



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

——— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 ———

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

Α΄ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Διευθυντής: Καθηγητής Σ. Ζακυνθινός

ΟΞΕΙΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΑΘΗΤΙΚΟΥ

ΚΑΠΝΙΣΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ

ΜΙΚΡΟΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ ΤΩΝ ΣΚΕΛΕΤΙΚΩΝ

ΜΥΩΝ

Βασιλική Σ. Αιναρδάτου

Νοσηλεύτρια, MSc

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ, 2020

«Στους γονείς οφείλομεν το ζην,
στους δε διδασκάλους το ευ ζην»

Μέγας Αλέξανδρος, 356-323 π.Χ.



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΕΝΤΑΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Διευθυντής: Καθηγητής Σ. Ζακυνθινός

ΟΞΕΙΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΑΘΗΤΙΚΟΥ

ΚΑΠΝΙΣΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ

ΜΙΚΡΟΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ ΤΩΝ ΣΚΕΛΕΤΙΚΩΝ

ΜΥΩΝ

Βασιλική Σ. Αιναρδάτου

Νοσηλεύτρια, MSc

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ, 2020

Ημερομηνία αιτήσεως υποψηφίου: **11/4/2016**

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής: **22/7/2016**

Μέλη τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής:

Επίκουρος Καθηγητής: Ιωάννης Βασιλειάδης (Επιβλέπον μέλος ΔΕΠ)

Α΄ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική ΓΝΝΘΑ «η Σωτηρία», Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Καθηγητής: Σεραφείμ Νανάς

Α΄ Πανεπιστημιακή Κλινική Εντατικής Θεραπείας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Επίκουρη Καθηγήτρια: Νικολέττα Ροβίνα

Α΄ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική ΓΝΝΘΑ «η Σωτηρία», Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Ημερομηνία καταθέσεως της διδακτορικής διατριβής: **21/2/2020**

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ: Πέτρος Π. Σφηκάκης

Μέλη επταμελούς εξεταστικής επιτροπής:

1) Καθηγητής: Νανάς Σεραφείμ

2) Καθηγήτρια: Κοτανίδου Αναστασία

3) Επ. Καθηγητής: Βασιλειάδης Ιωάννης

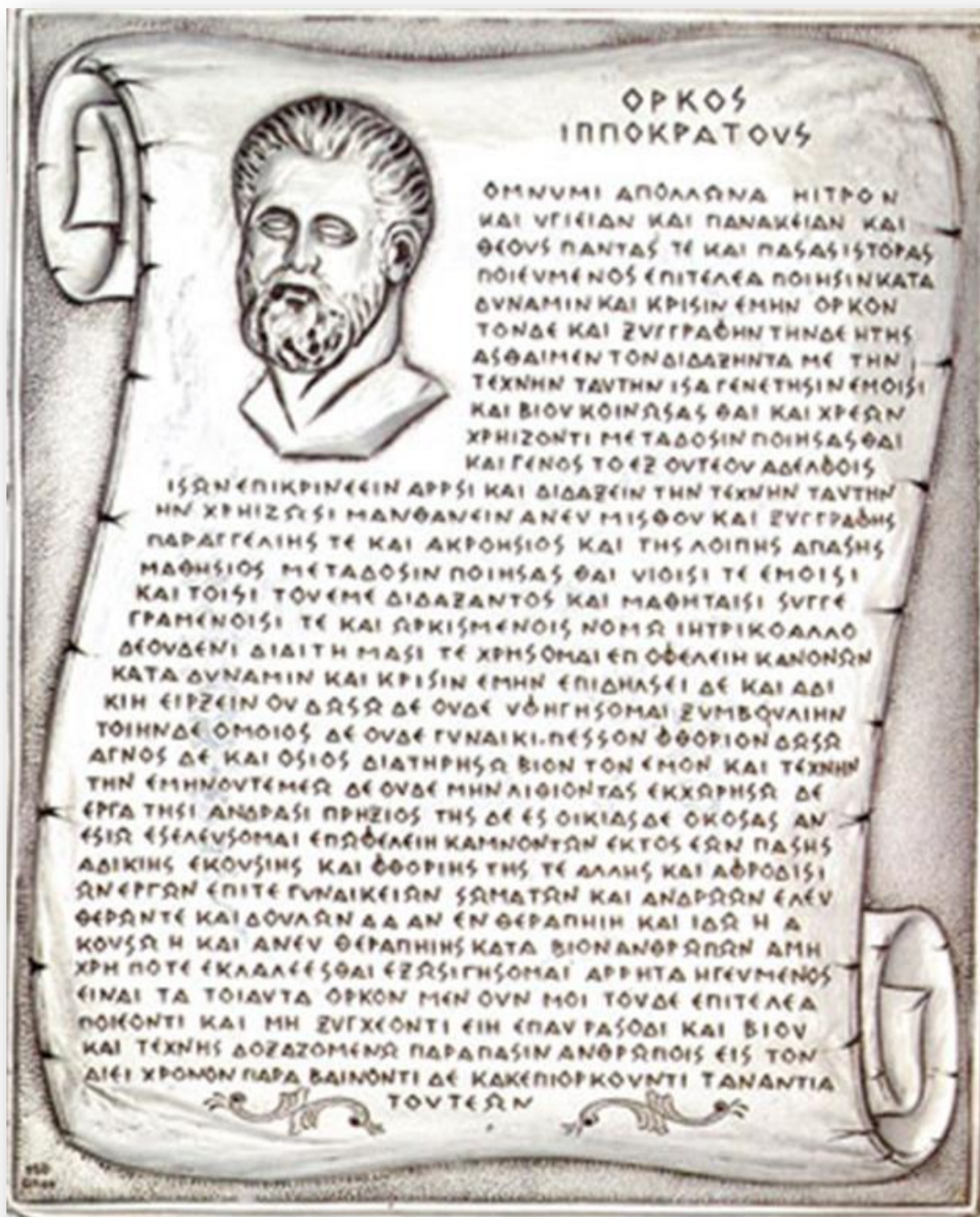
4) Επ. Καθηγήτρια: Ροβίνα Νικολέττα

5) Επ. Καθηγητής: Φιλίππου Αναστάσιος

6) Επ. Καθηγήτρια: Κατσαούνου Παρασκευή

7) Επ. Καθηγητής: Πιτταράς Θεόδωρος

Βαθμός: **Άριστα**



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I. ΠΡΟΛΟΓΟΣ – ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	9
II. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	11
III. ΠΙΝΑΚΑΣ ΚΥΡΙΟΤΕΡΩΝ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ	18
IV. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	19
1. Παθητικό κάπνισμα.....	20
1.1. Εισαγωγή.....	20
1.2. Επιδημιολογικά δεδομένα.....	25
1.3. Η σύσταση του καπνού του τσιγάρου.....	27
2. Οι βλαβερές επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στην υγεία.....	33
3. Μηχανισμοί πρόκλησης βλαβών από το παθητικό κάπνισμα.....	35
4. Μέθοδοι εκτίμησης της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα.....	45
5. Η δομή και λειτουργία της μικροκυκλοφορίας.....	48
6. Μέθοδοι εκτίμησης της μικροκυκλοφορίας.....	50
V. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	55
1. Υπόθεση.....	56
2. Σκοπός.....	57
3. Υλικό και μεθοδολογία.....	58
3.1. Πληθυσμός της μελέτης.....	58
3.2. Σχεδιασμός της μελέτης.....	58
3.2.1. Φάσεις μετρήσεων.....	60
3.2.2. Παράμετροι αξιολόγησης της μικροκυκλοφορίας.....	62
3.2.2. Συλλογή και αναλύσεις αίματος.....	65
3.3. Στατιστική ανάλυση.....	68
4. Αποτελέσματα.....	69
4.1. Οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στην μικροκυκλοφορία.....	70
4.2. Οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στις κυτταροκίνες του αίματος.....	74
5. Συζήτηση.....	77
6. Συμπεράσματα – κλινική σημασία.....	84

VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	85
VII. SUMMARY.....	87
VIII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	89

I. ΠΡΟΛΟΓΟΣ - ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αδιαμφισβήτητα, ο δρόμος για την απόκτηση γνώσης και την εκπόνηση Διδακτορικής Διατριβής καθίσταται ολοένα και πιο δύσκολος και η μόνη σταθερά είναι οι σημαντικοί άνθρωποι που μας συντροφεύουν, που με την παρουσία τους και την στήριξη τους μας αφυπνίζουν, μας δίνουν δύναμη να προχωρήσουμε και να ζήσουμε την ζωή που μας αξίζει.

“Ας είμαστε ευγνώμονες για τους ανθρώπους που μας κάνουν ευτυχισμένους. Είναι οι υπέροχοι κηπουροί που κάνουν τις ψυχές μας να ανθίζουν” *Marcel Proust*

Οι σημαντικοί άνθρωποι που είναι σαν το νερό για την ύπαρξη. Η παρούσα διατριβή είναι αφιερωμένη σε αυτούς τους σημαντικούς ανθρώπους της ζωής μου, τους οποίους και ευχαριστώ προσωπικά και τους κατονομάζω παρακάτω.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου Σωτήρη και Σοφία Λιναρδάτου, που μου δίδαξαν με αγάπη και υπομονή τις σημαντικές αξίες της ζωής και μου έδωσαν όλα τα εφόδια για να γίνω καλύτερος άνθρωπος, με γνώμονα την ηθική και τον σεβασμό. Τον αδερφό μου Δημήτρη Λιναρδάτο που ήταν συμπαραστάτης και ένθερμος υποστηρικτής του κάθε βήματός μου προς την απόκτηση γνώσης από την παιδική μας ηλικία έως και σήμερα. Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω ένα μεγάλο ευχαριστώ και την ευγνωμοσύνη μου για την πολύτιμη στήριξή τους από τα φοιτητικά μου χρόνια έως και σήμερα, στην ομότιμη καθηγήτρια της Νοσηλευτικής του ΑΤΕΙ, Μαρβάκη Χριστίνα και στην καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Κοτανίδου Αναστασία.

Σημαντικό και καθοριστικό ρόλο σε αυτή την διαδρομή έπαιξε ο καθηγητής της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Νανάς Σεραφείμ, που δίχως την συνδρομή του και την παρουσία του δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί η συγκεκριμένη μελέτη. Με την φράση “όταν κάνεις αυτά που μπορείς έχεις κάνει τα μέγιστα” έδινε πάντα την απαραίτητη ώθηση για να συνεχίσω την πορεία μου παρακάμπτοντας τυχόν δυσκολίες. Αναντικατάστατος και σημαντικός συνοδοιπόρος σε αυτή την προσπάθεια, υπήρξε ο Καρατζάνος Ελευθέριος που πάντα με την αξιοσημείωτη καλοσύνη και την ευγενική του καρδιά ήταν πρόθυμος να

διδάξει και να συμβάλλει στην επίλυση όλων των προβλημάτων ανεξαρτήτου βαθμού δυσκολίας.

Ένα ξεχωριστό και δυνατό ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στον Επιβλέποντα μου Επίκουρο καθηγητή της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Βασιλειάδη Ιωάννη, την ήρεμη και ευγενική δύναμη που κρύβεται πίσω από την συγκεκριμένη επιτυχία. Είναι ότι καλύτερο μπορεί να τύχει σε έναν υποψήφιο διδάκτορα με τα δυνατά χαρακτηριστικά που διαθέτει όπως η ευγένεια, η συνέπεια, η ενσυναίσθηση και η καλοσύνη πέρα από την άρτια επιστημονική γνώση.

Επίσης ευχαριστώ θερμά τα άτομα που συμμετείχαν στην μελέτη και συνέβαλλαν στην εξέλιξη της επιστημονικής γνώσης και τους συνεργάτες του επιστημονικού εργαστηρίου του καθηγητή Σεραφείμ Νανά.

Τέλος, χρωστώ απεριόριστη ευγνωμοσύνη στους φίλους ζωής που στήριξαν αδιάκοπα και ανιδιοτελώς όλο αυτό το εγχείρημα και εμένα προσωπικά από την αρχή έως το τέλος και αποτελούν την πολύτιμη περιουσία μου. Δεν θα μπορούσα να έχω καλύτερους ανθρώπους στην ζωή μου από τους: Καρτσάκη Αικατερίνη, Παναγοπούλου Νίκη, Λιοδάκη Ιωάννα, Γιόρογλου Σοφία, Ζιάγκου Ζωή, Καρδαρά Βασίλειο, Χαντζή Χαρά, Noaptes Luminitsa. Η φιλία τους αποτέλεσε πηγή αγάπης, έμπνευσης, εμπιστοσύνης, ευχαρίστησης και αισιοδοξίας.

II. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Προσωπικές πληροφορίες:

Επώνυμο / Όνομα: Λιναρδάτου Βασιλική

Πατρώνυμο: Σωτήριος

Διεύθυνση κατοικίας: Μανιτάκη 42 TK 10443 Αθήνα

Τηλέφωνο: 6937416442

Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο: vickylinardatou@yahoo.gr

Υπηκοότητα: Ελληνική

Επαγγελματική εμπειρία:

- Από τον Αύγουστο του 2007 εργάζομαι ως νοσηλεύτρια στο ΓΝΑ «Γ. Γεννηματάς» (με την προκήρυξη του ΑΣΕΠ 11Κ/2006).

Εκπαίδευση:

- 2018: Μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης της σχολής Κοινωνικών Επιστημών του Ελληνικού Ανοικτού Πανεπιστημίου, με τίτλο «Διοίκηση Μονάδων Υγείας» και επίδοση Λίαν Καλώς
- 2011: Μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης της Ιατρικής σχολής του Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, με τίτλο «Μονάδες Εντατικής Θεραπείας και Επείγουσα Νοσηλευτική» και επίδοση Άριστα
- 2006: Πτυχίο του τμήματος Νοσηλευτικής Α της Σχολής Επαγγελματιών Υγείας και Πρόνοιας του Ανώτατου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος (ΑΤΕΙ) Αθηνών και επίδοση Λίαν Καλώς.

Διακρίσεις - Υποτροφίες:

- 2^ο βραβείο αναρτημένης ανακοίνωσης, 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας, 1-3/2/2019, Αθήνα, για την εργασία με τίτλο: Τα χαρακτηριστικά της περιοδικής αναπνοής κατά την άσκηση στην χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια διαφέρουν ανάλογα με το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας.
- 3^ο βραβείο προφορικής ανακοίνωσης, 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας, 1-3/2/2019, Αθήνα, για την εργασία με τίτλο: Η επίδραση της άσκησης στα ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια.
- 2^ο βραβείο αναρτημένης ανακοίνωσης, 19^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας, 02/02-04/02/2018, Αθήνα, για την εργασία με τίτλο: «Η εμφάνιση της περιοδικής αναπνοής στις διάφορες φάσεις της καρδιοαναπνευστικής δοκιμασίας κόπωσης σχετίζεται με τη βαρύτητα της χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας».
- 20/2/2008: Απονομή Εύφημης μνείας από την υπηρεσία μου ΓΝΑ Γ. Γεννηματάς για την αυταπάρνηση εκπλήρωσης καθήκοντος.
- Βράβευση από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ) για τις επιδόσεις μου στο 4^ο, 5^ο, 6^ο και 7^ο εξάμηνο των σπουδών μου στο τμήμα Νοσηλευτικής Α της ΣΕΥΠ του ΤΕΙ Αθήνας.

Ερευνητική δραστηριότητα:

- **2016 έως σήμερα:** Εκπόνηση διδακτορικής διατριβής στην Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ με θέμα: «Οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στην μικροκυκλοφορία των σκελετικών μυών».
- **2015 έως σήμερα:** Τακτική παρακολούθηση και συμμετοχή ως επιστημονική συνεργάτιδα στο Εργαστήριο Κλινικής Εργοσπιρομετρίας και του προγράμματος Καρδιοαναπνευστικής Αποκατάστασης, Ά Κλινική Εντατικής Θεραπείας, Γ.ΝΑ. «Ο Ευαγγελισμός», Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ.
- **Από 1/1/2005 έως το 2008:** συμμετοχή σε ερευνητικό πρόγραμμα με τίτλο «Μητρώο Τραύματος» ως μέλος της ερευνητικής ομάδας, το οποίο χρηματοδοτήθηκε από το ΤΕΙ Αθήνας.

Διδακτικό – Εκπαιδευτικό Έργο

- **2016 έως σήμερα:** Εκπαιδύτρια στις φροντιστηριακές ασκήσεις στο πλαίσιο του κατ' επιλογήν διατομεακού μαθήματος «Πρώτες Βοήθειες», της Ιατρικής Σχολής, Α' Κλινική Εντατική Θεραπείας, ΕΚΠΑ, Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός», με αντικείμενο: 1) Βασική Υποστήριξη Ζωής και Χρήση Αυτόματου Εξωτερικού Απινιδιστή, 2) Εξασφάλιση αεραγωγού. Τεχνικές αερισμού, 3) Αναγνώριση καρδιακών ρυθμών ΗΚΓφήματος. Χορήγηση Απινίδωσης, 4) Επείγοντα Ορθοπεδικά Συμβάματα.

Μέλος επιστημονικών εταιρειών:

- Μέλος της Ελληνικής Εταιρείας Εργοσπιρομετρίας Άσκησης και Αποκατάστασης (ΕΛΕΡΓΑ)
- Ιδρυτικό μέλος της Ελληνικής Εταιρείας Νοσηλευτικής Έρευνας και Εκπαίδευσης.
- Μέλος της Ένωσης Νοσηλευτών Ελλάδος

Συμμετοχή στην συγγραφή επιστημονικών βιβλίων:

- Σ. Νανάς. «Α Βοήθειες – Καρδιοπνευμονική Αναζωογόνηση». Συγγραφέας κεφαλαίου «Δήγματα». Εκδόσεις Παρισιάνος, 2019, Αθήνα

Δημοσίευση σε ξενόγλωσσο περιοδικό σχετική με την διατριβή:

- **Linardatou V**, Karatzanos E, Panagopoulou N, Delis D, Kourek C, Rovina N, Nanas S, Vasileiadis I. *Passive smoking acutely affects the microcirculation in healthy non-smokers*. Microvasc Res, 2019. doi: 10.1016/j.mvr.2019.103932.

Ανακοινώσεις σε Ελληνικά και Διεθνή συνέδρια σχετικές με την Διδακτορική διατριβή:

- **V. Linardatou**, E. Karatzanos, D. Delis, S. Pagoni, C. Kourek, N. Panagopoulou, A. Leventakis, I. Vasileiadis, S. Nanas. *Passive smoking affects acutely the microcirculation of healthy never-smoking volunteers*. Europrevent, 2019.

- **B. Λιναρδάτου**, Λ. Καρατζάνος, Δ. Δελής, Ε. Jahaj, Γ. Μήτσιου, Γ. Τζάνης, Ι. Βασιλειάδης, Σ. Νανάς. *Οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στην μικροκυκλοφορία*. ΕΜΕΚΑ, 2018.

Εισηγήσεις – Εργασίες σε ελληνικά συνέδρια:

- Δ. Δελής, Χ. Κούρεκ, Χ. Κατσούλα, Μ. Alshamari, Μ. Πρατικάκη, Β. Λιναρδάτου, Γ. Μήτσιου, Κ. Παπαδόπουλος, Γ. Παπαγιάννης, Σ. Νανάς, Λ. Καρατζάνος. *Η μέγιστη άσκηση μεταβάλλει δείκτες φλεγμονής και νεοαγγειογένεσης σε ασθενείς με ΧΚΑ*. 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας, 2020.
- Χ. Κούρεκ, Δ. Δελής, Μ. Alshamari, Κ. Ψαρρά, Α. Προκοπίου-Αλευρά, Γ. Μήτσιου, Β. Λιναρδάτου, Α. Νταλιάνης, Σ. Δημόπουλος, Σ. Νανάς, Ε. Καρατζάνος. *Ένα πρόγραμμα αποκατάστασης διεγείρει την κινητοποίηση των ενδοθηλιακών προγονικών κυττάρων σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια*. 21ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας, 2020.
- Μ. Alshamari, C. Kourek, D. Delis, **V. Linardatou**, C. Papadopoulos, G. Papagiannis, O. Konsta, N. Panagopoulou, S. Nanas, L. Karatzanos. *Quality of life in CHF patients following cardiac rehabilitation*. 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας, 2019.
- Χ. Κούρεκ, Γ. Μήτσιου, Α. Ψαρρά, Κ. Παπαδόπουλος, Γ. Παπαγιάννης, Σ. Κιόκας, **B. Λιναρδάτου**, Δ. Δελής, Σ. Νανάς, Λ. Καρατζάνος. *Η επίδραση της άσκησης στα ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια*. 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας, 2019.
- Ν. Παναγοπούλου, Χ. Καπέλιος, Α. Νταλιάνης, Π. Φερεντίνος, Β. Ζαρβαλιάς, **B. Λιναρδάτου**, Σ. Δημόπουλος, Σ. Νανάς, Α. Σιδέρης, Λ. Καρατζάνος. *Τα χαρακτηριστικά της περιοδικής αναπνοής κατά την άσκηση στην χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια διαφέρουν ανάλογα με το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας*. 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας, 2019.
- Ν. Παναγοπούλου, Λ. Καρατζάνος, Β. Ζαρβαλιάς, Π. Φερεντίνος, Χ. Καπέλιος, **B. Λιναρδάτου**, Σ. Δημόπουλος, Α. Νταλιάνης, Ε. Ρεπάσος, Σ. Νανάς, Α. Σιδέρης. *Η εμφάνιση της περιοδικής αναπνοής στις διάφορες φάσεις της καρδιοαναπνευστικής*

δοκιμασίας κόπωσης σχετίζεται με τη βαρύτητα της χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας. 19^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας, 2018.

- Γ. Μήτσιου, Λ. Καρατζάνος, Σ. Δημόπουλος, Μ. AlShamari, **Β. Λιναρδάτου**, Α. Νταλιάνης, Η. Παπαδοπούλου, Α. Φιλίππου, Σ. Τοκμακίδης, Σ. Νανάς. *Οξεία επίδραση της αερόβιας άσκησης στη συστηματική μικροκυκλοφορία σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια*. 18^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας, 2017.
- Χ. Βούλγαρη, Ι. Μαυροδημητράκης, Δ. Συρίγος, Μ. Κοντόνη, Φ. Παπακωνσταντίνου, **Β. Λιναρδάτου**, Σ. Σιασιάκου. *Ευαισθησία και Ειδικότητα της ταινίας σακχάρου στη διάγνωση του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2*. 13^ο Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο, 2013.
- **Β. Λιναρδάτου**, Α. Κοτανίδου, Α. Νέστωρ, Γ. Βασιλόπουλος, Γ. Αργυρίου, Χ. Μαρβάκη. *Γνώσεις Νοσηλευτών στην αναγνώριση των καρδιακών αρρυθμιών σε Μονάδες Εντατικής Θεραπείας*. Νοσηλευτική και έρευνα της ελληνικής εταιρείας νοσηλευτικής έρευνας και εκπαίδευσης www.eenee.gr, 2011.
- Χ. Βασιλάκη, Φ. Αντωνίου, Ε. Βασιλείου, **Β. Λιναρδάτου**, Γ. Ίντας, Π. Στεργιάννης, Χ. Μαρβάκη. *Προνοσοκομειακή αντιμετώπιση πολυτραυματία και έκβαση*. 38^ο Πανελλήνιο Νοσηλευτικό Συνέδριο, 2011.
- Φ. Αντωνίου, Χ. Βασιλάκη, Ε. Βασιλείου, **Β. Λιναρδάτου**, Ο. Λουκοπούλου, Ε. Τζούνης. *Αντιμετώπιση Πολυτραυματία στα ΤΕΠ*. 13th State of the Art Interdisciplinary Review Course on Pulmonary Diseases Critical Care Emergency Medicine & Nursing Care, 2009.
- Ο. Λουκοπούλου, **Β. Λιναρδάτου**, Χ. Τριαντοπούλου. *Στρατηγική ανάπτυξης προγραμμάτων ενημέρωσης κοινού, στη λογική διενέργειας διαγνωστικών εξετάσεων*. 9^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Προληπτικής Ιατρικής, 2009.
- Χ. Αγγέλου, Φ. Αντωνίου, **Β. Λιναρδάτου**, Ο. Λουκοπούλου. *Πρόληψη τροχαίων ατυχημάτων- Εμπειρία μιας έρευνας*. 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Προληπτικής Ιατρικής, 2007

- Χ. Αγγέλου, Ε. Βασιλείου, Μ. Βοζαΐτη, Ε. Ιωαννίδου, Π. Λεούση, **Β. Λιναρδάτου**, Ο. Λουκοπούλου. *Αντιμετώπιση του πολυτραυματία*. 33^ο Πανελλήνιο Νοσηλευτικό Συνέδριο, 2006.
- Χ. Βασιλάκη, **Β. Λιναρδάτου**, Ι. Αγγέλης, Ι. Ανδριόπουλος, Ο. Λουκοπούλου, Ο. Καδδά. *Το προφίλ των Διδασκόντων στα ΤΕΙ Νοσηλευτικής*. Συνέδριο Ενόπλων Δυνάμεων, 2005.
- Ο. Καδδά, Δ. Κατεβαΐνη, Α. Νέστωρ, **Β. Λιναρδάτου**, Ε. Βασιλείου, Π. Μάντη. *Ανταπόκριση των Υπηρεσιών Υγείας*. 1^η Νοσηλευτική Ημερίδα Γ.Ν.Α “Ο Ευαγγελισμός”, 2005.

Οργάνωση συνεδρίων:

- Μέλος της Οργανωτικής Επιτροπής της 7^{ης} Διεπιστημονικής Εκπαιδευτικής Ημερίδας «Προηγμένη τεχνολογία στην αποκατάσταση», ΕΛΕΡΓΑ - Κέντρο Αποθεραπείας και Αποκατάστασης Φιλοκτήτης, 2019.
- Μέλος της Επιστημονικής Επιτροπής του 12^{ου} Πανελληνίου Επιστημονικού και Επαγγελματικού Νοσηλευτικού Συνεδρίου, Ρόδος, 2019.
- Μέλος της Οργανωτικής Επιτροπής της 6^{ης} Διεπιστημονικής Εκπαιδευτικής Ημερίδας «Σύγχρονες προοπτικές στην αποκατάσταση» Βιοηθική και Δεοντολογία, Προηγμένη Τεχνολογία, ΕΛΕΡΓΑ - Κέντρο Αποθεραπείας και Αποκατάστασης Φιλοκτήτης, 2018.
- Μέλος της Οργανωτικής Επιτροπής της 5^{ης} Διεπιστημονικής Εκπαιδευτικής Ημερίδας «Η νέα τεχνολογία και πληροφορική στην αποκατάσταση», ΕΛΕΡΓΑ - Κέντρο Αποθεραπείας και Αποκατάστασης Φιλοκτήτης, 2017

Ξένες γλώσσες:

- Αγγλικά (αυτάρκης χρήστης)
Πτυχίο: First Certificate in English from Cambridge University
- Γαλλικά (ανεξάρτητος χρήστης)

Γνώσεις Η/Υ:

- Απόκτηση πιστοποιητικού ECDL CORE από το European Computer Driving License (ECDL) foundation
- Παρακολούθηση ταχύρρυθμων σεμιναρίων στην Hellas Network με αντικείμενο Windows XP και Microsoft Office XP. Qualified Windows User.

Προσωπικά ενδιαφέροντα:

- Φροντίδα και προστασία αδέσποτων ζώων
- Ζωγραφική

III. ΠΙΝΑΚΑΣ ΚΥΡΙΟΤΕΡΩΝ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

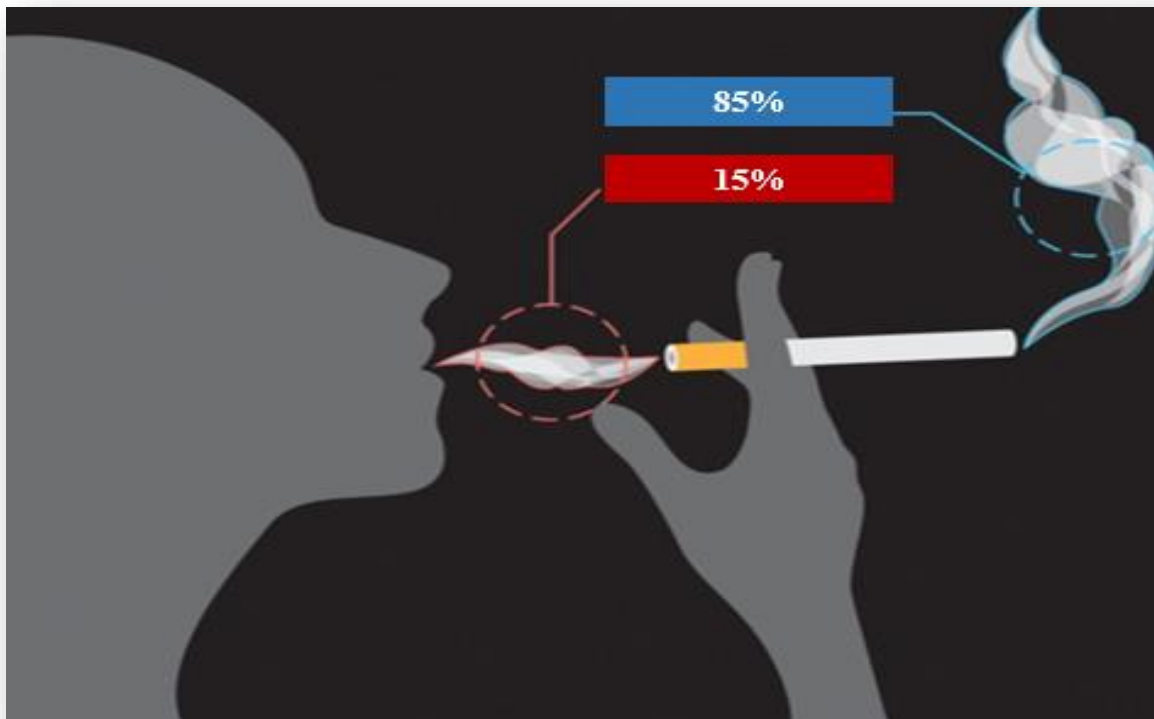
AUC	Area Under the Curve (εμβαδό της καμπύλης πάνω από την τιμή ηρεμίας StO ₂)
CO	Carbon Monoxide (μονοξείδιο του άνθρακα)
COHb	Carboxyhemoglobin (καρβοξυαιμοσφαιρίνη)
CRP	C-Reactive Protein (C αντιδρώσα πρωτεΐνη)
FCM	Flow Cytometry (κυτταρομετρίας ροής)
IL	Interleukin (ιντερλευκίνη)
LDL	Low Density Lipoprotein
NIRS	Near Infrared Spectroscopy (φασματοσκοπία εγγύς υπερύθρου)
NO	Nitric Monoxide (μονοξείδιο του αζώτου)
NOS	Nitric Oxide Synthase (συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου)
OCR	O ₂ Consumption Rate (ρυθμός κατανάλωσης οξυγόνου)
ORR	O ₂ Reperfusion Rate (ρυθμός επαναιμάτωσης)
oxLDL	Oxidized Low-Density Lipoprotein (οξειδωμένη LDL)
ROS	Reactive Oxygen Species (αντιδραστικές μορφές οξυγόνου)
StO₂	Tissue Oxygen Saturation (κορεσμός ιστικού οξυγόνου)
TNF	Tumor Necrosis Factor (παράγοντα νέκρωσης όγκων)
THI	Tissue hemoglobin index (δείκτης της αιμοσφαιρίνης του ιστού)
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor (αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας)
vWBF	von Willebrand Factor (παράγοντας von Willebrand)

IV. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Παθητικό κάπνισμα

1.1. Εισαγωγή

Το παθητικό κάπνισμα είναι η έκθεση των μη καπνιστών, στον καπνό που εκπέμπεται από την καύση του τσιγάρου ή άλλων προϊόντων καπνού και παράλληλα στον καπνό που εκπνέει ο καπνιστής μετά την χρήση του [1]. Ο καπνός που εκπέμπεται από την άκρη του τσιγάρου που καίγεται, αντιπροσωπεύει το 85% της συνολικής ποσότητας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα, ενώ το υπόλοιπο 15% αποτελείται από τον καπνό, ο οποίος εκπνέεται από τον ενεργό καπνιστή [2] (Εικόνα 1).

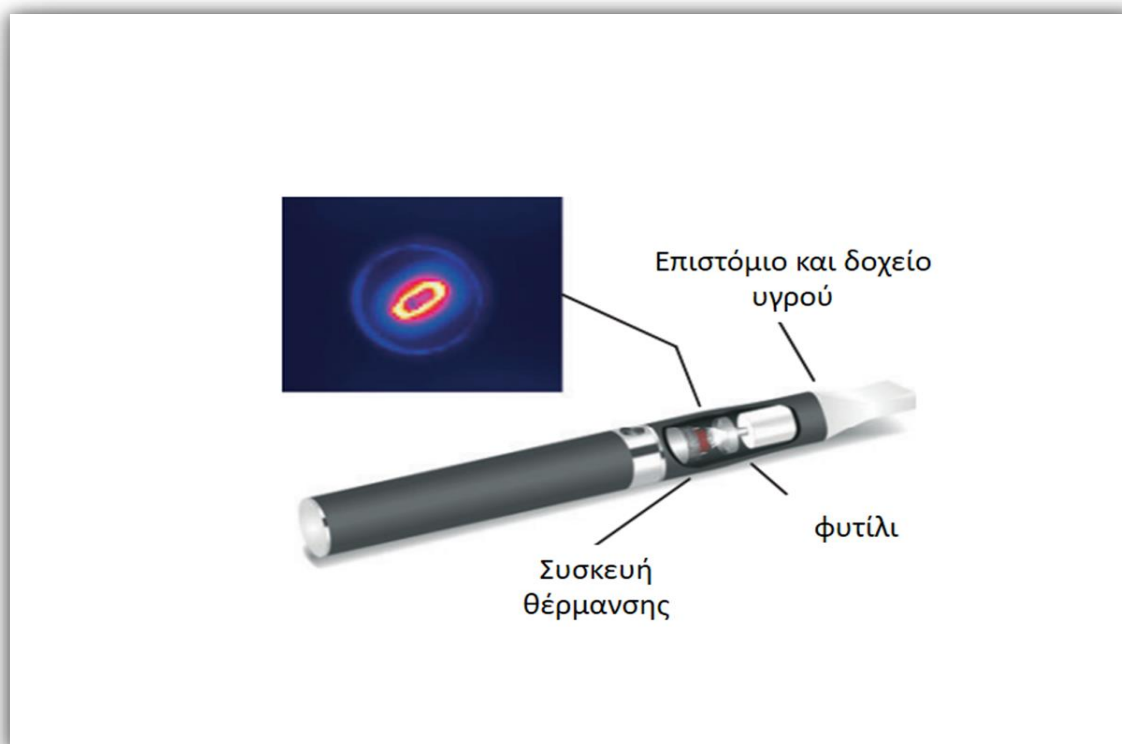


Εικόνα 1: Απεικόνιση της ποσότητας του καπνού στον οποίο εκτίθεται ο παθητικός καπνιστής Τροποποιημένη από: Raghuvver, G., et al., Cardiovascular Consequences of Childhood Secondhand Tobacco Smoke Exposure: Prevailing Evidence, Burden, and Racial and Socioeconomic Disparities: A Scientific Statement from the American Heart Association. Circulation, 2016;134: e336–e359.

Το χημικό μίγμα από τον εκπνεόμενο καπνό του καπνιστή διαφέρει μερικώς απ' αυτό που εκπέμπεται από το τσιγάρο που καίγεται. Η συγκέντρωση του εισπνεόμενου καπνού από τον παθητικό καπνιστή εξαρτάται από το περιβάλλον, αν πρόκειται δηλαδή για ανοιχτό ή κλειστό χώρο, από την ένταση του καπνίσματος και τον εξαερισμό του χώρου [1, 3]. Συνάμα, στο παθητικό κάπνισμα εκτίθεται και ο καπνιστής και ο μη καπνιστής [3].

Το κάπνισμα ξεκίνησε από την Αμερική, όπου το 1492, ο Χριστόφορος Κολόμβος ανακαλύπτοντας τον Νέο κόσμο ανακάλυψε και τον καπνό [4]. Ο καπνός εισήχθη στην Ευρώπη στα μέσα του 16ου αιώνα και στη συνέχεια εξαπλώθηκε σε όλο τον κόσμο. Τον 18^ο και 19^ο αιώνα κυριαρχούσε η χρήση πούρων και πίπας καπνού, ενώ μετά το 1910 κυριάρχησε η χρήση των τσιγάρων όπου και πυροδοτήθηκε η παγκόσμια επιδημία του 20^{ου} αιώνα [4, 5]. Παράλληλα, από το 1950 και μετά, όταν άρχισαν να αναδεικνύονται οι βλαβερές επιδράσεις του τσιγάρου και να ταυτοποιούνται οι καρκινογόνες ουσίες που περιλαμβάνει, άλλαξε σταδιακά η μορφή και η σύνθεση του εμπορικού τσιγάρου. Μειώθηκε η περιεκτικότητά του σε πίσσα και νικοτίνη διατηρώντας ποικιλία δόσεων ανάλογα με τις ανάγκες του καπνιστή και άλλαξε το φίλτρο και η σύσταση του πορώδους χαρτιού [6]. Τα τελευταία χρόνια αναπτύσσονται ταχέως και άλλες εναλλακτικές μορφές καπνίσματος όπως είναι το ηλεκτρονικό τσιγάρο και οι συσκευές θέρμανσης του καπνού όπως η συσκευή IQOS [4, 7].

Το ηλεκτρονικό τσιγάρο ή ηλεκτρονικό σύστημα διανομής νικοτίνης είναι μια συσκευή που τροφοδοτείται με μπαταρίες και ατμοποιεί ειδικό υγρό, η σύνθεση του οποίου περιλαμβάνει προπυλενογλυκόλη και άλλα προϊόντα από την εκχύλιση του καπνού (Εικόνα 2). Επίσης μπορεί να περιέχει και νικοτίνη [8, 9]. Το ηλεκτρονικό τσιγάρο μπορεί να είναι μίας χρήσης ή επαναχρησιμοποιήσιμο και αποτελείται εκτός των άλλων εξαρτημάτων, από ένα δοχείο αποθήκευσης του υγρού, από έναν αισθητήρα ροής του αέρα και μια ηλεκτρική συσκευή ατμοποίησης. Αντίθετα με το κανονικό τσιγάρο, ο χρήστης του ηλεκτρονικού τσιγάρου εισπνέει ατμό διαφορετικής χημικής σύστασης [8].



Εικόνα 2: Ένα πρότυπο ηλεκτρονικού τσιγάρου; Η εικόνα δείχνει την διανομή θερμότητας της μονάδας θέρμανσης. Τροποποιημένη από: Schripp, T., et al., Does e-cigarette consumption cause passive vaping? Indoor Air, 2013. 23(1): p. 25-31.

Μέχρι και σήμερα έχουν γίνει λίγες έρευνες σχετικά με την ασφάλεια του ηλεκτρονικού τσιγάρου [8]. Ωστόσο, φαίνεται να πλεονεκτεί έναντι του κανονικού τσιγάρου, λόγω των περιορισμένων χημικών ουσιών και των χαμηλότερων συγκεντρώσεων αιωρούμενων σωματιδίων και να είναι θεωρητικά λιγότερο επικίνδυνο για τους παθητικούς καπνιστές [9].

Η συσκευή IQOS είναι μια ηλεκτρονική συσκευή τροφοδοτούμενη με επαναφορτιζόμενη μπαταρία, στην οποία προσαρμόζεται μια ράβδος καπνού που όταν θερμαίνεται ηλεκτρικά, σε υψηλή θερμοκρασία, παράγει διαφορετικό αερόλυμα από τον καπνό του τσιγάρου [10] (Εικόνα 3). Σχετικά με την νέα αυτή συσκευή θέρμανσης του καπνού δεν υπάρχουν ακόμα αρκετές μελέτες που να τεκμηριώνουν πλήρως τις επιδράσεις της κατά το παθητικό κάπνισμα [11]. Μελέτες της κατασκευάστριας εταιρείας (Phillip Morris International's) αναφέρουν ότι ο καπνός θερμαίνεται και δεν καίγεται, με αποτέλεσμα να μειώνεται η παραγωγή των επιβλαβών χημικών ουσιών και κατ' επέκταση να μειώνονται και οι κίνδυνοι εμφάνισης νοσημάτων που σχετίζονται με τον καπνό [12].



Εικόνα 3: Συσκευή θέρμανσης του καπνού; Η εικόνα δείχνει τα εξαρτήματα της συσκευής. Τροποποιημένη από: την ηλεκτρονική σελίδα της κατασκευάστριας εταιρείας Phillip Morris International's <https://gr.iqos.com/el>.

Το θέμα του παθητικού καπνίσματος και οι επιδράσεις του στην υγεία απασχόλησε τους επιστήμονες μεταγενέστερα σε σύγκριση με το ενεργητικό κάπνισμα. Το 1972 στην έκθεση των General Surgeon, τονίστηκε η σημαντικότητα του παθητικού καπνίσματος αναφερόμενη στην έκθεση του κοινού στην ατμοσφαιρική ρύπανση από τον καπνό του τσιγάρου [13]. Από το 1986 και μετά, αποτυπώθηκαν σε αρκετές επιστημονικές δημοσιεύσεις η χημική σύσταση του καπνού, που παράγεται κατά την καύση του τσιγάρου και οι βλαβερές επιδράσεις των επιμέρους συστατικών του στην υγεία [1]. Έκτοτε, το παθητικό κάπνισμα απασχολεί τους επιστήμονες και αποτελεί ένα πεδίο εκτεταμένης ερευνητικής μελέτης.

1.2. Επιδημιολογικά δεδομένα

Το κάπνισμα του τσιγάρου αποτελεί την κυρίαρχη μορφή έκθεσης στον καπνό παγκοσμίως [14]. Το παθητικό κάπνισμα εκτιμάται ότι ευθύνεται για το 1% περίπου της παγκόσμιας θνησιμότητας [15]. Σύμφωνα με το Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), η χρήση οποιασδήποτε μορφής καπνού είναι υπεύθυνη για τον θάνατο περίπου έξι εκατομμυρίων ανθρώπων παγκοσμίως. Από τον συνολικό αριθμό των θανάτων πολλοί είναι πρόωροι. Ταυτόχρονα, υπολογίζεται ότι 600.000 άτομα, μη καπνιστές θα πεθάνουν από τις συνέπειες του παθητικού καπνίσματος. Επίσης, το πρόβλημα αναδεικνύεται με τον υπολογισμό των χαμένων ετών ζωής λόγω πρόωμου θανάτου ή αναπηρίας (Disability Adjusted Life Years, DALYs), όπου το παθητικό κάπνισμα ευθύνεται για το 6,3% χαμένων ετών ζωής [14, 16].

Σύμφωνα με τις συνολικές εκτιμήσεις 187 χωρών, για τα έτη 1980 έως και 2012, υπήρξε σημαντική μείωση του επιπολασμού του καθημερινού καπνίσματος, σε άνδρες και γυναίκες. Για τους άνδρες μειώθηκε από 41,2% σε 31,1%, με μέσο ετήσιο ρυθμό μείωσης 0,9% και στις γυναίκες μειώθηκε από 10,6% σε 6,2%, με μέσο ρυθμό μείωσης 1,7%. Εντούτοις, ο συνολικός αριθμός των καπνιστών παγκοσμίως αυξήθηκε κατά τη διάρκεια αυτής της χρονικής περιόδου, από περίπου 721 εκατομμύρια στα 967 εκατομμύρια, κυρίως λόγω της αύξησης του πληθυσμού [17]. Επιπρόσθετα, ο αριθμός των τσιγάρων που καταναλώθηκαν σε παγκόσμιο επίπεδο αυξήθηκε από 4,96 τρισεκατομμύρια σε 6,25 τρισεκατομμύρια (κατά 26%) και ο μέσος αριθμός τσιγάρων που καταναλώθηκε ανά καπνιστή την ημέρα, παρέμεινε 18 [17].

Το 2010, ο ΠΟΥ υπολόγισε ότι περίπου το 44% του πληθυσμού της Ελλάδας είναι καπνιστές ($\approx 4.213.600$ άτομα) και ότι εάν οι προσπάθειες ελέγχου του καπνίσματος σε δημόσιους χώρους συνεχιστούν με την ίδια ένταση, τότε το 2025, το ποσοστό θα μειωθεί περίπου στο 37% ($\approx 3.493.400$ άτομα). Ακόμα, επισήμανε ότι το 56% των ανδρών και το 34% των γυναικών κάνουν χρήση καπνού στην Ελλάδα, ενώ το υψηλότερο ποσοστό παρατηρήθηκε στις ηλικιακές ομάδες μεταξύ 40 με 54 και 25 με 39 αντίστοιχα. Παράλληλα, προέβλεψε ότι το 2025 αυτά τα ποσοστά θα μειωθούν [16].

Τέλος, με δεδομένο ότι το παθητικό κάπνισμα και κάθε είδους έκθεση στον καπνό προκαλεί σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα, το 2004, η Ιρλανδία έγινε η πρώτη χώρα στον κόσμο στην οποία με νομοθετική ρύθμιση απαγορεύτηκε το κάπνισμα στους κλειστούς χώρους. Το 2009, συστάθηκε το Συμβούλιο για ένα περιβάλλον χωρίς καπνό, όπου οι περισσότερες χώρες - μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης προώθησαν και εφάρμοσαν πολιτικές απαγόρευσης του καπνίσματος στους κλειστούς χώρους. Το 2012, σύμφωνα με στοιχεία έρευνας για την επιτυχή υλοποίηση των μέτρων κατά του καπνίσματος, χώρες όπως η Σουηδία, το Ηνωμένο Βασίλειο, η Λιθουανία, η Ιρλανδία και η Φινλανδία είχαν υψηλά επίπεδα συμμόρφωσης, ενώ αντιθέτως η Ελλάδα επέδειξε κακή συμμόρφωση [4].

1.3. Η σύσταση του καπνού του τσιγάρου

Κατά τη διάρκεια της καύσης ενός τσιγάρου, αναπτύσσονται υψηλές θερμοκρασίες μέχρι περίπου τους 950°C, ανάλογα τις συγκεντρώσεις του οξυγόνου στην ατμόσφαιρα, με αποτέλεσμα να καίγεται ο καπνός και οι χημικές ουσίες που περιέχει. Το μεγαλύτερο μέρος των συστατικών του καπνού μετατρέπεται σε νέφος, ενώ ένα μικρό ποσοστό σε στάχτη [18].

Η καύση του καπνού του τσιγάρου οδηγεί στο σχηματισμό μίγματος ουσιών που περιλαμβάνονται στην σωματιδιακή και την αέρια φάση του νέφους που δημιουργείται, αριθμώντας συνολικά πάνω από 7.357 χημικές ενώσεις [19]. Η ποιοτική σύνθεση των συστατικών του καπνού του τσιγάρου είναι σχεδόν πανομοιότυπη τόσο στο νέφος καπνού που εισπνέεται από τον καπνιστή (κύριο ρεύμα), όσο και στο νέφος καπνού που εκπέμπεται από την καύση του τσιγάρου (παράπλευρο ρεύμα) και κατά την εκπνοή του καπνιστή (τρίτο ρεύμα) [19]. Ωστόσο, το τελευταίο νέφος καπνού υπερτερεί σημαντικά ως προς τις συγκεντρώσεις των συστατικών του σε σύγκριση με αυτό που εισπνέεται από τον καπνιστή [20]. Πολλές από αυτές τις ουσίες είναι τοξικές, καρκινογόνες και παρουσιάζουν αιτιολογική συσχέτιση με πρόωρους θανάτους και ασθένειες που πλήττουν σχεδόν κάθε όργανο του ανθρώπινου σώματος [14].

Τα κύρια επιβλαβή συστατικά στη σωματιδιακή φάση του καπνού είναι η νικοτίνη, οι αρωματικές αμίνες, οι φαινόλες, συγκεκριμένες νιτροζαμίνες και οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες. Στην αέρια φάση ανήκουν το μονοξείδιο του άνθρακα, τα οξείδια του αζώτου και οι πτητικές οργανικές ενώσεις, ενώ και στις δύο φάσεις οι αλδεΐδες, οι κετόνες, ενώσεις καρβονυλίου, το κυανιούχο υδρογόνο και η αμμωνία. [21]. Η καύση του τσιγάρου θεωρείται ένα από τα πιο πολύπλοκα χημικά συστήματα του κόσμου λόγω των πολλών μηχανισμών και αντιδράσεων που συμβαίνουν για τον σχηματισμό του νέφους καπνού [18]. Η τοξικολογική επίδραση του νέφους που δημιουργείται αποτελεί ένα πολυπαραγοντικό πρόβλημα [21].

Νικοτίνη

Η νικοτίνη είναι τοξικό αλκαλοειδές, απαντάται σε μεγάλες ποσότητες στον καπνό, όπου με την καύση του εξατμίζεται και μεταφέρεται εγγύς στα σταγονίδια πίσσας, τα οποία εισπνέονται [22]. Η νικοτίνη απορροφάται ταχύτατα μέσω διαφόρων ιστών του ανθρωπίνου σώματος [23]. Η απορρόφηση της από τις βιολογικές μεμβράνες εξαρτάται από το pH. Στην ιονισμένη της κατάσταση, όπως συμβαίνει στα όξινα περιβάλλοντα, η νικοτίνη δεν διασχίζει γρήγορα τις μεμβράνες. Το pH του καπνού στα περισσότερα τσιγάρα, είναι όξινο (pH 5,5-6,0) η νικοτίνη είναι κυρίως σε ιονισμένη μορφή και απορροφάται σε μικρό βαθμό από την στοματική κοιλότητα, ενώ σε ορισμένα ευρωπαϊκά τσιγάρα που ο καπνός είναι πιο αλκαλικός (pH 6,5 ή υψηλότερο) η νικοτίνη απορροφάται σε μεγαλύτερο βαθμό [22].

Η στοματική κοιλότητα απορροφά από 4% έως 45% της συνολικής δόσης [23]. Με την εισπνοή ο καπνός περνά από την στοματική κοιλότητα και φτάνει στους μικρούς αεραγωγούς και τις κυψελίδες του πνεύμονα, όπου εκεί η νικοτίνη απορροφάται με ταχείς ρυθμούς. Κατά συνέπεια, οι συγκεντρώσεις της νικοτίνης στο αίμα αυξάνονται κατά τη διάρκεια του καπνίσματος και μεγιστοποιούνται κατά την ολοκλήρωση του καπνίσματος. Μετά από μια εισπνοή καπνού, υψηλά επίπεδα νικοτίνης στον εγκέφαλο δημιουργούνται σε 10-20 δευτερόλεπτα, γρηγορότερα από ότι με την ενδοφλέβια χορήγηση, προκαλώντας διέγερση [22].

Επιπρόσθετα, η νικοτίνη μιμείται την δράση της ακετυλοχολίνης και συνδέεται με τους υποδοχείς της. Η δραστηριότητα των υποδοχέων αυτών αυξάνεται, όταν η συγκέντρωση της νικοτίνης είναι χαμηλή και αναστέλλεται όταν είναι υψηλή [23, 24]. Έχει εθιστική δράση και έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει την συσσώρευση των αιμοπεταλίων, μειώνει τα επίπεδα της προστακυκλίνης στην μικροκυκλοφορία και αναστέλλει την βιολογική λειτουργία των ινοβλαστών, των ερυθρών αιμοσφαιρίων και των μακροφάγων. Επιπλέον, η νικοτίνη διεγείρει την απελευθέρωση των κατεχολαμινών και κατ' επέκταση αυξάνει τον καρδιακό ρυθμό και την αρτηριακή πίεση [24].

Μονοξείδιο του άνθρακα

Το μονοξείδιο του άνθρακα (CO) αποτελεί ένα υποπροϊόν του καπνού που παράγεται από την ατελή καύση του τσιγάρου [25]. Είναι άχρωμο και άοσμο αέριο, το οποίο εισέρχεται ταχύτατα στην κυκλοφορία, συνδέεται σταθερά με την αιμοσφαιρίνη, αφού αντικαθίσταται το οξυγόνο από το CO, και σχηματίζεται η καρβοξυαιμοσφαιρίνη (COHb). Ως αποτέλεσμα μειώνεται η παροχή του οξυγόνου στους ιστούς και τα όργανα και μπορεί να προκληθεί στηθάγχη ή έμφραγμα του μυοκαρδίου [23, 26, 27]. Ο παραπάνω μηχανισμός συνιστά την βασική τοξική δράση μετά από έκθεση στο CO [27]. Ωστόσο, η δράση του CO στο κύτταρο είναι εξίσου σημαντική, αφού δεσμεύεται από κάθε πρωτεΐνη που διαθέτει ομάδες αίμης όπως είναι το κυτόχρωμα c και προκαλεί μια σειρά από διαδοχικές βιοχημικές αντιδράσεις που καταλήγουν στον σχηματισμό δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS), στην διαταραχή του μιτοχονδριακού μεταβολισμού και κατ' επέκταση στο οξειδωτικό stress [28].

Η χρόνια έκθεση στο CO προκαλεί βλάβη στο ενδοθήλιο των αρτηριών και συμβάλλει στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης [27]. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις μπορεί να επηρεάσει το κεντρικό νευρικό σύστημα και πιο συγκεκριμένα την όραση και το επίπεδο συνείδησης. Σε άτομα με επιβαρυνμένο ιατρικό ιστορικό, η έκθεση στο CO μπορεί να προκαλέσει αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα [26]. Το CO μπορεί να θεωρηθεί ότι αποτελεί, δυνητικά, ένα χρόνιο και σιωπηλό εχθρό της ανθρώπινης υγείας ακόμα και αν υπάρχουν διαφορετικές διακυμάνσεις στα επίπεδα COHb μετά από οξεία έκθεση στον καπνό [23].

Κατά μέσο όρο, ο καπνιστής χρειάζεται 6 λεπτά για να καπνίσει ένα τσιγάρο και σε αυτό το χρονικό διάστημα εκτίθεται σε συγκέντρωση CO 400-500 ppm. Παλαιότερες έρευνες έδειξαν ότι συγκέντρωση 180 ppm του CO κατά την εισπνοή αέρα προκαλούσε εκφύλιση του καρδιακού μυός. Το επίπεδο εκπομπών του CO κατά την καύση του τσιγάρου, κυμαίνεται από 9 έως 35mg ανά τσιγάρο, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο παθητικός καπνιστής μπορεί να εισπνεύσει ακούσια αυτό το δηλητηριώδες αέριο σε χαμηλές συγκεντρώσεις [26].

Ιστορικά χρησιμεύει ως δείκτης έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα. Αν και τα επίπεδα του μπορεί να αυξηθούν και λόγω της ατμοσφαιρικής ρύπανσης και από άλλες πηγές ρύπανσης εσωτερικών χώρων όπως οι θερμάστρες που χρησιμοποιούν το ξύλο ως καύσιμη ύλη, παραμένει χρήσιμος δείκτης για τη διάκριση του ελεύθερου ή μολυσμένου από καπνό περιβάλλοντος [25].

Οξείδια του αζώτου

Ο καπνός του τσιγάρου περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις οξειδίων του αζώτου (NOx) [1]. Φυσιολογικά το μονοξείδιο του αζώτου (NO) παράγεται από το ενδοθήλιο των αγγείων, παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση του αγγειακού τόνου [29] και στη φυσιολογική ρύθμιση πολλών λειτουργιών των αεραγωγών. Σχηματίζεται από την L-αργινίνη με την δραστηριότητα του ενζύμου της συνθετάσης του NO (Nitric Oxide Synthase, NOS) και εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα με την ισομορφή ενδοθηλιακή συνθετάση του NO (Endothelial Nitric Oxide Synthase, eNOS). Το eNOS είναι απαραίτητο για τη διατήρηση της παραγωγής NO στα αγγεία [30]. Η έκθεση στο παθητικό κάπνισμα μειώνει την έκφραση και την δραστηριότητα του eNOS στο ενδοθήλιο των αγγείων [31].

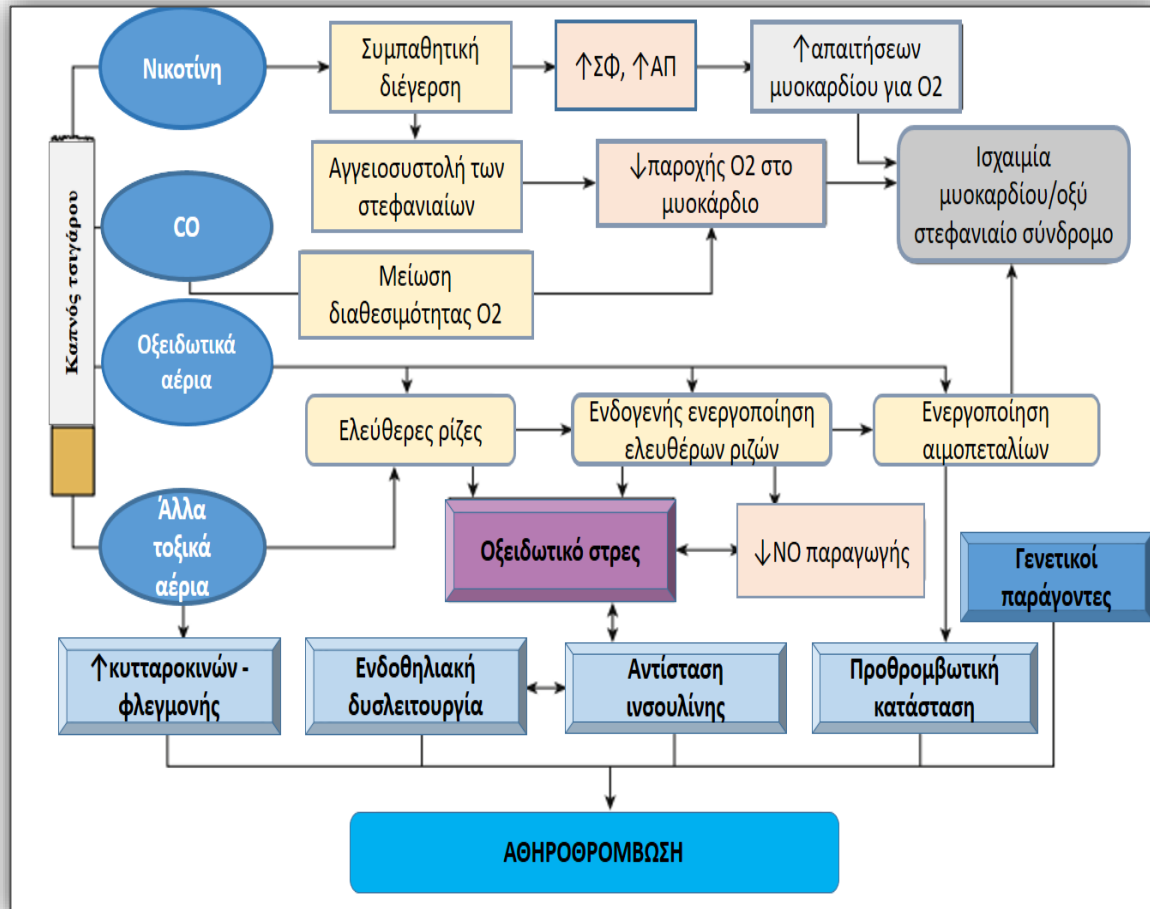
Με το παθητικό κάπνισμα μειώνεται η συγκέντρωση του εκπνεόμενου NO σε υγιείς ενήλικες και παιδιά [32, 33], κάτι που μπορεί να αποδοθεί στην μειωμένη παραγωγή του NO λόγω διαταραχών δραστηριότητας του NOS. Ακόμα, μπορεί να αποδοθεί στην διάσπαση ή καταστροφή του NO, που παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, από την επίδραση των τοξικών ουσιών του καπνού του τσιγάρου [33].

Τέλος, στον καπνό που προέρχεται από την καύση του τσιγάρου, έχουν ταυτοποιηθεί 21 ενώσεις στην σωματιδιακή και 19 στην αέρια φάση [34]. Οι δύο φάσεις περιέχουν ένα σημαντικό αριθμό ελευθέρων ριζών που έχουν ως αποτέλεσμα την πρόκληση οξειδωτικού stress [14]. Επίσης, έχει εκτιμηθεί ότι τουλάχιστον 250 χημικές ουσίες, που παράγονται από την καύση αλλά δεν έχουν ταυτοποιηθεί, μπορεί να είναι τοξικές ή καρκινογόνες μέσω διαφόρων μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένων των άμεσων ερεθιστικών επιδράσεων, των ανοσολογικών μηχανισμών και των μεταλλάξεων. Οι πιο μελετημένες καρκινογόνες

ενώσεις που εισπνέονται κατά την διάρκεια του παθητικού καπνίσματος είναι οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, οι νιτροσαμίνες και οι αρωματικές αμίνες [34]. Οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) είναι ισχυρά υποπροϊόντα της ατελούς καύσης οργανικών υλών όπως ο καπνός του τσιγάρου. Οι νιτροσαμίνες του καπνού σχετίζονται χημικά με τη νικοτίνη και άλλα αλκαλοειδή και αποτελούν ισχυρούς καρκινογόνους παράγοντες που επηρεάζουν ιστούς όπως ο οισοφάγος, η ρινική κοιλότητα και οι πνεύμονες [34].

Υπάρχουν πολλοί πιθανοί μηχανισμοί, με τους οποίους καθένα από τα συστατικά του καπνού μπορεί κατά την διάρκεια του παθητικού καπνίσματος να επηρεάσει διαφορετικά τον ανθρώπινο οργανισμό και να έχει οξείες ή χρόνιες επιπτώσεις για την υγεία [1]. Ένα σημαντικό πεδίο μελέτης των τελευταίων ετών είναι οι επιδράσεις του στο αγγειακό ενδοθήλιο και οι μηχανισμοί πρόκλησης αθηρωμάτωσης [29] (Σχήμα1). Η εμφάνιση των διαφορετικών οξέων επιδράσεων από την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα εξαρτάται από την διάρκεια της έκθεσης σε αυτό [34].

Σχήμα 1: Σφαιρική εικόνα των παθοφυσιολογικών μηχανισμών των συστατικών του καπνού του τσιγάρου στην ανάπτυξη καρδιαγγειακών νοσημάτων.



ΣΦ: σφυγμοί, ΑΠ: Αρτηριακή πίεση, NO: Μονοξείδιο του αζώτου

Τροποποίηση από: Salahuddin S et al. Pathophysiological Mechanisms of Tobacco-Related CVD. Glob Heart, 2012. 7(2): p. 113-20.

2. Οι βλαβερές επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στην υγεία

Το παθητικό κάπνισμα και οι βλαβερές του επιπτώσεις στην υγεία αναφέρθηκαν για πρώτη φορά στη δεκαετία του 1920 [35]. Το 1960 παρουσιάστηκαν οι πρώτες επιδημιολογικές μελέτες που επικεντρώθηκαν στο κάπνισμα των γονέων και τις ασθένειες του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος στα βρέφη και ακολούθησαν μελέτες σχετικές με την πνευμονική λειτουργία και τα αναπνευστικά συμπτώματα στα παιδιά [13]. Ωστόσο, το επιστημονικό ενδιαφέρον επικεντρώθηκε στο παθητικό κάπνισμα στις αρχές της δεκαετίας του 1980, όπου η έκθεση σε αυτό συνδέθηκε με την εμφάνιση καρκίνου σε υγιείς ενήλικες, μη καπνιστές, και στα τέλη της δεκαετίας του 1980, όπου η έκθεση συνδέθηκε με αυξημένες λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος. Έκτοτε, πολλές μελέτες διεξήχθησαν ανά τον κόσμο και ανέδειξαν τεκμηριωμένα στοιχεία για τις επιβλαβείς επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στην υγεία. Επίσης, αναδείχθηκε το γεγονός ότι οι καπνιστές όχι μόνο έθεταν σε κίνδυνο την δική τους υγεία αλλά και την υγεία των μη καπνιστών, κάνοντας το παθητικό κάπνισμα ένα σημαντικό δημόσιο πρόβλημα υγείας [35].

Το παθητικό κάπνισμα έχει οξεία δυσμενή επίδραση στη λειτουργία των πνευμόνων, στην παραγωγή κυτταροκινών, στην έκκριση θυρεοειδικών ορμονών και στα κυτταρικά στοιχεία του αίματος όπως τα αιμοπετάλια [34]. Η οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου για τις παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος, συμπεριλαμβανομένων των λοιμώξεων των κατώτερων αεραγωγών, της χρόνιας ρινοκολπίτιδας και του άσθματος στους ενήλικες. Ακόμα, συμβάλλει στην άμεση παραγωγή των φλεγμονωδών κυτταροκινών που σχετίζονται στενά με τη χρόνια φλεγμονή των πνευμόνων και τις δομικές μεταβολές που παρατηρούνται σε ασθενείς με πνευμονική νόσο. Στις άμεσες επιπτώσεις της σύντομης έκθεσης στον καπνό ενός τσιγάρου στο αναπνευστικό σύστημα, ανήκουν η προσκόλληση των λευκοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα και η μείωση του εκπνεόμενου NO [36].

Επίσης, η χρόνια έκθεση έχει αποδειχθεί ότι έχει ως αποτέλεσμα αλλαγές στο οξειδοαναγωγικό status του οργανισμού και συνδέεται με διάφορα είδη καρκίνου όπως τον καρκίνο του πνεύμονα και των αεροφόρων οδών, την λευχαιμία και τον καρκίνο του μαστού

[34, 37]. Ο μηχανισμός πρόκλησης του καρκίνου από την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα είναι πιθανώς παρόμοιος με αυτόν του ενεργητικού καπνίσματος λόγω του ότι οι καρκινογόνες ουσίες είναι ίδιες (τουλάχιστον 72 γνωστές) και στις δυο μορφές καπνίσματος, με διαφορετικές όμως συγκεντρώσεις [1, 38]. Στους μηχανισμούς πρόκλησης της καρκινογένεσης περιλαμβάνονται οι μεταλλάξεις του DNA, αλλά και η γενετική ευαισθησία του εκάστοτε οργανισμού που εκτίθεται στις τοξικές ενώσεις του καπνού [13]. Ο καρκίνος αποτελεί το συχνότερο αντικείμενο έρευνας και μελέτης που σχετίζεται με το παθητικό κάπνισμα [39].

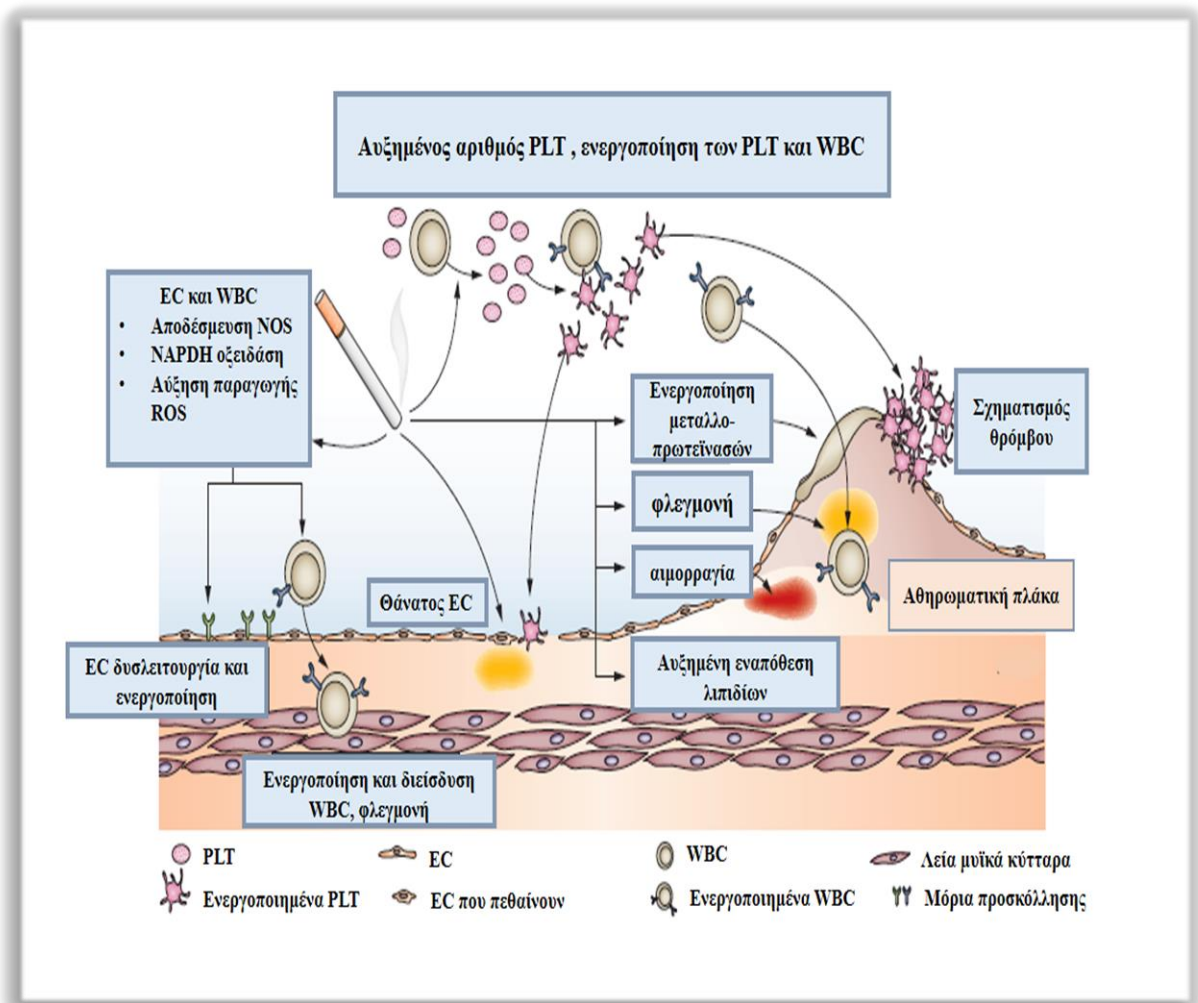
Η χρόνια έκθεση στο παθητικό κάπνισμα αυξάνει τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου κατά 30% [37, 40]. Η καρδιαγγειακή νόσος περιλαμβάνει μεγάλο εύρος παθήσεων της καρδιάς και των αιμοφόρων αγγείων. Τα τοξικά συστατικά του καπνού του τσιγάρου όπως η νικοτίνη και το CO, μέσω διαφορετικών μηχανισμών δράσης προκαλούν δομικές βλάβες στα τοιχώματα των αγγείων όπως η αθηροσκλήρωση και κατ' επέκταση υπέρταση, στεφανιαία νόσο, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και ρήξη ανευρύσματος [41]. Το μέγεθος της επίδρασης του παθητικού καπνίσματος είναι σχετικά μεγάλο λαμβάνοντας υπόψη τη χαμηλή συστηματική έκθεση των μη καπνιστών στον καπνό του τσιγάρου συγκριτικά με εκείνη των ενεργών καπνιστών [19].

3. Μηχανισμοί πρόκλησης βλαβών από το παθητικό κάπνισμα

Από τις επιστημονικές μελέτες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα, έχουν διευκρινιστεί και καταγραφεί οι μηχανισμοί με τους οποίους προκαλούνται οι παθήσεις μετά από έκθεση στον καπνό του τσιγάρου. Έχουν ταυτοποιηθεί πολλά συστατικά του καπνού και έχει μελετηθεί η τοξικότητά τους σε πειραματόζωα, σε κυτταρικό, μοριακό και εργαστηριακό επίπεδο [13]. Οι μηχανισμοί πρόκλησης βλαβών στα αγγεία που οφείλονται στην έκθεση σε τοξικές ουσίες που περιέχονται στον καπνό του τσιγάρου αφορούν το οξειδωτικό stress, τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και των μιτοχονδρίων, την διαταραχή της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων, την υπεροξειδωση των λιπιδίων, και τη φλεγμονή [40, 42].

Πιο συγκεκριμένα, οι τοξικές ενώσεις του καπνού του τσιγάρου προκαλούν οξειδωτικό stress στο ενδοθήλιο, με αποτέλεσμα να μειώνεται η ικανότητα του ενδοθηλίου να ρυθμίζει και να διατηρεί τον αγγειακό τόνο και την αιμόσταση. Η κατάσταση αυτή αναφέρεται ως ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [42]. Μελέτη ανέδειξε ότι και μικρής διάρκειας έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα επηρεάζει αρνητικά και άμεσα την αγγειακή ενδοθηλιακή λειτουργία, η οποία σχετίζεται με το οξειδωτικό stress [43]. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και ο τραυματισμός του οδηγεί στην έναρξη αθηρωμάτωσης και το σχηματισμός αθηρωματικών πλακών. Ο σχηματισμός των αθηρωματικών πλακών γίνεται με την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και την προσκόλληση τους στις θέσεις της ενδοθηλιακής βλάβης και την δημιουργία θρόμβων. Η ρήξη μιας αθηρωματικής πλάκας ενισχύει την φλεγμονή με την εναπόθεση των λευκοκυττάρων. Ακόμα ο καπνός του τσιγάρου μπορεί να διαταράξει την κυτταρική λειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων και να προκαλέσει τον θάνατό τους [42, 44] (Σχήμα 2).

Σχήμα 2: Απεικόνιση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, του τραυματισμού και θανάτου των ενδοθηλιακών κυττάρων, δημιουργώντας θέσεις για την εναπόθεση λιπιδίων και φλεγμονωδών κυττάρων. Η αθηρωματική πλάκα προκύπτει από την προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων.



EC (Endothelial Cells): ενδοθηλιακά κύτταρα, *NOS (Nitric Oxide Synthase):* συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου, *ROS (Reactive Oxygen Species):* αντιδραστικές μορφές οξυγόνου, *WBC (White Blood Cells):* λευκοκύτταρα.

Τροποποίηση από: Csordas, A., & Bernhard, D. *The biology behind the atherothrombotic effects of cigarette smoke. Nature Reviews Cardiology*, 2013. 10(4): p. 219–230.

Κατά συνέπεια η δομική ακεραιότητα και η λειτουργική δραστηριότητα του ενδοθηλίου παίζει βασικό ρόλο στην αθηρογένεση, η οποία αποτελεί μια χρόνια προοδευτική διαδικασία και οδηγεί στην εκδήλωση στεφανιαίας νόσου. Η παθοφυσιολογική σχέση μεταξύ του καπνού του τσιγάρου και της στεφανιαίας νόσου μπορεί να εξηγηθεί και από την πρόωρη γήρανση των αγγείων αλλά και την φλεγμονή, καταστάσεις που επάγονται από το κάπνισμα αλλά δεν έχουν αποδειχθεί πλήρως σε μοριακό επίπεδο [29, 45].

Οξειδωτικό stress

Το οξειδωτικό stress προκαλείται από ανισορροπία μεταξύ των δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) και / ή δραστικών μορφών αζώτου (Reactive Nitrogen Species, RNS) και των αντιοξειδωτικών αμυντικών μηχανισμών στο κύτταρο [45, 46]. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η παραγωγή των ROS είναι αποτέλεσμα του μεταβολισμού του οξυγόνου και παίζει σημαντικό ρόλο στην κυτταρική σηματοδότηση [47]. Οι ROS μπορούν να παραχθούν από ενδογενείς ή εξωγενείς πηγές. Στις ενδογενείς πηγές περιλαμβάνονται διαφορετικά κυτταρικά όργανα όπως τα μιτοχόνδρια, τα μικροσωμάτια και το ενδοπλασματικό δίκτυο, όπου η κατανάλωση οξυγόνου είναι υψηλή. Στις εξωγενείς πηγές περιλαμβάνονται εκτός των άλλων ορισμένα από τα τοξικά συστατικά του καπνού του τσιγάρου [46].

Ο ρόλος της νικοτίνης στην πρόκληση οξειδωτικού stress δεν έχει επιβεβαιωθεί. Ωστόσο, έχει προταθεί ότι η νικοτίνη προάγει το οξειδωτικό stress στο ενδοθήλιο, κυρίως μέσω της έκθεσης στις ελεύθερες ρίζες, που βρίσκονται στη σωματιδιακή φάση του καπνού των τσιγάρων[48]. Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να οριστούν ως άτομα ή μόρια με ένα ή περισσότερα μη συζευγμένα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στιβάδα. Αυτό το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο οδηγεί συνήθως σε αύξηση της αντιδραστικότητας της ελεύθερης ρίζας, η οποία έχει την ‘τάση’ να αποσπά ηλεκτρόνια από άλλες ενώσεις για να συμπληρωθεί το ζεύγος ηλεκτρονίων. Οι ελεύθερες ρίζες που προέρχονται από το οξυγόνο όπως η ρίζα του υδροξυλίου ($\text{OH}^\cdot$) και του υπεροξειδίου ή ανιόντος υπεροξειδίου ($\text{O}_2^{\cdot-}$), αντιπροσωπεύουν την πιο σημαντική κατηγορία ελευθέρων ριζών που σχηματίζονται στα βιολογικά

συστήματα. Εξίσου σημαντική είναι και η μη-ελεύθερη ρίζα του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) [45].

Η τοξικότητα του καπνού του τσιγάρου οδηγεί σε ενδογενή παραγωγή των ROS [46], που προκαλείται κυρίως από μεταβολές του ενζύμου NOS, της οξειδάσης της ξανθίνης και της ενεργοποίησης της οξειδάσης του φωσφορικού νικοτιναμιδο-αδενινοδινουκλεοτιδίου (NADPH). Το NO παράγεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα με την βοήθεια NOS που καταλύει την οξείδωση του αμινοξέος αργινίνη. Η εξασθένηση του NOS προκαλεί μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του NO που αποτελεί ένα από τα πρώτα συμβάντα της αθηρογένεσης που σχετίζεται με το κάπνισμα. Επιπλέον, η ενεργοποίηση της οξειδάσης ξανθίνης και της οξειδάσης NADPH οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή ROS όπως για παράδειγμα του ανιόντος του σουπεροξειδίου (O_2^-) το οποίο αντιδρά με το NO για να σχηματίσει ισχυρούς νιτρωτικούς παράγοντες όπως το περοξυνιτρικό ($ONOO^-$) με ισχυρή κυτταροτοξική δράση [45, 48, 49].

Επιπροσθέτως, οι μεγάλες ποσότητες ελεύθερων ριζών και οξειδωτικών ουσιών του καπνού, μπορούν να μετέχουν σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις με αποτέλεσμα να παραχθούν ROS, να προκληθεί οξειδωτικό stress και κατ' επέκταση ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [49]. Η μη ισορροπημένη και υπερβολική παραγωγή ROS σε απόκριση εξωγενών και ενδογενών ερεθισμάτων μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την υπεροξείδωση των λιπιδίων, θραύσεις των κλώνων του DNA και άλλες μορφές ενδοκυτταρικής βλάβης οι οποίες είναι ζημιογόνες για την κυτταρική δομή και λειτουργία [47]. Τα μιτοχόνδρια παρόλο που αποτελούν την κύρια πηγή ελευθέρων ριζών είναι ευαίσθητα στις βλάβες που προκαλούνται από τις ROS και RNS [45, 50].

Μιτοχόνδρια και ενδοκυτταρική βλάβη

Η κύρια λειτουργία του μιτοχονδρίου είναι η παραγωγή ενέργειας με την μορφή της τριφωσφορικής αδενοσίνης (Adenosine Triphosphate, ATP) μέσω της διαδικασίας της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και εξαρτάται από τις τρέχουσες απαιτήσεις και το

περιβάλλον του κυττάρου [50, 51]. Τα μιτοχόνδρια παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση, την ανάπτυξη, τη θερμογένεση και απόπτωση των κυττάρων [50].

Οι ουσίες που περιέχονται στον καπνό των τσιγάρων αναστέλλουν την παραγωγή ενέργειας παρεμβάλλοντας στην αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η αερόβια παραγωγή ATP [52, 53]. Ακόμα, η έκθεση στον καπνό του τσιγάρου προκαλεί μεταβολές στην μορφολογία του μιτοχονδρίου [38]. Πιο συγκεκριμένα, μεταβάλλει τον αριθμό αντιγράφων του μιτοχονδριακού DNA (Mitochondrial DNA, mtDNA) στα κύτταρα και προκαλεί βλάβη στο μιτοχονδριακό γονιδίωμα του μυοκαρδίου και των αγγειακών ιστών, γεγονός που σχετίζεται με τις καρδιαγγειακές παθήσεις [38].

Επιπλέον, το παθητικό κάπνισμα έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη δραστηριότητα της πρωτεΐνης μετατόπισης των νουκλεοτιδίων αδενίνης (Adenine Nucleotide Translocator, ANT) και της δισμουτάσης του υπεροξειδίου του υδρογόνου (Superoxide Dismutase, SOD) του μιτοχονδρίου καθώς και τη βλάβη του mtDNA στον ιστό της αορτής [53]. Τα χαμηλά επίπεδα των ANT και SOD αποτελούν δείκτες αυξημένου οξειδωτικού stress όπως και άλλα ένζυμα που χρησιμοποιούνται και ως δείκτες των βλαβών του DNA, π.χ. η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (Glutathione Peroxidase, GPx), η αναγωγή της γλουταθειόνης (Glutathione Reductase, GR) και η καταλάση και έχουν βρεθεί να είναι αυξημένα στους παθητικούς καπνιστές [50, 53].

Υπεροξείδωση λιπιδίων

Με την παρουσία των ελεύθερων ριζών και του αυξημένου οξειδωτικού stress που προκαλεί το παθητικό κάπνισμα, η χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (Low Density Lipoprotein, LDL) μετατρέπεται σε οξειδωμένη LDL (oxLDL), η οποία με τη σειρά της επιδρά στο τοίχωμα του αγγείου προκαλώντας ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [2].

Οι δείκτες υπεροξείδωσης των λιπιδίων αυξάνονται στους καπνιστές και η oxLDL αποτελεί γνωστό ισχυρό αναστολέα της εξαρτώμενης από το ενδοθήλιο διαστολής, μειώνοντας την βιοδιαθεσιμότητα του NO [29, 54]. Η αυξημένη oxLDL προκαλεί την

αποσύνδεση του eNOS η οποία έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της παραγωγής των ανιόντων σουπεροξειδίου (O_2^-) και την μείωση των επιπέδων του NO [29].

Η μειωμένη σύνθεση του NO αυξάνει την συγκολλητικότητα των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο, όπου τα συσσωρευμένα αιμοπετάλια απελευθερώνουν ισχυρούς αυξητικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου του αιμοπεταλιακού αυξητικού παράγοντα (PDGF), που δρα ως μιτογόνο ερέθισμα για τα λεία μυϊκά κύτταρα. Ο καπνός του τσιγάρου διεγείρει την προσκόλληση των μονοκυττάρων/ μακροφάγων στο ενδοθήλιο και τη μετανάστευση τους στο εσωτερικό τοίχωμα των αγγείων με την συμβολή των κυτταροκινών. Η οξειδωμένη LDL μεταφέρεται στο εσωτερικό των μακροφάγων με αποτέλεσμα να μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα που προσκολλώνται στο τοίχωμα του αγγείου και να ξεκινάει ο σχηματισμός της αθηρωματικής πλάκας. Οι κυτταροκίνες που εκλύονται από τα μακροφάγα και οι αυξητικοί παράγοντες προσελκύουν περισσότερα μακροφάγα και λεία μυϊκά κύτταρα. Ο πολλαπλασιασμός και η προσκόλληση των μακροφάγων και των λείων μυϊκών κυττάρων δημιουργούν συνδετικό ιστό σταθεροποίησης της αθηρωματικής πλάκας. Η μεταβαλλόμενη διατμητική τάση (shear stress), που δημιουργείται στην επιφάνεια του ενδοθηλίου ενισχύει την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο αυξάνοντας τα μόρια προσκόλλησής τους [54].

Η διαδικασία επιδεινώνεται περαιτέρω από την ποικιλία των ελευθέρων ριζών που παράγονται από την καύση του καπνού προκαλώντας την οξείδωση της LDL [54], η οποία παρεμβάλλει στην αναπνευστική αλυσίδα του μιτοχονδρίου, με αποτέλεσμα την αύξηση της παραγωγής των ROS από τα μιτοχόνδρια [51]. Η αθηροσκληρωτική βλάβη αναπτύσσεται και διεγείρεται συνεχώς από το κάπνισμα.[54]. Σε παλαιότερη μελέτη σε πειραματόζωα βρέθηκε ότι, κατά το παθητικό κάπνισμα, μειώνονται τα επίπεδα λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας (High Density Lipoprotein, HDL) στο πλάσμα και οι αναλογίες μεταξύ HDL και LDL, HDL και τριγλυκεριδίων και HDL και ολικής χοληστερόλης, ενώ παρατηρήθηκε και αυξημένη συσσώρευση μακροφάγων στα τοιχώματα των αρτηριών [55].

Λειτουργικότητα αιμοπεταλίων

Το παθητικό κάπνισμα ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια, αυξάνοντας τον κίνδυνο σχηματισμού θρόμβων και καταστρέφει το τοίχωμα των αρτηριών, γεγονός που οδηγεί στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης [53, 56]. Κατά τη διάρκεια σχηματισμού θρόμβων, δυο διακριτές οδοί που δρουν παράλληλα ή χωριστά μπορούν να ενεργοποιήσουν τα αιμοπετάλια: η πρώτη αφορά την ρήξη του ενδοθηλίου, όπου τα αιμοπετάλια προσκολλώνται στο σημείο της βλάβης και ενεργοποιούνται. Πιο συγκεκριμένα, τα αιμοπετάλια προσκολλώνται στο εκτεθειμένο κολλαγόνο του υποενδοθηλιακού ιστού με τη βοήθεια του διαμεσολαβητή για την σύνδεση των αιμοπεταλίων στο κολλαγόνο, παράγοντα von Willebrand (von Willebrand Factor, vWF) και γλυκοπρωτεϊνών. Η γλυκοπρωτεΐνη των αιμοπεταλίων VI αλληλοεπιδρά με το κολλαγόνο του εκτεθειμένου τοιχώματος του αγγείου και η γλυκοπρωτεΐνη Ib-V-IX με τον παράγοντα von Willebrand. Στη συνέχεια, απελευθερώνονται η διφωσφορική αδενοσίνη (ADP), η σεροτονίνη και η θρομβοξάνη A₂, οι οποίες μεταβάλλουν τη μορφολογία των αιμοπεταλίων και συμβάλλουν στην συγκόλληση και συσσώρευση άλλων αιμοπεταλίων στο σημείο της βλάβης με αποτέλεσμα την επιπλέον παραγωγή ADP και τον σχηματισμό αιμοπεταλιακού θρόμβου [44].

Η δεύτερη οδός δεν απαιτεί την συνδρομή των παραπάνω γλυκοπρωτεϊνών αλλά της θρομβίνης. Μετά από αγγειακή βλάβη, ο ιστικός παράγοντας (Tissue Factor, TF) που προέρχεται από το τοίχωμα του αγγείου (μόριο της διαμεμβρανικής επιφάνειας) εκτίθεται στην κυκλοφορία και έρχεται σε επαφή με παράγοντες πήξης με αποτέλεσμα να πυροδοτούνται ενζυμικές αντιδράσεις και να σχηματίζεται η θρομβίνη. Η θρομβίνη ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια μέσω των ειδικών διαμεμβρανικών ενεργοποιούμενων από πρωτεάσες υποδοχέων της (Protease Activated Receptors, PARs,). Οι σημαντικότεροι PARs για την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων είναι οι PAR-1 και -4. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια διεγείρουν τον σχηματισμό θρόμβου και τη συσσώρευση άλλων αιμοπεταλίων απελευθερώνοντας ADP και σερετονίνη, ενισχύοντας τα σήματα για σχηματισμό θρόμβων [44].

Η ενεργοποίηση αιμοπεταλίων, ωστόσο, δεν είναι ο μοναδικός μηχανισμός που οδηγεί στον σχηματισμό θρόμβων. Η ακεραιότητα του αγγείου είναι ζωτικής σημασίας για την πρόληψη του σχηματισμού θρόμβων. Ένα παθολογικό γεγονός όπως η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας που έχει σχηματιστεί στο αγγείο, θα οδηγήσει στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο τοίχωμα του, στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και κατ' επέκταση στον σχηματισμό θρόμβου που ενδεχομένως μπορεί να οδηγήσει στην απόφραξη του αγγείου, την ισχαιμία ή το έμφραγμα [53].

Φλεγμονή

Η φλεγμονή είναι μια διαδικασία που αφορά σε αγγειακές μεταβολές (π.χ. αγγειοδιαστολή και αυξημένη διαπερατότητα των τριχοειδών αγγείων) και κυτταρικές μεταβολές (π.χ., στρατολόγηση και ενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων) που προκαλούνται κατά την απάντηση του οργανισμού σε λοίμωξη ή γενικά ιστική βλάβη [57]. Η φλεγμονή παίζει βασικό ρόλο στην έναρξη, τη πρόοδο και τη κλινική εκδήλωση της αθηροσκλήρωσης [58].

Ακόμα και η μικρής διάρκειας έκθεση στο παθητικό κάπνισμα έχει διαπιστωθεί ότι προκαλεί σημαντικές αλλαγές σε συγκεκριμένους φλεγμονώδεις παράγοντες όπως στην C αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-Reactive Protein, CRP), στις κυτταροκίνες, στον παράγοντα νέκρωσης όγκων α (Tumor Necrosis Factor α , TNF- α), στον αριθμό των WBC, στην ομοκυστεΐνη και στο ινωδογόνο που συνοδεύονται από ενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων [34, 58]. Η CRP είναι μια γλυκοπρωτεΐνη οξείας φάσης που παράγεται από το ήπαρ και χρησιμοποιείται ευρέως ως δείκτης φλεγμονής. Αν και η δομή της είναι διαφορετική από τις ανοσοσφαιρίνες, μοιράζεται μαζί τους πολλές βιολογικές δραστηριότητες και παράγεται ως απάντηση στη δράση των κυτταροκινών, στη φλεγμονή, στη καταστροφή ιστών και στην ανάπτυξη όγκων [59].

Οι κυτταροκίνες είναι μικρού μεγέθους εξωκυττάρια πρωτεϊνικά μόρια, που παράγονται από διαφορετικούς τύπους κυττάρων όπως π.χ. τα μονοπύρρηνα μακροφάγα, τα B και T λεμφοκύτταρα, ως αποτέλεσμα επαγωγικών ερεθισμάτων και αποτελούν μηχανισμό

επικοινωνίας μεταξύ των κυττάρων, ενεργώντας μέσω ειδικών μεμβρανικών υποδοχέων στην επιφάνεια των κυττάρων-στόχων. Μετά την σύνδεση με το κύτταρο-στόχο, μεταβιβάζουν το εξωκυττάριο μήνυμα που φέρει η κάθε μια κυτταροκίνη στον ενδοκυττάριο χώρο και διεγείρουν ή αναστέλλουν κυτταρικές λειτουργίες όπως είναι η κινητικότητα, ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η απόπτωση [60]. Οι κυτταροκίνες συμμετέχουν στην φυσική και επίκτητη ανοσία, στην ανοσιακή απόκριση στην φλεγμονή και στην αιμοποίηση και χωρίζονται σε διάφορες κατηγορίες: ιντερλευκίνες (Interleukins, ILs), χημειοκίνες, ιντερφερόνες, TNF και παράγοντες ανάπτυξης (Growth Factors, GF), πολλών εκ των οποίων οι δράσεις αλληλοκαλύπτονται. Οι ιντερλευκίνες είναι η πιο σημαντική ομάδα κυτταροκινών που απελευθερώνονται κατά τη διάρκεια φλεγμονής και διαχωρίζονται σε προφλεγμονώδεις και αντιφλεγμονώδεις [61].

Οι προφλεγμονώδεις ιντερλευκίνες είναι υπεύθυνες για την ενεργοποίηση των κυττάρων, τη βλάβη και τη νέκρωση των ιστών, ενώ οι αντιφλεγμονώδεις στοχεύουν στην ύφεση και αναστροφή της φλεγμονώδους διαδικασίας [61]. Στις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες συμπεριλαμβάνονται οι IL-1b, TNF-α και IL-6 [57]. Η IL-6 παράγεται κυρίως από τα T και B λεμφοκύτταρα και τα μονοκύτταρα/ μακροφάγα και είναι υπεύθυνη για την έναρξη και διατήρηση της φλεγμονής και την αναστολή παραγωγής του TNF και της IL-1 από τα μακροφάγα κύτταρα. Στις αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες συμπεριλαμβάνονται οι IL-1ra, IL-4, IL-10, IL-11 και IL-13. Η IL-10 παράγεται κυρίως από τον τύπο Th2 των CD4 + T λεμφοκυττάρων, τα μονοκύτταρα και B λεμφοκύτταρα και αποτελεί την πιο σημαντική αντιφλεγμονώδη κυτταροκίνη της απόκρισης του ανθρώπινου ανοσοποιητικού συστήματος και έναν ισχυρό αναστολέα της IL-2, αναστέλλοντας την απόκριση των Th1 λεμφοκυττάρων που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή της [62, 63]. Η IL-2 διεγείρει την ανάπτυξη και την διαφοροποίηση των T και B λεμφοκυττάρων, των μονοκυττάρων/ μακροφάγων και των κυττάρων φυσικών φονέων (Natural Killer, NK). Επίσης, δρα στα μονοκύτταρα για να αυξήσει την έκκριση της IL-1 [60].

Η έκθεση στον καπνό του τσιγάρου μπορεί να επηρεάσει την ισορροπία μεταξύ της Th1 και Th2 ανοσολογικής απάντησης, κυρίως μεταβάλλοντας την λειτουργία διαφορετικών τύπων ανοσοκυττάρων. Η παραγωγή των IL-6, IL-8 και IL-10 έχει αποδειχθεί

ότι μειώνεται από την νικοτίνη του καπνού και ένας πιθανός μηχανισμός αποτελεί η ενεργοποίηση του $\alpha 7$ νικοτινικού υποδοχέα ακετυλοχολίνης στα μακροφάγα, T και B κύτταρα. Επιπλέον, μετά την έκθεση στον καπνό ενεργοποιείται η παραγωγή μίας σειράς ισχυρών προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών με διαδοχική στρατολόγηση μακροφάγων και ουδετερόφιλων κυττάρων στην ιστική βλάβη [63].

Ορισμένες κυτταροκίνες όπως οι IL-6 και IL-8 επηρεάζουν την έκφραση μιας άλλης πολυδύναμης κυτταροκίνης, του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) [64]. Ο VEGF είναι ένας ισχυρός ρυθμιστής της φυσιολογικής και παθολογικής αγγειογένεσης, συμβάλλει στην αποκατάσταση της βλάβης των ιστών, επιδρά στα κύτταρα του αίματος, ενώ έχει και μιτωτική δράση στο αγγειακό ενδοθήλιο. Η παραγωγή του VEGF επάγεται και από την ιστική υποξία [65].

Τέλος, η ανάλυση των κυτταροκινών επιτυγχάνεται με την χρήση της κυτταρομετρίας ροής (Flow Cytometry, FCM) που έχει τη δυνατότητα μέτρησης πολλών χαρακτηριστικών (οπτικών και φθοριζόντων) ενός μόνο κυττάρου ή άλλων σωματιδίων όπως ο πυρήνας [66, 67]. Η βασική αρχή της FCM είναι η ακτινοβολήση των κινούμενων σωματιδίων, η ανίχνευση της σκέδασης που σχετίζεται άμεσα με τις δομικές και μορφολογικές ιδιότητες του κυττάρου και η ανίχνευση του φθορίζοντος φωτός που προέρχεται από τα κύτταρα ή το κυτταρικό συστατικό (που έχει υποστεί επεξεργασία με ειδικά αντισώματα). Τέλος, η εκπεμπόμενη ακτινοβολία, σκεδάζουσα και φθορίζουσα, καταλήγει σε ειδικούς ανιχνευτές όπου το φωτεινό σήμα μετατρέπεται σε ηλεκτρονικό και μετέπειτα σε ψηφιακό ώστε να ολοκληρωθεί η ανάλυση σε ηλεκτρονικό υπολογιστή [67].

4. Μέθοδοι εκτίμησης της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα

Οι ειδικές, αξιόπιστες και ακριβείς μετρήσεις της έκθεσης σε προϊόντα καπνού είναι απαραίτητες για την ανίχνευση και την επιβεβαίωση της χρήσης του και για την εκτίμηση των δυνητικών βιολογικών επιδράσεων του στον άνθρωπο [68]. Η επιλογή του κατάλληλου δείκτη έκθεσης είναι πολύ σημαντική για τον ακριβή χαρακτηρισμό του είδους και της έκτασης της έκθεσης και εξαρτάται από το σκοπό και τη φύση της μελέτης, τα χαρακτηριστικά του πληθυσμού-στόχου και τη διαθεσιμότητα των δεικτών έκθεσης [15].

Η χρήση των προϊόντων καπνού έχει ως αποτέλεσμα την πρόσληψη νικοτίνης και ενός ευρέως φάσματος άλλων χημικών ουσιών [68]. Αυτές οι χημικές ουσίες και οι μεταβολίτες τους, μετρούμενες σε σωματικά υγρά όπως το σάλιο, το αίμα και τα ούρα, ιστούς και άλλα βιολογικά υλικά όπως οι τρίχες και τα νύχια, αποτελούν βιοδείκτες έκθεσης [68, 69]. Οι βιοδείκτες έκθεσης στον καπνό και στα σύγχρονα προϊόντα διανομής της νικοτίνης περιορίζονται στις χημικές ουσίες που έχουν ληφθεί κατά τη χρήση του προϊόντος ή κατά την έκθεση στις εκπομπές αυτού [68].

Το αίμα χρησιμεύει ως η πηγή ανίχνευσης για πολλούς βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση της έκθεσης σε καπνό και τα αποτελέσματα αυτής [69]. Η νικοτίνη είναι αλκαλοειδές που απαντάται σε αφθονία στα φύλλα καπνού. Τα επίπεδα νικοτίνης του πλάσματος μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της πρόσληψης της και των φαρμακολογικών της επιδράσεων μέσα σε ένα συγκεκριμένο χρονικό πλαίσιο έκθεσης, λόγω του μικρού χρόνου ημίσειας ζωής της (δύο ώρες) [70]. Βέβαια, η πρωταρχική προσέγγιση των επιστημονικών μελετών για την έκθεση στο κάπνισμα ήταν η ανίχνευση της κοτινίνης, του κύριου μεταβολίτη της νικοτίνης, που απεκκρίνεται στα ούρα [69].

Η κοτινίνη είναι ένας βιοδείκτης με μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής από την νικοτίνη (16-18 ώρες) και χρησιμοποιείται ως δείκτης της συνολικής έκθεσης στον καπνό [69]. Παράλληλα, η λήψη των ούρων είναι εύκολη, ενώ στα ούρα συσσωρεύονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, σε σχέση με άλλα βιολογικά υγρά, ορισμένοι βιοδείκτες έκθεσης, αυξάνοντας έτσι την ευαισθησία της εξέτασης. Τα κύρια μειονεκτήματα στην

επιλογή αυτού του βιολογικού υγρού είναι οι νεφρικές παθήσεις και η λήψη ορισμένων φαρμάκων που μπορεί να επηρεάσουν την κάθαρση ορισμένων βιοδεικτών [15]. Πιο συγκεκριμένα, τα επίπεδα κοτινίνης τόσο στα ούρα όσο και στο αίμα επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες, όπως η εγκυμοσύνη, το φύλο, η γενετική μεταβλητότητα και ορισμένες ασθένειες [70]. Ο προσδιορισμός της κοτινίνης στο αίμα αποτελεί λιγότερο κατάλληλη μέθοδο για την αξιολόγηση της έκθεσης γιατί αφενός η λήψη του αίματος είναι επεμβατική αλλά και οι συγκεντρώσεις της είναι από 4 έως 6 φορές χαμηλότερες απ' ότι στα ούρα [15].

Η έκθεση στο παθητικό κάπνισμα δεν περιορίζεται μόνο σε μια τοξική ουσία αλλά αφορά στην πρόσληψη ευρέος φάσματος τοξικών ουσιών, όπου λόγω της υψηλής τους τοξικότητας μπορούν να αποτελέσουν δείκτες έκθεσης ιδιαίτερου επιστημονικού ενδιαφέροντος. Άλλοι μη εξειδικευμένοι βιοδείκτες που μπορούν να συνδυαστούν με την ανάλυση της κοτινίνης είναι οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, διάφορα είδη πτητικών οργανικών ενώσεων, μέταλλα και το μονοξείδιο του άνθρακα [15].

Συνάμα, μπορεί να μετρηθούν βιοδείκτες, όπως η CRP, το ινωδογόνο και ο παράγοντας von Willebrand, των οποίων η συγκέντρωση μεταβάλλεται από την αντίδραση του οργανισμού στο κάπνισμα, η δε μέτρηση τους γίνεται με διαδοδομένες και ευρέως διαθέσιμες δοκιμασίες και εξοπλισμό [69].

Μια άλλη προσέγγιση της αξιολόγησης της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα είναι η μέτρηση των συγκεντρώσεων ουσιών, που παράγονται από την καύση του καπνού στον αέρα του μικροπεριβάλλοντος των ατόμων που εκτίθενται. Το μικροπεριβάλλον ορίζεται ως η σταθερή τοποθεσία στην οποία ένα άτομο εκτίθεται στο παθητικό κάπνισμα ή σε άλλο ρύπο. Χαρακτηριστικά μικροπεριβάλλοντα είναι η κατοικία, ο χώρος εργασίας, χώροι εστίασης, το σχολείο ή το αυτοκίνητο. Σημαντικό ρόλο στον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων έκθεσης έχουν τα χαρακτηριστικά του χώρου όπως το μέγεθος και ο εξαερισμός και τα προϊόντα του καπνού που χρησιμοποιούνται. Στους δείκτες προσδιορισμού της έκθεσης στον περιβάλλοντα χώρο περιλαμβάνονται η νικοτίνη, τα

αιωρούμενα σωματίδια (Particulate Matter – PM), οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες και το CO [25].

Οι επιπτώσεις των αιωρούμενων σωματιδίων, διαμέτρου μεγαλύτερης των 2,5 μm (PM_{2,5}), στην νοσηρότητα και την θνησιμότητα αποτελούν αντικείμενο μελέτης τα τελευταία χρόνια. Τα σωματίδια αυτά αποτελούν σοβαρό κίνδυνο για την υγεία, προκαλώντας καρδιαγγειακές και αναπνευστικές παθήσεις, με αποτέλεσμα πολλά κράτη ανά τον κόσμο να θέτουν συγκεκριμένα όρια στις συγκεντρώσεις τους στον αέρα, τα οποία δεν πρέπει να ξεπεραστούν. Η ποιότητα του αέρα αξιολογείται από συγκεκριμένα δίκτυα παρακολούθησης με βάση τις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις. Παράλληλα, έχουν προσελκύσει πρόσφατα την προσοχή κάποιες χαμηλού κόστους συσκευές παρακολούθησης και καταγραφής των συγκεντρώσεων PM με υψηλή εκτίμηση μεταβολής των συγκεντρώσεων PM στο χώρο και το χρόνο [71]. Η ιδιαίτερη σημασία που έχει δοθεί στην εκτίμηση των συγκεντρώσεων PM οφείλεται στο γεγονός ότι η συντριπτική πλειονότητα των χημικών ουσιών κατά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα προσδιορίζονται στην σωματιδιακή φάση, συμπεριλαμβανομένης της νικοτίνης και πολλών άλλων όπως για παράδειγμα των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων [3].

Τα όργανα μέτρησης των PM_{2,5} σε πραγματικό χρόνο μπορούν να παράγουν χρήσιμες πληροφορίες για το πως αλλάζει το επίπεδο της έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα με την πάροδο του χρόνου σε συγκεκριμένο εσωτερικό χώρο. Επίσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ενημέρωση των καπνιστών ως προς την αλλαγή της ποιότητας του αέρα στον χώρο σε σχέση με την ένταση του καπνίσματος και για τη σύγκριση των συγκεντρώσεων σε σχέση με τα μέσα επίπεδα ασφαλείας που έχει θέση ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας σε 24ωρη βάση (25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) [72].

5. Η δομή και λειτουργία της μικροκυκλοφορίας

Η μικροκυκλοφορία είναι το κεντρικό τμήμα του καρδιαγγειακού συστήματος και αποτελείται από αιμοφόρα αγγεία με διάμετρο $<100-150\ \mu\text{m}$ [73]. Η κύρια λειτουργία της είναι να παραδίδει οξυγόνο (DO_2) στα κύτταρα και η διατήρηση της οξυγόνωσης των ιστών [74], μέσα από μια συντονισμένη αλληλεπίδραση μεταξύ των αρτηριών, των φλεβών και των τριχοειδών [75]. Παράλληλα, συμβάλει στην παροχή θρεπτικών συστατικών και στην απομάκρυνση των μεταβολικών παραπροϊόντων από σχεδόν όλα τα κύτταρα του σώματος. Το δίκτυο της μικροκυκλοφορίας είναι με τέτοιο τρόπο δομημένο ώστε να παρέχει μέγιστο έργο ελαχιστοποιώντας ταυτόχρονα τον χώρο που καταλαμβάνει [76].

Η φυσιολογική μικροκυκλοφορία χαρακτηρίζεται από ένα πυκνό δίκτυο τριχοειδών με ελάχιστη ετερογένεια. Η ροή της αιμάτωσης στα τριχοειδή ποικίλει ανάλογα με τις μεταβολικές ανάγκες των γύρω ιστών. Η προσαρμογή στις μεταβολικές ανάγκες επιτυγχάνεται με την διαστολή και συστολή των τριχοειδών αγγείων και την προσαρμογή της ταχύτητας των κυκλοφορούντων κυττάρων μέσα σε αυτά [74]. Ο έλεγχος της αιματικής ροής γίνεται με τους προτριχοειδικούς σφιγκτήρες, οι οποίοι επηρεάζονται εν μέρει από συστημικούς παράγοντες, τη συμπαθητική διέγερση και διάφορα κυκλοφορούντα στοιχεία [74]. Τα κύρια είδη κυττάρων που εμπλέκονται στην μικροκυκλοφορία είναι τα ερυθρά και λευκά αιμοσφαίρια, τα αιμοπετάλια, τα κύτταρα του λείου μυϊκού ιστού και τα ενδοθηλιακά κύτταρα [77, 78].

Το ενδοθήλιο αποτελεί τον εσωτερικό χιτώνα του τοιχώματος των αγγείων που βρίσκεται σε άμεση επαφή με το αίμα, διατηρεί την ακεραιότητα του αγγείου και ελέγχει τον αγγειακό τόνο, τη φλεγμονώδη διαδικασία, την κυτταρική προσκόλληση και τον σχηματισμό θρόμβων [53, 79]. Ο έλεγχος του αγγειακού τόνου επιτυγχάνεται μέσω της σύνθεσης και απελευθέρωσης μια σειράς αγγειοδραστικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των αγγειοδιασταλτικών προσταγλανδινών, του NO και του ενδοθηλιακού υπερπολωτικού παράγοντα (Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor, EDHF) [76, 80]. Οι διάφορες μεταβολικές διαταραχές σε κυτταρικό επίπεδο όπως π.χ. το οξειδωτικό στρες, επηρεάζουν τους ενδοθηλιακούς παράγοντες και οι παθολογικές

διεργασίες που προκύπτουν οδηγούν σε διαταραχές της λειτουργίας της μικροκυκλοφορίας [80].

Επομένως, η φυσιολογική λειτουργία του ενδοθηλίου είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της δομικής και λειτουργικής ακεραιότητας του αγγειακού δικτύου, με αποτέλεσμα η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία να συνεπάγεται την έναρξη, την πρόοδο και τις κλινικές επιπλοκές της αγγειακής νόσου [81], ενώ η κατάσταση της μικροκυκλοφορίας να μπορεί να θεωρηθεί ένας σημαντικός προγνωστικός δείκτης [74]. Το κάπνισμα προκαλεί αγγειακή ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, εξασθένηση της αγγειοδιαστολής που εξαρτάται από το ενδοθήλιο, ενεργοποίηση των παραγόντων πήξης του αίματος και αυξημένο ιξώδες του αίματος, καταστάσεις που αναστρέφονται με την διακοπή του καπνίσματος και έχουν εκτιμηθεί με διάφορες μεθόδους [82, 83].

6. Μέθοδοι εκτίμησης της μικροκυκλοφορίας

Η μελέτη της μικροκυκλοφορίας είναι εξίσου σημαντική τόσο σε πειραματικό όσο σε κλινικό επίπεδο [84]. Οι διαφορετικού βαθμού διαταραχές της μικροκυκλοφορίας έχουν ως αποτέλεσμα την υποάδρευση και την ανεπάρκεια των ιστών και έχουν συσχετιστεί με τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως π.χ. στην σήψη και στον διαβήτη [76, 78, 84]. Η μικροκυκλοφορία μπορεί να εξεταστεί ευκολότερα στην περιφέρεια, π.χ. στο δέρμα, στους βλεννογόνους και στα αγγεία των άκρων [76]. Τα τελευταία χρόνια, έχουν αναπτυχθεί νέες τεχνολογίες πάνω σε αυτόν τον τομέα όπως η φασματοσκοπία εγγύς υπέρυθρου (Near Infrared Spectroscopy, NIRS), η βιντεομικροσκοπία και το σύστημα Λέιζερ Ντόπλερ (Laser Doppler) [84]. Ακόμα μια νέα μέθοδος μελέτης της μικροκυκλοφορίας του δέρματος είναι η Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA), όπου εκτιμάται η *in vivo* και σε πραγματικό χρόνο ιστική άρδευση [85].

Φασματοσκοπία εγγύς υπέρυθρου (Near Infrared Spectroscopy)

Από το 1977, ο Franz Jöbsis έχει αναφερθεί στις δυνατότητες της μεθόδου NIRS. Προσπαθώντας να αναπτύξει μια οπτική μέθοδο για την *in vivo* μέτρηση των αλλαγών του ενζύμου οξειδάση του κυτοχρώματος c, ανακάλυψε ότι το εγγύς υπέρυθρο φως εισχωρεί βαθιά στους ιστούς και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να καταγράφει τις αλλαγές στις συγκεντρώσεις των ενώσεων που το απορροφούν μέσα σ' αυτούς [86].

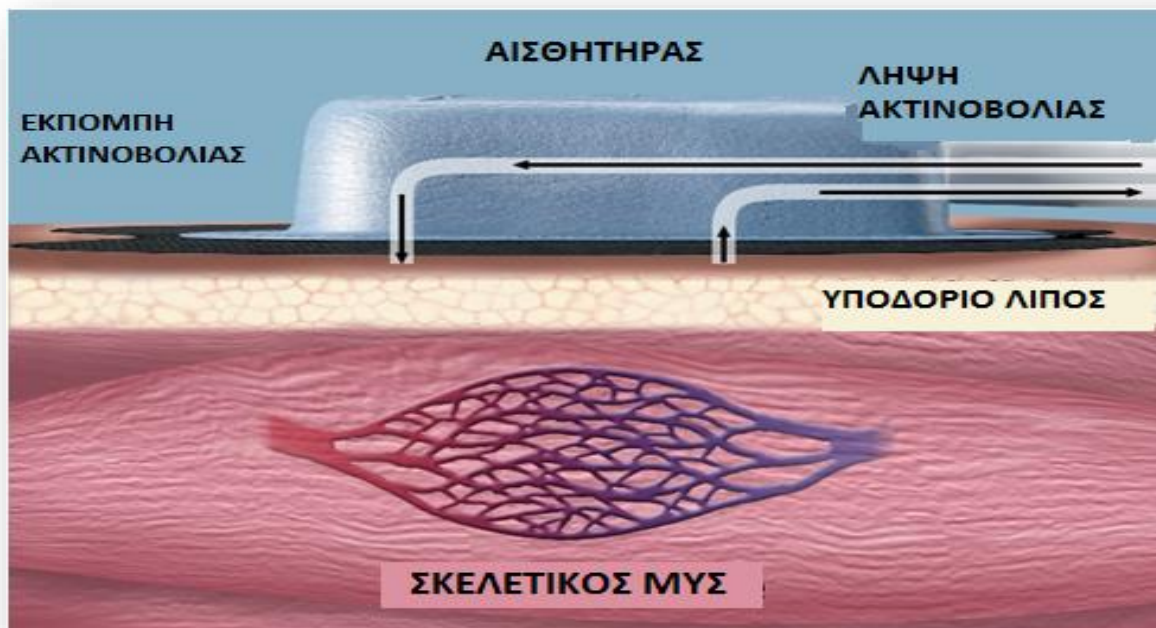
Η NIRS έχει αποδειχθεί ένα αξιόπιστο ερευνητικό και κλινικό εργαλείο αξιολόγησης της μικροκυκλοφορίας με δυνατότητα για συνεχή μέτρηση της οξυγόνωσης των ιστών (Tissue Oxygen Saturation, StO₂) [84, 87]. Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι μη επεμβατική και εύκολα εφαρμόσιμη και έχει χρησιμοποιηθεί σε αθλητές, υγιή άτομα και ασθενείς με χρόνιες παθήσεις ή τραυματισμούς [88, 89]. Η NIRS εφαρμόζεται για την μελέτη των σκελετικών μυών αλλά και άλλων ιστών όπως ο εγκέφαλος. Το μήκος της διαδρομής του φωτός ποικίλει ανάλογα με τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ιστών μέσω των οποίων διέρχεται, όπως οι μύες και ο λιπώδης ιστός, τον όγκο του αίματος και την κίνηση από τις συσπάσεις των μυών [88]. Ο μυς του θένaros χρησιμοποιείται πιο συχνά για την εφαρμογή

του αισθητήρα γιατί η πρόσβαση σε αυτόν είναι πιο εύκολη σε σύγκριση με άλλα σημεία του σώματος [89], ο λιπώδης ιστός είναι λεπτότερος σε σύγκριση για παράδειγμα με του μηρού (που επίσης χρησιμοποιείται ευρέως), ενώ μπορεί να εφαρμοστεί με ευκολία και η τεχνική του αγγειακού αποκλεισμού [90, 91] όπως φαίνεται και στην εικόνα 3. Για την ακρίβεια των μετρήσεων πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η ύπαρξη οιδήματος και να διατηρείται σταθερή η θερμοκρασία περιβάλλοντος [91].



Εικόνα 3: Η συσκευή NIRS και η εφαρμογή του ανιχνευτή στον μυ του θένaros (Inspectra, Hutchinson Technology Incorporated).

Το φως που μεταδίδεται από τον αισθητήρα έχει βάθος διείσδυσης περίπου 12,5 mm [92]. Οι συσκευές χρησιμοποιούν μήκη κύματος στην περιοχή των 700-850 nm [88]. Ο αισθητήρας μπορεί να μετρήσει τις αλλαγές στην οξυαιμοσφαιρίνη (HbO_2) και στη δεοξυαιμοσφαιρίνη (HHb) μέσω του τροποποιημένου νόμου Beer- Lambert [86]. Πιο συγκεκριμένα, το εγγύς υπέρυθρο φως της NIRS έχει την ικανότητα διαπερνώντας το δέρμα και τα οστά της επιλεγμένης περιοχής να φτάνει στον μυϊκό ιστό και να απορροφάται από χρωμοφόρα μόρια (αιμοσφαιρίνη, μυοσφαιρίνη, κυτοχρώματα). Η αιμοσφαιρίνη αποτελεί το χρωμοφόρο μόριο που απορροφά το μεγαλύτερο μέρος της υπέρυθρης ακτινοβολίας αλλά η HHb και η HbO_2 διαφέρουν στον βαθμό απορρόφησης της υπέρυθρης ακτινοβολίας. Με την μέθοδο αυτή παρέχονται πληροφορίες για το μέσο όρο κορεσμού της αιμοσφαιρίνης σε οξυγόνο στο αγγειακό δίκτυο των ιστών, δηλ. των αρτηριδίων, τριχοειδών αγγείων και φλεβών [91] (Εικόνα 4).



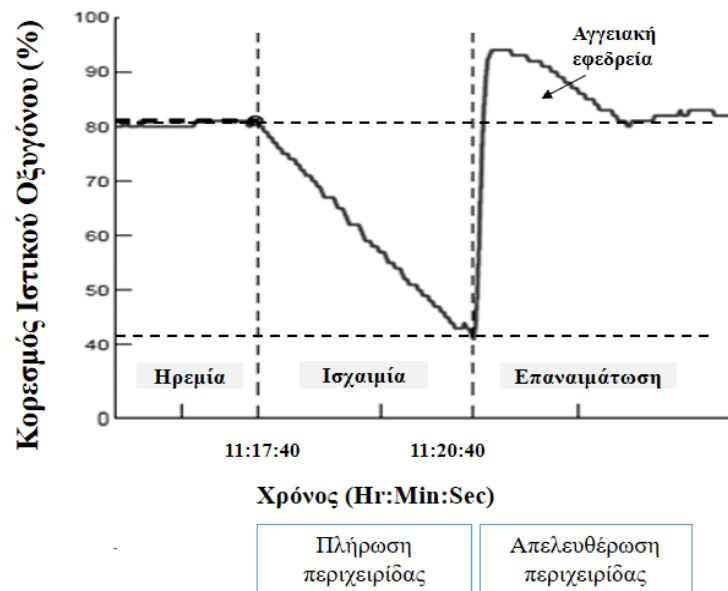
Εικόνα 4: Καταγραφή μικροκυκλοφορίας με NIRS: από το ένα κανάλι εκπέμπει την ακτινοβολία στον σκελετικό μυ, καταγράφει το StO_2 στα τριχοειδή, αρτηρίδια και φλεβίδια και από το δεύτερο γίνεται η λήψη της ακτινοβολίας.

Ο συνδυασμός της NIRS με απλές φυσιολογικές παρεμβάσεις, όπως η φλεβική ή αρτηριακή απόφραξη επιτρέπει δυναμικές μετρήσεις στους σκελετικούς μύες [90]. Η τεχνική του αγγειακού αποκλεισμού (Vascular Occlusion Test, VOT) είναι μια δυναμική δοκιμασία που μελετά τις αλλαγές στην μικροκυκλοφορία και τον κορεσμό του οξυγόνου του σκελετικού μυ, ως απάντηση στην παροδική πρόκληση ισχαιμίας [93]. Αποτελείται από τη φάση της ισχαιμίας και από τη φάση της επαναιμάτωσης [87].

Πιο συγκεκριμένα, η δοκιμή αυτή γίνεται με την πρόκληση αρτηριακής απόφραξης με την εφαρμογή περιχειρίδας σφυγμομανομέτρου στον βραχίονα. Καταγράφονται οι τιμές του ιστικού οξυγόνου του θέναρους στην φάση της ηρεμίας (Baseline StO₂). Εν συνεχεία προκαλείται ισχαιμία με την πλήρωση της περιχειρίδας με αέρα, ώστε η εφαρμοζόμενη πίεση να είναι 30 - 50 mmHg μεγαλύτερη από την συστολική αρτηριακή πίεση. Ο αγγειακός αποκλεισμός διατηρείται για 3 ή 5 λεπτά και στη συνέχεια απελευθερώνεται ο αέρας της περιχειρίδας. Η παρακολούθηση του StO₂ γίνεται μέχρι να επανέλθει σε φάση ηρεμίας (Baseline). Η διάρκεια του VOT εξαρτάται από την αντοχή του ατόμου στον πόνο που εφαρμόζεται η τεχνική. Ο πόνος μπορεί να επηρεάσει το αποτέλεσμα προκαλώντας αγγειοσυστολή [91].

Με τον αγγειακό αποκλεισμό εκτιμάται ο ρυθμός κατανάλωσης του οξυγόνου (O₂ Consumption Rate, OCR) στον σκελετικό μυ στην φάση της ισχαιμίας. Στη συνέχεια, όταν αρθεί η αρτηριακή απόφραξη, υπολογίζεται ο ρυθμός επαναιμάτωσης (Reperfusion Rate, RR) [91, 94]. Επίσης, με τον αγγειακό αποκλεισμό εκτιμάται και η αγγειακή εφεδρεία από το εμβαδό της καμπύλης πάνω από την τιμή ηρεμίας του ιστικού οξυγόνου (Area Under the Curve, AUC) [89] (Σχήμα 3).

Σχήμα 3: Καμπύλη μεταβολής $StO_2\%$ κατά την εφαρμογή αγγειακού αποκλεισμού, χρονικής διάρκειας 3 λεπτών. Φαίνεται η πτώση του StO_2 στην φάση ισχαιμίας και η αύξηση του στην φάση επαναιμάτωσης. Η αγγειακή εφεδρεία αποτυπώνεται στην καμπύλη πάνω από την τιμή ηρεμίας.



Πιο συγκεκριμένα, οι τιμές StO_2 υποδεικνύουν την ισορροπία μεταξύ παροχής και κατανάλωσης οξυγόνου. Η πτώση του StO_2 κατά τη διάρκεια της αγγειακής απόφραξης αντιστοιχεί στην OCR των ιστών, αντανακλώντας τον οξειδωτικό μεταβολισμό των υποκείμενων σκελετικών μυών σε κατάσταση ηρεμίας [84, 91, 95]. Η RR που καταγράφεται με τη NIRS καθώς και η AUC είναι δείκτες της αντιδραστικότητας της μικροκυκλοφορίας [92, 96]. Η μεθοδολογία της NIRS έχει ήδη χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση των οξέων επιδράσεων στην μικροκυκλοφορία κατά την διάρκεια ενεργητικού καπνίσματος [89] και σε συγκριτική μελέτη μεταξύ υγιών καπνιστών και μη καπνιστών [87].

V. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Υπόθεση

Η έκθεση στο παθητικό κάπνισμα έχει θεωρηθεί υπεύθυνη για εκατοντάδες χιλιάδες θανάτους παγκοσμίως, σημαντικό ποσοστό των οποίων αποδόθηκε στην εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου. Οι προτεινόμενοι επιβλαβείς διαμεσολαβητικοί μηχανισμοί, που πιθανόν διεγείρουν την εμφάνιση του παραπάνω φαινομένου είναι η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, η αυξημένη φλεγμονή, το οξειδωτικό stress, οι μιτοχονδριακές βλάβες και ο μειωμένος ενεργειακός μεταβολισμός. Εντούτοις, η επίδραση του παθητικού καπνίσματος στη μικροκυκλοφορία δεν έχει μελετηθεί επαρκώς. Λίγες υπάρχουσες μελέτες αφορούν κυρίως την εκτίμηση της επίδρασης του παθητικού καπνίσματος στην ταχύτητα ροής του αίματος σε ειδικά τριχοειδικά αγγεία. Ωστόσο, δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με την οξεία επίδραση του παθητικού καπνίσματος στην οξυγόνωση των ιστών, την κατανάλωση οξυγόνου και τη μικροαγγειακή αντιδραστικότητα, τα οποία εκτιμούν συνολικά τη λειτουργική αλληλεπίδραση μεταξύ των μεταβολών της μικροκυκλοφορίας και του οξειδωτικού μεταβολισμού των ιστών. Αυτές οι πληροφορίες παρέχονται από τη φασματοσκοπία εγγύς υπερύθρου (NIRS), με την τεχνική αγγειακού αποκλεισμού, μέθοδος που έχει εφαρμοστεί κατά την διαδικασία του ενεργητικού καπνίσματος. Συνεπώς, υποθέσαμε ότι το παθητικό κάπνισμα μπορεί να επιδράσει αρνητικά στους δείκτες της NIRS συγκεκριμένου υπό μελέτη σκελετικού μυός, με τρόπο παρόμοιο αυτού του ενεργητικού καπνίσματος.

Επιπλέον, όπως προαναφέρθηκε, η φλεγμονώδης αντίδραση κατά τη διάρκεια του παθητικού καπνίσματος αυξάνει την εκδήλωση καρδιαγγειακής νόσου. Υποθέσαμε λοιπόν ότι η CRP, δείκτης φλεγμονής, και μια σημαντική ομάδα κυτταροκινών, οι ιντερλευκίνες και ο παράγοντας VEGF, που απελευθερώνονται κατά τη διάρκεια της φλεγμονής και αποτελούν αντικείμενο έρευνας διεθνώς, θα επηρεάζονται κατά την οξεία έκθεση στο παθητικό κάπνισμα.

2. Σκοπός

Πρωτεύων σκοπός της μελέτης ήταν να αξιολογηθούν οι οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος σε δείκτες της μικροκυκλοφορίας, όπως αυτοί εκτιμώνται με τη NIRS, σε υγιείς ενήλικες που δεν εκτίθενται συνήθως στον καπνό του τσιγάρου. Δευτερεύοντες στόχοι ήταν να μελετηθεί στον ίδιο πληθυσμό ένας ισχυρός διαμεσολαβητής της αγγειογένεσης και της αγγειακής διαπερατότητας (VEGF) και να αξιολογηθούν παράγοντες, όπως οι κυτταροκίνες, που εκκρίνονται κατά την διάρκεια της φλεγμονής.

3. Υλικό και μεθοδολογία

3.1. Πληθυσμός της μελέτης

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν δεκαέξι μη καπνιστές, υγιείς εθελοντές. Η μελέτη έλαβε χώρα στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «ο Ευαγγελισμός». Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από το Επιστημονικό συμβούλιο και την Επιτροπή Ηθικής του νοσοκομείου και ήταν σύμφωνη με τις αρχές της Διακήρυξης του Ελσίνκι. Όλοι οι εθελοντές ενημερώθηκαν σχετικά με τους στόχους και τις μεθόδους της μελέτης και έδωσαν τη γραπτή συγκατάθεσή τους.

Τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν:

- η συχνή περιβαλλοντική έκθεση στον καπνό του τσιγάρου,
- η εγκυμοσύνη,
- το σκουρόχρωμο δέρμα,
- ο δείκτης μάζας σώματος μεγαλύτερος από 30 kg/m^2 ,
- το ιστορικό αναπνευστικών ή καρδιαγγειακών παθήσεων και
- η αναιμία.

3.2. Σχεδιασμός της μελέτης

Όλες οι μετρήσεις έγιναν σε χώρο συγκεκριμένων διαστάσεων και ελεγχόμενο ως προς την θερμοκρασία (21 έως 22°C) και το φως περιβάλλον, χρησιμοποιώντας συγκεκριμένο τυποποιημένο εξοπλισμό.

Η έκθεση σε σωματίδια μετρήθηκε σε πραγματικό χρόνο με την συσκευή Dylos DC1700 (Dylos Corporation, Riverside, California, ΗΠΑ), που παρακολουθεί την ποιότητα του αέρα σε εσωτερικό μικροπεριβάλλον. Η συγκεκριμένη συσκευή παρέχει χρήσιμες πληροφορίες χρησιμοποιώντας τεχνική σκέδασης φωτός με λέιζερ για τη μέτρηση του αριθμού των σωματιδίων, σε δύο μεγέθη εύρους σωματιδίων ($> 0,5$ και $> 2,5 \mu\text{m}$) και

παρέχει μετρήσεις εκφρασμένες ανά 0,01 κυβικό πόδι (0,283 λίτρα) [72, 97]. Στην παρούσα μελέτη η καταγραφή των αιωρούμενων σωματιδίων παρουσιάζεται στον πίνακα 1. Σύμφωνα με τον καθορισμό των καμπυλών βαθμονόμησης PM2.5 των Dacunto και συν. [98] είναι αρκετά τοξικό περιβάλλον ($>25\mu\text{g}/\text{m}^3$).

Πίνακας 1: Καταγραφή των αιωρούμενων σωματιδίων με την συσκευή Dyllos DC1700 στο περιβάλλον όπου πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις.

Σωματίδια	Ελάχιστη τιμή	Μέγιστη τιμή	Μέσος όρος
Μικρά	129	3265	484,5
Μεγάλα	0	332	48,4

Μονάδα μέτρησης: particles per 0.01 cu.ft

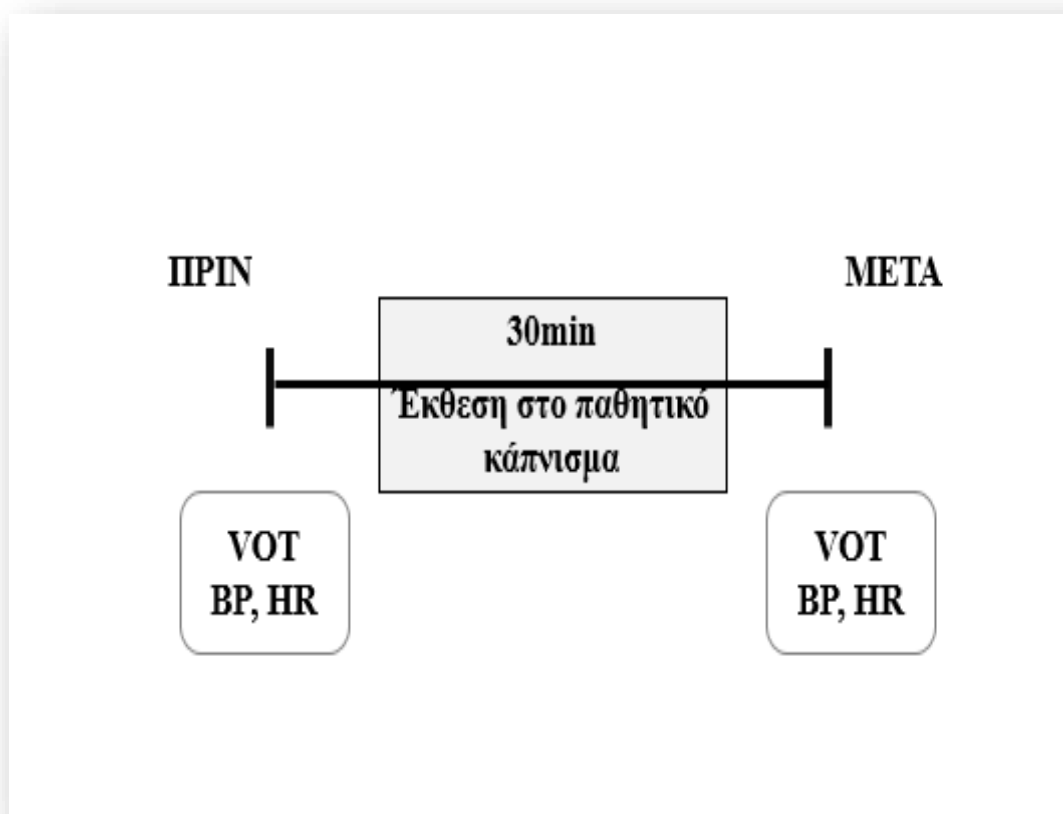
Η συσκευή NIRS (Hutchinson, InSpectra Model 650, Hutchinson Technology, Hutchinson MN, USA) χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση του StO_2 στον μυ του θέναρος λόγω μικρού πάχους του υποδόριου λιπώδους ιστού και της εύκολης εφαρμογής της περιχειρίδας με τον αεροθάλαμο πάνω από τον αγκώνα [90, 96]. Οι παράμετροι που προέκυψαν από τη NIRS παρακολουθήθηκαν από το λογισμικό InSpectra. Οι καμπύλες StO_2 αναλύθηκαν, εκτός σύνδεσης, με το πρόγραμμα ανάλυσης InSpectra, έκδοση 4.01, Hutchinson Technology.

3.2.1. Φάσεις μετρήσεων

Οι μετρήσεις έγιναν πρωινές ώρες ενώ οι συμμετέχοντες ήταν νηστικοί για τουλάχιστον 3 ώρες και δεν είχαν καταναλώσει αλκοόλ και καφεΐνη για τουλάχιστον 12 ώρες. Η διαδικασία των μετρήσεων ήταν η ακόλουθη:

Κάθε άτομο ήταν άνετα καθισμένο και βρισκόταν σε ανάπαυση για τουλάχιστον 15 λεπτά πριν από τις μετρήσεις. Έγινε λήψη του ιατρικού ιστορικού και καταγράφηκε το ύψος και το βάρος των συμμετεχόντων. Επίσης, μετρήθηκαν η αρτηριακή πίεση (Blood Pressure, BP) με τη μέθοδο της ακρόασης, για την οποία χρησιμοποιήθηκε σφυγμομανόμετρο και στηθοσκόπιο, και ο καρδιακός ρυθμός (Heart Rate, HR). Οι βασικές μετρήσεις NIRS έγιναν σε όλα τα άτομα, πριν από την έκθεση, σε περιβάλλον χωρίς καπνό. Ομοίως, πραγματοποιήθηκαν οι προαναφερθείσες μετρήσεις κατά την δεύτερη φάση της μελέτης, αφού οι συμμετέχοντες παρέμειναν σε δωμάτιο μολυσμένο με καπνό, που προερχόταν από την καύση τσιγάρων και από ενεργητικό κάπνισμα (περίπου 10-15 τσιγάρα με νικοτίνη 0,7-0,8 mg) για μισή ώρα (30min).

Οι μετρήσεις σε κάθε φάση έγιναν με την εφαρμογή του αισθητήρα Inspectra StO₂ στην επιφάνεια του δέρματος, πάνω από τον μυ του θέναρος. Μετά τη μέτρηση της ιστικής οξυγόνωσης (StO₂) σε ηρεμία, εφαρμοζόταν αγγειακός αποκλεισμός με μια περιχειρίδα σφυγμομανομέτρου με αεροθάλαμο, τοποθετημένη πάνω από τον αγκώνα. Η πλήρωση της περιχειρίδας με αέρα γινόταν ταχύτατα (στα 50 mmHg πάνω από τη συστολική αρτηριακή πίεση του κάθε ατόμου) για να προκαλέσει αρτηριοφλεβική απόφραξη που διαρκούσε 3 λεπτά. Στη συνέχεια, η περιχειρίδα απελευθερωνόταν άμεσα (Σχήμα 4).

Σχήμα 4: Γραφική αναπαράσταση του πρωτοκόλλου της μελέτης

VOT: τεχνική αγγειακού αποκλεισμού, BP: αρτηριακή πίεση, HR: καρδιακός ρυθμός

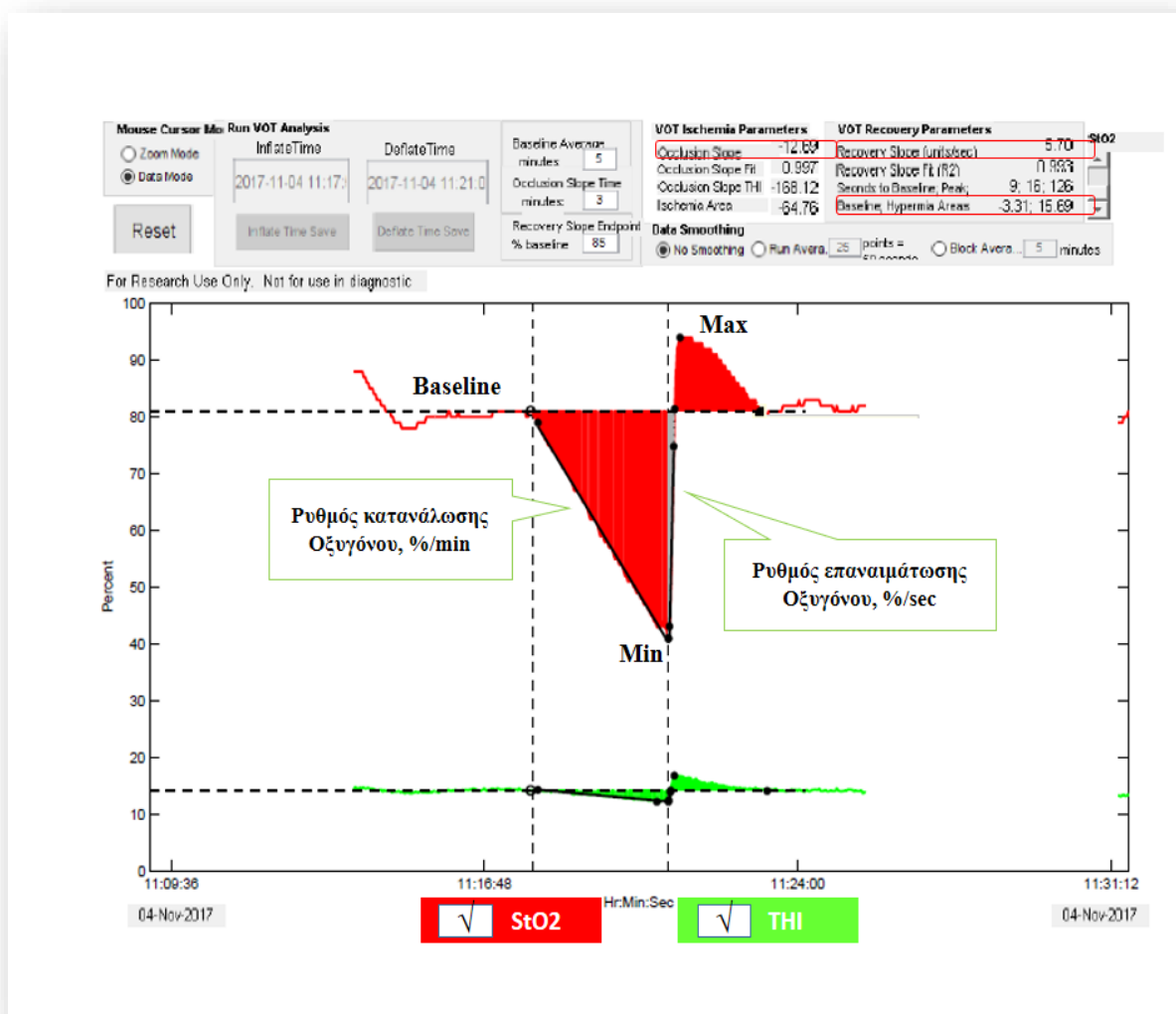
3.2.2. Παράμετροι αξιολόγησης της μικροκυκλοφορίας

Οι παράμετροι που αναλύθηκαν με την μέθοδο της NIRS και τη τεχνική του αγγειακού αποκλεισμού ήταν:

- το ιστικό οξυγόνο ηρεμίας, baseline StO₂ (%), που υπολογίστηκε ως ο μέσος όρος των τιμών του StO₂ κατά την διάρκεια των 2 λεπτών πριν από την πλήρωση της περιχειρίδας με αέρα
- ο ρυθμός κατανάλωσης του οξυγόνου (κλίση μείωσης του StO₂ στην καμπύλη), OCR (%/min). Το σημείο έναρξης υπολογισμού του ρυθμού κατανάλωσης του ιστικού οξυγόνου ορίστηκε στην τιμή $\leq 2\%$ (0,98 φορές) από τον μέσο όρο του Baseline StO₂
- ο ρυθμός επαναιμάτωσης (κλίση αύξησης του StO₂ στην καμπύλη), RR (%/sec). Το σημείο έναρξης υπολογισμού του ρυθμού επαναιμάτωσης, αμέσως μετά την απελευθέρωση της περιχειρίδας, ορίστηκε στην τιμή StO₂ $\geq 5\%$ (1,05 φορές) από τον μέσο όρο του Baseline StO₂
- το ιστικό οξυγόνο στην κορύφωση της υπεραιμίας, StO₂ peak (%)
- ο χρόνος που απαιτήθηκε ώστε το StO₂ να επανέλθει στο επίπεδο ηρεμίας μετά την άρση της ισχαιμίας και την κορύφωση της υπεραιμίας, Hyperemia Recovery Time (sec)
- η αγγειακή εφεδρεία, AUC (% $\times$ min). Η AUC υπολογίστηκε ως το εμβαδό πάνω από την τιμή baseline StO₂ για το χρονικό διάστημα μεταξύ της πρώτης επανόδου του StO₂ στην τιμή baseline και της επανεμφάνισης του StO₂ στην αρχική τιμή μετά την κορύφωση της υπεραιμίας. Εάν η τιμή τελικού σημείου ανάκαμψης της υπεραιμίας ήταν $> 1,01$ φορές μεγαλύτερη από τον μέσο όρο πριν από τον αγγειακό αποκλεισμό, τότε η νέα τιμή baseline υπολογιζόταν εκ νέου χρησιμοποιώντας το μέσο όρο των 90 διαδοχικών μετρήσεων που εμφανίζονταν μετά το τελικό σημείο επανόδου του StO₂.

- ο δείκτης της αιμοσφαιρίνης του ιστού (Tissue Hemoglobin Index, THI), στην τιμή ηρεμίας και κατά την διάρκεια της VOT (THI baseline, THI occlusion slope, THI reperfusion slope)

Τα σημεία εκκίνησης προσδιορίστηκαν από το λογισμικό ανάλυσης χωρίς οποιαδήποτε εκούσια παρέμβαση (Εικόνα 5).



Εικόνα 5: Ανάλυση της καμπύλης του ιστικού οξυγόνου (StO₂) με το πρόγραμμα ανάλυσης InSpectra, έκδοση 4.01, Hutchinson Technology. Occlusion slope: αντιστοιχεί στο ρυθμό κατανάλωσης του O₂, Recovery slope: ρυθμός επαναιμάτωσης.

3.2.2. Συλλογή και αναλύσεις αίματος

Κατά τις δύο φάσεις έγινε αιμοληψία για τον προσδιορισμό των τιμών των CRP, IL-2, IL-6, IL-10 και VEGF στο αντίθετο άκρο από αυτό που έγινε η εφαρμογή του αισθητήρα NIRS.

Στην κάθε αιμοληψία συλλέγονταν συνολικά 13 ml φλεβικού αίματος, 10 ml σε ερυθρό φιαλίδιο Vacutainer (BD, Mississauga, Ontario, Canada) για την περαιτέρω συλλογή του ορού και 3 ml σε φιαλίδιο Vacutainer με αντιπηκτικό K2EDTA (BD, Mississauga, Ontario, Canada) για τη συλλογή του πλάσματος. Στη συνέχεια γινόταν φυγοκέντρηση στα 1500 g για 20 λεπτά στους 4°C σε ψυκτική φυγόκεντρο [58], ώστε να παρεμποδισθεί η ex vivo παραγωγή κυτταροκινών. Ο ορός και το πλάσμα του κάθε δείγματος που προέκυπταν από τον διαχωρισμό αποθηκεύτηκαν σε φιαλίδια των 0,5 ml στους -80°C μέχρι να χρησιμοποιηθούν.

Η CRP μετρήθηκε στο πλάσμα χρησιμοποιώντας την μερικώς ενισχυμένη ανοσοθολοσιμετρική μέθοδο, (Tina-quart C-reactive protein, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany).

Η ανάλυση των IL-2, IL-6, IL-10 και VEGF έγινε με την τεχνική FCM με αντίστοιχα ειδικά εμπορικά διαθέσιμα πακέτα αντιδραστηρίων:

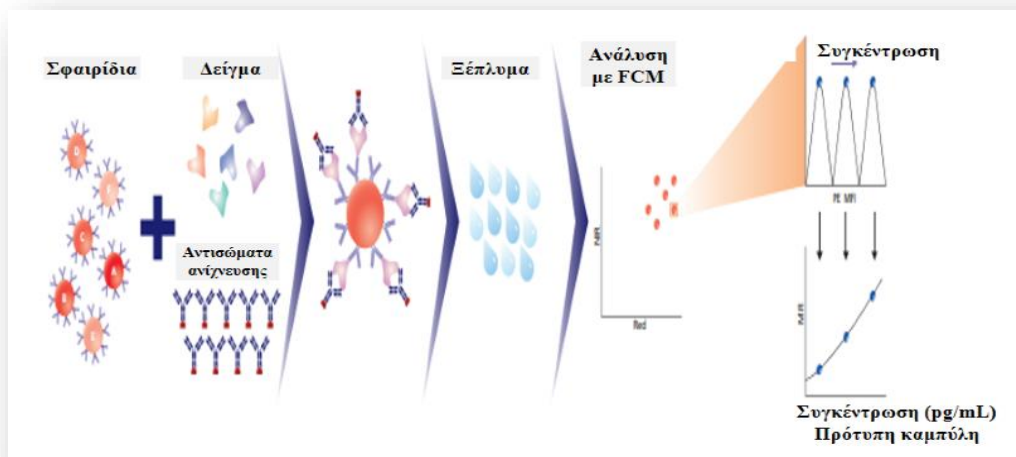
- BD™ Cytometric Bead Array (CBA) Human IL Flex Set
- BD™ Cytometric Bead Array (CBA) Human VEGF Flex Set και
- CBA Human Soluble Protein Master Buffer Kit

Η δοκιμασία CBA χρησιμοποιεί σφαιρίδια συγκεκριμένου μεγέθους και φορτισμού σε διαλυτούς αναλύτες, που μπορούν να ανιχνευτούν με την FCM. Κάθε σφαιρίδιο είναι επικαλυμμένο με ειδικό αντίσωμα δέσμευσης για την διαλυτή πρωτεΐνη. Η κατά προσέγγιση συγκέντρωση διαλυτής ανθρώπινης πρωτεΐνης (pg/mL) σε κάθε BD CBA Flex Set Standard παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα.

Πίνακας 2: Συγκέντρωση διαλυτής ανθρώπινης πρωτεΐνης στην συσκευασία αντιδραστηρίων για τις κυτταροκίνες

	Top Stand.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
Πρωτεΐνη (pg/mL)	2,500	1,250	625	312.5	156	80	40	20	10

Το αντιδραστήριο ανίχνευσης είναι ένα μείγμα από συζευγμένα αντισώματα με φυκοερυθρίνη (Phycoerythrin, PE), το οποίο παρέχει ένα φθορίζον σήμα σε αναλογία προς την ποσότητα συνδεδεμένου αναλύτη. Τα σφαιρίδια και τα αντισώματα ανίχνευσης επωάζονται με πρότυπα ή άγνωστα δείγματα που περιέχουν αναγνωρισμένους αναλύτες. Σχηματίζονται σύμπλοκα τύπου sandwich και μετά την ανάλυση προκύπτουν πρότυπες καμπύλες [99] (Σχήμα 5).

Σχήμα 5: Σχηματική απεικόνιση της δοκιμασίας Cytometric Bead Array

Τροποποίηση από: την εταιρεία προμήθειας των BD™ Cytometric Bead Array (CBA)
<https://www.bdbiosciences.com/en-us>

Πριν αρχίσει η ανάλυση των δειγμάτων με FCM προηγήθηκαν:

- η παρασκευή και η αραίωση των συστατικών της κάθε διαδικασίας ανάλυσης,
- η μεταφορά των δειγμάτων, των αναμεμιγμένων σφαιριδίων και των αναμεμιγμένων με PE αντιδραστηρίων ανίχνευσης στα ειδικά σωληνάρια για επώαση και ανάλυση σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας.

Παράλληλα με την παραπάνω διαδικασία έγινε ο ποιοτικός έλεγχος του κυτταρομετρητή ροής.

3.3. Στατιστική ανάλυση

Για τον έλεγχο της κανονικότητας του δείγματος χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό κριτήριο των Shapiro-Wilk. Οι διαφορές μεταξύ των τιμών αναφοράς και αυτών μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα αξιολογήθηκαν με την παραμετρική δοκιμασία t-test για εξαρτημένα δείγματα ή την μη παραμετρική δοκιμασία Wilcoxon (σε περίπτωση μη κανονικής κατανομής). Όλες οι συνεχείς μεταβλητές εκφράστηκαν ως μέση τιμή $\pm$ τυπική απόκλιση (SD) και οι κατηγορικές μεταβλητές ως συχνότητα ή ποσοστό. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ήταν το $p < 0,05$. Το μέγεθος αποτελέσματος (effect size), υπολογίστηκε ως το πηλίκο της μέσης τιμής της διαφοράς προς την SD της διαφοράς. Οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το πακέτο λογισμικού στατιστικής ανάλυσης IBM SPSS 25.0.

4. Αποτελέσματα

Όλοι οι συμμετέχοντες στην μελέτη, 7 άντρες και 9 γυναίκες, ολοκλήρωσαν με επιτυχία το πρωτόκολλο της μελέτης. Η μέση ηλικία των συμμετεχόντων ήταν 34 ± 9 έτη (εύρος: 21 έως 56). Τα βασικά χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον πίνακα 4.

Πίνακας 4: Βασικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στην μελέτη

Συμμετέχοντες	Φύλο	Ηλικία	BMI
1	Άρρεν	21	20,76
2	Άρρεν	25	22,20
3	Άρρεν	26	24,20
4	Άρρεν	29	24,78
5	Θήλυ	29	20,00
6	Θήλυ	31	27,19
7	Άρρεν	31	16,64
8	Θήλυ	33	21,22
9	Θήλυ	33	23,80
10	Θήλυ	35	20,42
11	Θήλυ	35	22,85
12	Θήλυ	35	18,42
13	Άρρεν	37	23,70
14	Άρρεν	41	24,96
15	Θήλυ	50	27,00
16	Θήλυ	56	24,44

BMI: δείκτης μάζας σώματος

4.1. Οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στη μικροκυκλοφορία

Οι αδρές αιμοδυναμικές παράμετροι δε μεταβλήθηκαν σημαντικά μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα (Πίνακας 3). Επίσης δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική μεταβολή στις τιμές του ιστικού οξυγόνου στην φάση ηρεμίας (Baseline StO₂) και στην μέγιστη τιμή του StO₂ (peak) μετά την πρόκληση ισχαιμίας πριν και μετά την έκθεση.

Πίνακας 3: Οι αιμοδυναμικές παράμετροι δεν διέφεραν σημαντικά πριν και μετά την 30λεπτη έκθεση στο παθητικό κάπνισμα

	<i>ΠΡΙΝ</i> <i>την έκθεση ^a</i>	<i>META</i> <i>την έκθεση ^a</i>	<i>p ^β</i>
SBP (mmHg)	113,1 ± 9,8	117,8 ± 15,5	0,22
DBP (mmHg)	68,7 ± 8,3	70,0 ± 10,9	0,68
HR (bpm)	72,6 ± 6,6	75,4 ± 7,9	0,17

^a Οι τιμές εκφράζονται ως μέσες τιμές ± σταθερές αποκλίσεις

^β *p*: στατιστική σημαντικότητα

SBP: συστολική αρτηριακή πίεση, DBP: διαστολική αρτηριακή πίεση, HR: καρδιακός ρυθμός,

Ο ρυθμός κατανάλωσης του O_2 μειώθηκε σημαντικά μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα ($12,8 \pm 4,2$ vs. $11,3 \pm 2,8$ %/min, $p=0,04$) με την τιμή μεγέθους του αποτελέσματος (effect size) να ισούται με 0,22 ($-6,4 \pm 29,5\%$). Ο ρυθμός επαναιμάτωσης μειώθηκε επίσης σημαντικά ($5,6 \pm 1,8$ vs. $5,0 \pm 1,7$ %/sec, $p=0,04$) ($-7,9 \pm 18,2\%$, effect size=0,43). Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στις άλλες παραμέτρους της μικροκυκλοφορίας όπως εκτιμήθηκαν με τη NIRS (Πίνακας 4).

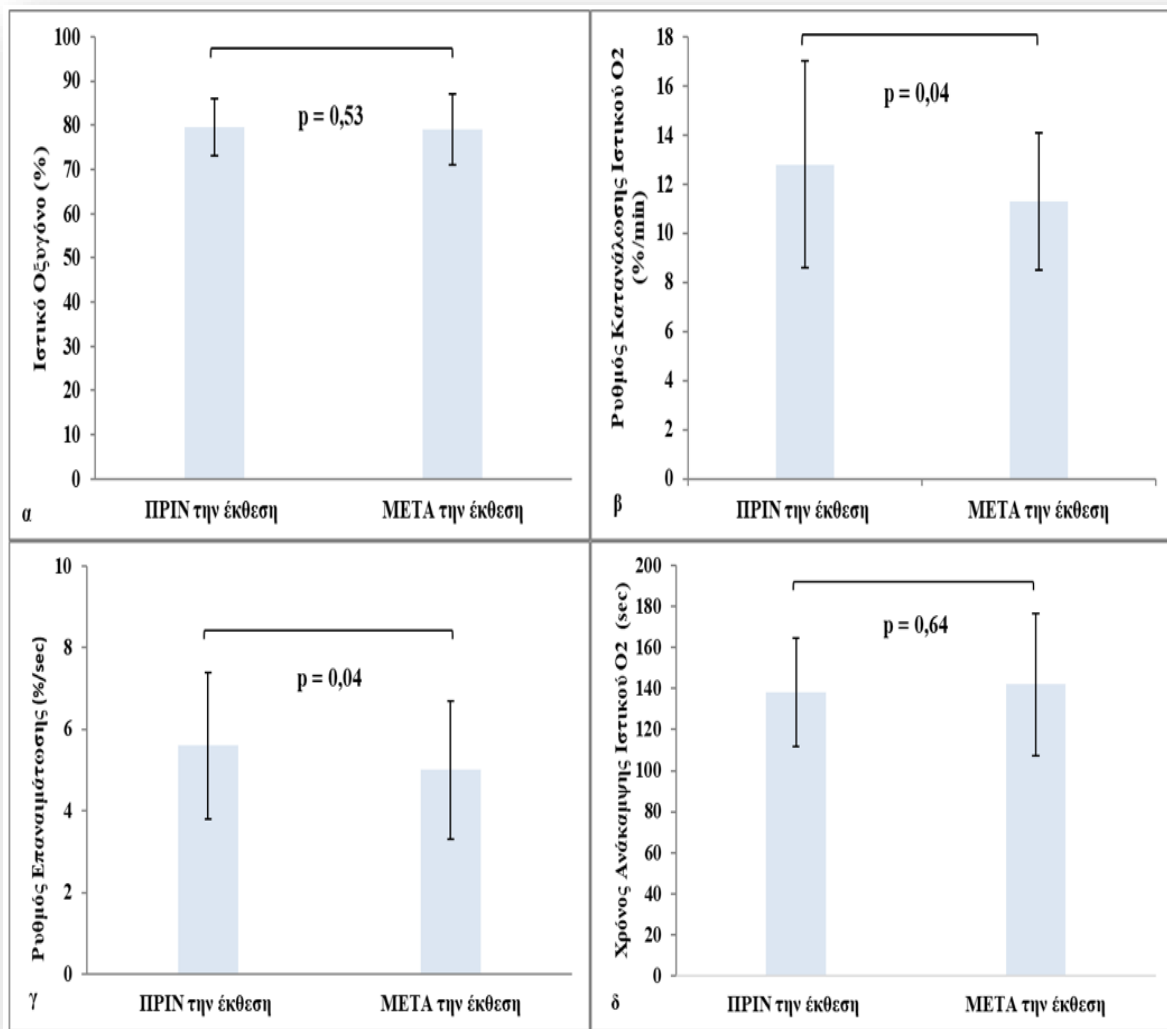
Πίνακας 4: Παράμετροι της μικροκυκλοφορίας με την μέθοδο της εγγύς υπερύθρου φωτός φασματοσκοπίας (NIRS) κατά την εφαρμογή της τεχνικής του 3-λεπτου αγγειακού αποκλεισμού (VOT).

Παράμετροι NIRS	<i>ΠΡIN</i> την έκθεση ^a	<i>META</i> την έκθεση ^a	<i>p</i> ^β
Baseline StO ₂ (%)	79,6 ± 6,4	79,0 ± 8,0	0,53
StO ₂ peak	94,3 ± 2,7	93,4 ± 3,8	0,51
OCR (%/min)	12,8 ± 4,2	11,3 ± 2,8	*0,04
RR (%/sec)	5,6 ± 1,8	5,0 ± 1,7	*0,04
Hyperemia recovery time (sec)	138,2 ± 26,5	142,1 ± 34,6	0,64
AUC (%×min)	18,9 ± 8,6	18,4 ± 9,2	0,81
THI baseline (%)	14,73 ± 2,8	14,7 ± 2,9	0,41
THI occlusion rate(%/min)	0,99 ± 1,4	0,54 ± 0,8	0,10
THI reperfusion rate(%/sec)	0,82 ± 0,67	0,55 ± 0,35	0,12

^a Οι τιμές εκφράζονται ως μέσες τιμές ± σταθερές αποκλίσεις

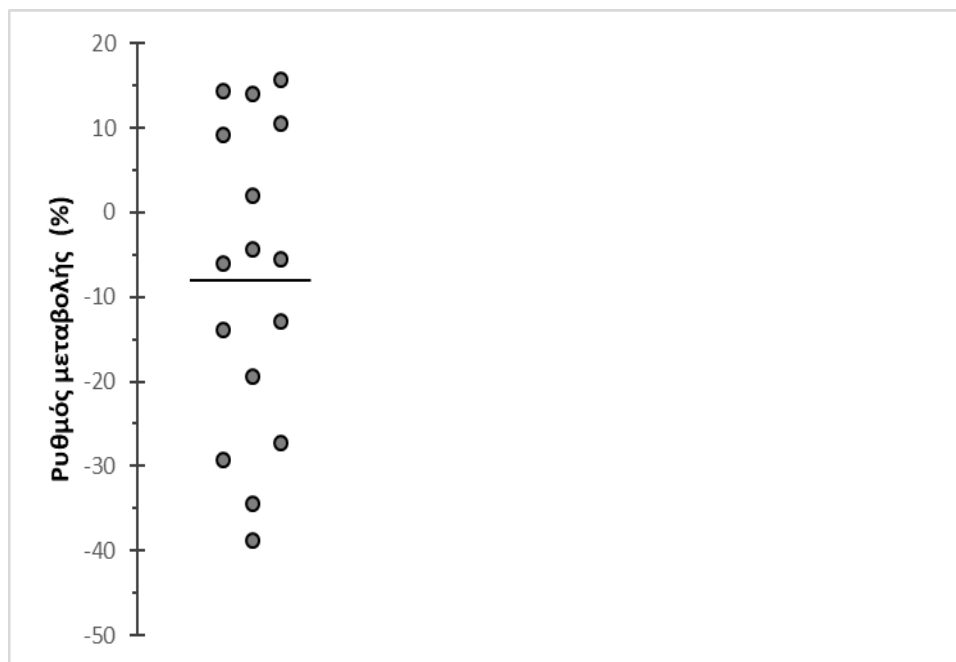
^β *p*: στατιστική σημαντικότητα

Σχήμα 6: Σύγκριση των α. ιστικού οξυγόνου, β. του ρυθμού κατανάλωσης του ιστικού οξυγόνου, γ. του ρυθμού επαναιμάτωσης και δ. του χρόνου ανάκαμψης μεταξύ των δύο φάσεων μετρήσεων (πριν και μετά την έκθεση).

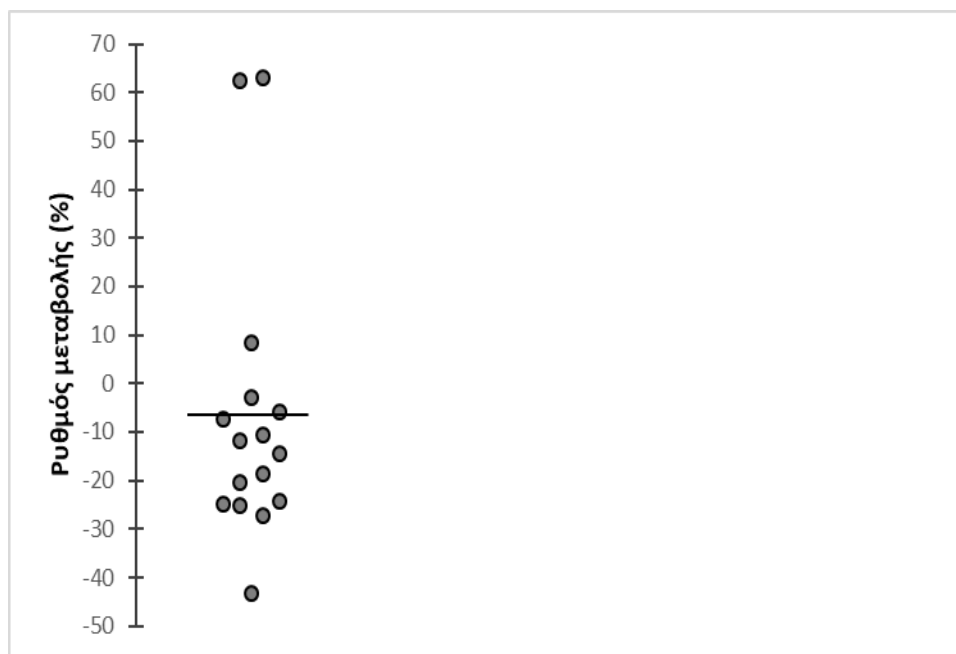


p: στατιστική σημαντικότητα

Σχήμα 7: Ποσοστιαία μεταβολή του ρυθμού κατανάλωσης του οξυγόνου πριν και μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα.



Σχήμα 8: Ποσοστιαία μεταβολή του ρυθμού επαναιμάτωσης πριν και μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα.



4.2. Οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στις κυτταροκίνες του αίματος και την CRP

Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική μεταβολή στις τιμές της CRP πριν και μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα ($0,25 \pm 0,62$ vs. $0,24 \pm 0,63$ mg/dl, $p=0,65$). Ομοίως δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά οι κυτταροκίνες IL-2, IL-6, IL-10 καθώς και ο VEGF στο αίμα μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα.

Πίνακας 4: Τιμές της CRP και των IL-2, IL-6, IL-10, VEGF στο αίμα πριν και μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα.

	<i>ΠΡΙΝ</i> <i>την έκθεση^α</i>	<i>META</i> <i>την έκθεση^α</i>	<i>p^β</i>
CRP (mg/L)	$0,25 \pm 0,62$	$0,24 \pm 0,63$	0,66
IL-2 (pg/ml)	$36,2 \pm 0,8$	$36,5 \pm 1,4$	0,98
IL-6 (pg/ml)	$9,9 \pm 3,8$	$10,9 \pm 5,1$	0,12
IL-10 (pg/ml)	$20,9 \pm 18,4$	$16,7 \pm 0,4$	0,11
VEGF (pg/ml)	$29,4 \pm 45,8$	$13,9 \pm 17$	0,96

^α Οι τιμές εκφράζονται ως μέσες τιμές $\pm$ σταθερές αποκλίσεις

^β *p*: στατιστική σημαντικότητα

5. Συζήτηση

Η παρούσα μελέτη εξέτασε τη μικροκυκλοφορία των σκελετικών μυών σε υγιείς μη καπνιστές, πριν και μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα. Το παθητικό κάπνισμα επηρέασε σημαντικά την μικροκυκλοφορία στο μυ του θέναρος, όπως εκτιμήθηκε από τη μέθοδο NIRS. Συγκεκριμένα, ο ρυθμός κατανάλωσης του οξυγόνου καθώς και ο ρυθμός επαναιμάτωσης μειώθηκαν σημαντικά.

Απ' όσο γνωρίζουμε, αυτή είναι η πρώτη μελέτη για τη διερεύνηση των επιπτώσεων του παθητικού καπνίσματος στην μικροκυκλοφορία του σκελετικού μυϊκού ιστού χρησιμοποιώντας την μεθοδολογία της NIRS. Οι αλλαγές στην μικροκυκλοφορία κατά την διάρκεια του παθητικού καπνίσματος, που προσδιορίζονται με μεθόδους απεικόνισης, αφορούν στη ροή του αίματος στη μικροκυκλοφορία ή τη διαστολή των αγγείων. Ωστόσο, αυτές οι μέθοδοι δεν δίνουν πληροφορίες σχετικές με τον οξειδωτικό μεταβολισμό του σκελετικού μυός και τον ρυθμό επαναιμάτωσης μετά από περίοδο ισχαιμίας, στοιχείο που σχετίζεται με την αγγειακή αντιδραστικότητα. Αυτές οι πληροφορίες παρέχονται ειδικά από τη NIRS.

Η παρακολούθηση του StO_2 με τη NIRS, σε συνδυασμό με την τεχνική του αγγειακού αποκλεισμού, επιτρέπει την έμμεση αξιολόγηση της οξυγόνωσης σε επίπεδο ιστών, την λειτουργία των μιτοχονδρίων καθώς και την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [89, 91, 94, 100]. Η μεθοδολογία της NIRS έχει χρησιμοποιηθεί προηγουμένως από τους Siafaka και συν. [89] για την αξιολόγηση της οξείας επίδρασης του ενεργητικού καπνίσματος στην μικροκυκλοφορία. Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι σε υγιείς εθελοντές, ο ρυθμός κατανάλωσης του οξυγόνου μειώθηκε κατά την διάρκεια καπνίσματος ενός τσιγάρου, όπως στην παρούσα μελέτη, και συνέχισε να μειώνεται ακόμα και 5 λεπτά μετά το τέλος της περιόδου καπνίσματος. Επιπλέον, η αντιδραστική υπεραιμία σημείωσε σημαντική μείωση όταν οι συμμετέχοντες είχαν καπνίσει σχεδόν το μισό τσιγάρο και επανήλθε σε σχεδόν φυσιολογικά επίπεδα 5 λεπτά μετά το τέλος του καπνίσματος.

Οι Henriksson και συν. [101], ασχολήθηκαν με την επίδραση του παθητικού καπνίσματος στην ροή της μικροκυκλοφορίας χρησιμοποιώντας την *in vivo* μέθοδο Cariflow, η οποία ανέλυε συνεχώς την ταχύτητα ροής του αίματος σε ένα συγκεκριμένο τριχοειδές. Μελέτησαν τη ροή της μικροκυκλοφορίας σε δεκαεπτά υγιή άτομα πριν, κατά τη διάρκεια και μετά από την παθητική έκθεση στο καπνό που προερχόταν από την καύση τσιγάρου, για έως και 10 λεπτά σε καθεμία από αυτές τις φάσεις. Η έκθεση αξιολογήθηκε με ανιχνευτή του αερίου του CO. Οι ερευνητές ανέδειξαν άμεση επίδραση (μείωση) στην ταχύτητα ροής του αίματος στα τριχοειδή που έφθασε στο κατώτατο σημείο τέσσερα λεπτά μετά το τέλος της έκθεσης. Αν και η μέτρηση της ταχύτητας ροής του αίματος σε συγκεκριμένα τριχοειδή δεν είναι συνώνυμη με τη συνολική ιστική αιμάτωση, τα αποτελέσματά μας θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως συμπληρωματικά αυτής της μελέτης, ενδεχομένως αναδεικνύοντας την επίδραση της μεταβαλλόμενης ροής του αίματος, μετά την έκθεση στον καπνό, στον κυτταρικό αερόβιο μεταβολισμό και την επανοξυγόνωση των ιστών. Ωστόσο, η πιθανότητα πρωτοπαθούς μεταβολικής βλάβης μετά από έκθεση στον καπνό, η οποία επηρεάζει δευτερογενώς την ροή της μικροκυκλοφορίας (μεταβολική θεωρία της ρύθμισης της μικροκυκλοφορίας), δεν μπορεί να αποκλειστεί [73].

Η πτώση του StO_2 κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας αντικατοπτρίζει την οξειδωτική μεταβολική δραστηριότητα του μυός του θένaros [84]. Ο ακριβής μηχανισμός που είναι υπεύθυνος γι' αυτή την διαταραχή της μικροκυκλοφορίας μετά από την έκθεση σε παθητικό κάπνισμα, όπως προσδιορίζεται από τη NIRS, δεν έχει διευκρινιστεί ακόμη. Μια πιθανή εξήγηση θα μπορούσε να είναι η δηλητηρίαση από το CO. Το CO είναι αέριο παραπροϊόν που σχηματίζεται από την ατελή καύση των τσιγάρων [25]. Οι Jo και συν. [102] διαπίστωσαν αυξημένες συγκεντρώσεις CO στην αναπνοή 30 λεπτά μετά την παθητική έκθεση στον καπνό, 1,4 - 2,7 φορές υψηλότερα από τα αρχικά επίπεδα, γεγονός που υποδηλώνει ότι το παθητικό κάπνισμα συνεισφέρει σε μεγάλο βαθμό στην έκθεση στο CO των μη καπνιστών που εργάζονται ή επισκέπτονται περιβάλλοντα ψυχαγωγίας. Το CO, καθώς εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος μέσω της αναπνοής, δεσμεύεται από την αιμοσφαιρίνη, σχηματίζοντας την COHb. Τα αυξημένα επίπεδα της COHb οδηγούν σε μείωση της συγκέντρωσης της οξυαιμοσφαιρίνης και μείωση της παροχής οξυγόνου στους

ιστούς ενώ προκαλούν μετατόπιση προς τα αριστερά της καμπύλης αποδέσμευσης της οξυαιμοσφαιρίνης και λιγότερο αποδοτική απελευθέρωση οξυγόνου [103-105]. Οι Asim και συν. [106], διερεύνησαν τη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων COHb του αίματος και του κορεσμού του οξυγόνου του εγκεφάλου, όπως μετρήθηκε με τη NIRS (εγκεφαλική οξυμετρία), σε ασθενείς με δηλητηρίαση από CO. Οι ερευνητές τόνισαν ότι όσο υψηλότερα είναι τα επίπεδα COHb, τόσο μικρότερος είναι ο κορεσμός του οξυγόνου του εγκεφάλου.

Οι καταστάσεις υποξίας που προκαλούνται από τον καπνό του τσιγάρου, μπορούν να προκαλέσουν προσαρμοστικές αποκρίσεις στον σκελετικό μυ, όπως αποδεικνύεται σε μοντέλα πειραματοζώων. Συγκεκριμένα, σε αρουραίους, οι Nakatani και συν. [107] διαπίστωσαν ότι μετά την έκθεση στον καπνό τσιγάρου, το μέγεθος των μυϊκών ινών μειώθηκε και η δραστηριότητα των οξειδωτικών τους ενζύμων αυξήθηκε, αντισταθμίζοντας την χαμηλότερη παροχή οξυγόνου στον μυϊκό ιστό.

Μια άλλη πιθανή εξήγηση για τα ευρήματα της μελέτης μας μπορεί να είναι η δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων. Αρκετές αναφορές [38, 50, 108, 109], υποδηλώνουν ότι τα μιτοχόνδρια εμφανίζουν υψηλή ευαισθησία στα τοξικά συστατικά του καπνού του τσιγάρου και ακόμα ότι το παθητικό κάπνισμα μειώνει την μιτοχονδριακή αναπνοή. Εν τούτοις, στην μελέτη μας οι αυξημένες συγκεντρώσεις των τοξικών χημικών συστατικών κατά την διάρκεια του παθητικού καπνίσματος δεν τεκμηριώθηκαν επαρκώς και ξεχωριστά η κάθε μια. Η συσκευή παρακολούθησης της ποιότητας του αέρα χρησιμοποιήθηκε μόνο για να διασφαλιστεί ότι οι συμμετέχοντες ήταν εκτεθειμένοι επαρκώς στον καπνό και οι συνθήκες της μελέτης ήταν αντιπροσωπευτικές της έντασης του παθητικού καπνίσματος σε συνθήκες της καθημερινής ζωής.

Το δεύτερο εύρημα της μελέτης μας ήταν η μείωση του ρυθμού επαναιμάτωσης 30 λεπτά μετά την παθητική έκθεση στον καπνό του τσιγάρου. Ο ρυθμός επαναιμάτωσης αντιστοιχεί στη μικροαγγειακή αντιδραστικότητα στο υποξικό ερέθισμα. Οι μηχανισμοί που ελέγχουν τη διανομή της ροής του αίματος στο επίπεδο της μικροκυκλοφορίας δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως. Η συμμετοχή των παραγόντων που σχετίζονται με το ενδοθήλιο δεν μπορεί να αποκλειστεί [110, 111]. Έχει βρεθεί ότι ο δείκτης επαναιμάτωσης με την μέθοδο

NIRS σχετίζεται σημαντικά με την % αντιδραστική υπεραιμία όπως εκτιμάται με την μέθοδο αγγειοδιαστολής μέσω ροής (Flow Mediated Dilation, FMD) [112, 113], η οποία αποτελεί δείκτη της εξαρτώμενης από το ενδοθήλιο αγγειοδιαστολής [114]. Έτσι, φαίνεται να υπάρχει έντονη συσχέτιση μεταξύ της αγγειακής αντιδραστικότητας της μικρο- και μακροκυκλοφορίας. Έχει υποστηριχτεί ότι ο ρυθμός επαναιμάτωσης (στην μικροκυκλοφορία) αντικατοπτρίζει την διατμητική τάση που ασκείται στα τοιχώματα της αρτηρίας, ένα ενεργό ερέθισμα για την FMD [113, 115].

Η αντιδραστική υπεραιμία με την μέθοδο FMD έχει χρησιμοποιηθεί σε προηγούμενες μελέτες εκτίμησης της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας που προκαλείται από το παθητικό κάπνισμα. Σε μια *in vivo* μελέτη σε ζωικά μοντέλα, 30 λεπτά παθητικής έκθεσης σε καπνό είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της αγγειοδιαστολής, όπως καταγράφηκε με την FMD και η οποία ήταν εξαρτώμενη από την συγκέντρωση του καπνού [116]. Άλλες μελέτες έχουν επίσης καταλήξει σε παρόμοια συμπεράσματα, πχ η FMD στη βραχιόνια αρτηρία μειώθηκε μετά από την παθητική εισπνοή καπνού τσιγάρου [31, 117].

Η ενδοθηλιακή βλάβη που προκαλείται από το παθητικό κάπνισμα είναι δόσοεξαρτώμενη και εν μέρει αναστρέψιμη [49]. Ο υποκείμενος μηχανισμός, υπεύθυνος για την οξεία ενδοθηλιακή δυσλειτουργία μετά το παθητικό κάπνισμα, δεν έχει ακόμη τεκμηριωθεί. Μελέτες έχουν δείξει ότι η έκθεση στον καπνό του τσιγάρου μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία των πνευμονικών ενδοθηλιακών κυττάρων και να προκαλέσει την ενεργοποίησή τους, την φλεγμονή, να αυξήσει την απόπτωση τους και την παραγωγή αγγειοδραστικών μεσολαβητών [118].

Επιπλέον, η μικρής διάρκειας έκθεση στο παθητικό κάπνισμα επηρεάζει την αγγειακή ενδοθηλιακή λειτουργία, πιθανώς μέσω του οξειδωτικού stress, σε υγιείς μη καπνιστές [43]. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου μπορούν να μειώσουν τη βιοδιαθεσιμότητα του NO, παρεμποδίζοντας τον ρυθμιστικό του ρόλο στην αγγειακή δομή και λειτουργία [45]. Οι Loffredo και συν. [32] παρείχαν στοιχεία με εξαιρετικό ενδιαφέρον. Συγκεκριμένα ότι η NADPH οξειδάση-2, η οποία οδηγεί σε παραγωγή ανιόντων υπεροξειδίου σε ανθρώπους, εμπλέκεται στο οξειδωτικό stress που προκαλείται από το παθητικό κάπνισμα. Η NADPH

οξειδάση -2 και τα ισοπροστάνια (δείκτες υπεροξειδωσής των λιπιδίων) ήταν υψηλότερα σε παιδιά που εκτέθηκαν σε παθητικό κάπνισμα, ενώ η βιοδιαθεσιμότητα του NO και η FMD ήταν χαμηλότερες σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Επίσης, στην ίδια μελέτη η NADPH οξειδάση-2 συσχετίστηκε αντιστρόφως με την FMD.

Συνολικά, η έκθεση στον παθητικό κάπνισμα έχει άμεσες δυσμενείς επιπτώσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα, σχεδόν όσο και το ενεργητικό κάπνισμα [53]. Η μελέτη μας επιβεβαιώνει την ταχεία και σημαντική επίδραση του παθητικού καπνίσματος στην μικροκυκλοφορία και στον οξειδωτικό μεταβολισμό των ιστών, γεγονός που θα μπορούσε να εξηγήσει τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο που εμφανίζεται σε επιδημιολογικές μελέτες [119].

Ένα σημαντικό ζήτημα που προέκυψε στη μελέτη μας είναι ο αυξημένος ρυθμός κατανάλωσης και επαναιμάτωσης σε 2 από τους 16 συμμετέχοντες μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα. Παρόλο που αυτό έρχεται σε αντίφαση με όσα αναφέρθηκαν προηγουμένως για την επιβλαβή επίδραση του καπνού στη μικροκυκλοφορία, υπάρχουν μελέτες που έχουν δείξει επίσης αγγειοδιασταλτικές επιδράσεις. Έτσι, στις ενδοπνευμονικές αρτηρίες χοίρου, ο καπνός του τσιγάρου σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις προκάλεσε χαλάρωση σε αγγεία με άθικτο ενδοθήλιο (εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο αγγειοδιαστολή) ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις προκάλεσε αγγειοσυστολή [120]. Επίσης, σε εγκεφαλικά αγγεία αρουραίων, μετά από έκθεση στο καπνό τσιγάρου για ένα λεπτό, παρατηρήθηκε μια διφασική απόκριση, δηλαδή, μετά από αρχική αγγειοσυστολή (στα 30 δευτερόλεπτα), ακολούθησε αγγειοδιαστολή (μέγιστη στα 5-10 λεπτά) [121]. Τα φαινομενικά αντίθετα αποτελέσματα μπορούν να εξηγηθούν για παράδειγμα με τους διαφορετικούς τύπους ανταπόκρισης των υποδοχέων ενδοθηλίνης [122, 123]. Έτσι, στους συμμετέχοντες στη μελέτη, ένα διαφορετικό επίπεδο προπόνησης και μυϊκής άσκησης, με διαφορετικές προσαρμοστικές επιδράσεις στο σύστημα ενδοθηλίνης [124, 125], μπορεί, πιθανά, να ερμηνεύσει τα αντιφατικά αποτελέσματα όσον αφορά την επίδραση του παθητικού καπνίσματος στην μικροαγγειακή αντιδραστικότητα μετά το υποξικό ερέθισμα. Να σημειωθεί ότι η υποξία επιδρά ρυθμιστικά στους υποδοχείς ενδοθηλίνης, την απελευθέρωση ενδοθηλίνης και τη δράση της σε λεία μυϊκά κύτταρα [126-128].

Συμπληρωματικά στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν οι μεταβολές στα επίπεδα συγκεκριμένων κυτταροκινών (IL-2, IL-6, IL-10), του VEGF και της CRP στο αίμα, πριν και μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα. Συνολικά, δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές, κάτι που μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η διάρκεια έκθεσης ήταν μόνο 30 λεπτά. Σύμφωνα με τη μελέτη των Flouris και συν. [129], σε ενήλικες μη καπνιστές, τα επίπεδα των φλεγμονωδών κυτταροκινών (όπως π.χ. οι IL-5 και IL-6) παρέμειναν αυξημένα για τουλάχιστον 3 ώρες μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα που διήρκησε 1 ώρα. Επίσης, η ενεργοποίηση ανοσοκυττάρων προκαλείται μετά από έκθεση διάρκειας έως 3 ωρών [34]. Οι Bonetti και συν. [130] αξιολόγησαν τα επίπεδα της CRP και της IL-6 σε μη καπνιστές, πριν και μετά από 12 ώρες από την έκθεση σε παθητικό κάπνισμα διάρκειας 1 ώρας και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η μικρής διάρκειας έκθεση δεν μπορεί να προκαλέσει σημαντική φλεγμονώδη αντίδραση. Τέλος, μελέτη των Daloe και συν. [58], σε καπνιστές και μη καπνιστές, έδειξε ότι από τις 12 κυτταροκίνες και τους αυξητικούς παράγοντες (IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, INF-γ, TNF-α, VEGF, EGF, MCP-1) που μελετήθηκαν μόνο η MCP-1 συσχετίστηκε με το ενεργητικό κάπνισμα.

Περιορισμοί

Ένας περιορισμός της μελέτης είναι το μικρό μέγεθος του δείγματος. Ένας ακόμα πιθανός περιορισμός είναι ο διάρκειας 3 λεπτών αγγειακός αποκλεισμός που επιλέχθηκε. Σύμφωνα με τους Ianetta και συν. [131] η μεγαλύτερη διάρκεια της φάσης ισχαιμίας συμβάλλει σε μεγαλύτερη αξιοπιστία όσον αφορά τον δείκτη επαναιμάτωσης. Σε αυτή την μελέτη, η επιλεγμένη διάρκεια του αγγειακού αποκλεισμού οδήγησε σε στατιστικά σημαντικά ευρήματα χωρίς οι συμμετέχοντες να νιώσουν δυσάρεστα χωρίς λόγο, γεγονός που όπως έχει αναφερθεί, περιορίζει τα όρια ανοχής τους και μπορεί να οδηγήσει σε πρόωρη διακοπή της δοκιμασίας [90]. Επιπλέον, η 3 λεπτών διάρκεια του αγγειακού αποκλεισμού έχει αναφερθεί με αξιοπιστία από προηγούμενους ερευνητές [91].

Τέλος, στην παρούσα μελέτη επιλέχθηκε να τεκμηριωθεί η περιβαλλοντική μόλυνση από τον καπνό του τσιγάρου με την χρήση συσκευής αξιολόγησης της ποιότητας του αέρα, η οποία ανιχνεύει μικροσωματίδια που απελευθερώνονται κατά την διάρκεια της καύσης του τσιγάρου. Ένας περιορισμός της μελέτης μπορεί να είναι η απουσία ενός αντικειμενικού δείκτη της έντασης έκθεσης στον καπνό, όπως είναι η μέτρηση των επιπέδων κοτινίνης (μεταβολίτη της νικοτίνης) στους συμμετέχοντες. Όμως, ακόμα και η χρήση αυτού του βιοδείκτη έχει συγκεκριμένους περιορισμούς, δηλαδή αν και τα επίπεδα κοτινίνης έχουν χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό για την παρακολούθηση της έκθεσης στον καπνό του τσιγάρου, διάφοροι παράγοντες όπως για παράδειγμα το φύλο, η γενετική μεταβλητότητα εκτός από την πρόσληψη νικοτίνης, μπορούν να επηρεάσουν τα επίπεδα κοτινίνης στο αίμα και στα ούρα. Επίσης, η κοτινίνη υποβάλλεται σε μεταβολική επεξεργασία και η μέτρηση της δεν αντιστοιχεί πλήρως στην ολική πρόσληψη της νικοτίνης [70].

6. Συμπεράσματα – Κλινική σημασία

Το παθητικό κάπνισμα παραμένει ένα πρόβλημα δημόσιας υγείας παγκοσμίως, παρά τη νόμιμη απαγόρευση του καπνίσματος σε δημόσιους χώρους, η οποία έχει υιοθετηθεί από πολλές χώρες. Η παρούσα μελέτη καταδεικνύει σημαντική αλλαγή στην αντιδραστικότητα της μικροκυκλοφορίας μετά από ένα ισχαιμικό ερέθισμα καθώς και διαταραχή του οξειδωτικού μεταβολισμού στους ιστούς, σε υγιείς μη καπνιστές, μετά από σύντομη έκθεση σε παθητικό κάπνισμα. Η διάρκεια των 30 λεπτών που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή τη μελέτη είναι πιθανά η ελάχιστη αναμενόμενη διάρκεια της καθημερινής έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα. Από αυτή την άποψη, η μελέτη αυτή παρέχει μια παθοφυσιολογική βάση για την τοξικότητα του παθητικού καπνίσματος βραχυπρόθεσμα, η οποία θα μπορούσε να εξηγήσει τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο που εμφανίζεται στις επιδημιολογικές έρευνες και θα πρέπει να αναλυθεί περαιτέρω από άλλες μελέτες.

Επιπρόσθετα, τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης ως προς τα επίπεδα κυτταροκινών πριν και μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα, καταδεικνύουν την ανάγκη ανάπτυξης άλλων ερευνητικών πρωτοκόλλων, με έκθεση μεγαλύτερης χρονικής διάρκειας, για την διερεύνηση της ενεργοποίησης της φλεγμονώδους αντίδρασης στον οργανισμό.

VI. Περίληψη

Εισαγωγή: Μελέτες έχουν δείξει επιδράσεις από την έκθεση σε παθητικό κάπνισμα στα αγγεία, ιδιαίτερα σε σχέση με περιστατικά καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Ο καπνός που εκπέμπεται από την καύση των τσιγάρων είναι υπεύθυνος για την πρόκληση θανάτων σε παγκόσμιο επίπεδο. Οι αρνητικές επιπτώσεις του παθητικού καπνίσματος στο καρδιαγγειακό σύστημα είναι σε μεγάλο βαθμό παρόμοιες με αυτές που προκαλούνται από το ενεργητικό κάπνισμα. Το κάπνισμα των τσιγάρων συνδέεται με οξείες μεταβολές στη μικροκυκλοφορία, συμπεριλαμβανομένων των μειωμένων δεικτών της ροής αίματος και με μεταβολές στους δείκτες φλεγμονής. Οι οξείες επιδράσεις του παθητικού καπνίσματος στη μικροκυκλοφορία δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς. Ο πρωταρχικός στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η ανίχνευση των μεταβολών της μικροκυκλοφορίας, σε υγιείς μη καπνιστές, μετά από έκθεση σε παθητικό κάπνισμα, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της φασματοσκοπίας εγγύς υπερύθρου (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) σε συνδυασμό με την τεχνική του αγγειακού αποκλεισμού (Vascular Occlusion Technique, VOT). Δευτερεύων στόχος ήταν η εκτίμηση των επιδράσεων του παθητικού καπνίσματος στην παραγωγή κυτταροκινών.

Μέθοδοι: Δεκαέξι (9 γυναίκες) μη καπνιστές, υγιείς εθελοντές, με ηλικία 34 ± 9 έτη, εκτέθηκαν σε παθητικό κάπνισμα για 30 λεπτά. Οι συμμετέχοντες δεν εκτίθονταν τακτικά σε περιβάλλον μολυσμένο από τον καπνό τσιγάρων. Άλλα κριτήρια αποκλεισμού ήταν το μαύρο δέρμα, ο δείκτης μάζας σώματος ($>30 \text{ kg/m}^2$), το ιστορικό αναπνευστικών και καρδιαγγειακών παθήσεων και αναιμίας. Οι μετρήσεις έγιναν σε περιβάλλον χωρίς καπνό, ελεγχόμενης θερμοκρασίας (21 έως 22°C) πριν και μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα. Η συγκέντρωση του καπνού αξιολογήθηκε με συσκευή μέτρησης αιρούμενων σωματιδίων σε πραγματικό χρόνο. Οι παράμετροι της μικροκυκλοφορίας μετρήθηκαν με NIRS σε συνδυασμό με τη VOT. Το οπτόδιο της NIRS τοποθετήθηκε στον μυ του θένaros και μια περιχειρίδα με σφυγμανόμετρο και αεροθάλαμο πάνω από τον αγκώνα. Η πλήρωση της περιχειρίδας με αέρα γινόταν ταχύτατα (στα 50 mmHg πάνω από τη συστολική αρτηριακή πίεση του κάθε ατόμου) για να προκαλέσει αρτηριοφλεβική απόφραξη που διαρκούσε 3 λεπτά.. Στη συνέχεια, η περιχειρίδα απελευθερωνόταν άμεσα. Υπολογίστηκαν οι εξής παράμετροι της μικροκυκλοφορίας: το ιστικό οξυγόνο ηρεμίας, ο ρυθμός κατανάλωσης του

οξυγόνου, ο ρυθμός επαναιμάτωσης και ο χρόνος που απαιτήθηκε ώστε το StO_2 να επανέλθει στο επίπεδο ηρεμίας μετά την άρση της ισχαιμίας και την κορύφωση της υπεραιμίας.

Αποτελέσματα: Το ιστικό οξυγόνο ηρεμίας ($79,6 \pm 6,4$ vs. $79 \pm 8\%$, $p = 0,53$) καθώς και ο χρόνος που απαιτήθηκε ώστε το StO_2 να επανέλθει στο επίπεδο ηρεμίας μετά την άρση της ισχαιμίας και την κορύφωση της υπεραιμίας ($138,2 \pm 26,5$ vs. $142,1 \pm 34,6$ sec, $p = 0,64$) δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά πριν και μετά την έκθεση στο παθητικό κάπνισμα. Ο ρυθμός κατανάλωσης οξυγόνου μειώθηκε μετά από 30 λεπτά έκθεσης στο παθητικό κάπνισμα ($12,8 \pm 4,2$ vs. $11,3 \pm 2,8$ %/min, $p = 0,04$). Ο ρυθμός επαναιμάτωσης μειώθηκε επίσης σημαντικά ($5,6 \pm 1,8$ vs. $5 \pm 1,7$ %/sec, $p = 0,04$). Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές για τις κυτταροκίνες και την CRP ($p > 0,05$).

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματα μας υποδηλώνουν ότι η έκθεση στο παθητικό κάπνισμα καθυστερεί την κατανάλωση οξυγόνου από τον περιφερικό ιστό και επηρεάζει δυσμενώς την μικροαγγειακή αντιδραστικότητα μετά από την πρόκληση ισχαιμίας σε υγιείς μη-καπνιστές. Επίσης, η έκθεση σε παθητικό κάπνισμα 30 λεπτών φαίνεται να είναι πολύ μικρής διάρκειας για να προκαλέσει σημαντική φλεγμονώδη αντίδραση.

Λέξεις-κλειδιά: μικροκυκλοφορία, φασματοσκοπία εγγύς υπερύθρου φωτός, παθητικό κάπνισμα, αγγειακή αντιδραστικότητα, ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, κυτταροκίνη

VII. Summary

Introduction: The effects of cigarette smoking exposure on vascular health, particularly related to incidents of cardiovascular events, are well established. Cigarette smoke is responsible for preventable deaths worldwide. The negative effects of passive smoking exposure on the cardiovascular system are notably similar in significance to those caused by active smoking. Cigarette smoking is associated with acute alterations in microcirculation which include reduced blood flow and alterations of inflammatory markers. The acute effects of passive smoking on microcirculation have not been sufficiently studied. The primary aim of the present study was to detect microcirculatory alterations in healthy non-smokers after passive exposure to cigarette smoke, utilizing the Near Infrared Spectroscopy method combined with the vascular occlusion technique. Also, a secondary aim was to assess the effects of passive smoking on cytokines production.

Methods: Sixteen (9 females) non-smoking, healthy volunteers, age 34 ± 9 years, were exposed to passive smoking for 30 min. All participants were not regularly exposed to an environment polluted by cigarette smoke. Exclusion criteria were also black skin, body mass index greater than 30 kg/m^2 , history of respiratory and/or cardiovascular disease and anemia. Measurements were made in smoke-free, temperature-controlled (21 to 22°C) environment before and after exposure to passive smoking. Smoke concentration was monitored with a real-time particle counter. Microcirculatory parameters were measured with NIRS combined with VOT. The optode of NIRS was placed on the thenar muscle. A pneumatic cuff was placed above the elbow and was rapidly inflated (to 50 mmHg above each individual's systolic blood pressure) to induce arteriovenous occlusion for 3 min. After the occlusion and the transient ischemia, the cuff was quickly deflated. The following microcirculatory parameters were estimated: baseline tissue oxygen saturation (StO_2); StO_2 decrement after vascular occlusion (indicating the oxygen consumption rate); StO_2 incremental response after vascular occlusion release (reperfusion rate); the time period where the StO_2 signal returns to the baseline values after the hyperemic response.

Results: Baseline StO₂ (79.6 ± 6.4 vs. $79 \pm 8\%$, $p=0.53$) as well as the time needed for StO₂ to return to baseline levels (138.2 ± 26.5 vs. 142.1 ± 34.6 sec, $p=0.64$) did not significantly differ before vs. after passive smoking exposure. Oxygen consumption rate decreased after 30 min exposure to passive smoking (from 12.8 ± 4.2 to 11.3 ± 2.8 %/min, $p=0.04$); Reperfusion rate also significantly decreased (from 5.6 ± 1.8 to 5 ± 1.7 %/sec, $p=0.04$). There were no significant differences for cytokines and CRP.

Conclusions: Our results suggest that acute exposure to passive smoking delays peripheral tissue oxygen consumption and adversely affects microcirculatory responsiveness after stagnant ischemia in healthy non-smokers. Also, 30 min of passive smoking exposure appears to be too short to elicit a significant inflammatory response.

Key words: microcirculation; near-infrared spectroscopy; passive smoking; vascular reactivity; endothelium dysfunction, cytokine.

VIII. Βιβλιογραφία

1. U.S. Department of Health and Human Services, *The Health Consequences of Involuntary Exposure to Tobacco Smoke: A Report of the Surgeon General*. 2006, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Coordinating Center for Health Promotion, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health: Atlanta (GA).
2. Raupach, T., et al., *Secondhand smoke as an acute threat for the cardiovascular system: a change in paradigm*. Eur Heart J, 2006. **27**(4): p. 386-92.
3. Mueller, D., et al., *Particulate matter (PM) 2.5 levels in ETS emissions of a Marlboro Red cigarette in comparison to the 3R4F reference cigarette under open- and closed-door condition*. J Occup Med Toxicol, 2012. **7**(1): p. 14.
4. Britton, J. and I. Bogdanovica, *Tobacco control efforts in Europe*. Lancet, 2013. **381**(9877): p. 1588-95.
5. NTP (National Toxicology Program)., *Report on Carcinogens. 14th ed.* 2016, Research Triangle Park, NC: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. <https://ntp.niehs.nih.gov/go/roc14>
6. Hoffmann, D. and I. Hoffmann, *The changing cigarette, 1950-1995*. J Toxicol Environ Health, 1997. **50**(4): p. 307-64.
7. Bekki, K., et al., *Comparison of Chemicals in Mainstream Smoke in Heat-not-burn Tobacco and Combustion Cigarettes*. J uoeh, 2017. **39**(3): p. 201-207.
8. Hess, I.M., K. Lachiredy, and A. Capon, *A systematic review of the health risks from passive exposure to electronic cigarette vapour*. Public Health Res Pract, 2016. **26**(2).

9. Pellegrino, R.M., et al., *Electronic cigarettes: an evaluation of exposure to chemicals and fine particulate matter (PM)*. Ann Ig, 2012. **24**(4): p. 279-88.
10. Hair, E.C., et al., *Examining perceptions about IQOS heated tobacco product: consumer studies in Japan and Switzerland*. Tob Control, 2018. **27**(Suppl 1): p. s70-s73.
11. Protano, C., et al., *Second-hand smoke exposure generated by new electronic devices (IQOS(R) and e-cigs) and traditional cigarettes: submicron particle behaviour in human respiratory system*. Ann Ig, 2016. **28**(2): p. 109-12.
12. McKelvey, K., et al., *IQOS labelling will mislead consumers*. Tob Control, 2018. **27**(Suppl 1): p. s48-s54.
13. Samet, J.M., *Tobacco smoking: the leading cause of preventable disease worldwide*. Thorac Surg Clin, 2013. **23**(2): p. 103-12.
14. Morris, P.B., et al., *Cardiovascular Effects of Exposure to Cigarette Smoke and Electronic Cigarettes: Clinical Perspectives From the Prevention of Cardiovascular Disease Section Leadership Council and Early Career Councils of the American College of Cardiology*. J Am Coll Cardiol, 2015. **66**(12): p. 1378-91.
15. Torres, S., et al., *Biomarkers of Exposure to Secondhand and Thirdhand Tobacco Smoke: Recent Advances and Future Perspectives*. Int J Environ Res Public Health, 2018. **15**(12).
16. World Health Organization, 2015. *WHO global report on trends in prevalence of tobacco smoking 2015*. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/156262>.
17. Ng, M., et al., *Smoking prevalence and cigarette consumption in 187 countries, 1980-2012*. Jama, 2014. **311**(2): p. 183-92.

18. Baker, R.R., *Product formation mechanisms inside a burning cigarette*. Progress in Energy and Combustion Science, 1981. **7**(22): p. 135-153.
19. U.S. Department of Health and Human Services, *Publications and Reports of the Surgeon General*, in *How Tobacco Smoke Causes Disease: The Biology and Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease: A Report of the Surgeon General*. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, 2010: Atlanta (GA).
20. Nelson, E., *The miseries of passive smoking*. Hum Exp Toxicol, 2001. **20**(2): p. 61-83.
21. Li, X., *In vitro toxicity testing of cigarette smoke based on the air-liquid interface exposure: A review*. Toxicol In Vitro, 2016. **36**: p. 105-113.
22. Benowitz, N.L., J. Hukkanen, and P. Jacob, 3rd, *Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers*. Handb Exp Pharmacol, 2009(192): p. 29-60.
23. Leone, A., *How and why chemicals from tobacco smoke can induce a rise in blood pressure*. . World J Pharmacol, 2012. **1**(1): p. 10-20.
24. Sloan, A., et al., *The effects of smoking on fracture healing*. Surgeon, 2010. **8**(2): p. 111-6.
25. Apelberg, B.J., et al., *Environmental monitoring of secondhand smoke exposure*. Tob Control, 2013. **22**(3): p. 147-55.
26. Goniewicz, M.L., et al., *Exposure to carbon monoxide from second-hand tobacco smoke in Polish pubs*. Cent Eur J Public Health, 2009. **17**(4): p. 220-2.
27. Krzych-Falta, E., D. Modzelewska, and B. Samolinski, *Levels of exhaled carbon monoxide in healthy active and passive smokers*. Przegl Lek, 2015. **72**(3): p. 99-102.

28. Dorey, A., et al., *Acute and Chronic Carbon Monoxide Toxicity from Tobacco Smoking*. Mil Med, 2019.
29. Chen, J.Y., et al., *Nitric oxide bioavailability dysfunction involves in atherosclerosis*. Biomed Pharmacother, 2018. **97**: p. 423-428.
30. Guo, X., et al., *Effect of cigarette smoking on nitric oxide, structural, and mechanical properties of mouse arteries*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006. **291**(5): p. H2354-61.
31. Adams, T., et al., *Secondhand Smoking Is Associated With Vascular Inflammation*. Chest, 2015. **148**(1): p. 112-119.
32. Loffredo, L., et al., *Role of NADPH oxidase-2 and oxidative stress in children exposed to passive smoking*. Thorax, 2018. **73**(10): p. 986-988.
33. Yates, D.H., H. Breen, and P.S. Thomas, *Passive smoke inhalation decreases exhaled nitric oxide in normal subjects*. Am J Respir Crit Care Med, 2001. **164**(6): p. 1043-6.
34. Flouris, A.D., et al., *Biological evidence for the acute health effects of secondhand smoke exposure*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2010. **298**(1): p. L3-l12.
35. Veeranki, S.P., et al., *Secondhand smoke exposure among never-smoking youth in 168 countries*. J Adolesc Health, 2015. **56**(2): p. 167-73.
36. Flouris, A.D. and Y. Koutedakis, *Immediate and short-term consequences of secondhand smoke exposure on the respiratory system*. Curr Opin Pulm Med, 2011. **17**(2): p. 110-5.
37. Poulianiti, K., et al., *Antioxidant responses following active and passive smoking of tobacco and electronic cigarettes*. Toxicol Mech Methods, 2016. **26**(6): p. 455-61.

38. Fetterman, J.L., M.J. Sammy, and S.W. Ballinger, *Mitochondrial toxicity of tobacco smoke and air pollution*. Toxicology, 2017. **391**: p. 18-33.
39. Cao, S., et al., *The Health Effects of Passive Smoking: An Overview of Systematic Reviews Based on Observational Epidemiological Evidence*. PLoS One, 2015. **10**(10): p. e0139907.
40. Dunbar, A., W. Gotsis, and W. Frishman, *Second-hand tobacco smoke and cardiovascular disease risk: an epidemiological review*. Cardiol Rev, 2013. **21**(2): p. 94-100.
41. Lee, W. and S.H. Hwang, *The association between smoking or passive smoking and cardiovascular diseases using a Bayesian hierarchical model: based on the 2008-2013 Korea Community Health Survey*. 2017. **39**: p. e2017026.
42. Csordas, A. and D. Bernhard, *The biology behind the atherothrombotic effects of cigarette smoke*. Nat Rev Cardiol, 2013. **10**(4): p. 219-30.
43. Kato, T., et al., *Short-term passive smoking causes endothelial dysfunction via oxidative stress in nonsmokers*. Can J Physiol Pharmacol, 2006. **84**(5): p. 523-9.
44. Barua, R.S. and J.A. Ambrose, *Mechanisms of coronary thrombosis in cigarette smoke exposure*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013. **33**(7): p. 1460-7.
45. Grassi, D., et al., *Oxidative stress and endothelial dysfunction: say NO to cigarette smoking!* Curr Pharm Des, 2010. **16**(23): p. 2539-50.
46. Phaniendra, A., D.B. Jestadi, and L. Periyasamy, *Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases*. Indian J Clin Biochem, 2015. **30**(1): p. 11-26.

47. Kaplan, A. and E. Abidi, *Functional, Cellular, and Molecular Remodeling of the Heart under Influence of Oxidative Cigarette Tobacco Smoke*. 2017. **2017**: p. 3759186.
48. Adamopoulos, D., P. van de Borne, and J.F. Argacha, *New insights into the sympathetic, endothelial and coronary effects of nicotine*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2008. **35**(4): p. 458-63.
49. Puranik, R. and D.S. Celermajer, *Smoking and endothelial function*. Prog Cardiovasc Dis, 2003. **45**(6): p. 443-58.
50. Yang, Z., et al., *The role of tobacco smoke induced mitochondrial damage in vascular dysfunction and atherosclerosis*. Mutat Res, 2007. **621**(1-2): p. 61-74.
51. Widlansky, M.E. and D.D. Gutterman, *Regulation of endothelial function by mitochondrial reactive oxygen species*. Antioxid Redox Signal, 2011. **15**(6): p. 1517-30.
52. Degens, H., G. Gayan-Ramirez, and H.W. van Hees, *Smoking-induced skeletal muscle dysfunction: from evidence to mechanisms*. Am J Respir Crit Care Med, 2015. **191**(6): p. 620-5.
53. Barnoya, J. and S.A. Glantz, *Cardiovascular effects of secondhand smoke: nearly as large as smoking*. Circulation, 2005. **111**(20): p. 2684-98.
54. Powell, J.T., *Vascular damage from smoking: disease mechanisms at the arterial wall*. Vasc Med, 1998. **3**(1): p. 21-8.
55. Yuan, H., et al., *The effects of second-hand smoke on biological processes important in atherogenesis*. BMC Cardiovasc Disord, 2007. **7**: p. 1.
56. Schmid, P., et al., *Passive smoking and platelet thromboxane*. Thromb Res, 1996. **81**(4): p. 451-60.

57. Poon, D.C., et al., *Cytokines: how important are they in mediating sickness?* Neurosci Biobehav Rev, 2013. **37**(1): p. 1-10.
58. Daloe, M.H., et al., *Impact of Cigarette Smoking on Serum Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines and Growth Factors.* Am J Mens Health, 2017. **11**(4): p. 1169-1173.
59. Merghani, T.H., A. Saeed, and A. Alawad, *Changes in plasma IL4, TNFa and CRP in response to regular passive smoking at home among healthy school children in Khartoum, Sudan.* Afr Health Sci, 2012. **12**(1): p. 41-7.
60. Chung, K.F. and P.J. Barnes, *Cytokines in asthma.* Thorax, 1999. **54**(9): p. 825-57.
61. Chousterman, B.G., F.K. Swirski, and G.F. Weber, *Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis.* Semin Immunopathol, 2017. **39**(5): p. 517-528.
62. Opal, S.M. and V.A. DePalo, *Anti-inflammatory cytokines.* Chest, 2000. **117**(4): p. 1162-72.
63. Strzelak, A., et al., *Tobacco Smoke Induces and Alters Immune Responses in the Lung Triggering Inflammation, Allergy, Asthma and Other Lung Diseases: A Mechanistic Review.* 2018. **15**(5).
64. Arjamaa, O., et al., *Hypoxia and inflammation in the release of VEGF and interleukins from human retinal pigment epithelial cells.* Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2017. **255**(9): p. 1757-1762.
65. Ferrara, N., *Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis.* Kidney Int, 1999. **56**(3): p. 794-814.
66. Qiu, J.G., et al., *Cytokine detection by flow cytometry.* Methods Mol Biol, 2014. **1172**: p. 235-42.

67. Adan, A., et al., *Flow cytometry: basic principles and applications*. Crit Rev Biotechnol, 2017. **37**(2): p. 163-176.
68. Schick, S.F., et al., *Biomarkers of exposure to new and emerging tobacco delivery products*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2017. **313**(3): p. L425-l452.
69. Mattes, W., et al., *Biomarkers of tobacco smoke exposure*. Adv Clin Chem, 2014. **67**: p. 1-45.
70. Chang, C.M., et al., *Biomarkers of Tobacco Exposure: Summary of an FDA-Sponsored Public Workshop*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2017. **26**(3): p. 291-302.
71. Manikonda, A., et al., *Laboratory assessment of low-cost PM monitors*. Journal of Aerosol Science, 2016. **102**: p. 29-40.
72. Semple, S. and N. Latif, *How long does secondhand smoke remain in household air: analysis of PM2.5 data from smokers' homes*. Nicotine Tob Res, 2014. **16**(10): p. 1365-70.
73. Moore, J.P.R., et al., *Microcirculatory dysfunction and resuscitation: why, when, and how*. BJA: British Journal of Anaesthesia, 2015. **115**(3): p. 366-375.
74. Scheeren, T.W., *Journal of Clinical Monitoring and Computing 2015 end of year summary: tissue oxygenation and microcirculation*. J Clin Monit Comput, 2016. **30**(2): p. 141-6.
75. Segal, S.S., *Regulation of blood flow in the microcirculation*. Microcirculation, 2005. **12**(1): p. 33-45.
76. Gutterman, D.D., et al., *The Human Microcirculation: Regulation of Flow and Beyond*. Circ Res, 2016. **118**(1): p. 157-72.

77. Jacob, M., D. Chappell, and B.F. Becker, *Regulation of blood flow and volume exchange across the microcirculation*. Crit Care, 2016. **20**(1): p. 319.
78. Salgado, D.R., R. Favory, and D.D. Backer, *Microcirculatory assessment in daily clinical practice - not yet ready but not too far!* Einstein (Sao Paulo), 2010. **8**(1): p. 107-16.
79. Boulanger, C.M., *Endothelium*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2016. **36**(4): p. e26-31.
80. Godo, S. and H. Shimokawa, *Endothelial Functions*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2017. **37**(9): p. e108-e114.
81. Cahill, P.A. and E.M. Redmond, *Vascular endothelium - Gatekeeper of vessel health*. Atherosclerosis, 2016. **248**: p. 97-109.
82. Messner, B. and D. Bernhard, *Smoking and cardiovascular disease: mechanisms of endothelial dysfunction and early atherogenesis*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014. **34**(3): p. 509-15.
83. Korneeva, N.V. and B.Z. Sirotin, *Microcirculatory Bed, Microcirculation, and Smoking-Associated Endothelial Dysfunction in Young Adults*. Bull Exp Biol Med, 2017. **162**(6): p. 824-828.
84. Romagnoli S, T.O., De Gaudio AR, *Microcirculation in clinical practice*. OA Anaesthetics 2013. **1**((2)): p. 16.
85. Tew, G.A., et al., *Comparison of laser speckle contrast imaging with laser Doppler for assessing microvascular function*. Microvasc Res, 2011. **82**(3): p. 326-32.
86. Bale, G., C.E. Elwell, and I. Tachtsidis, *From Jobsis to the present day: a review of clinical near-infrared spectroscopy measurements of cerebral cytochrome-c-oxidase*. J Biomed Opt, 2016. **21**(9): p. 091307.

87. Zamparini, G., et al., *Noninvasive assessment of peripheral microcirculation by near-infrared spectroscopy: a comparative study in healthy smoking and nonsmoking volunteers*. J Clin Monit Comput, 2015. **29**(5): p. 555-9.
88. Hamaoka, T. and K.K. McCully, *Review of early development of near-infrared spectroscopy and recent advancement of studies on muscle oxygenation and oxidative metabolism*. J Physiol Sci, 2019.
89. Siafaka, A., et al., *Acute effects of smoking on skeletal muscle microcirculation monitored by near-infrared spectroscopy*. Chest, 2007. **131**(5): p. 1479-85.
90. Jones, S., et al., *Recent developments in near-infrared spectroscopy (NIRS) for the assessment of local skeletal muscle microvascular function and capacity to utilise oxygen*. Artery Res, 2016. **16**: p. 25-33.
91. Gerovasili, V., et al., *Utilizing the vascular occlusion technique with NIRS technology*. International Journal of Industrial Ergonomics, 2010. **40**(2): p. 218-222.
92. Dimopoulos, S., et al., *Peripheral muscle microcirculatory alterations in patients with pulmonary arterial hypertension: a pilot study*. Respir Care, 2013. **58**(12): p. 2134-41.
93. Samraj, R.S. and L. Nicolas, *Near infrared spectroscopy (NIRS) derived tissue oxygenation in critical illness*. Clin Invest Med, 2015. **38**(5): p. E285-95.
94. Tzanis, G., et al., *Attenuated Microcirculatory Response to Maximal Exercise in Patients With Chronic Heart Failure*. J Cardiopulm Rehabil Prev, 2016. **36**(1): p. 33-7.
95. Lima, A. and J. Bakker, *Near-infrared spectroscopy for monitoring peripheral tissue perfusion in critically ill patients*. Rev Bras Ter Intensiva, 2011. **23**(3): p. 341-51.

96. Donati, A., et al., *Near-infrared spectroscopy for assessing tissue oxygenation and microvascular reactivity in critically ill patients: a prospective observational study*. Crit Care, 2016. **20**(1): p. 311.
97. Semple, S., A. Apsley, and L. Maccalman, *An inexpensive particle monitor for smoker behaviour modification in homes*. Tob Control, 2013. **22**(5): p. 295-8.
98. Dacunto, P.J., et al., *Determining PM2.5 calibration curves for a low-cost particle monitor: common indoor residential aerosols*. Environ Sci Process Impacts, 2015. **17**(11): p. 1959-66.
99. Morgan, E., et al., *Cytometric bead array: a multiplexed assay platform with applications in various areas of biology*. Clin Immunol, 2004. **110**(3): p. 252-66.
100. Boushel, R. and C.A. Piantadosi, *Near-infrared spectroscopy for monitoring muscle oxygenation*. Acta Physiol Scand, 2000. **168**(4): p. 615-22.
101. Henriksson, P., et al., *Immediate effect of passive smoking on microcirculatory flow*. Microcirculation, 2014. **21**(7): p. 587-92.
102. Jo, W.-K., J.-W. Oh, and J.-I. Dong, *Evaluation of exposure to carbon monoxide associated with passive smoking*. Environmental Research, 2004. **94**(3): p. 309-318.
103. Raub, J.A. and V.A. Benignus, *Carbon monoxide and the nervous system*. Neurosci Biobehav Rev, 2002. **26**(8): p. 925-40.
104. Richardson, R.S., et al., *Effect of mild carboxy-hemoglobin on exercising skeletal muscle: intravascular and intracellular evidence*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2002. **283**(5): p. R1131-9.
105. McDonough, P., Moffatt, R. J., *Smoking-induced elevations in blood carboxyhaemoglobin levels. Effect on maximal oxygen uptake*. . Sports Med, 1999. **27**.

106. Asim, K., et al., *The Use of Cerebral Oximetry in Acute Carbon Monoxide Intoxication: A Preliminary Study*. Keio J Med, 2015. **64**(4): p. 57-61.
107. Nakatani, T., et al., *Effects of exposure to cigarette smoke at different dose levels on extensor digitorum longus muscle fibres in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2003. **30**(9): p. 671-7.
108. Knight-Lozano, C.A., et al., *Cigarette Smoke Exposure and Hypercholesterolemia Increase Mitochondrial Damage in Cardiovascular Tissues*. Circulation, 2002. **105**(7): p. 849-854.
109. van der Toorn, M., et al., *Lipid-soluble components in cigarette smoke induce mitochondrial production of reactive oxygen species in lung epithelial cells*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2009. **297**(1): p. L109-14.
110. Blitzer, M.L., S.D. Lee, and M.A. Creager, *Endothelium-derived nitric oxide mediates hypoxic vasodilation of resistance vessels in humans*. Am J Physiol, 1996. **271**(3 Pt 2): p. H1182-5.
111. Justice, J.M., M.A. Tanner, and P.R. Myers, *Endothelial cell regulation of nitric oxide production during hypoxia in coronary microvessels and epicardial arteries*. J Cell Physiol, 2000. **182**(3): p. 359-65.
112. McLay, K.M., et al., *Vascular responsiveness determined by near-infrared spectroscopy measures of oxygen saturation*. Exp Physiol, 2016. **101**(1): p. 34-40.
113. Soares, R.N., et al., *The association between near-infrared spectroscopy-derived and flow-mediated dilation assessment of vascular responsiveness in the arm*. Microvasc Res, 2019. **122**: p. 41-44.
114. Corretti, M.C., et al., *Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the*

- International Brachial Artery Reactivity Task Force*. J Am Coll Cardiol, 2002. **39**(2): p. 257-65.
115. Tremblay, J.C. and T.J. King, *Near-infrared spectroscopy: can it measure endothelial function?* Exp Physiol, 2016. **101**(11): p. 1443-1444.
116. Pinnamaneni, K., et al., *Brief exposure to secondhand smoke reversibly impairs endothelial vasodilatory function*. Nicotine Tob Res, 2014. **16**(5): p. 584-90.
117. Gul, I., et al., *Acute effects of passive smoking on endothelial function*. Angiology, 2011. **62**(3): p. 245-7.
118. Lu, Q., E. Gottlieb, and S. Rounds, *Effects of cigarette smoke on pulmonary endothelial cells*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2018. **314**(5): p. L743-L756.
119. He, J., et al., *Passive smoking and the risk of coronary heart disease--a meta-analysis of epidemiologic studies*. N Engl J Med, 1999. **340**(12): p. 920-6.
120. Holden, W.E., et al., *Endothelium-dependent effects of cigarette smoke components on tone of porcine intrapulmonary arteries in vitro*. Toxicol Appl Pharmacol, 1990. **104**(2): p. 191-9.
121. Iida, M., et al., *Mechanisms underlying cerebrovascular effects of cigarette smoking in rats in vivo*. Stroke, 1998. **29**(8): p. 1656-65.
122. Rahman, M.M. and I. Laher, *Structural and functional alteration of blood vessels caused by cigarette smoking: an overview of molecular mechanisms*. Curr Vasc Pharmacol, 2007. **5**(4): p. 276-92.
123. Schneider, M.P., E.I. Boesen, and D.M. Pollock, *Contrasting actions of endothelin ET(A) and ET(B) receptors in cardiovascular disease*. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2007. **47**: p. 731-59.

124. Niknazar S, F.S., Ahmady Asl N, Alipur MH, Mohammadnejad L, Rezaee H. , *The Effects of Three Months Exercise on Expression of Endothelin-1 in the Lung Tissue*. Journal of Biological Sciences 2008. **8**: p. 1092-1095.
125. Robles, J.C. and C.L. Heaps, *Adaptations of the endothelin system after exercise training in a porcine model of ischemic heart disease*. Microcirculation, 2015. **22**(1): p. 68-78.
126. Gosselin, R., et al., *Endothelin receptor changes in hypoxia-induced pulmonary hypertension in the newborn piglet*. Am J Physiol, 1997. **273**(1 Pt 1): p. L72-9.
127. Plevin, R., et al., *Regulation by hypoxia of endothelin-1-stimulated phospholipase D activity in sheep pulmonary artery cultured smooth muscle cells*. British journal of pharmacology, 1994. **112**(1): p. 311-315.
128. Rakugi, H., Tabuchi, Y., et al., *Evidence for endothelin-1 release from resistance vessels of rats in response to hypoxia*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1990. **169**(3): p. 973-977.
129. Flouris, A.D., et al., *Acute and short-term effects of secondhand smoke on lung function and cytokine production*. Am J Respir Crit Care Med, 2009. **179**(11): p. 1029-33.
130. Bonetti, P.O., et al., *Effect of brief secondhand smoke exposure on endothelial function and circulating markers of inflammation*. Atherosclerosis, 2011. **215**(1): p. 218-22.
131. Iannetta, D., et al., *Reliability of microvascular responsiveness measures derived from near-infrared spectroscopy across a variety of ischemic periods in young and older individuals*. Microvasc Res, 2019. **122**: p. 117-124.

