣΕΙ ΟΡΚΟΝ ΣΥΜΦΩΝΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΙΑΤΡΙΚΟΝ ΝΟΜΟΝ, ΕΙΣ ΚΑΝΕΝΑ ΔΕ ΆΛΛΟΝ.

ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩ ΔΕ ΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΝ ΑΓΩΓΗΝ ΠΡΟΣ ΩΦΕΛΕΙΑΝ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΡΙΣΙΝ ΜΟΥ. ΘΑ ΠΡΟΛΑΜΒΑΝΩ ΔΕ ΒΛΑΒΗΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΔΙΚΙΑΝ, ΔΕΝ ΘΑ ΔΩΣΩ ΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΟΝ ΕΙΣ ΚΑΝΕΝΑ, ΟΥΤΕ ΚΑΙ ΕΑΝ ΜΟΥ ΖΗΤΗΘΗ, ΚΑΙ ΟΥΤΕ ΘΑ ΔΩΣΩ ΤΟΙΑΥΤΗΝ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ ΩΣ ΑΥΤΩΣ ΟΥΤΕ ΕΙΣ ΕΓΚΥΟΝ ΓΥΝΑΙΚΑ ΘΑ ΔΩΣΩ ΕΚΤΡΩΤΙΚΟΝ ΦΑΡΜΑΚΟΝ, ΘΑ ΔΙΑΤΗΡΩ ΔΕ ΤΟΝ ΒΙΟΝ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΜΟΥ ΚΑΤΑ ΤΡΟΠΟΝ ΑΓΗΟΝ ΚΑΙ ΣΥΜΦΩΝΟΝ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΘΕΙΟΝ ΝΟΜΟΝ. ΑΚΟΜΗ ΔΕ ΔΕΝ ΘΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΗΣΩ ΟΥΤΕ ΚΑΙ ΤΟΥΣ ΠΑΣΧΟΝΤΑΣ ΑΠΟ ΛΙΘΙΑΣΙΝ, ΑΛΛΑ ΘΑ ΤΟΥΣ ΠΑΡΑΠΕΜΠΩ ΕΙΣ ΆΝΔΡΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΥΣ, ΕΙΔΙΚΟΥΣ ΔΙΑ ΤΟ ΕΡΓΟΝ ΤΟΥΤΟ. ΕΙΣ ΟΣΑΣ ΔΕ ΟΙΚΙΑΣ ΜΕΤΑΒΑΙΝΩ, ΘΑ ΕΙΣΕΡΧΟΜΑΙ ΠΡΟΣ ΒΟΗΘΕΙΑΝ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ, ΑΠΕΧΩΝ ΠΑΣΗΣ ΕΚΟΥΣΙΑΣ ΑΔΙΚΙΑΣ ΚΑΙ ΆΛΛΗΣ ΔΙΑΦΘΟΡΑΣ ΚΑΙ ΣΑΡΚΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ ΜΕΤΑ ΓΥΝΑΙΚΩΝ Η ΆΝΔΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ.

ΟΣΑ ΔΕ ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑΝ Η ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΝ ΜΟΥ ΜΕΤΑ ΤΩΝ ΆΛΛΩΝ ΆΝΘΡΩΠΩΝ ΕΙΣ ΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗΝ ΤΟΥΣ ΖΩΗΝ, ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΝΑ ΑΝΑΚΟΙΝΩΘΟΥΝ ΕΙΣ ΤΟΥΣ ΆΛΛΟΥΣ, ΘΑ ΚΡΑΤΩ ΜΥΣΤΙΚΑ, ΠΙΣΤΕΥΩΝ ΟΤΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΑΠΟΡΡΗΤΑ. ΕΦ' ΟΣΟΝ ΜΕΝ ΛΟΙΠΟΝ ΤΗΡΩ ΑΥΤΟΝ ΕΔΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟΝ ΚΑΙ ΔΕΝ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΩ, ΕΙΘΕ ΝΑ ΑΠΟΛΑΥΩ ΚΑΙ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΤΕΧΝΗΣ, ΕΚΤΙΜΩΜΕΝΟΣ ΕΞΑΕΙ ΑΠΟ ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΆΝΘΡΩΠΟΥΣ, ΕΑΝ ΟΜΩΣ ΠΑΡΑΒΩ ΑΥΤΟΝ ΚΑΙ ΓΙΝΩ ^{ΕΠΙ}ΟΡΚΟΣ, ΝΑ ΠΑΘΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ ΤΟΥΤΩΝ.

Στους γονείς μου, Θεόδωρο και Μαρία

Στον αδερφό μου, Παναγιώτη

«Οὐκ ἔνι ἰατρικὴν εἰδέναι ὅστις μὴ οἶδεν ὅ τι ἐστὶν ἄνθρωπος»

Ιπποκράτης, 460-377 π.Χ.

Στο σύζυγό μου, Τάσο

Στο γιο μου, Αιμίλιο

Ευχαριστίες

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στη Β΄ Παιδιατρική Κλινική του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, στο Γενικό Νοσοκομείο Παιδών «Π & Α Κυριακού», υπό τη διεύθυνση του Ομότιμου Καθηγητή κ. Δημήτριο Καφετζή, τον οποίο θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ και να φέρω εις πέρας τη μελέτη.

Η συνεργασία με τον Καθηγητή Κλινικής Βιοχημείας και υπεύθυνο του Εργαστηρίου Κλινικής Βιοχημείας και Μοριακής Διαγνωστικής, κ. Δημήτριο Γουργιώτη, αποτέλεσε για μένα μεγάλη τύχη και εξαιρετική τιμή. Η πολύτιμη εμπειρία του, οι εξειδικευμένες γνώσεις του, η συνεχής και αδιάλειπτη παρουσία και καθοδήγησή του όλα αυτά τα χρόνια, σε όλα τα στάδια εκπόνησης της εργασίας αυτής, και ιδιαίτερα η συμβολή του στο εργαστηριακό κομμάτι της μελέτης, εξασφάλισαν τις ευνοϊκότερες προϋποθέσεις για την ολοκλήρωση αυτού του έργου.

Το σύνολο του υλικού της μελέτης αντλήθηκε από το Ιατρείο Διαταραχών των Λιπιδίων της Β΄ Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, υπό την επίβλεψη της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας Παιδιατρικής κ. Αναστασίας Γαρούφη, η οποία ήταν υπεύθυνη για τον συνολικό συντονισμό της παρούσας μελέτης. Θα ήθελα να την ευχαριστήσω θερμά για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπο μου, την αμέριστη βοήθεια και συμπαράσταση, την πολύτιμη διδασκαλία και τη συνεχή ενθάρρυνση που μου παρείχε όλα αυτά τα χρόνια της συνεργασίας μας. Η μαθητεία μου στο πλάι της επηρέασε και εξακολουθεί να επηρεάζει τη στάση μου απέναντι στην επιστημονική γνώση, την έρευνα και την κλινική πράξη.

Νιώθω ευγνωμοσύνη που στην πορεία μου για αυτή τη μελέτη στάθηκαν αρωγοί πολύτιμοι συνεργάτες και θα ήθελα να τους εκφράσω τις ευχαριστίες μου. Πρόκειται για τον μεταδιδάκτορα της Β΄ Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Αντώνη Μαρμαρινό, ο οποίος συνέβαλε καθοριστικά στο πειραματικό μέρος και τη συγγραφή της μελέτης, όπως και για τους στατιστικούς κ. Μιχάλη Κατσούλη και κ. Δέσποινα Καποθανάση για την πολύτιμη βοήθειά τους στη στατιστική ανάλυση των δεδομένων και τη συγγραφή της μελέτης.

Ευχαριστώ επίσης θερμά, την υπεύθυνη του ενδοκρινολογικού ιατρείου, διευθύντρια ΕΣΥ, κ. Αστερούλα Παπαθανασίου, την υπεύθυνη του βιοχημικού εργαστηρίου,

διευθύντρια ΕΣΥ, κ. Ειρήνη Παρασκάκη, την υπεύθυνη του Αιματολογικού εργαστηρίου, διευθύντρια ΕΣΥ, κ. Θεοδώρα Αναστασίου, την υπεύθυνη του ορμονολογικού εργαστηρίου, διευθύντρια ΕΣΥ, κ. Ασπασία Φωτεινού, για την πολύτιμη βοήθειά τους στη συλλογή των δεδομένων της μελέτης.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο και εκ βάθέων ευχαριστώ στην οικογένεια μου, χωρίς την ηθική στήριξη που έλαβα από εκείνους, την πίστη τους σε μένα, και την υπομονή που επέδειξαν όλα αυτά τα χρόνια, θα ήταν αδύνατο να ολοκληρώσω την παρούσα μελέτη.

Πίνακας Περιεχομένων

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	19
B. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	21
1. Καρδιαγγειακά Νοσήματα	23
1.1 Επιδημιολογικά δεδομένα Καρδιαγγειακών Νοσημάτων	23
1.2 Κατηγοριοποίηση καρδιαγγειακών νοσημάτων	27
1.3 Αθηροσκλήρυνση: η υποκείμενη παθολογική διεργασία	30
1.4 Η συμβολή της φλεγμονής στην αθηροσκλήρυνση.....	34
1.4.1 Έναρξη της φλεγμονής στο ενδοθήλιο των αρτηριών.....	35
1.4.2 Δημιουργία των αφρωδών κυττάρων	36
1.4.3 Η συμβολή της ειδικής ανοσίας.....	39
1.4.4 Ο ρόλος των λείων μυϊκών κυττάρων.....	40
2. Λιπίδια και λιποπρωτεΐνες	43
2.1 Χοληστερόλη	44
2.2 Λιποπρωτεϊνικά σύμπλοκα.....	46
2.2.1 Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL)	46
2.2.2 Ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (IDL)	47
2.2.3 Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (HDL)	47
2.2.4 Πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες (τα χυλομικρά, οι VLDL και τα κατάλοιπά τους).....	49
2.2.5 Λιποπρωτεΐνη (α) [Lp(a)]	50
2.3 Απολιποπρωτεΐνες (Apo)	52
2.3.1 Απολιπορωτεΐνη A (ApoA)	52
2.3.2. Απολιποπρωτεΐνη B (ApoB)	53
2.3.3 Απολιποπρωτεΐνη C-II (ApoC-II) και απολιπορωτεΐνη C-III (ApoC-III).....	53
2.3.4. Απολιποπρωτεΐνη E (ApoE)	54
2.4 Ο μεταβολισμός των λιποπρωτεϊνών	56
3. Δυσλιπιδαιμία.....	59
3.1 Η συσχέτιση της δυσλιπιδαιμίας με την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου	60
3.2 Διαγνωστική προσέγγιση δυσλιπιδαιμίας σε παιδιά και εφήβους.....	62
3.2.1 Πρωτοπαθείς δυσλιπιδαιμίες	65
3.2.2 Δευτεροπαθείς δυσλιπιδαιμίες: Ο ρόλος του Σακχαρώδη Διαβήτη.....	67
4. Χρήση νεότερων βιοδεικτών για την εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου .	73
4.1 Ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη (Asymmetric dimethylarginine, ADMA)	74
4.1.1 ADMA: ερευνητικά δεδομένα.....	75
4.2 Η συνδεδεμένη με τις λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A2 (Lipoprotein-associated phospholipase A2, Lp-PLA2).....	81
4.2.1. Lp-PLA2: ερευνητικά δεδομένα	85
Γ. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	93
1. Σκοπός της μελέτης	95
2. Μεθοδολογία – Πληθυσμός της μελέτης.....	97

2.1. Στατιστική ανάλυση	103
3. Αποτελέσματα της μελέτης	105
3.1. Στατιστική ανάλυση μεταξύ των τριών ομάδων παιδιών, με δυσλιπιδαιμία, με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και των μαρτύρων	105
3.2. Στατιστική ανάλυση μεταξύ των ομάδων των παιδιών με δυσλιπιδαιμία και των μαρτύρων	108
3.3. Στατιστική ανάλυση μεταξύ των παιδιών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου Ι και των μαρτύρων	112
4. Συζήτηση αποτελεσμάτων	115
5. Συμπεράσματα της μελέτης	125
6. Περιλήψεις	127
6.1. Περίληψη στα ελληνικά	127
6.2. Περίληψη στα αγγλικά	129
Δ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ	131

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα δημόσιας υγείας των ανεπτυγμένων χωρών και σύγχρονων κοινωνιών. Βάσει της ανάλυσης των διαθέσιμων επιδημιολογικών δεδομένων τα καρδιαγγειακά νοσήματα κατατάσσονται μεταξύ των σημαντικότερων αιτιών θνητότητας και νοσηρότητας του πληθυσμού σε παγκόσμια κλίμακα. Στην πλειοψηφία των περιστατικών η αθηροσκλήρυνση παίζει καθοριστικό ρόλο στους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς εξέλιξης και εκδήλωσης των παθήσεων αυτών. Πλέον είναι γνωστό ότι η διεργασία της αθηροσκλήρυνσης άρχεται από την παιδική ηλικία και εξελίσσεται στη διάρκεια της ενήλικου ζωής, όπου και πιθανότατα εκδηλώνεται συμπτωματολογία. Ο σχηματισμός αθηρωματικής πλάκας και κυρίως η επακόλουθη εκδήλωση συμπτωμάτων θεωρείται ότι αποτελούν όψιμα στάδια για την υποστροφή της νόσου. Για το λόγο αυτό, η διαστρωμάτωση του πληθυσμού και η εντόπιση, το νωρίτερο δυνατό, των ατόμων που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο νόσησης, με σκοπό την παρέμβαση για την αντιμετώπισή της νόσου από τα αρχικά της στάδια, όπου οι βλάβες ενδεχομένως είναι δυνατό να υποστραφούν, αποτελεί πρωτεύοντα στόχο πρόληψης των καρδιαγγειακών νοσημάτων.

Τα μέτρα πρωτογενούς πρόληψης πρέπει να στοχεύουν στην τροποποίηση παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου σε άτομα υψηλού κινδύνου και πρέπει να λαμβάνονται, εφόσον είναι δυνατό, από την παιδική ηλικία, όπου ξεκινά η διαδικασία της ανάπτυξης των αθηρωματικών βλαβών. Μάλιστα η εφαρμογή προληπτικών μέτρων κατά την παιδική ηλικία έχει αποδειχθεί ότι είναι πιο αποτελεσματική και λιγότερο δαπανηρή από την θεραπεία της εγκατεστημένης καρδιαγγειακής νόσου κατά την ενήλικη ζωή. Για το λόγο αυτό, τα τελευταία έτη το ερευνητικό ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας έχει στραφεί στην ανεύρεση νέων παραγόντων, πέραν των κλασικών, που επάγουν την αθηρογένεση και άρα την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων. Το ενδιαφέρον μεταξύ άλλων εστιάζεται στη διερεύνηση νεώτερων βιοδεικτών. Η ανεύρεση πρόσθετων δεικτών θα συμβάλει στον εντοπισμό των ομάδων υψηλού κινδύνου με μεγαλύτερη ακρίβεια και θα συντελέσει στην ασφαλέστερη λήψη απόφασης ιατρικής παρέμβασης, ακόμα και στην παιδική ηλικία.

Μελέτες που έχουν διεξαχθεί κυρίως σε ενήλικο πληθυσμό έχουν αναδείξει την ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη (Asymmetric dimethylarginine, ADMA) και τη συνδεδεμένη με τις λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A2 (Lipoprotein-associated

phospholipase A2, Lp-PLA2) ως σημαντικούς δείκτες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, φλεγμονής και αθηροσκλήρυνσης των αγγείων. Μάλιστα, ο προσδιορισμός των επιπέδων της Lp-PLA2 αίματος συμπεριλήφθηκε στις πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες για την εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου και την απόφαση φαρμακευτικής παρέμβασης. Όσον αφορά τον παιδιατρικό πληθυσμό, οι σχετικές με τα εν λόγω μόρια μελέτες, είναι λιγοστές και τα δεδομένα ανεπαρκή. Στην παρούσα μελέτη διερευνάται ο ρόλος τόσο της ADMA όσο και της Lp-PLA2 στον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου που παρουσιάζουν παιδιά και έφηβοι με δυσλιπιδαιμία. Πρόκειται για την 1^η μελέτη που εξετάζει ταυτόχρονα τη σημασία των εν λόγω βιοδεικτών στις συγκεκριμένες πληθυσμιακές ομάδες. Η σύγχρονη αξιολόγηση όσο το δυνατόν περισσότερων παραγόντων κινδύνου πρώιμης αθηρωματικής και καρδιαγγειακής νόσου θεωρείται πιο αποτελεσματική στην κατηγοριοποίηση του ατομικού καρδιαγγειακού κινδύνου. Η ανίχνευση όσο το δυνατόν περισσότερων μετρήσιμων παραγόντων κινδύνου κατά την παιδική ηλικία θα μπορούσε να συμβάλλει σημαντικά στην πρωτογενή και δευτερογενή πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Δεδομένου του γεγονότος ότι η αγγειακή δυσλειτουργία και η φλεγμονή εμπλέκονται σε σημαντικό βαθμό στη δημιουργία και εξέλιξη των αθηρωματικών βλαβών, ο προσδιορισμός και η συναξιολόγηση βιοδεικτών που συσχετίζονται με την υποκλινική αθηρωματική αγγειακή νόσο, όπως είναι η ADMA και η LpPLA2, είναι εξαιρετικής σημασίας.

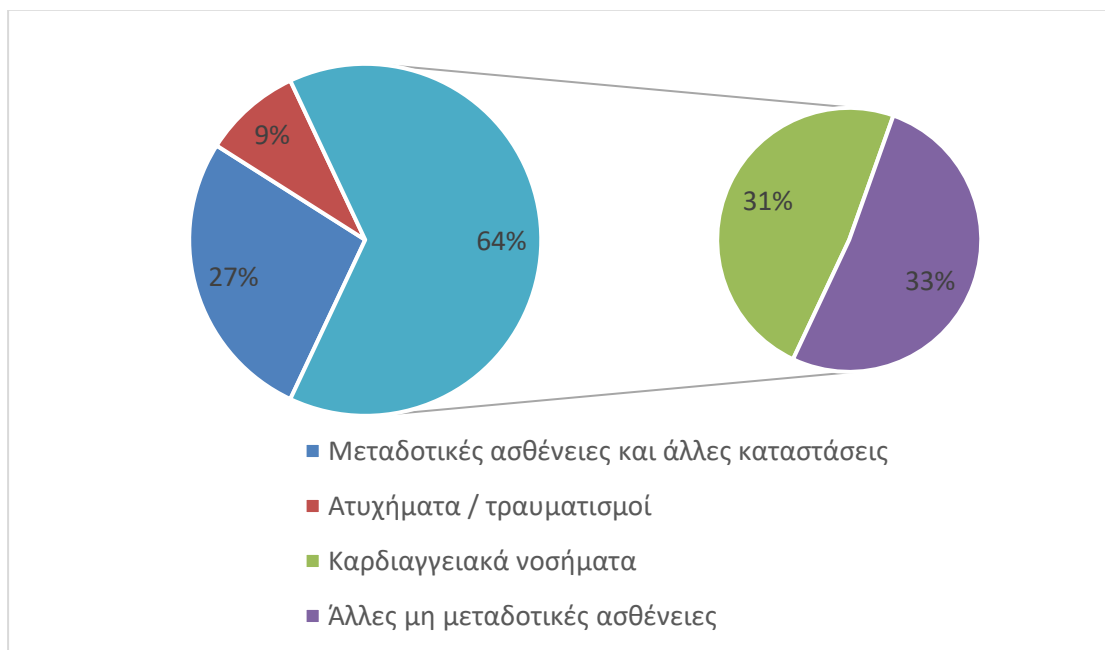
Β. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Καρδιαγγειακά Νοσήματα

1.1 Επιδημιολογικά δεδομένα Καρδιαγγειακών Νοσημάτων

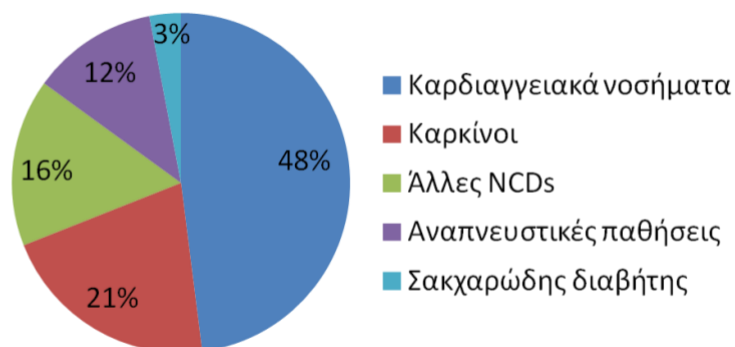
Παρά τις αξιοθαύμαστες κατακτήσεις της επιστήμης τα τελευταία 100 χρόνια, χάρη στις οποίες ο άνθρωπος ερμήνευσε πολυάριθμα φαινόμενα και χειρίστηκε τη φύση με έναν πραγματικά επιδέξιο, αλλά συχνά και αμφιλεγόμενο τρόπο, ένα από τα συναρπαστικότερα μυστήρια παραμένει το ίδιο του το σώμα. Η εξέλιξη στον τομέα των επιστημών υγείας τις τελευταίες δεκαετίες είναι αξιοσημείωτη. Οι γνώσεις της επιστημονικής κοινότητας αναφορικά με τα παθοφυσιολογικά μονοπάτια των νοσημάτων, αυξάνονται με εκθετικούς ρυθμούς. Εντούτοις τα καρδιαγγειακά νοσήματα θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ακόμα και στις μέρες μας, ως μάστιγα, καθώς αποτελούν τη συχνότερη αιτία θανάτου σε παγκόσμιο επίπεδο (**Σχήμα 1**). Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization, WHO, <http://www.who.int/en/>) προειδοποιεί ότι πρέπει άμεσα να ληφθούν μέτρα και να πραγματοποιηθούν στοχευμένες δράσεις παρέμβασης από τους αρμόδιους φορείς δημόσιας υγείας, διαφορετικά τα περιστατικά καρδιαγγειακών νοσημάτων προβλέπεται να έχουν αυξητική πορεία και να συνεχίσουν να κυριαρχούν στις αιτίες θνησιμότητας στο εγγύς και στο απώτερο μέλλον [1].

Σχήμα 1. Κατανομή κυριότερων αιτίων θανάτου [1]

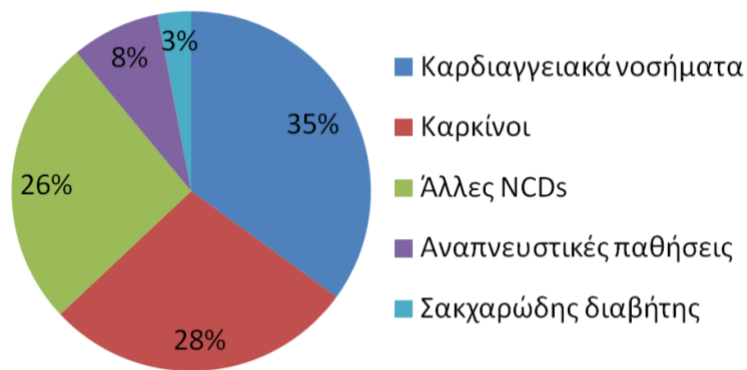


Σύμφωνα με τα πλέον πρόσφατα δημοσιευμένα επιδημιολογικά δεδομένα του WHO για την υφήλιο, το έτος 2012 καταγράφηκαν 56 εκατομμύρια θάνατοι παγκοσμίως, εκ των οποίων 38 εκατομμύρια, παραπάνω από τα δύο τρίτα των θανάτων, αποδόθηκαν σε Μη Μεταδοτικές Ασθένειες (Non Communicable Diseases, NCDs), οι οποίες περιλαμβάνουν κυρίως τα καρδιαγγειακά νοσήματα, τα κακοήγη νεοπλάσματα, τις χρόνιες αναπνευστικές παθήσεις και το σακχαρώδη διαβήτη [2]. Τα 17,5 εκατομμύρια των θανάτων, περίπου το ένα τρίτο του συνολικού αριθμού των θανάτων και το ένα δεύτερο των οφειλόμενων σε NCDs, αποδόθηκαν σε καρδιαγγειακά νοσήματα (**Σχήμα 2**), κυρίως σε ισχαιμική καρδιοπάθεια ή στεφανιαία νόσο και σε αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια [1, 2]. Βάσει των δεδομένων του WHO για το έτος 2008, είναι άξιο λόγου να σημειωθεί ότι περισσότεροι από 3 εκατομμύρια θάνατοι οφειλόμενοι σε καρδιαγγειακά νοσήματα αφορούσαν άτομα ηλικίας μικρότερης των 60 ετών και είναι σχεδόν βέβαιο ότι θα μπορούσαν να είχαν προληφθεί σε σημαντικό βαθμό (**Σχήμα 3**) [1]. Αντίστοιχα για το έτος 2012, τα καρδιαγγειακά νοσήματα ευθύνονταν για το μεγαλύτερο ποσοστό των θανάτων που οφείλονταν σε NCDs μεταξύ των ατόμων ηλικίας μικρότερης των 70 ετών (**Σχήμα 4**) [2]. Στην Ευρωπαϊκή ένωση τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι υπεύθυνα για το 42% των θανάτων και τοποθετούνται στην κορυφή της λίστας των αιτιών θανάτου. Στην Ελλάδα η ετήσια θνησιμότητα από καρδιαγγειακές παθήσεις είναι 281,1/100000 άνδρες και 105,5/100000 γυναίκες ηλικίας 35-74 ετών [3], ενώ το κόστος τους σε εθνικό επίπεδο υπολογίζεται σε 7,5 δισεκατομμύρια ευρώ ετησίως [4].

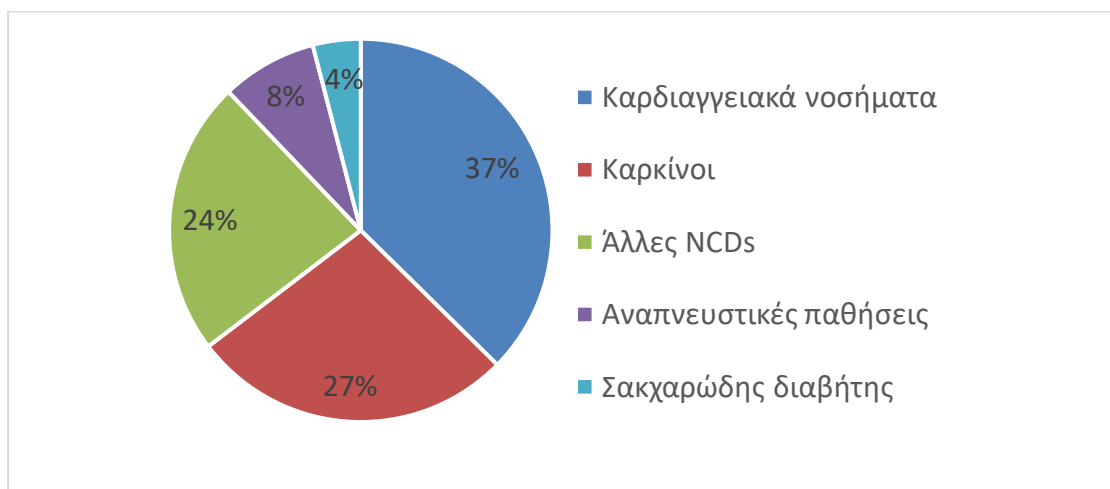
Σχήμα 2. Κατανομή θανάτων λόγω Μη Μεταδοτικών Ασθενειών (NCDs) [1]



Σχήμα 3. Κατανομή θανάτων λόγω Μη Μεταδοτικών Ασθενειών (NCDs) σε άτομα ηλικίας μικρότερης των 60 ετών [1]



Σχήμα 4. Κατανομή θανάτων λόγω Μη Μεταδοτικών Ασθενειών (NCDs) σε άτομα ηλικίας μικρότερης των 70 ετών [2]



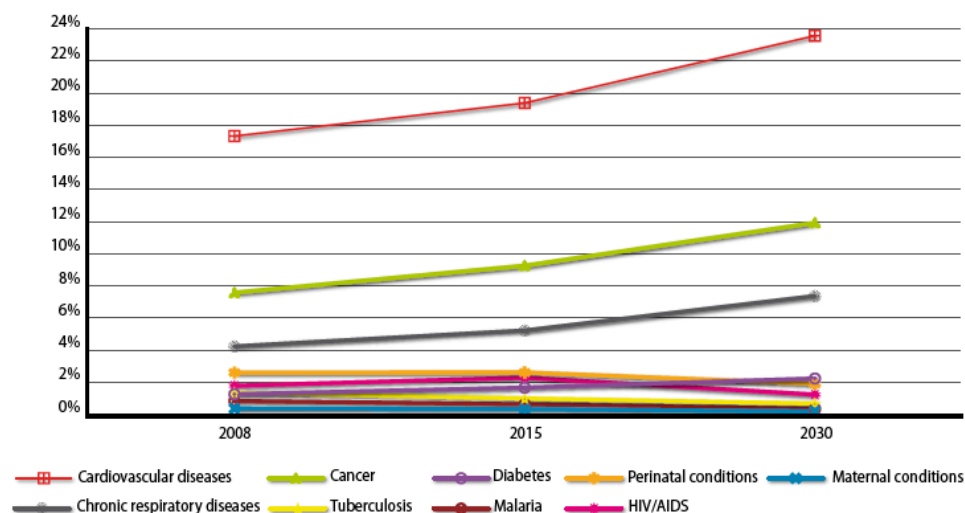
Στις σύγχρονες κοινωνίες τα καρδιαγγειακά νοσήματα και οι παράγοντες κινδύνου για την εκδήλωσή τους, εκτός από κορυφαία αιτία θανάτου, αποτελούν εξίσου σημαντική πηγή νοσηρότητας. Σύμφωνα με δείκτες εκτίμησης του φορτίου λόγω νοσηρότητας ή/και πρώιμης θνησιμότητας σε παγκόσμιο επίπεδο, υπολογίζεται ότι το 68% των 751 εκατομμυρίων ετών παραγωγικής ζωής που "χάνονται" λόγω ασθένειας ή αναπηρίας (YLD¹) παγκοσμίως, οφείλεται σε NCDs. Επίσης, το 10% του παγκόσμιου φορτίου (DALYs²) αποδίδεται σε καρδιαγγειακά νοσήματα [5,6].

¹ YLD: Years of productive life Lost due to Disability/Disease for people living with the health condition or its consequences

² Τα αναπροσαρμοσμένα λόγω αναπηρίας έτη ζωής (DALYs: Disability Adjusted Life Years) είναι ένας δείκτης εκτίμησης του συνολικού φορτίου λόγω νοσηρότητας και πρώιμης θνησιμότητας με σκοπό τη σύγκριση της κατάστασης της υγείας και του προσδόκιμου επιβίωσης μεταξύ διαφορετικών πληθυσμών. Συγκεκριμένα εκφράζει το άθροισμα των ετών που πιθανότατα χάνονται εξαιτίας ασθενειών, αναπηριών και πρόωρων θανάτων (DALY = YLL + YLD, όπου YLL: Years of Life Lost due to premature mortality)

Οι προβλέψεις για το μέλλον αναφορικά με την επίπτωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι δυσοίωνες. Ο αριθμός των ατόμων οι οποίοι εκτιμάται ότι θα υποστούν ένα θανατηφόρο καρδιαγγειακό επεισόδιο, κυρίως οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ή αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, υπολογίζεται να ξεπεράσει τα 23 εκατομμύρια το έτος 2030 (**Σχήμα 5**). Ωστόσο υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι η πρωτογενής πρόληψη σε επίπεδο γενικού πληθυσμού καθώς και οι εξατομικευμένες στρατηγικές παρέμβασης δύνανται να συμβάλλουν στη δραστική μείωση της συχνότητας εμφάνισης αυτών των νοσημάτων. Λαμβάνοντας υπόψη τα προαναφερθέντα στοιχεία καθίσταται σαφές ότι σε παγκόσμια κλίμακα τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν ένα από τα σημαντικότερα ζητήματα δημόσιας υγείας του παρόντος και του μέλλοντος [2,7].

Σχήμα 5. Προβλεπόμενες τάσεις θνησιμότητας λόγω καρδιαγγειακών νοσημάτων, μεταδοτικών και μη ασθενειών (NCDs) μέχρι το έτος 2030 [7]



1.2 Κατηγοριοποίηση καρδιαγγειακών νοσημάτων

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα συνιστούν μία ευρεία ομάδα νοσολογικών οντοτήτων, οι οποίες περιλαμβάνουν τις παθήσεις που αφορούν την καρδιά και τα αιμοφόρα αγγεία που αρδεύουν τον εγκέφαλο και το υπόλοιπο σώμα. Οι υποκείμενες καταστάσεις που οδηγούν στην εμφάνιση των συγκεκριμένων νοσημάτων εξελίσσονται συνήθως βραδέως, στη διάρκεια ετών ή δεκαετιών, ενώ τα συμπτώματά τους οφείλονται σε διαταραχή της καρδιακής λειτουργίας ή/και σε αγγειακή βλάβη (απόφραξη του αυλού ή ρήξη του αγγειακού τοιχώματος). Οι κλινικές τους εκδηλώσεις εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία, είναι δυναμικές και εξαρτώνται από το προσβεβλημένο όργανο και την υποκείμενη παθοφυσιολογία.

Τα αίτια των καρδιαγγειακών παθήσεων είναι πολυπαραγοντικά και συχνά δεν είναι δυνατόν να γίνει σαφής διαχωρισμός μεταξύ τους, καθώς σε ένα μεγάλο βαθμό είναι αλληλεμπλεκόμενα. Για παράδειγμα, παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακών νοσημάτων θεωρούνται γενετικοί (π.χ. αορτικό ανεύρυσμα σε σύνδρομο Marfan), συγγενείς (συγγενείς καρδιοπάθειες), συνήθειες διαβίωσης (ανθυγιεινή διατροφή, κάπνισμα, στρες κ.λπ), περιβαλλοντικοί (π.χ. ατμοσφαιρική ρύπανση [8]), εκφυλιστικές παθήσεις (οι περισσότερες περιπτώσεις νόσου του φλεβόκομβου [9]), ενδοκρινικές παθήσεις (π.χ. θυρεοτοξίκωση), φλεγμονώδη νοσήματα (π.χ. νόσος Kawasaki), λοιμώδη νοσήματα (μικροβιακή ή ιογενής μυοκαρδίτιδα), ακόμη και νεοπλασματικές νόσοι (π.χ. φαιοχρωμοκύττωμα). Ωστόσο, για τη σύγχρονη μάστιγα των καρδιαγγειακών νοσημάτων, δύο είναι οι κατεξοχήν υπεύθυνες αιτίες, η αρτηριακή υπέρταση και κυρίως η αθηροσκλήρυνση.

Στην πλειοψηφία των περιστατικών η αθηροσκλήρυνση συμβάλλει καθοριστικά στους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς εξέλιξης και εκδήλωσης των παθήσεων αυτών. Για το λόγο αυτό, οι κυριότερες κατηγορίες καρδιαγγειακών νοσημάτων μπορούν να κατηγοριοποιηθούν περαιτέρω, ανάλογα με την συμβολή της αθηροσκλήρυνσης στο παθοφυσιολογικό υπόβαθρο, όπως περιγράφεται ακολούθως:

1. Καρδιαγγειακά νοσήματα τα οποία οφείλονται σε αθηροσκλήρυνση

- ισχαιμική καρδιοπάθεια ή στεφανιαία νόσος
(π.χ. οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου)
- αγγειακή εγκεφαλική νόσος

(π.χ. αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο)

- παθήσεις των αγγείων, στα οποία συμπεριλαμβάνονται η υπέρταση και η περιφερική αγγειακή νόσος

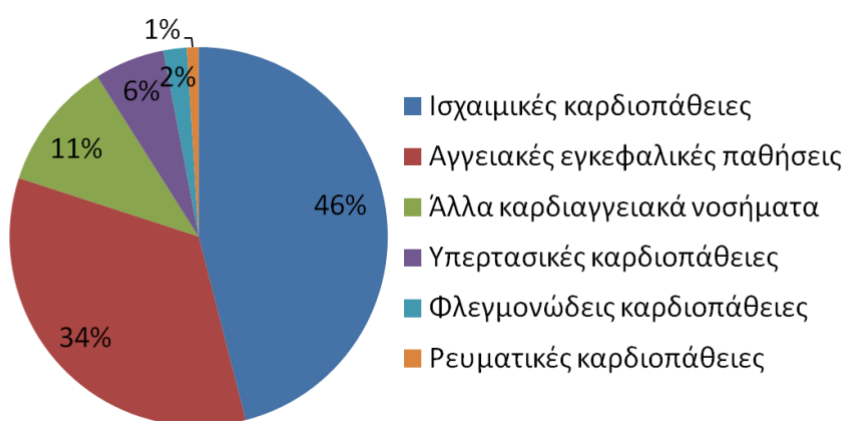
(π.χ. φλεβοθρόμβωση άκρου)

2. Άλλα καρδιαγγειακά νοσήματα

- συγγενείς καρδιοπάθειες
- ρευματική καρδιοπάθεια
- μυοκαρδιοπάθειες
- καρδιακές αρρυθμίες

Σύμφωνα με στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, η συντριπτική πλειοψηφία των περιστατικών καρδιαγγειακών νοσημάτων αφορά σε εκδηλώσεις ισχαιμικής καρδιοπάθειας και σε αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια (**Σχήμα 6 & 7**) [1]. Συνεπώς, η πρόληψη των συγκεκριμένων ομάδων καρδιαγγειακών νοσημάτων με στόχευση στην αντιμετώπιση της αθηροσκλήρυνσης, ως υποκείμενης παθολογικής διεργασίας, αποτελεί βασική προτεραιότητα για την προαγωγή και την προστασία της δημόσιας υγείας.

Σχήμα 6. Κατανομή θανάτων λόγω καρδιαγγειακών νοσημάτων σε άνδρες



Σχήμα 7. Κατανομή θανάτων λόγω καρδιαγγειακών νοσημάτων σε γυναίκες



1.3 Αθηροσκλήρυνση: η υποκείμενη παθολογική διεργασία

Η αθηροσκλήρυνση αποτελεί μία χρόνια εξελισσόμενη νόσο με συμμετοχή της φυσικής ανοσίας και μίας χρόνιας υποκλινικής φλεγμονής, με επιπτώσεις οι οποίες είναι δυναμικές και εκδηλώνονται σε βάθος χρόνου. Η διεργασία της αθηροσκλήρυνσης άρχεται από την παιδική ηλικία, χωρίς την εκδήλωση συμπτωμάτων, και εξελίσσεται στη διάρκεια της ενηλίκου ζωής όπου και πιθανότατα εκδηλώνεται. Το εύρος των εκδηλώσεων κυμαίνεται από την πλήρη απουσία κλινικών σημείων και συμπτωμάτων μέχρι τον αιφνίδιο θάνατο, γεγονός το οποίο καταδεικνύει ότι η αθηροσκλήρυνση συμβάλλει ως υποκείμενη διαταραχή σε ένα μεγάλο ποσοστό κλινικών προβλημάτων. Ο σχηματισμός αθηρωματικής πλάκας και κυρίως η επακόλουθη εκδήλωση συμπτωμάτων, θεωρείται ότι ενδεχομένως αποτελούν όψιμα στάδια για την υποστρόφη της νόσου. Η γνώση ότι οι διαδικασίες σχηματισμού αθηρωματικής πλάκας έχουν εναρκτήριο λάκτισμα στην παιδική ηλικία, καθιστά αναγκαία την αναγνώριση των παραγόντων που προάγουν την αθηροσκλήρυνση, ώστε να αποτελέσουν την αφετηρία για την αντιμετώπισή της νόσου από τα αρχικά της στάδια [10].

Στην αθηροσκλήρυνση η χρόνια παθολογοανατομική διεργασία των αρτηριών, η οποία αφορά κυρίως τις μεγάλες και μέσου μεγέθους αρτηρίες, χαρακτηρίζεται από τη δημιουργία διάσπαρτων βλαβών στην υπενδοθηλιακή περιοχή τους και συγκεκριμένα στον έσω αρτηριακό χιτώνα. Οι βλάβες αυτές είναι γνωστές ως αθηρωματικές πλάκες και αποτελούνται κατά κύριο λόγο από εξωκυττάριας εναποθέσεις λιπιδίων, κυττάρων, συστατικών του συνδετικού ιστού και κυτταρικών συντριμμίων [11]. Σύμφωνα με την κλασική θεώρηση της αθηρογένεσης, η αθηροσκλήρυνση είναι αποτέλεσμα της συνδρομής κυρίως γενετικών, περιβαλλοντικών, μεταβολικών και ορμονικών διαταραχών, όπως έχει διαφανεί από επιδημιολογικές παρατηρήσεις και πειραματικά μοντέλα. Εν τέλει, η πολλαπλότητα των αιτίων της αθηροσκλήρυνσης συνοψίζεται στους λεγόμενους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, οι οποίοι διακρίνονται σε τροποποιήσιμους και μη, σε «κλασικούς» και «νεότερους», η λίστα των οποίων συνεχώς διευρύνεται (**Πίνακας 1**) [12-16].

Πίνακας 1. Παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου

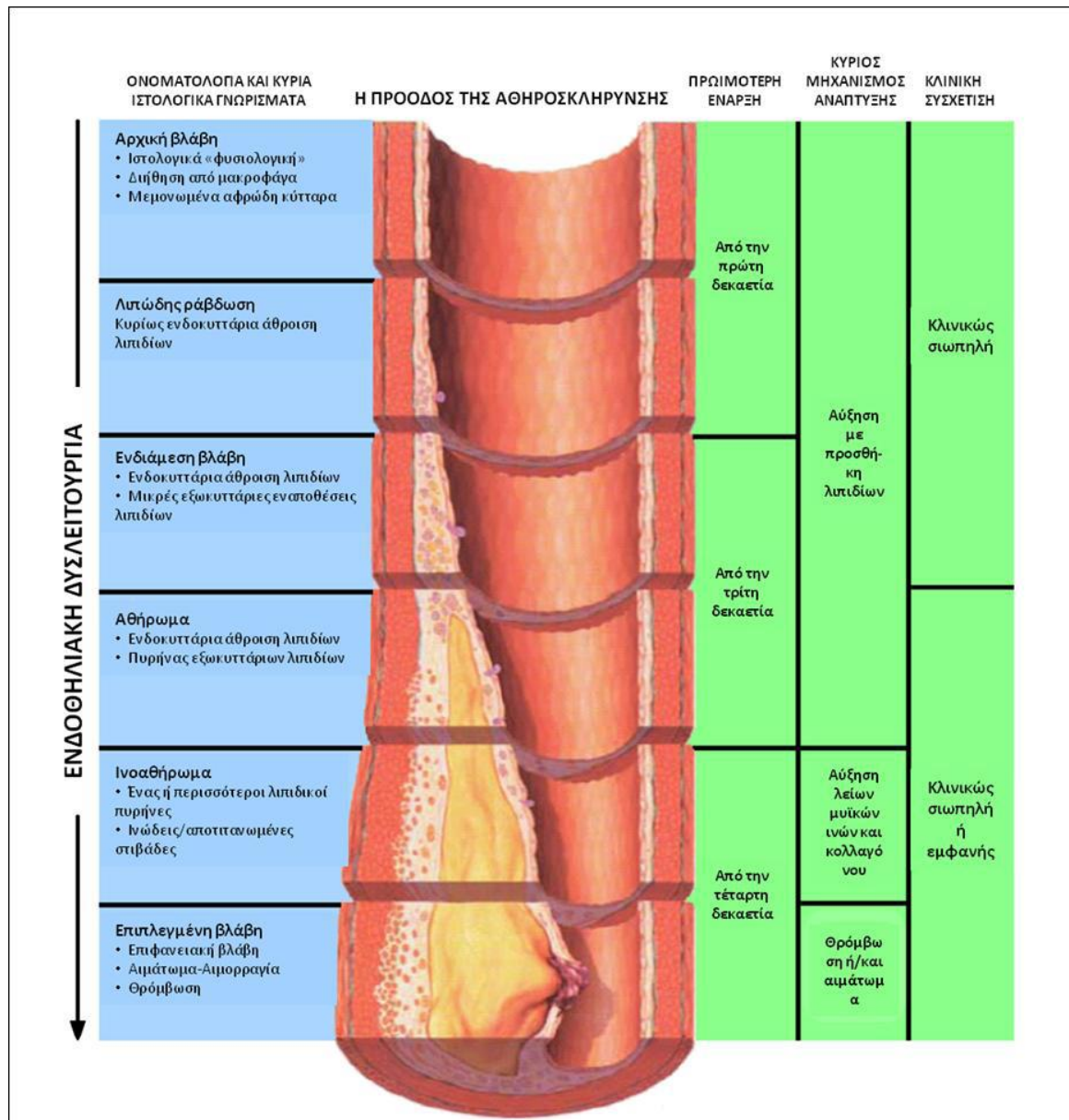
(Σημειώνεται ότι η καταγραφή των «νεότερων» παραγόντων κινδύνου είναι ενδεικτική και όχι εξαντλητική καθώς και ότι η σειρά απαρίθμησης των παραγόντων είναι τυχαία και δε σχετίζεται με τη σημαντικότητά τους.)

Κλασικοί παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου	Ηλικία
	Άρρεν φύλο
	Οικογενειακό ιστορικό πρώιμης στεφανιαίας νόσου*
	Κάπνισμα
	Έλλειψη φυσικής άσκησης
	Σακχαρώδης διαβήτης
	Δυσλιπιδαιμία
	Αρτηριακή υπέρταση
	Παχυσαρκία
	Στρες
Νεότεροι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου	Διαταραχή ανοχής γλυκόζης
	Υπερομοκυστεϊναιμία
	Υπερουριχαιμία
	Διαταραχές απολιποπρωτεϊνών A, B, E
	Υψηλή Lp(a)
	Προθρομβωτικοί παράγοντες
	Υψηλή CRP
	Προφλεγμονώδεις παράγοντες
	Lp-PLA2
	Υψηλά επίπεδα ADMA
Lp(a): Lipoprotein (a) (λιποπρωτεΐνη (a)), CRP: C-Reactive Protein (C αντιδρώσα πρωτεΐνη), Lp-PLA2: Lipoprotein-associated Phospholipase A2 (Σχετιζόμενη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A2), ADMA: Asymmetric dimethyl-arginine (ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη),	
*Συνήθως ορίζεται ως ιστορικό στεφανιαίας νόσου σε άρρενες και θήλεις συγγενείς 1ου βαθμού, νεότερους από 55 και 65 ετών, αντιστοίχως.	

Στην πρώιμη φάση της αθηρογένεσης, η οποία ξεκινά από τη νεαρή ηλικία ως εντοπισμένες βλάβες, εμφανίζονται υπεργέρσεις του ενδοθηλίου οι οποίες ονομάζονται λιπώδεις γραμμώσεις και αδρά αντιστοιχούν σε υπενδοθηλιακή ενδοκυττάρια άθροιση λιπιδίων. Αν οι βλάβες δεν υποστραφούν και συνεχιστεί η εναπόθεση λιπιδίων, είναι δυνατό να δημιουργηθούν εξωκυττάρια αθροίσεις λιπιδίων οι οποίες βαθμιαία συρρέουν, ώστε σε συνδυασμό με την αντίδραση από το εγγύς αρτηριακό τοίχωμα να εξελιχθούν σε αθηρωματικές πλάκες. Οι πλάκες περιβάλλονται από μια ινώδη κάψα στην οποία μπορεί να γίνει εναπόθεση ασβεστίου, δηλαδή να αποτιτανωθεί, καθιστώντας την πλάκα εύθραυστη (**Εικόνα 1**) [17].

Οι πλάκες καθώς προβάλλουν μέσα στον αυλό των αρτηριών και βαθμιαία μεγεθύνονται, περιορίζουν τη διάμετρο του αυλού με συνέπεια την παρεμπόδιση της ροής αίματος και τελικά τη μείωση της παροχής στους αρδευόμενους ιστούς, ιδίως σε συνθήκες αυξημένων απαιτήσεων σε οξυγόνο. Η κλινική εκδήλωση αυτής της παθολογοανατομικής διεργασίας μπορεί να είναι πόνος ή δυσφορία που σχετίζεται με τη δραστηριότητα του ατόμου και τις ανάγκες του οργανισμού σε οξυγόνο, όπως για παράδειγμα η σταθερή στηθάγχη και η αγγειακή διαλείπουσα χωλότητα. Άλλες φορές, η αλλοίωση του ενδοθηλίου που καλύπτει την πλάκα έχει ως συνέπεια την τοπική συσσώρευση και ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων με τη δημιουργία θρόμβου, ο οποίος μπορεί να επιφέρει οξέως μερική ή πλήρη απόφραξη του αγγείου. Εναλλακτικά, η ρήξη της επιφάνειας της πλάκας λόγω ευθραυστότητας μπορεί να οδηγήσει σε παράσυρση από την αιματική ροή, αθηρωματικού υλικού ή θρόμβων, οι οποίοι να προκαλέσουν αρτηριακή εμβολή περιφερικότερα. Σε αυτές τις περιπτώσεις εμφανίζεται πόνος ή/και λειτουργική διαταραχή λόγω της αιφνίδιας ισχαιμίας, ενώ αν δεν αποκατασταθεί η αιματική ροή μπορεί να δημιουργηθεί έμφρακτο και να επέλθει ιστική νέκρωση, π.χ. οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου ή ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο. Τέλος, στο πλαίσιο της αθηροσκλήρυνσης μπορεί να δημιουργηθούν ανευρύσματα των ελαστικού τύπου αρτηριών ή διαχωρισμοί του τοιχώματός τους με βαριές συνέπειες, ιδίως εφόσον επισυμβεί η ρήξη τους [11, 17].

Εικόνα 1. Τα στάδια της εξέλιξης της αθηρωματικής πλάκας από τη λιπώδη γράμμωση μέχρι την επιπλεγμένη πλάκα



1.4 Η συμβολή της φλεγμονής στην αθηροσκλήρυνση

Σταθμός στην κατανόηση των διαδικασιών αθηρογένεσης και της εγκατάστασης της αθηροσκλήρυνσης υπήρξε η συνειδητοποίηση ότι η νοσολογική αυτή οντότητα δεν αποτελεί απλώς ένα παθητικό και νομοτελειακό φαινόμενο γήρανσης που σχετίζεται με την εναπόθεση λιπιδίων στο αρτηριακό τοίχωμα. Αντίθετα, συνιστά μια ενεργητική και δυναμική διαδικασία στην οποία συμμετέχουν πληθώρα κυττάρων και μορίων, πολλά από τα οποία ανήκουν ή παράγονται και από το ανοσοποιητικό σύστημα, με αποτέλεσμα η διαδικασία της αθηρογένεσης να θεωρείται εν μέρει μία φλεγμονώδης διεργασία [18]. Ο κεντρικός ρόλος που διαδραματίζει η φλεγμονή στην αθηροσκλήρυνση υποστηρίζεται από επιδημιολογικές παρατηρήσεις, αλλά κυρίως από μελέτες που περιγράφουν τα παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά της πλάκας στα διάφορα στάδια εξέλιξής της, καθώς και τις συνέπειες που έχει ο χειρισμός γονιδίων που σχετίζονται με τη φλεγμονή σε γενετικά τροποποιημένα πειραματόζωα με τάση για αθηρωμάτωση.

Η φλεγμονή φαίνεται να πυροδοτεί την έναρξη της αθηρωματικής επεξεργασίας, να συμβάλλει στην εξέλιξη των αθηρωματικών βλαβών και να συντελεί στην ευθρυπτότητα των αθηρωματικών πλακών με αποτέλεσμα την εύκολη ρήξη τους. Η αιτιολογική και αμφίδρομη συσχέτιση της φλεγμονής με την αθηρωμάτωση και το γεγονός ότι, η αλληλεπίδραση ανάμεσα στο μεταβολισμό των λιπιδίων, στις κυτταροκίνες και στην κυτταρική ανοσία μέσα στα τοιχώματα των αρτηριών παίζει πολύ σημαντικό ρόλο, καθιστά φανερό, ότι η αναστολή της φλεγμονώδους διεργασίας με άλλο τρόπο, εκτός της κλασικής πρακτικής που στοχεύει στην ελάττωση των επιπέδων χοληστερόλης, θα μπορούσε, ίσως, να δώσει πολύ καλά θεραπευτικά αποτελέσματα [19, 20]. Όσον αφορά την παιδική ηλικία, μελέτες σε παιδιά κατέγραψαν παρόμοια αποτελέσματα για τη σημασία των δεικτών φλεγμονής στην τάση για αθηροσκλήρωση, γεγονός που ενισχύει τη θεωρία ότι φλεγμονή και αθηροσκλήρυνση είναι άρρηκτα συνδεδεμένες ήδη από την παιδική ηλικία [10, 21, 22].

Συγκεκριμένα, σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Ελλάδα σε 55 υγιή παιδιά, εκ των οποίων 30 είχαν θετικό οικογενειακό ιστορικό πρώιμης στεφανιαίας νόσου και 25 είχαν ελεύθερο οικογενειακό ιστορικό, διαπιστώθηκε ότι τα παιδιά της πρώτης ομάδας παρουσίαζαν υψηλότερα επίπεδα των φλεγμονωδών κυττοκινών IL-

1a, IL-6 και TNFα στο υπερκείμενο υγρό καλλιιεργειών μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος, καθώς και υψηλότερα επίπεδα CRP, σε σύγκριση με τα παιδιά της δεύτερης ομάδας. Τα ευρήματα αυτά είναι ενδεικτικά της παρουσίας φλεγμονώδους διαδικασίας στα παιδιά με θετικό οικογενειακό ιστορικό και πιθανότατα συνηγορούν υπέρ της έναρξης της φλεγμονώδους διαδικασίας, ήδη από την παιδική ηλικία, στο πλαίσιο της αθηροσκλήρυνσης, σε άτομα με γενετική προδιάθεση [23].

1.4.1 Έναρξη της φλεγμονής στο ενδοθήλιο των αρτηριών

Σύμφωνα με την επικρατέστερη θεωρία για την αθηρογένεση, η παθολογοανατομική διαδικασία ξεκινά με την υπενδοθηλιακή εναπόθεση μορίων λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (Low density lipoprotein, LDL), κυρίως σε περιπτώσεις υπερχοληστερολαιμίας. Η συγκράτηση της LDL στο αρτηριακό τοίχωμα φαίνεται να ευνοείται από μοριακές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στην απολιποπρωτεΐνη ApoB100, η οποία αποτελεί βασικό συστατικό των σωματιδίων LDL, και σε πρωτεογλυκάνες του τοιχώματος [24]. Η παρουσία της LDL στον έσω αρτηριακό χιτώνα, ιδίως των οξειδωμένων μορφών της, προάγει τη μεταγραφή γονιδίων στα ενδοθηλιακά κύτταρα υπεύθυνων για την έκφραση προφλεγμονωδών κυττάρων όπως της IL-8 και της χημειοτακτικής πρωτεΐνης των μονοκυττάρων-1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1, MCP-1) [25, 26]. Η υπεροξειδωση των λιπιδίων στο εσωτερικό των λιποπρωτεϊνών είναι πιθανότατα αποτέλεσμα φλεγμονής, η οποία όμως δεν εξαρτάται από τη θέση της αθηρωματικής βλάβης αφού μπορεί να λαμβάνει χώρα σε θέσεις μακράν της βλάβης, στις οποίες δρουν οξειδωτικοί παράγοντες, όπως για παράδειγμα η λευκοκυτταρική μυελοϋπεροξειδάση σε θέσεις βακτηριακής φλεγμονής [27].

Επίσης, έναυσμα για την έναρξη της αθηροσκληρωτικής εξεργασίας αποτελεί η κάθε είδους διαταραχή στη δομική ή λειτουργική συνέχεια του ενδοθηλίου. Έτσι λοιπόν, οι αθηρωματικές βλάβες δείχνουν ιδιαίτερη προτίμηση εντόπισης σε ορισμένες θέσεις του αρτηριακού δικτύου, όπως οι διακλαδώσεις, οι διχασμοί και οι κυρτές πλευρές στις αρτηριακές καμπές. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στις ιδιαίτερες ρεολογικές και αιμοδυναμικές συνθήκες που αναπτύσσονται στις θέσεις αυτές. Συγκεκριμένα, στα σημεία ανάπτυξης των αθηρωματικών βλαβών διαπιστώνεται διαμόρφωση βραδένων δευτερογενών ροών και ροών επανακυκλοφορίας, χαμηλές ταχύτητες και χαμηλή τοιχωματική διατμητική τάση. Η έκθεση των ενδοθηλιακών κυττάρων σε τέτοιες

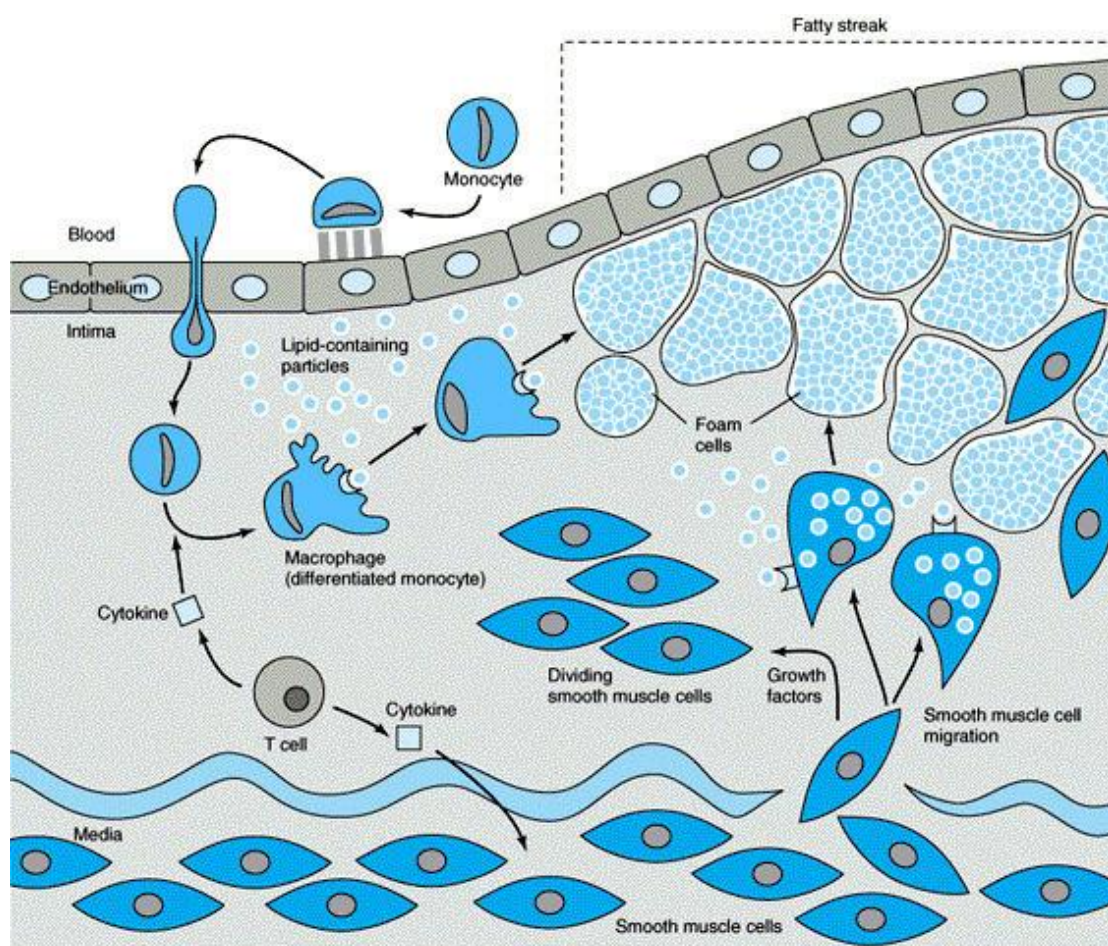
αιμορροεολογικές τοπικές συνθήκες (μειωμένη διατμητική και αυξημένη ταλαντωτική τάση) προάγει τη μεταγραφή προφλεγμονωδών γονιδίων, αλλά και μορίων προσκόλλησης στην επιφάνειά τους, όπως το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1, ICAM-1) και το αγγειακό κυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1, VCAM-1) [28]. Συνεπώς, η εναπόθεση λιπιδίων, κυρίως οξειδωμένων, σε συνδυασμό με τις ιδιαίτερες αιμοδυναμικές συνθήκες που επικρατούν κατά τόπους στο αρτηριακό δίκτυο, εκκινούν μια φλεγμονώδη απάντηση από το ενδοθήλιο (**Εικόνα 2**). Επιπλέον, η ενδοθηλιακή αλλοίωση και η έκθεση υποενδοθηλιακού ιστού στο αίμα που κυκλοφορεί προκαλεί συνάθροιση, συγκόλληση και ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Τα αιμοπετάλια αλληλεπιδρούν με τα ενδοθηλιακά κύτταρα στη θέση της μελλοντικής αθηρωματικής βλάβης συνδεόμενα με τα τελευταία μέσω των γλυκοπρωτεϊνών τους Ibα και IIb/IIIa. Η σύνδεση αυτή συμπίπτει με τη μεταγραφή προφλεγμονωδών γονιδίων στα ενδοθηλιακά κύτταρα και προηγείται της εισβολής λευκοκυττάρων στον έσω χιτώνα [29].

1.4.2 Δημιουργία των αφρωδών κυττάρων

Η έκφραση μορίων προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα, όπως το ICAM-1, το VCAM-1 και το πρόσδεμα της L-σελεκτίνης διευκολύνουν την προσκόλληση των λευκοκυττάρων που κυκλοφορούν στο αίμα, κυρίως μονοκυττάρων και λεμφοκυττάρων, στα ενδοθηλιακά κύτταρα [30, 31]. Η παραγωγή χημειοτακτικών ουσιών, όπως η MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1) και άλλων χημειοκινών, ευοδώνει την προσέλκυση και τη διείσδυση των κυττάρων αυτών μέσω του ενδοθηλίου στον έσω χιτώνα των αρτηριών, όπου με την επίδραση του παράγοντα σχηματισμού αποικιών των μακροφάγων (Macrophage Colony Stimulating Factor, M-CSF) τα μονοκύτταρα διαφοροποιούνται προς μακροφάγα [32-34] (**Εικόνα 2**).

Εικόνα 2. Σχηματισμός μίας λιπώδους γράμμωσης σε μία αρτηρία: Μετά από τραυματισμό του αγγείου, τα μονοκύτταρα προσφύονται στο ενδοθήλιο και στη συνέχεια το διαπερνούν ώστε να εισέλθουν στον υπενδοθηλιακό χώρο. Εκεί μετατρέπονται σε ενεργοποιημένα μακροφάγα των ιστών, τα οποία προσλαμβάνουν τις οξειδωμένες LDL και έτσι μετατρέπονται τελικά σε αφρώδη κύτταρα. Τα T κύτταρα απελευθερώνουν κυτταροκίνες, οι οποίες ενεργοποιούν τα μακροφάγα και αναγκάζουν τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών να πολλαπλασιαστούν. Υπό την

επίδραση των αυξητικών παραγόντων τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών μετακινούνται στον υπενδοθηλιακό χώρο, όπου παράγουν κολλαγόνο και προσλαμβάνουν τις LDL, με αποτέλεσμα να μετατρέπονται και αυτά σε αφρώδη κύτταρα. Στα όρια της βλάβης με το περίξ υγιές αρτηριακό τοίχωμα η φλεγμονή συνεχίζεται με την εναπόθεση LDL, την άθροιση κυττάρων της φλεγμονής και τη βαθμιαία επέκταση της βλάβης



Source: McPhee SJ, Papadakis MA: *Current Medical Diagnosis and Treatment* 2011, 50th Edition: <http://www.accessmedicine.com>

Προϋπόθεση για τη μετατροπή ενός μονοκυττάρου σε λιπιδιοφάγο μακροφάγο, αποτελεί η έκφραση στην επιφάνεια του μονοκυττάρου ενός εξειδικευμένου τύπου υποδοχέα των οξειδωμένων μορίων LDL, γνωστού ως "υποδοχέας εκκαθαριστής" (scavenger receptors, SR), ο οποίος διαφέρει από τους κλασικούς υποδοχείς της LDL. Οι SR είναι μια ομάδα υποδοχέων που εκφράζονται σε κύτταρα της μυελικής σειράς (μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα), αλλά και ορισμένα ενδοθηλιακά κύτταρα και παίζουν σημαντικό ρόλο στην κάθαρση μη χρήσιμων στοιχείων του οργανισμού, όπως τροποποιημένα μόρια (π.χ. οξειδωμένη LDL) και αποπτωτικά κύτταρα, αλλά

και μικρόβια και μικροβιακά προϊόντα [35]. Περισσότερο από το 90% της πρόσληψης της οξειδωμένης LDL από τα μακροφάγα πραγματοποιείται μέσω των υπότυπων SR-A και CD36 των υποδοχέων εκκαθάρισης. Η άθροιση οξειδωμένων μορίων LDL στο κυτταρόπλασμα των μακροφάγων προκαλεί τη διόγκωση των μακροφάγων και τελικά τη μετατροπή τους σε αφρώδη κύτταρα (foam cells) [36, 37]. Η άθροιση των αφρωδών κυττάρων κατά μήκος της αρχικής ενδοθηλιακής βλάβης σχηματίζει απεικονιστικά τη λιπώδη γράμμωση, η οποία είναι χαρακτηριστική της εξελισσόμενης αρτηριοσκλήρυνσης (**Εικόνα 2**).

Επίσης, η οξειδωμένη LDL αποτελεί πρόσδεμα για υποδοχείς της μη ειδικής ανοσίας και συγκεκριμένα τους υποδοχείς τύπου Toll (Toll-like receptors, TLR) οι οποίοι βρίσκονται στην επιφάνεια φλεγμονωδών κυττάρων, ιδίως αυτών με αντιγονοπαρουσιαστική δράση, όπως τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα, αλλά και σε ενδοθηλιακά κύτταρα. Η σύνδεση των TLR με τα προσδέματά τους, πυροδοτεί ένα πλήθος αντιδράσεων μεταξύ των οποίων και την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών [36]. Η έκφραση των TLR-1, -2 και -4 βρέθηκε αυξημένη σε ανθρώπινες αθηροσκληρωτικές βλάβες στις οποίες τα μακροφάγα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι οι κύριοι εκφραστές των συγκεκριμένων υποδοχέων, ενώ παράλληλα παρουσιάζουν και ενεργοποίηση του γενετικού μονοπατιού NFκB, ένδειξη φλεγμονώδους ενεργοποίησης των κυττάρων [38]. Επιπλέον, η εγκόλπωση της οξειδωμένης LDL από τα μακροφάγα οδηγεί σε περαιτέρω έκκριση χημειοκινών, παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου, αλλά και έκφραση κυτταροκινών, όπως ο TNFα (Tumor Necrosis Factor α, Παράγοντας νέκρωσης όγκων α), η IL-1β, -6 και -10 (Interleukins, Ιντερλευκίνες) [39, 40]. Οι ουσίες αυτές ευαισθητοποιούν ακόμα περισσότερο το υπερκείμενο ενδοθήλιο και ευνοούν την προσέλκυση περισσότερων φλεγμονωδών κυττάρων στην περιοχή της βλάβης.

Καθώς τα μακροφάγα μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα εγκοιλώνοντας τα οξειδωμένα λιπίδια, πολλά από αυτά υφίστανται απόπτωση. Στα αρχικά στάδια της αθηρογένεσης η απόπτωση των μακροφάγων είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος άμυνας του οργανισμού για την αντιμετώπιση της βλάβης αναχαίτισης της εξέλιξης της αθηροσκλήρυνσης, πιθανότατα χάρη στην επιτυχή αποκομιδή των αποπτωτικών κυττάρων από τα γειτονικά φαγοκύτταρα (φαγοκυττάρωση). Ωστόσο, η υπερβολική πρόσληψη αποπτωτικών κυττάρων, όπως επίσης τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια, η ελεύθερη χοληστερόλη και οι οξυστερόλες προκαλούν στρες στο ενδοπλασματικό

δίκτυο με αποτέλεσμα την περαιτέρω απόπτωση των μακροφάγων. Συνεπώς, καθώς η αθηροσκληρυνση προχωρά, η φαγοκυττάρωση διαταράσσεται, οδηγώντας σε δευτεροπαθή νέκρωση των μακροφάγων και απελευθέρωση των περιεχομένων τους (οξειδωμένα λιπίδια, ένζυμα, προφλεγμονώδεις μεσολαβητές), η οποία τελικά μεγεθύνει τη φλεγμονώδη απάντηση και οδηγεί στη δημιουργία του νεκρωτικού πυρήνα της πλάκας [41].

1.4.3 Η συμβολή της ειδικής ανοσίας

Τα T λεμφοκύτταρα αποτελούν έναν από τους σημαντικότερους πληθυσμούς κυττάρων για τη διαμόρφωση και την εξέλιξη της αθηρωματικής βλάβης, αφού με την έκκριση κυτταροκινών ενεργοποιούν και προάγουν τη φλεγμονώδη διαδικασία. (Εικόνα 2). Συγκεκριμένα, τα T λεμφοκύτταρα λειτουργούν ως κύτταρα μνήμης σε κατάσταση χρόνιας ενεργοποίησης αφού εκφράζουν το δείκτη CD45RO και την ιντεγρίνη VLA-1 (Very Late Activation Antigen-1, αντιγόνο πολύ όψιμης ενεργοποίησης-1) [42]. Πρόκειται κυρίως για CD4⁺ T λεμφοκύτταρα τα οποία ενεργοποιούνται υπό την επίδραση αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων. Στις αθηροσκληρυντικές πλάκες, αντιγόνα ενεργοποίησης των λεμφοκυττάρων εκφράζουν τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα, καθώς και τα λεία μυϊκά κύτταρα [43]. Στα υποψήφια αντιγόνα διέγερσης των CD4⁺ λεμφοκυττάρων συγκαταλέγονται επίσης, η οξειδωμένη LDL, οι πρωτεΐνες θερμικής καταπληξίας (Heat Shock Proteins, HSP) και αντιγόνα λοιμωδών παραγόντων, όπως το χλαμύδιο της πνευμονίας ή ο κυτταρομεγαλοϊός [44–47]. Επιπλέον, η ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων ευνοείται από την IL-12 που εντοπίζεται στη βλάβη, καθώς πιθανότατα παράγεται από τα μακροφάγα υπό την επίδραση της οξειδωμένης LDL [48], και ακολούθως τα T λεμφοκύτταρα διαφοροποιούνται κυρίως προς τον TH1 φαινότυπο εκκρίνοντας κυτταροκίνες, ιδίως TNFα και IFNγ (Interferon γ, Ιντερφερόνη γ). Η IFNγ συμβάλει στη διαφοροποίηση των μακροφάγων με αποτέλεσμα την αποτελεσματικότερη φαγοκυττάρωση και αντιγονοπαρουσίαση, προάγει την παραγωγή του TNFα και της IL-1, ενώ θεωρείται μια αθηρογόνος κυτταροκίνη η οποία συντελεί στην ευθρυπτότητα της πλάκας. Ο TNFα και η IL-1 περαιτέρω ενεργοποιούν τα μακροφάγα, διεγείρουν την έκκριση μεταλλοπρωτεϊνών από αυτά και επάγουν προπηκτικές, ινωδολυτικές και προσκολλητικές ιδιότητες στο ενδοθήλιο [43]. Άλλοι πληθυσμοί T λεμφοκυττάρων που ανιχνεύονται στην πλάκα είναι τα φυσικά φονικά

κύτταρα (Natural killer T cell) και τα CD8⁺ T λεμφοκύτταρα, τα οποία έχει βρεθεί σε πειραματικά μοντέλα ότι επιδεινώνουν την αθηροσκλήρυνση. [49].

1.4.4 Ο ρόλος των λείων μυϊκών κυττάρων

Τα λεία μυϊκά κύτταρα του έσω αρτηριακού χιτώνα διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην αθηρογένεση, ήδη από τα αρχικά στάδια. Τα κύτταρα αυτά παρουσιάζουν φαινοτυπικές μεταβολές, καθώς μεταβαίνουν από τον φυσιολογικό «συσταλτικό» τύπο, στο «συνθετικό» υπό την επίδραση διάφορων ερεθισμάτων στην περιοχή της βλάβης, όπως η οξειδωμένη LDL, οι κυτταροκίνες (IL-1 β , TNF α), οι αιμοδυναμικές πιέσεις στο αρτηριακό τοίχωμα, οι μεταβολές στη σύνθεση της εξωκυττάριας ουσίας και οι αλληλεπιδράσεις με τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μακροφάγα. Η φαινοτυπική αυτή μεταβολή των λείων μυϊκών κυττάρων έχει ως αποτέλεσμα μια αλληλουχία λειτουργικών αλλαγών, όπως ο πολλαπλασιασμός και η μετανάστευσή τους από τον μέσο στον έσω χιτώνα, η παραγωγή κυτταροκινών (π.χ. TNF α , IL-6), χημειοκινών (π.χ. MCP-1, IL-8), η έκφραση μορίων προσκόλλησης (π.χ. VCAM-1) και η παραγωγή κολλαγόνου και συστατικών της εξωκυττάριας ουσίας (π.χ. πρωτεογλυκάνες, ιννεκτίνη), φαινόμενα που ενισχύουν την εναπόθεση LDL και την προσέλκυση, την ενεργοποίηση και την εγκατάσταση κυττάρων φλεγμονής. Πέρα από την εμπλοκή τους στο σχηματισμό και στην εξέλιξη της αθηρωματικής βλάβης, τα λεία μυϊκά κύτταρα εκφράζουν υποδοχείς εκκαθάρισης μέσω των οποίων προσλαμβάνουν την οξειδωμένη LDL και μετατρέπονται κι αυτά σε αφρώδη κύτταρα (**Εικόνα 2**) [50,51].

Τα λεία μυϊκά κύτταρα παίζουν καταλυτικό ρόλο στη διαδικασία της αθηρογένεσης για ένα επιπλέον λόγο, το σχηματισμό της ινώδους κάψας η οποία περιχαράσσει το λιπιδικό πυρήνα της βλάβης [52]. Ο πολλαπλασιασμός και η μετανάστευση των λείων μυϊκών κυττάρων, καθώς και η παραγωγή εξωκυττάριας ουσίας συμβαίνουν υπό την επίδραση ποικίλων κυτταροκινών, όπως η IL-1 και η IFN γ , και αυξητικών παραγόντων, όπως ο αυξητικός παράγων που προέρχεται από τα αιμοπετάλια (Platelet-derived Growth Factor, PDGF) και ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγων- β (Transforming Growth Factor- β , TGF β) [51,53]. Συχνά η κάψα αποτιτανώνεται με την εναπόθεση αλάτων ασβεστίου, ένα φαινόμενο που πλέον θεωρείται μια ενεργητική διεργασία, καθώς οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (Bone Morphogenetic Proteins, BMP) στο πλαίσιο ειδικών συνθηκών, όπως το οξειδωτικό στρες, επιδρούν στα λεία μυϊκά κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος και οδηγούν

στην παραγωγή αλκαλικής φωσφατάσης και τελικά στην εναπόθεση υδροξυαπατίτη [54].

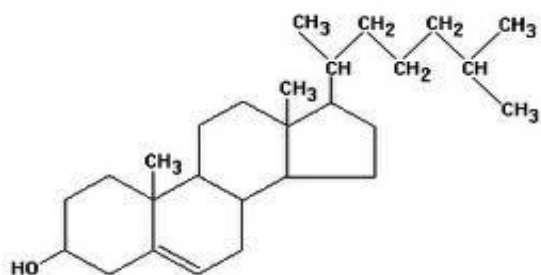
Η σταθερότητα της κάψας είναι κρίσιμη για την εμφάνιση οξέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων, γι' αυτό και η διατήρηση της αποτελεί θεραπευτικό στόχο σε περιπτώσεις αδυναμίας υποστροφής της νόσου. Μελέτες οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε δείγμα θυμάτων αιφνίδιου θανάτου έδειξαν ότι στο 73% των περιπτώσεων συνέβη ρήξη της πλάκας και επακόλουθη θρόμβωση και στο 8% ρωγμή στην πλάκα με ενδοπλακική εναπόθεση ινικής και συνεπώς αιμορραγία [55]. Η ρήξη της πλάκας ευνοείται από παράγοντες, όπως η παρουσία φλεγμονωδών κυττάρων, η απελευθέρωση πρωτεολυτικών ενζύμων, η αποτιτάνωση, ο σπασμός και η διατμητική τάση. Η παραγωγή πρωτεολυτικών ενζύμων, όπως η στρωμελυσίνη, η κολλαγενάση και η ελαστάση, καθώς και η απόπτωση των λείων μυϊκών κυττάρων αδυνατίζουν την κάψα και συντελούν στην ευθρυπτότητά της. Η επακόλουθη δημιουργία θρόμβου είναι το αποτέλεσμα της ενεργοποίησης του πηκτικού μηχανισμού από τον ιστικό παράγοντα και από την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων κατά την αλληλεπίδρασή τους με θρομβογόνο υλικό [11, 56, 57].

Με βάση όσα έχουν αναπτυχθεί προηγουμένως, φαίνεται ότι η αθηροσκλήρυνση είναι μια χρόνια εξελισσόμενη διεργασία, η οποία υπόκειται στους κανόνες της φλεγμονής. Σε τοπικό επίπεδο η φλεγμονή εμπλέκεται στο σχηματισμό και την επιδείνωση της αρχικής βλάβης στο αρτηριακό τοίχωμα, της οποίας οι επιπτώσεις ανακύπτουν όψιμα και με δραματικό τρόπο με την εμφάνιση καρδιαγγειακού επεισοδίου. Επιπλέον η αθηροσκλήρυνση φαίνεται ότι συνδέεται στενά με φλεγμονώδεις και μεταβολικές διεργασίες σε συστηματικό επίπεδο, από τις οποίες ενδεχομένως επηρεάζεται αλλά και επηρεάζει.

2. Λιπίδια και λιποπρωτεΐνες

Τα κυριότερα λιπίδια του πλάσματος είναι η χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, τα φωσφολιπίδια και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και προέρχονται είτε από την τροφή είτε από ενδογενή σύνθεση. Η χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια μεταφέρονται στο αίμα μέσω των λιποπρωτεϊνών και μάλιστα βρίσκονται στο εσωτερικό αυτών αφού πρόκειται για μόρια αδιάλυτα στο νερό. Το επιφανειακό στρώμα των λιποπρωτεϊνών αποτελείται από φωσφολιπίδια και λιπαρά οξέα (2 λιπαρά οξέα για κάθε μόριο φωσφολιπιδίου, με προσανατολισμό προς το κέντρο του σωματιδίου όπου συνδέονται με τη χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια, ενώ οι πολικές κεφαλές των φωσφολιπιδίων φέρονται προς την εξωτερική επιφάνεια του σωματιδίου. Σε αυτό το επιφανειακό στρώμα φωσφολιπιδίων ενσωματώνονται πρωτεϊνικά μόρια γνωστά ως απολιποπρωτεΐνες καθώς και ελεύθερη χοληστερόλη. Οι λιποπρωτεΐνες ταξινομούνται με βάση την πυκνότητά τους, την ηλεκτροφορητική κινητικότητά τους και τη σχετική περιεκτικότητά τους, σε λιπίδια και πρωτεΐνες.

2.1 Χοληστερόλη



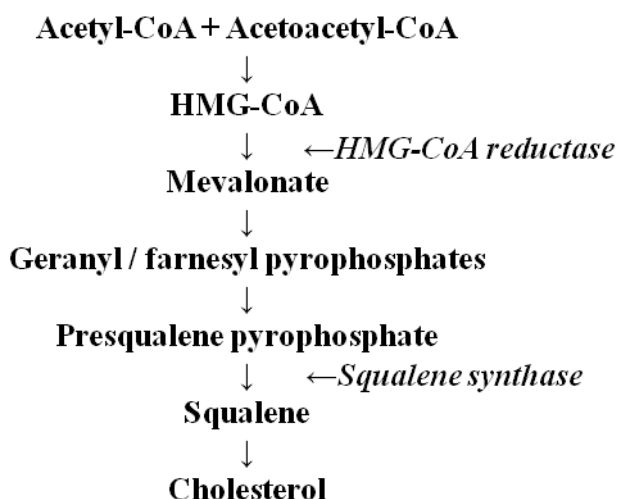
Η χοληστερόλη (C₂₇H₄₆O) αποτελεί μία οργανική μακρομοριακή ένωση που ανήκει στην κατηγορία των στεροειδών και είναι απαραίτητη για τη ζωή. Συγκεκριμένα, αποτελείται από 27 άτομα άνθρακα και εστεροποιείται με την προσθήκη ενός λιπαρού οξέος στη θέση C3, μέσω εστερικού δεσμού [58]. Η χοληστερόλη αποτελεί δομικό συστατικό της κυτταρικής μεμβράνης όλων των κυττάρων του ανθρωπίνου σώματος και συνδράμει ουσιαστικά στη διατήρηση της ακεραιότητας των κυτταρικών μεμβρανών παίζοντας ρυθμιστικό ρόλο στη διαπερατότητά τους με τη διατήρηση του φραγμού μεταξύ του ενδο- και εξωκυττάριου χώρου [59, 60]. Παράλληλα, συμβάλλει σε σημαντικές λειτουργίες των κυτταρικών μεμβρανών, όπως είναι η φαγοκυττάρωση και η μετάδοση ενδοκυττάριων σημάτων (signaling) [61, 62]. Η χοληστερόλη είναι απαραίτητη για τη βιοσύνθεση των στεροειδών ορμονών των επινεφριδίων (κορτιζόλη, αλδοστερόνη) και των γονάδων (προγεστερόνη, οιστρογόνα και τεστοστερόνη), της βιταμίνης D, των χολικών αλάτων και της χολής [63]. Τα τελευταία είναι απαραίτητα για τη διαδικασία της πέψης και της απορρόφησης λιποδιαλυτών πρωτεϊνών. Επίσης, βρίσκεται στα έλκτρα των νεύρων και είναι σημαντική για τη μνήμη και τη μάθηση [64].

Με τη δίαιτα προσλαμβάνεται μέχρι το 1/3 της συνολικής χοληστερόλης του ανθρώπινου σώματος, ενώ τα υπόλοιπα 2/3 συντίθενται στο σώμα, ιδίως στο ήπαρ [58, 64]. Η διαδικασία της βιοσύνθεσης υπακούει στο μηχανισμό της αρνητικής ανατροφοδότησης (feedback), με αποτέλεσμα η αυξημένη διαιτητική πρόσληψη χοληστερόλης να μειώνει τη σύνθεσή της στο ήπαρ και αντίστροφα [64, 65]. Οι κύριες διαιτητικές πηγές της χοληστερόλης είναι τα ζωικά λίπη. Τροφές πλούσιες σε χοληστερόλη είναι το κόκκινο κρέας, τα ζωικά παράγωγα (αυγά, γαλακτοκομικά προϊόντα), καθώς και τα οστρακοειδή (π.χ. οι γαρίδες) [58]. Η παραγωγή της χοληστερόλης είναι μια διεργασία η οποία πραγματοποιείται σε όλα τα κύτταρα του

οργανισμού. Το μεγαλύτερο ποσοστό της συντιθέμενης χοληστερόλης, περίπου 20-25%, παράγεται στο ήπαρ από τα ηπατοκύτταρα. Το υπόλοιπο ποσοστό παράγεται σε άλλους ιστούς, όπως είναι το λεπτό έντερο, τα επινεφρίδια και οι γονάδες. Η χοληστερόλη που παράγεται στο ήπαρ απεκκρίνεται στον εντερικό σωλήνα διαμέσου της χολής, της οποίας αποτελεί κύριο συστατικό. Περίπου το 50% της χοληστερόλης που απεκκρίνεται με τη χολή επαναρροφάται από το λεπτό έντερο και επιστρέφει στην κυκλοφορία (εντεροηπατική κυκλοφορία) [64].

Το μεταβολικό μονοπάτι βιοσύνθεσης της χοληστερόλης αρχίζει με την ένωση ενός μορίου ακετυλ-συνενζύμου Α (CoA) και ενός μορίου ακετυλακετυλ-CoA με αποτέλεσμα το σχηματισμό του 3-υδροξυ-3-μεθυλγλουταρυλ-CoA (HMG-CoA) (Εικόνα 3). Στη συνέχεια το μόριο αυτό ανάγεται από τη δράση του ενζύμου HMG-CoA αναγωγάση με αποτέλεσμα το σχηματισμό μεβαλονικού οξέος. Το μεβαλονικό οξύ αποτελεί πρόδρομο μόριο όχι μόνο για τη σύνθεση της χοληστερόλης αλλά και των ισοπρενοειδών [γερανυλγερανυλ-πυροφωσφατάση (GGPP) και φαρσενυλ-πυροφωσφατάση (FPP)]. Βασικός ρόλος αυτών των μορίων είναι η ενεργοποίηση ορισμένων τριφωσφατασών της γουανωσίνης (GTPάσες), που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε ποικίλες κυτταρικές λειτουργίες [64, 66, 67].

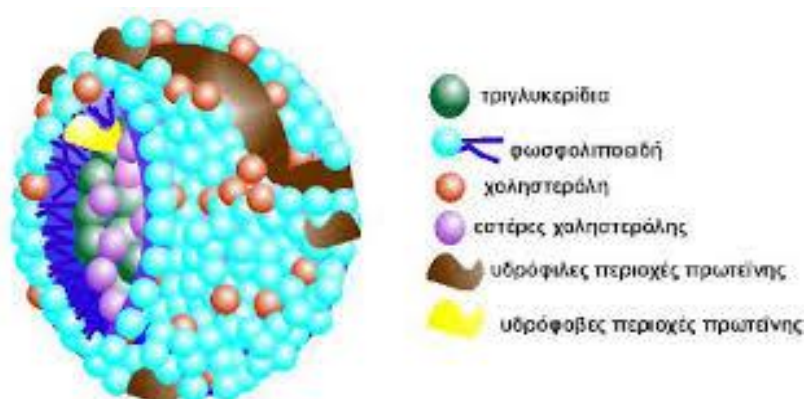
Εικόνα 3. Μεταβολική οδός σύνθεσης της χοληστερόλης



2.2 Λιποπρωτεϊνικά σύμπλοκα

Οι λιποπρωτεΐνες είναι μεγαλομοριακά σύμπλοκα λιπιδίων και ειδικών πρωτεϊνών, των αποπρωτεϊνών ή απολιποπρωτεϊνών (Apo), διαμέτρου 6-1000nm, οι οποίες διασφαλίζουν τη μεταφορά στη συστηματική κυκλοφορία και τη διανομή στους ιστούς λιπιδίων (χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, φωσφολιπίδια) και λιποδιαλυτών μορίων (π.χ. βιταμίνες, ορισμένα φάρμακα) [68]. Το λιποπρωτεϊνικό σύμπλοκο έχει σφαιρική δομή που διευκολύνει τη διαλυτότητά του στο υδατικό περιβάλλον του πλάσματος. Ειδικότερα το σύμπλοκο αποτελείται από έναν υδρόφοβο λιποειδή πυρήνα, ο οποίος περιέχει κυρίως τριγλυκερίδια και εστέρες χοληστερόλης, και υδρόφιλη επιφάνεια που περιέχει πρωτεϊνικά στοιχεία συνδεδεμένα ανάλογα με το βαθμό υδροφοβίας ή υδροφιλίας τους με φωσφολιπίδια (κυρίως λεκιθίνες) και ελεύθερη χοληστερόλη (**Εικόνα 4**) [69]. Οι λιποπρωτεΐνες διαφοροποιούνται ανάλογα με το μέγεθος, την πυκνότητα, τη χημική σύσταση και φυσικοχημικές τους ιδιότητες.

Εικόνα 4. Χημική δομή των λιποπρωτεϊνών



2.2.1 Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL)

Οι χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (Low Density Lipoprotein, LDL) παράγονται στο ήπαρ και μεταφέρουν κυρίως χοληστερόλη από το ήπαρ στους ιστούς. Όπως αναλύθηκε προηγουμένως (βλ. ενότητες 1.3 & 1.4), οι LDL αποτελούν τις κατεξοχήν αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες, γεγονός το οποίο αποδίδεται εν πολλοίς στην ικανότητα αυτών των λιποπρωτεϊνών να διεισδύουν στο αγγειακό τοίχωμα. Η καθήλωση των LDL στον υπενδοθηλιακό χώρο γίνεται διαμέσου της ApoB-100, της κύριας απολιποπρωτεΐνης των συγκεκριμένων λιποπρωτεϊνών [70,71]. Οι LDL αφού

υποστούν οξειδωτική τροποποίηση του μορίου τους από ελεύθερες ρίζες οξυγόνου που παράγονται τοπικά, επάγουν τις αθηρογόνες διαδικασίες του οργανισμού με τελικό αποτέλεσμα τον προοδευτικά εξελισσόμενο σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας. Με βάση την αθηρογόνο ικανότητα των LDL, η χοληστερόλη αυτών των λιποπρωτεϊνών (LDL-C) χαρακτηρίζεται και ως ‘κακή χοληστερόλη’.

Οι LDL αποτελούν έναν ετερογενή πληθυσμό από σωματίδια με διαφορετικό μέγεθος, πυκνότητα και χημική σύσταση (LDL υπότυποι). Φαίνεται ότι οι ιδιότητες των διάφορων υπότυπων της LDL όσον αφορά την αθηρογόνο ικανότητά τους, διαφοροποιούνται. Συγκεκριμένα, τα μικρά-πυκνά σωματίδια της LDL (small dense LDL, sdLDL) θεωρείται ότι είναι εξαιρετικά αθηρογόνα, καθώς έχουν μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής στο πλάσμα σε σχέση με τον υπότυπο των μεγάλων-επιπλέοντων σωματιδίων της LDL (large buoyant LDL, lbLDL), παρουσιάζουν ασθενέστερη συγγένεια πρόσδεσης με τους κλασικούς υποδοχείς της LDL, επιτυγχάνουν υψηλότερο βαθμό διείσδυσης στο αρτηριακό τοίχωμα και επιδεικνύουν χαμηλότερη ουδό αντίστασης στο οξειδωτικό στρες. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι sdLDL συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο θρομβώσεων και γενικότερα καρδιαγγειακών νοσημάτων [72-74].

2.2.2 Ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (IDL)

Οι ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (Intermediate Density Lipoprotein, IDL) αποτελούν προϊόντα υδρόλυσης των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (VLDL) από την λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL) και πρόδρομα σωματίδια για το σχηματισμό των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL) [69,75]. Λιγότερο από το 5% της χοληστερόλης κυκλοφορεί μέσω των IDL. Εμφανίζουν μικρή διάρκεια ζωής και σε φυσιολογικές συνθήκες δεν ανιχνεύονται στο πλάσμα σε συνθήκες νηστείας [69].

2.2.3 Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (HDL)

Οι υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (High Density Lipoprotein, HDL) παράγονται στο ήπαρ και το λεπτό έντερο και είναι μόρια πλούσια σε χοληστερόλη και φωσφολιπίδια [69]. Ο αριθμός και η σύστασή τους εξαρτάται: 1) από τη σύνθεση μικρών HDL, πλούσιων σε φωσφολιπίδια και απολιποπρωτεΐνες, από το ήπαρ και το γαστρεντερικό σωλήνα, 2) από τη μεταφορά επιφανειακού υλικού πλούσιου σε φωσφολιπίδια, χοληστερόλη και απολιποπρωτεΐνες από τις πλούσιες σε TG

λιποπρωτεΐνες κατά τη διάρκεια του καταβολισμού τους, 3) από τη μεταφορά συστατικών των HDL (ιδιαίτερα εστέρων χοληστερόλης) στις πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες, η οποία εξαρτάται από τη συγκέντρωση αυτών των λιποπρωτεϊνών και τη διάρκεια παραμονής τους στο πλάσμα, καθώς και 4) από τη μεταφορά χοληστερόλης από τους περιφερικούς ιστούς και από άλλες λιποπρωτεΐνες στις HDL [76].

Οι HDL, όπως και οι LDL, αποτελούνται από έναν ετερογενή πληθυσμό σωματιδίων με διαφορετικό μέγεθος, πυκνότητα και χημική σύσταση (HDL υπότυποι). Γενικά είναι μόρια πλούσια σε φωσφολιπίδια και πρωτεΐνες, έχουν πυκνότητα από 1,063 έως 1,21 gm/ml στο πλάσμα, με κινητικότητα στη ζώνη άλφα στην ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών. Συγκεκριμένα, οι κύριες απολιποπρωτεΐνες των HDL είναι οι ApoA-I και ApoA-II. Η περιεκτικότητα σε ApoA-I φαίνεται ότι παίζει κρίσιμο ρόλο στη διαδικασία της αντίστροφης μεταφοράς της χοληστερόλης. Μάλιστα, τα μεγαλύτερα και λιγότερο πυκνά μόρια HDL, τα οποία περιέχουν ApoA-I σε πολύ μεγαλύτερη αναλογία σε σχέση με την ApoA-II, έχουν τις πλέον ευεργετικές ιδιότητες όσον αφορά την προστασία από την αθηρωματική νόσο [77].

Οι HDL δρουν σαν όχημα για τη διαδικασία της "αντίστροφης" μεταφοράς χοληστερόλης από τους ιστούς στο ήπαρ, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη δέσμευση της πλεονάζουσας χοληστερόλης των αθηρωματικών πλακών και τη μεταφορά της στο ήπαρ [76-79]. Επιπλέον, σύμφωνα με αποτελέσματα μελετών φαίνεται ότι οι HDL εμφανίζουν ποικίλες αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές δράσεις. Παράλληλα, είναι εξόχως αγγειοπροστατευτικές, αφού αναστέλλουν την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αποκατάστασης του ενδοθηλίου που έχει υποστεί βλάβη καθώς επίσης αναστέλλουν την ενεργοποίηση των μονοκυττάρων και μειώνουν την έκφραση των προσκολλητικών μορίων και των κυτταροκινών, ενώ παράλληλα συμβάλουν στη βελτίωση της αγγειοδιαστολής που εξαρτάται από το ενδοθήλιο [76,79-83]. Επιπρόσθετα, οι HDL φαίνεται ότι εμφανίζουν σημαντική αντιθρομβωτική δράση διαμέσου της αύξησης της ενεργότητας της πρωτεΐνης S και της επακόλουθης αλυσιδωτής ενεργοποίησης της πρωτεΐνης C, η οποία διαδραματίζει καίριο ρόλο στην απενεργοποίηση των παραγόντων πήξης V και VIII [76,84]. Επίσης, οι HDL αναστέλλουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, διαμέσου της αναστολής της σύνδεσης του ινωδογόνου με τα αιμοπετάλια, η οποία εξαρτάται από τη θρομβίνη

[76, 85, 86]. Συνεπώς, οι HDL φαίνεται ότι εμφανίζουν ένα ιδιαίτερα προστατευτικό ρόλο έναντι της ανάπτυξης αθηροσκλήρυνσης και για αυτό το λόγο, η χοληστερόλη των HDL (HDL-C) είναι γνωστή και ως ‘καλή χοληστερόλη’.

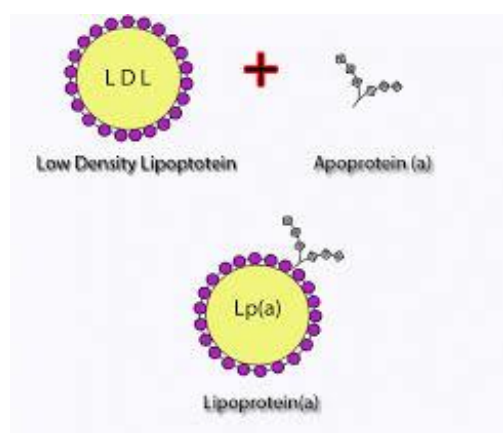
2.2.4 Πλούσιες σε TG λιποπρωτεΐνες (τα χυλομικρά, οι VLDL και τα κατάλοιπά τους)

Τα χυλομικρά παράγονται κυρίως στο λεπτό έντερο καθώς και στο ήπαρ, και στο λιπώδη ιστό [64]. Είναι μεγάλα σωματίδια με μεγάλη περιεκτικότητα σε TG, τα οποία αποτελούν > 85% της συνολικής τους μάζας [68,69]. Αυτές οι λιποπρωτεΐνες αποτελούν τον κύριο μεταφορέα των TG στον ηπατικό και στους περιφερικούς ιστούς κατά τη μεταγευματική φάση [75,87]. Σε φυσιολογικές συνθήκες, τα χυλομικρά απομακρύνονται πολύ γρήγορα από την κυκλοφορία και δεν είναι ανιχνεύσιμα στον ορό ατόμων σε κατάσταση νηστείας [87]. Η κύρια απολιποπρωτεΐνη των χυλομικρών είναι η apoB-48 [69]. Οι VLDL παράγονται στο ήπαρ και στο λιπώδη ιστό [64]. Είναι μεγάλα σωματίδια, πλούσια σε TG, ενώ περιέχουν έως ένα βαθμό εστέρες χοληστερόλης [69]. Αποτελούν το κύριο "όχημα μεταφοράς" των TG στο πλάσμα σε κατάσταση νηστείας καθώς και πρόδρομα μόρια των LDL [75]. Η κύρια απολιποπρωτεΐνη των VLDL είναι η apoB-100 [68, 69].

Τα TG τόσο των VLDL όσο και των χυλομικρών υδρολύονται σε ελεύθερα λιπαρά οξέα από τη δράση ενζύμων και κυρίως από την λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL), με αποτέλεσμα το σχηματισμό των καταλοίπων (remnants) αυτών των λιποπρωτεϊνών, που είναι οι IDL και τα κατάλοιπα των χυλομικρών [75]. Σε αντίθεση με τα μεγαλύτερα VLDL σωματίδια και τα χυλομικρά, τα μικρότερα κατάλοιπά τους έχουν την ικανότητα να διεισδύουν στον υπενδοθηλιακό χώρο του αγγειακού τοιχώματος, όπως οι LDL, να φαγοκυτώνονται από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα του αγγειακού τοιχώματος, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό αφρώδων κυττάρων. Τα αφρώδη κύτταρα διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στη διαδικασία της αθηροσκλήρυνσης, όπως έχει περιγραφεί παραπάνω [88-92]. Επιπρόσθετα, τα κατάλοιπα των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών φαίνεται ότι συνδράμουν στη ρήξη των αθηρωματικών πλακών, με τελικό αποτέλεσμα την αθηροθρόμβωση [93, 94]. Πράγματι, τα σχηματισθέντα σωματίδια φαίνεται ότι προάγουν τη θρόμβωση μέσω της αύξησης της έκφρασης του ιστικού παράγοντα από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και από τα μονοκύτταρα, ενώ παράλληλα αυξάνουν το σχηματισμό θρομβίνης [95, 96]. Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα TG έχουν συσχετισθεί με αύξηση των επιπέδων ινωδογόνου και των

παραγόντων πήξης VII και XII, καθώς και με μειωμένη ενεργότητα του ινωδολυτικού μηχανισμού, λόγω της αύξησης της συγκέντρωσης του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1) [97]. Κατά τη μεταγευματική φάση παρατηρείται ταχεία συνάθροιση των πλούσιων σε TG καταλοίπων των λιποπρωτεϊνών, γεγονός το οποίο έχει συσχετισθεί με διαταραχές της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής, καθώς και με αυξημένη έκφραση κυτταροκινών που προάγουν τη φλεγμονή, με αποτέλεσμα την προσέλκυση και ενεργοποίηση των μονοκυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα και άρα την ευόδωση των διαδικασιών αθηρογένεσης [98-101].

2.2.5 Λιποπρωτεΐνη (α) [Lp(a)]



Η λιποπρωτεΐνη (α) [Lipoprotein (a), Lp(a)] αποτελείται από ένα μόριο LDL και μία πρωτεΐνη, την Apo(a), η οποία συνδέεται με την ApoB με ένα δισουλφιδικό δεσμό [102]. Η Lp(a), γνωστή και θανατηφόρος, «deadly», λιποπρωτεΐνη, αποτελεί ιδιαίτερα σημαντική συνιστώσα του λιπιδαιμικού προφίλ, καθώς φαίνεται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης όσο και στη διαδικασία της θρόμβωσης. Συγκεκριμένα, η Lp(a) έχει την ικανότητα να διεισδύει στον υπενδοθηλιακό χώρο, όπου υφίσταται οξείδωση. Λόγω της δομικής ομοιότητας της Apo(a) με το πλασμινογόνο, ανταγωνίζεται την ινωδόλυση [102, 103]. Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα αυξημένα επίπεδα της Lp(a) (> 30 mg/dl) συσχετίζονται με την εμφάνιση πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου, ιδιαίτερα σε άτομα με δυσλιπιδαιμία. Συγκεκριμένα, συγκέντρωση Lp(a)>300mg/dl φαίνεται ότι διπλασιάζει τον κίνδυνο εκδήλωσης πρώιμης στεφανιαίας νόσου, ενώ όταν συνυπάρχει αύξηση της LDL χοληστερόλης ο κίνδυνος πενταπλασιάζεται [102, 104]. Βάσει των ανωτέρω, η Lp(a) θεωρείται σημαντικός προγνωστικός δείκτης εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων τόσο στον τομέα της πρωτογενούς όσο και της δευτερογενούς πρόληψης. Ωστόσο, τα επίπεδά της φαίνεται ότι είναι γενετικά

καθορισμένα και δεν επηρεάζονται σημαντικά από τη διατροφή ούτε από τα περισσότερα υπολιπιδαιμικά φάρμακα. Παράλληλα, δεν έχει αποσαφηνισθεί εάν η μείωση των επιπέδων της Lp(a) συσχετίζεται με μία σημαντική μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Επιπλέον, η αυξημένη μεταβλητότητα των μεθόδων προσδιορισμού των επιπέδων της φαίνεται να αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα [103]

2.3 Απολιποπρωτεΐνες (Apo)

Οι απολιποπρωτεΐνες ή αποπρωτεΐνες αποτελούν το πρωτεϊνικό σκέλος των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος και παίζουν καθοριστικό ρόλο στη δομική τους σταθερότητα και τη λειτουργική τους εξειδίκευση. Εμφανίζουν ποικίλες δράσεις:

- καθιστούν τα λιπίδια ευδιάλυτα στο πλάσμα
- λειτουργούν ως συνένζυμα ποικίλων ενζύμων τα οποία παρεμβαίνουν στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών
- αναγνωρίζονται από υποδοχείς των λιποπρωτεϊνών

2.3.1 Απολιπορωτεΐνη A (ApoA)

Η ApoA αποτελεί βασικό συστατικό των HDL, ενώ παρατηρείται και στα χυλομικρά για μικρό χρονικό διάστημα αμέσως μετά τη σύνθεσή τους στο εντερικό τοίχωμα. Διακρίνεται σε ApoA-I, ApoA-II και ApoA-IV. Αποτελέσματα μελετών έχουν δείξει ότι η συγκέντρωση της ApoA-I βρίσκεται σε αναλογική συσχέτιση με τα επίπεδα των HDL, γεγονός το οποίο καθιστά τον προσδιορισμό της ApoA-I ιδιαίτερα χρήσιμο για την κλινική πράξη. Η ApoA-I των χυλομικρών μεταφέρεται στις HDL μετά τη λιπόλυσή τους από την LPL [105]. Αυτή η απολιποπρωτεΐνη παίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της αντίστροφης μεταφοράς χοληστερόλης από τους περιφερικούς ιστούς στο ήπαρ, λόγω της συγγένειάς της με υποδοχείς των κυτταρικών μεμβρανών και ιδιαίτερα με τον ABCA1 (ATP-binding cassette transporter 1) και τον PLTP (Phospholipid Transfer Protein) [106, 107]. Επιπρόσθετα, η ApoA-I λειτουργεί ως συνένζυμο της ακετυλοτρανσφεράσης της χοληστερόλης (Lecithin-Cholesterol Acyltransferase, LCAT) ευοδώνοντας έτσι το σχηματισμό εστέρων χοληστερόλης, οι οποίοι προσλαμβάνονται από τις HDL [108, 109]. Παράλληλα, η ApoA-I φαίνεται ότι εμφανίζει αντιθρομβωτικές ιδιότητες, ιδιαίτερα εξαιτίας της ικανότητας της να σταθεροποιεί την προστακυκλίνη (PGI₂). Η PGI₂ ανήκει στην οικογένεια των εικοσανοειδών που προκαλεί αγγειοδιαστολή και αναστέλει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων [110]. Συνεπώς, φαίνεται ότι η ApoA-I συνεισφέρει σημαντικά στην πρόληψη της αθηρωματικής νόσου και των συνεπειών της, ενώ τα μειωμένα επίπεδά της έχουν συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου [111, 112].

2.3.2. Απολιποπρωτεΐνη B (ApoB)

Η ApoB αποτελεί βασικό συστατικό των LDL, καθώς και άλλων αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών, όπως είναι οι VLDL. Η ApoB συνδέεται με υποδοχείς των κυτταρικών μεμβρανών αποδίδοντας χοληστερόλη στους ιστούς και κατ' αυτόν τον τρόπο διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη διαδικασία της αθηροσκλήρυνσης, όπως περιγράφεται παραπάνω [105]. Η ApoB είναι επίσης ένας ετερογενής πληθυσμός ο οποίος διακρίνεται σε ApoB-100 και ApoB-48.

Όλες οι λιποπρωτεΐνες που παράγονται στο ήπαρ (LDL, VLDL, IDL) περιέχουν apoB-100 [75, 113]. Η συγκέντρωση της ApoB-100 βρίσκεται σε αναλογική συσχέτιση με τα επίπεδα των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών του πλάσματος, ιδίως των LDL, και άρα συντελεί στον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου. Η ApoB-100 εμφανίζει ισχυρή συγγένεια με τους LDL-υποδοχείς των ηπατοκυττάρων, καθώς και με υποδοχείς των μακροφάγων, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την απομάκρυνση των πλούσιων σε apoB-100 λιποπρωτεϊνών από την κυκλοφορία. Ο αυξημένος αριθμός, ταυτόχρονα με τον αυξημένο χρόνο παραμονής των πλούσιων σε apoB-100 σωματιδίων στην κυκλοφορία ευοδώνει την οξειδωτική τροποποίησή τους, με αποτέλεσμα την αύξηση της αθηρογόνου δράσης τους [75].

Η ApoB-48 αποτελεί δομικό συστατικό των χυλομικρών που παράγονται στο λεπτό έντερο, καθώς και των καταλοίπων των χυλομικρών. Τα μακροφάγα φαίνεται ότι εκφράζουν υποδοχείς με υψηλή συγγένεια και για την apoB-48, ενώ νεότερα δεδομένα υποστηρίζουν ότι αυτή η απολιποπρωτεΐνη παίζει σημαντικό ρόλο στις διαδικασίες αθηρογένεσης [75].

2.3.3 Απολιποπρωτεΐνη C-II (ApoC-II) και απολιπορωτεΐνη C-III (ApoC-III)

Η ApoC-II αποτελεί συστατικό των χυλομικρών, των VLDL, των LDL, και των HDL, παράγεται κυρίως στο ήπαρ και σε μικρότερο βαθμό στο λεπτό έντερο, και ένας από τους βασικούς της ρόλους είναι η ενεργοποίηση της LPL [114-118]. Η ανεύρεση τόσο υψηλών επιπέδων ApoC-II στο πλάσμα όσο και η ανεπάρκειά της έχει συσχετιστεί με μειωμένη ενεργότητα αυτού του ενζύμου, με αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων των TG [119-121]. Επιπρόσθετα, η αυξημένη συγκέντρωση της apoC-II, εκτός από την αύξηση των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών, συσχετίζεται και με μεταβολές της κατανομής των HDL σωματιδίων [122]. Παράλληλα, η ApoC-II εκφράζεται σε αθηρωματικές πλάκες, όπου εντοπίζεται κοντά σε μακροφάγα και

σχηματίζει ινίδια αμυλοειδούς. Αυτά τα ινίδια αμυλοειδούς έχουν φλεγμονώδεις ιδιότητες και πιθανά συμμετέχουν στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης [123]. Συγκεκριμένα, σε μία μελέτη στην οποία συμμετείχαν 353 ασθενείς με στεφανιαία νόσο και 395 υγιή άτομα, τα επίπεδα της apoC-II ήταν σημαντικά υψηλότερα στους στεφανιαίους ασθενείς [124].

Η ApoC-III είναι μία γλυκοπρωτεΐνη, η οποία εκκρίνεται κυρίως από το ήπαρ και σε μικρότερο βαθμό από το λεπτό έντερο [125]. Η ApoC-III αποτελεί συστατικό των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών και των HDL και ανταλλάσσεται ελεύθερα μεταξύ των λιποπρωτεϊνών [114]. Αυτή η απολιποπρωτεΐνη παίζει ρυθμιστικό ρόλο όσον αφορά το μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών, καθώς αναστέλλει τη λιπόλυση των πλούσιων σε TG λιποπρωτεϊνών διαμέσου της LPL και μειώνει την πρόσληψη αυτών των σωματιδίων από τους ηπατικούς υποδοχείς [126,127]. Σε μία υπο-ανάλυση της μελέτης CARE (Cholesterol and Recurrent Events), στην οποία συμμετείχαν 418 ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου, και 370 άτομα χωρίς καρδιαγγειακή νόσο (ομάδα ελέγχου), φάνηκε ότι τα επίπεδα της ApoC-III των VLDL και LDL σωματιδίων ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων [128].

Συνοψίζοντας, σύμφωνα με αποτελέσματα επιδημιολογικών μελετών φαίνεται ότι τα επίπεδα των ApoC-II και ApoC-III, αποτελούν προγνωστικούς παράγοντες για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο ή σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 [129-132].

2.3.4. Απολιποπρωτεΐνη E (ApoE)

Η ApoE παράγεται κυρίως στο ήπαρ και εκφράζεται με γενετικό πολυμορφισμό. Υπάρχουν 3 κύριες ισομορφές, Apo-E2, -E3 και -E4 που κωδικοποιούνται από 3 αλληλόμορφα γονίδια ε2, ε3 και ε4, με αποτέλεσμα να προκύπτουν 6 πιθανοί γονότυποι (3 ομόζυγοι και 3 ετερόζυγοι): ε 2/2, ε 2/3, ε 2/4, ε 3/3, ε 3/4, ε 4/4. Το συχνότερο αλληλόμορφο είναι το ε3, το οποίο παρατηρείται στο 75% των ατόμων της λευκής φυλής [133-136].

Η ApoE αποτελεί δομικό στοιχείο των χυλομικρών, των VLDL, των LDL και ενός υπότυπου των HDL [133, 134, 137]. Η ApoE συμμετέχει τόσο στην ανακατανομή

λιπιδίων μεταξύ κυττάρων διαφορετικών οργάνων, συμβάλλοντας στη μεταφορά της χοληστερόλης και των άλλων λιπιδίων από τις περιοχές σύνθεσης ή απορρόφησης σε κύτταρα άλλων οργάνων, όσο και στην ανακατανομή των λιπιδίων μεταξύ κυττάρων του ίδιου ιστού ή οργάνου, μεταφέροντας χοληστερόλη και άλλα λιπίδια από κύτταρα κορεσμένα σε κύτταρα που χρειάζονται τα λιπίδια για τον πολλαπλασιασμό και την επούλωση. Η δράση της Apo-E επιτυγχάνεται μέσω της σύνδεσής της με μια ποικιλία υποδοχέων που ανήκουν στην ευρύτερη οικογένεια των LDL υποδοχέων [134-137].

Η ApoE παρουσιάζει επιπλέον λειτουργίες που δεν σχετίζονται εμφανώς με το μεταβολισμό των λιπιδίων, αφού τροποποιεί την ανοσολογική απάντηση και σε μεγάλες συγκεντρώσεις αναστέλλει την μιτογόνο διέγερση των λεμφοκυττάρων συνδεόμενη σε συγκεκριμένους υποδοχείς της επιφάνειάς τους [133, 136]. Έτσι, φαίνεται ότι παίζει έναν ευρύτερο ρόλο στην ανοσολογία και ανοσορύθμιση του οργανισμού. Επιπρόσθετα, η ApoE που παράγεται από τις λειές μυϊκές ίνες, φαίνεται ότι συμμετέχει στον πολλαπλασιασμό και στην κυτταρική διαφοροποίηση τους [133].

2.4 Ο μεταβολισμός των λιποπρωτεϊνών

Το διαιτητικό λίπος, μετά την απορρόφησή του από το γαστρεντερικό σωλήνα, ενσωματώνεται στα πλούσια σε τριγλυκερίδια χυλομικρά, τα οποία στην κυκλοφορία προσλαμβάνουν την ApoC-II από τις HDL [138,139]. Τα χυλομικρά καταβολίζονται με τη βοήθεια της LPL, η οποία εντοπίζεται στα τριχοειδή των σκελετικών μυών και του λιπώδους ιστού. Η LPL υδρολύει τα TG των χυλομικρών, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση λιπαρών οξέων, τα οποία είτε αποθηκεύονται στο λιπώδη ιστό είτε χρησιμοποιούνται για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών [140]. Τα κατάλοιπα των χυλομικρών προσλαμβάνονται από τα παρεγχυματικά κύτταρα του ήπατος, τα οποία διαθέτουν μία πρωτεΐνη, η οποία έχει συγγένεια με τον υποδοχέα των LDL και συνδέεται με την ApoE [141]. Τα λίπδια των καταλοίπων των χυλομικρών μετά την είσοδό τους στα ηπατοκύτταρα είτε αποθηκεύονται, είτε καταβολίζονται, είτε επανεκκρίνονται από τα ηπατοκύτταρα ως βασικό συστατικό των VLDL. Η παραγωγή λιποπρωτεϊνών από το ήπαρ εξαρτάται από την παροχή γλυκόζης και λιπαρών οξέων στα ηπατοκύτταρα και επηρεάζεται σημαντικά από ορμονικούς παράγοντες, ιδιαίτερα από την ινσουλίνη [142].

Οι VLDL, όπως και τα χυλομικρά, καταβολίζονται από τη δράση της LPL, η οποία ενεργοποιείται από την ApoC-II, ενώ αναστέλλεται από την ApoC-III [117, 126, 143]. Με την επίδραση της LPL, οι VLDL μετατρέπονται στις IDL, οι οποίες είναι σωματίδια σχετικά πλούσια σε χοληστερόλη. Μέρος των IDL προσλαμβάνεται άμεσα από τα ηπατοκύτταρα μέσω υποδοχέων που συνδέονται με την ApoE (πιθανότατα πρόκειται για τους ίδιους υποδοχείς που αναγνωρίζουν την ApoB των LDL) [75]. Οι υπόλοιπες IDL καταβολίζονται υπό την επίδραση της ηπατικής λιπάσης και μετατρέπονται σε LDL [144, 145].

Ο μεταβολισμός των LDL καθορίζεται από τους LDL υποδοχείς, οι οποίοι υπάρχουν κυρίως στα ηπατοκύτταρα και αναγνωρίζουν την κύρια επιφανειακή πρωτεΐνη των LDL, την ApoB-100 [146]. Ο αριθμός και η ενεργότητα των LDL υποδοχέων είναι καθοριστικής σημασίας για τη ρύθμιση της συγκέντρωσης των LDL στο πλάσμα. Συγκεκριμένα, η μείωση της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων έχει ως αποτέλεσμα αφενός τη μείωση του καταβολισμού των LDL, αφετέρου την αύξηση της σύνθεσής τους από τα κατάλοιπα των VLDL (IDL), αφού μικρότερο κλάσμα αυτών των σωματιδίων καταβολίζεται διαμέσου των LDL υποδοχέων. Οι LDL

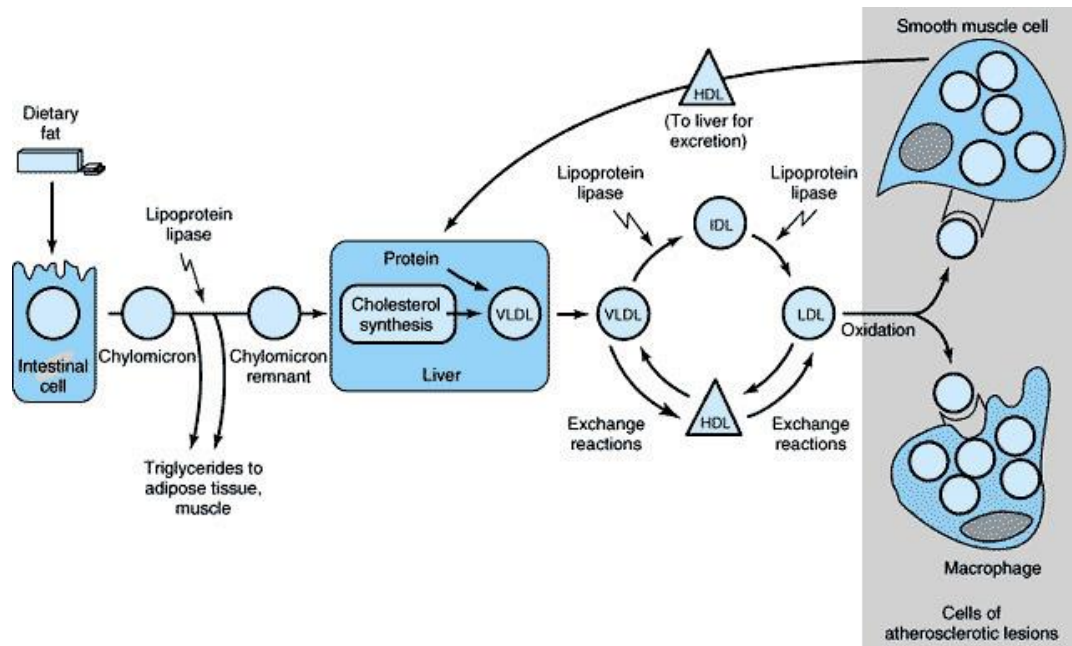
υποδοχείς, όσον αφορά τον αριθμό και την ενεργότητά τους, επηρεάζονται άμεσα από τα επίπεδα ελεύθερης χοληστερόλης στα ηπατοκύτταρα [147]. Μάλιστα, η μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης χοληστερόλης, που οφείλεται στη χορήγηση υπολιπιδαιμικής φαρμακευτικής αγωγής, έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητας των LDL υποδοχέων και συνεπώς του καταβολισμού των LDL και των καταλοίπων των VLDL.

Οι HDL παράγονται στο ήπαρ και το έντερο ή προέρχονται από τον καταβολισμό των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών και διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στο μηχανισμό της αντίστροφης μεταφοράς χοληστερόλης (βλ. ενότητα 2.2.3) [148]. Σύγκεκριμένα, οι HDL δεσμεύουν την πλεονάζουσα χοληστερόλη των κυττάρων ή και των αθηρωματικών πλακών. Η μετακίνηση της χοληστερόλης από τα κύτταρα στις ανώριμες HDL γίνεται διαμέσου των ABCA1 μεταφορέων που εκφράζονται στην επιφάνεια των κυττάρων. Η ελεύθερη χοληστερόλη στη συνέχεια εστεροποιείται με την επίδραση του ενζύμου LCAT [109]. Η εστεροποιημένη χοληστερόλη μεταφέρεται μέσω της πρωτεΐνης CETP (Cholesterol Ester Protein Transport) σε άλλες πλούσιες σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεΐνες και διαμέσου αυτών, είτε στα ηπατοκύτταρα είτε στα περιφερικά κύτταρα για την παραγωγή στεροειδών [149].

Ο μεταβολισμός των λιπιδίων και η συσχέτισή του με την ανάπτυξη αθηρωματικών βλαβών συνοψίζεται στην **Εικόνα 5**.

Εικόνα 5. Ο μεταβολισμός των λιπιδίων σε σχέση με την ανάπτυξη αθηρωματικών βλαβών. Τα λιπαρά οξέα από το λίπος της τροφής επανεστεροποιούνται στα κύτταρα του εντέρου και απορροφώνται με τη μορφή χυλομικρών. Η LPL καταλύει των απελευθέρωση των TG από τα χυλομικρά και τα υπολείματα των χυλομικρών προσλαμβάνονται από το ήπαρ. Στο ήπαρ τα υπολείματα των χυλομικρών προσλαμβάνουν χοληστερόλη και στη συνέχεια εκκρίνονται στο αίμα ως VLDL. Οι VLDL συμμετάχουν σε αντιδράσεις ανταλλαγής με τις IDL και τις HDL, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό LDL, που αποτελούν την κύρια πηγή χοληστερόλης των ιστών. Οι οξειδωμένες LDL προσλαμβάνονται από τα μακροφάγα και τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών, δημιουργώντας αθηρογόνα αφρώδη κύτταρα. Επιπλέον, οι HDL μεταφέρουν χοληστερόλη από τους ιστούς προς το ήπαρ, από όπου απεκκρίνεται μέσω της χολής, ενώ οι υποδοχείς των LDL στο ήπαρ (δεν φαίνονται

στο σχήμα) προσλαμβάνουν τις VLDL, IDL και LDL, με αποτέλεσμα τη μείωση της χοληστερόλης στην κυκλοφορία.



Source: McPhee SJ, Papadakis MA: *Current Medical Diagnosis and Treatment 2011*, 50th Edition: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

3. Δυσλιπιδαιμία

Όπως αναφέρθηκε αναλυτικά στις προηγούμενες ενότητες η δυσλιπιδαιμία και ειδικότερα η αύξηση της LDL-χοληστερόλης θεωρείται ένας από τους βασικότερους παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη αθηρωμάτωσης και εμφάνισης νοσημάτων του καρδιαγγειακού συστήματος. Υπό τον όρο δυσλιπιδαιμία περιλαμβάνονται τα αυξημένα επίπεδα της ολικής- της LDL-χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων και της λιποπρωτεΐνης (α) και τα μειωμένα επίπεδα της HDL-χοληστερόλης, ως μεμονωμένες διαταραχές ή σε συνδυασμούς.

3.1 Η συσχέτιση της δυσλιπιδαιμίας με την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου

Είναι γνωστό από μεγάλες μελέτες παρατήρησης στο γενικό πληθυσμό ότι η δυσλιπιδαιμία αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη και εκδήλωση καρδιαγγειακής νόσου [71, 74, 150, 151]. Μάλιστα, τόσο η ολική χοληστερόλη (TC) όσο και η HDL-C λαμβάνονται υπόψη στις πιο δημοφιλείς κλίμακες αξιολόγησης του καρδιαγγειακού κινδύνου (π.χ. το Framingham Risk Score που εκτιμά τον 10ετή κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου, το Ευρωπαϊκό SCORE που αξιολογεί τον 10ετή κίνδυνο εμφάνισης θανατηφόρου καρδιαγγειακής νόσου) [150, 152].

Σύμφωνα με αποτελέσματα επιδημιολογικών μελετών, έχει υπολογισθεί ότι ο κίνδυνος εμφάνισης στεφανιαίας νόσου ελαττώνεται κατά περίπου 1% για κάθε μείωση των επιπέδων της LDL-C κατά 1mg/dl [153]. Αντίθετα, κάθε μείωση των επιπέδων της TC κατά 10%, η ολική και η καρδιαγγειακή θνητότητα μειώνονται κατά 1,1% και 1,5% αντίστοιχα [154]. Όσον αφορά στα επίπεδα της HDL-C, ο κίνδυνος εμφάνισης στεφανιαίας νόσου αυξάνεται κατά 2% στους άνδρες και κατά 3% στις γυναίκες για κάθε μείωση των επιπέδων της κάτω από τα 40 ή τα 50mg/dl, αντιστοίχως [77, 155]. Επίσης, τα αυξημένα επίπεδα των TG νηστείας ή μεταγευματικά, συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων [156-159]. Μία από τις πιο σημαντικές μελέτες παρατήρησης που εκτίμησαν την προγνωστική αξία των λιπιδαιμικών παραμέτρων για την εμφάνιση εμφραγμάτων του μυοκαρδίου ήταν η μελέτη ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities), στην οποία συμμετείχαν 12.339 άτομα, χωρίς ιστορικό στεφανιαίας νόσου. Η διάρκεια παρακολούθησης ήταν 10 έτη. Στη μελέτη διαπιστώθηκε ότι τα αυξημένα επίπεδα της LDL-C και της Lp(a), καθώς και τα μειωμένα επίπεδα της HDL-C είχαν ανεξάρτητη προγνωστική αξία για την εμφάνιση εμφράγματος του μυοκαρδίου. Τα αυξημένα επίπεδα TG ήταν ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την εμφάνιση αυτών των συμβαμάτων, μόνο στις γυναίκες [151].

Νεότερα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η διατάραξη της ισορροπίας μεταξύ των επιπέδων των αθηρογενετικών (LDL, VLDL, IDL) και των αντιαθηρογενετικών (HDL) λιποπρωτεϊνών ενδέχεται να αποτελεί σημαντικότερο προγνωστικό παράγοντα για την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε σύγκριση με τα ίδια τα επίπεδα

της χοληστερόλης των διαφόρων λιποπρωτεϊνών. Αυτή η ισορροπία εκφράζεται από τους αθηρωματικούς δείκτες όπως είναι οι λόγοι TC/HDL-C, LDL-C/HDL-C και apoB/apoA1 [160, 161].

3.2 Διαγνωστική προσέγγιση δυσλιπιδαιμίας σε παιδιά και εφήβους

Η έγκαιρη διάγνωση της δυσλιπιδαιμίας στα παιδιά και στους εφήβους έχει ιδιαίτερη σημασία για την πρόληψη της καρδιαγγειακής νόσου στην ενήλικη ζωή. Η διάγνωση συνήθως γίνεται από τον προσδιορισμό των επιπέδων των λιπιδίων κατά τον προληπτικό έλεγχο. Ο αρχικός έλεγχος περιλαμβάνει είτε προσδιορισμό της TC, είτε της TC και της HDL-C προκειμένου να υπολογιστεί η non-HDL-C ($\text{non-HDL-C} = \text{TC} - \text{HDL-C}$), είτε και των τεσσάρων λιπιδαιμικών παραμέτρων (TC, LDL-C, HDL-C, TG). Για τον προσδιορισμό των TG και τον υπολογισμό της LDL-C σύμφωνα με την εξίσωση του Friedewald απαιτείται προηγούμενη νηστεία από 8 έως 14 ώρες ανάλογα με την ηλικία του παιδιού. Για τον προσδιορισμό της non-HDL-C δεν απαιτείται προηγούμενη νηστεία. Να σημειωθεί ότι ο έλεγχος δεν πρέπει να λαβάνεται κατά τη διάρκεια και σε κοντινό διάστημα μετά την αποδρομή λοιμώξεων, κατά τη νοσηλεία σε Νοσοκομείο και μέσα στο μήνα που την ακολουθεί, καθώς επίσης έως και ένα μήνα μετά από τραυματισμό ή χειρουργική επέμβαση. Οι λοιμώξεις χαρακτηριστικά ακολουθούνται κυρίως από μείωση της HDL-C και αύξηση των TG αλλά και από μείωση των TC και LDL-C [162-165].

Κατά την 1^η αξιολόγηση ενός παιδιού με δυσλιπιδαιμία σκόπιμο είναι, ανεξάρτητα από το θετικό οικογενειακό ιστορικό δυσλιπιδαιμίας, να αποκλειστούν δευτεροπαθείς αιτίες δυσλιπιδαιμίας όπως είναι ο υποθυρεοειδισμός και οι διαταραχές της νεφρικής και ηπατικής λειτουργίας. Εκτός από τις παραπάνω δευτεροπαθείς αιτίες, πολλές άλλες καταστάσεις και νόσοι μπορεί να οδηγήσουν σε διαταραχές των λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται οι: παχυσαρκία, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 ή 2, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, κάπνισμα, κατάχρηση αλκοόλ, λέμφωμα, γλυκογονιάσεις, συστηματικός ερυθηματώδης λύκος και φάρμακα όπως τα κορτικοστεροειδή, ορισμένα αντιεπιληπτικά, αντισυλληπτικά, β-αποκλειστές, ρετινοειδή και θειαζιδικά διουρητικά [113, 166]. Η δευτεροπαθής δυσλιπιδαιμία συνήθως είναι λιγότερο σοβαρή από την πρωτοπαθή, αν και σε ορισμένες περιπτώσεις όπως στα παιδιά με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και με σακχαρώδη διαβήτη συμβάλλει σημαντικά στην πρόωμη εγκατάσταση αθηροσκληρυντικής καρδιαγγειακής νόσου.

Στα παιδιά τα επίπεδα των λιπιδίων ποικίλουν ανάλογα με την ηλικία, το φύλο, τη φυλή και το στάδιο ήβης. Γενικά, τα επίπεδα αυξάνουν μετά τη γέννηση και τείνουν

να σταθεροποιηθούν στα επίπεδα των ενηλίκων μετά το 2^ο έτος της ζωής. Στην εφηβεία, η TC και η LDL-C μειώνονται κατά 10-20% ή και περισσότερο. Έτσι, τα «φυσιολογικά» επίπεδα είναι δύσκολο να καθοριστούν. Σε αρκετές χώρες, τα «φυσιολογικά» επίπεδα εκτιμώνται με βάση τις εκατοστιαίες θέσεις που έχουν προκύψει από επιδημιολογικές μελέτες για συγκεκριμένες πληθυσμιακές ομάδες [167]. Να σημειωθεί ότι σε ορισμένες περιπτώσεις πρωτοπαθούς δυσλιπιδαιμίας όπως είναι η οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία, οι διαταραχές των λιπιδίων μπορεί να εμφανιστούν αργότερα στην ενήλικη ζωή. Επομένως, τα παιδιά και οι έφηβοι που προέρχονται από οικογένειες υψηλού κινδύνου με οικογενή συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία (βλ. ενότητα 3.2.1) πρέπει να ελέγχονται όχι μόνο στην παιδική ηλικία αλλά και αργότερα στην ενήλικη ζωή τους, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του NCEP (National Cholesterol Education Panel) για ενήλικες [12].

Οι διεθνείς φορείς (American Academy of Pediatrics: AAP, American Heart Association: AHA, National Heart, Lung and Blood Institute: NHLBI, National Cholesterol Education Panel for children and adolescents: NCEP-Ped) ενσωματώνοντας τα αποτελέσματα μεγάλων επιδημιολογικών μελετών έχουν θεσπίσει όρια (cut-offs) για τις διάφορες λιπιδαιμικές παραμέτρους (**Πίνακας 2**) και έχουν διαμορφώσει συστάσεις για τη διαγνωστική προσέγγιση (**Πίνακας 3**) και την αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας σε άτομα 2-19 χρόνων [168, 170].

Πίνακας 2. Αποδεκτά, Οριακά και Παθολογικά Επίπεδα Λιπιδίων, Λιποπρωτεϊνών και Απολιποπρωτεϊνών σε παιδιά και εφήβους 2-19 χρόνων, βάσει των κατευθυντήριων οδηγιών του NHLBI (National Heart, Lung, and Blood Institute) [169].

	“Αποδεκτά”	“Οριακά”	“Υψηλά ή Χαμηλά”
TC	<170	170-199	≥200
LDL-C	<110	110-129	≥130
Non-HDL-C	<120	120-144	≥145
Apo B	<90	90-109	≥110
TGs <10ετών	<75	75-99	≥100
≥10ετών	<90	90-129	≥130
HDL-C	>45	40-45	<40

Apo A-1	>120	115-120	<115
Lp(a)	<30		

*Οι συγκεντρώσεις αναφέρονται σε mg/dl. Τα όρια των χαμηλών αντιστοιχούν στη 10^η εκατοστιαία θέση (Ε.Θ), ενώ τα όρια των οριακών και των υψηλών συγκεντρώσεων στις 75^η και 95^η Ε.Θ, αντιστοίχως.

Πίνακας 3. Συστάσεις προληπτικού ελέγχου αξιολόγησης του λιπιδαιμικού προφίλ, βάσει των κατευθυντήριων οδηγιών του NHLBI (National Heart, Lung, and Blood Institute) [169]

0-2 ετών	Κανένας έλεγχος
2-8 ετών	Κανένας έλεγχος ρουτίνας Μέτρηση λιπιδίων νηστείας και αξιολόγηση μέσου όρου δύο μετρήσεων στις περιπτώσεις που παρατηρείται: • Θετικό οικογενειακό ιστορικό πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου σε 1^ο ή 2^ο βαθμού συγγενή (άνδρες <55 ετών, γυναίκες <65 ετών) • Γονέας με υπερχοληστερολαιμία (TC≥240mg/dl) • Δείκτης μάζας σώματος ≥95^η Ε.Θ • Υπέρταση • Κάπνισμα • Άλλες καταστάσεις υψηλού ή μέτριου κινδύνου*
9-11 ετών	Έλεγχος ρουτίνας
12-16 ετών	Κανένας έλεγχος ρουτίνας, εκτός αν προκύψουν οι συνθήκες που περιγράφηκαν στην ηλικιακή ομάδα 2-8 ετών
17-21 ετών	Έλεγχος ρουτίνας

*Υψηλού κινδύνου καταστάσεις θεωρούνται: α) σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 & 2, β) χρόνια νεφρική νόσος, γ) νόσος Kawasaki με ανευρύσματα, δ) μεταμόσχευση καρδιάς. Μέτριου κινδύνου θεωρούνται: α) νόσος Kawasaki με ανευρύσματα που έχουν υποστραφεί, β) χρόνιες συστηματικές φλεγμονώδεις παθήσεις (π.χ. συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, νεανική ρευματοειδής αρθρίτιδα), γ) λοίμωξη από HIV (Human Immunodeficiency Virus), δ) νεφρωσικό σύνδρομο.

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες για την Ελλάδα (2015), δεν συνιστάται καθολικός ανιχνευτικός έλεγχος υπερχοληστερολαιμίας σε παιδιά και εφήβους. Συνιστάται επιλεκτικός έλεγχος σε παιδιά και εφήβους 2-18 ετών που βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης δυσλιπιδαιμίας ή πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου, βάσει

των συνθηκών που περιγράφηκαν στην ηλικιακή ομάδα 2-8 ετών του **Πίνακα 3**. Στην περίπτωση που ο έλεγχος γίνεται λόγω θετικού οικογενειακού ιστορικού, ο καλύτερος χρόνος ελέγχου είναι μεταξύ 4 και 8 ετών. Οι θέσεις αυτές έχουν γίνει αποδεκτές από το ΚΕΣΥ και περιλαμβάνονται στο νέο βιβλιário υγείας των παιδιών (<http://www.ygeiapediou-ich.gr>).

3.2.1 Πρωτοπαθείς δυσλιπιδαιμίες

Οι πρωτοπαθείς δυσλιπιδαιμίες είναι το αποτέλεσμα της επίδρασης κυρίως γενετικών παραγόντων στο μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών. Παρά την κληρονομική τους φύση παρουσιάζουν αξιοσημείωτη ενδο- και δια-οικογενειακή ποικιλομορφία όσον αφορά στη φαινοτυπική τους έκφραση, στις κλινικές εκδηλώσεις και στους βιοχημικούς δείκτες. Για αυτό το λόγο αναφέρονται και αρκετές ταξινομήσεις μεταξύ των οποίων και η παλαιότερη ταξινόμηση κατά Fredrickson (**Πίνακας 4**)[171].

Πίνακας 4. Κατάταξη πρωτοπαθών δυσλιπιδαιμιών κατά Fredrickson

Τύπος	Αυξημένες Λιποπρωτεΐνες	Αυξημένα Λιπίδια
I	Χυλομικρά	TG>1000mg/dl, TC φυσιολογική έως ηπίως αυξημένη
IIa	LDL	TC
IIb	LDL, VLDL	TC, TG
III	IDL και Remnants	TG, TC
IV	VLDL	TG, TC φυσιολογική έως ηπίως αυξημένη
V	Χυλομικρά, VLDL	TG>1000mg/dl, TC φυσιολογική έως ηπίως αυξημένη

Στην κλινική πράξη χρησιμοποιείται μια πιο απλουστευμένη κατάταξη (**Πίνακας 5**).

Πίνακας 5. Κατάταξη πρωτοπαθών δυσλιπιδαιμιών

1. Αύξηση της LDL-C	Οικογενής υπερχοληστερολαιμία (FH)
	Οικογενής διαταραχή της apoB
	Οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία (FCH)
	Πολυγονιδιακή πρωτοπαθής αύξηση της

	LDL-C
2. Αύξηση των TGs: ήπιας-μέτριας βαρύτητας	Οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία (FCH)
	Οικογενής δυσβηταλιποπρωτεϊναιμία (τύπος III)
	Οικογενής υπερτριγλυκεριδαιμία
3. Μείωση της HDL-C	Οικογενής υποαλφαλιποπρωτεϊναιμία
4. Αύξηση της Lp(a)	
5. Αύξηση των TGs: σοβαρή (σύνδρομο χυλομικροναϊμίας)	Οικογενής ανεπάρκεια της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LPL)

Η πιο συχνή πρωτοπαθής δυσλιπιδαιμία που απαντάται στην παιδική και εφηβική ηλικία είναι η ετερόζυγη οικογενής υπερχοληστερολαιμία (HeFH, υπερλιπιδαιμία τύπου IIa κατά Fredrickson). Ακολουθεί η οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία (FCH, υπερλιπιδαιμία τύπου IIb κατά Fredrickson), η οποία συχνά συνδέεται με παχυσαρκία και χαρακτηρίζεται από ήπια αύξηση της TC και της LDL-C, μέτρια έως σοβαρή αύξηση των TG και χαμηλά επίπεδα της HDL-C [169, 172, 173].

Η οικογενής υπερχοληστερολαιμία (FH) κληρονομείται με επικρατητικό σωματικό γονίδιο και χαρακτηρίζεται από ποσοτικές (ανεπάρκεια) και λειτουργικές διαταραχές των υποδοχέων της LDL (LDL-R) με συνέπεια αύξηση των επιπέδων της LDL-C [172]. Η ομόζυγη μορφή της νόσου (HoFH) είναι εξαιρετικά σπάνια και μπορεί να προβάλλει από την παιδική ήδη ηλικία με κάποια από της επιπλοκές της νόσου όπως είναι το οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου. Η ετερόζυγη μορφή της νόσου (HeFH) έχει ηπιότερες κλινικές εκδηλώσεις και οι επιπλοκές της μπορεί να εμφανιστούν στη νεαρή ή μέση ενήλικη ζωή. Παρόλα αυτά λόγω της συχνότητας της (1:500 έως 1:300) έχει τεράστιες κοινωνικές και οικονομικές επιπτώσεις στη δημόσια υγεία [172, 173]. Η αθηροσκληρυντική διεργασία αρχίζει νωρίς και η εξέλιξή της εξαρτάται από τη διάρκεια και τη βαρύτητα της δυσλιπιδαιμίας καθώς επίσης από την παρουσία άλλων, περιβαλλοντικών συνήθως, παραγόντων κινδύνου όπως είναι το κάπνισμα (ενεργητικό ή παθητικό), η ανθυγιεινή διατροφή και η μειωμένη φυσική δραστηριότητα. Το θετικό οικογενειακό ιστορικό υπερχοληστερολαιμίας ή/και πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου συμβάλουν στη διάγνωση [174]. Τα τενόντια ξανθώματα, που αποτελούν παθολογικό εύρημα της νόσου, καθώς επίσης τα ξανθελάσματα και το γεροντότοξο, δεν ανευρίσκονται συνήθως κατά την παιδική και εφηβική ηλικία, αλλά σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας [175].

Η οικογενής συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία (FCH) κληρονομείται με επικρατητικό σωματικό γονίδιο και είναι η πιο συχνή μορφή οικογενούς δυσλιπιδαιμίας (1:100). Χαρακτηρίζεται από υπερπαραγωγή των VLDL μορίων, μειωμένη παγίδευση των ελεύθερων λιπαρών οξέων και μειωμένη κάθαρση των χυλομικρών και των καταλοίπων τους, σαν αποτέλεσμα ποικίλων διαταραχών της apoB [176-178]. Η νόσος εμφανίζει πολύ μεγάλη ενδο-οικογενειακή και ατομική ποικιλότητα. Το 1/3 των μελών μιας οικογένειας που έχει τη διατραχή μπορεί να εμφανίζει αυξημένα επίπεδα LDL-C, το 1/3 υψηλά επίπεδα TG και το υπόλοιπο 1/3 συνδυασμένη αύξηση της LDL-C και των TG [179]. Σημαντικό είναι το γεγονός ότι ο φαινότυπος μπορεί να μεταβάλλεται με την πάροδο του χρόνου ή μετά από παρέμβαση με αλλαγές στον τρόπο ζωής. Η νόσος συνοδεύεται από αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης πρόωμης καρδιαγγειακής νόσου [177, 178].

3.2.2 Δευτεροπαθείς δυσλιπιδαιμίες: Ο ρόλος του Σακχαρώδη Διαβήτη

Οι δευτεροπαθείς δυσλιπιδαιμίες όπως ήδη αναφέρθηκε, αφορούν σε μη γενετικές διαταραχές και είναι αποτέλεσμα, επιπλοκή, μιας άλλης κατάστασης. Μεταξύ των πολυάριθμων αιτίων που μπορούν να οδηγήσουν σε δυσλιπιδαιμία περιλαμβάνεται ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 και τύπου 2 (**Πίνακας 6**) [169]. Σημειώνεται ότι η παρουσία ενός δευτεροπαθούς αιτίου π.χ. παχυσαρκίας δεν αποκλείει την παρουσία κάποιας πρωτοπαθούς αιτίας.

Πίνακας 6. Δευτεροπαθή αίτια δυσλιπιδαιμίας

Εξωγενή	• Ανθυγιεινή διατροφή – Παχυσαρκία - Μειωμένη φυσική δραστηριότητα • Κάπνισμα • Αλκοόλ • Φάρμακα π.χ. κορτικοστεροειδή, ισοτρετινοΐνη, β-αποκλειστές, αντισυλληπτικά, αντιεπιληπτικά, χημειοθεραπευτικά, αντιρετροϊκά
Ενδοκρινικά	• Υποθυρεοειδισμός • Υποφυσιακή ανεπάρκεια • Σακχαρώδης διαβήτης (1 & 2) • Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών • Παχυσαρκία • Μεταβολικό σύνδρομο • Λιποδυστροφία
Νεφρικά	• Χρόνια νεφρική νόσος • Ουραιμικό αιμολυτικό σύνδρομο • Νεφρωσικό σύνδρομο
Λοιμώδη	• Οξεία ιογενής/βακτηριακή λοίμωξη • Λοίμωξη από HIV • Ηπατίτιδα
Ηπατικά	• Αποφρακτική ηπατοπάθεια/Χολόσταση

	• Χολική κίρρωση • Σύνδρομο Alagille
Συστηματικά φλεγμονώδη	• Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος • Νεανική Ρευματοειδής αρθρίτιδα
Μεταβολικά	• Γλυκογονιάσεις (ηπατικές) • Νόσος άθροισης εστέρων χοληστερόλης (CESD) • Νόσος Wolman • Νόσος Gaucher • Νόσος Tay-Sacks • Νόσος Niemann-Pick
Άλλα	• Νόσος Kawasaki • Νευρογενής ανορεξία • Μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων • Επιζών καρκίνου • Ιδιοπαθής υπερασβεστιαμία • Σύνδρομο Klinefelter • Σύνδρομο Werner • Προγηρία

Σημείωση: Η σειρά αναγραφής είναι τυχαία

Ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί έναν τεκμηριωμένο παράγοντα κινδύνου εμφάνισης πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου. Ο σακχαρώδης διαβήτης, ανεξάρτητα από τον τύπο του, προκαλεί αγγειακή νόσο (μικρο- και μακρο-αγγειοπάθεια) [12, 180-184]. Αποτελέσματα μελετών αυτοψιών καθώς και μη επεμβατικών απεικονιστικών μεθόδων έχουν δείξει ότι η έκταση της αγγειακής συμμετοχής αντικατοπτρίζει τη διάρκεια και τη σοβαρότητα της μεταβολικής διαταραχής. Τα τελευταία χρόνια, τα επιδημιολογικά δεδομένα του σακχαρώδη διαβήτη έχουν αλλάξει σημαντικά, σαν αποτέλεσμα της επιδημικής μορφής που έχουν λάβει η παιδική και εφηβική παχυσαρκία, με το διαβήτη τύπου 2, που παλαιότερα αποτελούσε τον διαβήτη των ενηλίκων, να απαντάται όλο και συχνότερα σε αυτές τις ηλικίες [169, 185].

Ανεξάρτητα από τις κλινικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των δύο τύπων, γεγονός είναι ότι τα παιδιά με σακχαρώδη διαβήτη διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο επιτάχυνσης των διαδικασιών αθηροσκλήρυνσης και εμφάνισης πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου [169, 185]. Τα περισσότερα δεδομένα που αναφέρονται στη συσχέτιση σακχαρώδη διαβήτη και καρδιαγγειακών συμβαμάτων προέρχονται από επιδημιολογικές μελέτες ενηλίκων ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 ή τύπων 1 & 2 χωρίς να γίνεται κάποια διάκριση μεταξύ τους. Από τις μελέτες προκύπτει ότι απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση και αποσαφήνιση των παθοφυσιολογικών μονοπατιών που συνδέουν το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 με την πρώιμη καρδιαγγειακή νόσο και τους υπόλοιπους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου [186-188].

Σύμφωνα με τα διαθέσιμα δεδομένα, τα καρδιαγγειακά συμβάματα είναι πιο συχνά και συμβαίνουν νωρίτερα στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 σε σχέση με μη διαβητικούς πληθυσμούς. Ο επιπολασμός των καρδιαγγειακών νοσημάτων στα άτομα με διαβήτη τύπου 1 εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από τη διάρκεια της νόσου, το φύλο, καθώς οι γυναίκες φαίνεται να διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο, και τη φυλή [186, 189, 190]. Η μελέτη EDC (Epidemiology of Diabetes Complications) έδειξε ότι η επίπτωση κλινικών εκδηλώσεων από τις μεγάλες στεφανιαίες αρτηρίες σε νεαρούς ενήλικες (23-28 ετών) με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 ήταν 0,98% ανά έτος και ξεπερνούσε το 3% ανά έτος μετά από την ηλικία των 55 χρόνων, καθιστώντας τη νόσο την κύρια αιτία θανάτου στον συγκεκριμένο πληθυσμό [191]. Αντίθετα, η επίπτωση στους μη διαβητικούς πληθυσμούς είναι περίπου 0,1% στις ηλικίες 35-44 ετών και φθάνει το 7,4% στις ηλικίες 85-94 ετών [192]. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μελετών ο σχετικός κίνδυνος για εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων, προσαρμοσμένος για την ηλικία, είναι περίπου 10 φορές μεγαλύτερος στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 σε σύγκριση με αυτόν του γενικού πληθυσμού [193-195]. Σύμφωνα με μελέτη που προέρχεται από το Ηνωμένο Βασίλειο (UK, General Practice Research Database, GPRD) και χρησιμοποίησε τη βάση δεδομένων που περιελάμβανε δεδομένα από περισσότερους από 7400 ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1, τα καρδιαγγειακά συμβάματα συνέβησαν κατά μέσο όρο 10 έως 15 χρόνια νωρίτερα σε σχέση με μη διαβητικά άτομα αναλόγου ηλικίας και φύλου [186].

Η κλινική εκδήλωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων στην παιδική ηλικία δεν είναι αναμενόμενη ακόμη και σε παιδιά με βεβαρυμένο ατομικό ιστορικό σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1. Όμως, σύμφωνα με τις αναλύσεις στοιχείων διαφόρων μη επεμβατικών απεικονιστικών μεθόδων, τα παιδιά αυτά παρουσιάζουν υποκλινική αθηρωματική νόσο ακόμη και μέσα στην 1^η 10ετία από τη διάγνωση της βασικής νόσου [196-201]. Ωστόσο, τα αποτελέσματα μελετών του πάχους του έσω και μέσου χιτώνα των καρωτιδικών αρτηριών (Carotid Intimal Medial Thickness, c-IMT) είναι αντικρουόμενα. Σε ορισμένες μελέτες αναφέρονται διαφορές μεταξύ υγιών και διαβητικών παιδιών [197, 202-205], ενώ σε άλλες όχι [196, 206, 207]. Η μεγαλύτερη διαθέσιμη μελέτη, με μετρήσεις του c-IMT σε περισσότερα από 400 παιδιά, εκ των οποίων περισσότερα από 300 ήταν διαβητικά και ήταν σε εντατική χορήγηση ινσουλίνης, έδειξε μεγαλύτερο πάχος του τοιχώματος των καρωτίδων μόνο στα

διαβητικά αγόρια σε σχέση με τα υγιή [202]. Τα διαχρονικά δεδομένα σχετικά με την επίδραση του γλυκαιμικού δείκτη στα καρδιαγγειακά νοσήματα κατά τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας είναι αρκετά περιορισμένα. Τα πλέον αξιόπιστα, διαθέσιμα στοιχεία προέρχονται από τη μελέτη DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) σε 195 εφήβους. Σύμφωνα με τη μελέτη, ο εντατικός έλεγχος της νόσου κατά τη διάρκεια της εφηβείας οδήγησε σε καθυστέρηση της έναρξης και της εξέλιξης της αμφιβληστροειδοπάθειας και της νεφροπάθειας αλλά όχι των καρδιαγγειακών νοσημάτων, πιθανόν λόγω του μακρύτερου λανθάνοντος χρόνου για την εκδήλωσή τους [208].

Σύμφωνα με τα στοιχεία μιας υποανάλυσης της μελέτης DCCT, το λιπιδαιμικό προφίλ ενηλίκων ασθενών με καλά ελεγχόμενο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 δεν διαφέρει σημαντικά από των μη διαβητικών ατόμων [60]. Αντίθετα, ο κακός γλυκαιμικός έλεγχος, το αυξημένο βάρος σώματος και η αντίσταση στην ινσουλίνη συσχετίζονται με αυξημένη αθηρογενετική δράση της χοληστερόλης τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες [209-211]. Φαίνεται λοιπόν ότι η επίτευξη καλύτερου γλυκαιμικού ελέγχου μπορεί να βελτιώσει ή να επαναφέρει στο φυσιολογικό τα επίπεδα λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών [212]. Στη μελέτη DCCT παρατηρήθηκαν διακυμάνσεις στα επίπεδα λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών ανάλογα με το φύλο. Οι νεαρές γυναίκες παρουσίαζαν υψηλότερα επίπεδα LDL-C και VLDL-C και χαμηλότερα επίπεδα HDL-C, ενώ οι άνδρες παρουσίαζαν χαμηλότερα επίπεδα VLDL-C και υψηλότερα επίπεδα HDL-C σε σχέση με μη διαβητικά άτομα αντίστοιχης ηλικίας [209]. Μελέτες σε παιδιά και νεαρούς ενήλικες δείχνουν υψηλότερα επίπεδα λιπιδίων σε σύγκριση με αντίστοιχους μη διαβητικούς πληθυσμούς, με το γλυκαιμικό έλεγχο να αποτελεί τον βασικό καθοριστικό παράγοντα [213].

Τα αποτελέσματα των μελετών, στην πλειονότητά τους, επιβεβαιώνουν τη θεωρία ότι όπως ισχύει για το γενικό πληθυσμό η δυσλιπιδαιμία αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων στους διαβητικούς ασθενείς. Για την καλύτερη εκτίμηση του κινδύνου αναζητούνται ποιοτικές διαφοροποιήσεις των λιποπρωτεϊνικών κλασμάτων. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η HDL-C, ο μεταβολισμός της οποίας, στα άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 υπό ινσουλίνη, μεταβάλεται λόγω δυσλειτουργίας της λιποπρωτεϊνικής και της ηπατικής λιπάσης. Μάλιστα, σε μελέτη εντοπίστηκε ένα κλάσμα της HDL-C το οποίο φαίνεται να

συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου στα άτομα με διαβήτη τύπου 1 [214, 215]. Πρόσφατα δεδομένα από τη μελέτη EDC δείχνουν ότι η συνήθης αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της HDL-C και του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου διατηρείται στους άνδρες με διαβήτη τύπου 1, σε αντίθεση με τις γυναίκες οι οποίες φαίνεται να μην εμφανίζουν την αναμενόμενη προστατευτική δράση σε επίπεδα υψηλότερα των 50-60mg/dl [216].

Στην κλινική πράξη, οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και συνοδό δυσλιπιδαιμία αντιμετωπίζονται πιο επιθετικά όσον αφορά στη φαρμακευτική αγωγή. Ωστόσο, οι συστάσεις αυτές έχουν προκύψει από παρεμβατικές μελέτες σε ενήλικες με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, στους οποίους τα ποσοστά καρδιαγγειακών συμβαμάτων είναι ισοδύναμα με εκείνα των πληθυσμών δευτερογενούς πρόληψης. Μέχρι στιγμής δεν υπάρχει σαφής απάντηση για το αν αυτή η αντιμετώπιση είναι η πλέον κατάλληλη, παρόλο που επιδημιολογικά στοιχεία από τη μελέτη EDC δείχνουν ότι συγκεντρώσεις της LDL-C πάνω από 100mg/dl, σχετίζονται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Αντίστοιχα, μια μετα-ανάλυση που περιελάμβανε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 υποστήριξε ότι η μείωση της LDL-C οδηγεί σε μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων [217, 218]. Με την πάροδο του χρόνου, η ευαισθητοποίηση απέναντι στον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου και στην ανάγκη προληπτικού ελέγχου για δυσλιπιδαιμία των ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 συνεχώς αυξάνεται. Επιπλέον, είναι πλέον τεκμηριωμένη γνώση ότι τα μέτρα πρόληψης για να είναι πιο αποτελεσματικά πρέπει να στοχεύουν σε μικρότερες ηλικίες, οι οποίες δεν έχουν ακόμη αναπτύξει κλινικές εκδηλώσεις ή επιπλοκές της νόσου [219].

4. Χρήση νεότερων βιοδεικτών για την εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου

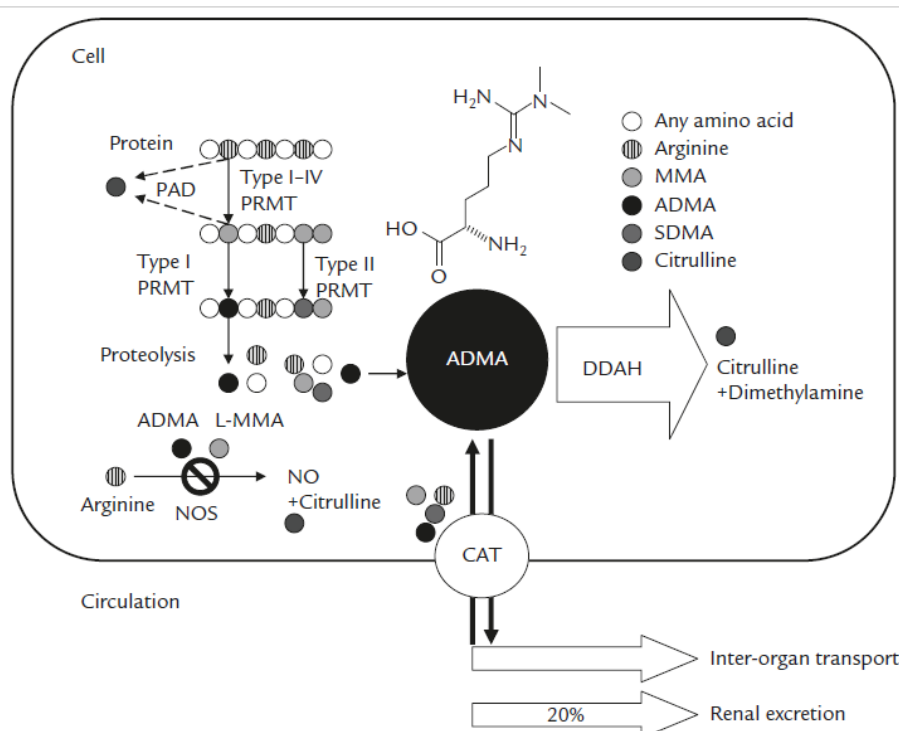
Όπως αναφέρθηκε στις προηγούμενες ενότητες, τα καρδιαγγειακά νοσήματα συνεχίζουν να αποτελούν πρωτεύον πρόβλημα δημόσιας υγείας ως μία από τις σημαντικότερες αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας. Για την αντιμετώπιση αυτού του δημόσιου κινδύνου είναι αναγκαίο να επενδύσουμε στη λήψη αποτελεσματικών προληπτικών μέτρων. Τα μέτρα πρωτογενούς πρόληψης πρέπει να στοχεύουν στην τροποποίηση παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου σε άτομα υψηλού κινδύνου και πρέπει να λαμβάνονται, εφόσον είναι δυνατό, από την παιδική ηλικία, όπου ξεκινά η διαδικασία της ανάπτυξης των αθηρωματικών βλαβών. Ο στόχος αυτός θα επιτευχθεί μόνο εφόσον γίνει δυνατή η ακριβέστερη και όσο το δυνατόν πρωιμότερη ανίχνευση των ατόμων αυξημένου κινδύνου. Στη φαρέτρα των μέτρων πρόληψης, ιδιαίτερα σημαντική θέση κατέχουν οι βιοδείκτες. Πέραν των παραδοσιακών δεικτών, στους οποίους έγινε αναφορά στις προηγούμενες ενότητες, η ανεύρεση πρόσθετων δεικτών συμβάλει στον εντοπισμό των ομάδων υψηλού κινδύνου με μεγαλύτερη ακρίβεια και συντελεί στη λήψη της απόφασης ιατρικής παρέμβασης με μεγαλύτερη ασφάλεια [220, 221].

4.1 Ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη (Asymmetric dimethylarginine, ADMA)

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία προηγείται των καρδιαγγειακών συμβαμάτων και θεωρείται ότι αποτελεί ένα δείκτη πρώιμης αθηροσκλήρωσης, καθώς και ένα προγνωστικό δείκτη των όψιμων επιπλοκών [222, 223]. Η αξιολόγηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας βασίζεται στη φυσιολογική διαστολή των αρτηριών ως αποτέλεσμα της αυξημένης ροής αίματος. Αυτού του τύπου η αγγειοδιαστολή εξαρτάται από το μονοξείδιο του αζώτου (NO), το οποίο απελευθερώνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα σε απόκριση της αυξημένης διατμητικής τάσης [224-232].

Η ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη (ADMA), η οποία παράγεται στα ανθρώπινα κύτταρα κατά τη διάρκεια της πρωτεόλυσης των μεθυλιωμένων πυρηνικών πρωτεϊνών, μειώνει το σχηματισμό NO. Συγκεκριμένα, η μεθυλίωση της αργινίνης των πρωτεϊνών πραγματοποιείται από μια οικογένεια ενζύμων που ονομάζεται μεθυλτρανσφεράσες (protein arginine methyltransferases, PRMTs). Οι PRMTs μεθυλιώνουν την L-αργινίνη των πρωτεϊνών δημιουργώντας πρωτεϊνικές μονομεθυλαργινίνες (monomethylarginine, MMA). Στη συνέχεια, οι μεθυλτρανσφεράσες τύπου I και II μετατρέπουν τη μονομεθυλαργινίνη σε ασύμμετρη (asymmetric dimethylarginine, ADMA) και συμμετρική (symmetric dimethylarginine, SDMA) διμεθυλαργινίνη αντίστοιχα. Η SDMA αποτελεί το ανενεργό στερεοϊσομερές της ADMA. Αποτέλεσμα της κυτταρικής πρωτεόλυσης των μεθυλιωμένων πρωτεϊνών είναι η απελευθέρωση στο ενδοκυττάριο πλάσμα ελεύθερων μορίων MMA και ADMA ή SDMA. Ο μεταβολισμός των ελεύθερων μορίων L-αργινίνης από τη συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου (nitric oxide synthase, NOS) οδηγεί στο σχηματισμό μονοξειδίου του αζώτου (NO) και L-κιτρουλίνης. Αντίθετα, οι μεθυλιωμένες αργινίνες, MMA και ADMA, εμποδίζουν την παραγωγή NO αναστέλλοντας τη δραστηριότητα της συνθετάσης του NO. Η ADMA υδρολύεται ενδοκυτταρικά από τη διμεθυλ-αμινο-υδρολάση της διμεθυλαργινίνης (dimethylarginine dimethylaminohydrolase, DDAH) και παράγονται μόρια κιτρουλίνης και διμεθυλαμίνης. Τέλος, τα ελεύθερα μόρια L-αργινίνης και μεθυλαργινινών απελευθερώνονται στον εξωκυττάριο χώρο μέσω των κατιονικών μεταφορέων αμινοξέων (cationic amino acid transporter, CAT) απ' όπου μεταφέρονται σε άλλα όργανα ή απεκκρίνονται από τους νεφρούς (Εικόνα 4) [233-236].

Εικόνα 4. Μεταβολισμός μεθυλαργινινών.



Πηγή: You-Lin Tain, Li-Tung Huang. Review Article. Asymmetric Dimethylarginine: Clinical Applications in Pediatric Medicine. J Formos Med Assoc 2011; 110(2): 70–77

Με τη μείωση των επιπέδων NO μέσω της αναστολής της δράσης της NOS, η ADMA θεωρείται ότι συμβάλλει στην δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, στην αγγειοσυσπασση, στην αύξηση της αρτηριακής πίεσης, στην αθηροσκλήρυνση και στην επίδεινωση της νεφρικής λειτουργίας [237-241]. Συνεπώς η ADMA θεωρείται ότι παίζει ιδιαίτερο ρόλο σε νοσήματα όπως για παράδειγμα οι δυσλιπιδαιμίες, η στεφανιαία νόσος, η χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια, η αρτηριακή υπέρταση, η περιφερική αγγειακή νόσος, η προεκλαμψία, ο σακχαρώσης διαβήτης και η χρόνια νεφρική νόσος [241-245]. Τα αποτελέσματα αρκετών επιδημιολογικών μελετών σε ενήλικους πληθυσμούς υποστηρίζουν την υπόθεση ότι η ADMA αποτελεί έναν παράγοντα κινδύνου καθώς και προγνωστικό δείκτη των καρδιαγγειακών συμβαμάτων [246, 247]. Στον παιδιατρικό πληθυσμό δεν υπάρχουν διαθέσιμα επαρκή δεδομένα [248].

4.1.1 ADMA: ερευνητικά δεδομένα

Οι Achan και συνεργάτες χορήγησαν χαμηλές δόσεις ADMA σε υγιείς εθελοντές και παρακολούθησαν τις μεταβολές του καρδιαγγειακού συστήματος. Αμέσως μετά την

ενδοφλέβια χορήγηση ADMA, παρατηρήθηκε μείωση του καρδιακού ρυθμού και της καρδιακής παροχής (περίπου 15%) και αύξηση της αρτηριακής πίεσης 6%. Αυτές οι μεταβολές ήταν προσωρινές και υποχώρησαν μετά την 1^η ώρα [249]. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και σε άλλες μελέτες όπου μετά τη χορήγηση ADMA μειώθηκε η ροή αίματος στο αντιβράχιο [236, 250], όπως και η νεφρική ροή, ενώ αυξήθηκαν οι συστηματικές και οι πνευμονικές αγγειακές αντιστάσεις [251, 252].

Σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα ADMA στο πλάσμα σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες [253, 254]. Συγκεκριμένα, σε ασθενείς με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία παρατηρήθηκε σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (έλεγχος της διάτασης της βραχιονίου αρτηρίας, ελεγχόμενη από τη ροή αίματος, Flow Mediated Dilatation, FMD) και της ADMA [255-257]. Στους συμμετέχοντες μίας από τις προαναφερθείσες μελέτες έγινε ενδοφλέβια έγχυση L-αργινίνης, μόριο το οποίο προάγει τη σύνθεση του NO, και την οποία ακολούθησε αποκατάσταση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, ενισχύοντας έτσι τη συσχέτιση της ADMA με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία. Επιπλέον, η ADMA φαίνεται ότι συσχετίζεται αρνητικά με τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης και θετικά με τα επίπεδα της ολικής- και της LDL χοληστερόλης. Μάλιστα, η οξειδωμένη LDL πιθανότατα φέρει ευθύνη για την αύξηση της ADMA, ενώ η ADMA με τη σειρά της φαίνεται ότι αυξάνει την έκφραση του LOX-1 (oxidized LDL lecithin-like receptor-1) ο οποίος αποτελεί το βασικό υποδοχέα της οξειδωμένης LDL στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Θετική συσχέτιση έχει επίσης παρατηρηθεί μεταξύ ADMA πλάσματος και ομοκυστεΐνης. Από τη μια πλευρά, η σύνθεση της ADMA οδηγεί σε παραγωγή ομοκυστεΐνης και από την άλλη πλευρά, η ομοκυστεΐνη αυξάνει τα επίπεδα της ADMA αναστέλλοντας το μεταβολισμό της [258]. Στα άτομα με υπερομοκυστεϊναιμία έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα ADMA καθώς και σοβαρή ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [256, 259-261].

Στη μελέτη CARDIAC συμμετείχαν 800 εθελοντές ηλικίας 25 έως 85 ετών (75% γυναίκες). Το 50% των συμμετεχόντων έπασχαν από καρδιαγγειακά νοσήματα (θετικό ιστορικό για σταθερή στηθάγχη ή οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου) και το υπόλοιπο 50% ήταν άτομα τα οποία παρουσίαζαν παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου αλλά δεν έπασχαν από καρδιαγγειακά νοσήματα και αποτέλεσαν την ομάδα κινδύνου. Στην ομάδα των ασθενών τα επίπεδα της ADMA ήταν αυξημένα κατά

20%. Η αύξηση των επιπέδων της ADMA κατά 1 $\mu\text{mol/l}$ συνοδεύεται από αύξηση του κινδύνου καρδιαγγειακών νοσημάτων κατά 2,35 φορές, ενώ από μία ορισμένη τιμή επιπέδων ADMA και άνω, ο κίνδυνος αυξανόταν κατά 6-7 φορές [262]. Αντίστοιχα, στην προοπτική μελέτη AtheroGene, σε 1908 συμμετέχοντες με επιβεβαιωμένη στεφανιαία νόσο, παρατηρήθηκε ότι η ADMA αποτελεί ένα ισχυρό προγνωστικό δείκτη οξέων καρδιαγγειακών επεισοδίων. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς με υψηλά επίπεδα ADMA παρουσίαζαν 25% περισσότερα καρδιαγγειακά συμβάματα σε σύγκριση με τους ασθενείς με χαμηλά επίπεδα [263]. Ακόμα, μελέτη ασθενών με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια καταδεικνύει θετική συσχέτιση της νόσου με αυξημένα επίπεδα ADMA [264].

Επιπλέον, η ADMA φαίνεται ότι αποτελεί έναν αξιόπιστο δείκτη κινδύνου οξέων αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων (ΑΕΕ). Σε μελέτη 363 ασθενών με ισχαιμικά ΑΕΕ από τη Σουηδία, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της ADMA σε όλες τις υποομάδες των ασθενών. Μάλιστα φάνηκε ότι η ADMA δύναται να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης των παροδικών ισχαιμικών ΑΕΕ [265].

Αυξημένα επίπεδα ADMA έχουν επίσης παρατηρηθεί σε μελέτες ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη και ινσουλινοαντοχή [266, 267]. Ωστόσο η σχέση της ADMA με το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και 2 παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς τα στοιχεία που προκύπτουν από κλινικές μελέτες των τελευταίων χρόνων είναι αντιφατικά. Όσον αφορά στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, μελέτη 136 ασθενών έδειξε ότι τα αυξημένα επίπεδα της ADMA σχετίζονται, σημαντικά και ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, με την ανάπτυξη μακροαγγειακής νόσου [268]. Ακόμα, τα επίπεδα της ADMA σχετίζονται θετικά με το δείκτη HOMA-IR (Homeostasis model assessment of insulin resistance) [269-271] καθώς και με την εξέλιξη της νεφροπάθειας των διαβητικών ασθενών [272]. Αντίθετα, αποτελέσματα άλλων μελετών δείχνουν ότι οι διαβητικοί ασθενείς έχουν χαμηλότερα επίπεδα ADMA συγκριτικά με τους μη-διαβητικούς. Μάλιστα, τα δεδομένα αυτών των μελετών υποστηρίζουν ότι τα ελαφρώς αυξημένα επίπεδα GFR (glomerular filtration rate) και ο κακός γλυκαιμικός έλεγχος σχετίζονται με ακόμη χαμηλότερα επίπεδα ADMA [273]. Εξίσου αντικρουόμενα είναι και τα αποτελέσματα ερευνών που περιλαμβάνουν ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1. Συγκεκριμένα, μελέτη 75 νεαρών ενηλίκων (40 ασθενείς, 35 υγιείς μάρτυρες) συσχέτισε την ύπαρξη μη επιπλεγμένου διαβήτη τύπου 1, με αυξημένα επίπεδα ADMA [274]. Αντίθετα, άλλη μελέτη 123 νεαρών

ενηλίκων (61 ασθενείς, 62 υγιείς μάρτυρες) συσχέτισε την ύπαρξη μη επιπλεγμένου διαβήτη τύπου 1 με σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα ADMA [275]. Αντίστοιχα είναι και τα διαθέσιμα δεδομένα για παιδιά με σακχαρώδη διαβήτη [276].

Αυξημένες συγκεντρώσεις ADMA στο πλάσμα έχουν επίσης παρατηρηθεί σε υπέρβαρα και παχύσαρκα άτομα [269]. Σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τα επίπεδα της ADMA φαίνεται ότι αποτελούν ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη καρδιαγγειακών συμβαμάτων και θνησιμότητας [277]. Στην κύηση τα επίπεδα της ADMA φαίνεται ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικός δείκτης προεκλαμψίας [278, 279].

Σε αντίθεση με τον ενήλικο πληθυσμό, στα παιδιά και στους εφήβους η μελέτη της ADMA σε υγιείς και σε νοσούντες, είναι σε αρχικά στάδια. Όμως, η λίστα των κλινικών καταστάσεων του παιδιατρικού πληθυσμού, όπου ανευρίσκονται αυξημένα επίπεδα ADMA συνεχώς αυξάνεται (**Πίνακας 7**). Σε συνέπεια με την ανάδειξη της ADMA ως δείκτη καρδιαγγειακού κινδύνου στον ενήλικο πληθυσμό, αυξημένα επίπεδα ADMA έχουν βρεθεί σε παιδιά και εφήβους με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία σε παθολογικές καταστάσεις όπως είναι η υπέρταση [280], η υπερχοληστερολαιμία [281], η χρόνια νεφρική νόσος [282] και ο σακχαρώδης διαβήτης [283]. Σε αντίθεση με τα δεδομένα προοπτικών μελετών σε ενήλικους πληθυσμούς, τα οποία αναδεικνύουν την άμεση και ανεξάρτητη συσχέτιση της ADMA με τα καρδιαγγειακά συμβάματα, οι παιδιατρικές μελέτες περιορίζονται από ανεπαρκή ισχύ και μικρό μέγεθος δείγματος.

Πίνακας 7. Κλινικές καταστάσεις όπου ανευρίσκονται αυξημένα επίπεδα ADMA στον παιδιατρικό πληθυσμό

Κλινικές καταστάσεις	% αύξηση σε σύγκριση με μάρτυρες	Βιβλιογραφικές αναφορές
Υπέρταση	128	Goonasekera et al, 1997 [280]
Συγγενής καρδιοπάθεια με πνευμονική υπέρταση	160	Gorenflo et al, 2001 [284]
Προωρότητα	35	Mittermayer et al, 2006 [285]

Σακχαρώδης διαβήτης τύπου I	50	Altinova et al, 2007 [283]
Μηχανικός αερισμός σε πρόωρα βρέφη	12	Richir et al, 2008 [286]
Χρόνια νεφρική νόσος	38-200	Brooks et al, 2008 [282]
Εστιακή και τμηματική σπειραματοσκλήρυνση	25	Lucke et al, 2008 [287]
Πάχυνση αρτηριακών τοιχωμάτων	Δεν προσδιορίστηκε	Ayer et al, 2009 [288]
Οικογενής υπερχοληστερολαιμία	22	Jehlicka et al, 2009 [281]
Ανεπάρκεια αργινοηλεκτρικής συνθετάσης	177	Nagasaca et al, 2009 [289]
Συγγενής πυλαιοσυστηματική φλεβική διαφυγή	30	Nagasaca et al, 2010 [290]

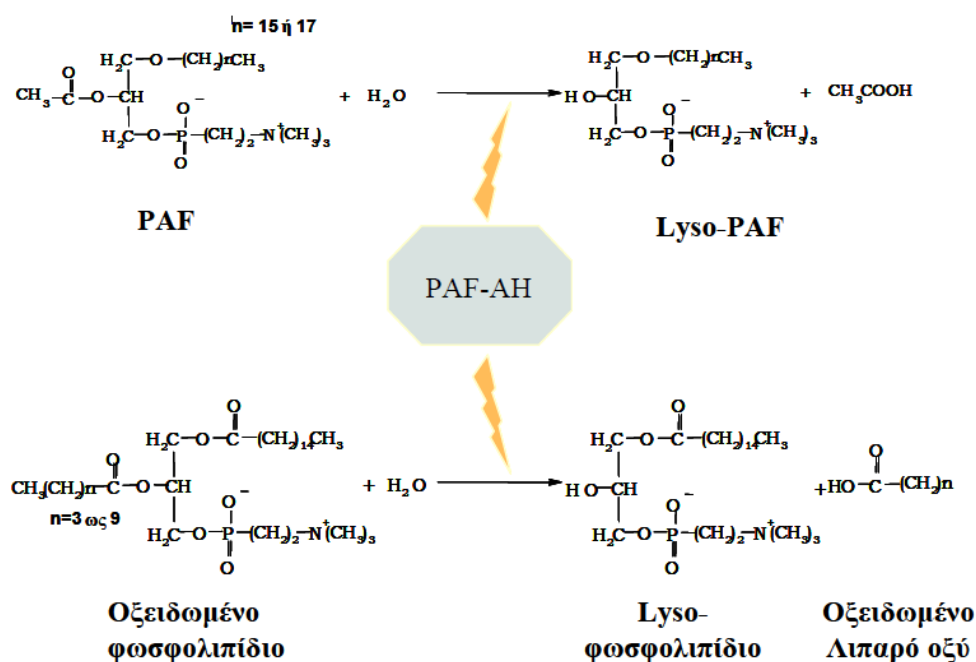
Αναλυτικότερα στον παιδιατρικό πληθυσμό, μελέτες συνδέουν την ADMA με διαταραχές των λιπιδίων και πιθανότατα με τον κίνδυνο εμφάνισης πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου. Οι P.Jehlicka et al, μελέτησαν 32 παιδιά μέσης ηλικίας 14,7 ($\pm$ 2,9) χρονών, με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία, εκ των οποίων τα 18 ήταν υπό φαρμακευτική αγωγή (ιοντοανταλλακτικές ρητίνες, στατίνες, εξετιμίμπη). Η σύγκριση με 30 υγιή παιδιά που χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων της ADMA και της οξειδωμένης LDL χοληστερόλης στα παιδιά με τη δυσλιπιδαιμία. Επίσης, τα παιδιά υποβλήθηκαν σε μέτρηση του FMD και παρόλο που τα αποτελέσματα των μετρήσεων δεν έδωσαν μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση, φάνηκε ότι η αύξηση της ADMA συνδέεται με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [281]. Ακόμη, σε μελέτη 405 παιδιών μέσης ηλικίας 8 ετών, παρατηρήθηκε ότι η πάχυνση των τοιχωμάτων των αρτηριών, ιδιαίτερα σε παιδιά με θετικό οικογενειακό ιστορικό πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου, συνδέεται στατιστικά σημαντικά και ανεξάρτητα με υψηλά επίπεδα ADMA, χαμηλή HDL χοληστερόλη και αυξημένη αρτηριακή πίεση [288,

291]. Επιπλέον, στοιχεία ερευνών αναδεικνύουν τον επιβαρυντικό ρόλο των υψηλών επιπέδων ADMA στα παιδιά με πνευμονική υπέρταση, ενώ σε νεαρούς ασθενείς με ιδιοπαθή αρτηριακή υπέρταση η ADMA μπορεί να αποτελέσει έναν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα θνητότητας [258].

4.2 Η συνδεδεμένη με τις λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A2 (Lipoprotein-associated phospholipase A2, Lp-PLA2)

Η συνδεδεμένη με τις λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A2 (Lp-PLA2) ή αλλιώς γνωστή ως ακετυλοϋδρολάση πλάσματος του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (platelet activating factor – acetylhydrolase, PAF-AH), ανήκει σε μία οικογένεια ενζύμων τα οποία έχουν την ικανότητα να αποικοδομούν τόσο τον παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (platelet activating factor, PAF), όσο και διάφορα οξειδωμένα φωσφολιπίδια (**Εικόνα 5**). Ο PAF οφείλει την ονομασία του στην ιδιότητα του να επάγει την έκκριση βιοδραστικών ουσιών από τα αιμοπετάλια, καθώς και τη συσσώρευση αυτών των κυττάρων [292] και εμπλέκεται σε πολυάριθμες βιολογικές δράσεις, με προεξάρχουσες εκείνες των φλεγμονωδών διεργασιών και των αλλεργικών αντιδράσεων [293, 294]

Εικόνα 5. Υδρόλυση του PAF και των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων από την PAF-AH



Πηγή: Tjoelker LW, Wilder C, Eberhardt C et al., Anti-inflammatory properties of a platelet-activating factor acetylhydrolase. Nature 1995; 374: 549-53.

Η Lp-PLA2 του πλάσματος περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους Farg και συνεργάτες, οι οποίοι παρατήρησαν ότι ο PAF χάνει τη βιολογική του δραστηριότητα

όταν επωασθεί παρουσία ορού κουνελιού [295]. Μία σειρά από κύτταρα, όπως τα αιμοπετάλια, τα ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα, τα ηπατοκύτταρα και κυρίως τα μακροφάγα έχουν την ικανότητα να παράγουν και να εκκρίνουν το ένζυμο του πλάσματος [296-301]. Η ενεργότητα του ενζύμου επηρεάζεται σημαντικά από το μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι το σημαντικότερο ρυθμιστικό παράγοντα της ενεργότητας της Lp-PLA2 πλάσματος αποτελεί ο ρυθμός καταβολισμού των λιποπρωτεϊνών που περιέχουν apoB [302]. Συνεπώς, οι ασθενείς με διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων που χαρακτηρίζονται από μείωση της κάθαρσης της LDL (π.χ. οικογενής υπερχοληστερολαιμία) εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερη ενεργότητα της Lp-PLA2 στο πλάσμα σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες [303]. Στις περισσότερες μελέτες έχει παρατηρηθεί μία σταθερά θετική συσχέτιση μεταξύ του ενζύμου στο πλάσμα και των επιπέδων της ολικής- και της LDL χοληστερόλης, καθώς και με τις συγκεντρώσεις της apoB [304].

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα της Lp-PLA2 του πλάσματος είναι: α) ο βαθμός διαφοροποίησης των κυττάρων του συστήματος μονοπύρηνων/ μακροφάγων [305], β) ορμονικοί παράγοντες (η προγεστερόνη και η δεξαμεθαζόνη προκαλούν σημαντική αύξηση της παραγωγής του ενζύμου από τα μακροφάγα του φθαρτού, ενώ αντίθετα τα οιστρογόνα και η βιταμίνη D προκαλούν μείωση της παραγωγής του ενζύμου), ένα γεγονός που ενδεχόμενα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην κύηση και στην έναρξη του τοκετού [306-308], γ) κυτταροκίνες που ευοδώνουν τη φλεγμονή [309-312], δ) η ηλικία και το φύλο και ε) η κληρονομικότητα [302]. Η ενεργότητα της Lp-PLA2 του πλάσματος αυξάνεται προοδευτικά με την πάροδο της ηλικίας και οι άνδρες εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερη ενεργότητα του ενζύμου σε σύγκριση με τις γυναίκες της ίδιας ηλικιακής ομάδας έως την ηλικία των 50 περίπου ετών, οπότε και η ενεργότητα του ενζύμου εξομοιώνεται ανάμεσα στα δύο φύλα [313]. Παρά το γεγονός ότι μια από τις δράσεις της Lp-PLA2 είναι η αδρανοποίηση των οξειδωμένων φωσfolιπιδίων που παράγονται σε συνθήκες οξειδωτικού stress, το ένζυμο υπόκειται και το ίδιο οξειδωτική απενεργοποίηση [314]. Τόσο φυσικές (π.χ. ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και βαρέα μέταλλα όσο και μη φυσικές (π.χ. καπνός τσιγάρων) οξειδωτικές ουσίες έχει αναφερθεί ότι έχουν την ικανότητα να απενεργοποιούν την Lp-PLA2 [315-317].

Η Lp-PLA2 του πλάσματος είναι ένα υδρόφοβο μόριο το οποίο κυκλοφορεί συνδεδεμένο με τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια [318]. Ενζυμική ενεργότητα που

υδρολύει τον PAF έχει βρεθεί σε όλες τις λιποπρωτεΐνες που περιέχουν apoB-100 (VLDL, IDL και LDL), καθώς και στις HDL [319]. Συγκεκριμένα, το 70-80% της ενεργότητας της LpPLA2 ανιχνεύεται στις LDL και το υπόλοιπο 20-30% στις HDL [314]. Τα λιποπρωτεϊνικά σωματίδια συνδέονται με την Lp-PLA2 διαμέσου του καρβοξυτελικού άκρου της apoB-100 [320]. Η κατανομή του ενζύμου στα υποκλάσματα των λιποπρωτεϊνών δεν είναι ομοιόμορφη. Έτσι, τόσο στις LDL όσο και στις HDL το μεγαλύτερο μέρος της ενεργότητας του ενζύμου ανιχνεύεται στα μικρά, πυκνά λιποπρωτεϊνικά σωματίδια [321, 322]. Συγκεκριμένα, 1/10.000 μόρια LDL και 1/100 sdLDL περιέχουν Lp-PLA2, δηλαδή τα περισσότερα LDL σωματίδια δεν περιέχουν Lp-PLA2 [322]. Μια άλλη λιποπρωτεΐνη η οποία επίσης παρουσιάζει υψηλά επίπεδα ενεργότητας της Lp-PLA2 είναι η Lp(a) [323]. Ωστόσο, η ενεργότητα της Lp(a) μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στη διαμόρφωση της συνολικής ενεργότητας της LpPLA2 του πλάσματος μόνο όταν τα επίπεδα αυτής της λιποπρωτεΐνης είναι σημαντικά αυξημένα [324].

Όσον αφορά στην αθηρωμάτωση, οι Tew DG και συνεργάτες, ανέφεραν ότι η Lp-PLA2 εμφανίζει δύο αντίθετες δράσεις [325]. Από τη μια πλευρά, μελέτες υποστηρίζουν ότι η Lp-PLA2 αποτελεί ένα ένζυμο το οποίο προάγει τη φλεγμονή και τη θρόμβωση [326]. Ο ρόλος της Lp-PLA2 ως ένας παράγοντας που ευοδώνει τη φλεγμονή και επιταχύνει την αθηρωματική διαδικασία, βασίστηκε στην παρατήρηση ότι κατά την υδρόλυση των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων στις αθηρωματικές πλάκες από την Lp-PLA2, παράγονται μόρια λυσοφωσφιδυλοχολίνης (lysophosphatidylcholine, Lyso-PC) και οξειδωμένων λιπαρών οξέων (oxidised non-esterified fatty acids, oxNEFA), τα οποία παρουσιάζουν αθηρογόνες δράσεις μέσω πολλαπλών παθοφυσιολογικών μονοπατιών [327-329]. Συγκεκριμένα, η Lp-PLA2 συνδέεται με υψηλή ευαισθησία με την apoB των μορίων LDL χοληστερόλης και αυτό το σύμπλοκο μεταφέρεται σε τμήματα του αγγειακού τοιχώματος για τη δημιουργία αθηρωματικής πλάκας. Η αντίδραση αυτή οδηγεί στο σχηματισμό δυο ομάδων βιοενεργών ουσιών, της lysoPC και των oxNEFA. Η lysoPC ασκεί τις φλεγμονώδεις και αθηρογόνες δράσεις σε διάφορους τύπους κυττάρων. Στα ενδοθηλιακά κύτταρα προκαλεί την ενεργοποίηση μορίων προσκόλλησης (VCAM-1, ICAM-1) και της χημειοτακτικής πρωτεΐνης των μονοκυττάρων, (MCP-1), την απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος καθώς και τη μείωση της εξαρτώμενης από το NO αγγειοδιαστολή. Στα λεία μυϊκά κύτταρα προκαλεί την ενεργοποίηση της MCP-1, την προαγωγή του οξειδωτικού stress και την κατακράτηση των μορίων LDL

χοληστερόλης. Στα μονοκύτταρα/μακροφάγα προκαλεί την απελευθέρωση κυτταροκινών, κυρίως της IL-1 β , την απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος και την αύξηση της χημειοτακτικής τους δραστηριότητας. Στα T-λεμφοκύτταρα προκαλεί την παραγωγή INF- γ και την ενίσχυση της χημειοταξίας τους. Τέλος στα ουδετερόφιλα προκαλεί την παραγωγή μυελοϋπεροξειδάσης και ελαστάσης και επίσης την ενίσχυση της χημειοταξίας τους. Επιπλέον, ο εμπλουτισμός των sdLDL μορίων με Lp-PLA2 έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή lysoPC κατά τη διάρκεια της οξειδωσης αυτών των σωματιδίων σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα LDL σωματίδια τόσο σε νορμολιπιδαιμικά άτομα όσο και σε υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς [326, 330, 331]. Τα oxNEFAs, το δεύτερο προϊόν της αντίδρασης που καταλύεται από την Lp-PLA2 του πλάσματος, με τη σειρά τους δρουν χημειοτακτικά για τα μονοκύτταρα/μακροφάγα [330]. Επιπρόσθετα, φαίνεται ότι τόσο η lysoPC όσο και τα oxNEFAs πιθανά εμπλέκονται στη μετατροπή μιας σταθερής αθηρωματικής πλάκας σε ασταθή [326, 332]. Συγκεκριμένα, η απόπτωση των μακροφάγων, που προκαλείται από τη lysoPC και τα oxNEFAs, προάγει τη μεγέθυνση του νεκρωτικού πυρήνα, τη λέπτυνση της ινώδους κάψας και τη διήθησή της από φλεγμονώδη κύτταρα, που είναι χαρακτηριστικά των ασταθών αθηρωματικών πλακών.

Από την άλλη πλευρά, πέραν της φλεγμονώδους και αθηρογόνου δράσης, η Lp-PLA2 διαδραματίζει και αντιφλεγμονώδη ρόλο μέσω της αποικοδόμησης του PAF. Ο PAF που παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα ως απάντηση στο οξειδωτικό στρες ή από τη δράση διάφορων φυσιολογικών αγωνιστών, όπως η θρομβίνη, η βραδυκίνη, η ισταμίνη και τα λευκοτριένια C4 και D4, ενεργοποιεί την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου από τα μακροφάγα [333, 334]. Αυτή η ενεργοποίηση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της οξειδωτικής τροποποίησης της LDL. Έτσι, η Lp-PLA2, αφού ρυθμίζει τη συγκέντρωση του PAF αλλά και των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων, έχει την ικανότητα να καθυστερεί ή να εμποδίζει την οξειδωτική τροποποίηση της LDL, η οποία με τη σειρά της διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης [327, 335]. Μελέτες στις οποίες είχε απενεργοποιηθεί η ενδογενής Lp-PLA2 της LDL με διυδροπυροφθοροφωσφορικό οξύ (DFP), πριν η λιποπρωτεΐνη υποβληθεί σε οξείδωση, έδειξαν ότι η οξειδωτική τροποποίηση πραγματοποιήθηκε ανεξάρτητα από την παρουσία ή όχι του ενζύμου. Σε μελέτες που ακολούθησαν βρέθηκε ότι η προσθήκη Lp-PLA2 ανέστειλε την οξείδωση της LDL. Αξιοσημείωτο είναι όμως το γεγονός ότι η ενεργότητα της Lp-

PLA2 της LDL σταδιακά μειώνεται κατά την οξείδωση της τελευταίας, με αποτέλεσμα να χάνεται έτσι η προστατευτική δράση του ενζύμου. Εκτός όμως από τις LDL, το ένζυμο βρίσκεται συνδεδεμένο και στις HDL. Όταν κατά την οξείδωση των LDL είναι παρούσες και οι HDL, τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια μεταφέρονται από τις LDL στις HDL και υδρολύονται από την Lp-PLA2 των τελευταίων. Επιπρόσθετα, οι HDL μπορεί να αποτελούν πηγή αναπλήρωσης του ενζύμου στις oxLDL, οι οποίες όπως προαναφέρθηκε χάνουν την ενεργότητα της Lp-PLA2 κατά τη διάρκεια της οξείδωσης [336-338]. Με αυτό τον τρόπο η Lp-PLA2 δρα επιπλέον, ως ένα αντιαθηρογόνο ένζυμο.

4.2.1. Lp-PLA2: ερευνητικά δεδομένα

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει πολυάριθμες επιδημιολογικές μελέτες σε ενήλικους πληθυσμούς, οι οποίες αναδεικνύουν την Lp-PLA2 ως ένα ειδικό δείκτη φλεγμονής και αθηροσκλήρυνσης των αγγείων. Επιπλέον τα αποτελέσματα των μελετών υποστηρίζουν ότι τα επίπεδα της μάζας ή/και της ενεργότητας της Lp-PLA2 στο πλάσμα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ταξινόμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου καθώς συσχετίζονται με την παρουσία και εξέλιξη διαφόρων καρδιαγγειακών νοσημάτων.

Συγκεκριμένα, σε άτομα με υπερχοληστερολαιμία παρατηρήθηκαν υψηλότερα επίπεδα Lp-PLA2, σε σύγκριση με άτομα με επίπεδα χοληστερόλης εντός των φυσιολογικών ορίων, τα οποία μειώνονταν με την υπολιπιδαιμική θεραπεία, δηλαδή με τη λήψη στατινών (ιδιαίτερα ατορβαστατίνης) και φιβρατών. Σε έρευνα που έγινε μεταξύ αντρών με υπερχοληστερολαιμία υπό πραβαστατίνη, παρατηρήθηκε διπλάσιος κίνδυνος ανάπτυξης στεφανιαίας νόσου στα άτομα με τα υψηλότερα επίπεδα σε σύγκριση με αυτά με τα χαμηλότερα. Η Lp-PLA2 φαίνεται ότι σχετίζεται θετικά και ανεξάρτητα από τα επίπεδα της LDL, από άλλους γνωστούς παράγοντες κινδύνου και από τη λήψη στατινών, με την πρόωμη ασβεστοποίηση των στεφανιαίων αρτηριών και γενικότερα με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου. Επίσης, ο συνδυασμός υψηλών επιπέδων Lp-PLA2 και hsCRP (high sensitive C- Reactive Protein) σχετίζεται, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, με ακόμα μεγαλύτερο καρδιαγγειακό κίνδυνο [339]. Ωστόσο, η Lp-PLA2, πιθανότατα, αποτελεί πιο ειδικό δείκτη φλεγμονής των αγγείων σε σχέση με τη hsCRP, αφού δεν επηρεάζεται από τη χρόνια συστηματική φλεγμονή και την παχυσαρκία [340]

Σε μια ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study) συμμετείχαν 508 μέσης ηλικίας άνδρες με υπερχοληστερολαιμία, οι οποίοι εμφάνισαν στεφανιαία νόσο σε μια περίοδο παρακολούθησης 4,9 ετών και οι οποίοι συγκρίθηκαν με 1160 υγιείς μάρτυρες [341]. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης, η αύξηση της συγκέντρωσης της Lp-PLA2 κατά μία σταθερή απόκλιση συσχετιζονταν με κατά 18% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Στην προοπτική μελέτη MONICA (MONitoring of trends and determinants In Cardiovascular Disease) συμμετείχαν 934 άνδρες μέσης ηλικίας με μέτρια υπερχοληστερολαιμία, οι οποίοι παρακολουθήθηκαν για 14 χρόνια [342]. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, η αύξηση της συγκέντρωσης της Lp-PLA2 κατά μία σταθερή απόκλιση συσχετιζονταν, ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου, με αύξηση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου κατά 28%.

Τα αποτελέσματα μιας υποανάλυσης της μελέτης ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) με συμμετέχοντες 608 άνδρες και γυναίκες που εμφάνισαν στεφανιαία νόσο και 740 υγιή άτομα, ίδιας ηλικίας και φύλου, οι οποίοι παρακολουθήθηκαν για 6 έως 8 έτη, έδειξαν ότι τα άτομα με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις Lp-PLA2 είχαν 78% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου σε σύγκριση με τα άτομα που είχαν συγκεντρώσεις Lp-PLA2 στα χαμηλότερα επίπεδα. Μάλιστα στα άτομα με LDL-C < 130 mg/dL, τα επίπεδα της Lp-PLA2 συσχετιζονταν, σημαντικά και ανεξάρτητα, με διπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου [343].

Η μελέτη Rotterdam εκτίμησε την ενεργότητα της Lp-PLA2 σε 308 ασθενείς με στεφανιαία νόσο και 1820 υγιείς μάρτυρες και έδειξε ότι η κατά μία σταθερή απόκλιση αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου συσχετιζονταν με ένα κατά 20% μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση ΣΝ, ανεξάρτητα από τους παράγοντες κινδύνου [344]. Αντίστοιχα σε προοπτική μελέτη που συμμετείχαν 765 άνδρες και γυναίκες, ηλικίας 40 έως 79 ετών, παρατηρήθηκε ότι η αύξηση της ενεργότητας της Lp-PLA2 κατά μια σταθερή απόκλιση, συσχετιζονταν με 40% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου. Επιπρόσθετα, ο συνδυασμός αυξημένης ενεργότητας του ενζύμου και αυξημένου λόγου οξειδωμένων φωσφολιπιδίων/apoB συσχετιζονταν με 4-πλάσιο κίνδυνο [345].

Ωστόσο, τα ευρήματα αυτά δεν επιβεβαιώθηκαν σε μια υποανάλυση της μελέτης WHS (Women's Health Study), στην οποία συμμετείχαν 123 γυναίκες με στεφανιαία νόσο και 123 υγιείς γυναίκες. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης θεωρούμε ότι πρέπει να κριθούν με επιφύλαξη καθώς ήταν μία μελέτη σχεδιασμού ασθενών-μαρτύρων που αφορούσε ένα πληθυσμό χαμηλού κινδύνου για την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου (γυναίκες μέσης ηλικίας με φυσιολογικά επίπεδα λιπιδίων στον ορό) [346].

Η μελέτη PROVE IT-TIMI (Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy –Thrombolysis in Myocardial Infarction) ήταν η πρώτη μελέτη που εκτίμησε την προγνωστική ικανότητα του ενζύμου [347]. Συγκεκριμένα, η μάζα και η ενεργότητα της Lp-PLA2 μετρήθηκαν σε 3.625 ασθενείς αμέσως μετά από ένα οξύ στεφανιαίο επεισόδιο καθώς και 30 ημέρες μετά. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, ούτε η μάζα ούτε η ενεργότητα του ενζύμου είχαν προγνωστική αξία για την εμφάνιση ενός νέου επεισοδίου όταν αυτά μετρήθηκαν αμέσως μετά το 1^ο επεισόδιο. Ωστόσο, η εκτίμηση της ενεργότητας της Lp-PLA2, 30 ημέρες μετά από το επεισόδιο, είχε σημαντική προγνωστική αξία. Συγκεκριμένα, η αυξημένη ενεργότητα του ενζύμου συσχετιζόταν με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ενός νέου ΟΣΣ μέσα στους επόμενους 24 μήνες, ανεξάρτητα από τα επίπεδα της LDL-C και της CRP. Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα δυο μελετών από τη Σουηδία [348]. Σε μελέτη 271 ασθενών με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, φάνηκε ότι η μάζα της Lp-PLA2 αμέσως μετά από ένα οξύ στεφανιαίο επεισόδιο συσχετιζόταν ισχυρά και ανεξάρτητα με τη θνητότητα στον 1 χρόνο παρακολούθησης [349]. Αντίστοιχα η μελέτη NOBIS-II (North Wuertemberg and Berlin Infarction Study-II) έδειξε ότι η εκτίμηση της μάζας του ενζύμου αμέσως μετά την εμφάνιση ενός οξύ στεφανιαίου επεισοδίου συμβάλλει σημαντικά στην πρόγνωση νέου επεισοδίου, ιδιαίτερα σε ασθενείς με αρνητική τροπονίνη και μέτρια αυξημένα επίπεδα της πρόδρομης μορφής του BNP (pro-brain natriuretic peptide) [350]. Ωστόσο στη μελέτη FRISC II (The Framingham and Fast Revascularization During Instability in Coronary Artery Disease II trial) όπου συμμετείχαν 1.362 ασθενείς με οξύ στεφανιαίο επεισόδιο, φάνηκε ότι η μάζα της Lp-PLA2 δε συσχετιζόταν με την εμφάνιση θανατηφόρου ή μη, νέου επεισοδίου στα 2 χρόνια της παρακολούθησης, ενώ παρόμοια αποτελέσματα είχε και η μελέτη GUSTO IV ACS [349].

Αν και ο ρόλος της Lp-PLA2 στην εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου σε άτομα που έχουν υποστεί οξύ στεφανιαίο επεισόδιο δεν είναι ακόμη σαφής, τα δεδομένα είναι πιο σαφή όσον αφορά στο ρόλο της σε ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο. Μία μελέτη με 466 ασθενείς, έδειξε ότι η αύξηση της μάζας της Lp-PLA2 κατά μια σταθερή απόκλιση, συσχετίζονταν με 30% υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης ενός νέου επεισοδίου, ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου [351]. Επιπρόσθετα, στη μελέτη KAROLA (langzeiterfolge der KARdiOLogischen Anschlussheilbehandlung) όπου συμμετείχαν 1.051 ασθενείς με στεφανιαία νόσο, παρατηρήθηκε ότι ιδιαίτερα η μάζα και λιγότερο η ενεργότητα της Lp-PLA2 είχαν σημαντική, ανεξάρτητη από τους άλλους παράγοντες κινδύνου, προγνωστική ικανότητα για την εμφάνιση νέου συμβάματος [352]. Η μελέτη THROMBO (Thrombogenic Factors and Recurrent Coronary Events) με 766 μετεμφραγματικούς ασθενείς που παρακολουθήθηκαν για περίπου 2 χρόνια έδειξε ότι τα αυξημένα επίπεδα της μάζας της Lp-PLA2 συσχετίζονταν με διπλάσιο κίνδυνο για την εμφάνιση ενός νέου επεισοδίου [353]. Επιπρόσθετα, η μάζα του ενζύμου ήταν ισχυρότερος δείκτης σε σύγκριση με τα επίπεδα της ApoB. Η μεγαλύτερη, όσον αφορά στο μέγεθος του δείγματος, μελέτη που διερεύνησε το ρόλο της Lp-PLA2 στη δευτερογενή πρόληψη, είναι η μελέτη PEACE (Prevention of Events with Angiotensin-Converting Enzyme inhibition) [354]. Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 3.766 ασθενείς με στεφανιαία νόσο και παρακολουθήθηκαν για 5 έτη. Οι ασθενείς με τα υψηλότερα επίπεδα μάζας του ενζύμου παρουσίασαν 40% υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης θανατηφόρου ή μη, καρδιαγγειακού συμβάματος. Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα της μελέτης LURIC (Ludwigshafen Risk and Cardiovascular health study) σε 2513 ασθενείς με στεφανιαία νόσο και 719 υγιή άτομα [355].

Η Lp-PLA2 φαίνεται ότι αποτελεί αξιόπιστο δείκτη αξιολόγησης του κινδύνου για αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια. Αποτελέσματα επιδημιολογικών μελετών έδειξαν ότι τα άτομα με τα υψηλότερα επίπεδα Lp-PLA2 πλάσματος παρουσίασαν σημαντικά μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου σε σύγκριση με τα άτομα με τα χαμηλότερα επίπεδα, ανεξάρτητα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου [343, 344, 356]. Όσον αφορά στη δευτερογενή πρόληψη των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων, φαίνεται ότι η Lp-PLA2 διαθέτει υψηλή προγνωστική ικανότητα εμφάνισης νέου επεισοδίου [357, 358]. Αντίστοιχα σε ασθενείς με

περιφερική αγγειακή νόσο, αποτελέσματα μελετών δείχνουν ότι τα υψηλά επίπεδα Lp-PLA2 σχετίζονται με μεγαλύτερο κίνδυνο καρδιαγγειακής θνητότητας [359].

Η Lp-PLA2 φαίνεται να παίζει εξίσου σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη των καρδιαγγειακών επιπλοκών του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και 2. Συγκεκριμένα, προοπτική μελέτη 1517 ατόμων με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 έδειξε σημαντική θετική συσχέτιση και ανεξάρτητη από άλλους γνωστούς παράγοντες κινδύνου, μεταξύ των επιπέδων της Lp-PLA2 και των επεισοδίων στεφανιαίας νόσου [360]. Αντίστοιχα, αυξημένα επίπεδα δραστηριότητας της Lp-PLA2 παρατηρήθηκαν σε 118 νεαρούς ενήλικες με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 (ΣΔ1) σε σχέση με 110 υγιείς νεαρούς ενήλικες [361]. Μάλιστα, η δραστηριότητα της Lp-PLA2 φαίνεται να συσχετίζεται θετικά με την ηλικία, τα επίπεδα της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, του ουρικού οξέος, της ολικής- και της LDL-χοληστερόλης, ενώ ο συνδυασμός αυξημένων επιπέδων Lp-PLA2 και CRP είναι ενδεικτικός ακόμη μεγαλύτερου κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων [362, 363].

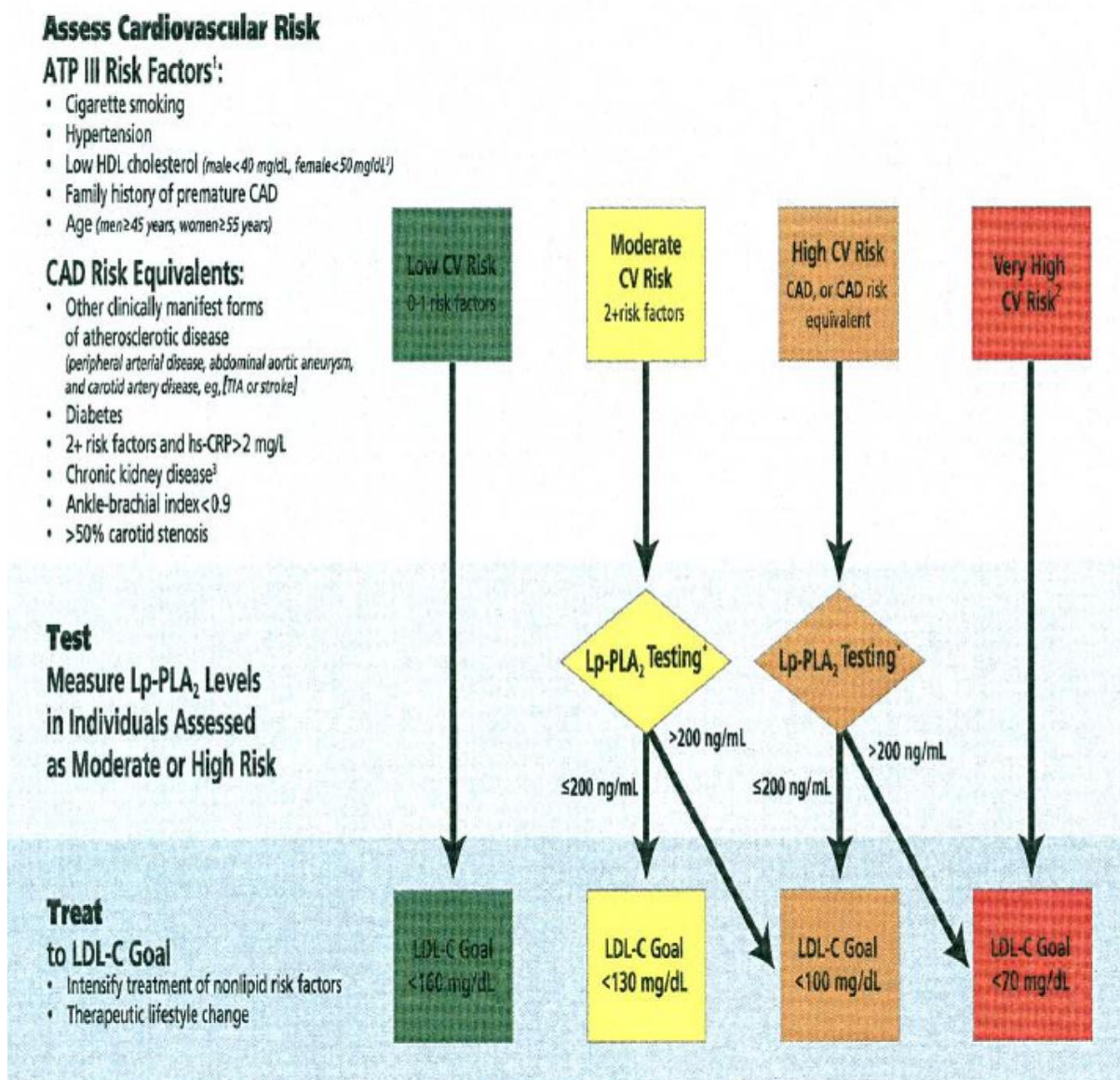
Όσον αφορά στον παιδιατρικό πληθυσμό, αποτελέσματα μελετών συνδέουν την Lp-PLA2 με υποκλινική φλεγμονή η οποία μελλοντικά πιθανότατα αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης πρώιμης αθηρογένεσης και καρδιαγγειακής νόσου. Συγκεκριμένα, σε μελέτη 178 παιδιών με ετερόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία και 78 αδελφών των ασθενών παρατηρήθηκε ότι τα παιδιά με τη δυσλιπιδαιμία παρουσίαζαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα Lp-PLA2 σε σύγκριση με τα υγιή αδέλφια τους. Μάλιστα τα επίπεδα της Lp-PLA2 στα παιδιά με οικογενή υπερχοληστερολαιμία μειώθηκαν μετά από χορήγηση πραβαστατίνης [364]. Αντίστοιχα, σε μελέτη 450 παιδιών στη νοτιοδυτική Γερμανία, μέσης ηλικίας 10 χρονών, παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα Lp-PLA2 πλάσματος και άλλων δεικτών φλεγμονής (ιντερλευκίνη 6, CRP, ινωδογόνο, λεπτίνη), καθώς και μειωμένα επίπεδα αδιπονεκτίνης, στα υπέρβαρα και στα παχύσαρκα παιδιά βάσει του Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ). Μάλιστα, οι ερευνητές Gabriele Nagel και συνεργάτες, σημειώνουν ότι το 71% των υπέρβαρων και το 80% των παχύσαρκων παιδιών, παρουσίασαν επίπεδα εκτός του «φυσιολογικού» εύρους τιμών, σε ένα τουλάχιστον, από τα προσδιοριζόμενα μόρια [365]. Στον ίδιο πληθυσμό μελετήθηκε επίσης η επίδραση του καπνού στα επίπεδα των προαναφερθέντων δεικτών. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι τα παιδιά που εκτίθενται σε καπνό, τουλάχιστον 10 τσιγάρων την ημέρα, παρουσιάζουν

στατιστικά σημαντική και ανεξάρτητη από άλλους παράγοντες κινδύνου, αύξηση των επιπέδων της Lp-PLA2 [366].

Ένα σημαντικό πρόβλημα που έχει ανακύψει στη βιβλιογραφία είναι ότι δεν υπάρχει μία ενιαία μέθοδος εκτίμησης της Lp-PLA2. Συγκεκριμένα, μερικές μελέτες χρησιμοποιούν την ενεργότητα, δραστηριότητα, άλλες μελέτες τη μάζα του ενζύμου, ενώ η συσχέτιση μεταξύ αυτών των δύο παραμέτρων είναι σχετικά χαμηλή ($r = 0.36$). Ωστόσο, πρόσφατα η συγκέντρωση της Lp-PLA2 συμπεριλήφθηκε στις κατευθυντήριες οδηγίες για τον καθορισμό του καρδιαγγειακού κινδύνου, κυρίως σε ασθενείς μέτριου ή και υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου [367]. Η ανάγκη αυτή δημιουργήθηκε από τη συνεχώς αυξανόμενη βιβλιογραφία σχετικά με την αξία χρήσης αυτού του δείκτη αγγειακής φλεγμονής στην κλινική πράξη. Οι οδηγίες αυτές (**Εικόνα 6**) βασίστηκαν στις κατευθυντήριες οδηγίες επίσημων και διεθνώς αναγνωρισμένων φορέων (NCEP ATP III, AHA) για την εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Με βάση τις οδηγίες, η συγκέντρωσή της προτείνεται να χρησιμοποιείται ως ένας επιπρόσθετος δείκτης, σε συνδυασμό με τους υπόλοιπους κλασικούς παράγοντες κινδύνου, για την εκτίμηση του 10ετούς καρδιαγγειακού κινδύνου που διατρέχει ένα άτομο. Οι κλασικοί παράγοντες κινδύνου συμπεριλαμβάνουν το κάπνισμα, την αρτηριακή υπέρταση, τα χαμηλά επίπεδα της HDL-C ($< 40 \text{ mg/dL}$ για τους άνδρες, $< 50 \text{ mg/dL}$ για τις γυναίκες), το οικογενειακό ιστορικό πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου (καρδιαγγειακό σύμβαμα σε 1^ο βαθμού άνδρες συγγενείς, ηλικίας < 55 ετών ή/και σε 1^ο βαθμού γυναίκες συγγενείς, ηλικίας < 55 ετών) και την ηλικία (≥ 45 έτη για τους άνδρες, ≥ 55 έτη για τις γυναίκες). Η παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων Lp-PLA2 ($> 200 \text{ ng/mL}$) έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του εκτιμώμενου 10ετή κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου, συγκεκριμένα από μέτριου κινδύνου σε υψηλού κινδύνου και από υψηλού κινδύνου σε πολύ υψηλού κινδύνου, αντίστοιχα. Έτσι, ασθενείς με 2 ή περισσότερους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου είχαν ως στόχο μείωση της LDL-C $< 130 \text{ mg/dL}$. Όταν αυτά τα άτομα έχουν συγκέντρωση Lp-PLA2 $> 200 \text{ ng/mL}$, ο στόχος μείωσης της LDL-C γίνεται $< 100 \text{ mg/dL}$. Παρόμοια, άτομα με καρδιαγγειακή νόσο ή ισοδύναμο καρδιαγγειακής νόσου [ισοδύναμα θεωρούνται η παρουσία περιφερικής αγγειακής νόσου, ανευρύσματος κοιλιακής αορτής, ΑΕΕ (εγκατεστημένο ή παροδικό), ο ΣΔ, η χρόνια νεφρική νόσος (XNN), η στένωση των καρωτίδων $> 50\%$, η παρουσία 2 ή περισσότερων παραγόντων κινδύνου για την

εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου σε συνδυασμό με επίπεδα hsCRP > 2 mg/L, καθώς και η παρουσία κνημοβραχιόνιου δείκτη πίεσης < 0.9] είχαν στόχο τη μείωση της LDL-C < 100 mg/dL. Όταν αυτά τα άτομα έχουν συγκέντρωση της Lp-PLA₂ > 200 ng/mL, ο στόχος της μείωσης της LDL-C γίνεται < 70 mg/dL.

Εικόνα 6. Οδηγίες για την αξιοποίηση των επιπέδων της Lp-PLA₂ στην εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου



Γ. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Σκοπός της μελέτης

Η συγκεκριμένη μελέτη στοχεύει στη διερεύνηση και στην τεκμηρίωση με στατιστικές μεθόδους, της συσχέτισης μεταξύ των νεότερων (ADMA και Lp-PLA2) και των κλασικών βιοδεικτών αξιολόγησης του καρδιαγγειακού κινδύνου σε παιδιά και εφήβους με δυσλιπιδαιμία ή σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1, με σκοπό τον έγκαιρο εντοπισμό των ατόμων που βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης πρώιμης αθηρωματικής νόσου.

2. Μεθοδολογία – Πληθυσμός της μελέτης

Πρόκειται για μία προοπτική μελέτη ασθενών-μαρτύρων (case-control study), στην οποία συμμετείχαν παιδιά και έφηβοι που προσήλθαν για έλεγχο στο τακτικό εξωτερικό ιατρείο Διαταραχών των Λιπιδίων της Β' Παιδιατρικής Κλινικής του ΕΚΠΑ (Υπεύθυνη: Α. Γαρούφη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής) καθώς και παιδιά και έφηβοι με Σακχαρώδη Διαβήτη που παρακολουθούντο στο Ενδοκρινολογικό ιατρείο του Νοσοκομείου Παίδων «Π. & Α. Κυριακού» (Υπεύθυνη: Α. Παπαθανασίου, Διευθύντρια ΕΣΥ), κατά το χρονικό διάστημα 2010 έως 2012.

Η ένταξη των συμμετεχόντων στη μελέτη έγινε μετά από ενημέρωση των κηδεμόνων και των παιδιών για τους σκοπούς και τις μεθόδους της μελέτης και εφόσον ελήφθη η ενυπόγραφη συγκατάθεση των κηδεμόνων. Το πρωτόκολλο της μελέτης έλαβε έγκριση από την επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας καθώς και από την Επιστημονική Επιτροπή του Γενικού Νοσοκομείου Παίδων «Π. & Α. Κυριακού». Όλα τα στοιχεία που συλλέχθηκαν καταγράφηκαν κωδικοποιημένα σε Microsoft Office Excel 2007, προστατεύοντας τα προσωπικά δεδομένα των συμμετεχόντων.

Στη μελέτη δεν εντάχθηκαν παιδιά και έφηβοι:

1. που παρουσίαζαν διαταραχές της νεφρικής ή ηπατικής λειτουργίας
2. που είχαν άλλη ενδοκρινική διαταραχή εκτός από το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 (π.χ. θυρεοειδοπάθεια, ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης, κ.λ.π.)
3. ηλικίας μικρότερης των 4 ετών και μεγαλύτερης των 17ετών
4. που έπαιρναν άλλη χρόνια φαρμακευτική αγωγή, εκτός από υπολιπιδαιμική αγωγή προκειμένου για τα παιδιά με δυσλιπιδαιμία και ινσουλίνη προκειμένου για τα παιδιά με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1

Επίσης κατά την ένταξη των παιδιών στη μελέτη και τη διενέργεια του ελέγχου, τα παιδιά δεν παρουσίαζαν κάποια λοίμωξη, ακόμη και ήπια, ούτε λάμβαναν κάποια περιστασιακή φαρμακευτική αγωγή. Επιπλέον, δεν ελήφθη έλεγχος εντός χρονικού διαστήματος τριών εβδομάδων από την αποδρομή λοίμωξης ή τεσσάρων εβδομάδων μετά από τραυματισμό ή νοσηλεία σε νοσοκομείο.

Το συνολικό πληθυσμό της μελέτης αποτελέσαν 123 παιδιά και έφηβοι (68 αγόρια και 55 κορίτσια), ηλικίας 5 έως 17 ετών (διάμεση ηλικία 9,9 έτη). Από αυτά, τα 73 (41 αγόρια και 32 κορίτσια) έπασχαν από δυσλιπιδαιμία με επίπεδα LDL-C

$\geq 130\text{mg/dl}$, ενώ τα 13 από αυτά κατά τη χρονική περίοδο ένταξής τους στη μελέτη ελάμβαναν υπολιπιδαιμική φαρμακευτική αγωγή, τα 19 παιδιά έπασχαν από σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 (10 αγόρια και 9 κορίτσια) και τα 31 (17 αγόρια και 14 κορίτσια) ήταν υγιή με φυσιολογικά επίπεδα λιπιδίων-λιποπρωτεϊνών αίματος που απετέλεσαν την ομάδα μαρτύρων.

Για το σύνολο των συμμετεχόντων συμπληρώθηκε αναλυτικό ερωτηματολόγιο, με πληροφορίες για το ατομικό ιστορικό (λήψη ορμονών, παρουσία διαβήτη ή υπέρτασης ή άλλου προβλήματος κατά την κύηση, βάρος γέννησης, διάρκεια μητρικού θηλασμού, περιγεννητική νοσηρότητα, παρουσία χρόνιων ή μη προβλημάτων υγείας, χρόνια ή μη λήψη φαρμάκων), τις διατροφικές συνήθειες κατά τη χρονική περίοδο της μελέτης (συμπλήρωση μη σταθμισμένου ερωτηματολογίου, το οποίο χρησιμοποιείται στο ιατρείο διαταραχών των λιπιδίων) και τη φυσική δραστηριότητα (καταγραφή του είδους και της διάρκειας της φυσικής άσκησης πέραν της συνήθους σχολικής άθλησης). Στο οικογενειακό ιστορικό δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση στην παρουσία δυσλιπιδαιμίας, υπέρτασης, καρδιαγγειακής νόσου (στεφανιαία νόσος, αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, περιφερική αγγειακή νόσος, αιφνίδιος καρδιακός θάνατος), σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 ή 2 και θυρεοειδικής νόσου, σε 1^ο και 2^ο βαθμού συγγενείς. Ακόμη, καταγράφηκε η παρουσία υπερβαρότητας/παχυσαρκίας στους γονείς και η ενδοοικογενειακή έκθεση του παιδιού σε καπνό.

Σε όλα τα παιδιά, κατά την ημέρα ένταξης στη μελέτη, έγινε λεπτομερής κλινική εξέταση και καταγράφηκαν τα σωματομετρικά τους χαρακτηριστικά (βάρος σώματος, ύψος, περίμετρος μέσης, περίμετρος ισχίων, δείκτης μάζας σώματος), η αρτηριακή πίεση και το στάδιο ενήβωσης (Tanner stage). Το βάρος σώματος (BΣ) μετρήθηκε σε σταθμισμένη ζυγαριά ακριβείας και καταγράφηκε στο πλησιέστερο 0,1kg και το ύψος (Υ) σε σταθμισμένο αναστημόμετρο τοίχου και καταγράφηκε στο πλησιέστερο 0,1cm. Ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ ή BMI, Body Mass Index) υπολογίστηκε από το πηλίκο του βάρους σώματος σε κιλά (kg) προς το τετράγωνο του ύψους σε μέτρα (m). Για την κατάταξη των παιδιών σε λιποβαρή, φυσιολογικού BMI, υπέρβαρα και παχύσαρκα, χρησιμοποιήθηκαν οι ευρέως αποδεκτές και χρησιμοποιούμενες καμπύλες αύξησης (Cole et al., BMJ 2000).

Σε όλους τους συμμετέχοντες ελήφθη φλεβικό αίμα μετά από ολονύκτια νηστεία. Ο εργαστηριακός έλεγχος περιέλαμβανε προσδιορισμό των λιπιδίων [ολική χοληστερόλη (TC), τριγλυκερίδια (TGs)], λιποπρωτεϊνών [LDL-C, HDL-C, non-HDL-C και Lp(a)] και απολιποπρωτεϊνών [απολιποπρωτεΐνη AI (apoAI), απολιποπρωτεΐνη B (apoB)], των δεικτών νεφρικής [ουρία, κρεατινίνη (Cr)], ηπατικής [SGOT, SGPT, γGT] και θυρεοειδικής λειτουργίας [TSH, FT4, T3], της γλυκόζης [gl], της γενικής αίματος και της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης [hsCRP]. Επιπλέον, στα παιδιά με σακχαρώδη διαβήτη προσδιορίστηκε η γλυκοζυλιωμένη Hb [HbA1c].

Για τον προσδιορισμό των βιοδεικτών ασύμμετρης διμεθυλαργινίνης [ADMA] και συνδεδεμένης με τις λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάσης A2 [Lp-PLA2] ελήφθη αίμα σε σωληνάρια με αντιπηκτικό EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid), τα οποία αμέσως μετά την αιμοληψία τοποθετούνταν σε πάγο για σύντομο χρονικό διάστημα και στη συνέχεια γινόταν η λήψη του πλάσματος, μετά από φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στους 4 °C και 1600g, σε φυγόκεντρο ψύξεως (Megafuge 16R, Thermo Scientific), το οποίο φυλασσόταν στους -80 °C (VXE 570, Jouan, France) έως τον προσδιορισμό των προς διερεύνηση βιοδεικτών.

Τα επίπεδα των TC, TGs, HDL-C, ουρίας, Cr, SGOT, SGPT, γGT και gl προσδιορίστηκαν στον ορό με ενζυμική χρωματομετρική μέθοδο (αναλυτής Cobas Integra 800), των apoA-1 και ApoB με ανοσονεφελομετρική μέθοδο και των Lp(a) και hsCRP με σωματιδιακά βελτιωμένη ανοσονεφελομετρική μέθοδο. Η LDL-C προσδιορίστηκε άμεσα με τη χρήση ομοιογενούς ενζυμικής χρωματομετρικής μεθόδου (Roche Diagnostics, Αναλυτής: Cobas Integra 800). Οι προσδιορισμοί έγιναν στο Βιοχημικό εργαστήριο του Γενικού Νοσοκομείου Παίδων «Π. & Α. Κυριακού» (Υπεύθυνη: Ε. Παρασκάκη Διευθύντρια ΕΣΥ). Επιπλέον, η LDL-C υπολογίστηκε με την εξίσωση του Friedewald [$LDL=TC - (HDL+1/5\ TGs)$]. Ακόμη, η non-HDL-C υπολογίστηκε αφαιρώντας από την TC την HDL-C.

Οι TSH, FT4 και T3 προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας στο Ορμονολογικό εργαστήριο του Νοσοκομείου Παίδων «Π. & Α. Κυριακού» (Υπεύθυνη: Α. Φωτεινού, Διευθύντρια ΕΣΥ). Η HbA1c προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC, Menarini, Αναλυτής: ADAMS™ A1c HA-8160) στο

Αιματολογικό εργαστήριο του Νοσοκομείου Παίδων «Π. & Α. Κυριακού» (Υπεύθυνη: Θ. Αναστασίου, Διευθύντρια ΕΣΥ).

Οι **ADMA** και **Lp-PLA2** προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της ενζυμικής ανοσοπροσροφητικής διαδικασίας (ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay) στο Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας και Μοριακής Διαγνωστικής της Β' Παιδιατρικής Κλινικής του ΕΚΠΑ από το βιολόγο Α. Μαρμαρινό, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Δ. Γουργιώτη. Σε όλα τα δείγματα έγιναν διπλοί προσδιορισμοί. Οι προσδιορισμοί της ELISA έγιναν στα 450nm με οπτική διόρθωση στα 620nm, σε φωτόμετρο Tecan M200, Tecan Trading AG, Switzerland.

Προσδιορισμός της ADMA

Για τον προσδιορισμό της ADMA χρησιμοποιήθηκε ανταγωνιστικού τύπου ELISA (Immundiagnostik, Bensheim, southwestern Germany). Οι συντελεστές μεταβλητότητας (CV) ήταν 5,8% και 7,6%, ενδο-διαδικαστικά και δια-διαδικαστικά (intra-assay και inter-assay) αντίστοιχα, και το όριο ανίχνευσης ήταν 0,04 $\mu\text{mol/l}$. Η διαδικασία του προσδιορισμού πραγματοποιήθηκε χωρίς να προηγηθεί αραίωση των δειγμάτων.

Η προετοιμασία των δειγμάτων περιελάμβανε την προσθήκη ενός αντιδραστηρίου για την παραγοντοποίηση του μορίου της ADMA και την προσθήκη ενός ρυθμιστικού διαλύματος αντίδρασης (παράγωγο ADMA). Στη συνέχεια, τα δείγματα επωάζονταν στις κυψελίδες της μικροπλάκας οι οποίες ήταν επικαλυμμένες με ένα πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι του παράγωγου ADMA. Κατά τη διάρκεια της περιόδου επώασης, η ADMA ενδιαφέροντος του δείγματος ανταγωνίζεται το παράγωγο ADMA προκειμένου για τη σύνδεση στα πολυκλωνικά αντισώματα που βρίσκονται ακινητοποιημένα στην επιφάνεια των κυψελίδων της μικροπλάκας. Εν τέλει η ADMA ενδιαφέροντος εκτοπίζει το παράγωγο ADMA από τη σύνδεση στα πολυκλωνικά αντισώματα. Ως εκ τούτου, η συγκέντρωση του δεσμευμένου παράγωγου ADMA στα αντισώματα ήταν αντιστρόφως ανάλογη προς τη συγκέντρωση ADMA ενδιαφέροντος του δείγματος. Κατά τη διάρκεια του δεύτερου σταδίου επώασης, σε κάθε κυψελίδα της μικροπλάκας προστέθηκε μια συζυγής υπεροξειδάση με σκοπό την ανίχνευση του παράγωγου ADMA. Μετά από απομάκρυνση με πλύσιμο των μη δεσμευμένων συστατικών, προστέθηκε στις κυψελίδες τετραμεθυλοβενζιδίνη (TMB) ως το υπόστρωμα της υπεροξειδάσης. Η

ενζυματική αντίδραση που προέκυψε τερματίστηκε με ένα όξινο διάλυμα διακοπής με αποτέλεσμα το χρώμα να αλλάξει από μπλε σε κίτρινο. Η απορρόφηση μετρήθηκε σε ένα φωτόμετρο στα 450 nm. Η ένταση του κίτρινου χρώματος ήταν αντιστρόφως ανάλογη προς τη συγκέντρωση ADMA δείγματος. Αυτό σημαίνει ότι όσο υψηλότερη ήταν η συγκέντρωση ADMA στο δείγμα τόσο χαμηλότερη ήταν η συγκέντρωση του δεσμευμένου παράγωγου ADMA και άρα μικρότερης έντασης το φωτομετρικό σήμα. Τέλος, η συγκέντρωση του πεπτιδίου στο άγνωστο δείγμα υπολογίστηκε με βάση την τιμή της απορρόφησης του αγνώστου δείγματος και με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς (μέθοδος παρεμβολής).

Προσδιορισμός της Lp-PLA2

Για τον προσδιορισμό της Lp-PLA2 χρησιμοποιήθηκε μη ανταγωνιστικού τύπου ELISA (USCN Life Science Inc., Houston, USA). Οι ενδο-δια-διαδικαστικές συντελεστές μεταβλητότητας (intra-inter assay CV) ήταν <10% και <12% αντίστοιχα. Το όριο ανίχνευσης ήταν 0.133 ng/ml. Για τον προσδιορισμό της Lp-PLA2 χρειάστηκε να γίνει μια αραίωση 40X στα δείγματα.

Η συγκεκριμένη μέθοδος, γνωστή και ως μέθοδος «sandwich», βασίζεται στη χρήση δύο αντισωμάτων, σύλληψης και ανίχνευσης (capture και detection), τα οποία και συνδέονται στο αντιγόνο ενδιαφέροντος, στη συγκεκριμένη περίπτωση αυτό της Lp-PLA2. Γι αυτό το λόγο η συγκεκριμένη μέθοδος περιορίζεται στο να μετράει μόνο αντιγόνα που έχουνε τουλάχιστον δύο υποδοχείς για αντισώματα όπως είναι οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες. Η μέθοδος αυτή έχει μεγάλη ευαισθησία, είναι δηλαδή ικανή να μετράει πολύ μικρές ποσότητες ακόμα και σε μολυσματικά δείγματα. Οι πλάκες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν προ-επικαλυμμένες με anti-Lp-PLA2 μονοκλωνικό αντίσωμα του οποίου τα μη ειδικά σημεία δέσμευσης ήταν αποκλεισμένα. Ρίχνοντας το άγνωστο δείγμα στη πλάκα, το αντιγόνο ενδιαφέροντος που υπήρχε στο δείγμα δεσμεύτηκε από το αντίσωμα σύλληψης (capture antibody) το οποίο ήταν προ-επικαλυμμένο στις κυψέλες της πλάκας. Μετά τη διαδικασία πλυσίματος ακολούθησε η προσθήκη του βιοτινυλιωμένου αντισώματος ανίχνευσης (detection antibody) της Lp-PLA2, το οποίο και συνδέθηκε στον δεύτερο υποδοχέα του αντιγόνου ενδιαφέροντος και επειδή ήταν βιοτινυλιωμένο προέκυψε αντίδραση η οποία οδήγησε σε σύμπλοκο με τη streptavidin-horseradish peroxidase (SA-HRP). Η ένταση του κίτρινου χρώματος που προέκυψε από την ενζυμική αντίδραση ήταν

ευθέως ανάλογη με την ποσότητα του συμπλόκου {βιοτινυλιωμένο πεπτίδιο - SA-HRP}, άρα και με τη ποσότητα του αντιγόνου ενδιαφέροντος (Lp-PLA2). Τέλος, η συγκέντρωση του πεπτιδίου στο άγνωστο δείγμα υπολογίστηκε με βάση την τιμή της απορρόφησης του αγνώστου δείγματος και με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς (μέθοδος παρεμβολής).

2.1. Στατιστική ανάλυση

Για την περιγραφή των μεταβλητών χρησιμοποιήθηκαν κατανομές συχνοτήτων για τις κατηγορικές μεταβλητές και διάμεσοι μαζί με τα 5^α και 95^α εκατοστημόρια για τις συνεχείς μεταβλητές. Τα περιγραφικά στατιστικά υπολογίστηκαν για όλες τις κατηγορίες των ασθενών όπως επίσης και για τους μάρτυρες. Οι συσχετίσεις μεταξύ των λιπιδίων όπως και των υπόλοιπων εργαστηριακών δεικτών (όπως γλυκόζη, ADMA, Lp-PLA2 κ.α.) εκτιμήθηκαν με το συντελεστή συσχέτισης Spearman.

Επιπλέον, εφαρμόστηκαν μοντέλα πολυμεταβλητής γραμμικής παλινδρόμησης ώστε να εκτιμηθεί η σχέση της δυσλιπιδαιμίας και του σακχαρώδη διαβήτη με τα αυξημένα επίπεδα της ADMA και της Lp-PLA2. Μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκαν επίσης για την εκτίμηση της συσχέτισης των αυξημένων επιπέδων της ADMA και της Lp-PLA2 με τις TC, LDL-c, και non-HDL-c για τα παιδιά με δυσλιπιδαιμία και με τη γλυκόζη και τη γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη για τα παιδιά με σακχαρώδη διαβήτη. Στα μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης έγιναν διορθώσεις για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες όπως το φύλο, την ηλικία, το ΔΜΣ.

Η στατιστική ανάλυση έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα STATA (v8.5) και το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο 5%.

3. Αποτελέσματα της μελέτης

3.1. Στατιστική ανάλυση μεταξύ των τριών ομάδων παιδιών, με δυσλιπιδαιμία, με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και των μαρτύρων

Τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των παιδιών που συμμετείχαν στη μελέτη παρουσιάζονται στον **Πίνακα 1**. Συγκεκριμένα φαίνονται η κατανομή των συνεχών μεταβλητών (διάμεσος, 5^ο και 95^ο εκατοστημόριο), στο σύνολο των παιδιών και σε κάθε μία από τις τρεις ομάδες της μελέτης (ομάδα δυσλιπιδαιμίας, διαβήτη και μαρτύρων). Στον **Πίνακα 2** φαίνεται η επί τοις εκατό κατανομή του φύλου στον πληθυσμό της μελέτης.

Τα παιδιά με δυσλιπιδαιμία ήταν μικρότερης ηλικίας σε σύγκριση με τα παιδιά με διαβήτη και τα υγιή (**Πίνακας 1**). Όσον αφορά στην κατανομή αγοριών-κοριτσιών ανά ομάδα δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών ομάδων (**Πίνακας 2**).

Τα διάμεσα επίπεδα των ADMA και Lp-PLA₂ δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των τριών ομάδων μελέτης (**Πίνακας 1**).

Πίνακας 1. Κατανομή των περιγραφικών χαρακτηριστικών στο σύνολο των παιδιών και ανά ομάδα.

	Μάρτυρες (N = 31) median (p5-p95)	Δυσλιπιδαιμία (N = 73) median (p5-p95)	Διαβήτης (N = 19) median (p5-p95)	Σύνολο (N = 123) median (p5-p95)	p-value*
Ηλικία	10,8 (5,5 - 13,8)	9,5 (5,8 - 13,8)	13,3 (7,4 - 16,7)	9,9 (5,6 - 14,6)	<0,001
ΔΜΣ	19,08 (14,26 - 27,34)	16,89 (13,83 - 22,78)	17,4 (13,8 - 22,8)	18,03 (14,11 - 24,88)	0,003
ADMA	0,57 (0,42 - 0,73)	0,6 (0,49 - 0,78)	0,55 (0,4 - 0,88)	0,59 (0,44 - 0,77)	0,204
Lp-PLA₂	509,95 (360,73 - 759,31)	544,6 (350,57 - 947,51)	432,46 (234,88 - 1382,1)	531,54 (334,54 - 863,1)	0,074
TC	178 (126 - 212)	250 (198 - 378)	167 (106 - 244)	214 (140 - 344)	<0,001
LDL-C	98 (68 - 126)	180 (138 - 295)	91 (59 - 125)	144 (71 - 263)	<0,001
HDL-C	59 (39 - 99)	57 (37 - 85)	63 (34 - 104)	59 (39 - 92)	0,243
TGs	56 (30 - 100)	55 (30 - 144)	50 (31 - 148)	54 (30,5 - 124)	0,639
NonHDL-C	112 (75 - 137)	187 (135 - 319)	102 (63 - 141)	157 (80 - 273)	<0,001
Glu	84 (76 - 91)	86 (78 - 97)	177 (68 - 404)	88 (76 - 269)	<0,001

HbA1c			6,7 (5,9 - 10,3)	6,7 (5,9 - 10,3)	
Lp(a)	8,9 (2 - 55,1)	30,6 (2 - 86,8)	18,6 (3,7 - 55,5)	23,5 (2 - 74,9)	0,054
hsCRP	0,41 (0,1 - 3,98)	0,37 (0,1 - 2,5)	0,135 (0,1 - 1,6)	0,37 (0,1 - 2,45)	0,373

TC: Total Cholesterol, LDL-C: Directly measured Low Density Lipoprotein-Cholesterol, HDL-C: High Density Lipoprotein-Cholesterol, TGs: Triglycerides, non-HDL-C: non High Density Lipoprotein-Cholesterol, ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος, ADMA: Asymmetric dimethylarginine, Lp-PLA2: Lipoprotein associated phospholipase A2, Glu: Glucose, HbA1c: glycated haemoglobin, Lp(a): Lipoprotein a, hsCRP: high sensitive CRP. Η ηλικία εκφράζεται σε έτη, τα επίπεδα των λιπιδίων, των λιποπρωτεϊνών και της γλυκόζης σε mg/dl, η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη σε ποσοστό %, η hsCRP σε mg/L, ο ΔΜΣ σε kg/m², η ADMA σε μmol/l και η Lp-PLA2 σε ng/ml.

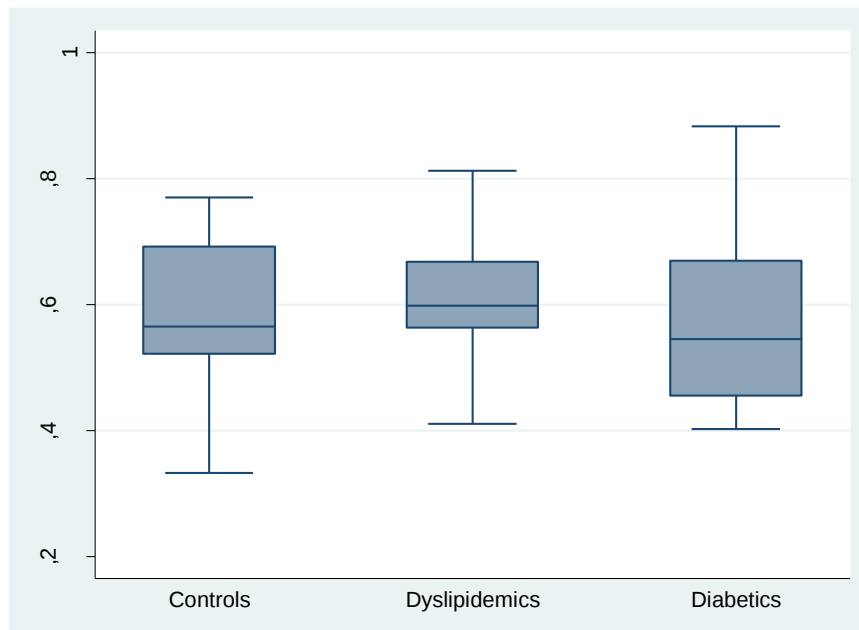
* Το p-value προήλθε από τη στατιστική δοκιμασία Kruskal – Wallis, στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις (α=5%)

Πίνακας 2. Κατανομή φύλου (ποσοστό %), στο σύνολο των παιδιών και ανά ομάδα

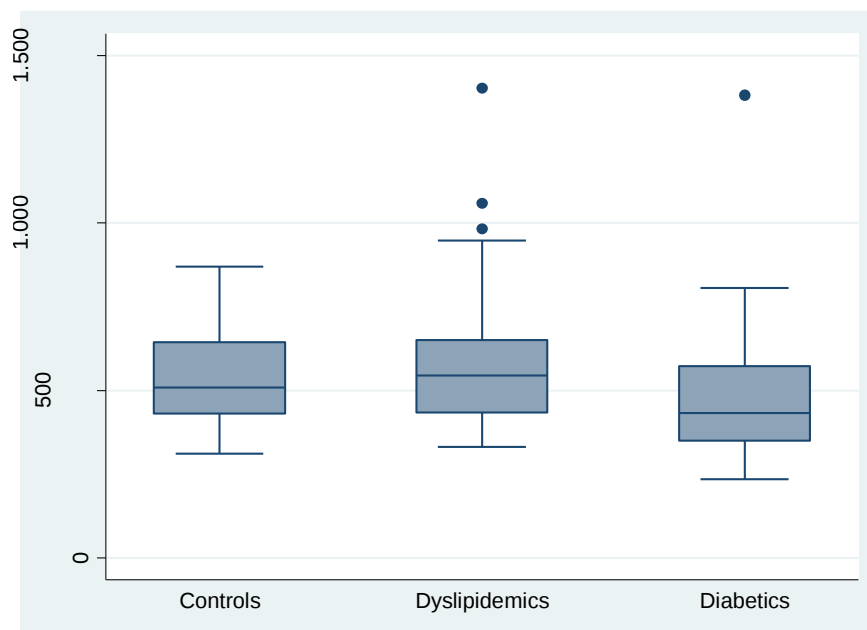
	Μάρτυρες (N = 31)	Δυσλιπιδαιμία (N = 73)	ΣΔ 1 (N = 19)	Σύνολο (N = 123)	p-value
Αγόρια	55,28	54,84	56,16	52,63	0,961
Κορίτσια	44,72	45,16	43,84	47,37	

Η κατανομή των επιπέδων των ADMA και Lp-PLA2 μεταξύ ασθενών (δυσλιπιδαιμία-διαβήτης) και μαρτύρων (υγιή παιδιά) φαίνονται στα **Γραφήματα 1 & 2**. Όπως φαίνεται στο **Γράφημα 1**, τα επίπεδα της ADMA είναι υψηλότερα στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία, ακολουθούν τα υγιή και τα χαμηλότερα επίπεδα παρατηρούνται στα παιδιά με διαβήτη. Στο **Γράφημα 2** βλέπουμε ότι τα υψηλότερα επίπεδα της Lp-PLA2 παρατηρούνται στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία και τα χαμηλότερα στα παιδιά με διαβήτη.

Γράφημα 1. Box-plot της ADMA ανά κατηγορία ασθενών-μαρτύρων



Γράφημα 2. Box-plot της Lp-PLA2 ανά κατηγορία ασθενών-μαρτύρων



3.2. Στατιστική ανάλυση μεταξύ των ομάδων των παιδιών με δυσλιπιδαιμία και των μαρτύρων

Η κατανομή των συνεχών μεταβλητών, διάμεση, 5^ο και 95^ο εκατοστημόριο, στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία και στους μάρτυρες, στο σύνολό τους και ανά ομάδα, φαίνεται στον **Πίνακα 3**.

Πίνακας 3. Περιγραφικά χαρακτηριστικά παιδιών με δυσλιπιδαιμία και μαρτύρων

	Σύνολο (N=104) (Α/Θ: 58/46)	Μάρτυρες (N=31) (Α/Θ: 17/14)	Δυσλιπιδαιμία (N=73) (Α/Θ: 41/32)	
	median (p5 - p95)	median (p5 - p95)	median (p5 - p95)	p-value*
Ηλικία	9,9 (5,8 – 13,8)	10,8 (5,5 – 13,8)	9,5 (5,8 – 13,8)	0,028
ΔΜΣ	17,8 (13,9 – 24,9)	19,1 (14,3 – 27,3)	17,4 (13,8 – 22,8)	0,005
TC	221 (148 - 344)	178 (126 - 212)	250 (198 - 378)	<0,001
LDL-C	145,5 (85 - 263)	98 (68 - 126)	180 (138 - 295)	<0,001
HDL-C	57,5 (39 - 90)	59 (39 - 99)	57 (39 - 85)	0,207
TGs	53 (30,5 - 116,5)	56 (30 - 101)	55 (30 - 144)	0,632
Non-HDL-C	158,5 (91 - 283)	112 (75 - 137)	187 (135 - 319)	<0,001
Lp(a)	24,1 (2 - 74,9)	8,9 (2 - 55,1)	30,6 (2 - 86,8)	0,042
hsCRP	0,385 (0,1 - 2,5)	0,41 (0,1 - 3,98)	0,37 (0,1 - 2,5)	0,803
ADMA	0,60 (0,47 – 0,77)	0,57 (0,42 – 0,73)	0,62 (0,49 – 0,78)	0,249
LpPLA2	533,1 (350,6 – 851,3)	510 (360,7 – 759,3)	544,6 (350,6 - 947,5)	0,445

* Χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία Mann-Witney

Όπως ήταν αναμενόμενο η ομάδα των παιδιών με δυσλιπιδαιμία παρουσίασε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα TC, LDL, non-HDL και Lp(a). Να σημειωθεί ότι κατά τη χρονική περίοδο της δειγματοληψίας, τα 6 από τα 13 παιδιά που ελάμβαναν ήδη υπολιπιδαιμική φαρμακευτική αγωγή είχαν πετύχει το στόχο μείωσης της LDL, δηλαδή < 130 mg/dl.

Οι συσχετίσεις που αναδείχτηκαν μεταξύ των επιπέδων των ADMA, Lp-PLA2, TC, LDL και non-HDL παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4α**. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα της ADMA φαίνεται να συσχετίζονται θετικά, σε σημαντικό βαθμό, με τα επίπεδα των TC, LDL και non-HDL ($p < 0,05$). Επίσης, οι δύο υπό διερεύνηση δείκτες, ADMA και Lp-PLA2, φαίνεται να συσχετίζονται σε σημαντικό βαθμό μεταξύ τους ($p < 0,001$).

Ωστόσο, η θετική συσχέτιση που αναδείχτηκε μεταξύ της Lp-PLA2 και της LDL ή της non-HDL ήταν οριακής στατιστικής σημασίας, ενώ η συσχέτιση μεταξύ των Lp-PLA2 και TC δεν έφθασε στο επιθυμητό επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας. Όταν προστέθηκαν επιπλέον μεταβλητές, όπως η ηλικία, ο ΔΜΣ, η HDL χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, η Lp(a) και η hsCRP στον έλεγχο με Spearman Correlation test αναδείχτηκε σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των δεικτών Lp-PLA2 και hsCRP, καθώς και μεταξύ των δεικτών ADMA και TGs, αλλά αποδυναμώθηκαν οι συσχετίσεις που είχαν παρατηρηθεί προ της προσθήκης των επιπλέον μεταβλητών. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο **Πίνακα 4β**.

Πίνακας 4α Spearman συσχετίσεις μεταξύ ADMA, Lp-PLA2 και λιπιδίων-λιποπρωτεϊνών.

		TC	LDL	Non-HDL-C	ADMA	LpPLA2
TC	rho	1				
	p-value					
LDL-C	rho	0,965	1			
	p-value	0,000				
Non-HDL-C	rho	0,959	0,983	1		
	p-value	0,071	0,000			
ADMA	rho	0,225	0,261	0,264	1	
	p-value	0,000	0,008	0,007		
LpPLA2	rho	0,151	0,174	0,180	0,368	1
	p-value	0,131	0,080	0,071	0,000	

Πίνακας 4β Spearman συσχετίσεις μεταξύ ADMA, Lp-PLA2, ηλικίας, ΔΜΣ, hsCRP και λιπιδίων-λιποπρωτεϊνών.

		Ηλικία	ΔΜΣ	ADMA	Lp-PLA2	TC	LDL	HDL	Tgs	Non-HDL	Lp(a)
ΔΜΣ	rho	0,593	1								
	p-value	0									
ADMA	rho	0,012	-0,157	1							
	p-value	0,928	0,213								
Lp-PLA2	rho	-0,084	0,072	0,097	1						
	p-value	0,505	0,57	0,442							
TC	rho	-0,426	-0,264	0,199	0,15	1					
	p-value	<0,001	0,033	0,112	0,232						
LDL-C	rho	-0,412	-0,257	0,198	0,197	0,964	1				
	p-value	0,001	0,039	0,114	0,116	0					
HDL-C	rho	-0,109	-0,189	0,125	0,038	0,122	-0,007	1			
	p-value	0,39	0,132	0,322	0,765	0,332	0,954				
TGs	rho	0,246	0,094	0,308	0,159	-0,017	-0,044	-0,296	1		
	p-value	0,048	0,458	0,013	0,206	0,894	0,728	0,017			
Non-HDL-	rho	-0,406	-0,24	0,183	0,166	0,952	0,969	-0,13	0,068	1	

C	p-value	0,001	0,054	0,145	0,187	<0,001	<0,001	0,302	0,588		
Lp(a)	rho	0,034	0,179	-0,139	-0,019	0,182	0,16	-0,148	0,21	0,232	1
	p-value	0,788	0,153	0,269	0,879	0,147	0,204	0,241	0,094	0,063	
hsCRP	rho	0,192	0,484	0,078	0,291	-0,028	0,002	-0,08	0,106	-0,034	-0,079
	p-value	0,126	<0,001	0,538	0,019	0,828	0,99	0,524	0,4	0,791	0,534

Στον **Πίνακα 5** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα αναφορικά με την επίδραση της δυσλιπιδαιμίας στα επίπεδα των ADMA και Lp-PLA2, μετά από στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε αφού λήφθηκαν υπόψη οι πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες. Η ύπαρξη διαταραχής των λιπιδίων φαίνεται να οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα και για τα δύο μόρια υπό διερεύνηση. Ωστόσο, η επίδραση αυτή αποδείχτηκε οριακά στατιστικά σημαντική μόνο για την ADMA. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι τα αποτελέσματα που αφορούσαν σε παιδιά ηλικίας μικρότερης των έντεκα (11) ετών έδειξαν πιο έντονη επίδραση της δυσλιπιδαιμίας ($p=0,05$ και $p=0,08$ για την ADMA και την Lp-PLA2 αντίστοιχα (τα δεδομένα δεν παρουσιάζονται σε Πίνακα).

Πίνακας 5. β-συντελεστές (και διαστήματα εμπιστοσύνης) της δυσλιπιδαιμίας στο μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης με εξαρτημένη μεταβλητή: α) ADMA και β)) Lp-PLA2.

Εξαρτημένη μεταβλητή	β- συντελεστής δυσλιπιδαιμίας	95% ΔΕ (β)	p-value
ADMA	0,038	(-0,004 – 0,079)	0,076
LpPLA2	50,4	(-24,2 – 125,1)	0,183

* Τα αποτελέσματα είναι διορθωμένα ως προς φύλο, ηλικία, ΔΜΣ και λήψη θεραπείας

Αντίστοιχα, στον **Πίνακα 6** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα αναφορικά με την επίδραση της αύξησης των επιπέδων ADMA και Lp-PLA2 στην ολική, LDL και non-HDL χοληστερόλη, έχοντας επίσης λάβει υπόψη τους πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες. Όσον αφορά στην ADMA, η αύξηση των επιπέδων της φαίνεται να οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων ολικής, LDL και non-HDL χοληστερόλης, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ($p < 0,05$). Όσον αφορά στην Lp-PLA2, η αύξηση των επιπέδων της φαίνεται να καταλήγει επίσης σε αύξηση των παραπάνω λιπιδίων, ωστόσο η συσχέτιση αυτή δεν αποδείχτηκε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό στην παρούσα μελέτη.

Πίνακας 6. Συσχέτιση α) της αύξησης της ADMA κατά 0.1 $\mu\text{mol/l}$ και β) της αύξησης της Lp-PLA2 κατά 100 ng/ml με 1) TC, 2) LDL-C και 3) non-HDL-C μέσω γραμμικής παλινδρόμησης.

Εξαρτημένη μεταβλητή	Μεταβλητή	β-συντελεστής μεταβλητής	95% ΔΕ	p-value
TC	ADMA	16,1	(3,2 – 29,0)	0,015
	LpPLA2	6,1	(-1,2 – 13,5)	0,102
LDL-C	ADMA	15,7	(2,8 – 28,5)	0,018
	LpPLA2	6,1	(-1,3 – 13,4)	0,105
Non-HDL-C	ADMA	16,3	(3,2 – 29,4)	0,015
	LpPLA2	6,4	(-1,1 – 13,8)	0,094

* Τα αποτελέσματα είναι διορθωμένα ως προς φύλο, ηλικία, ΔΜΣ και λήψη θεραπείας

3.3. Στατιστική ανάλυση μεταξύ των παιδιών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου I και των μαρτύρων

Η κατανομή των συνεχών μεταβλητών, διάμεση, 5^η και 95^η εκατοστιαία θέση, στα παιδιά με διαβήτη και στους μάρτυρες, στο σύνολο και ξεχωριστά, φαίνεται στον **Πίνακα 7**.

Πίνακας 7. Περιγραφικά χαρακτηριστικά παιδιών με διαβήτη και μαρτύρων.

	Σύνολο (N=50) (A/Θ: 27/23)	Μάρτυρες (N=31) (A/Θ: 17/14)	Διαβήτη (N=19) (A/Θ: 10/9)	
	median (p5 - p95)	median (p5 - p95)	median (p5 - p95)	p-value*
Ηλικία	11,6 (5,6 - 16,3)	10,8 (5,5 - 13,8)	13,3 (7,4 - 16,7)	0,002
BMI	19,3 (14,7 - 26,1)	19,1 (14,3 - 27,3)	19,7 (14,7 - 25)	0,734
ADMA	0,56 (0,41 - 0,74)	0,57 (0,42 - 0,73)	0,55 (0,40 - 0,88)	0,569
LpPLA2	461,7 (260 - 806,4)	510,0 (360,7 - 759,3)	432,5 (234,9 - 1382,1)	0,121
TC	173 (120 - 212)	178 (126 - 212)	167 (106 - 244)	0,267
LDL-C	96,5 (63 - 125)	98 (68 - 126)	91 (59 - 125)	0,242
HDL-C	60,5 (39 - 102)	59 (39 - 99)	63 (34 - 104)	0,779
TGs	53 (31 - 102)	56 (30 - 100)	50 (31 - 148)	0,586
Non-HDL-C	104,5 (65 - 140)	112 (75 - 137)	102 (63 - 141)	0,294
Lp(a)	12,45 (2 - 55,5)	8,9 (2 - 55,1)	18,6 (3,7 - 55,5)	0,589
hsCRP	0,375 (0,1 - 2,3)	0,41 (0,1 - 3,98)	0,135 (0,1 - 1,6)	0,526
Glu	112,5 (76 - 356)	84 (76 - 91)	177 (68 - 404)	<0,001
HbA1c			6,7 (5,9 - 10,3)	

* Χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία Mann-Witney

Οι συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων ADMA και LpPLA2 με τα επίπεδα λιπιδίων – λιποπρωτεϊνών (TC, LDL, HDL, nonHDL, τριγλυκερίδια), γλυκόζης και HbA1c με τη μη παραμετρική μέθοδο συσχέτισης Spearman παρουσιάζονται στον **Πίνακα 8**. Να σημειωθεί ότι οι συσχετίσεις αυτές είναι απλές, χωρίς διόρθωση για συγχυτικούς παράγοντες. Από την ανάλυση αυτή παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ADMA και της ηλικίας και οριακά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων LpPLA2 και των τριγλυκεριδίων, ενώ δεν παρατηρήθηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ADMA και LpPLA2 με τη γλυκόζη, την HbA1c και τις υπολοιπές παραμέτρους. Στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ των επιπέδων nonHDL και TC, LDL, μεταξύ των επιπέδων HbA1c και nonHDL, μεταξύ των επιπέδων Lp(a) και ηλικίας, ΔΜΣ, καθώς επίσης μεταξύ των επιπέδων της hsCRP και TC. Οριακά σημαντική θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των επιπέδων HbA1c και TC, LDL, καθώς επίσης μεταξύ των επιπέδων hsCRP και LDL (**Πίνακας 8**).

Πίνακας 8. Spearman συσχετίσεις μεταξύ ηλικίας, ΔΜΣ, ADMA, Lp-PLA2, λιπιδίων-λιποπρωτεϊνών, Γλυκόζης, HbA1c και hsCRP.

		Ηλικία	ΔΜΣ	ADMA	LpPLA2	TC	LDL	HDL	TGs	nonHDL	Glu	HbA1c	Lp(a)
ΔΜΣ	rho	0,499	1										
	p	0,143											
ADMA	rho	-0,687	-0,236	1									
	p	0,028	0,511										
LpPLA2	rho	0,255	0,527	-0,418	1								
	p	0,477	0,117	0,229									
TC	rho	-0,085	-0,103	-0,309	0,297	1							
	p	0,815	0,777	0,385	0,405								
LDL	rho	-0,049	-0,103	-0,285	0,079	0,952	1						
	p	0,894	0,777	0,425	0,829	0							
HDL	rho	-0,329	-0,395	-0,012	0,182	0,474	0,268	1					
	p	0,353	0,258	0,973	0,614	0,166	0,455						
TGs	rho	0,231	0,006	-0,333	0,576	0,321	0,224	0,043	1				
	p	0,521	0,987	0,347	0,082	0,366	0,533	0,907					
nonHDL	rho	0,067	-0,091	-0,438	0,122	0,894	0,961	0,122	0,304	1			
	p	0,854	0,802	0,206	0,738	0,001	<0,001	0,737	0,393				
Glu	rho	-0,109	-0,455	0,139	-0,539	-0,176	-0,042	-0,158	0,261	-0,012	1		
	p	0,764	0,187	0,701	0,108	0,627	0,907	0,663	0,467	0,973			
HbA1c	rho	-0,274	-0,442	-0,321	0,176	0,6	0,588	0,201	0,418	0,711	0,079	1	
	p	0,444	0,2	0,366	0,627	0,067	0,074	0,578	0,229	0,021	0,829		
Lp(a)	rho	-0,705	-0,636	0,321	-0,346	-0,055	-0,067	0,225	-0,236	-0,024	0,309	0,455	1
	p	0,023	0,048	0,366	0,328	0,881	0,855	0,532	0,511	0,947	0,385	0,187	
hsCRP	rho	-0,091	-0,278	-0,317	-0,097	0,627	0,614	0,512	0,136	0,506	0,304	0,226	0,007
	p	0,803	0,437	0,373	0,79	0,052	0,059	0,13	0,708	0,136	0,393	0,53	0,986

Από τη σύγκριση των επιπέδων ADMA και LpPLA2 μεταξύ των παιδιών με διαβήτη και των υγιών μαρτύρων, αφού έγινε διόρθωση για συγχυτικούς παράγοντες, δεν διαπιστώθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων (Πίνακας 9).

Πίνακας 9. β-συντελεστές (και διαστήματα εμπιστοσύνης) του σακχαρώδη διαβήτη τύπου Ι στο μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης με εξαρτημένη μεταβλητή: α) ADMA και β) Lp-PLA2.

Εξαρτημένη μεταβλητή	β- συντελεστής διαβήτη	95% ΔΕ (β)	p-value
ADMA	0,012	(-0,066 - 0,089)	0,765
Lp-PLA2	-29,208	(-163,7 - 105,3)	0,664

Ακόμη, χρησιμοποιώντας ως μεταβλητή τη γλυκόζη αίματος και αφού έγινε διόρθωση για συγχυτικούς παράγοντες, δεν βρέθηκε καμία σημαντική συσχέτιση με τα επίπεδα των ADMA και LpPLA2. Τέλος, δεν διαπιστώθηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ των ADMA και LpPLA2 με την HbA1c στα παιδιά με διαβήτη, αφού έγινε διόρθωση για συγχυτικούς παράγοντες (Πίνακας 10).

Πίνακας 10. Συσχέτιση α) της αύξησης της ADMA κατά 0.1 $\mu\text{mol/l}$ και β) της αύξησης της Lp-PLA2 κατά 100 ng/ml με 1) GLU και 2) HbAc1 μέσω γραμμικής παλινδρόμησης.

Εξαρτημένη μεταβλητή	Μεταβλητή	β -συντελεστής	95% ΔΕ	p-value
Glu	ADMA	14.2	(-12.0 – 40.4)	0,275
	LpPLA2	-5.7	(-20.5 – 9.1)	0,434
HbAc1	ADMA	-0,37	(-0,97- 0,24)	0,211
	LpPLA2	0,02	(-0,30 - 0,25)	0,855

4. Συζήτηση αποτελεσμάτων

Από την παρούσα μελέτη διαπιστώθηκαν τα παρακάτω:

α) Ομάδα παιδιών με δυσλιπιδαιμία

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης φαίνεται ότι η ADMA συσχετίζεται ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες, με τις διαταραχές των λιπιδίων. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα της ADMA είχαν σημαντική θετική συσχέτιση με τα επίπεδα των αθηρογενετικών λιποπρωτεϊνών. Η στατιστική ανάλυση της μελέτης έδειξε ότι ακόμα και μικρή αύξηση των επιπέδων της ακολουθείτο από σημαντική αύξηση των επιπέδων ολικής, LDL- και non-HDL- χοληστερόλης. Αντίστροφα, η παρουσία δυσλιπιδαιμίας αποτέλεσε ανεξάρτητο παράγοντα αύξησης των επιπέδων ADMA (οριακή στατιστική σημαντικότητα). Επίσης, διαπιστώθηκε σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των ADMA και LpPLA2. Όσον αφορά την Lp-PLA2, η ανάλυση των δεδομένων του δείγματος της μελέτης ανέδειξε σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της και της hsCRP και οριακά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της και των LDL-C, non-HDL-C. Η αύξηση των επιπέδων της Lp-PLA2 φάνηκε να ακολουθείται από τάση αύξησης των επιπέδων ολικής-, LDL- και non-HDL- χοληστερόλης και αντίστροφα η παρουσία αύξησης των παραπάνω λιπιδίων-λιποπρωτεϊνών από τάση αύξησης των επιπέδων της Lp-PLA2 (μη στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα).

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με αυτά προηγούμενων μελετών σε παιδιατρικούς πληθυσμούς. Οι Jehlička P. et al. μελέτησαν 32 παιδιά και έφηβους ηλικίας 14.7 ($\pm 2,9$) ετών με οικογενή υπερχοληστερολαιμία και 30 υγιή (μάρτυρες) ηλικίας 15.1 (± 1.7) ετών και βρήκαν ότι τα επίπεδα της ADMA ήταν σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα των παιδιών με δυσλιπιδαιμία [281]. Αντίστοιχα στη μελέτη των Hasanoğlu A. et al., όπου συμπεριελήφθησαν 57 παιδιά με δυσλιπιδαιμία (LDL>155mg/dl) και 37 νορμολιπιδαιμικά, τα επίπεδα της ADMA ήταν σημαντικά αυξημένα στα παιδιά με υπερχοληστερολαιμία. Επίσης, παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ADMA και LDL-χοληστερόλης [253].

Αρκετές μελέτες έχουν αναδείξει την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων ADMA και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, πιθανώς λόγω του ρόλου της ως

ενδογενούς αναστολέα της σύνθεσης, καθώς η παρεμπόδιση της σύνθεσης NO φαίνεται ότι προάγει την αθηροσκληρωτική νόσο [240, 246, 368, 369-372]. Αυξημένα επίπεδα ADMA έχουν βρεθεί σε ενήλικες με νόσους που συσχετίζονται με την αθηρωμάτωση, συμπεριλαμβανομένης της δυσλιπιδαιμίας. Μάλιστα τα επίπεδα της ήταν ανιχνευτικά του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου, ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες κινδύνου [247, 263, 373, 374, 375]. Στατιστική ανάλυση στοιχείων 131 ασθενών και 131 μαρτύρων από την πολυκεντρική μελέτη CARDIAC (Coronary Artery Risk Determination investigating the Influence of ADMA Concentration) έδειξε ότι τα επίπεδα της ADMA αποτελούν προγνωστικό δείκτη και παράγοντα κινδύνου καρδιαγγειακών συμβαμάτων, ανεξάρτητα από άλλους κλασικούς παράγοντες κινδύνου όπως είναι η υπέρταση, η υπερλιπιδαιμία και το κάπνισμα. Συγκεκριμένα, η αύξηση των επιπέδων ADMA κατά 0,1 $\mu\text{mol} / \text{L}$ ήταν θετικός προγνωστικός παράγοντας των καρδιαγγειακών συμβαμάτων με OR 2,61 (95% CI 1,73-3,94) [373]. Αποτελέσματα από την προοπτική μελέτη LURIC (the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study) όπου αναλύθηκαν στοιχεία 3238 εθελοντών, εκ των οποίων 2543 έπασχαν από επιβεβαιωμένη στεφανιαία νόσο κατά την ένταξή τους στη μελέτη, έδειξαν ότι η ADMA αποτελεί προγνωστικό δείκτη της θνησιμότητας από καρδιαγγειακά αίτια όπως και από άλλα αίτια στους ασθενείς στεφανιαίας νόσου, ανεξάρτητα από την παρουσία ή μη άλλων καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου [374]. Οι Leong et al. ανέλυσαν δεδομένα 880 γυναικών που παρακολουθούντο για 24 χρόνια στο πλαίσιο της προοπτικής πληθυσμιακής μελέτης του Γκέτεμποργκ και έδειξαν ότι αύξηση των επιπέδων ADMA κατά 0,15 $\mu\text{mol/l}$ σε σχέση με τα αρχικά επίπεδα ένταξης των εθελοντριών, σχετίζεται με περίπου 30% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης θανατηφόρου ή μη καρδιαγγειακού συμβάματος [375]. Επίσης, σε μελέτη πληθυσμού από τη Σουηδία, όπου εντάχθηκαν 363 ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο και 48 υγιείς εθελοντές, οι Wanby et al. έδειξαν ότι η ADMA αποτελεί ανεξάρτητο δείκτη για αγγειακά εγκεφαλικά και παροδικά ισχαιμικά επεισόδια [247].

Ο ρόλος της ADMA σε παιδιά και εφήβους, και ιδιαίτερα σε αυτά με δυσλιπιδαιμία δεν έχει μελετηθεί επαρκώς. Η ανεξάρτητη συσχέτιση της ADMA με τη δυσλιπιδαιμία στην παιδική ηλικία θα μπορούσε να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην αξιολόγηση και διαχείριση των παιδιών με δυσλιπιδαιμία. Με βάση τα υπάρχοντα δεδομένα, θα μπορούσε να εξεταστεί το ενδεχόμενο η θεραπεία να

στοχεύσει στη μείωση των επιπέδων της ADMA προκειμένου να επιτευχθεί βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας και ελάττωση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Οι Tain Y.L. et al. κάνοντας ανασκόπηση στη βιβλιογραφία αναγνωρίζουν την ανάγκη διενέργειας περισσότερων μελετών με έμφαση στον παιδιατρικό πληθυσμό, καθώς στους ενήλικες η ADMA μελετάται συστηματικά τα τελευταία είκοσι χρόνια και πλέον, και προβλέπουν ότι τα επόμενα χρόνια τα επίπεδα της θα χρησιμοποιούνται ως βιοδείκτης στο γενικό πληθυσμό αλλά και ως φαρμακευτικός θεραπευτικός στόχος [248].

Όσον αφορά στην Lp-PLA2, τα αποτελέσματα της μελέτης ανέδειξαν ισχυρά θετική συσχέτιση με τη hsCRP, ενώ δεν κατάφεραν να αναδείξουν μία στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της και των επιπέδων λιπιδίων-λιποπρωτεϊνών. Το γεγονός αυτό είναι πιθανό να οφείλεται στο σχετικά μικρό αριθμό των παρατηρήσεων, στην ετερογένεια του υλικού της μελέτης ή ακόμα και στη μέθοδο μέτρησης της Lp-PLA2. Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν πολυάριθμες μελέτες σε ενήλικες που υποστηρίζουν ότι η Lp-PLA2 είναι ένας από τους παράγοντες που εμπλέκονται στην αγγειακή φλεγμονή συμμετέχοντας κατ'αυτόν τον τρόπο στην ανάπτυξη και εγκατάσταση αθηρωσκλήρυνσης [329, 376, 377]. Οι Packard C.J. et al. παρακολούθησαν για 4,9 έτη 580 άνδρες μέσης ηλικίας με υπερχοληστερολαιμία και 1160 μάρτυρες αντίστοιχης ηλικίας, υποπληθυσμό της προοπτικής μελέτης WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study) και έδειξαν ότι η Lp-PLA2 αποτελεί προγνωστικό δείκτη και ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου υποστηρίζοντας ότι παίζει ρόλο «κλειδί» στην απελευθέρωση προϊόντων από τη οξείδωση της LDL εντός του αρτηριακού τοιχώματος. Συγκεκριμένα, η αύξηση της συγκέντρωσης της Lp-PLA2 κατά μία σταθερή απόκλιση συσχετιζόταν με κατά 18% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου [341]. Αντίστοιχα, η στατιστική ανάλυση στοιχείων της μελέτης ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) με συμμετέχοντες 608 άνδρες και γυναίκες που εμφάνισαν στεφανιαία νόσο και 740 υγιή άτομα, ίδιας ηλικίας και φύλου, οι οποίοι παρακολουθήθηκαν για 6 έως 8 έτη, έδειξαν ότι τα άτομα με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις Lp-PLA2 είχαν 78% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου σε σύγκριση με τα άτομα που είχαν συγκεντρώσεις Lp-PLA2 στα χαμηλότερα επίπεδα. Ακόμη, στα άτομα με LDL-C <130 mg/dL, τα επίπεδα της Lp-PLA2 συσχετιζόταν, σημαντικά και ανεξάρτητα, με διπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης

στεφανιαίας νόσου [343]. Επίσης, οι Herrmann J. et al. παρακολούθησαν προοπτικά 162 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε εκλεκτική ενδαρτηρεκτομή καρωτίδων και έδειξαν ότι η έκφραση της Lp-PLA2 στις αθηρωματικές πλάκες των καρωτιδικών αρτηριών ανιχνεύει μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάματα [378]. Βάσει αυτών των αποτελεσμάτων, οι διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες για τον ενήλικο πληθυσμό προτείνουν η μέτρηση των επιπέδων Lp-PLA2 να συμπεριληφθεί, μαζί με τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου, για την ακριβέστερη διαστρωμάτωση κινδύνου και καλύτερη θεραπευτική διαχείριση των ενηλίκων ασθενών [12, 367].

Αναφορικά με τον ρόλο της Lp-PLA2 στον παιδιατρικό πληθυσμό, οι μελέτες που υπάρχουν στη διεθνή βιβλιογραφία είναι λιγοστές. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτών των μελετών τα υψηλά επίπεδα της Lp-PLA2 συνδέονται με υποκλινική φλεγμονή, η οποία μελλοντικά πιθανότατα αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης πρώιμης αθηρογένεσης και καρδιαγγειακής νόσου. Συγκεκριμένα, οι Ryu S.K. et al. σε μελέτη 178 παιδιών με ετερόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία και 78 υγιών αδελφών των ασθενών παρατήρησαν ότι τα παιδιά με δυσλιπιδαιμία παρουσίαζαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα Lp-PLA2 σε σύγκριση με τα υγιή αδέρφια τους. Επιπλέον, τα επίπεδα της Lp-PLA2 στα παιδιά με οικογενή υπερχοληστερολαιμία μειώθηκαν μετά από χορήγηση πραβαστατίνης [364]. Αντίστοιχα, οι Öngen B et al. μελέτησαν 43 παιδιά και εφήβους με δυσλιπιδαιμία και 24 μάρτυρες αντίστοιχης ηλικίας και παρατήρησαν αφενός σημαντικά υψηλότερα επίπεδα της Lp-PLA2 στην ομάδα των ατόμων με δυσλιπιδαιμία, αφετέρου στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της και των επιπέδων ολικής- και LDL- χοληστερόλης, καθώς και του πάχους του έσω και μέσου χιτώνα των καρωτιδικών αρτηριών (CIMT) [379]. Επίσης, οι Sakka et al. που μελέτησαν 67 παιδιά φυσιολογικού βάρους και 66 παχύσαρκα, αντίστοιχης ηλικίας, βρήκαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα Lp-PLA2 πλάσματος στην ομάδα των παχύσαρκων παιδιών. Δεδομένου ότι η παχυσαρκία και η καρδιαγγειακή νόσος συχνά συνυπάρχουν, χωρίς όμως να είναι απολύτως κατανοητοί οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που συνδέουν τις δύο αυτές καταστάσεις, με βάση τη θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης Lp-PLA2 και του ΔΜΣ που αναδείχτηκε από τα αποτελέσματα της μελέτης, οι ερευνητές προτείνουν την Lp-PLA2 ως το συνδετικό κρίκο μεταξύ της παχυσαρκίας και του αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου στην παιδική ηλικία [380]. Αντίστοιχα, οι Nagel G. et al. σε

μελέτη 450 παιδιών στη νοτιοδυτική Γερμανία, μέσης ηλικίας 10 χρονών, παρατήρησαν αυξημένα επίπεδα Lp-PLA2 πλάσματος και άλλων δεικτών φλεγμονής (ιντερλευκίνη 6, CRP, ινωδογόνο, λεπτίνη), καθώς και μειωμένα επίπεδα αδιπονεκτίνης, στα υπέρβαρα και στα παχύσαρκα παιδιά [365].

β) Ομάδα παιδιών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1

Στην παρούσα μελέτη, τα επίπεδα των ADMA και LpPLA2 δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των παιδιών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και των μαρτύρων. Η στατιστική ανάλυση των στοιχείων ανέδειξε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ADMA και της ηλικίας και οριακά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων LpPLA2 και των τριγλυκεριδίων, αλλά δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των υπό διερεύνηση μορίων και των επιπέδων γλυκόζης, γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, hsCRP και των υπόλοιπων λιπιδίων-λιποπρωτεϊνών στα παιδιά με διαβήτη.

Η σχέση της ADMA με το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και 2 παρουσιάζει ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον καθώς τα στοιχεία που προκύπτουν από τις διαθέσιμες από τη διεθνή βιβλιογραφία κλινικές μελέτες, είναι αντιφατικά. Αυξημένα επίπεδα ADMA έχουν παρατηρηθεί σε μελέτες ενηλίκων με μεταβολικές διαταραχές που συνδέονται με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και την αθηρογένεση, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης και η ινσουλινοαντοχή [266, 381, 382]. Συγκεκριμένα, όσον αφορά στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, οι Krzyzanowska et al. μελέτησαν 136 ασθενείς με διαβήτη, εκ των οποίων οι 55 είχαν επιβεβαιωμένη μακροαγγειακή νόσο, και έδειξαν ότι τα αυξημένα επίπεδα της ADMA σχετίζονται, σημαντικά και ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, με την ανάπτυξη μακροαγγειακής νόσου [268]. Επιπλέον, τα επίπεδα της ADMA φαίνεται ότι σχετίζονται θετικά και ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες κινδύνου, με το δείκτη HOMA-IR (Homeostasis model assessment of insulin resistance) [269-271] καθώς και με την έναρξη και την εξέλιξη της νεφροπάθειας των διαβητικών ασθενών [272]. Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι οι διαβητικοί ασθενείς έχουν χαμηλότερα επίπεδα ADMA συγκριτικά με τους μη-διαβητικούς. Συγκεκριμένα, οι Paiva H. et al. ανέλυσαν δεδομένα από 86 διαβητικούς ασθενείς και 65 μάρτυρες και βρήκαν ότι τα επίπεδα της ADMA παρουσιάζουν αρνητική συσχέτιση με τη γλυκοζυλιωμένη

αιμοσφαιρίνη, υποδεικνύοντας ότι ο κακός γλυκαιμικός έλεγχος στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 σχετίζεται με χαμηλότερα επίπεδα ADMA [273].

Εξίσου αντικρουόμενα είναι και τα αποτελέσματα ερευνών που περιλαμβάνουν ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης που διενεργήθηκε από τους Altinova A.E. et al. σε 75 νεαρούς ενήλικες, εκ των οποίων οι 40 έπασχαν από σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1, φαίνεται ότι οι ασθενείς παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα ADMA ακόμα και πριν από την ανάπτυξη αγγειακών βλαβών [274]. Αντίθετα, οι Sibál L. et al. μελέτησαν 123 νεαρούς ενήλικες, εκ των οποίων οι 61 έπασχαν από σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 χωρίς να έχουν αναπτύξει νεφροπάθεια ή γνωστή μακροαγγειακή νόσο, και παρατήρησαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα ADMA στην ομάδα των ασθενών. Βάσει των δεδομένων της μελέτης τους υποστηρίζουν ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που παρατηρείται σε αυτούς τους ασθενείς δεν οφείλεται στα επίπεδα και στη δράση της ADMA [275]. Αντίστοιχα, οι Marcovecchio M.L. et al. ανέλυσαν στοιχεία από 330 νεαρούς ενήλικες με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και έναρξη νόσου στην παιδική ηλικία, οι οποίοι συμμετείχαν στην προοπτική τοπική μελέτη της Οξφόρδης, και παρατήρησαν «παράδοξη» όπως την χαρακτήρισαν αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ADMA και γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης. Οι ερευνητές εξηγώντας τα αποτελέσματα της μελέτης τους υποστήριξαν το ενδεχόμενο η χρόνια υπεργλυκαιμία να αναστέλλει τους μηχανισμούς που εμπλέκονται στην παραγωγή της ADMA και ταυτόχρονα να διεγείρει το μεταβολισμό της με αποτέλεσμα την προστασία του ασθενή από τις καρδιαγγειακές επιπλοκές του διαβήτη [383].

Όσον αφορά το σακχαρώδη διαβήτη στην παιδική ηλικία και το ρόλο της ADMA, οι περισσότερες μελέτες, των οποίων τα αποτελέσματα είναι διαθέσιμα, υποδεικνύουν αρνητική συσχέτιση. Οι Takaya J et al. διερεύνησαν τα επίπεδα ADMA σε παιδιά και εφήβους με υπεργλυκαιμία και τα συνέκριναν με υγιείς μάρτυρες αντίστοιχης ηλικίας και φύλου. Συγκεκριμένα, στη μελέτη εντάχθηκαν 18 άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1, 10 άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και 21 παχύσαρκα άτομα. Η στατιστική ανάλυση των στοιχείων έδειξε ότι τα επίπεδα ADMA είναι σημαντικά χαμηλότερα στα παιδιά με διαβήτη ή παχυσαρκία. Επίσης, σε όλα τα άτομα της μελέτης παρατηρήθηκε αντίστροφη συσχέτιση των επιπέδων της ADMA με αυτά της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και της γλυκόζης ορού. Οι ερευνητές ερμηνεύοντας

τα αποτελέσματα της μελέτης τους υποστηρίζουν ότι η χρόνια υπεργλυκαιμία στην παιδική ηλικία συνεπάγεται, παραδόξως, αντισταθμιστική ρύθμιση της ADMA με σκοπό την προστασία από τη διαβητική αγγειοπάθεια [384]. Αντίστοιχα, οι Heilman K. et al. μελέτησαν 60 παιδιά και εφήβους, εκ των οποίων οι 30 έπασχαν από σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 με μέση τιμή γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης 9,8% και έδειξαν ότι η ομάδα με διαβήτη παρουσίαζε σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα ADMA και ομοκυστεΐνης σε σύγκριση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων [276]. Επίσης, οι Chrysis D. et al. διερεύνησαν τα επίπεδα δεικτών καρδιαγγειακού κινδύνου, συμπεριλαμβανομένης της ADMA, σε 56 παιδιά με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και σε 46 υγιή παιδιά και βρήκαν εξίσου σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα ADMA στα παιδιά με διαβήτη [385]. Οι Huemer M. et al. ερμηνεύοντας τα αποτελέσματα της μελέτης τους υποστήριξαν ότι τα χαμηλά επίπεδα ADMA που παρατηρούνται στα παιδιά με διαβήτη μπορεί να αποτελούν ένδειξη διαταραχής της προστασίας από το οξειδωτικό στρες στο οποίο εμπλέκεται το μονοξειδίο του αζώτου μέσω της παραγωγής ελεύθερων ριζών [386]. Τέλος, οι Jehlička P. et al. μελέτησαν 30 παιδιά και εφήβους με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και 30 υγιή (μάρτυρες) αντίστοιχης ηλικίας και δεν παρατήρησαν διαφορά στα επίπεδα της ADMA μεταξύ των δύο ομάδων [281]

Όσον αφορά την Lp-PLA2, φαίνεται να παίζει εξίσου σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη των καρδιαγγειακών επιπλοκών του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και 2. Οι Hatoum I.J. et al. μελέτησαν δεδομένα από 1517 άτομα με επιβεβαιωμένο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, που συμμετείχαν στις μελέτες HPFS (Health Professionals Follow-Up Study) και NHS (Nurses' Health Study) και κατά την ένταξή τους στη μελέτη δεν έπασχαν από καρδιαγγειακές επιπλοκές. Οι ερευνητές παρακολούθησαν τους συμμετέχοντες στη μελέτη για 10 έως 14 έτη και βρήκαν ότι οι ασθενείς με τα υψηλότερα επίπεδα δραστηριότητας της Lp-PLA2 είχαν αυξημένο κατά 39% κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου και συγκεκριμένα κατά 75% μη θανατηφόρο έμφραγμα μυοκαρδίου ή θανατηφόρο καρδιαγγειακό σύμβαμα, ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Μάλιστα, από τα αποτελέσματα της μελέτης τους φαίνεται ότι η συσχέτιση της δραστηριότητας της Lp-PLA2 με τα καρδιαγγειακά συμβάματα ήταν ισχυρότερη τα πρώτα 6 χρόνια της παρακολούθησης των ασθενών. Επίσης, στην περιγραφή των μεθόδων τους οι ερευνητές σημείωσαν ότι η αρχική ανάλυση των στοιχείων αφορούσε στις συγκεντρώσεις της Lp-PLA2 χωρίς

όμως να αναδειχθεί στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου γεγονός το οποίο υποδεικνύει ότι η δραστηριότητα της Lp-PLA2 αποτελεί πιο ευαίσθητο δείκτη [360]. Αντίστοιχα, οι Gomes M.B. et al. παρατήρησαν αυξημένα επίπεδα δραστηριότητας της Lp-PLA2 σε 118 νεαρούς ενήλικες με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 σε σχέση με 110 υγιείς νεαρούς ενήλικες. Μάλιστα η θετική συσχέτιση που βρέθηκε, ήταν ανεξάρτητη από την παρουσία χρόνιων επιπλοκών του διαβήτη υποδεικνύοντας ότι η Lp-PLA2 εμπλέκεται σε πολύ πρώιμο στάδιο της φλεγμονώδους διεργασίας [361]. Επιπλέον, αποτελέσματα μελετών δείχνουν ότι η δραστηριότητα της Lp-PLA2 συσχετίζεται θετικά με την ηλικία, τα επίπεδα της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, του ουρικού οξέος, της ολικής- και της LDL-χοληστερόλης, ενώ ο συνδυασμός αυξημένων επιπέδων Lp-PLA2 και CRP είναι ενδεικτικός ακόμη μεγαλύτερου κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων [362, 363].

Οι διαθέσιμες μελέτες για το ρόλο της Lp-PLA2 στα παιδιά με σακχαρώδη διαβήτη είναι λιγοστές. Οι Seyfarth J. et al. αναλύοντας στοιχεία από τη βάση δεδομένων DPV (Diabetes-Patienten-Verlaufsdokumentation) μελέτησαν 137 παχύσαρκους εφήβους, εκ των οποίων οι 65 είχαν σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, και βρήκαν ότι τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης ορού συσχετίζονταν με μειωμένη δραστηριότητα της Lp-PLA2. Μάλιστα η συγκεκριμένη συσχέτιση προέκυψε περιέργως μόνο από τα αγόρια με διαβήτη [386]. Επίσης, οι Kabaroglu C. et al. μελέτησαν 80 παχύσαρκους εφήβους διενεργώντας δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη (oral glucose tolerance test, OGTT), διενεργώντας όμως αιμοληψία κάθε 30 λεπτά, για συνολικά 120 λεπτά, μετά από τη φόρτιση με διάλυμα γλυκόζης. Αναλυτικότερα, βάσει των αποτελεσμάτων της καμπύλης δημιούργησαν τρεις ομάδες, τους εφήβους με φυσιολογική δοκιμασία, αυτούς με διαταραχή και αυτούς με αυξημένα επίπεδα γλυκόζης ($\text{glu} > 140 \text{mg/dl}$) στα πρώτα 30 λεπτά και διαπίστωσαν ότι η τρίτη ομάδα παρουσίαζε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα δεικτών συστηματικής φλεγμονής, συμπεριλαμβανομένης της Lp-PLA2, συγκρινόμενη τόσο με την ομάδα φυσιολογικής όσο και με την ομάδα διαταραγμένης καμπύλης. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα οι ερευνητές προτείνουν η αυξημένη συγκέντρωση γλυκόζης ορού στα 30 λεπτά μετά από τη φόρτιση με γλυκόζη να ταξινομηθεί ως μία καινούρια διαταραχή της δοκιμασίας για τους παχύσαρκους εφήβους [387].

Όσον αφορά στην παρούσα μελέτη, η μη ανεύρεση κάποιας στατιστικά σημαντικής συσχέτισης στην ομάδα των παιδιών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 πιθανόν να οφείλεται στον μικρό αριθμό παρατηρήσεων, στην ετερογένεια του υλικού και πιθανόν στη μέθοδο προσδιορισμού των επιπέδων της Lp-PLA2.

Η παρούσα μελέτη είναι η 1η μελέτη σε παιδιά με δυσλιπιδαιμία που δείχνει μια σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των υπό διερεύνηση βιοδεικτών, της ADMA και της LpPLA2. Επιπλέον, δείχνει τη συσχέτισή τους με τα επίπεδα λιπιδίων –λιποπρωτεϊνών. Η σύγχρονη αξιολόγηση όσο το δυνατόν περισσότερων παραγόντων κινδύνου πρώιμης αθηρωματικής και καρδιαγγειακής νόσου είναι πιο αποτελεσματική στην κατηγοριοποίηση του ατομικού καρδιαγγειακού κινδύνου [343, 388]. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό αφού η ανίχνευση όσο το δυνατόν περισσότερων μετρήσιμων παραγόντων κινδύνου για αθηρωματική νόσο κατά την παιδική ηλικία θα μπορούσε να συμβάλλει στην πρωτογενή και δευτερογενή πρόληψη. Η πρόληψη κατά την παιδική ηλικία έχει αποδειχθεί ότι είναι πιο αποτελεσματική και λιγότερο δαπανηρή από την θεραπεία της επιβεβαιωμένης καρδιαγγειακής νόσου κατά την ενήλικη ζωή. Δεδομένου του γεγονότος ότι η αγγειακή δυσλειτουργία και η φλεγμονή έχουν έναν κεντρικό ρόλο στη δημιουργία και εξέλιξη των αθηρωματικών βλαβών, ο προσδιορισμός βιοδεικτών που εμπλέκονται στους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς της υποκλινικής αθηρωματικής αγγειακής νόσου, όπως είναι η ADMA και η LpPLA2, είναι μεγάλης σημασίας [389].

Η σημασία των βιοδεικτών που μελετήθηκαν στην ομάδα των παιδιών με διαβήτη τύπου 1 δυστυχώς δεν αποδείχθηκε, γεγονός όμως που μπορεί να οφείλεται μεταξύ άλλων σε ζητήματα μεθοδολογίας ή και στη σχετικά βραχεία έκθεση των ασθενών στις βλαπτικές επιδράσεις της υπεργλυκαιμίας. Ωστόσο, η ανάγκη προσδιορισμού στην ομάδα αυτή των παιδιών όσο το δυνατόν περισσότερων δεικτών για την εκτίμηση του κινδύνου αγγειακής νόσου είναι ακόμη πιο επιτακτική, αν λάβουμε υπόψη μας τον μεγαλύτερο κίνδυνο πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου που διατρέχουν τα άτομα με σακχαρώδη διαβήτη. Περισσότερες προοπτικές μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό παιδιών με μακρύτερης διάρκειας νόσο απαιτούνται για τη διεξαγωγή πιο ασφαλών συμπερασμάτων.

5. Συμπεράσματα της μελέτης

Από τη μελέτη υποστηρίζεται μια θετική συσχέτιση των ADMA και LpPLA2 τόσο μεταξύ τους όσο και με βιοχημικούς δείκτες που συνδέονται με το μακροχρόνιο κίνδυνο αθηρωμάτωσης σε παιδιά και ενήλικες. Ωστόσο χρειάζονται περισσότερες μελέτες που να διερευνούν τη συσχέτιση των εν λόγω βιοδεικτών με τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου προκειμένου να ενταχθούν, είτε ξεχωριστά είτε σε συνδυασμό, στον έλεγχο ειδικών ή μη, ομάδων του παιδιατρικού πληθυσμού, με στόχο την έγκαιρη και έγκυρη διαστρωμάτωση και αντιμετώπιση. Επίσης, σε δεύτερο λόγο, τίθεται το ερώτημα αξιολόγησης του ενδεχόμενου η μείωση των επιπέδων των συγκεκριμένων δεικτών να αποτελέσει έναν επιπλέον φαρμακευτικό θεραπευτικό στόχο στα άτομα αυξημένου κινδύνου.

6. Περίληψεις

6.1. Περίληψη στα ελληνικά

Εισαγωγή: Η παιδική ηλικία αποτελεί την αφετηρία για τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που οδηγούν σε καρδιαγγειακά συμβάματα αργότερα στην ενήλικη ζωή. Η εγκατάσταση αθηρωσκληρωτικών βλαβών θεωρείται μία χρόνια εξελικτική διαδικασία η οποία επάγεται κυρίως από τη φλεγμονή και την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία των αγγείων. Η ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη (asymmetric dimethylarginine, ADMA) και η συνδεδεμένη με τις λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A2 (lipoprotein associated phospholipase A2, Lp-PLA2) αναγνωρίζονται ως δείκτες πρώιμης αθηρωσκλήρυνσης καθώς και πρόγνωσης των όψιμων επιπλοκών στην ενήλικη ζωή.

Σκοπός: Η τεκμηρίωση συσχέτισης μεταξύ των μορίων ADMA, Lp-PLA2 και παραδοσιακών βιοχημικών δεικτών καρδιαγγειακού κινδύνου σε παιδιά και εφήβους με δυσλιπιδαιμία ή σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1.

Υλικό και μέθοδοι: Τον πληθυσμό της μελέτης αποτέλεσαν 123 παιδιά και έφηβοι, 68 αγόρια / 55 κορίτσια, με διάμεση ηλικία 9,9 έτη, 73 παιδιά με δυσλιπιδαιμία (επίπεδα LDL-C $\geq$ 130 mg/dl), 19 παιδιά με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και 31 υγιή παιδιά. Ο εργαστηριακός έλεγχος ελήφθη μετά από ολονύκτια νηστεία και προσδιορίστηκαν τα λιπίδια, οι λιποπρωτεΐνες, η hsCRP, η γλυκόζη, η HbA1c καθώς επίσης τα επίπεδα των ADMA και Lp-PLA2 (ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay). Τα επίπεδα της LDL-C προσδιορίστηκαν με άμεση μέτρηση. Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της εφαρμογής STATA (Windows v8.5) και η στατιστική σημαντικότητα ορίστηκε στο 5%.

Αποτελέσματα: Τα παιδιά με δυσλιπιδαιμία είχαν υψηλότερα επίπεδα ADMA και Lp-PLA2. Τα επίπεδα της ADMA είχαν σημαντική θετική συσχέτιση με τα επίπεδα ολικής, LDL και non-HDL χοληστερόλης, καθώς και TGs. Στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία, ακόμα και μικρές αλλαγές των συγκεντρώσεων ADMA ακολουθούνται από διαφοροποιήσεις στα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών. Όσον αφορά τα επίπεδα Lp-PLA2 παρατηρήθηκε ισχυρή θετική συσχέτιση με τα επίπεδα hsCRP και θετική συσχέτιση οριακής στατιστικής σημαντικότητας με τα επίπεδα LDL-C και non-HDL-C. Επίσης σημαντική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των επιπέδων

ADMA και Lp-PLA2. Στην ομάδα των παιδιών με σακχαρώδη διαβήτη παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ADMA και της ηλικίας και οριακά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων LpPLA2 και των TGs.

Συμπεράσματα: Από τη μελέτη υποστηρίζεται ότι στα παιδιά με δυσλιπιδαιμία οι ADMA και LpPLA2 έχουν θετική συσχέτιση τόσο μεταξύ τους όσο και με βιοχημικούς δείκτες που συνδέονται με το μακροχρόνιο κίνδυνο αθηρωμάτωσης. Η συναξιολόγηση των συγκεκριμένων βιοδεικτών πιθανόν να μπορεί να συμβάλει στην πρόγνωση του καρδιαγγειακού κινδύνου και αντίστοιχα στις στρατηγικές διαχείρισης στον παιδιατρικό πληθυσμό.

6.2. Περίληψη στα αγγλικά

Background: The pathophysiologic mechanisms which lead to cardiovascular (CV) events begin early in childhood. Atherosclerosis is recognized as a chronic and dynamic process induced primarily by vascular inflammation and endothelial dysfunction. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and lipoprotein associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) are considered markers of early atherosclerosis and predictors of late complications in adulthood.

Aim: To establish the relationship between ADMA, Lp-PLA2 and traditional cardiovascular risk biomarkers in children and adolescents with dyslipidemia or diabetes mellitus type 1.

Material and Methods: The study population consisted of 123 children, 68 males / 55 females, with a median age of 9.9 years. 73 children suffered dyslipidemia (LDL-C levels ≥ 130 mg/dl), 19 children suffered diabetes mellitus type 1 and 31 were apparently healthy children. Blood samples were obtained after an overnight fasting. Lipid, lipoproteins, hsCRP, glucose, HbA1c, as well as ADMA and Lp-PLA2 levels were estimated. LDL-C concentration was directly measured. ADMA and Lp-PLA2 levels were assessed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Statistical analysis was performed using STATA for Windows v8.5. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: Children suffering dyslipidemia demonstrated higher ADMA and Lp-PLA2 levels. ADMA was significantly positively correlated with TC, LDL-C, non-HDL-C and TGs. Even small changes of the ADMA concentration in dyslipidemic children were found to be followed by corresponding alterations in lipid-lipoprotein levels. A significant positive correlation was observed between Lp-PLA2 and hsCRP as well as a positive correlation of borderline significance between Lp-PLA2 and LDL-C or non-HDL-C. In addition, ADMA and Lp-PLA2 were strongly correlated. In the group of diabetes mellitus, ADMA levels were significantly negatively correlated with age and Lp-PLA2 levels were marginally correlated with TGs levels.

Conclusions: A relationship of ADMA and Lp-PLA2 levels with biochemical markers associated with long-term risk of atherosclerosis in children and adolescents is supported. The assessment of these two biomarkers combined may improve CV risk prediction and future management strategies in the pediatric population.

Δ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

1. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva, World Health Organization, 2011.
2. Global status report on noncommunicable diseases 2014. “Attaining the nine global noncommunicable diseases targets; a shared responsibility”. World Health Organization, 2014.
3. Lloyd-Jones D, Adams RJ et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2010 Update: A Report from the American Heart Association. *Circulation*. 2010; 121: e46-e215.
4. Maniadakis N, Kourlaba G et al. The economic burden of atherothrombosis in Greece: results from the THESIS study. *Eur J Health Econ*. 2013 Aug;14(4):655-65.
5. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 2012, 380(9859):2224–2260.
6. The global burden of disease: 2004 update. Geneva, World Health Organization, 2008.
7. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*. 2006; 3(11): e442.
8. Katsoulis M, Dimakopoulou K, Trichopoulos D et al. Long-term exposure to traffic-related air pollution and cardiovascular health in a Greek cohort study. *Science of the Total Environment* 2014; 490: 934–940
9. Rodriguez RD, Schocken DD. Update on sick sinus syndrome, a cardiac disorder of aging. *Geriatrics* 1990; 45:26–30, 33–6.
10. Kollias A, Psilopatis I, Karagiaouri E et al. Adiposity, blood pressure, and carotid intima-media thickness in greek adolescents. *Obesity (Silver Spring)* 2013;21(5):1013-7.
11. 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; 92:1355–74.

12. 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 Circulation. 2002; 106:3143
13. Sparagon B, Friedman M, Breall WS, et al. Type A behavior and coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2001; 156:145-9.
14. Dent THS. Predicting the risk of coronary heart disease. II: the role of novel molecular biomarkers and genetics in estimating risk, and the future of risk prediction. *Atherosclerosis* 2010; 213:352–62.
15. Vallance P. Importance of asymmetrical dimethylarginine in cardiovascular risk. *Lancet* 2001; 358:2096–7.
16. Tuomisto K, Jousilahti P, Sundvall J, et al. C-reactive protein, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha as predictors of incident coronary and cardiovascular events and total mortality. A population-based, prospective study. *Thromb Haemost* 2006; 95:511–8.
17. Libby P. The Pathogenesis, Prevention and Treatment of Atherosclerosis. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. McGraw-Hill. 2008. 1501–9.
18. 159. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115–26.
19. Ueland T, Vissers MN, Wiegman A et al. Increased inflammatory markers in children with familial hypercholesterolemia. *Eur J Clin Invest* 2006; 36:147-52
20. Wang TJ, Larson MG, Levy D et al. C-reactive protein is associated with subclinical epicardial coronary calcification in men and women: the Framingham Heart study. *Circulation* 2002; 106:1189-91
21. Järvisalo MJ, Harmoinen A, Hakanen M, et al. Elevated serum C-reactive protein levels and early arterial changes in healthy children. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(8):1323-8.
22. Järvisalo MJ, Jartti L, Nantö-Salonen K, et al. Increased aortic intima-media thickness: a marker of preclinical atherosclerosis in high-risk children. *Circulation*. 2001;104(24):2943-7
23. Lefkou E, Fragakis N, Varlamis G. The Inflammatory Process During Childhood and the Risk of Developing Atheromatous Disease in Adult Life: The Role of C-Reactive Protein. *Hellenic J Cardiol* 2006; 47:164-169

24. Skålen K, Gustafsson M, Rydberg EK, et al. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature* 2002; 417:750–4.
25. Kadl A, Huber J, Gruber F, et al. Analysis of inflammatory gene induction by oxidized phospholipids in vivo by quantitative real-time RT-PCR in comparison with effects of LPS. *Vascul Pharmacol* 2002;38:219–27.
26. Reddy ST, Grijalva V, Ng C, et al. Identification of genes induced by oxidized phospholipids in human aortic endothelial cells. *Vascul Pharmacol* 2002;38:211–8.
27. Leitinger N. Oxidized phospholipids as modulators of inflammation in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2003;14:421–30.
28. Dai G, Kaazempur-Mofrad MR, Natarajan S, et al. Distinct endothelial phenotypes evoked by arterial waveforms derived from atherosclerosis-susceptible and -resistant regions of human vasculature. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:14871–6.
29. Massberg S, Brand K, Grüner S, et al. A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. *J Exp Med* 2002;196:887–96.
30. Eriksson EE, Xie X, Werr J, et al. Importance of primary capture and L-selectin-dependent secondary capture in leukocyte accumulation in inflammation and atherosclerosis in vivo. *J Exp Med* 2001;194:205–18.
31. Cybulsky MI, Gimbrone MA. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* 1991;251:788–91.
32. Lesnik P, Haskell CA, Charo IF. Decreased atherosclerosis in CX3CR1^{-/-} mice reveals a role for fractalkine in atherogenesis. *J Clin Invest* 2003;111:333–40.
33. Boring L, Gosling J, Cleary M, et al. Decreased lesion formation in CCR2^{-/-} mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. *Nature* 1998;394:894–7.
34. Smith JD, Trogan E, Ginsberg M, et al. Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:8264–8.
35. Peiser L, Mukhopadhyay S, Gordon S. Scavenger receptors in innate immunity. *Curr Opin Immunol* 2002;14:123–8.
36. Miller YI, Chang M-K, Binder CJ, et al. Oxidized low density lipoprotein and innate immune receptors. *Curr Opin Lipidol* 2003;14:437–45.

37. Tontonoz P, Nagy L, Alvarez JG, et al. PPARgamma promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell* 1998;93:241–52.
38. Edfeldt K, Swedenborg J, Hansson GK, et al. Expression of toll-like receptors in human atherosclerotic lesions: a possible pathway for plaque activation. *Circulation* 2002;105:1158–61.
39. Bae YS, Lee JH, Choi SH, et al. Macrophages generate reactive oxygen species in response to minimally oxidized low-density lipoprotein: toll-like receptor 4- and spleen tyrosine kinase-dependent activation of NADPH oxidase 2. *Circ Res* 2009;104:210–8, 21p following 218.
40. Miller YI, Viriyakosol S, Worrall DS, et al. Toll-like receptor 4-dependent and -independent cytokine secretion induced by minimally oxidized low-density lipoprotein in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1213–9.
41. Ley K, Miller YI, Hedrick CC. Monocyte and macrophage dynamics during atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:1506–16.
42. Stemme S, Holm J, Hansson GK. T lymphocytes in human atherosclerotic plaques are memory cells expressing CD45RO and the integrin VLA-1. *Arterioscler Thromb* 1992;12:206–11.
43. Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1876–90.
44. Stemme S, Faber B, Holm J, et al. T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:3893–7.
45. De Boer OJ, van der Wal AC, Houtkamp MA, et al. Unstable atherosclerotic plaques contain T-cells that respond to *Chlamydia pneumoniae*. *Cardiovasc Res* 2000;48:402–8.
46. Epstein SE, Zhou YF, Zhu J. Infection and atherosclerosis: emerging mechanistic paradigms. *Circulation* 1999;100:e20–8.
47. Xu Q. Role of heat shock proteins in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1547–59.
48. Uyemura K, Demer LL, Castle SC, et al. Cross-regulatory roles of interleukin (IL)-12 and IL-10 in atherosclerosis. *J Clin Invest* 1996;97:2130–8.
49. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352:1685–95.

50. Orr AW, Hastings NE, Blackman BR, et al. Complex regulation and function of the inflammatory smooth muscle cell phenotype in atherosclerosis. *J Vasc Res* 2010;47:168–80.
51. Doran AC, Meller N, McNamara CA. Role of smooth muscle cells in the initiation and early progression of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:812–9.
52. Jonasson L, Holm J, Skalli O, et al. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis* 1986;6:131–8.
53. Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev* 2006;86:515–81.
54. Johnson RC, Leopold JA, Loscalzo J. Vascular calcification: pathobiological mechanisms and clinical implications. *Circ Res* 2006;99:1044–59.
55. Davies MJ. Anatomic features in victims of sudden coronary death. Coronary artery pathology. *Circulation* 1992;85:I19–24.
56. Geng Y-J, Libby P. Progression of atheroma: a struggle between death and procreation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1370–80.
57. Schwartz SM, Virmani R, Rosenfeld ME. The good smooth muscle cells in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2000;2:422–9.
58. Lecerf JM, Lorgèril M. Dietary cholesterol: from physiology to cardiovascular risk. *Br J Nutr* 2011;106:6-14.
59. Quinn PJ, Chapman D. The dynamics of membrane structure. *CRC Crit Rev Biochem* 1980;8:1-117.
60. Papahadjopoulos D. Cholesterol and cell membrane function: a hypothesis concerning etiology of atherosclerosis. *J Theor Biol* 1974;43:329-37.
61. Edwards PA, Ericsson J. Signaling molecules derived from the cholesterol biosynthetic pathway: mechanisms of action and possible roles in human disease. *Curr Opin Lipidol* 1998;9:433-40.
62. Spector AA, Yorek MA. Membrane lipid composition and cellular function. *J Lipid Res* 1985;26:1015-35.
63. Hanukoglu I. Steroidogenic enzymes: structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992;43:779-804.
64. Russell DW. Cholesterol biosynthesis and metabolism. *Cardiovasc Drugs Ther* 1992;6:103-10.

65. Mancini M, Postiglione A, di Marino L. Feedback regulation of metabolism by dietary constituents: lipids. *Nutr Metab* 1977;21:13-25.
66. Brown MS, Goldstein JL. Multivalent feedback regulation of HMG CoA reductase, a control mechanism coordinating isoprenoid synthesis and cell growth. *J Lipid Res* 1980;21:505-17.
67. Thurnher M, Nussbaumer O, Gruenbacher G. Novel aspects of mevalonate pathway inhibitors as antitumor agents. *Clin Cancer Res* 2012;18:3524-31.
68. Brewer HB, Gregg RE, Hoeg JM, Fojo SS. Apolipoprotein and lipoproteins in human plasma: an overview. *Clin Chem* 1988; 34(8B): B4–B8
69. Scanu AM Landsberger FR. Lipoprotein structure. *Ann N Y Acad Sci* 1980;348:1-436.
70. Gotto AM PH, Havel RJ. Introduction to the plasma lipoproteins. *Methods Enzymol* 1986;128:3-41.
71. Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:551-61.
72. Garoufi A, Vorre S, Soldatou A et al. Plant sterols-enriched diet decreases small, dense LDL-cholesterol levels in children with hypercholesterolemia: a prospective study. *Ital J Pediatr.* 2014; 40:42
73. Bjornheden T, Babyi A, Bondjers G, Wiklund O: Accumulation of lipoprotein fractions and subfractions in the arterial wall, determined in an in vitro perfusion system. *Atherosclerosis* 1996, 123:43–56.
74. Mikhailidis DP, Elisaf M, Rizzo M, et al. "European panel on low density lipoprotein (LDL) subclasses": a statement on the pathophysiology, atherogenicity and clinical significance of LDL subclasses. *Curr Vasc Pharmacol* 2011;9:533-71.
75. Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, et al. Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart J* 2011;32:1345-61.
76. Florentin M, Liberopoulos EN, Wierzbicki AS, Mikhailidis DP. Multiple actions of high-density lipoprotein. *Curr Opin Cardiol* 2008;23:370-8.
77. Kontush A, Chapman MJ. Antiatherogenic small, dense HDL--guardian angel of the arterial wall? *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;3:144-53.

78. Link JJ, Rohatgi A, de Lemos JA. HDL cholesterol: physiology, pathophysiology, and management. *Curr Probl Cardiol* 2007;32:268-314.
79. Rye KA, Bursill CA, Lambert G, Tabet F, Barter PJ. The metabolism and anti-atherogenic properties of HDL. *J Lipid Res* 2009;50 Suppl:S195-200.
80. Kontush A, Chapman MJ. Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis. *Pharmacol Rev* 2006;58:342-74.
81. Mineo C, Deguchi H, Griffin JH, Shaul PW. Endothelial and antithrombotic actions of HDL. *Circ Res* 2006;98:1352-64.
82. Tso C, Martinic G, Fan WH, Rogers C, Rye KA, Barter PJ. High-density lipoproteins enhance progenitor-mediated endothelium repair in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1144-9.
83. Murphy AJ, Woollard KJ, Hoang A, et al. High-density lipoprotein reduces the human monocyte inflammatory response. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:2071-7.
84. Griffin JH, Kojima K, Banka CL, Curtiss LK, Fernandez JA. High-density lipoprotein enhancement of anticoagulant activities of plasma protein S and activated protein C. *J Clin Invest* 1999;103:219-27.
85. Nofer JR, Walter M, Kehrel B, et al. HDL3-mediated inhibition of thrombin-induced platelet aggregation and fibrinogen binding occurs via decreased production of phosphoinositide-derived second messengers 1,2-diacylglycerol and inositol 1,4,5-tris-phosphate. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:861-9.
86. Calkin AC, Drew BG, Ono A, et al. Reconstituted high-density lipoprotein attenuates platelet function in individuals with type 2 diabetes mellitus by promoting cholesterol efflux. *Circulation* 2009;120:2095-104.
87. Mansbach CM, 2nd, Gorelick F. Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. II. Dietary lipid absorption, complex lipid synthesis, and the intracellular packaging and secretion of chylomicrons. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007;293:G645-50.
88. Nordestgaard BG, Stender S, Kjeldsen K. Reduced atherogenesis in cholesterol-fed diabetic rabbits. Giant lipoproteins do not enter the arterial wall. *Arteriosclerosis* 1988;8:421-8.

89. Rapp JH, Lespine A, Hamilton RL, et al. Triglyceride-rich lipoproteins isolated by selected-affinity anti-apolipoprotein B immunosorption from human atherosclerotic plaque. *Arterioscler Thromb* 1994;14:1767-74.
90. Goldstein JL, Ho YK, Brown MS, Innerarity TL, Mahley RW. Cholesteryl ester accumulation in macrophages resulting from receptor-mediated uptake and degradation of hypercholesterolemic canine beta-very low density lipoproteins. *J Biol Chem* 1980;255:1839-48.
91. Pitas RE, Innerarity TL, Mahley RW. Foam cells in explants of atherosclerotic rabbit aortas have receptors for beta-very low density lipoproteins and modified low density lipoproteins. *Arteriosclerosis* 1983;3:2-12.
92. Ginsberg HN. New perspectives on atherogenesis: role of abnormal triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Circulation* 2002;106:2137-42.
93. Davies MJ. Stability and instability: two faces of coronary atherosclerosis. The Paul Dudley White Lecture 1995. *Circulation* 1996;94:2013-20.
94. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;92:657-71.
95. Sambola A, Osende J, Hathcock J, et al. Role of risk factors in the modulation of tissue factor activity and blood thrombogenicity. *Circulation* 2003;107:973-7.
96. Moyer MP, Tracy RP, Tracy PB, van't Veer C, Sparks CE, Mann KG. Plasma lipoproteins support prothrombinase and other procoagulant enzymatic complexes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:458-65.
97. Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;342:1792-801.
98. Zheng XY, Liu L. Remnant-like lipoprotein particles impair endothelial function: direct and indirect effects on nitric oxide synthase. *J Lipid Res* 2007;48:1673-80.
99. Giannattasio C, Zoppo A, Gentile G, et al. Acute effect of high-fat meal on endothelial function in moderately dyslipidemic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:406-10.
100. Alipour A, van Oostrom AJ, Izraeljan A, et al. Leukocyte activation by triglyceride-rich lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:792-7.
101. Kolovou GD, Mikhailidis DP, Kovar J, et al. Assessment and clinical relevance of non-fasting and postprandial triglycerides: an expert panel statement. *Curr Vasc Pharmacol* 2011;9:258-70.

102. Scanu AM. Lp(a) as a marker for coronary heart disease risk. *Clin Cardiol* 1991;14:I35-9.
103. Tziomalos K, Athyros VG, Wierzbicki AS, Mikhailidis DP. Lipoprotein a: where are we now? *Curr Opin Cardiol* 2009;24:351-7.
104. Genest J, Jr., Jenner JL, McNamara JR, et al. Prevalence of lipoprotein (a) [Lp(a)] excess in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1991;67:1039-145.
105. Sniderman AD, Marcovina SM. Apolipoprotein A1 and B. *Clin Lab Med* 2006;26:733-50.
106. Tregouet DA, Ricard S, Nicaud V, et al. In-depth haplotype analysis of ABCA1 gene polymorphisms in relation to plasma ApoA1 levels and myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:775-81.
107. Ohashi R, Mu H, Wang X, Yao Q, Chen C. Reverse cholesterol transport and cholesterol efflux in atherosclerosis. *QJM* 2005;98:845-56.
108. Frank PG, Marcel YL. Apolipoprotein A-I: structure-function relationships. *J Lipid Res* 2000;41:853-72.
109. Fielding CJ, Fielding PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 1995;36:211-28.
110. Pirich C, Banyai M, Efthimiou Y, Sinzinger H. Lipoproteins and prostacyclin stability. *Semin Thromb Hemost* 1993;19:138-43.
111. Ashton WD, Nanchahal K, Wood DA. Body mass index and metabolic risk factors for coronary heart disease in women. *Eur Heart J* 2001;22:46-55.
112. Kostapanos MS, Christogiannis LG, Bika E, et al. Apolipoprotein B-to-A1 ratio as a predictor of acute ischemic nonembolic stroke in elderly subjects. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2010;19:497-502.
113. PN. D. Hyperlipidaemia. Oxford: Health Press 2000.
114. Jong MC, Havekes LM. Insights into apolipoprotein C metabolism from transgenic and gene-targeted mice. *Int J Tissue React* 2000;22:59-66.
115. Lenich C, Brecher P, Makrides S, Chobanian A, Zannis VI. Apolipoprotein gene expression in the rabbit: abundance, size, and distribution of apolipoprotein mRNA species in different tissues. *J Lipid Res* 1988;29:755-64.
116. Wu AL, Windmueller HG. Relative contributions by liver and intestine to individual plasma apolipoproteins in the rat. *J Biol Chem* 1979;254:7316-22.
117. Zannis VI, Cole FS, Jackson CL, Kurnit DM, Karathanasis SK. Distribution of apolipoprotein A-I, C-II, C-III, and E mRNA in fetal human tissues. Time-

- dependent induction of apolipoprotein E mRNA by cultures of human monocyte-macrophages. *Biochemistry* 1985;24:4450-5.
118. Jong MC, Hofker MH, Havekes LM. Role of ApoCs in lipoprotein metabolism: functional differences between ApoC1, ApoC2, and ApoC3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:472-84.
 119. Baggio G, Manzato E, Gabelli C, et al. Apolipoprotein C-II deficiency syndrome. Clinical features, lipoprotein characterization, lipase activity, and correction of hypertriglyceridemia after apolipoprotein C-II administration in two affected patients. *J Clin Invest* 1986;77:520-7.
 120. Havel RJ, Fielding CJ, Olivecrona T, Shore VG, Fielding PE, Egelrud T. Cofactor activity of protein components of human very low density lipoproteins in the hydrolysis of triglycerides by lipoproteins lipase from different sources. *Biochemistry* 1973;12:1828-33.
 121. Shachter NS, Hayek T, Leff T, et al. Overexpression of apolipoprotein CII causes hypertriglyceridemia in transgenic mice. *J Clin Invest* 1994;93:1683-90.
 122. Tian L, Xu Y, Fu M, Jia L, Yang Y. Influence of apolipoproteinCII concentrations on HDL subclass distribution. *J Atheroscler Thromb* 2009;16:611-20.
 123. Stewart CR, Haw A, 3rd, Lopez R, et al. Serum amyloid P colocalizes with apolipoproteins in human atheroma: functional implications. *J Lipid Res* 2007;48:2162-71.
 124. Gerber Y, Goldbourt U, Cohen H, Harats D. Association between serum apolipoprotein C(II) concentration and coronary heart disease. *Prev Med* 2002;35:42-7.
 125. Bruns GA, Karathanasis SK, Breslow JL. Human apolipoprotein A-I-C-III gene complex is located on chromosome 11. *Arteriosclerosis* 1984;4:97-102.
 126. Chan DC, Chen MM, Ooi EM, Watts GF. An ABC of apolipoprotein C-III: a clinically useful new cardiovascular risk factor? *Int J Clin Pract* 2008;62:799-809.
 127. Jong MC, Rensen PC, Dahlmans VE, van der Boom H, van Berkel TJ, Havekes LM. Apolipoprotein C-III deficiency accelerates triglyceride hydrolysis by lipoprotein lipase in wild-type and apoE knockout mice. *J Lipid Res* 2001;42:1578-85.

128. Sacks FM, Alaupovic P, Moye LA, et al. VLDL, apolipoproteins B, CIII, and E, and risk of recurrent coronary events in the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) trial. *Circulation* 2000;102:1886-92
129. Gervaise N, Garrigue MA, Lasfargues G, Lecomte P. Triglycerides, apo C3 and Lp B:C3 and cardiovascular risk in type II diabetes. *Diabetologia* 2000;43:703-8.
130. Lee SJ, Campos H, Moye LA, Sacks FM. LDL containing apolipoprotein CIII is an independent risk factor for coronary events in diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:853-8.
131. Gerber Y, Goldbourt U, Segev S, Harats D. Indices related to apo CII and CIII serum concentrations and coronary heart disease: a case-control study. *Prev Med* 2003;37:18-22.
132. Luc G, Fievet C, Arveiler D, et al. Apolipoproteins C-III and E in apoB- and non-apoB-containing lipoproteins in two populations at contrasting risk for myocardial infarction: the ECTIM study. *Etude Cas Temoins sur 'Infarctus du Myocarde*. *J Lipid Res* 1996;37:508-17.
133. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988; 240:622-630.
134. Weisgraber KH. Apolipoprotein E: structure function relationships. *Adv Protein Chem* 1994; 45:249-302.
135. Siest G, Pillot T, Regis-Bailly A et al. Apolipoprotein E: an important gene and, protein to follow in laboratory medicine. *Clin Chem* 1995; 41:1068-1086.
136. Mahley R., Huang Y: Apolipoprotein E: from atherosclerosis to Alzheimer's disease and beyond. *Curr Opin Lipidol* 1999; 10:207-217.
137. Nimpf J., Schneider W. From cholesterol transport to signal transduction: low density lipoprotein receptor, very low density lipoprotein receptor, and apolipoprotein E receptor-2. *Biochimica et Biophysica Acta* 2000; 1529:287-298.
138. Hussain MM. A proposed model for the assembly of chylomicrons. *Atherosclerosis* 2000;148:1-15.
139. Beisiegel U. Lipoprotein metabolism. *Eur Heart J* 1998;19 Suppl A:A20-3.
140. Eckel RH. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N Engl J Med* 1989;320:1060-8.

141. Cooper AD. Hepatic clearance of plasma chylomicron remnants. *Semin Liver Dis* 1992;12:386-96.
142. Davis RA. Cell and molecular biology of the assembly and secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins by the liver. *Biochim Biophys Acta* 1999;1440:1-31.
143. Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res* 1996;37:693-707.
144. Connelly PW. The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism. *Clin Chim Acta* 1999;286:243-55.
145. Eisenberg S, Sehayek E. Remnant particles and their metabolism. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1995;9:739-53.
146. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986;232:34-47.
147. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein receptors in the liver. Control signals for plasma cholesterol traffic. *J Clin Invest* 1983;72:743-7.
148. Eisenberg S. High density lipoprotein metabolism. *J Lipid Res* 1984;25:1017-58.
149. Tall A. Plasma lipid transfer proteins. *Annu Rev Biochem* 1995;64:235-57.
150. Castelli WP, Anderson K, Wilson PW, Levy D. Lipids and risk of coronary heart disease. The Framingham Study. *Ann Epidemiol* 1992;2:23-8.
151. Sharrett AR, Ballantyne CM, Coady SA, et al. Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, lipoprotein(a), apolipoproteins A-I and B, and HDL density subfractions: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 2001;104:1108-13.
152. Conroy RM, Pyorala K, Fitzgerald AP, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J* 2003;24:987-1003.
153. Grundy SM, Cleeman JJ, Merz CN, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation* 2004;110:227-39.
154. Gould AL, Rossouw JE, Santanillo NC, Heyse JF, Furberg CD. Cholesterol reduction yields clinical benefit. A new look at old data. *Circulation* 1995;91:2274-82.

155. Chapman MJ, Assmann G, Fruchart JC, Shepherd J, Sirtori C. Raising high-density lipoprotein cholesterol with reduction of cardiovascular risk: the role of nicotinic acid --a position paper developed by the European Consensus Panel on HDL-C. *Curr Med Res Opin* 2004;20:1253-68.
156. Austin MA. Plasma triglyceride and coronary heart disease. *Arterioscler Thromb* 1991;11:2-14.
157. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk* 1996;3:213-9.
158. Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA* 2007;298:299-308.
159. Freiberg JJ, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, Nordestgaard BG. Nonfasting triglycerides and risk of ischemic stroke in the general population. *JAMA* 2008;300:2142-52.
160. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004;364:937-52.
161. Holme I, Aastveit AH, Hammar N, Jungner I, Walldius G. Relationships between lipoprotein components and risk of ischaemic and haemorrhagic stroke in the Apolipoprotein MOrtality RiSk study (AMORIS). *J Intern Med* 2009;265:275-87.
162. Jialal I. A practical approach to the laboratory diagnosis of dyslipidemia. *Am J Clin Pathol* 1996;106:128-38.
163. Apostolou F, Gazi IF, Kostoula A, et al. Persistence of an atherogenic lipid profile after treatment of acute infection with Brucella. *J Lipid Res* 2009;50:2532-9.
164. Apostolou F, Gazi IF, Lagos K, et al. Acute infection with Epstein-Barr virus is associated with atherogenic lipid changes. *Atherosclerosis* 2010;212:607-13.
165. Jialal I. Evolving lipoprotein risk factors: lipoprotein(a) and oxidized low-density lipoprotein. *Clin Chem* 1998;44:1827-32.
166. Stone NJ. Secondary causes of hyperlipidemia. *Med Clin North Am* 1994;78:117-41.

167. Schulpis K, Karikas GA. Serum cholesterol and triglyceride distribution in 7767 school-aged Greek children. *Pediatrics*. 1998 May;101(5):861-4
168. Gidding SS. New cholesterol guidelines for children? *Circulation*. 2006 Sep 5;114(10):989-91.
169. 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 Dec;128 (5):S213-56.
170. National Cholesterol Education Program (NCEP): highlights of the report of the Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents. *Pediatrics*. 1992 Mar;89(3):495-501.
171. Yeshurun D, Gotto AM Jr. Hyperlipidemia: perspectives in diagnosis and treatment. *South Med J*. 1995 Apr;88(4):379-91].
172. Jackson RL, Smith LC, Taunton OD, Gotto AM, Jr. Familial hypercholesterolemia: diagnosis, metabolic defect and management. *Life Sci* 1977;21:1395-402.
173. Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. *Am J Epidemiol* 2004;160:407-20.
174. Haase A, Goldberg AC. Identification of people with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol* 2012;23:282-9.
175. Van Aalst-Cohen ES, Jansen AC, de Jongh S, de Sauvage Nolting PR, Kastelein JJ. Clinical, diagnostic, and therapeutic aspects of familial hypercholesterolemia. *Semin Vasc Med* 2004;4:31-41.
176. Evans D, Beil FU. The E670G SNP in the PCSK9 gene is associated with polygenic hypercholesterolemia in men but not in women. *BMC Med Genet* 2006;7:66.
177. Orso E, Ahrens N, Kilalic D, Schmitz G. Familial hypercholesterolemia and lipoprotein(a) hyperlipidemia as independent and combined cardiovascular risk factors. *Atheroscler Suppl* 2009;10:74-8.
178. Aguilar Salinas CA, Zamora M, Gomez-Diaz RA, Mehta R, Gomez Perez FJ, Rull JA. Familial combined hyperlipidemia: controversial aspects of its diagnosis and pathogenesis. *Semin Vasc Med* 2004;4:203-9.

179. Gaddi A, Cicero AF, Odoo FO, Poli AA, Paoletti R. Practical guidelines for familial combined hyperlipidemia diagnosis: an up-date. *Vasc Health Risk Manag* 2007;3:877-86.
180. Gu K, Cowie CC, Harris MI. Diabetes and decline in heart disease mortality in US adults. *JAMA* 1999; 281: 1291-1297.
181. Scognamiglio R, Negut C, et al. Postprandial Myocardial Perfusion in Healthy Subjects and in Type 2 Diabetic Patients *Circulation. Diabetes* 2005;112:179-184
182. Resnick HE, Sllorr RI, Kuller L, et al. Prevalence and clinical implications of American Diabetes Association-defined diabetes and other categories of glucose dysregulation in other adults. *J Clin Epidemiol* 2001; 54: 869-876.
183. Beckman JA, Geagel MA, Libby D. Diabetes and Atherosclerosis. *JAMA* 2002; 287: 2570-2581.
184. Norhamar A, Tenerz A, Nilsson G et al. Glucose metabolism in patients with acute myocardial infarction and on previous diagnosis of diabetes mellitus: a prospective study. *Lancet* 2002;359: 2140-2144.
185. De Ferranti S, De Boer IH, Fonseca V et al. Type 1 Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease· a Scientific Statement From the American Heart Association and American Diabetes Association. *Circulation* 2014;130:1110-1130.
186. Soedamah-Muthu SS, Fuller JH, Mulnier HE, Raleigh VS, Lawrenson RA, Colhoun HM. High risk of cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes in the U.K.: a cohort study using the General Practice Research Database. *Diabetes Care*. 2006;29:798–804.
187. Janghorbani M, Hu FB, Willett WC, Li TY, Manson JE, Logroscino G, Rexrode KM. Prospective study of type 1 and type 2 diabetes and risk of stroke subtypes: the Nurses' Health Study. *Diabetes Care*. 2007;30:1730–1735.
188. Jonasson JM, Ye W, Sparen P, Apelqvist J, Nyren O, Brismar K. Risks of nontraumatic lower-extremity amputations in patients with type 1 diabetes: a population-based cohort study in Sweden. *Diabetes Care*. 2008;31:1536–1540.
189. Shankar A, Klein R, Klein BE, Moss SE. Association between glycosylated hemoglobin level and cardiovascular and all-cause mortality in type 1 diabetes. *Am J Epidemiol*. 2007;166:393–402.

190. Roy M, Rendas-Baum R, Skurnick J. Mortality in African-Americans with type 1 diabetes: the New Jersey 725. *Diabet Med.* 2006;23:698–706.
191. Secrest AM, Becker DJ, Kelsey SF, Laporte RE, Orchard TJ. Cause-specific mortality trends in a large population-based cohort with long-standing childhood-onset type 1 diabetes. *Diabetes.* 2010;59:3216–3222.
192. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ et al. On behalf of the American Heart Association Statistics Committee, Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association [published correction appears in *Circulation.* 2012;125:e1002]. *Circulation.* 2012;125:e2–e220.
193. Krolewski AS, Kosinski EJ, Warram JH, Leland OS, Busick EJ, Asmal AC, Rand LI, Christlieb AR, Bradley RF, Kahn CR. Magnitude and determinants of coronary artery disease in juvenile-onset, insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Cardiol.* 1987;59:750–755.
194. Libby P, Nathan DM, Abraham K, et al. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute-National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Working Group on Cardiovascular Complications of Type 1 Diabetes Mellitus. *Circulation.* 2005;111:3489–3493.
195. Deckert T, Poulsen JE, Larsen M. Prognosis of diabetics with diabetes onset before the age of thirty-one, I: survival, causes of death, and complications. *diabetologia.* 1978;14:363–370.
196. Singh TP, Groehn H, Kazmers A. Vascular function and carotid intimal-medial thickness in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41:661–665.
197. Järvisalo MJ, Raitakari M, Toikka JO et al. Endothelial dysfunction and increased arterial intima-media thickness in children with type 1 diabetes. *Circulation.* 2004;109:1750–1755.
198. Donaghue KC, Robinson J, McCredie R, Fung A, Silink M, Celermajor DS. Large vessel dysfunction in diabetic adolescents and its relationship to small vessel complications. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 1997;10:593–598.
199. Wiltshire EJ, Gent R, Hirte C, Pena A, Thomas DW, Couper JJ. Endothelial dysfunction relates to folate status in children and adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes.* 2002;51:2282–2286.

200. Haller MJ, Stein J, Shuster J, Theriaque D, Silverstein J, Schatz DA, Earing MG, Lerman A, Mahmud FH. Peripheral artery tonometry demonstrates altered endothelial function in children with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2007;8:193–198.
201. Urbina EM, Wadwa RP, Davis C, Snively BM, Dolan LM, Daniels SR, Hamman RF, Dabelea D. Prevalence of increased arterial stiffness in children with type 1 diabetes mellitus differs by measurement site and sex: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *J Pediatr*. 2010;156:731–737.e1.
202. Margeirsdottir HD, Stensaeth KH, Larsen JR, Brunborg C, Dahl-Jørgensen K. Early signs of atherosclerosis in diabetic children on intensive insulin treatment: a population-based study. *Diabetes Care*. 2010;33:2043–2048.
203. Järvisalo MJ, Putto-Laurila A, Jartti L, Lehtimäki T, Solakivi T, Rönkämaa T, Raitakari OT. Carotid artery intima-media thickness in children with type 1 diabetes. *Diabetes*. 2002;51:493–498.
204. Peppas-Patrikiou M, Scordili M, Antoniou A, Giannaki M, Dracopoulou M, Dacou-Voutetakis C. Carotid atherosclerosis in adolescents and young adults with IDDM: relation to urinary endothelin, albumin, free cortisol, and other factors. *Diabetes Care*. 1998;21:1004–1007.
205. Krantz JS, Mack WJ, Hodis HN, Liu CR, Liu CH, Kaufman FR. Early onset of subclinical atherosclerosis in young persons with type 1 diabetes. *J Pediatr*. 2004;145:452–457.
206. Parikh A, Sochett EB, McCrindle BW, Dipchand A, Daneman A, Daneman D. Carotid artery distensibility and cardiac function in adolescents with type 1 diabetes. *J Pediatr*. 2000;137:465–469.
207. Gunczler P, Lanes R, Lopez E, Esaa S, Villarroel O, Revel-Chion R. Cardiac mass and function, carotid artery intima-media thickness and lipoprotein(a) levels in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus of short duration. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2002;15:181–186.
208. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;329:977–986.

209. The DCCT Research Group. Lipid and lipoprotein levels in patients with IDDM diabetes control and complication: trial experience. *Diabetes Care*. 1992;15:886–894.
210. Maahs DM, Nadeau K, Snell-Bergeon JK et al. Association of insulin sensitivity to lipids across the lifespan in people with type 1 diabetes. *Diabet Med*. 2011;28:148–155.
211. Maahs DM, Hokanson JE, Wang H et al. Lipoprotein sub-fraction cholesterol distribution is proatherogenic in women with type 1 diabetes and insulin resistance. *Diabetes*. 2010;59:1771–1779.
212. Pérez A, Wägner AM, Carreras G et al. Prevalence and phenotypic distribution of dyslipidemia in type 1 diabetes mellitus: effect of glycemic control. *Arch Intern Med*. 2000;160:2756–2762.
213. Petitti DB, Imperatore G, Palla SL et al. Serum lipids and glucose control: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2007;161:159–165.
214. Valabhji J, Donovan J, McColl AJ, Schachter M, Richmond W, Elkeles RS. Rates of cholesterol esterification and esterified cholesterol net mass transfer between high-density lipoproteins and apolipoprotein B-containing lipoproteins in type 1 diabetes. *Diabet Med*. 2002;19:424–428.
215. Soedamah-Muthu SS, Chang YF, Otvos J, Evans RW, Orchard TJ. Lipoprotein subclass measurements by nuclear magnetic resonance spectroscopy improve the prediction of coronary artery disease in type 1 diabetes: a prospective report from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetologia*. 2003;46:674–682.
216. Costacou T, Evans RW, Orchard TJ. High-density lipoprotein cholesterol in diabetes: Is higher always better? *J Clin Lipidol*. 2011;5:387–394.
217. Orchard TJ, Forrest KY, Kuller LH, Becker DJ; Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. Lipid and blood pressure treatment goals for type 1 diabetes: 10-year incidence data from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetes Care*. 2001;24:1053–1059.
218. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration; Baigent C, Blackwell L, Emberson J et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010;376:1670–1681.

219. Zgibor JC, Wilson RR, Orchard TJ. Has control of hypercholesterolemia and hypertension in type 1 diabetes improved over time? *Diabetes Care*. 2005;28:521–526.
220. Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents: Summary Report. *Pediatrics* 2011;128: S213.
221. Chen LS, Srinivasan W, Bond SR, et al. Childhood cardiovascular risk factors and carotid vascular changes in adulthood: the Bogalusa Heart Study. *JAMA* 2003; 290: 2271-2276.
222. Hansson GK, Libby P, Schönbeck U. et al. Innate and Adaptive Immunity in the Patho-genesis of Atherosclerosis. *Circulation research* 2002; 91: 281-291.
223. Szuba A, Podgórski M. Asymetric dimethylarginine (ADMA) a novel cardiovascular risk factor: evidence from epidemiological and prospective clinical trials. *Pharmacological reports* 2006; 58: 16-20.
224. Agewall S: Is impaired flow-mediated dilatation of the brachial artery a cardiovascular risk factor? *Curr Vasc Pharmacol* 2003; 1: 107–109.
225. Brevetti G, Silvestro A, Schiano V, et al. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk prediction in peripheral arterial disease: additive value of flow-mediated dilation to ankle-brachial pressure index. *Circulation* 2003; 108: 2093–2098.
226. 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: 1111–1115.
227. Chan SY, Mancini GB, Kuramoto L, et al. The prognostic importance of endothelial dysfunction and carotid atheroma burden in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 1037–1043.
228. Frick M, Suessenbacher A, Alber HF, et al. Prognostic value of brachial artery endothelial function and wall thickness. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 1006–1010.
229. Meyer B, Mortl D, Strecker K, et al. Flow-mediated vasodilation predicts outcome in patients with chronic heart failure: comparison with B-type natriuretic peptide. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 1011–1018.
230. Moens AL, Goovaerts I, Claeys MJ, et al. Flowmediated vasodilation: a diagnostic instrument, or an experimental tool? *Chest* 2005; 127: 2254–2263.

231. Patti G, Pasceri V, Melfi R, et al. Impaired flow-mediated dilation and risk of restenosis in patients undergoing coronary stent implantation. *Circulation* 2005; 111: 70–75.
232. Yoshida T, Kawano H, Miyamoto S, Motoyama T, Fukushima H, Hirai N, Ogawa H. Prognostic value of flow-mediated dilation of the brachial artery in patients with cardiovascular disease. *Intern Med* 2006; 45: 575–579.
233. Anthony S, Leiper J, Vallance P. Endogenous production of nitric oxide synthase inhibitors. *Vasc Med* 2005; 10: Suppl 1, S3–S9.
234. Cooke JP. Asymmetrical dimethylarginine: the Uber marker? *Circulation* 2004; 109: 1813–1818.
235. Gary JD, Clarke S. RNA and protein interactions modulated by protein arginine methylation. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1998; 61: 65–131.
236. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572–575.
237. Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2032–7.
238. Vallance P, Leiper J. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1023–30.
239. Baylis C. Arginine, arginine analogs and nitric oxide production in chronic kidney disease. *Nat Clin Pract Nephrol* 2006; 2: 209–20.
240. Cardounel AJ, Cui H, Samouilov A, et al. Evidence for the pathophysiological role of endogenous methylarginines in regulation of endothelial NO production and vascular function. *J Biol Chem* 2007; 282: 879–87.
241. Böger RH. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk marker in cardiovascular medicine and beyond. *Ann Med* 2006; 38: 126–36.
242. Böger RH, Maas R, Schulze F, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a prospective marker of cardiovascular disease and mortality – an update on patient populations with a wide range of cardiovascular risk. *Pharmacol Res* 2009; 60: 481–7.
243. Jacobi J, Tsao PS. Asymmetrical dimethylarginine in renal disease: limits of variation or variation limits? A systematic review. *Am J Nephrol* 2008; 28: 224–37.

244. Cooke JP. ADMA: its role in vascular disease. *Vasc Med* 2005; 10(Suppl 1): S11–7.
245. Nijveldt RJ, Siroen MP, Teerlink T, et al. Elimination of asymmetric dimethylarginine by the kidney and the liver: a link to the development of multiple organ failure? *J Nutr* 2004; 134(Suppl 10): S2848–52.
246. Boger RH, Lentz SR, Bode-Boger SM, Knapp HR, Haynes WG. Elevation of asymmetrical dimethylarginine may mediate endothelial dysfunction during experimental hyperhomocyst(e)inaemia in humans. *Clinical Science* 2001; 100: 161–167.
247. Wanby P, Teerlink T, Brudin L, Brattstrom L, Nilsson I, Palmqvist P, Carlsson M. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a risk marker for stroke and TIA in a Swedish population. *Atherosclerosis* 2006; 185: 271–277.
248. Tain YL, Huang LT. Asymmetric Dimethylarginine: Clinical Applications in Pediatric Medicine: Review Article. *Journal of the Formosan Medical Association* 2011; 110(2): 70-77.
249. Achan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, MacAllister R, Vallance P. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1455–1459.
250. Calver A, Collier J, Leone A, Moncada S, Vallance P. Effect of local intra-arterial asymmetric dimethylarginine (ADMA) on the forearm arteriolar bed of healthy volunteers. *J Hum Hypertens* 1993; 7: 193–194.
251. Kielstein JT, Bode-Boger SM, Klein G, Graf S, Haller H, Fliser D. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors and renal perfusion in patients with heart failure. *Eur J Clin Invest* 2003; 33: 370–375.
252. Kielstein JT, Impraim B, Simmel S, Bode-Boger SM, Tsikas D, Frolich JC, Hoepfer MM et al. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation* 2004; 109: 172–177.
253. Hasanoğlu A, Okur İ, Ören AC, Biberoğlu G, Oktar S, Eminoğlu FT, Tümer L. The levels of asymmetric dimethylarginine, homocysteine and carotid intima-media thickness in hypercholesterolemic children. *The Turkish Journal of Pediatrics* 2011; 53: 522-527.

254. Jehlicka P, Stozický F, Mayer OJ, Varvarovská J, Racek J, Trefil L, Siala K. Asymmetric dimethylarginine and the effect of folate substitution in children with familial hypercholesterolemia and diabetes mellitus type 1. *Physiological Research* 2009; 58: 179-184.
255. Vladimirova-Kitova L, Deneva T, Angelova E et al. Relationship of asymmetric dimethylarginine with flow-mediated dilatation in subjects with newly detected severe hypercholesterolemia. *Clin Phys Functional Imaging* 2008; 28(6):417-425.
256. Boger RH, Bode-Boger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, Blaschke TF et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98: 1842–1847.
257. Boger RH, Lentz SR, Bode-Boger SM, Knapp HR, Haynes WG. Elevation of asymmetrical dimethylarginine may mediate endothelial dysfunction during experimental hyperhomocyst(e)inaemia in humans. *Clin Sci (Lond)* 2001; 100: 161–167.
258. Landim MBP, Casella Filho A, Chagas ACP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and endothelial dysfunction: implications for atherogenesis. *Clinics* 2009; 64(5): 471-8.
259. Dayal S, Lentz SR. ADMA and hyperhomocysteinemia. *Vasc Med* 2005; 10 (Suppl 1): S27–S33.
260. Stuhlinger MC, Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin TL, Cooke JP, Reaven GM et al. Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA* 2002; 287: 1420–1426.
261. Sydow K, Mondon CE, Cooke JP: Insulin resistance: potential role of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor ADMA. *Vasc Med* 2005; 10 (Suppl 1): S35–S43.
262. Lenzen H, Tsikas D, Boger RH. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and the risk for coronary heart disease: the multicenter CARDIAC study. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62 (Suppl 13): S45–S49.
263. Schnabel R, Blankenberg S, Lubos E, Lackner KJ, Rupprecht HJ, Espinola-Klein C, Jachmann N et al. Asymmetric dimethylarginine and the risk of cardiovascular events and death in patients with coronary artery disease: results from the AtheroGene Study. *Circ Res* 2005; 97: e53–e59.

264. Kielstein JT, Bode-Boger SM, Hesse G, Martens-Lobenhoffer J, Takacs A, Fliser D, Hoepfer MM. Asymmetrical dimethylarginine in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Arterioscler ThrombVasc Biol* 2005; 25: 1414–1418.
265. Wanby P, Teerlink T, Brudin L, Brattstrom L, Nilsson I, Palmqvist P, Carlsson M. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a risk marker for stroke and TIA in a Swedish population. *Atherosclerosis* 2006; 185: 271–277.
266. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 1999; 99: 1141–1146.
267. Stuhlinger MC, Stanger O. Asymmetric dimethyl-L-arginine (ADMA): a possible link between homocyst(e)ine and endothelial dysfunction. *Curr Drug Metab* 2005; 6: 3–14.
268. Krzyzanowska K, Mittermayer F, Krugluger W et al. Asymmetric dimethylarginine is associated with macrovascular disease and total homocysteine in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2006; 189(1): 236-40.
269. Eid HM, Arnesen H, Hjerkin EM, Lyberg T, Seljeflot I. Relationship between obesity, smoking, and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine. *Metabolism* 2004; 53: 1574–1579.
270. Sydow K, Hornig B, Arakawa N, Bode-Boger SM, Tsikas D, Munzel T, Boger RH. Endothelial dysfunction in patients with peripheral arterial disease and chronic hyperhomocysteinemia: potential role of ADMA. *Vasc Med* 2004; 9: 93–101.
271. Nakhjavani M, Karimi JH, Esteghamati A et al. ADMA is a correlate of insulin resistance in early-stage diabetes independent of hs-CRP and body adiposity. *Ann Endocrinol* 2010; 71(4): 303-8.
272. Hanai K, Babazono T, Nyumura I et al. Asymmetric dimethylarginine is closely associated with the development and progression of nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24(6): 1884-8.
273. Paiva H, Lehtimaki T, Laakso J et al. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in type 2 diabetes associate with glucemic control and glomerular filtration rate but not with risk factors of vasculopathy. *Metab Clin Experimental* 2003; 52(3): 303-7.

274. Altinova AE, Arslan M, Sepici-Dincel A et al. Uncomplicated type 1 diabetes is associated with increased asymmetric dimethylarginine concentrations. *J Clin Endocr Metab* 2007; 92(5): 1881-5.
275. Sibal L, Agarwal SC, Schwedhelm E et al. A study of endothelial function and circulating asymmetric dimethylarginine levels in people with type 1 diabetes without macrovascular disease or microalbuminuria. *Cardiovasc Diabetol* 2009; 8: 27.
276. Heilman K, Zilmer M, Zilmer K et al. Elevated plasma adiponectin and decreased plasma homocysteine and asymmetric dimethylarginine in children with type 1 diabetes. *Scand J Clin Lab Invest* 2009; 69(1): 85-91.
277. Zoccali C, Bode-Boger S, Mallamaci F, Benedetto F, Tripepi G, Malatino L, Cataliotti A et al. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001; 358: 2113–2117.
278. Pettersson A, Hedner T, Milsom I. Increased circulating concentrations of asymmetric dimethyl arginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis, in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998; 77: 808–813.
279. Savvidou MD, Hingorani AD, Tsikas D, Frolich JC, Vallance P, Nicolaides KH. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Lancet* 2003; 361: 1511–1517.
280. Goonasekera CD, Rees DD, Woolard P, et al. Nitric oxide synthase inhibitors and hypertension in children and adolescents. *J Hypertens* 1997; 15: 901–9.
281. Jehlicka P, Stozický F, Mayer O Jr, et al. Asymmetric dimethylarginine and the effect of folate substitution in children with familial hypercholesterolemia and diabetes mellitus type 1. *Physiol Res* 2009; 58: 179–84.
282. Brooks ER, Langman CB, Wang S, et al. Methylated arginine derivatives in children and adolescents with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2009; 24: 129–34.
283. Altinova AE, Arslan M, Sepici-Dincel A, et al. Uncomplicated type 1 diabetes is associated with increased asymmetric dimethylarginine concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1881–5.

284. Gorenflo M, Zheng C, Werle E, et al. Plasma levels of asymmetrical dimethyl-L-arginine in patients with congenital heart disease and pulmonary hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001; 37: 489–92.
285. Mittermayer F, Prusa AR, Pollak A, et al. Umbilical vein plasma concentrations of asymmetrical dimethylarginine are increased in male but not female neonates delivered preterm: a pilot study. *Early Hum Dev* 2006; 82: 421–4.
286. Richir MC, van Leeuwen PA, van den Berg A, et al. Plasma ADMA concentrations at birth and mechanical ventilation in preterm infants: a prospective pilot study. *Pediatr Pulmonol* 2008; 43: 1161–6.
287. Lücke T, Kanzelmeyer N, Chobanyan K, et al. Elevated asymmetric dimethylarginine (ADMA) and inverse correlation between circulating ADMA and glomerular filtration rate in children with sporadic focal segmental glomerulosclerosis (FSGS). *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 734–40.
288. Ayer JG, Harmer JA, Nakhla S, et al. HDL-cholesterol, blood pressure, and asymmetric dimethylarginine are significantly associated with arterial wall thickness in children. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 943–9.
289. Nagasaka H, Tsukahara H, Yorifuji T, et al. Evaluation of endogenous nitric oxide synthesis in congenital urea cycle enzyme defects. *Metabolism* 2009; 58: 278–82.
290. Nagasaka H, Okano Y, Aizawa M, et al. Altered metabolisms of mediators controlling vascular function and enhanced oxidative stress in asymptomatic children with congenital portosystemic venous shunt. *Metabolism* 2010; 59: 107–13.
291. Ayer JG, Harmer JA, Nakhla S et al. HDL-Cholesterol, blood pressure and asymmetric dimethylarginine are significantly associated with arterial wall thickness in children. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 943-9.
292. Benveniste J. Release of platelet-activating factor by peritoneal and alveolar macrophages. *Monogr Allergy* 1979; 14: 138-41.
293. Tjoelker LW, Wilder C, Eberhardt C, Stafforini DM, et al. Anti-inflammatory properties of a platelet-activating factor acetylhydrolase. *Nature* 1995; 374: 549-53.
294. Noto H, Hara M, Karasawa K, Iso-O N, Satoh H, Togo M, Hashimoto Y, Yamada Y, Kosaka T, Kawamura M, Kimura S, Tsukamoto K. Human Plasma

- Platelet-Activating Factor Acetylhydrolase Binds to All the Murine Lipoproteins, Conferring Protection Against Oxidative Stress. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 2003; 23: 829-835.
295. Farr RS, Cox CP, Wardlow ML, et al. Preliminary studies of an acid-labile factor (ALF) in human sera that inactivates platelet-activating factor (PAF). *Clin Immunol Immunopathol* 1980; 15: 318-30.
 296. Stafforini DM, Elstad MR, McIntyre TM, et al. Human macrophages secrete platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Biol Chem* 1990;265:9682-7.
 297. Suzuki Y, Miwa M, Harada M, et al. Release of acetylhydrolase from platelets on aggregation with platelet-activating factor. *Eur J Biochem* 1988;172:117-20.
 298. Korth R, Bidault J, Palmantier R, et al. Human platelets release a paf-acether: acetylhydrolase similar to that in plasma. *Lipids* 1993;28(3):193-9.
 299. Nakajima K, Murakami M, Yanoshita R, et al. Activated mast cells release extracellular type platelet-activating factor acetylhydrolase that contributes to autocrine inactivation of platelet-activating factor. *J Biol Chem* 1997;272:19708-13.
 300. Tarbet EB, Stafforini DM, Elstad MR, et al. Liver cells secrete the plasma form of platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Biol Chem* 1991;266:16667-73.
 301. Tsoukatos DC, Brocheriou I, Moussis V, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase and transacetylase activities in human aorta and mammary artery. *J Lipid Res* 2008;49:2240-9.
 302. Guerra R, Zhao B, Mooser V, et al. Determinants of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase: heritability and relationship to plasma lipoproteins. *J Lipid Res* 1997;38:2281-88.
 303. Tsimihodimos V, Karabina SA, Tambaki AP, et al. Altered distribution of platelet-activating factor- acetylhydrolase activity between LDL and HDL as a function of the severity of hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 2002;43:256-63.
 304. Caslake M, Packard C, Suckling K, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2000;150:413-9.

305. Wu X, McIntyre T, Zimmerman G, et al. Molecular characterization of the constitutive expression of the plasma PAF-acetylhydrolase gene in macrophages. *Biochem J* 2003; 375:351-63.
306. Miyaura S, Maki N, Byrd W, et al. The hormonal regulation of platelet-activating factor acetylhydrolase activity in plasma. *Lipids* 1991;26:1015-20.
307. Yasuda K, Johnston J. The hormonal regulation of platelet-activating factor-acetylhydrolase in the rat. *Endocrinology* 1992;130:708-16.
308. Maki N, Hoffman D, Johnston J. Platelet-activating factor acetylhydrolase activity in maternal, fetal, and newborn rabbit plasma during pregnancy and lactation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85:728-32.
309. Howard KM, Miller JE, Miwa M, et al. Cell-specific regulation of expression of plasma-type platelet-activating factor acetylhydrolase in the liver. *J Biol Chem* 1997;272:27543-48.
310. Cao Y, Stafforini DM, Zimmerman GA, McIntyre, et al. Expression of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is transcriptionally regulated by mediators of inflammation. *J Biol Chem* 1998;273:4012-20.
311. Narahara H, Nishioka Y, Johnston JM, et al. Secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase by human decidual macrophages. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1258-62.
312. Kawano Y, Narabara H, Johnston JM. Inhibitory effect of interleukin-8 on the secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase by human decidual macrophages. *J Soc Gynecol Invest* 1999; 6:328-32.
313. Kosaka T, Yamaguchi M, Miyanaga K, et al. Serum platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) activity in more than 3000 healthy Japanese. *Clin Chim Acta* 2001;312:179-83.
314. Stafforini DM. Biology of platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH, lipoprotein associated phospholipase A2). *Cardiovasc Drugs Ther* 2009;23:73-83.
315. Ambrosio G, Oriente A, Napoli C, et al. Oxygen radicals inhibit human plasma acetylhydrolase, the enzyme that catabolizes platelet-activating factor. *J Clin Invest* 1994;93:2408-16.

316. Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM. Platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma. *Methods Enzymol* 1990;187:344-57.
317. Bielicki JK, Knoff LJ, Tribble DL, et al. Relative sensitivities of plasma lecithin:cholesterol acyltransferase, platelet-activating factor acetylhydrolase, and paraoxonase to in vitro gas-phase cigarette smoke exposure. *Atherosclerosis* 2001;155:71-8.
318. Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM. Human platelet-activating factor acetylhydrolase: purification and properties. *J Biol Chem* 1987;262:4223-30.
319. Lee C, Sigari F, Segrado T, et al. All ApoB-containing lipoproteins induce monocyte chemotaxis and adhesion when minimally modified. Modulation of lipoprotein bioactivity by platelet-activating factor acetylhydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1437-46.
320. Tjoelker LW, Stafforini, DM. Platelet-activating factor acetylhydrolase in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2000;1488:102-23.
321. Tselepis AD, Dentan C, Karabina SA, et al. PAF-degrading acetylhydrolase is preferentially associated with dense LDL and VHDL-1 in human plasma. Catalytic characteristics and relation to the monocyte-derived enzyme. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1764-73.
322. Gaubatz JW, Gillard BK, et al. Dynamics of dense electronegative low density lipoproteins and their preferential association with lipoprotein phospholipase A(2). *J Lipid Res* 2007;48:348-57.
323. Blencowe C, Hermetter A, Kostner G, et al. Enhanced association of platelet-activating factor acetylhydrolase with lipoprotein (a) in comparison with low density lipoprotein. *J Biol Chem* 1995;270:31151-7.
324. Karabina S, Elisaf M, Goudevenos J, et al. PAF-acetylhydrolase activity of Lp(a) before and during Cu(2+)-induced oxidative modification in vitro. *Atherosclerosis* 1996;125:121-34.
325. Tew DG, Southan C, Rice SQ, et al. Purification, properties, sequencing, and cloning of a lipoprotein-associated, serine-dependent phospholipase involved in the oxidative modification of low-density lipoprotein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:591-9.

326. Zalewski A, Macphee C. Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis: biology, epidemiology, and possible therapeutic target. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:923-31.
327. Steinbrecher UP, Prichard PH. Hydrolysis of phosphatidylcholine during LDL oxidation is mediated by platelet-activating acetylhydrolase. *J Lipid Res* 1989;30:305-15.
328. MacPhee CH, Moores KE, Boyd HF, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase, generates two bioactive products during the oxidation of low-density lipoprotein: use of a novel inhibitor. *Biochem J* 1999;338:479-87.
329. Caia, A., Zheng, D., Qiu, R., Mai, W. and Zhou, Y. Lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2): A novel and promising biomarker for cardiovascular risks assessment. *Disease Markers* 2013; 34: 323-331.
330. Karabina SA, Elisaf M, Bairaktari E, et al. Increased activity of platelet-activating factor acetylhydrolase in low-density lipoprotein subfractions induces enhanced lysophosphatidylcholine production during oxidation in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest* 1997;27:595-602.
331. Karabina SA, Liapikos TA, Grekas G, et al. Distribution of PAF-acetylhydrolase activity in human plasma low-density lipoprotein subfractions. *Biochim Biophys Acta* 1994;1213:34-8.
332. Zalewski A, Nelson JJ, Hegg L, et al. Lp-PLA2: a new kid on the block. *Clin Chem* 2006;52:1645-50.
333. Imaizumi T, Stafforini DM, Yamada Y, et al. Platelet-activating factor: a mediator for clinicians. *J Intern Med* 1995;238:5-20.
334. Zimmerman GA, Prescott SM, McIntyre TM, et al. Platelet-activating factor and cell-associated mediator of inflammation. In *Inflammation: basic principles and clinical correlates*, (Gallin, J. I., Goldstein, I. M. and Snyderman, R., eds.) 1992; pp. 149-176, Raven Press, New York.
335. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991;88:1785-92.

336. Stafforini DM, Zimmerman GA, McIntyre TM, et al. The platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma prevents oxidative modification of low-density lipoprotein. *Trans Assoc Am Physicians* 1992;105:44-63.
337. Parthasarathy S, Barnett J, Fong LG. High density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1990;1044:275-83.
338. Sakai M, Miyazaki A, Hakamata H, et al. Lysophosphatidylcholine plays an essential role in the mitogenic effect of oxidized low density lipoprotein on murine macrophages. *J Biol Chem* 1994;269:31430-5.
339. Krishnankutty Sudhir. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), vascular inflammation and cardiovascular risk prediction (review). *Vascular Health and risk management* 2006;2(2):153-6.
340. Garza CA, Montori VM, McConnell JP et al. Association between lipoprotein-associated phospholipase A2 and cardiovascular disease: a systematic review. *Mayo Clin Proc* 2007;82(2):159-65.
341. Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. *West of Scotland Coronary Prevention Study Group. N Engl J Med* 2000;343:1148-55.
342. Koenig W, Khuseyinova N, Lowel H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 adds to risk prediction of incident coronary events by C-reactive protein in apparently healthy middle-aged men from the general population: results from the 14-year follow-up of a large cohort from southern Germany. *Circulation* 2004;110:1903-8.
343. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation* 2004;109:837-42.
344. Oei HH, van der Meer IM, Hofman A, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study. *Circulation* 2005;111:570-5.

345. Kiechl S, Willeit J, Mayr M, et al. Oxidized phospholipids, lipoprotein(a), lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, and 10-year cardiovascular outcomes: prospective results from the Bruneck study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:1788-95.
346. Blake GJ, Dada N, Fox JC, et al. A prospective evaluation of lipoprotein-associated phospholipase A(2) levels and the risk of future cardiovascular events in women. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1302-6.
347. O'Donoghue M, Morrow DA, Sabatine MS, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and its association with cardiovascular outcomes in patients with acute coronary syndromes in the PROVE IT-TIMI 22 (PRavastatin Or atorVastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis In Myocardial Infarction) trial. *Circulation* 2006;113:1745-52.
348. Oldgren J, James SK, Siegbahn A, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 does not predict mortality or new ischaemic events in acute coronary syndrome patients. *Eur Heart J* 2007;28:699-704.
349. Gerber Y, McConnell JP, Jaffe AS, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and prognosis after myocardial infarction in the community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:2517-22.
350. Mockel M, Muller R, Vollert JO, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 for early risk stratification in patients with suspected acute coronary syndrome: a multi-marker approach: the North Wuerttemberg and Berlin Infarction Study-II (NOBIS-II). *Clin Res Cardiol* 2007;96:604-12.
351. Brilakis ES, McConnell JP, Lennon RJ, et al. Association of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels with coronary artery disease risk factors, angiographic coronary artery disease, and major adverse events at follow-up. *Eur Heart J* 2005;26:137-44.
352. Koenig W, Twardella D, Brenner H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts future cardiovascular events in patients with coronary heart disease independently of traditional risk factors, markers of inflammation, renal function, and hemodynamic stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1586-93.

353. Corsetti JP, Rainwater DL, Moss AJ, et al. High lipoprotein-associated phospholipase A2 is a risk factor for recurrent coronary events in postinfarction patients. *Clin Chem* 2006;52:1331-8.
354. Sabatine MS, Morrow DA, O'Donoghue M, et al. Prognostic utility of lipoprotein-associated phospholipase A2 for cardiovascular outcomes in patients with stable coronary artery disease *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:2463-9.
355. Winkler K, Hoffmann MM, Winkelmann BR, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts 5-year cardiac mortality independently of established risk factors and adds prognostic information in patients with low and medium high-sensitivity C-reactive protein (the Ludwigshafen risk and cardiovascular health study). *Clin Chem* 2007;53:1440-7.
356. Robins SJ, Collins D, Nelson JJ, et al. Cardiovascular events with increased lipoprotein-associated phospholipase A(2) and low high-density lipoprotein-cholesterol: the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:1172-8.
357. Elkind MS, Tai W, Coates K, et al. High-sensitivity C-reactive protein, lipoprotein-associated phospholipase A2, and outcome after ischemic stroke. *Arch Intern Med* 2006;166:2073-80.
358. Elkind MS, Tai W, Coates K, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and risk of recurrent. *Stroke* 2009;27:42-50.
359. Allison MA, Denenberg JO, Nelson JJ, et al. The association between lipoprotein-associated phospholipase A2 and cardiovascular disease and total mortality in vascular medicine patients. *J Vasc Surg* 2007;46:500-6.
360. Hatoum IJ, Hu FB, Nelson JJ et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and incident coronary heart disease among men and women with type 2 diabetes. *Diabetes* 2010;59(5):1239-43
361. Gomes MB, Cobas RA, Nunes E et al. Plasma PAF-acetylhydrolase activity, inflammatory markers and susceptibility of LDL to in vitro oxidation in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2009;85(1)61-8

362. Gomes MB, Cobas RA, Nunes E et al. Serum platelet-activating factor acetylhydrolase activity: a novel potential inflammatory marker in type 1 diabetes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2008;87(1-4):42-6
363. Miller RG, Costacou T, Orchard TJ et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, C-reactive protein and coronary artery disease in individuals with type 1 diabetes and macroalbuminuria. *Diab Vasc Dis Res* 2010;7(1):47-55
364. Ryu SK, Hutten BA, Vissers MN, Wiegman A, Kastelein JJ, Tsimikas S. Lipoprotein-associated phospholipase A2 mass and activity in children with heterozygous familial hypercholesterolemia and unaffected siblings: Effect of pravastatin. *Journal of Clinical Lipidology* 2011; 5: 50–56.
365. Nagel G, Rapp K, Wabitsch M et al. Prevalence and cluster of cardiometabolic biomarkers in overweight and obese schoolchildren: results from a large survey in southwest Germany. *Clinical Chemistry* 2008;54(2):317-325
366. Nagel G, Arnold FJ, Wilhelm M et al. Environmental tobacco smoke and cardiometabolic risk in young children: results from a survey in southwest Germany. *European Heart Journal* 2009;30:1885-93
367. Davidson MH, Corson MA, Alberts MJ, et al. Consensus panel recommendation for incorporating lipoprotein-associated phospholipase A2 testing into cardiovascular disease risk assessment guidelines. *Am J Cardiol* 2008;101:51F-57F.
368. Maas R., Xanthakis V., Polak J.F., Schwedhelm E., Sullivan L.M. et al. Association of the Endogenous Nitric Oxide Synthase Inhibitor ADMA with Carotid Artery Intimal Media Thickness in the Framingham Heart Study Offspring Cohort. *Stroke* 2009; 40: 2715-2719.
369. Leiper, J., Nandi, M., Torondel, B., Murray-Rust, J., Malaki, M., O'Hara, B., Rossiter, S., Anthony, S., Madhani, M., Selwood, D., Smith, C., Wojciak-Stothard, B., Rudiger, A., Stidwill, R., McDonald, N.Q. and Vallance, P. Disruption of Methylarginine Metabolism Impairs Vascular Homeostasis. *Nature Medicine* 2007; 13: 198-203.
370. Konishi, H., Sydow, K. and Cooke, J.P. Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase Promotes Endothelial Repair after Vascular Injury. *Journal of the American College of Cardiology* 2007; 49: 1099-1105.

371. Hasegawa, K., Wakino, S., Tatematsu, S., Yoshioka, K., Homma, K., Sugano, N., Kimoto, M., Hayashi, K. and Itoh, H. Role of Asymmetric Dimethylarginine in Vascular Injury in Transgenic Mice Overexpressing Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase 2. *Circulation Research* 2007; 101: e2-e10.
372. Nakata, S., Tsutsui, M., Shimokawa, H., Suda, O., Morishita, T., Shibata, K., Yatera, Y., Sabanai, K., Tanimoto, A., Nagasaki, M., Tasaki, H., Sasaguri, Y., Nakashima, Y., Otsuji, Y. and Yanagihara, N. Spontaneous Myocardial Infarction in Mice Lacking All Nitric Oxide Synthase Isoforms. *Circulation* 2008; 117: 2211-2223.
373. Schulze, F., Lenzen, H., Hanefeld, C., Bartling, A., Osterziel, K.J., Goudeva, L., Schmidt-Lucke, C., Kusus, M., Maas, R., Schwedhelm, E., Strodter, D., Simon, B.C., Mugge, A., Daniel, W.G., Tillmanns, H., Maisch, B., Streichert, T. and Boger, R.H. (2006) Asymmetric Dimethylarginine Is an Independent Risk Factor for Coronary Heart Disease: Results from the Multicenter Coronary Artery Risk Determination Investigating the Influence of ADMA Concentration (CARDIAC) Study. *American Heart Journal* 2006; 152: 493(e1-8).
374. Meinitzer, A., Seelhorst, U., Wellnitz, B., Halwachs-Baumann, G., Boehm, B.O., Winkelmann, B.R. and Marz, W. Asymmetrical Dimethylarginine Independently Predicts Total and Cardiovascular Mortality in Individuals with Angiographic Coronary Artery Disease (The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study). *Clinical Chemistry* 2007; 53: 273-283.
375. Leong, T., Zylberstein, D., Graham, I., Lissner, L., Ward, D., Fogarty, J., Bengtsson, C., Björkelund, C. and Thelle, D. Asymmetric Dimethylarginine Independently Predicts Fatal and Nonfatal Myocardial Infarction and Stroke in Women: 24-Year Follow-Up of the Population Study of Women in Gothenburg. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 2008; 28: 961-967.
376. Corson, M.A., Jones, P.H. and Davidson, M.H. Review of the Evidence for the Clinical Utility of Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 as a Cardiovascular Risk Marker. *American Journal of Cardiology* 2008; 101: 41F-50F.
377. Persson, M., Hedblad, B., Nelson, J.J. and Berglund, G. Elevated Lp-PLA2 Levels Add Prognostic Information to the Metabolic Syndrome on Incidence of Cardiovascular Events among Middle-Aged Nondiabetic Subjects. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 2007; 27: 1411-1416.

378. Herrmann, J., Mannheim, D., Wohler, C., Versari, D., Meyer, F.B., McConnell, J.P., Gössl, M., Lerman, L.O. and Lerman, A. () Expression of Lipoprotein-Associated Phospholipase A(2) in Carotid Artery Plaques Predicts Long-Term Cardiac Outcome. *European Heart Journal* 2009; 30: 2930-2938.
379. Öngen B, Kalkan Uçar S, Levent E, Azarsız E, Koloğlu T, Çoker M, Sözmen E, Sağın FG. Lipoprotein-associated phospholipase A(2): a new marker to determine cardiovascular risk in hypercholesterolemic dyslipidaemic children. *Ann Clin Biochem.* 2017;54(5):539-547
380. Sakka S, Siahaniidou T, Voyatzis C, Pervanidou P, Kaminioti C, Lazopoulou N, Kanaka-Gantenbein C, Chrousos GP, Papassotiriou I. Elevated circulating levels of lipoprotein-associated phospholipase A2 in obese children. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53(7):1119-25.
381. Stühlinger MC1, Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin TL, Cooke JP, Reaven GM, Tsao PS. Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA.* 2002;287(11):1420-6.
382. Abbasi F, Asagmi T, Cooke JP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM, Stuehlinger M, Tsao PS. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *AmJCardiol.* 2001;88(10):1201-3.
383. Marcovecchio ML, Widmer B, Turner C, Dunger DB, Dalton RN. Asymmetric dimethylarginine in young people with Type 1 diabetes: a paradoxical association with HbA(1c). *Diabet Med.* 2011; 28(6):685-91.
384. Takaya J, Tanabe Y, Kuroyanagi Y, Kaneko K. Asymmetric dimethylarginine is negatively correlated with hyperglycemia in children. *Endocrine Journal* 2015; 62 (6): 551-556
385. Chrysis D, Efthymiadou A, Mermigka A, Kritikou D, Spiliotis BE. Osteoprotegerin, RANKL, ADMA, and Fetuin-A serum levels in children with type I diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2017;18(4):277-282.
386. Seyfarth J, Reinehr T, Hoyer A, Reinauer C, Bächle C, Karges B, Mayatepek E, Roden M, Hofer SE, Wiegand S, Woelfle J, Kiess W, Rosenbauer J, Holl RW, Meissner T. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity in obese adolescents with and without type 2 diabetes. *J Inherit Metab Dis.* 2018;41(1):73-79.

387. Kabaroğlu C, Ersoy B, Onur E, Özhan B, Erdin S, Var A, Bayındır O, Dinç G. Elevated glucose level at 30 minutes during an oral glucose tolerance test in obese adolescents: a new disorder of glucose tolerance. *Endocr J*. 2013;60(2):197-205.
388. Nambi V., Hoogeveen R.C., Chambless L., Hu Y., Bang H., Coresh J., Ni H., Boerwinkle E., Mosley T., Sharrett R., Folsom A.R., Ballantyne C.M.. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 and High-Sensitivity C-Reactive Protein Improve the Stratification of Ischemic Stroke Risk In the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Stroke*. 2009; 40: 376-381.
389. Labresh K.A., Lazorick S., Ariza A.J., Furberg R.D., Whetstone L., Hobbs C., de Jesus J., Bender R.H., Salinas I.G. and Binns H.J.. Implementation of the NHLBI Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents: Rationale and Study Design for Young Hearts, Strong Starts, a Cluster-Randomized Trial Targeting Body Mass Index, Blood Pressure, and Tobacco. *Contemporary Clinical Trials*. 2014; 37: 98-105.