



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ν.Μ. ΣΙΤΑΡΑΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΟΓΛΥΚΑΝΕΣ ΣΤΟ ΓΕΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ**

**ΧΡΥΣΑΝΘΗ ΠΑΠΑΝΑΣΤΑΣΟΠΟΥΛΟΥ  
ΙΑΤΡΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ 2016**



Ημερομηνία αιτήσεως: 28/11/2008

Ημερομηνία ορισμού 3μελούς συμβουλευτικής επιτροπής: 10/04/2009

Μέλη 3μελούς συμβουλευτικής επιτροπής

1. Καθηγητής Φαρμακολογίας Νικόλαος Σιταράς (επιβλέπων)
2. Καθηγητής Φυσιολογίας Μιχαήλ Κουτσιλιέρης
3. Επικ. Καθ. Φαρμακολογίας Ιορδάνης Μουρούζης

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 01/06/2009

Ημερομηνία καταθέσεως διδακτορικής διατριβής: 22/06/2016

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής: Καθηγητής Πέτρος Σφηκάκης

Μέλη 7μελούς συμβουλευτικής επιτροπής:

1. Καθηγητής Ν. Σιταράς (επιβλέπων)
2. Καθηγητής Μ. Κουτσιλιέρης
3. Επ. Καθ. Ι. Μουρούζης
4. Καθηγητής Α. Τσακρής
5. Καθηγητής Ε. Ηλιοδρομίτης
6. Αναπλ. Καθηγητής Κ. Πάντος
7. Αναπλ. Καθηγήτρια Αικ. Τυλιγάδα

Βαθμός διατριβής:

---

Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής υπό της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλοί αποδοχή των γνωμών του συγγραφέως (Οργανισμός του Πανεπιστημίου Αθηνών, άρθρον 202§ 2, Νόμος 5343)



ΕΘΝΙΚΟΝ & ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΝ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΝ ΑΘΗΝΩΝ



ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

## ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ ΚΕΙΜΕΝΟ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ. ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ. ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΑΥΤΟΥ ΑΔΕΛΦΕΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΞΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ. ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΝ ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ, ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙΝ ΠΡΗΒΙΟΙΣ ΤΗΣΔΕ, ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΑΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΕΙΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ, Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΚΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ, ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΕΟΝΤΙ, ΤΑΛΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

## ΙΠΠΟΚΡΑΤΙΚΟΣ ΟΡΚΟΣ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

ΟΡΚΙΖΟΜΑΙ ΣΤΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΠΑΝΑΚΕΙΑ ΚΑΙ Σ' ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΚΑΙ ΤΙΣ ΘΕΕΣ, ΠΟΥ ΒΑΖΩ ΜΑΡΤΥΡΕΣ, ΟΤΙ ΘΑ ΕΚΠΛΗΡΩΣΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ ΚΑΙ ΤΟ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ ΑΥΤΟ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ. ΟΤΙ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΕΚΕΙΝΟΝ ΠΟΥ ΜΟΥ ΔΙΔΑΞΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ ΊΣΟΝ ΜΕ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΝ ΚΑΝΩ ΚΟΙΝΩΝΟ ΤΟΥ ΒΙΟΥ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΦΕΡΩ ΑΠΟ ΤΑ ΔΙΚΑ ΜΟΥ ΟΤΙ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ ΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΟΥ ΘΑ ΘΕΩΡΩ ΩΣ ΑΔΕΛΦΟΥΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑ ΤΟΥΣ ΔΙΔΑΞΩ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ, ΑΝ ΕΠΙΘΥΜΟΥΝ ΝΑ ΜΑΘΟΥΝ, ΧΩΡΙΣ ΜΙΣΘΟ ΚΑΙ ΧΩΡΙΣ ΣΥΜΦΩΝΙΑ. ΟΤΙ ΘΑ ΜΕΤΑΔΩΣΩ ΤΟΥΣ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΟΥΣ ΚΑΝΟΝΕΣ, ΤΑ ΘΕΩΡΗΤΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΙΣ ΥΠΟΛΟΙΠΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΣΤΟΥΣ ΓΙΟΥΣ ΜΟΥ, ΣΤΟΥΣ ΓΙΟΥΣ ΤΟΥ ΔΙΔΑΣΚΑΛΟΥ ΜΟΥ, ΚΑΙ ΣΕ ΜΑΘΗΤΕΣ ΠΟΥ ΘΑ ΕΧΟΥΝ ΣΥΝΔΕΣΗ ΜΑΖΙ ΜΟΥ ΜΕ ΟΡΚΟ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ, ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΥΝΗΘΕΙΑ ΤΩΝ ΙΑΤΡΩΝ, ΚΑΙ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ ΑΛΛΟ.

ΘΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΩ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΔΙΑΙΤΑ ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΩΦΕΛΕΙΑ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ, ΟΣΟ ΕΞΑΡΤΑΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ, ΚΑΙ (ΥΠΟΣΧΟΜΑΙ ΟΤΙ) ΘΑ ΤΟΥΣ ΠΡΟΦΥΛΑΞΩ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΒΛΑΒΗ ΚΑΙ ΑΔΙΚΙΑ.

ΔΕΝ ΘΑ ΧΟΡΗΓΗΣΩ ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΟ ΦΑΡΜΑΚΟ ΣΕ ΚΑΝΕΝΑ, ΟΣΟ ΚΑΙ ΑΝ ΠΑΡΑΚΛΗΘΩ, ΟΥΤΕ ΘΑ ΥΠΟΔΕΙΞΩ ΤΕΤΟΙΑ ΣΥΜΒΟΥΛΗ. ΕΠΙΣΗΣ ΔΕΝ ΘΑ ΔΩΣΩ ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΟ ΕΚΤΡΩΤΙΚΟ. ΑΓΝΗ ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΗ ΘΑ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΤΗ ΖΩΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ. ΔΕΝ ΘΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΗΣΩ ΟΠΩΣΔΗΠΟΤΕ ΑΥΤΟΥΣ ΠΟΥ ΠΑΣΧΟΥΝ ΑΠΟ ΠΕΤΡΑ, ΑΛΛΑ ΘΑ ΑΦΗΣΩ ΤΗΝ ΠΡΑΞΗ ΑΥΤΗ ΣΤΟΥΣ ΕΞΑΣΚΗΜΕΝΟΥΣ. ΣΕ ΟΣΑ ΣΠΙΤΙΑ ΠΡΟΣΚΑΛΟΥΜΑΙ, ΘΑ ΜΠΑΙΝΩ ΓΙΑ ΤΟ ΚΑΛΟ ΤΩΝ ΑΡΡΩΣΤΩΝ, ΚΡΑΤΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΕΑΥΤΟ ΜΟΥ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΘΕΛΗΜΑΤΙΚΗ ΑΔΙΚΙΑ Η ΑΛΛΗ ΔΙΑΦΘΟΡΑ ΚΑΙ ΠΡΟ ΠΑΝΤΩΝ ΜΑΚΡΙΑ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΑΦΡΟΔΙΣΙΑΚΗ ΠΡΑΞΗ ΣΕ ΣΩΜΑΤΑ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ Η ΔΟΥΛΩΝ.

ΟΣΑ ΔΕ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΘΑ ΔΩ Η ΘΑ ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΠΕΡΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΣΧΟΛΙΕΣ ΜΟΥ ΣΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ ΖΩΗ, ΟΣΑ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΝΑ ΚΟΙΝΟΛΟΓΟΥΝΤΑΙ ΣΤΟΥΣ ΕΞΩ, ΘΑ ΤΑ ΑΠΟΣΙΩΠΩ, ΥΠΟΛΟΓΙΖΟΝΤΑΣ ΟΤΙ ΑΥΤΑ ΕΙΝΑΙ ΙΕΡΑ ΜΥΣΤΙΚΑ. ΟΣΟ ΛΟΙΠΟΝ ΘΑ ΤΗΡΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ, ΚΑΙ ΔΕΝ ΘΑ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΙΑΣΩ, ΕΙΘΕ ΝΑ ΠΕΤΥΧΑΙΝΩ ΣΤΗ ΖΩΗ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ, ΕΧΟΝΤΑΣ ΚΑΛΟ ΟΝΟΜΑ ΠΑΝΤΟΤΕ ~~ΑΝΑΜΕΣΑ~~ ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ. ΕΑΝ ΟΜΩΣ ΤΟΝ ΠΑΡΑΒΩ ΚΑΙ ΓΙΝΩ ΕΠΙΟΡΚΟΣ, ΝΑ ΠΑΘΩ ΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ.





## ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Όνοματεπώνυμο: ΠΑΠΑΝΑΣΤΑΣΟΠΟΥΛΟΥ ΧΡΥΣΑΝΘΗ

Πατρώνυμο: ΙΩΑΝΝΗΣ

Ημερομηνία γέννησης: 06/06/1984

Τόπος γέννησης: ΑΘΗΝΑ ΑΤΤΙΚΗΣ

Υπηκοότητα: ΕΛΛΗΝΙΚΗ

Οικογενειακή κατάσταση: ΕΓΓΑΜΗ

Διεύθυνση οικίας: ΑΡΧΑΓΓΕΛΟΣ ΡΟΔΟΣ

Τηλέφωνα επικοινωνίας: 6974647833

Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο: chrapan@med.uoa.gr

### Εκπαίδευση

---

Σεπτέμβριος 2002- Αύγουστο 2008 φοιτήτρια Ιατρικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (βαθμός πτυχίου: Άριστα)

1999-2002: 2<sup>ο</sup> Ενιαίο Λύκειο Πύργου

### Μεταπτυχιακές Σπουδές

---

Σεπτέμβριος 2012- σήμερα Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα "Βιοστατιστική", Ιατρική Σχολή Αθηνών, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, (προς ολοκλήρωση της διπλωματικής)

Σεπτέμβριος 2010-2013 Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα "Εφαρμοσμένη Δημόσια Υγεία", Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας, (βαθμός πτυχίου: Άριστα)

Φεβρουάριος 2010-2012 Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα "Θρόμβωση- Αιμορραγία- Ιατρική μεταγίσεων", Ιατρική Σχολή Αθηνών, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, (βαθμός πτυχίου: Άριστα)

### Επαγγελματική εμπειρία

---

Απρίλιος 2016: λήψη ιατρικής ειδικότητας Μικροβιολογίας- Ιατρικής Βιοπαθολογίας

Νοέμβριος 2011- Ιανουάριος 2016: ειδικευόμενη Μικροβιολογίας- Ιατρικής Βιοπαθολογίας, Γ.Ν. Παίδων "Η Αγία Σοφία"

Σεπτέμβριος 2009- Σεπτέμβριος 2010: ιατρός υπηρεσίας υπαίθρου στο Κ.Υ. Αρχαγγέλου Ρόδου, Περιφέρεια Νοτίου Αιγαίου

Σεπτέμβριος 2004-2008: Επιστημονικός Συνεργάτης του Δρ. Ν. Μ. Σιταρά, Καθηγητή Πειραματικής Φαρμακολογίας της Ιατρικής Σχολής Αθηνών

### Ερευνητικό έργο

---

Νοέμβριος 2009 - σήμερα: υποψήφια διδάκτωρ, εκπόνηση διδακτορικής διατριβής, Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Ιατρικής Σχολής Αθηνών, επιβλέπων: Δρ. Ν. Μ. Σιταρά, Καθηγητή Πειραματικής, Φαρμακολογίας της Ιατρικής Σχολής Αθηνών, «Γλυκοζαμινογλυκάνες στο γενικό πληθυσμό»

Συμμετοχή στην εκπόνηση διδακτορικής διατριβής:

Ο ρόλος των γλυκοζαμινογλυκανών σε ασθενείς με AIDS , Μαυροειδή Νικολέτα

### Ξένες γλώσσες

---

Αγγλικά

### Γνώση Η/Υ

---

Γνώση των συνήθων προγραμμάτων της Microsoft (World, Excel, PowerPoint), καθώς και των στατιστικών πακέτων SPSS, STAT-GRAPHICS PLUS version 5.1 (Graphic Software System) και STATA

### Εκπαιδευτικό έργο

---

Εκπαιδευτική ομιλία σε:

Νεότερα στις μεμβρανοπάθειες, Ετήσιο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Εργαστηριακής Αιματολογίας-Αιμοδοσίας, Κύκλος XIX (2014-2015), Αθήνα 2015

Δρεπανοκυτταρικά σύνδρομα – Παρουσίαση ενδιαφέροντος περιστατικού, Ετήσιο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Εργαστηριακής Αιματολογίας-Αιμοδοσίας, Κύκλος XIX (2014-2015), Αθήνα 2015

Σιδηροπενική αναμία- Εργαστηριακή διερεύνηση και διαφορική διάγνωση, Ετήσιο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Εργαστηριακής Αιματολογίας-Αιμοδοσίας, Κύκλος XVII (2012-2013), Αθήνα 2013

### Συνέδρια

---

1. 2<sup>ο</sup> Συμπόσιο Κλινικής Ογκολογίας, Ρόδος, 2014
2. Ετήσιο Σεμινάριο Εξειδίκευσης στην Εργαστηριακή Αιματολογία και Αιμοδοσία, Αθήνα, 2012-2013
3. 37<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο , Αθήνα, 2011
4. Εκπαιδευτικές Ημερίδες Πρωτοβάθμιας Φροντίδας Υγείας «Γ. Παπαδάκης», Φεβρουάριος 2011, Αθήνα
5. Α΄ Εφαρμοσμένο Κλινικό φροντιστήριο «Η σύγχρονη απεικόνιση στην καθημερινή κλινική πράξη», Φεβρουάριος 2011, Αθήνα
6. «Λοιμώξεις Κεντρικού Νευρικού Συστήματος», 2008, Αθήνα<sup>9</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο
7. 12<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας, Μάιος 2006, Λάρισα
8. Γεροντολογίας-Γηριατρικής, 26-28 Ιανουαρίου 2006, Αθήνα

9. 4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Φαρμακολογίας, 2006, Αθήνα
10. Χειρουργικές Τεχνικές Ενδοουρολογίας Δεκεμβρίου, 2006, Αλεξανδρούπολη
11. 4<sup>ο</sup> Συνέδριο Κλινικής Ογκολογίας Δυτικής Ελλάδας, Απρίλης 2004, Ρίο, Πάτρα
12. 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο AIDS, 11-13 Νοεμβρίου 2004, Μεγάρου Μουσικής Αθηνών
13. Διημερίδα " Ενδοκρινολογία Αναπαραγωγής στη γυναίκα και στον άνδρα ", Νοέμβριος 2004, Αθήνα
14. 15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Νοέμβριος 2004, Αθήνα
15. 2nd International Congress on Adult Consequences of Childhood Endocrine Diseases, May 2004 , Athens
16. XIVth ESPU Congress for Paediatric Urology European Society May 6-8 2003, Athens
17. 23ες Αθηναϊκές Ουρολογικές Ημέρες, 29-30 Μαρτίου 2003, Αθήνα

#### Δημοσιεύσεις σε ξενόγλωσσα περιοδικά

---

- Cardiovascular risk and serum hyaluronic acid: a preliminary study in a healthy population of low/intermediate risk., *Papanastadopoulou C., Papastamataki M., Anagnwstopoulou E., Karampatsis P., Papasotiriou I., Sitaras N.*, Journal of Clinical Laboratory Analysis (accepted)
- The diagnostic role of glycosaminoglycans in pleural effusions: a pilot study. Vavetsi R, Bonovas S, Polizou P, Papanastadopoulou C, Dougekou G, Sitaras NM., BMC Pulm Med. 2009 Feb 18;9:9. doi: 10.1186/1471-2466-9-9.
- Application of the Taguchi Approach in Laboratory Practice: Preliminary Results on an Evaluation Experiment. Rozina Vavetsi, Chrysanthi Papanastadopoulou, Georgia Dougekou, George J Besseris, and Nikolaos M. Sitaras. Review of Clinical Pharmacology and Pharmacokinetics, International Edition 20 (2), pp. 122-124. (Also presented in the 4th Greek Congress of Pharmacology, Patra, 19-20 May, 2006)

#### Δημοσιεύσεις σε ελληνικά περιοδικά

---

- Προαναλυτικά σφάλματα Βιοχημικού Εργαστηρίου μεγάλου Νοσοκομείου των Αθηνών και η γνώμη των ειδικευόμενων ιατρών σε σχέση με αυτά., Γ. Νίκου, Ε. Βελονάκης, Ε. Θανασιάς, Χ. Παπαναστασοπούλου, Γ. Μαρόπουλος, Α. Βατόπουλος, Χ. Κουτής, «Ελληνική Μικροβιολογική και Υγιεινολογική Ένωση», Δελτίο Ιανουαρίου – Ιουνίου 2013 (Τόμος 58, Τεύχη 1 & 2)
- Συστήματα κυκλοφορίας νερού οδοντιατρικών μονάδων: Μικροβιακή επιμόλυνση, μέτρα πρόληψης και ελέγχου., Βελονάκη Φ., Πανουργιάς Ε., Βελονάκης Ε., Παπαναστασοπούλου Χ., Αθανασούλη Θ.<sup>†</sup>, Βατόπουλος Α., Στοματολογία, Τόμος 71, Τεύχος 1, Ιανουάριος 2014

#### Ανακοινώσεις σε συνέδρια

---

1. Πρωτεογλυκάνες: Αφανείς Ρυθμιστές της Ιστικής Λειτουργίας. Χρυσάνθη Παπαναστασοπούλου, Γεωργία Δουγέκου, Ροζίνα Βαβέτση. Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Μορφολειτουργικός Τομέας, Ιατρική Σχολή Αθηνών.

- Παρουσιάστηκε στο 12<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Σχολής, Λάρισα, 5-7 Μαΐου, 2006.
2. Ο διαγνωστικός ρόλος των γλυκοζαμινογλυκανών στο πλευριτικό υγρό. Βαβέτση Ρ., Μπονόβας Σ., Πολύζου Π., Παπαναστασοπούλου Χ., Δουγκου Γ., Σιταράς ΝΜ. Παρουσιάστηκε στο 3<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατρικής Βιοχημείας, Caravel, Αθήνα, 26-29 Μαρτίου 2009
  3. Πρόληψη και έγκαιρη διάγνωση των ουρολογικών νοσημάτων, Βασίλας Μ., Θάνος Α., Παπαναστασοπούλου Χ., Πουλάκης Β., Χρυσοφός Μ., Παρουσιάστηκε στο Ιπποκρατικές Ημέρες, Κως, 26-27 Μαρτίου 2010
  4. Our experience in clinical and histopathological characteristics of urothelial bladder cancer in patients under 30 years old., Κ Ζουγκας, Α Petas, V Papadopoulos, I Georgopoulos, M Vasilas, C Papanastasiopoulou, T Sottrillis., Παρουσιάστηκε στο 6<sup>ο</sup> SEEM (EUA South Eastern European Meeting), Instabul, Turkey, 1-2 October 2010
  5. Η εμπειρία μας στα κλινικά και ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά του καρκίνου της κύστεως, Παρουσιάστηκε στο 9<sup>ο</sup> Παμπελονοσιακό Ιατρικό Συνέδριο, Πάτρα, 22-24 Οκτωβρίου 2010
  6. Όταν μια καλή ιδέα κακοποιείται από ένα κακό πρωτόκολλο, Χ. Παπαναστασοπούλου, Η. Χαληγιάννης, Μ. Σιμακάκης, Ε. Αλχανάτης και Ν. Μ. Σιταράς, Παρουσιάστηκε στο 37<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 17-21 Μαΐου 2011
  7. Συγκριτική μελέτη των επεξεργασιών με θερμότητα, οξύ και χωρίς στα πλαίσια της ISO 11731 για την ποιοτική και αριθμητική απομόνωση της *legionella* spp. Και των ορότυπων της, Χ. Πολίτης<sup>1</sup>, Χ. Παπαναστασοπούλου, Ε. Βελονάκης, Α. Φλούντζη, Α. Βατόπουλος, Παρουσιάστηκε στο 2<sup>ο</sup> Φόρουμ Δημόσιας Υγείας, Λάρισα, 25 - 27 Νοεμβρίου 2011
  8. Συγκριτική μελέτη των επεξεργασιών με θερμότητα, οξύ και χωρίς στα πλαίσια της ISO 11731 για την ποιοτική και αριθμητική απομόνωση της *legionella* spp. Και των ορότυπων της, Χ. Πολίτης, Χ. Παπαναστασοπούλου, Ε. Βελονάκης, Α. Φλούντζη, Α. Βατόπουλος, 7<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατρικής Βιοπαθολογίας, Αθήνα, 15-17 Μαρτίου 2012
  9. Comparative evaluation of processing- untreated, with heat and acid- water samples within the iso 11731 for qualitative and numerical isolation of *legionella* spp. And serotypes., Velonakis, Ch. Papanastasiopoulou, A. Flountzi, Ch. Politis, A. Vatopoulos, ECCMID, London, 31 March - 3 April 2012
  10. Οροθετικότητα έναντι τοξοπλάσματος παιδιατρικού πληθυσμού την τελευταία διετία, Δημήτριος Μπούρας, Ευαγγελία Πετρίδου, Χρυσάνθη Παπαναστασοπούλου, Αθηνά – Ελένη Χαρισιάδου, Μαρία Γιαννάκη, Παρουσιάστηκε στο 6<sup>ο</sup> πανελλήνιο συνέδριο ελληνικής εταιρείας ελέγχου λοιμώξεων, Αθήνα, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, 2013
  11. Μελέτη πολυανθεκτικών στελεχών σε νοσοκομείο της περιφέρειας, Α.Φέρκε, Δ.Χατζηδάκη, Χ.Παπαναστασοπούλου, Ν.Κώστας, Μ.Γώγου, Γ. Ντέτσκας, Σ.Κλαδίτη, Α.Παπακωνσταντίνου, Σ. Καραταπάνης., 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Ελέγχου Λοιμώξεων, Αθήνα, 8-9 Νοεμβρίου 2012
  12. Μηχανισμός ανοχής και ευαισθησία στα αντιβιοτικά των πολυανθεκτικών στελεχών σε βακτηριαμία., Α. Φέρκε, Δ. Χατζηδάκη, Χ. Παπαναστασοπούλου, Ν. Κώστας, Γ.Γιαννιάς, Μ. Σταμπόρη, Σ. Κλαδίτη, Α. Παπακωνσταντίνου, Σ. Καραταπάνης., 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Ελέγχου Λοιμώξεων, Αθήνα, 8- 9 Νοεμβρίου 2012
  13. Μελέτη πολυανθεκτικών στελεχών ασθενών ΜΕΘ σε νοσοκομείο της περιφέρειας., Α.Φέρκε, Δ.Χατζηδάκη, Χ.Παπαναστασοπούλου, Π.Γιακκούπη, Σ.Κλαδίτη, Σ. Καραταπάνης, 6<sup>ο</sup> εθνικό συνέδριο κλινικής μικροβιολογίας & νοσοκομειακών λοιμώξεων, Αθήνα, 27,28 Φεβρουαρίου & 1 Μαρτίου 2013
  14. Επίδραση της αιμοσιδήρωσης και της ηπατίτιδας C στην ενζυμική ενεργότητα της βουτυρυλ-χολινεστεράσης, Χρυσάνθη Παπαναστασοπούλου, Μαρία Παπασταματάκη, Πολυξένη Δελαπόρτα<sup>2</sup>, Αντώνιος Καττάμης, Ιωάννης Παπασωτηρίου, Χρήστος Καττάμης, Παρουσιάστηκε στο 26<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 12 - 14 Νοεμβρίου 2015

15. Total antioxidant capacity of commonly consumed fresh fruit juices, name brand fruit juices and private label juices released in the Greek Market., D. Anagnostopoulou, K. P. Skenderi, Papanastasopoulou C., Ch. Roidi, E. Pasoudi, N. M. Sitaras, θα παρουσιαστεί στο 1<sup>ο</sup> Διεθνές Συνέδριο για τον Οινικό Τουρισμό, Σαντορίνη, 14 – 16 Οκτωβρίου 2016

#### Συμμετοχή σε βιβλία

---

Συγγραφή των παρακάτω κεφαλαίων:

- Σιδηροπενική αναιμία- Εργαστηριακή διερεύνηση και διαφορική διάγνωση, Ετήσιο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Εργαστηριακής Αιματολογίας-Αιμοδοσίας, Κύκλος XVII (2012-2013), Αθήνα 2013
- Νεότερα στις μεμβρανοπάθειες, Ετήσιο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Εργαστηριακής Αιματολογίας-Αιμοδοσίας, Κύκλος XIX (2014-2015), Αθήνα 2015
- Δρεπανοκυτταρικά σύνδρομα – Παρουσίαση ενδιαφέροντος περιστατικού, Ετήσιο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Εργαστηριακής Αιματολογίας-Αιμοδοσίας, Κύκλος XIX (2014-2015), Αθήνα 2015.

#### Ενδιαφέροντα

---

Εθελοντισμός με συμμετοχή σε ομάδα αιμοδοσίας ως ιατρός

#### Συμμετοχή σε εταιρείες

---

Μέλος της: Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στη σύγχρονη ιατρική οι γλυκοζαμινογλυκάνες έχουν σπουδαίο ρόλο στη θεραπευτική. Η εφαρμογή τους στην αποκατάσταση των ιστών, επούλωση των τραυμάτων, θεραπεία της οστεοαρθρίτιδας και την πρόληψη των θρομβώσεων κερδίζει συνεχώς έδαφος. Ενδιαφέρον παρουσιάζει και ο προσδιορισμός τους σε διάφορα βιολογικά υγρά ως δεικτών διάγνωσης και/ή πρόγνωσης.

Σ' αυτό το πλαίσιο έγινε μια προσπάθεια καθορισμού των επιπέδων αναφοράς των γλυκοζαμινογλυκανών σε εθελοντές, χωρίς οξέα προβλήματα υγείας. Για αυτόν τον λόγο, συγκεντρώθηκαν 1.000 οροί, ενώ συγχρόνως καταγράφηκαν το ύψος, το βάρος, το ατομικό και οικογενειακό ιστορικό και οι συνήθειες αιματολογικοί και βιοχημικοί δείκτες του κάθε συμμετέχοντα. Οικονομικοί περιορισμοί μας περιώρισαν στο να προσδιορίσουμε το επίπεδο μιας μόνο γλυκοζαμινογλυκάνης – του υαλουρονικού οξέος (HA), στον ορό μόνο 200 εθελοντών. Επιλέξαμε το υαλουρονικό οξύ, που συγκεντρώνει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον και περιοριστήκαμε στους 200 ορούς, γιατί μας παρέχουν ασφαλή στατιστικά δεδομένα. Μετά από στατιστική επεξεργασία προσπαθήσαμε να εξάγουμε συμπεράσματα για την τιμή του HA στον ορό και με βιβλιογραφική αναζήτηση οδηγηθήκαμε στο ερώτημα, που τελικά απαντήθηκε: της πιθανής συσχέτισης του HA ορού με τον κίνδυνο για εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου σε έναν πληθυσμό χαμηλού / ενδιάμεσου κινδύνου για καρδιαγγειακά επεισόδια.

Στο τέλος αυτής της προσπάθειας, που εν συντομία περιγράφηκε παραπάνω και τα αποτελέσματα της θα διαβάσετε στις επόμενες σελίδες, αισθάνομαι την υποχρέωση να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της διατριβής μου, Καθηγητή Κλινικής Φαρμακολογίας και Διευθυντή του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ, κ. Σιταρά Νίκο. Επίσης, εκφράζω τις ευχαριστίες μου στο Διευθυντή του Βιοχημικού Εργαστηρίου του Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία» κύριο Παπασωτηρίου Ιωάννη, του οποίου η παρέμβαση υπήρξε σωτήρια και καταλυτική, και στη Βιολόγο του ίδιου εργαστηρίου κ. Παπασταματάκη Μαρία, με την οποία η συνεργασία μας ήταν άψογη. Ευχαριστώ την κ. Αναγνωστοπούλου Ελένη με την οποία μοιραστήκαμε τις ίδιες αγωνίες και η οποία εξασφάλισε το αντιδραστήριο μέτρησης.

Σε μια πράξη ευγνωμοσύνης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, τη μητέρα μου Μαρία Φουτούλη – Παπαναστασοπούλου, που χωρίς την πολύτιμη συνδρομή της δε θα ήταν εφικτή αυτή η προσπάθεια και τον πατέρα μου Ιωάννη Παπαναστασόπουλο, που μου έβαλε το «μικρόβιο της διατριβής» από τα μαθητικά μου ακόμα χρόνια. Τους ευχαριστώ για ό,τι πέτυχα και θα πετύχω.

Ευχαριστώ το σύζυγό μου Σωτήρη Κάζα για την ανυπολόγιστη υποστήριξή του στη διάρκεια των δύσκολων στιγμών. Ευχαριστώ θερμά τη θεία μου Ανθούλα Φουτούλη, που στάθηκε δίπλα μου από τα πρώτα μου φοιτητικά και ερευνητικά βήματα, τις αδερφές μου Άννα και Κωνσταντίνα, που μοιράστηκαν τις ανησυχίες μου και τους προβληματισμούς μου και την συνάδελφο (και κουμπάρα μου) Σοφία Θεοδωροπούλου, που με βοήθησε ουσιαστικά, όποτε της το ζήτησα. Και μερικούς ακόμη που ίσως θα ξέχασα.

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ (2)

Στις 11 Οκτωμβρίου ,και ενώ το σύγγραμμα βρισκόταν υπό εκτύπωση, ο Καθηγητής και Επιβλέπων έφυγε από κοντά μας.

Θέλησα να παραμείνει ο πρώτος πρόλογος, όπως τον είχε μελετήσει εκείνος. Σεμνός όπως πάντα είχε αφαιρέσει κάθε καλό λόγο, που είχα γράψει για το προσωπό του. Το κενό που άφησε για εμένα είναι μεγάλο, αφού υπήρξε Δάσκαλός μου. Με μύησε στον κόσμο της έρευνας και του πειράματος. Μου έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθώ με το κομμάτι της ιατρικής που είναι γοητευτικό και άγνωστο για τους πολλούς. Πάντα βρισκόταν δίπλα μου με υπομονή και κατανόηση.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στον Αναπληρωτή Καθηγητή κύριο Πάντο Κωνσταντίνο, που με βοήθησε με τις τελευταίες αλλά σημαντικές λεπτομέρειες της παρουσίασης.

*Στη μνήμη του Καθηγητή μου,*

*Νικολάου Σιταρά*





## Περιεχόμενα

---

### I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΟΓΛΥΚΑΝΕΣ	Σελ.
1.1 Περιγραφή γλυκοζαμινογλυκανών	1
1.2 Βιοσύνθεση γλυκοζαμινογλυκανών	4
1.3 Θεϊκή χονδροϊτίνη (CS)	6
1.4 Θεϊκή δερματάνη (DS)	8
1.5 Θεϊκή κερατάνη (KS)	9
1.6 Ηπαρίνη/ Θεϊκή ηπαράνη (HP/ HS)	10
1.7 Υαλουρονικό οξύ (HA)	
1.7.1 Σύνθεση	12
1.7.2 Μεταβολισμός	12
1.7.3 Εντόπιση	13
1.7.4 Υποδοχείς	14
1.7.5 Δράσεις- Ιδιότητες	15
1.7.6 Χρήσεις	17
1.8 Γλυκοζαμινογλυκάνες στο αίμα	19
2. ΠΡΩΤΕΟΓΛΥΚΑΝΕΣ	
2.1 Γενικά	20
2.2 Εξωκυττάρια Πρωτεογλυκάνες	23
2.3 Πρωτεογλυκάνες της βασικής μεμβράνης	26
2.4 Ενδοκυττάρια πρωτεογλυκάνες και Πρωτεογλυκάνες της κυτταρικής επιφάνειας	28
3. ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	
3.1 Ορισμός αθηρωμάτωσης	31
3.2 Μηχανισμός αθηρωμάτωσης	32
3.3 Παράγοντες κινδύνου αθηρωμάτωσης	35
3.4 Κλινική εκδήλωση αθηρωμάτωσης	36
3.5 Πρωτεογλυκάνες – Γλυκοζαμινογλυκάνες και καρδιαγγειακό σύστημα	36
3.6 Υαλουρονικό οξύ και καρδιαγγειακό σύστημα	38
3.7 Υαλουρονικό οξύ και διαβήτης	50
3.8 Υαλουρονικό οξύ ως δείκτης φλεγμονής	51
3.9 Υαλουρονικό οξύ και C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (hs CRP)	52
3.10 Καρδιαγγειακή νόσος και C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (hs CRP)	53

### II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	56
2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	
2.1 Συμμετέχοντες	57
2.2 Διάρκεια μελέτης	57
2.3 Κριτήρια εισαγωγής	58
2.4 Κριτήρια αποκλεισμού	58

2.5 Κατηγορίες ελέγχου συμμετεχόντων	58
2.6 Ορισμός δυσλιπιδαιμίας	59
2.7 Σακχαρώδης διαβήτης	59
2.8 Μεταβολικό σύνδρομο	60
2.9 Υπολογισμός καρδιαγγειακού κινδύνου	60
2.10C- αντιδρώσα πρωτεΐνη – high sensitivity C Reactive Protein (hs-CRP)	62
2.11 Συλλογή και φύλαξη αίματος	62
2.11.1 Μέτρηση αιματολογικών δεικτών	63
2.11.2 Μέτρηση βιοχημικών δεικτών	63
2.11.3 Ποσοτικός προσδιορισμός υαλουρονικού οξέος	64
2.12 Επεξεργασία των δειγμάτων	68
2.13 Στατιστική ανάλυση δεδομένων	68
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
3.1 Γενικά χαρακτηριστικά	69
3.2 Δημογραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού	69
3.3 Αιματολογικός έλεγχος	69
3.4 Βιοχημικός έλεγχος	70
3.5 Υαλουρονικό οξύ	71
3.5.1 Χαρακτηριστικά της μεταβλητής του υαλουρονικού οξέος	71
3.5.2 Γραμμικές συσχετίσεις στο σύνολο των συμμετεχόντων	72
3.5.3. Βαθμολογία κινδύνου κατά Framighan (Framighan Risk Score)	75
3.5.4 Δυσλιπιδαιμία	80
3.5.5 Αντιλιπιδαιμική αγωγή (στατίνες)	83
3.5.6 Σακχαρώδης διαβήτης	86
3.5.7 Τιμές γλυκόζης μεγαλύτερες των 120mg/dl	88
3.5.8 Μεταβολικό σύνδρομο	89
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	93
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	99
<b>III. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ia ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΩΝ</b>	101
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IIb ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ</b>	104
<b>V. ΠΕΡΙΛΗΨΗ- SUMMARY</b>	105
<b>IV. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	107

# **I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

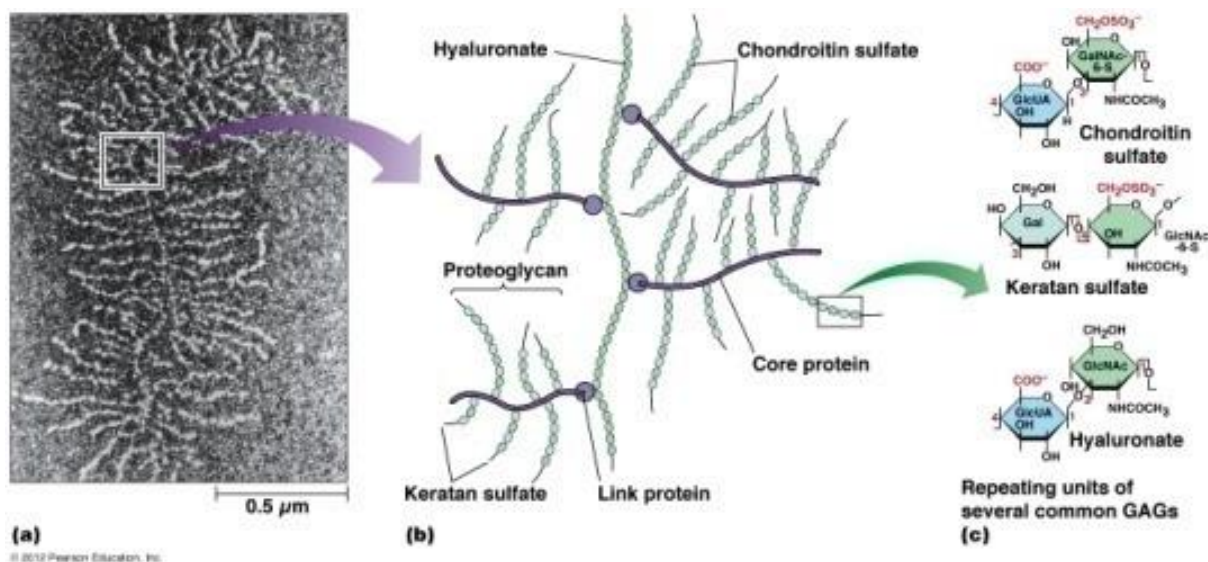
## 1 ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΟΓΛΥΚΑΝΕΣ

---

### 1.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΟΓΛΥΚΑΝΩΝ

Οι γλυκοζαμινογλυκάνες έχουν μια αναμφισβήτητα περίπλοκη δομή, που έχει προκαλέσει ερευνητικό ενδιαφέρον κυρίως τα τελευταία χρόνια. Πρόκειται για γραμμικούς ετεροπολυσακχάρητες, που αποτελούνται από χαρακτηριστική επαναλαμβανόμενη αλληλουχία δισακχαριτών (Osago et al., 2014), ένα ουρονικό οξύ, το D-γλυκουρονικό ή το L-ιδουρονικό οξύ, και ένα αμινοσάκχαρο (εξοζαμίνη), τη D-γαλακτοζαμίνη ή τη D-γλυκοζαμίνη (Gandhi and Mancera, 2008). Οι εξοζαμίνες συνδέονται γλυκοζιτικά με το D- γλυκουρονικό, L-ιδουρονικό οξύ ή με D-γαλακτόζη και στη δισακχαριτική τους μονάδα εντοπίζονται N-ακετυλο, O- ή N-θειικές ομάδες. Ο αριθμός των δισακχακχαριτικών μονάδων, που αποτελούν μια γλυκοζαμινική αλυσίδα, κυμαίνεται συνήθως στους 50 δισακχαρίτες και στην περίπτωση του υαλουρονικού οξέος φτάνουν ως μερικές χιλιάδες. Οι γλυκοζαμινογλυκάνες διαφέρουν ως προς τον τύπο της εξοζαμίνης, της εξόζης ή του ουρονικού οξέος, καθώς και στη γεωμετρία του γλυκοζιτικού δεσμού μεταξύ των μονάδων αυτών (Scott and Panitch, 2013).

Οι κυριότερες γλυκοζαμινογλυκάνες είναι: η θειική χονδροϊτίνη (CS), θειική δερματάνη (DS), θειική κερατάνη (KS), ηπαρίνη , θειική ηπαράνη(HS) και υαλουρονικό οξύ (HA).



**Εικόνα 1: Μορφή γλυκοζαμινογλυκανών (Principles of Cell Biology (BIOL2060) Department of Biology Memorial University of Newfoundland)**

Τα πολλά καρβοξύλια και οι θειικές ρίζες προσδίδουν στα μόρια αυτά αρνητικό φορτίο και τα καθιστούν υδρόφιλα (Εικόνα 1). Οι γλυκοζαμινογλυκάνες βρίσκονται ενωμένες με πρωτεΐνες και σχηματίζουν τις πρωτεογλυκάνες. Εξαιρεση στον κανόνα είναι το υαλουρονικό οξύ, που στερείται θειικών ομάδων, και δε συνδέεται με πρωτεΐνες, αλλά κυκλοφορεί σε ελεύθερη μορφή. Σε ελεύθερη μορφή κυκλοφορεί και η ηπαράνη (Griffin and Hsieh-Wilson, 2013).

Ο λειτουργικός ρόλος των γλυκοζαμινογλυκανών καλύπτει ευρύ φάσμα όπως: η διαφοροποίηση, η αγγειογένεση, ο πολλαπλασιασμός, η μετανάστευση και η προσκόλληση των κυττάρων (πχ. οι σελεκτίνες ρυθμίζουν την προσκόλληση των λευκοκυττάρων), η οργάνωση και η αναδόμηση των ιστών. Τις τελευταίες δεκαετίες, με την ανάπτυξη της μηχανικής των ιστών, όλο και περισσότερο ερευνώνται οι ιδιότητες τους. Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η χρήση συνθετικών γλυκοζαμινογλυκανών για θεραπευτικούς σκοπούς, όπως η συνθετική ηπαράνη (Griffin and Hsieh-Wilson, 2013), με τις γνωστές αντιπηκτικές της ιδιότητες, το συνθετικό υαλουρονικό οξύ, που έχει θεραπευτικό ρόλο στις οστεοαρθρίτιδες ή στην επούλωση τραυμάτων (επιστράτευση των πολυμορφοκυττάρων μέσω της σύνδεσης με την ιντερλευκίνη 8) και η συνθετική θειική χονδροϊτίνη, που αλληλεπιδρά με τον αυξητικό παράγοντα των ινοβλαστών (FGF) (Malmstrom et al., 2012), οδηγώντας στην επούλωση τραυματισμένων ιστών (Zaia, 2013, Griffin and Hsieh-Wilson, 2013).

**Πίνακας 1 Δομή γλυκοζαμινογλυκανών.**

<b>ΟΝΟΜΑ</b>	<b>ΕΞΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ/ ΕΞΟΖΗ</b>	<b>ΕΞΟΖΑΜΙΝΗ</b>	<b>ΣΥΝΔΕΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΚΥΡΙΩΝ ΜΟΝΟΜΕΡΩΝ</b>	<b>ΜΟΝΑΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ</b>
<b>ΘΕΙΙΚΗ ΧΟΝΔΡΟΪΤΙΝΗ</b>	GlcUA ή GlcUA(2S)	GalNAc ή GalNAc(4S) ή GalNAc(6S) ή GalNAc(4S,6S)	'GlcUAβ1-3'GalNAcβ1-4	Επικρατέστερη γλυκοζαμινογλυκάνη
<b>ΘΕΙΙΚΗ ΔΕΡΜΑΤΑΝΗ</b>	GlcUA ή IdoUA ή IdoUA(2S)	GalNAc ή GalNAc(4S) ή GalNAc(6S) ή GalNAc(4S,6S)	'IdoUAβ1-3'GalNAcβ1-4	Διακρίνεται από τη θειϊκή χονδροϊτίνη λόγω της παρουσίας του ιδουρονικού οξέος, αν και ορισμένοι μονοσακχαρίτες εξουρονικού οξέος μπορεί να είναι και γλυκουρονικό οξύ.
<b>ΘΕΙΙΚΗ ΚΕΡΑΤΑΝΗ</b>	Gal ή Gal(6S)	GlcNAc ή GlcNAc(6S)	Gal(6S)β1-4GlcNAc(6S)β1-3	Η θειϊκή κερατάνη τύπου II μπορεί να είναι φουκοσυλιωμένη
<b>ΗΠΑΡΙΝΗ</b>	GlcUA ή IdoUA(2S)	GlcNAc ή GlcNS ή GlcNAc(6S) ή GlcNS(6S)	IdoUA(2S)α1-4GlcNS(6S)α1-4	Το μόριο με το υψηλότερο αρνητικό φορτίο
<b>ΘΕΙΙΚΗ ΗΠΑΡΑΝΗ</b>	GlcUA ή IdoUA ή IdoUA(2S)	GlcNAc ή GlcNS ή GlcNAc(6S) ή GlcNS(6S)	GlcUAβ1-4GlcNAcα1-4	Παρόμοιο σε δομή με την ηπαρίνη. Ωστόσο οι μονάδες δισακχαρίτη της θειϊκής ηπαράνης οργανώνονται διακριτά σε θειωμένους και μη-θειωμένους τομείς
<b>ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ</b>	GlcUA	GlcNAc	GlcUAβ1-3GlcNAcβ1-4	Η μόνη γλυκοζαμινογλυκάνη που δεν περιέχει θειϊκές μονάδες

**Υπόμνημα Πίνακα 1**

Gal = β-D-γαλακτόζη, Gal(6S) = 6-O- θειϊκή-β-D-γαλακτόζη, GalNAc = β-D-N-ακετυλογαλακτοζαμίνη, GalNAc(4S) = β-D-N-ακετυλογαλακτοζαμίνη -4-O-θειϊκή, GalNAc(6S) = β-D-N-ακετυλογαλακτοζαμίνη -6-O- θειϊκή, GalNAc(4S,6S) = β-D-N-ακετυλογαλακτοζαμίνη -4-O, 6-O- θειϊκή, GlcNAc = α-D-N-ακετυλογαλακτοζαμίνη GlcNS = α-D-N-θειογλυκοζαμίνη, GlcNS(6S) = α-D-N-θειογλυκοζαμίνη-6-O-θειϊκή

## 1.2 ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΟΓΛΥΚΑΝΩΝ

Όλες οι γλυκοζαμινογλυκάνες, με εξαίρεση το υαλουρονικό, συντίθενται πάνω στον πρωτεϊνικό κορμό της πρωτεογλυκάνης (γλυκοζαμινογλυκάνη συνδεδεμένη με πρωτεΐνη). Η βιοσύνθεση του πρωτεϊνικού κορμού των πρωτεογλυκανών ακολουθεί το γενικό κανόνα, κατά τον οποίο το DNA μεταγράφεται σε ειδικό mRNA, που ακολούθως μεταφράζεται σε πρωτεΐνη. Το συντιθέμενο πολυπεπίδιο μεταφέρεται μέσω του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου στο σύμπλεγμα Golgi. Εκεί, προστίθενται οι υδατάνθρακες και πραγματοποιείται η θείωση των γλυκοζαμινογλυκανών (Muramatsu et al., 2003). Ακολούθως, η πρωτεογλυκάνη είτε εκκρίνεται, είτε μεταφέρεται στην κυτταρική μεμβράνη, είτε παραμένει μέσα στο κύτταρο και αποθηκεύεται σε κυστίδια, που προέρχονται από τις μεμβράνες του ενδοπλασματικού δικτύου ή τη συσκευή Golgi πχ. τα κοκκία των μαστοκυττάρων του συνδετικού ιστού, στα οποία αποθηκεύεται η ηπαρίνη.

Η έναρξη της βιοσύνθεσης των γλυκοζαμινογλυκανών συνδέεται με την προσθήκη του αναγωγικού άκρου της ξυλόζης στο κατάλοιπο της σερίνης του πρωτεϊνικού κορμού στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο και στα αρχικά διαμερίσματα του συμπλέγματος Golgi. Αυτό γίνεται με τη βοήθεια των ενζύμων ξυλοζυλτρανσφεράσης, που καταλύει τη σύνδεση της ξυλόζης με τη σερίνη και του ενζύμου γαλακτοσυλτρανσφεράση, που καταλύει τη σύνδεση της γαλακτόζης. Αρχικά, σχηματίζεται το αμινοσάκχαρο σερίνη- ξυλόζη-γαλακτόζη-γαλακτόζη. Εξαίρεση αποτελεί η θειική κερατάνη, η οποία προσδένεται στον πρωτεϊνικό κορμό των πρωτεογλυκανών, είτε μέσω της πρόσδεσης των N-ακετυλογλυκοζαμίνης – ασπαραγίνης, είτε μέσω των N-ακετυλογαλακτοζαμίνης – σερίνης. Η επιμήκυνση των αλυσίδων των γλυκοζαμινογλυκανών γίνεται με την προσθήκη επαναλαμβανόμενων μονάδων εξοζαμίνης και ουρονικού οξέος ή γαλακτόζης αντίστοιχα. Η σύνδεση του ιδουρονικού οξέος καταλύεται από το ένζυμο τρανσφεράση του γλυκουρονικού οξέος, ενώ η σύνδεση της εξοζαμίνης από το ένζυμο τρανσφεράση της D γλυκοζαμίνης και τρανσφεράση της γαλακτοζαμίνης, για τη D γλυκοζαμίνη και τη γαλακτοζαμίνη αντίστοιχα (Kluppel, 2010). Η επιμήκυνση της αλυσίδας γίνεται σε διαφορετικό τμήμα της συσκευής Golgi και με διαφορετικό ένζυμο για την κάθε γλυκοζαμινογλυκάνη (Tamura et al., 2010).

Το υαλουρονικό οξύ (HA), σε αντίθεση με τις άλλες γλυκοζαμινογλυκάνες, συντίθεται στην εσωτερική επιφάνεια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, ως ένα ελεύθερο, γραμμικό μόριο. Το υαλουρονικό δεν περιέχει θειϊκές ομάδες. Στα θηλαστικά, μία οικογένεια διαμεμβρανικών γλυκοζυλτρανφερασών, οι συνθετάσες HAS1, HAS2 και HAS3, ρυθμίζουν τη βιοσύνθεσή του. Η επιμήκυνση της αλυσίδας του υαλουρονικού οξέος γίνεται με την προσθήκη των σακχάρων στο αναγωγικό άκρο, και στη συνέχεια το νεοσυντιθέμενο μόριο εκκρίνεται κυρίως μέσω της κυτταρικής μεμβράνης στην επιφάνεια του κυττάρου ή στη μεσοκυττάρια ουσία. Παράλληλα με την επιμήκυνση, πραγματοποιείται η ενυδάτωση και η διόγκωση του μακρομορίου, σχηματίζοντας ένα περικυτταρικό στρώμα. Το HA αποδομείται μέσω τριών διαφορετικών μονοπατιών με τη βοήθεια των υαλουρονιδασών (Hyalis), ανάλογα με το μήκος της αλυσίδας του (Zhang, 2010).

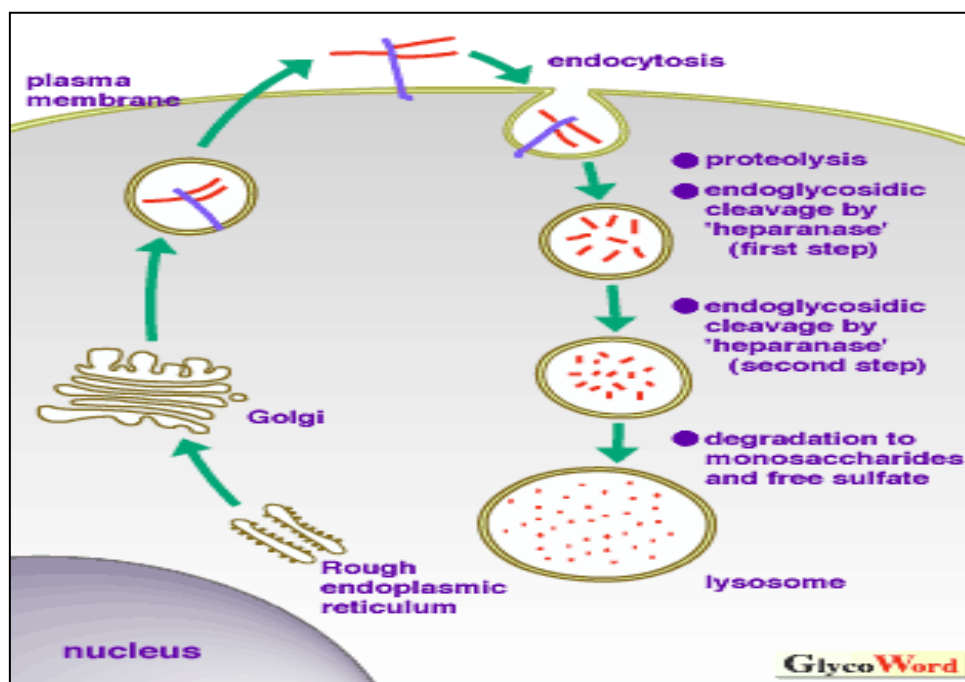
Οι υπόλοιπες γλυκοζαμινογλυκάνες υφίστανται τροποποίηση μετά τη σύνθεσή τους, όπως N-αποακετυλίωση, N-θειώση ή O-θειώση, ή επιμερισμό στη θέση C5 του γλυκουρονικού οξέος σε ιδουρονικού στην περίπτωση της θειικής ηπαράνης και θειικής κερατάνης – θειικής δερματάνης. Η θέση των θειικών ομάδων των πρωτεογλυκανών με θειική δερματάνη και θειική κερατάνη είναι στον C4 (άτομο άνθρακα) του δευτέρου μορίου γαλακτόζης και στον C4 ή στον C6 του πρώτου μορίου της D γαλακτοζαμίνης. Επίσης, η θέση των θειικών ομάδων των πρωτεογλυκανών με θειική δερματάνη μόνο, είναι στο C2 του D γλυκουρονικού οξέος. Από την άλλη πλευρά, οι δισακχαρίτες της ηπαράνης και, σε μικρότερο βαθμό, της θειικής ηπαράνης υφίστανται N αποακετυλίωση και N θείωση του γλυκουρονικού οξέος (Mikami and Kitagawa, 2013). Τέλος, με τη δράση των σουλφοτρανφερασών (6-O-σουλφοτρανφερασών: HS6ST1, HS6ST2, HS6ST3) στην ηπαρίνη γίνεται θείωση στις θέσεις C6 και C3. Έτσι, η θειική ηπαρίνη, που έχει τρεις θειϊκές ομάδες ανά δισακχαρίτη, καθίσταται το πιο αρνητικά φορτισμένο μόριο της ομάδας (Ueno et al., 2001).

Η διάσπαση των πρωτεογλυκανών(

Εικόνα 2), που είναι κυτταρικές ή ενδοκυττάριας, γίνεται με πρωτεάσες, όπως η καθεψίνη, η ελαστάση και άλλες ουδέτερες πρωτεάσες, που διασπούν το πρωτεϊνικό τμήμα και εξογλυκοζιδάσες, που διαχωρίζουν τις



γλυκοζαμινογλυκάνες από το πρωτεϊνικό τμήμα. Στη συνέχεια, ενδοκυττάρια οι πρωτεάσες και οι ενδογλυκοζιδάσες διασπούν τα πρωτεϊνικά μόρια και τις γλυκοζαμινογλυκάνες σε αμινοξέα και μονοσακχαρίτες αντίστοιχα. Η αποδόμηση γίνεται στα ενδοσώματα για τις κυτταρικές και εξωκυττάρια πρωτεογλυκάνες και στα λυσοσώματα για τις ενδοκυττάρια πρωτεογλυκάνες.



**Εικόνα 2: Διάσπαση πρωτεογλυκανών (Yanagishita, M: Cellular catabolism of heparan sulfate proteoglycans. TIGG 10, 57-63, 1998)**

### 1.3 ΘΕΙΙΚΗ ΧΟΝΔΡΟΙΤΙΝΗ (CS)

Η δισακχαρική μονάδα της θειικής χονδροϊτίνης (CS) αποτελείται από β-D-γλυκουρονικό οξύ και D-N-ακετυλο-γαλακτοζαμίνη (D-GlcA-β1,3-D-GalNAc-β1,4). Αυτή μπορεί να τροποποιηθεί από τις θειικές ομάδες, οι οποίες εντοπίζονται κυρίως στις θέσεις C-4 και/ή C-6 της γαλακτοζαμίνης και/ή στις θέσεις C-2 ή C-3 του γλυκουρονικού οξέος (Karousou et al., 2014, Hitchcock et al., 2006). Είναι η κύρια γλυκοζαμινογλυκάμη του αίματος. Αποτελεί κύριο δομικό στοιχείο του αρθρικού χόνδρου. Η δομή και η θείωσή της ποικίλουν ανάλογα με την πηγή προέλευσης, ασκώντας επίδραση στις λειτουργίες των αντίστοιχων ιστών (Lauder, 2009). Για παράδειγμα, τα μόρια της θειικής χονδροϊτίνης με θείωση στη θέση C4 είναι περισσότερα από αυτά στη θέση C6

στο νεαρό ανώριμο χόνδρο. Έτσι, στην ανάπτυξη της οστεοχονδρίτιδας αλλάζει η θείωση των αλυσίδων στο χόνδρο και στο αρθρικό υγρό(Lewis et al., 1999).

Η θειική χονδροϊτίνη διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στον πολλαπλασιασμό των φυσιολογικών αλλά και των καρκινικών κυττάρων στην κινητικότητα, στην προσκόλληση και την μεταναστευτική τους ικανότητα(Nikitovic et al., 2008) (De Leonardis et al., 2014). Η θείωσή της αλλάζει στους μύς των ασθενών με μυϊκή δυστροφία(Negroni et al., 2014). Η υπερθειωμένη χονδροϊτίνη αναστέλλει τη δράση του συμπληρώματος και επιδρά στη λειτουργικότητα των T λεμφοκυττάρων(Zhou et al., 2014). Σπουδαίος είναι και ο ρόλος της μαζί με τη θειική ηπαράνη στη διαμόρφωση της εξωκυττάριας ουσίας και στην ανάπτυξη των νευρώνων, τόσο σε στάδια ανάπτυξης, όσο και αναγέννησης μετά από βλάβη (Snow, 2014). Επίσης, η χρήση της, για τη δημιουργία μοσχευμάτων μαζί με το υαλουρονικό οξύ και το κολλαγόνο, είναι πολλά υποσχόμενη(Sun et al., 2014).

Τελευταία, αναγνωρίζεται η συμβολή της στην ανάπτυξη διαφόρων τύπων καρκίνου, όπως των ωθηκών. Στόχος είναι να αποτελέσει μέρος της παρέμβασης, αφού ρυθμίζει την αγγειογένεση (Vallen et al., 2014), ενώ στον καρκίνο του μαστού θεωρείται πως η εξωγενής χορήγηση θειικής χονδροϊτίνης μειώνει την πιθανότητα μετάστασης(Willis and Kluppel, 2014).

Τέλος, μελετάται η μελλοντική χρήση της θειικής χονδροϊτίνης σε μεταμοσχεύσεις, αφού αποτελεί υπόστρωμα με αντιθρομβωτικές ιδιότητες (δεν επιτρέπει την προσκόλληση των αιμοπεταλίων και του ινωδογόνου), αλλά επιτρέπει την προσκόλληση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Παρομοίως, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επούλωση οφθαλμικών τραυμάτων (Chae et al., 2014).

#### 1.4 ΘΕΙΙΚΗ ΔΕΡΜΑΤΑΝΗ (DS)

Η θειική δερματάνη (DS) (MB=15-40kDa), γνωστή και ως θειική χονδροϊτίνη Β (CS-B), έχει επαναλαμβανόμενη δισακχαρική ομάδα, που αποτελείται από εξουρονικό οξύ (hexuronic acid) και μια Ν-ακετυλο-γαλακτοζαμίνη. Το εξουρονικό οξύ μπορεί να βρίσκεται είτε με τη μορφή γλυκουρονικού οξέος είτε ιδουρονικού οξέος, και οι δυο όμως μορφές μπορεί να συνυπάρχουν στην ίδια δισακχαρική αλυσίδα (Sanderson et al., 1987). Η θειική δερματάνη συναντάται συνήθως θειωμένη στη θέση C2 του ιδουρονικού οξέος, στη θέση C 4 του γλυκουρονικού και στις θέσεις C-4 και C-6 της εξοζαμίνης. Η ύπαρξη του ιδουρονικού οξέος προσδίδει στο μόριο μεγάλη ελαστικότητα και μεγάλο αρνητικό φορτίο και με αυτόν τον τρόπο επιδρά στις κυτταρικές λειτουργίες, όπως πολλαπλασιασμός, μετανάστευση, διαφοροποίηση των κυττάρων. (Trowbridge et al., 2002, Miller et al., 2006).

Η θειική δερματάνη εντοπίζεται σε πολλούς ιστούς του ανθρώπινου σώματος, ενώ αποτελεί κύριο συστατικό του δέρματος και απελευθερώνεται σε μεγάλες ποσότητες κατά την επούλωση των πληγών. Συμμετέχει σε φυσιολογικές και παθολογικές απαντήσεις, όπως στην πήξη του αίματος, στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, στις μολύνσεις και στην καρκινογένεση (Trowbridge and Gallo, 2002, Denholm et al., 2000, Westergren-Thorsson et al., 1993). Γνωρίζοντας ότι το στρώμα της ουροδόχου κύστεως καλύπτεται από θειική χονδροϊτίνη, δερματάνη και ηπαράνη, η έγχυση τους σε περιπτώσεις υποτροπιάζουσας κυστίτιδας είναι μια μελλοντική, πολλά υποσχόμενη θεραπεία (Iacovelli et al., 2013). Άλλη πιθανή θεραπευτική εφαρμογή της γλυκοζαμινογλυκάνης αυτής είναι η βελτίωση της αναγέννησης του χόνδρου με αυτόλογα μεταμοσχευμένα χονδροκύτταρα και ταυτόχρονη έγχυση συνθετικής θειικής δερματάνης (Foldager, 2013). Σημαντικός είναι και ο ρόλος της στην εμφάνιση του καρκίνου, στην υποτροπή και μετάσταση. Σε πολλούς τύπους καρκίνων, η αυξημένη ποσότητα της βερσικάνης, συσχετίζεται με κακή έκβαση. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, ως γλυκοζαμινογλυκάνη της βερσικάνης, ρυθμίζει την προσκόλληση των κυττάρων, τον πολλαπλασιασμό, την απόπτωση, μετανάστευση, αγγειογένεση, εισβολή και μετάσταση. Μελετάται μελλοντική χρήση της ως θεραπευτικό στόχο (Du et al., 2013). Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί πως η θειική δερματάνη είναι η πιο άφθονη γλυκοζαμινογλυκάνη στο υγρό της

πληγής μετά από έγκαυμα και έχει προταθεί να χρησιμοποιείται ως φαρμακευτικό σκεύασμα άμεσα στη διαδικασία της επούλωσης. Πρόσφατα, η συνδυαστική χρήση θειικής κερατάνης και FGF-10 είχε ως αποτέλεσμα την επιτάχυνση της επούλωσης τραύματος μέσω αυξημένου πολλαπλασιασμού και μετανάστευσης των κερατινοκυττάρων (Plichta and Radek, 2012). Η τελευταία δράση της βοηθάται και από την ιδιότητα της να ενισχύει το σύμπλοκο της αντιθρομβίνης-συμπαράγοντα ηπαρίνης, αδρανοποιώντας τη δράση της πρώτης και κατ' επέκταση μειώνοντας την πιθανότητα ενδοθηλιακής βλάβης(Tollefsen, 2010).

### 1.5 ΘΕΙΙΚΗ ΚΕΡΑΤΑΝΗ (KS)

Η θειική κερατάνη (MB=4-20 kDa) αποτελείται από επαναλαμβανόμενες δισακχαρδικές μονάδες γαλακτόζης και N-ακετυλο-γλυκοζαμίνης ή N-ακετυλο-γαλακτοζαμίνης ενωμένες με  $\beta 1 \rightarrow 4$  γλυκοζιτικό δεσμό. Στα θηλαστικά απαντώνται τρεις τύποι θειικής κερατάνης, η θειική κερατάνη I II και III(Takeda and Tamura, 2014). Η θειική κερατάνη II βρίσκεται κυρίως στις πρωτεογλυκάνες του χόνδρου και προσδένεται μέσω O-γλυκοζιτικών δεσμών στον πρωτεϊνικό κορμό. Από την άλλη πλευρά, η θειική κερατάνη I (η μοναδική γλυκοζαμινογλυκάνη που δεν περιέχει ουρονικό οξύ), εντοπίζεται στις πρωτεογλυκάνες λουμικάνη και ινομοδουλίνη, προσδένεται μέσω N-γλυκοζιτικών δεσμών στον πρωτεϊνικό κορμό και εντοπίζεται στον κερατοειδή χιτώνα(Yamaguchi et al., 2014) (Quantock et al., 2010, Nilsson et al., 1983).Ο τρίτος τύπος έχει βρεθεί στον εγκέφαλο. Σε άλλους ιστούς, η θειική κερατάνη φαίνεται να έχει λειτουργικό ρόλο στην κυτταρική αναγνώριση των πρωτεϊνών-προσδέτες και στην κινητικότητα των κυττάρων(Funderburgh, 2000). Τέλος, η θειική κερατάνη φαίνεται να μεταβάλλεται ανάλογα με τη σοβαρότητα της μετατραυματικής οστεοαρθρίτιδας και έτσι να αποτελεί δείκτη σοβαρότητας της κάκωσης(Yamaguchi et al., 2014).

## 1.6 ΗΠΑΡΙΝΗ/ ΘΕΙΙΚΗ ΗΠΑΡΑΝΗ (HP/HS)

Η ηπαρίνη και η θειική ηπαράνη (MB έως 100 kDa, συνήθως κάτω από 50 kDa) έχουν παρόμοια βασική δομή, αποτελούμενη από επαναλαμβανόμενους δισακχαρίτες γλυκουρονικού οξέος και N-ακετυλο-γαλακτοζαμίνης. Οι διαφορές τους εντοπίζονται κυρίως στη N-θειώση, το ποσοστό της οποίας κυμαίνεται στη θειική ηπαράνη κάτω από το 50%, ενώ στην ηπαρίνη στο 70% ή και υψηλότερα (Li et al., 2001).

Επίσης, το ιδουρονικό οξύ εντοπίζεται σε υψηλότερα επίπεδα στην ηπαρίνη, γεγονός που την καθιστά έντονα θειωμένη και περισσότερο αρνητικά φορτισμένη. Εστεροποιημένες O-θειικές ομάδες μπορούν να υπάρξουν στη θέση C-6 της γλυκοζαμίνης και στη θέση C-2 του ουρονικού οξέος. Επίσης, δεν είναι τόσο σπάνια η O-θειώση στον C-2 του ουρονικού οξέος και του C-3 της N-θειωμένης γλυκοζαμίνης. Η γλυκοζαμίνη μπορεί να είναι N-ακετυλιωμένη ή N-θειωμένη, γεγονός που δημιουργεί περιοχές υποψήφιας για περαιτέρω δομικές τροποποιήσεις στην αλυσίδα (Skidmore et al., 2008).

Η ηπαρίνη συντίθεται και αποθηκεύεται στα μαστοκύτταρα του συνδετικού ιστού, εντοπίζεται στο ήπαρ, στους μύς, στο δέρμα, στο έντερο, στους λεμφαδένες και στους πνεύμονες, ενώ η θειική ηπαράνη εκφράζεται στην κυτταρική επιφάνεια όλων σχεδόν των κυττάρων των θηλαστικών και στη μεσοκυττάρια ουσία με πρωτεογλυκανική μορφή (van Doormaal et al., 2008, Skidmore et al., 2008, Coombe et al., 2008).

Η ηπαρίνη έχει αντιπηκτική δράση, που βασίζεται στην ικανότητά της να προσδένεται με την αντιθρομβίνη III. Άλλες λειτουργίες της ηπαρίνης είναι η αναστολή του πολλαπλασιασμού των λείων μυικών ινών, αναστολή της αύξησης των σκελετικών μυών, ρύθμιση της αγγειογένεσης, διέγερση της μετανάστευσης των λευκοκυττάρων, επίδραση στη δομή του κολλαγόνου, προφύλαξη από αρτηριοσκλήρυνση, αναστολή της παραγωγής αλδοστερόνης, επίδραση στην επούλωση πληγών, διέγερση της δράσης της ελαστάσης στην αντιθρομβίνη και διέγερση των διεργασιών, που προκαλούν οστεοπόρωση (Μακρής, 1999). Μέσω της αλληλεπίδρασης της ηπαρίνης και της θειικής ηπαράνης, ένζυμα, κυτοκίνες, μόρια της εξωκυττάριας ουσίας, μόρια προσκόλλησης, μεμβρανικές πρωτεΐνες

παθογόνων μικροοργανισμών, αυξητικοί παράγοντες, ρυθμίζουν πολλές βιολογικές λειτουργίες, όπως η εμβρυογένεση, η απόπτωση, η ανάπτυξη, η μετανάστευση και ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός (Powell et al., 2004) (Skidmore et al., 2008) (Tiwari et al., 2006, Yoo et al., 2013, Forsten et al., 2000).

Χαρακτηριστικά της χρησιμότητας της ηπαρίνης σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις είναι τα παρακάτω παραδείγματα. Η ηπαρινάση αυξάνεται σε καρκινωμάτωδεις καταστάσεις του στόματος. Άρα η ηπαρίνη αποτελεί πιθανό προγνωστικό δείκτη (Leiser et al., 2014). Η συνδεκτάνη, που αποτελείται από ηπαρίνη και θειική ηπαράνη, αναστέλει την αγγειογένεση, με αποτέλεσμα να επιβραδύνει παθολογικές διεργασίες όπως ο καρκίνος ή η ρευματοειδής αρθρίτιδα (De Rossi et al., 2014). Γενικότερα, η αποδόμηση των πρωτεογλυκανών, που έχουν ηπαρίνη ή θειική ηπαράνη, οδηγεί στην υποτροπή των όγκων και διευκολύνει τη μετάσταση (Hammond et al., 2014). Για αυτό το λόγο υψηλή έκφραση της ηπαρινάσης σε περιπτώσεις όγκων όπως καρκίνος του εντέρου ή του στομάχου, συνδέονται με κακή πρόγνωση (Takaoka et al., 2003, Nobuhisa et al., 2005).

Η παρουσία της ηπαρινάσης επιτείνει την ίνωση στους νεφρούς των διαβητικών ασθενών (Masola et al., 2014).

Άλλη επίδραση των γλυκοζαμινογλυκανών αυτών είναι στη σύνδεσή τους με ιούς, βακτήρια και πρωτόζωα. Για παράδειγμα, η χρήση ενδοφλέβιων καθετήρων που περιέχουν ηπαρίνη/ θειική ηπαρινάση μειώνει το σχηματισμό βιοφίλμ από τους σταφυλοκόκκους (Luther et al., 2014). Τέλος, η εντοπισμένη χρήση ηπαρίνης, κατά το χειρουργείο αορτοστεφανιαίας παράκαμψης, μειώνει την ανάπτυξη λείων ινών και επομένως αναστέλλει την επαναστένωση (Yang et al., 2012).

Οι κύριες διαφορές της θειικής ηπαράνης (HS) από την ηπαρίνη (HP) είναι οι εξής:

1. Η HS αποτελείται κυρίως από N-ακετυλο-γαλακτοζαμίνη, ενώ η HP είναι πλούσια σε γλυκουρονικό οξύ.

2. Στη HS το μεγαλύτερο ποσοστό των αμινομάδων της γλυκοζαμίνης είναι ακετυλιωμένες, ενώ στην HP είναι μη ακετυλιωμένες και εστεροποιημένες με θειική ομάδα.
3. Στη HP το μεγαλύτερο ποσό του ιδουρονικού οξέος είναι εστεροποιημένο στη θέση C-2 με θειική ομάδα.
4. Η HS περιέχει μικρά ποσά τριθειωμένων και διθειωμένων δισακχαριτών, ενώ είναι πλούσια σε μη θειωμένους δισακχαρίτες. Αντίθετα, η HP περιέχει μεγάλα ποσά τριθειωμένων και διθειωμένων δισακχαριτών, ενώ είναι φτωχή σε μη θειωμένους δισακχαρίτες (Karamanos et al., 1997).

## 1.7 ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ (HA)

### 1.7.1 Σύνθεση

Το υαλουρονικό οξύ (HA) αποτελείται από επαναλαμβανόμενες δισακχαρικές μονάδες β-D-γλυκουρονικού οξέος και N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνης, οι οποίες συνδέονται αποκλειστικά με β-γλυκοζιτικούς δεσμούς (Girish and Kemparaju, 2007, Stern et al., 2006). Ο αριθμός των δισακχαριτών ποικίλει, ανάλογα με τον ιστό προέλευσης και τις συνθήκες, από 2.000 έως 25.000 μονάδες, που αντιστοιχεί σε μοριακό βάρος μεταξύ  $2 \times 10^5$  και  $10 \times 10^7$  Da και σε μήκος έως και 25  $\mu\text{m}$  (Kretz et al., 2014, Jokela et al., 2008).

### 1.7.2 Μεταβολισμός

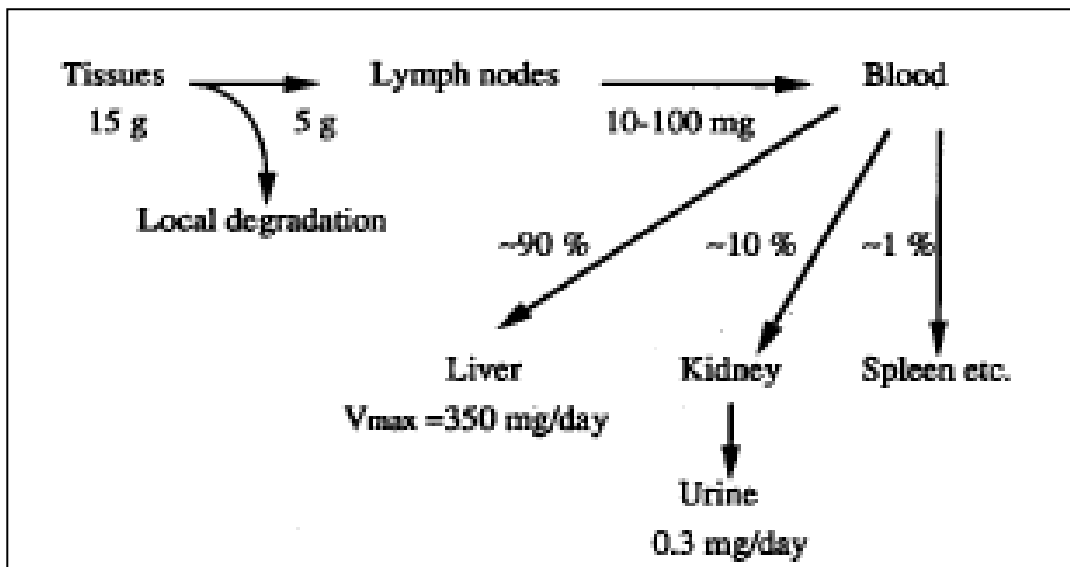
Στα θηλαστικά, η σύνθεση του HA γίνεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη (σε αντίθεση με τη σύνθεση των άλλων γλυκοζαμινογλυκανών, που γίνεται στη συσκευή Golgi) μέσω τριών ισοενζύμων της συνθετάσης του HA (HAS1, 2 και 3). Οι συνθετάσες χρησιμοποιούν το διφωσφορικό της ουριδίνης (UDP), το γλυκουρονικό οξύ (UDP-GlcUA) και την UDP N-ακετυλογλυκοζαμίνη (UDP-GlcNAc) ως υποστρώματα. Ο φυσιολογικός ρόλος των HAS ισοενζύμων δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητός. In vitro, οι HASes καθορίζουν το μέγεθος του HA. Μικρότερο μέγεθος HA προκύπτει από τη δράση υαλουρονιδασών (κωδικοποιούνται από έξι γονίδια) ή χονδροϊτινασών ή εξοζαμινιδασών. Προκύπτει και από τη δράση ριζών οξυγόνου ή από τη δράση φλεγμονωδών παραγόντων και μεταλλοπρωτεασών σε μεγαλύτερα μόρια υαλουρονικού οξέος. Το HA αποδομείται ενδοκυττάρια ή εξωκυττάρια, αφού προσδεθεί στους CD44 και Receptor for HA-mediated motility (RHAMM) υποδοχείς. Στο επίπεδο των ιστών,

το HA απελευθερώνεται στο κυκλοφορικό και το λεμφικό σύστημα, όπου αποδομείται στο ήπαρ και τους λεμφαδένες μέσω της δράσης υποδοχέων, όπως οι Lymphatic Vessel Endothelial Hyaluronic acid receptor (LYVE) – 1 και HA receptor for endocytosis (HARE). Οι κύριες υαλουρονιδάσες είναι οι HYAL1 και 2. Η HYAL 1 είναι ένα λυσοσωμικό ένζυμο με την ικανότητα να αποδομεί το HA μόρια οποιουδήποτε μεγέθους και συνήθως δημιουργεί τετρασακχαρίτες. Η HYAL2 έχει μια άκρη γλυκοσυλφωσφατιδυλινοσιτόλης, με την οποία αγκυροβολεί στην εξωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης. Η HYAL2 διασπά μεγάλα πολυμερή HA σε τεμάχια υψηλού και χαμηλού μοριακού βάρους. Επίσης, γνωρίζουμε ότι το HA έχει ταχύ μεταβολισμό. Ο χρόνος ημίσειας ζωής του είναι 2-5 λεπτά στο αίμα, 12 ώρες στο δέρμα, 1-3 εβδομάδες στο χόνδρο (Weindl et al., 2004). Θα πρέπει να τονιστεί πως η δραστηριότητα του HA εξαρτάται από το μέγεθός του. Για παράδειγμα, το HA μεγάλου μοριακού βάρους (1000 kDa) έχει αντιαγγειογενετικές ιδιότητες, ενώ τα τεμάχια του που κυμαίνονται από 3 έως 25 δισακχαρίτες έχουν αγγειογενετικές ιδιότητες (Vigetti et al., 2014).

### 1.7.3 Εντόπιση

Το υαλουρονικό οξύ εντοπίζεται σε όλους σχεδόν τους ιστούς του ανθρώπινου σώματος, είναι πιο άφθονο στην εξωκυττάρια ουσία του συνδετικού ιστού των μαλακών μορίων, αποτελώντας το 1-10% των γλυκοζαμινογλυκανών. Στο αίμα έχει πολύ χαμηλή συγκέντρωση (Εικόνα 3). Παράγεται κυρίως από ινοβλάστες και άλλα ειδικά κύτταρα του συνδετικού ιστού. Δε φέρει θειικές ομάδες και δε συνδέεται ομοιοπολικά με πρωτεϊνικό κορμό, όμως μπορεί να αλληλεπιδρά με τις πρωτεογλυκάνες και με άλλες πρωτεΐνες για την οργάνωση του εξωκυττάριου χώρου (Allen et al., 1992). Λόγω του φορτίου του συγκρατεί μεγάλες ποσότητες ύδατος στους ιστούς. Για παράδειγμα, ένα γραμμάριο υαλουρονικού μπορεί να χωρέσει μέχρι και 6 λίτρα νερού. Έτσι, ρυθμίζει την ενυδάτωση και τις φυσικές ιδιότητες των ιστών (Heldin, 2003).

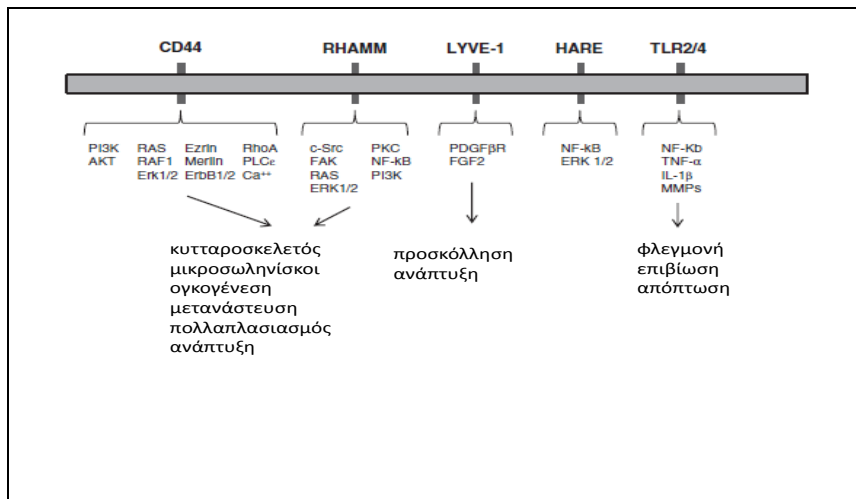




**Εικόνα 3:Μεταβολισμός υαλουρονικού οξέος (Allen et al., 1992).**

#### 1.7.4 Υποδοχείς

Το HA επηρεάζει την κυτταρική συμπεριφορά μέσω συγκεκριμένων κυτταρικών υποδοχέων (Εικόνα 4). Η αγκρικάνη (aggrecan), η βερσικάνη (versican), η νευροκάνη (neurocan), το CD44 και οι κυτταρικοί υποδοχείς RHAMM (receptor for hyaluronan-mediated motility), Toll like υποδοχείς (TLR2/4), Hyaluronan Receptor for Endocytosis (HARE) και lymphatic vessel endothelial (LYVE-1) προσδένουν το υαλουρονικό οξύ ως πρωτεΐνες προσδέτες, με αποτέλεσμα να εντοπίζεται μέσω των συσσωμάτων αυτών με τη μορφή πρωτεογλυκάνης. Επηρεάζει φυσιολογικές και μη κυτταρικές λειτουργίες, συμμετέχει στην ομοιοστάση των ιστών.



**Εικόνα 4: Σχηματική αναπαράσταση του καταρράκτη σηματοδότησης των υποδοχέων HA και η συμμετοχή τους στις λειτουργίες των κυττάρων και των ιστών (Vigetti et al., 2014).**

### 1.7.5 Δράσεις- Ιδιότητες

Το υαλουρονικό οξύ, ως συστατικό της μεσοκυττάριας ουσίας, αποτελεί βιοδείκτη για μελλοντική υποτροπή του καρκίνου του πνεύμονα. Υψηλές τιμές του συνδέονται με κακή έκβαση (Yahya et al., 2014). Όμοιος είναι και ο ρόλος του στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Άλλωστε η κάθαρση του στον ορό γίνεται μέσω του ήπατος. Αυξημένες είναι και οι τιμές του στην ηπατική ίνωση από αλκοολική ηπατίτιδα και σχιστοσωμίαση, ενώ μειωμένες είναι στην ηπατική αναγέννηση (Chrostek and Panasiuk, 2014, Silva et al., 2011, Mima et al., 2014, Xia et al., 2012). Επίσης, το υαλουρονικό οξύ στο πλευριτικό υγρό χρησιμοποιείται για τη διάγνωση του μεσοθηλιώματος (Creaney et al., 2013). Παθολογικός τύπος υαλουρονικού οξέος συνδέεται με την ιδιοπαθή αρτηριακή υπέρταση (Lauer et al., 2014). Άλλη χρησιμότητα του υαλουρονικού είναι η χρήση του για την αναγέννηση ιστών όπως στην περίπτωση της μεταμόσχευσης μηνίσκου (Freymann et al., 2013). Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί πως η αναστολή της υαλουρονιδάσης βελτιώνει την κλινική εικόνα σε περίπτωση ρευματοειδούς αρθρίτιδας ή οστεοαρθρίτιδας. Αυτό δημιουργεί προσδοκίες για μελλοντική θεραπεία (Yoshioka et al., 2013). Αυξημένη είναι η τιμή του στο αρθρικό υγρό και στον ορό. Υψηλότερη τιμή υαλουρονικού οξέος του ορού μετράται σε άτομα με μέτρια και υψηλή βαρύτητα της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και αυξημένη CRP (Jura-Poltorak et al., 2014).

Το υαλουρονικό οξύ έχει βρεθεί να έχει άμεση συσχέτιση με την ηπατική κίρρωση λόγω ηπατίτιδας C (Abe et al., 2012, Kumar et al., 2012) . Επιπλέον, είναι κατάλληλος δείκτης ορού πρόβλεψης της ηπατικής ίνωσης σε παιδιά με μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος. Μελετώντας αυτό το δείκτη μπορεί να εντοπιστούν ασθενείς, που διατρέχουν κίνδυνο εξέλιξης της νόσου (Lebensztejn et al., 2011).

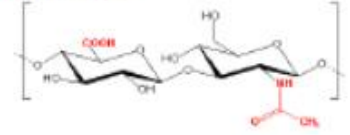
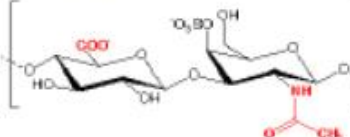
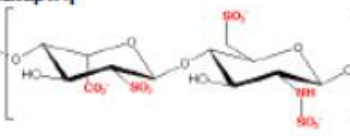
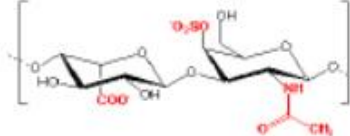
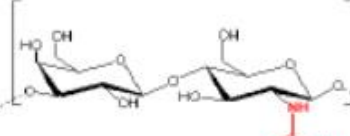
Στην περίπτωση της νόσου Graves έχει βρεθεί ότι το υαλουρονικό οξύ στην περιοχή του οφθαλμού αυξάνεται με την αύξηση των αντισωμάτων (Kumar et al., 2012). Στην περίπτωση της διαβητικής αγγειοπάθειας έχει βρεθεί ότι το υαλουρονικό οξύ του ορού αυξάνεται με την αύξηση της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και τη βαρύτητα της αγγειοπάθειας (Sharma et al., 2012, Mine et al., 2006).

Τα επίπεδα του υαλουρονικού οξέος αυξάνονται γενικά σε περιπτώσεις χρόνιας φλεγμονής. Αυτό συμβαίνει στη νεφρική ανεπάρκεια και μάλιστα υψηλά επίπεδα υαλουρονικού οξέος συνδέονται με μειωμένη επιβίωση (Stenvinkel et al., 1999). Αυξάνεται στην εγκυμοσύνη και μειώνεται με την πάροδο της ηλικίας και σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες (Murawaki et al., 1996) (Kobayashi et al., 1999). Ενδιαφέρον είναι ότι, όταν βλαστικά κύτταρα καλλιεργηθούν σε περιβάλλον με υαλουρονικό οξύ τείνουν να επιβιώσουν τα αρσενικά σε σχέση με τα θηλυκά (Torner et al., 2014). Αν και σε μια μελέτη ανθρώπων δε βρέθηκε διαφορά της τιμής της υαλουρονιδάσης στο αίμα μεταξύ των δύο φύλων και ηλικιών (Wilkinson et al., 1996). Σε άλλη μελέτη, αφού έγινε ορχεκτομή σε ποντίκια μετρήθηκε υαλουρονικό οξύ στα τοιχώματα της αορτής και βρέθηκε μειωμένο, ενώ αποκαταστάθηκε η τιμή του με τη χορήγηση τεστοστερόνης. Το HA αυξάνεται σε περιπτώσεις δισκοειδούς λύκου, αφού παράγεται από ινοβλάστες (Murawaki et al., 1996).

### 1.7.6 Χρήσεις

Ως προς τις εφαρμογές του, στην οφθαλμολογία χρησιμοποιείται για την πλήρωση του οφθαλμικού βολβού κατά τις επεμβάσεις, και ως λιπαντικό των οφθαλμών σε εξωτερική χρήση. Στη ρευματολογία, χρησιμοποιείται σε ενδοαρθρικές εγχύσεις, τόσο στην οστεοαρθρίτιδα, όσο και στη ρευματοειδή αρθρίτιδα ή και ως πόσιμο συμπλήρωμα, αφού μειώνει την τριβή μεταξύ των επιφανειών ολίσθησης στις αρθρώσεις και των τενόντιων ελύτρων. Στην ωτορινολαρυγγολογία, χρησιμοποιείται στην επούλωση τραυμάτων των φωνητικών χορδών και στην ανασύσταση των ιστών κατά τις επεμβάσεις των κόλπων. Στη γυναικολογία, έχει ρόλο στην επούλωση του κόλπου μετά από επεμβάσεις, τοκετό ακτινο- ή χημειοθεραπεία. Στη δερματολογία, χρησιμοποιείται για την πλήρωση των ρυτίδων, για επούλωση τραυμάτων, δερματικών και φλεβικών ελκών.

Ο πίνακας (Εικόνα 5) ,που ακολουθεί, συνοψίζει τις κυριότερες ιδιότητες των γλυκοζαμινογλυκανών.

GAG	Εντοπισμός	Σχόλια
<b>Υαλουρονικό</b> 	Αρθρικό υγρό, υαλώδες υγρό, ECM χαλαρού συνδετικού ιστού	Μεγάλα πολυμερή, απορροφούν κραδασμούς
<b>Θειική χονδροϊτίνη</b> 	Χόνδρος, οστά, καρδιακές βαλβίδες	Η πιο άφθονη GAG
<b>Θειική ηπαράνη</b>	Βασικές μεμβράνες, συστατικά κυτταρικών μεμβρανών	Περιέχει περισσότερη ακετυλιωμένη γλυκοζαμίνη από την ηπαρίνη
<b>Ηπαρίνη</b> 	Συστατικό των ενδοκυτταρικών κοκκίων των μαστικών κυττάρων, στο εσωτερικό των αρτηριών πνευμόνων, στο ήπαρ, στο δέρμα	Περισσότερο θειωμένη από τη θειική ηπαράνη, περιέχει N-σουλφονυλιωμένη GlcN
<b>Θειική δερματάνη</b> 	Δέρμα, αιμοφόρα αγγεία, καρδιακές βαλβίδες	Περιέχει D-GlcA και L-idoA
<b>Θειική κερατάνη</b> 	Κερατοειδής χιτώνας, οστά, χόνδρος σε συσσωμάτωμα με θειική χονδροϊτίνη	Δεν περιέχει ουρονικό οξύ

Εικόνα 5: Δομή και προέλευση GAGs

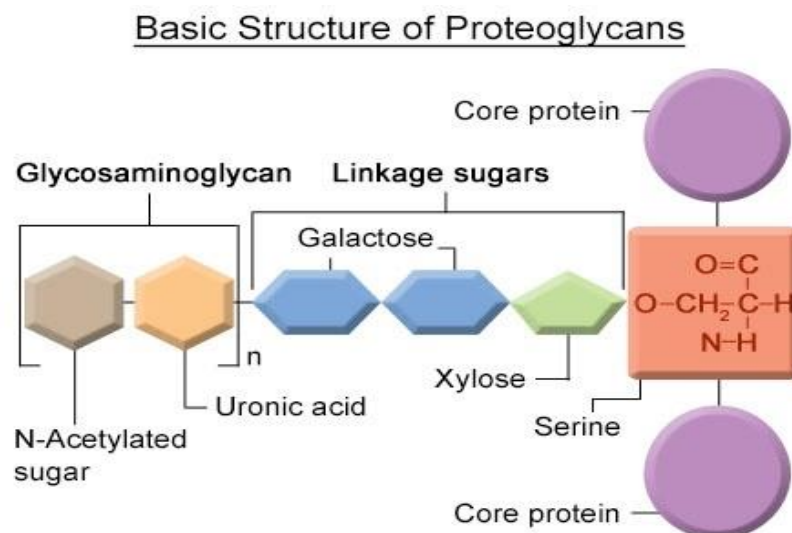
## 1.8 ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΟΓΛΥΚΑΝΕΣ ΣΤΟ ΑΙΜΑ

Στον ορό του αίματος οι γλυκοζαμινογλυκάνες ανευρίσκονται ως πρωτεογλυκάνες, ενώ ελεύθερες μόνο σε ποσοστό 10%. Οι ελεύθερες γλυκοζαμινογλυκάνες προέρχονται από τις πρωτεογλυκάνες των ιστών, της διάμεσης ουσίας των αγγείων και του συνδετικού ιστού, των λεμφοκυττάρων και των μονοκυττάρων, μέσω της δράσης πρωτεασών. Λειτουργούν δε, ως μόρια σηματοδότησης για περαιτέρω ανοσολογική απάντηση (Levitt and Ho, 1983) . Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι στα κύτταρα της μυελώδους σειράς (πολυμορφοπύρρηνα, μονοκύτταρα) παράγονται μεγαλύτερες ποσότητες θειικής χονδροϊτίνης από ότι στα λεμφοειδή κύτταρα (B και T λεμφοκύτταρα, NK)(Shao et al., 2013) . Η κύρια γλυκοζαμινογλυκάνη είναι η θειική χονδροϊτίνη. Υψηλότερη συγκέντρωση πρωτεογλυκανών υπάρχει στο πλάσμα από ότι στον ορό, αφού στον ορό καταναλώνονται κατά την πήξη. Τα επίπεδα των γλυκοζαμινογλυκανών στο αίμα δε διαφέρουν ανάλογα με το φύλο (Komosinska-Vassev et al., 2011). Στο αίμα των παιδιών μετρώνται υψηλότερα επίπεδα γλυκοζαμινογλυκανών. Αυτό αντικατοπτρίζει την αναδιαμόρφωση της μεσοκυττάριας ουσίας, λόγω γήρανσης του οργανισμού. Ο κύριος παράγοντας που επηρεάζει τη συγκέντρωση τους σε φυσιολογικά άτομα είναι η σωματική δραστηριότητα (Hata et al., 1978). Αξιοσημείωτο είναι ότι δεν έχει βρεθεί συσχέτιση μεταξύ της συγκεντρώσεως αίματος και ούρων (Bjornsson, 1998).

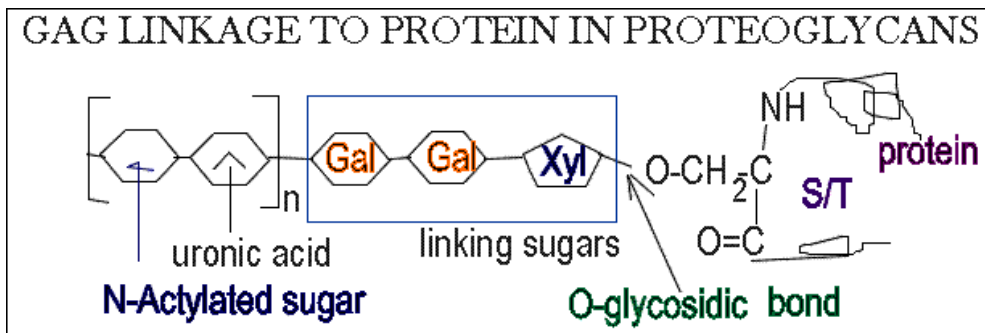
## 2. ΠΡΩΤΕΟΓΛΥΚΑΝΕΣ

### 2.1 ΓΕΝΙΚΑ

Οι πρωτεογλυκάνες αποτελούν σπουδαίο στοιχείο της έμβιας ύλης, τόσο στον εξωκυττάριο χώρο, όσο και σε επίπεδο κυττάρου. Κύριο χαρακτηριστικό τους είναι η μεγάλη ποικιλία στη δομή και τη σύνθεσή τους. Η μελέτη τους χρονολογείται από τις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα, με την απομόνωση του "chondromucoid" από το χόνδρο και τη χρήση της ηπαρίνης από το ήπαρ ως αντιπηκτικό. Η ανάπτυξη των μεθόδων αναλυτικής χημείας (χρωματογραφία, ηλεκτροφόρηση, φασματομετρία, μεθόδων απομόνωσης από ιστούς) οδήγησε στην περαιτέρω ανάλυση των ουσιών αυτών. Έτσι, έγινε κατανοητό ότι οι πρωτεογλυκάνες αποτελούνται από ένα πρωτεϊνικό πυρήνα και μία ή περισσότερες ομοιοπολικά συνδεδεμένες αλυσίδες γλυκοζαμινογλυκάνης (Εικόνα 6). Χαρακτηριστικό της δομής του πρωτεϊνικού πυρήνα (MB 10-500kDa) αποτελεί το διπεπτίδιο σερίνης-γλυκίνης. Στο διπεπτίδιο αυτό επιτελείται η σύνδεση των γλυκοζαμινογλυκανών με ένα υπόλειμα σερίνης. Πρόκειται για N- ή και O- σύνδεση με την παρεμβολή του τετρασακχαρίτη: γλυκουρονικό οξύ-γαλακτόζη- γαλακτόζη- ξυλόζη (Εικόνα 7)(Jackson et al., 1991) .



Εικόνα 6: Δομή πρωτεογλυκανών (<http://www.buzzle.com/articles/structure-and-function-of-proteoglycans.html>).

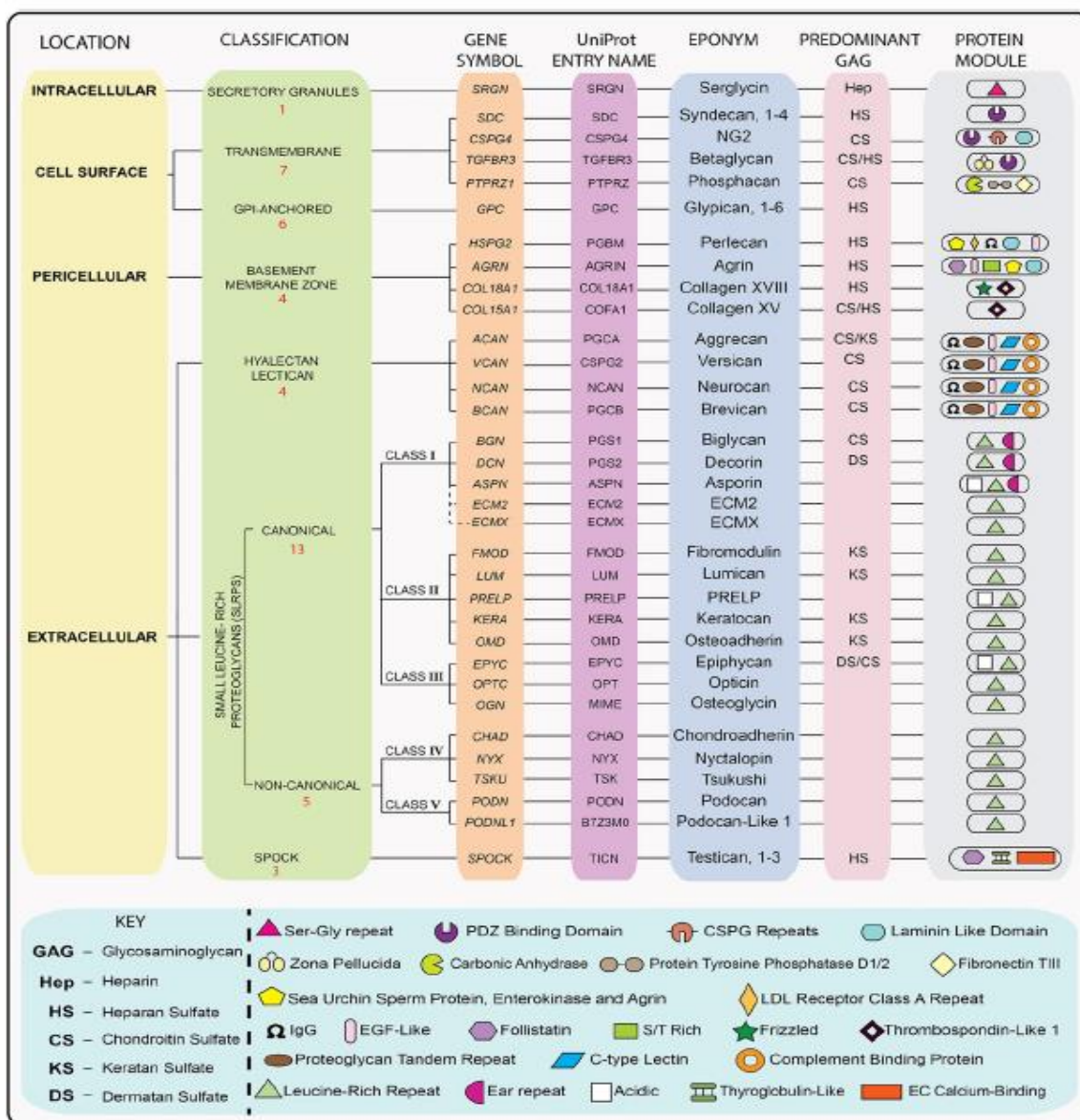


**Εικόνα 7:** Σύνδεση πρωτεϊνικού κορμού με γλυκοζαμινογλυκάνες (<http://www.cryst.bbk.ac.uk/pp97/assignments/projects/emilia/Proteoglycans.html>).

Έχουν καταγραφεί παρισσότεροι από τριάντα διαφορετικοί πρωτεϊνικοί πυρήνες. Η ποικιλομορφία των πρωτεογλυκανών εξαρτάται από τη διαφορετική έκφραση γονιδίων, που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες του πυρήνα. Το μοριακό βάρος τους ποικίλει ανάλογα με το μοριακό βάρος του πρωτεϊνικού τους πυρήνα και τον αριθμό των αλυσίδων των γλυκοζαμινογλυκανών. Για αυτό το λόγο οι ιδιότητες τους, και κατ' επέκταση και η λειτουργικότητα τους ποικίλει, από τη διατήρηση του νερού στους ιστούς (αρνητικό φορτίο), την αλληλεπίδραση τους με αυξητικούς παράγοντες, υποδοχείς, μόρια προσκόλλησης, κολλαγόνο έως και την ανάπτυξη και εξέλιξη τύπων καρκίνου ή φλεγμονών.

Ανάλογα με την εντόπισή τους οι πρωτεογλυκάνες διακρίνονται σε εξωκυττάρια, ενδοκυττάρια και πρωτεογλυκάνες της κυτταρικής μεμβράνης (Εικόνα 8) (Iozzo and Schaefer, 2015)





Εικόνα 8: Σχηματική ταξινόμηση πρωτεογλυκανών ανάλογα με την εντόπισή τους και τη μορφολογική τους συγγένεια (Iozzo and Schaefer, 2015).

## 2.2 ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΕΣ ΠΡΩΤΕΟΓΛΥΚΑΝΕΣ

Οι εξωκυττάρια πρωτεογλυκάνες περιλαμβάνουν τις υαλεκτάνες, τις μικρού μοριακού βάρους πρωτεογλυκάνες πλούσιες σε λευκίνη (SLRPs) και τις πρωτεογλυκάνες της βασικής μεμβράνης.

Οι υαλεκτάνες είναι οικογένεια πρωτεογλυκανών, που αλληλεπιδρούν με το υαλουρονικό οξύ και τις λεκτίνες. Σε αυτές ανήκουν η βερσικάνη, η αγκρεκάνη, η μπρεβικάνη και η νευρικάνη.

Βερσικάνη Ο πρωτεϊνικός κορμός της βερσικάνης αποτελείται από τρεις περιοχές. Η περιοχή G1 βρίσκεται στο N-τελικό άκρο της και είναι το σημείο σύνδεσής της με το υαλουρονικό οξύ. Η κεντρική περιοχή G2 περιέχει τις αλυσίδες γλυκοζαμινογλυκανών, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη πρόσδεση έως και 30 αλυσίδων θειικής κερατάνης ή και δερματάνης. Τέλος, η περιοχή G3 αποτελεί το σημείο σύνδεσης με τη λεκτίνη. Το εναλλακτικό μάτισμα του mRNA της βερσικάνης στο κεντρικό τμήμα του πρωτεϊνικού κορμού, που κωδικοποιεί την περιοχή πρόσδεσης των αλυσίδων των γλυκοζαμινογλυκανών, οδηγεί στη δημιουργία τεσσάρων ισομορφών της βερσικάνης, τις V0, V1, V2 και V3, που ίσως επιτελούν και διαφορετικές λειτουργίες (Iozzo, 1998, Sotoodehnejadnematalahi and Burke, 2013). Η βερσικάνη αλληλεπιδρά με άλλα συστατικά της εξωκυττάριας ουσίας, όπως το υαλουρονικό οξύ, το κολλαγόνο τύπου I, τη fibulin-1, -2, φιμπρίνη-1, φιμπρονεκτίνη, P και L-σελεκτίνες και τις χημειοκίνες. Συνδέεται επίσης με πρωτεΐνες κυτταρικής επιφάνειας, όπως το CD44, ιντεγκρίνη β1, τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα και τη λιγκάση 1. Αυτές οι πολλαπλές αλληλεπιδράσεις παίζουν σημαντικό ρόλο στη συμπεριφορά των κυττάρων (Wu et al., 2005), όπως η προσκόλλησή τους, ο πολλαπλασιασμός και μετανάστευσή τους. Με αυτόν τον τρόπο διαδραματίζει έναν κεντρικό ρόλο στη μορφογένεση των ιστών και τη συντήρησή τους. Για παράδειγμα, έχει σπουδαίο ρόλο στην ανάπτυξη και προσκόλλησή των νευραξόνων, των τενόντων και των θυλάκων των τριχών (Schmalfeldt et al., 1998, Rahmani et al., 2006, Wight et al., 2014).

Επιπλέον, συμβάλλει στην ανάπτυξη διάφορων παθολογικών διεργασιών, όπως οι αρτηριοσκληρωτικές αγγειακές παθήσεις και ο καρκίνος. Επαγόμενη

έκφραση της βερσικάνης συχνά παρατηρείται σε όγκους (Ricciardelli et al., 2009), όπως του μαστού, του εγκεφάλου, των ωοθηκών, του γαστρεντερικού σωλήνα, του προστάτη και στο μελάνωμα, και συνδέεται με κακή έκβαση (Du et al., 2013).

Η βερσικάνη έχει και σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη. Για παράδειγμα, μεσολαβεί στη μετανάστευση των εμβρυϊκών κυττάρων, η οποία είναι απαραίτητη για το σχηματισμό της καρδιάς και σκιαγραφεί τη διαδρομή για τη μετανάστευση των κυττάρων της νευρικής ακρολοφίας. Αρκετές μελέτες κατά την τελευταία δεκαετία έχουν δείξει ότι παράγεται από μονοκύτταρα, έχει ένα σημαντικό ρόλο στην επούλωση τραύματος. Επιπλέον, παίζει κρίσιμο ρόλο στη σταθερότητα και λειτουργικότητα του υαλώδους (Theocharis et al., 2008).

Αγκρεκάνη. Η αγκρεκάνη αποτελείται από έναν πρωτεϊνικό κορμό 220 kDa, στον οποίο προσδένονται αλυσίδες θειικής κερατάνης και χονδροϊτίνης. Εκφράζεται από τα χονδροκύτταρα και η ικανότητά της, αφ' ενός μεν να δεσμεύει μεγάλες ποσότητες νερού και αφ' ετέρου να συνεργάζεται με το υαλουρονικό οξύ, την κάνει να προσδίδει στον αρθρικό χόνδρο ελαστικότητα στις δυνάμεις συμπίεσης (Kiani et al., 2002). Στους μεσοσπονδύλιους δίσκους εμφανίζει τα υψηλότερα επίπεδα της στην ηλικία των είκοσι ετών και μετά μειώνεται λόγω της πρωτεόλυσής της από μεταλλοπρωτεϊνάσες της μήτρας και αγκρεκανάσες (Sivan et al., 2014). Η ανάπτυξη αντισωμάτων έναντι της αγκρεκάνης έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη αυτοάνοσων νοσημάτων (Nilsson et al., 2014, Carossela et al., 2014). Πρόσφατα, αποδείχθηκε ότι οι αγκρεκάνες, βερσικάνη και η νευρική συμμετείχαν έντονα σε εγκεφαλικές διαταραχές, όπως η διπολική διαταραχή και η σχιζοφρένεια (Avram et al., 2014). Παρόμοιο εύρημα έχει βρεθεί και μετά από εγκεφαλικό επεισόδιο (Madinier et al., 2014).

Η μπρεβικάνη εμπλέκεται σε πλήθος φυσιολογικών και παθοφυσιολογικών διεργασιών του εγκεφάλου. Εντοπίζεται στις επιφάνειες των νευρικών κυττάρων και συμβάλλει στο σχηματισμό της εξωκυτταρικής μήτρας του νευρικού ιστού. Μέσω ποικίλου βαθμού προσκόλλησης με τη θειική χονδροϊτίνη, περιορισμένης πρωτεολυτικής διάσπασης από μεταλλοπρωτεϊνάσες της εξωκυτταρικής μήτρας, που καθοδηγεί, και της  $Ca^{2+}$ - εξαρτώμενης σύνδεσής της με γειτονικά μόρια δρα ως

ρυθμιστής της συναπτικής πλαστικότητας, της νευρικής βλάβης (νόσος Alzheimer) και της ανάπτυξης όγκων (Frischknecht and Seidenbecher, 2012).

Ομοίως και η νευρικάνη είναι συστατικό του νευρικού. Είναι πρωτεογλυκάνη της θειικής χονδροϊτίνης (Rauch et al., 2001). Μέσω της αλληλεπίδρασής της με τα νευρικά κύτταρα και τα μόρια της εξωκυττάριας ουσίας, μπορεί να παίζει ένα σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της κυτταρικής προσκόλλησης, ανάπτυξης των νευρώνων και μεταγωγής σημάτων κατά την ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος (Margolis et al., 1996).

Μικρού μοριακού βάρους πρωτεογλυκάνες πλούσιες σε λευκίνη (SLRPs) Κωδικοποιούνται από 17 γονίδια και ταξινομούνται σε τέσσερις κατηγορίες (Halper, 2014a). Σε αυτή την ομάδα ανήκουν η ντεκορίνη (decorin), η διγλυκάνη (biglycan), η ινομοδουλίνη (fibromodulin), η λουμικάνη (lumican), PRELP, η κερατοκάνη (keratocan), η οστεοατχερίνη (osteoadherin), η επιφυκάνη (epiphycan), η οστεογλυκίνη/μιμεκάνη, (osteoglycin/mimecan) (Hocking et al., 1998) η οπτικίνη (opticin) και η ασπορίνη (asporin) (Reardon et al., 2000). Οι πρωτεογλυκάνες της κατηγορίας αυτής έχουν πρωτεϊνικό τμήμα με μοριακό βάρος 40-50 kDa με κεντρικό τμήμα πλούσιο σε λευκίνη. Φέρουν διάφορες γλυκοζαμινογλυκάνες όπως θειική χονδροϊτίνη, δερματάνη αλλά και κερατάνη (McEwan et al., 2006) (Reardon et al., 2000). Αυτά τα μόρια παίζουν σημαντικό ρόλο στη φυσιολογία και λειτουργικότητα των τενόντων, των συνδέσμων και του καρδιαγγειακού συστήματος, μέσω της εμπλοκής τους στη ρύθμιση της συναρμολότητας και συντήρησης της εξωκυττάριας ουσίας, αφού συμμετέχουν στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, μέσω αλληλεπιδράσεων με τους παράγοντες ανάπτυξης. Πολλά από τα μέλη της ομάδας αυτής των πρωτεογλυκανών, όπως η ντεκορίνη, ρυθμίζουν την κολλαγογένεση. Η επιπλέον ντεκορίνη, χαρακτηρίζεται από αντιϊνωτικές και αντιογκογενετικές ιδιότητες (αναστέλλει την επιβίωση, πολλαπλασιασμό και εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων, δεσμεύοντας τον υποδοχέα της τυροσινικής κινάσης, που υπερεκφράζεται σε αυτά (Neill et al., 2012) και θεωρείται πολύτιμη σε μελλοντική θεραπεία. Αξιοσημείωτο είναι ότι υπάρχουν μελέτες, που υποστηρίζουν τον προγνωστικό ρόλο των επιπέδων ντεκορίνης σε διάφορους τύπους καρκίνων. Για παράδειγμα, μειωμένα επίπεδα της συνδέονται με αυξημένο ποσοστό υποτροπής και γενικότερα κακή πρόγνωση στο λιποσάρκωμα

(Bi and Yang, 2013). Παρόμοιο ρόλο διαδραματίζει και η διγλυκάνη (Nastase et al., 2014) .

Πρωτεογλυκάνες, όπως η ινωδομοντουλίνη και η λουμικάνη, έχουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της καρδιάς και η έλλειψη τους συνδέεται με βλάβες στην αορτική βαλβίδα (Halper, 2014b) . Έχει βρεθεί, επίσης ότι διαδραματίζουν βασικούς ρόλους στην εξέλιξη νόσων των νεφρών και των πνευμόνων, ρυθμίζοντας την ίνωση, τη φλεγμονή και την εξέλιξη των όγκων. Ανώμαλη έκφραση ή/ και δομή των πρωτεογλυκανών μπορεί να οδηγήσει σε δυσλειτουργική εξωκυττάρια ουσία, που έχει αντίκτυπο στις κυτταρικές λειτουργίες των ιστών (Chen and Birk, 2013). Έτσι, μεταλλάξεις στην ντεκορίνη ή μεταβολές στις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των γλυκοζαμινογλυκανών της αλυσίδας της, όπως στη θειική δερματάνη, μπορεί να οδηγήσουν σε διαταραχές του συνδετικού ιστού, όπως η συγγενής δυστροφία του κερατοειδούς και το σύνδρομο Ehlers-Danlos (Seidler, 2012) .

## 2.3 ΠΡΩΤΕΟΓΛΥΚΑΝΕΣ ΤΗΣ ΒΑΣΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ

Τα κύρια συστατικά της βασικής μεμβράνης είναι το κολλαγόνο τύπου IV, η λαμινίνη, οι ιντεγκρίνες, το ινωδογόνο και οι πρωτεογλυκάνες. Στις πρωτεογλυκάνες της βασικής μεμβράνης ανήκουν η περλεκάνη (perlecan), η αγκρίνη (agrin) και η μπαμακάνη (bamacan), οι οποίες εντοπίζονται κυρίως στις αγγειακές και επιθηλιακές βασικές μεμβράνες. Οι δύο πρώτες φέρουν κυρίως θειική ηπαράνη στις αλυσίδες τους, ενώ η μπαμακάνη φέρει θειική χονδροϊτίνη.

Περλεκάνη Έχει πρωτεϊνικό κορμό με μέγεθος περίπου 400 kDa και χωρίζεται σε πέντε περιοχές, οι οποίες είναι ομόλογες με άλλα μόρια που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των λιπών, στην προσκόλληση και την ανάπτυξη των κυττάρων (Glentis et al., 2014). Στα θηλαστικά η περλεκάνη φέρει κυρίως θειική ηπαράνη, περιστασιακά όμως έχει παρατηρηθεί και η ύπαρξη θειικής δερματάνης και κερατάνης (Farach-Carson et al., 2014). Συμμετέχει σε ποικίλες κυτταρικές λειτουργίες, όπως η κυτταρική προσκόλληση και η απόπτωση, η μετανάστευση και διαφοροποίηση μέσω των αλληλεπιδράσεών της με αυξητικούς παράγοντες και άλλες πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας (Mishra et al., 2011). Επιτελεί σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση μέσω της αλληλεπίδρασής της με τον

αυξητικό παράγοντα των αγγείων (Whitelock et al., 2008) . Το εξωκυττάριο περιβάλλον καθορίζει τη δράση της περλεκάνης και συνεπώς την επίδρασή της στη δομή και τη λειτουργία του κάθε οργάνου. Εντοπίζεται σε πολλά όργανα, όπως η καρδιά, παχύ έντερο, ο προστάτης, τα νεφρά, το δέρμα και οι χόνδροι (Breitkreutz et al., 2013, Wilusz et al., 2014). Τελευταία, συζητείται η ευεργετική της δράση, μετά από εγκεφαλικό επεισόδιο στην προστασία των νευρώνων και την επούλωση του εγκεφαλικού ιστού (Roberts et al., 2012). Επίσης, μελετάται η εμφάνιση αντισωμάτων εναντίον της περλεκάνης και κατά πόσο σχετίζονται με μικροαγγειοπαθητική απόφραξη και μη -HLA απόρριψη, μετά από μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων (Dragun et al., 2013) .

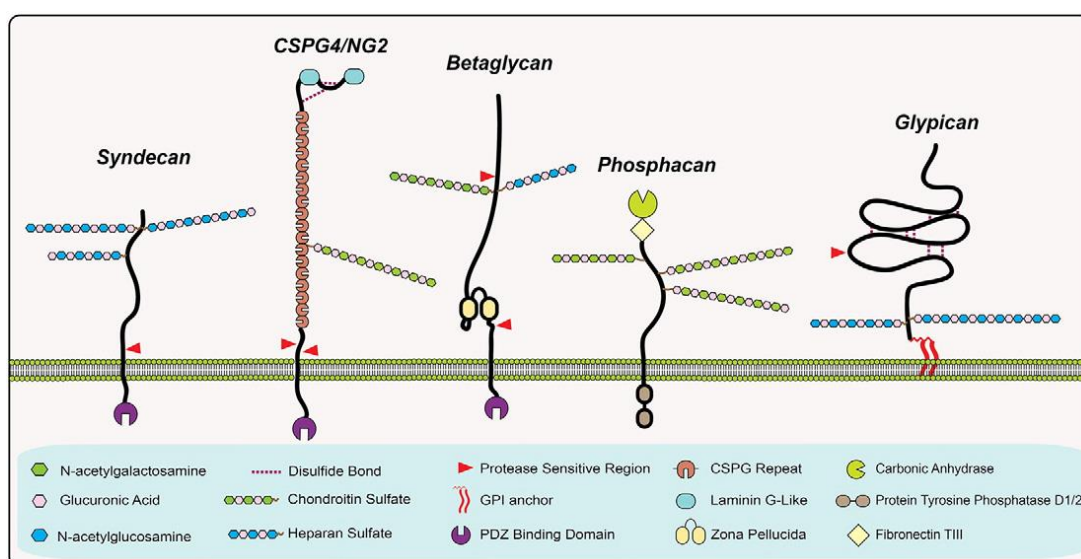
Αγκρίνη Περιέχει θειική ηπαράνη, παίζει σημαντικό ρόλο στη συσσώρευση υποδοχέων ακετυλοχολίνης στη διαδικασία ανάπτυξης των νευρομυϊκών συνάψεων στην εμβρυογένεση καθώς και στη νεφρική διήθηση (Hubbard and Gnanasambandan, 2013, Zong and Jin, 2013). Επίσης, φαίνεται να προσδένεται σε αυξητικούς παράγοντες, όπως είναι ο TGF και ο PDGF (Patthy and Nikolics, 1993).

Μπακανάνη Είναι μία πρωτεογλυκάνη θειικής χονδροϊτίνης και φαίνεται να παίρνει μέρος στη διαφοροποίηση των φυσιολογικών ινοβλαστών (Ghiselli and Iozzo, 2000).

## 2.4 ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΕΣ ΠΡΩΤΕΟΓΛΥΚΑΝΕΣ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΟΓΛΥΚΑΝΕΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ

Οι πρωτεογλυκάνες της κυτταρικής επιφάνειας περιλαμβάνουν αρκετές ομάδες μορίων, όπως τις συνδεκάνες (syndecans), τις γλυπικάνες (glypicans), τον CD44 υποδοχέα, την βηταγλυκάνη (betaglycan), τη CSPG4 / NG2, τη φωσφακάνη και τη θρομβομοντουλίνη (thrombomodulin) (Εικόνα 9).

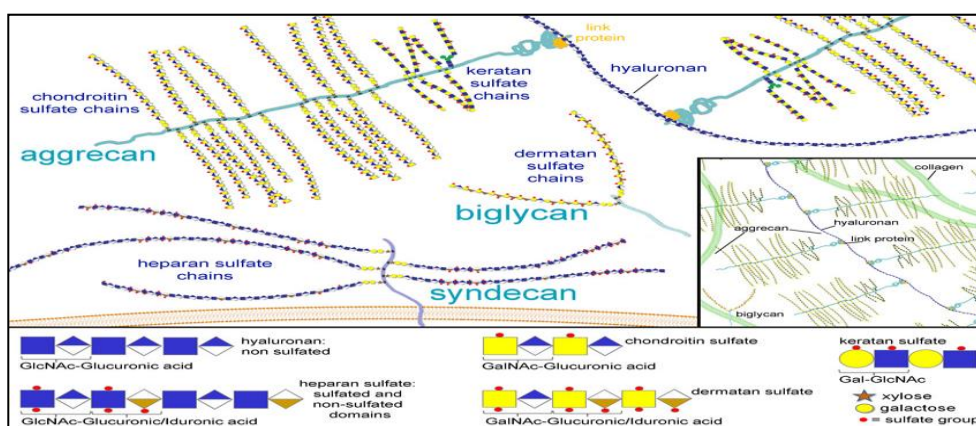
Στις ενδοκυττάριας πρωτεογλυκάνες ανήκει η σεργλυκίνη (serglycin), η οποία φέρει αλυσίδες ηπαρίνης ή θειικής χονδροϊτίνης με υψηλά επίπεδα θείωσης.



**Εικόνα 9:** Σχηματική αναπαράσταση των πρωτεογλυκανών της κυτταρικής επιφάνειας, που περιλαμβάνουν τη διαμεμβρανική τύπου I (το N-άκρο είναι εκτός της κυτταροπλασματικής μεμβράνης), συνδεκάνες(1-4), CSPG4 / NG2, βηταγλυκάνη, φωσφακάνη και γλυπικάνες 1-6. Υποδεικνύονται ο τύπος της GAG αλυσίδας και της κύριας πρωτεΐνης.

Η οικογένεια των συνδεκανών (Εικόνα 10) απαρτίζεται από τέσσερα διαφορετικά μέλη: τη συνδεκάνη-1, συνδεκάνη-2 (ινογλυκάνη, φμπρογλυκάνη), συνδεκάνη-3 (N-συνδεκάνη) και συνδεκάνη-4 [ριουνοτοκάνη (ryudocan), αμφιγλυκάνη (amphiglycan)]. Πρόκειται για διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, που αποτελούνται από ένα N-τελικό εξωκυττάριο τμήμα, που φέρει τα σημεία πρόσδεσης των γλυκοζαμινογλυκανών, μία υδρόφοβη διαμεμβρανική περιοχή και ένα σύντομο C-τελικό κυτταροπλασματικό τμήμα (Woods and Couchman, 2001). Οι συνδεκάνες φέρουν κυρίως θειική ηπαράνη (Shworak et al., 1994), όμως οι

συνδεκάνες -1 και -4 μπορούν να φέρουν και αλυσίδες θειικής χονδροϊτίνης. Οι πρωτεογλυκάνες αυτές αλληλεπιδρούν με αυξητικούς παράγοντες, τους υποδοχείς των κυττάρων, τις πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας και τα μόρια προσκόλλησης μέσω των γλυκοζαμινογλυκανών τους, ενώ το ενδοκυττάριο τμήμα τους προσδένεται στον κυτταροσκελετό της ακτίνης (Peretti et al., 2008, Kwon et al., 2012). Διαφορετικοί τύποι κυττάρων συνθέτουν συνδεκάνες με διαφορετικές γλυκοζαμινογλυκάνες και, σε μερικές περιπτώσεις, με διαφορετική λειτουργία. Επίσης, πολλοί τύποι κυττάρων εκφράζουν πάνω από ένα τύπο συνδεκάνης, η έκφραση των οποίων μπορεί να αλλάζει κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και της διαφοροποίησής τους (Larrain et al., 1998). Μέσω των μοριακών αλληλεπιδράσεων των συνδεκανών μπορούν να ρυθμιστούν ποικίλες λειτουργίες, όπως η πρόσληψη των λευκοκυττάρων, ο πολλαπλασιασμός των καρκινικών κυττάρων (Barbouri et al., 2014), η αγγειογένεση, η προσκόλληση των μικροβίων και η είσοδός τους στον ξενιστή. Η σημασία τους φαίνεται από τον παθολογικό φαινότυπο σε ποντίκια με έλλειψη συνδεκάνης (Teng et al., 2012). Επίσης, θεωρούνται πιθανός θεραπευτικός στόχος για την αντιμετώπιση ποικίλων μορφών καρκίνου (Ramani et al., 2013, Szatmari and Dobra, 2013).



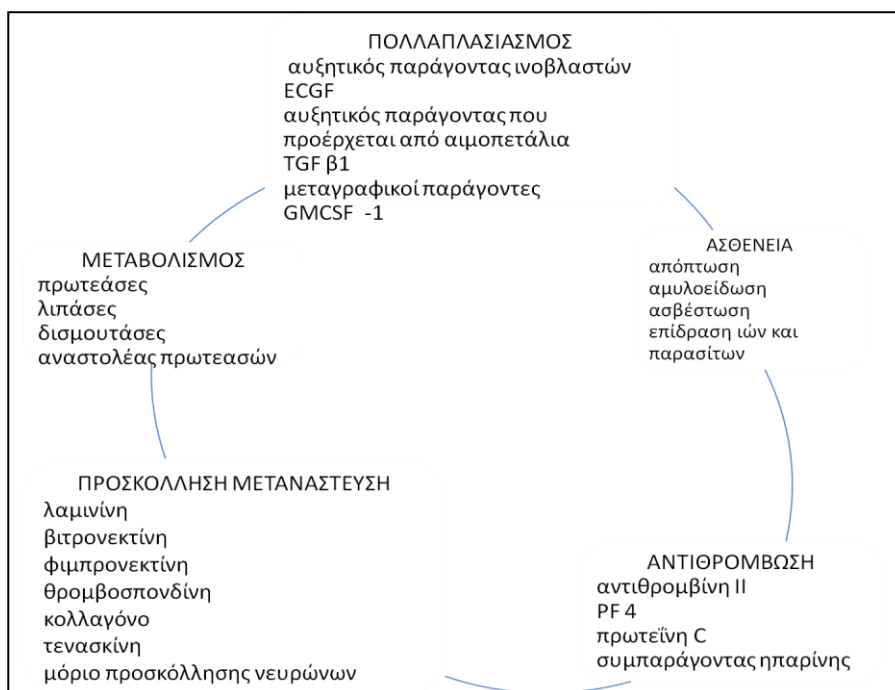
**Εικόνα 10: Μορφή και οργάνωση της συνδεκάνης στο χώρο.**

Η γλυπικάνη αποτελεί οικογένεια πρωτεογλυκανών με έξι μέλη (1-6), που ρυθμίζει τη σηματοδότηση ορισμένων αυξητικών παραγόντων. Επίσης, μελετάται ο μελλοντικός ρόλος των μορίων αυτών στη διάγνωση και παρακολούθηση του ηπατοκυτταρικού καρκίνου (Filmus and Capurro, 2013).



**CD44** Αλληλεπιδρά με το υαλουρονικό οξύ, ενώ η ενδοκυτταρική του περιοχή προσδένεται στον κυτταροσκελετό της ακτίνης. Οι γλυκοζαμινογλυκάνες του είναι η θειική ηπαράνη ή η θειική χονδροϊτίνη. Έχει επίσης, την ικανότητα να προσδένει ποικίλες πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας, όπως το κολλαγόνο (Nagano and Saya, 2004). Το CD44 επηρεάζει την κινητικότητα, την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και επιδρά στο σχηματισμό του μικροπεριβάλλοντος του όγκου (Prochazka et al., 2014). Επιπλέον, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης σε διάφορες μορφές καρκίνων του πνεύμονα και η υψηλή έκφρασή του σχετίζεται με χαμηλό ποσοστό πενταετούς επιβίωσης (Luo et al., 2014).

Στην Εικόνα 11 που ακολουθεί παρουσιάζονται συνοπτικά οι μοριακές αλληλεπιδράσεις των πρωτεογλυκανών.



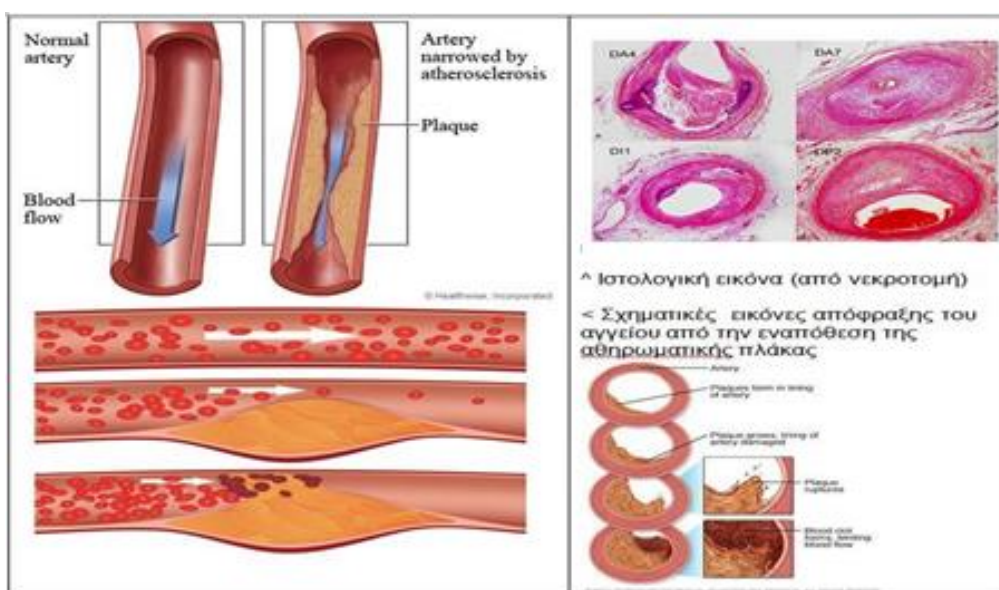
**Εικόνα 11: Μοριακές αλληλεπιδράσεις PGs.**

### 3 ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Το καρδιαγγειακό σύστημα είναι σύστημα οργάνων που είναι υπεύθυνο για την παροχή οξυγόνου καθώς και για την μεταφορά και ανταλλαγή ουσιών στα κύτταρα του οργανισμού. Το καρδιαγγειακό σύστημα αποτελείται από την καρδιά, τις φλέβες, τις αρτηρίες και τα τριχοειδή αγγεία.

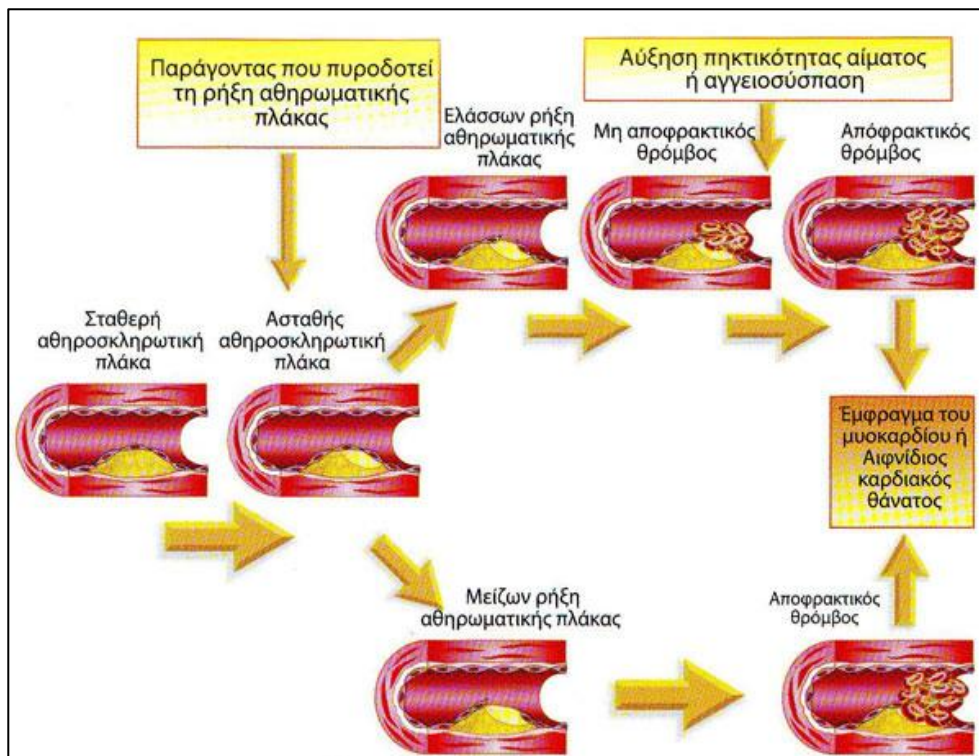
#### 3.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗΣ

Η αθηρωμάτωση είναι μια χρόνια φλεγμονώδης διαδικασία των αγγείων, που χαρακτηρίζεται από αλλαγές στον έσω χιτώνα λόγω συσσώρευσης λιπιδίων, ινώδους υλικού και συστατικών του αίματος. Αυτή οδηγεί σε στένωση ή απόφραξη του αυλού των προσβεβλημένων αρτηριών με αποτέλεσμα την ισχαιμική βλάβη ή τη νέκρωση των ιστών, που αρδεύονται από αυτήν (Εικόνα 12).



**Εικόνα 12: Διαδικασία αθηρωμάτωσης**

(<http://www.ecardiologist.gr/kardiologos-plhrofories.html>)

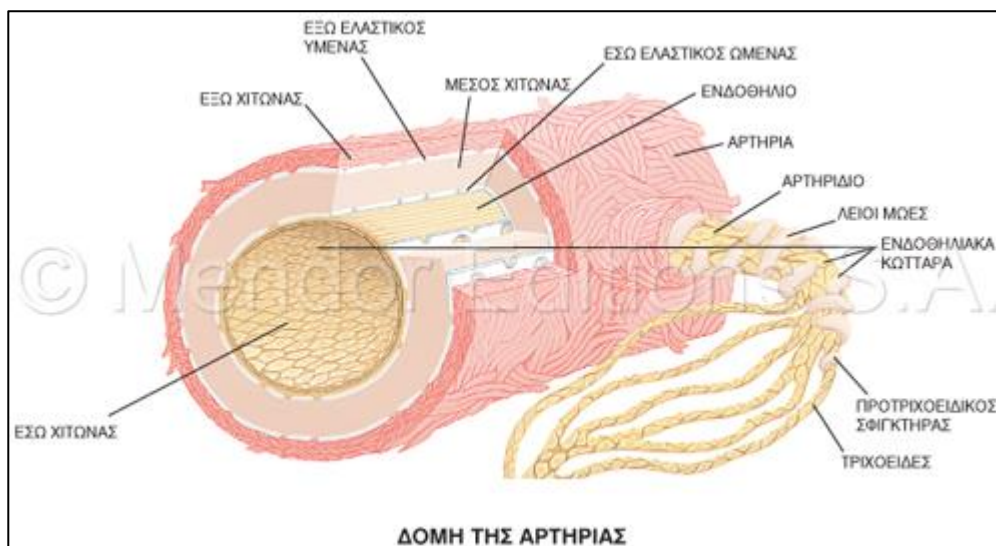


**Εικόνα 12: Διαδικασία αθηρωμάτωσης**

(<http://www.ecardiologist.gr/kardiologos-plhrofories.html>)

### 3.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗΣ

Το αγγειακό τοίχωμα των αγγείων αποτελείται από τρία βασικά δομικά συστατικά: το ενδοθήλιο, το μυϊκό ιστό και το συνδετικό ιστό (Εικόνα 13). Το φυσιολογικό ενδοθήλιο έχει αντιθρομβωτικές, αντιπηκτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιυπερτροφικές ιδιότητες και παρουσιάζει φυσιολογική χάλαση, εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο και τη δράση του NO. Η αθηρωμάτωση χαρακτηρίζεται από τις ακόλουθες διεργασίες: δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, μετανάστευση μονοκυττάρων του υπενδοθηλίου και διαφοροποίησή τους σε μακροφάγα, κατακράτηση υπενδοθηλιακά της LDL (χαμηλής πυκνότητας χοληστερόλη), οξειδωσή της και φαγοκυττάρωσής της από τα μακροφάγα που γίνονται αφρώδη κύτταρα, μετανάστευση λείων μυϊκών κυττάρων υπενδοθηλιακά, νέκρωση των υπερκορεσμένων αφρωδών κυττάρων, απελευθέρωση της οξειδωμένης LDL, βλάβη του ενδοθηλίου και προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων (Duff and Mc, 1951, Lusis, 2000).



**Εικόνα 13: Ιστολογική εικόνα αρτηρίας (<http://www.iatronet.gr/iatriko-lexiko/artiria.html>).**

Στη διαδικασία αυτή εμπλέκονται ενδοθηλιακά κύτταρα, λεία μυϊκά, μακροφάγα, αιμοπετάλια και T- λεμφοκύτταρα (Vink et al., 2000, Levesque et al., 1994). Σημαντικός είναι και ο ρόλος των στοιχείων του συνδετικού ιστού, όπως το κολλαγόνο, η φιβρονεκτίνη, η θρομβοσπονδίνη, η ελαστίνη και οι πρωτεογλυκάνες (Idobe et al., 1998) και των κυτοκινών, αυξητικών παραγόντων: Platelet-Derived Growth Factor (PDGF), basic Fibroblast Growth factor (bFGF), Transforming Growth Factor b (TGF-b), Epidermal Growth Factor (EGF) και Insulin-like Growth Factor (IGF-1), αγγειοδραστικών και μορίων προσκόλλησης, πρωτεασών (ουροκινάση, μεταλλοπρωτεϊνάση), ιντεγκρίνη, πρωτεΐνες για τη μεταγωγή ενδοκυτταρικών σημάτων (G-πρωτεΐνες, GTPases, κινάση προσκόλλησης (FAK), φωσφατιδυλινοσιτόλη -3 κινάση (phosphatidylinositol 3-kinase -PI3K), πρωτεϊνική κινάση C (PKC) και MAPKs (ERK 1/2, p38) (Willis et al., 2004).

Στα αρχικά στάδια της αρτηριοσκλήρυνσης τα αγγεία παρουσιάζουν λιπώδεις γραμμώσεις. Αυτές αποτελούνται από συγκεντρώσεις λιπιδίων, αφρώδων και φλεγμονωδών κυττάρων και εμφανίζονται σε νεαρές ηλικίες. Μπορούν να εξελιχθούν σε αθηρωματικές πλάκες. Στο κέντρο των αθηρωματικών πλακών υπάρχει ο νεκρωτικός λιπιδικός πυρήνας, που αποτελείται από αφρώδη, νεκρά κύτταρα και σταγονίδια λίπους. Περιβάλλεται από ινώδη κάψα από λεία μυϊκά κύτταρα και συνδετικό ιστό πλούσιο σε κολλαγόνο.

Από τις πρώτες διεργασίες της αρτηριοσκλήρυνσης είναι ο τραυματισμός του ενδοθηλίου. Ο τραυματισμός αυτός μπορεί να επέλθει από την οξειδωμένη LDL, τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου που προκαλούνται από το κάπνισμα, την αρτηριακή υπέρταση, το σακχαρώδη διαβήτη, την αύξηση της ομοκυστεΐνης και από ορισμένους μικροοργανισμούς, όπως τα χλαμύδια της πνευμονίας και ο μεγαλοκυτταροϊός. Ακολουθεί η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία κατά την οποία αυξάνεται η προσκολλητικότητα και η διαπερατότητα των αιμοπεταλίων, των λευκοκυττάρων και λιπιδίων, υπερτερούν η σύνθεση αγγειοσυσπαστικών ουσιών και θρομβωτικών παραγόντων και ελαττώνεται η δραστηριότητα του NO. Το επόμενο στάδιο είναι αυτό της φλεγμονής. Σε αυτή, διάφορες κυτοκίνες ενεργοποιούν ποικίλα κύτταρα. Πιο αναλυτικά τα T-λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται από τον TNF-a (Tumor Necrosis Factor a), G-CSF (Granulocyte Colony Stimulating Factor) και M-CSF (Monocyte Colony Stimulating Factor), ο σχηματισμός των αφρώδων κυττάρων ενεργοποιείται από την οξειδωμένη LDL, το MCSF, TNF-a και ιντερλευκίνη 1, η μετανάστευση των λείων μυικών κυττάρων από τους PDGF (Platelet Derived Growth Factor), FGF2 (Fibroblast Growth Factor 2) και TGFβ (Transforming Growth Factor β) και η συσσώρευση των αιμοπεταλίων από τις ιντεγκρίνες, τη P-σελεκτίνη, την ινική, τη θρομβοξαίνη A<sub>2</sub> και άλλους παράγοντες (Libby and Theroux, 2005, Spinas et al., 2014, Tousoulis et al., 2011, Cheng et al., 2014).

Οι αθηρωματικές βλάβες μπορούν να ταξινομηθούν σύμφωνα με την American Heart Association:

- Βλάβες τύπου 0, όπου ο έσω χιτώνας είναι φυσιολογικός ή παρουσιάζει ήπια πάχυνση. Σε αυτό τον τύπο δεν υπάρχουν αφρώδη κύτταρα και η διήθηση από λεμφοκύτταρα είναι περιορισμένη.
- Βλάβες τύπου I, όπου εμφανίζονται αφρώδη κύτταρα.
- Βλάβες τύπου II, που χαρακτηρίζονται από στρώματα αφρώδων κυττάρων.
- Βλάβες τύπου III, χαρακτηρίζονται από παθολογική πάχυνση του έσω χιτώνα και συσσωρεύσεις εξωκυττάρου λίπους.
- Βλάβες τύπου IV, τα λεγόμενα αθηρώματα, που παρουσιάζουν λιπιδικό πυρήνα και ινώδη κάψα.
- Βλάβες τύπου V, όπως οι προηγούμενες με επιπλέον ίνωση και υαλινοποίηση.

- Βλάβες τύπου VI, ή επιπλεγμένες, που χαρακτηρίζονται από επιφανειακή διάβρωση, ενδοπλακική αιμορραγία και σχηματισμό ενδοαυλικού θρόμβου.
- Βλάβες τύπου VII, ή ινοασβεστώδεις, όπου εμφανίζουν ασβέστωση σε μεγαλύτερο του 50% του τμήματός τους.
- Βλάβες τύπου VIII, ή ινώδεις πλάκες, που εμφανίζουν πλήρη ασβέστωση και υαλινοποίηση, χωρίς την παρουσία λιπιδικού πυρήνα.
- Βλάβες τύπου IX, ή πλήρης απόφραξη, όπου ο αρτηριακός αυλός είναι πλήρως αποφραγμένος από αθηρωματικό υλικό και συνδετικό ιστό, χωρίς την παρουσία πρόσφατου θρόμβου.

### 3.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗΣ

Παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης αθηρωμάτωσης είναι η αυξημένη LDL, η μειωμένη HDL, ο σακχαρώδης διαβήτης, το κάπνισμα, η υπέρταση και η παχυσαρκία. Η οξειδωμένη LDL παγιδεύεται στο αρτηριακό τοίχωμα, μετά την αλληλεπίδρασή της με την απολιποπρωτεΐνη Β και ομάδα γλυκοζαμινογλυκανών, προσλαμβάνεται από τα μακροφάγα και τα μετατρέπει σε αφρώδη κύτταρα. Επιπλέον, διεγείρει την προσκόλληση των μονοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα, αυξάνει τη διαπερατότητα του ιστικού παράγοντα, αυξάνει την έκφραση των ιντερλευκινών 1 και 8 και των μορίων προσκόλλησης MCSF (Macrophage Colony-Stimulating Factor), MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein-1), VCAM-1 (Vascular cell adhesion protein 1), αναστέλλει την απελευθέρωση και δράση του NO, προάγει τη σύνθεση κολλαγόνου από τα λεία μυϊκά κύτταρα και αυξάνει την ενδοκυττάρια συγκέντρωση ασβεστίου. Από την άλλη μεριά, η HDL/ApoA-I συμβάλλει στην αφαίρεση της περίσσειας της χοληστερόλης των περιφερικών ιστών και προστατεύει τις λιποπρωτεΐνες από την οξείδωση, λόγω του αντιοξειδωτικού της χαρακτήρα. Με την αύξηση της γλυκόζης στο σακχαρώδη διαβήτη, τροποποιούνται κάποια μόρια και προάγουν την παραγωγή προφλεγμονώδων κυτοκινών, ενισχύοντας τη φλεγμονώδη δράση των κυττάρων του ενδοθηλίου και αυξάνοντας το οξειδωτικό stress (August et al., 2006, Hink et al., 2003, Lam and LeRoith, 2000, Domanski et al., 2015).

### 3.4 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗΣ

Οι κλινικές εκδηλώσεις της αθηρωμάτωσης είναι: η στεφανιαία νόσος, η οξεία και χρόνια εγκεφαλική ισχαιμία, η νεφραγγειακή νόσος λόγω υπέρτασης, το αρτηριακό ανεύρυσμα και η διαλείπουσα χωλότητα.

Γνωρίζοντας λοιπόν τις θανατηφόρες συνέπειες της αθηρωμάτωσης, η σύγχρονη επιστημονική κοινότητα προσπαθεί να βρει δείκτες, που να αποκαλύπτουν την ανάπτυξη της αθηρωμάτωσης πριν την εκδήλωση της κλινικής εικόνας.

### 3.5 ΠΡΩΤΕΟΓΛΥΚΑΝΕΣ - ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΟΓΛΥΚΑΝΕΣ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Οι πρωτεογλυκάνες, που μετέχουν κυρίως στη δομή των αγγείων είναι: η βερσικάνη (CS/DSPG), που αλληλεπιδρά με το υαλουρονικό οξύ, η ντεκορίνη (CS/DSPG), η βιγλυκάνη (CS/DSPG), η λουμικάνη (KSPG) και η περλεκάνη (HSPG). Επίσης, οι φυσιολογικές αορτές αποτελούνται κυρίως από θειική κερατάνη, θειική ηπαράνη, και σε μικρότερα ποσά, από θειική δερματάνη και υαλουρονικό οξύ. Γενικά, οι πρωτεογλυκάνες των αγγείων έχουν σημαντικές ιδιότητες όπως: η ρύθμιση της ακεραιότητας και της διαπερατότητας των αγγείων, η ανταλλαγή ουσιών, ο καταβολισμός των λιποειδών, η αιμόσταση και η θρόμβωση (Nieuwdorp et al., 2005, Lipowsky, 2005, Vink et al., 2000). Μαζί με το υαλουρονικό οξύ αλληλεπιδρούν με τα αγγειακά κύτταρα, τους αυξητικούς παράγοντες και τις κυτταροκίνες και ρυθμίζουν την προσκόλληση, τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων.

Βλάβες στις πρωτεογλυκάνες των αγγείων προκαλούνται μετά από έκθεση σε αθηρογόνους παράγοντες, όπως η οξειδωμένη LDL (Cardoso and Mourao, 1994, Alavi et al., 1989, Iverius, 1972), η υπερχοληστερολαιμία (Sparks et al., 1986, Tammi et al., 1978, Wosu et al., 1983), ή η υπεργλυκαιμία (Nieuwdorp et al., 2006, Maturri et al., 2004, Alavi et al., 1989).

Έτσι, διακρίνονται ορισμένες πρωτεογλυκάνες κατά την πάχυνση του έσω χιτώνα του αγγείου (βερσικάνη, ντεκορίνη) και συνδέονται με τις λιποπρωτεΐνες στα αθηροσκληρυντικά τμήματα του αγγείου. Χαρακτηριστικό είναι ότι σε

ποντίκια, που δεν παρήγαγαν ντεκορίνη, μειώθηκε η πρόοδος της αθηρωμάτωσης, λόγω της μείωσης του κυκλοφορούντος TGF- $\beta$  (Transforming growth factor-2) (Al Haj Zen et al., 2006). Η διγλυκάνη επίσης, απελευθερώνεται από τη μήτρα του αγγειακού ιστού, κατά τον τραυματισμό του, και φαίνεται να αλληλεπιδρά με παράγοντες, που μεσολαβούν στην αθηρογένεση όπως οι: bone morphogenic proteins (BMP) -2,4,6, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , VEGF και toll-like υποδοχείς (Frey et al., 2013). Ανάμεσα τους και το υαλουρονικό οξύ συμβάλλει στη μετανάστευση των λείων μυϊκών κυττάρων και, επομένως, στη στένωση των αγγείων. Επίσης, επηρεάζει σημαντικά τη διαπερατότητα του αρτηριακού τοιχώματος, αφού δημιουργεί ένα διογκωμένο και υψηλά φορτισμένο εξωκυττάριο χώρο, ο οποίος μπορεί να ρυθμίζει την μετακίνηση μικρών και μεγάλων μορίων, που εισέρχονται στο αγγειακό τοίχωμα από το πλάσμα. Περιοχές πλούσιες σε πρωτεογλυκάνες συσσωρεύουν πιο εύκολα λιποειδή και σύμπλοκα πρωτεογλυκανών – λιποπρωτεϊνών και έχουν εκχυλιστεί από αθηροσκληρωτικά τμήματα αγγείων. Δέσμευση των λιποπρωτεϊνών με τις πρωτεογλυκάνες έχει δείχθει μόνο για τις LDL και όχι για τις HDL, ενώ η Lp(a) δείχνει αυξημένη δέσμευση για τις πρωτεογλυκάνες συγκριτικά με εκείνη των LDL (Cardoso and Mourao, 1994, Alavi et al., 1989). Με αυτόν τον τρόπο ευνοείται η δημιουργία των αφρωδών κυττάρων. Άλλωστε, οι θετικά φορτισμένες απολιποπρωτεΐνες Β και Ε αλληλεπιδρούν με τις αρνητικά φορτισμένες θειικές ομάδες και τις ομάδες καρβοξυλικού οξέος των γλυκοζαμινογλυκανών, οδηγώντας σε παρατεταμένη κατακράτηση αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών στον υποενδοθηλιακό χώρο (Williams and Tabas, 1995). Επιπλέον, οι πρωτεογλυκάνες προκαλούν οξειδωση στα μόρια των LDL. Καθώς, και οι οξειδωμένες LDL προκαλούν επιμήκυνση των αλυσίδων των γλυκοζαμινογλυκανών τους.

Μελέτες σε αορτές κουνελιών με αθηρωματικές πλάκες έδειξαν ότι σε αθηρωματικές βλάβες εντοπίζονται συμπλέγματα γλυκοζαμινογλυκανών (όπως η θειική χονδροϊτίνη, δερματάνη και το υαλουρονικό οξύ) (Tammi et al., 1978) και λιποπρωτεϊνών. Οι αναλύσεις αυτών των συμπλεγμάτων αποκάλυψαν ότι αποτελούνται από χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL, VLDL) και αυξημένες συγκεντρώσεις θειικής ηπαράνης, θειικής χονδροϊτίνης και υαλουρονικού οξέος. Αυτά εντοπίζονταν μόνο στις αθηρωματικές πλάκες, υποδεικνύοντας τον πρώιμο ρόλο που διαδραματίζουν στην αθηρογένεση



(Padberg et al., 2014). Επιπλέον, αποδείχτηκε πως η προσθήκη LDL σε κυτταρικές καλλιέργειες ινοβλαστών και εμβρυικών κυττάρων λείων μυικών ινών αυξάνει την παραγωγή τους σε γλυκοζαμινογλυκάνες (Mulivor and Lipowsky, 2002).

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν πρώιμες μελέτες σε ανθρώπινες στεφανιαίες αρτηρίες, με διαφορετικού βαθμού μακροσκοπική αθηροσκλήρυνση. Σε αυτές βρέθηκε μείωση του υαλουρονικού οξέος και αύξηση της συγκέντρωσης ασβεστίου στο αρτηριακό τοίχωμα με αθηρωματικές πλάκες, ακόμα και σε πρώιμα στάδια. Αυτό προκάλεσε τη μεταβολή της διαπερατότητας των μορίων και μείωσε την ινωδολυτική ιδιότητα του ενδοθηλίου. Επίσης, σε επόμενα στάδια, βρέθηκε αύξηση της θειικής ηπαράνης και δερματάνης και του κολλαγόνου. Η χοληστερόλη αυξήθηκε σε μικρό μόνο βαθμό, ακόμα και σε προχωρημένα στάδια της νόσου (Reitsma et al., 2007). Από την άλλη πλευρά, μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε νεογνά, που κατέληξαν λόγω συνδρόμου αιφνίδιου θανάτου, έδειξαν ότι σε αρκετές περιπτώσεις υπήρχαν πολυεστιακές αρτηριοσκληρυντικές αλλοιώσεις, που ποίκιλαν από υπενδοθηλιακή παχύνση έως μείωση του εύρους του αυλού. Αυτές οι αλλοιώσεις αποδόθηκαν είτε σε κάπνισμα της μητέρας, είτε στην υψηλή σε λιπίδια διαίτά της, ενώ θήλαζε. Σε αυτές τις αλλοιώσεις παρατηρήθηκαν διείσδυση λείων μυικών κυττάρων στον έσω χιτώνα και εναποθέσεις λιπιδίων και γλυκοζαμινογλυκανών, όπως το υαλουρονικό οξύ και η χονδροϊτίνη A και C (Suzuki et al., 2005).

Θα πρέπει να αναφερθεί ότι οι γλυκοζαμινογλυκάνες έχουν και προστατευτικό ρόλο έναντι της αθηροσκλήρυνσης και της θρόμβωσης, όπως η ηπαράνη, που μπορεί να αναστείλει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των λείων μυικών κυττάρων και την οδό της πήξης, ενώ οι πρωτεογλυκάνες της θειικής ηπαράνης (HSPGs) απομακρύνουν τις LDL και VLDL από την κυκλοφορία του αίματος, που είναι εξαιρετικά αθηρογόνες (Mahley and Huang, 2007).

### 3.6 ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Το υαλουρονικό οξύ συντίθεται από τα κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος (ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα και λεία μυικά κύτταρα). Στα αγγεία έχει δομικό ρόλο, ενυδατώνει τους ιστούς, διατηρεί την ωσμωτική ισορροπία και

ρυθμίζει κυτταρικές διεργασίες, όπως τη μετανάστευση, την προσκόλληση και τον πολλαπλασιασμό (Yung et al., 1994, Lokeshwar and Selzer, 2000). Διαφορετικά μήκη των πολυμερών του HA επηρεάζουν διαφορετικές κυτταρικές διεργασίες. Για παράδειγμα, το HA μεγάλου μοριακού βάρους (106 Da) έχει αντι-αγγειογενετικές ιδιότητες, ενώ τα θραύσματα του HA με 3-25 μονάδες δισακχαρίτη επάγουν την αγγειογένεση (Toole et al., 2002). Μέσω των αλληλεπιδράσεων του με τους υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας, έχει σημαντικές επιρροές στη συμπεριφορά των κυττάρων. Και οι τρεις από αυτές τις λειτουργίες συμβάλλουν στη μορφογένεση, την αναδιαμόρφωση των ιστών, τις διαδικασίες της φλεγμονής, ακόμα και της εξέλιξης της αθηροσκλήρωσης (Li et al., 2007, Deed et al., 1997).

Ο ρόλος του HA στο καρδιαγγειακό σύστημα είναι πολλαπλός. Παρατηρείται αύξησή του στην οξεία φάση καρδιακής βλάβης (Ohkawa et al., 1977). Πρόσφατα, χρησιμοποιήθηκε για την αναγέννηση του καρδιακού ιστού, μετά από ισχαιμική βλάβη σε ποντίκια. Η έγχυση HA οδήγησε σε αύξηση του κλάσματος εξώθησης, μειωμένη ουλοποίηση στον καρδιακό ιστό, κατά 22,6% ( $p < 0,001$ ), μείωση της εναπόθεσης του κολλαγόνου και σημαντική αύξηση της νεοαγγείωσης, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Έτσι, το HA αποτελεί μια υποσχόμενη θεραπεία (Abdalla et al., 2013, Yoon et al., 2009).

Σε επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης, η τιμή ορού του HA προεγχειρητικά χρησιμοποιήθηκε για να προβλέψει τη μετεγχειρητική εμφάνιση κολπικής μαρμαρυγής. Επειδή η ίνωση του ιστού σχετίζεται στενά με την εμφάνιση κολπικής μαρμαρυγής, δικαιολογείται η συσχέτιση του αυξημένου HA (μαζί με την αύξηση του κολπικού νατριουρητικού πεπτιδίου, αγγειοτενσίνης II) με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης κολπικής μαρμαρυγής (Sezai et al., 2009).

Το HA επίσης, βρέθηκε αυξημένο και στον ορό ασθενών με χρόνια συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια και μεταβαλλόταν μάλιστα αντιστρόφως ανάλογα με τις μεταβολές στο κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας (Li et al., 2006). Στον ορό, το HA έχει μελετηθεί και σε μεταμοσχευμένους ασθενείς. Έχει διαπιστωθεί ότι, προηγείται η αύξηση του HA στον καρδιακό μυ και στον ορό κατά την απόρριψη του μοσχεύματος καρδιάς σε αρουραίους (Johnsson and Tufveson, 2006). Τέλος, σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, το HA ορού

συσχετίζεται θετικά με τα sVCAM-1 (Soluble vascular cell adhesion molecule-1) και sICAM-1(soluble intercellular adhesion molecule-1), τα οποία διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αθηρογόνο διαδικασία (Stenvinkel et al., 2000).

Ιδιαίτερος είναι ο ρόλος του HA και στη διαδικασία της αθηροσκλήρυνσης. Σε μελέτη των Klynstra κ.α. το 1967 (Klynstra et al., 1967) μελετήθηκε η σύσταση του έσω και μέσου χιτώνα των αρτηριών αρουραίων σε διαφορετικές ηλικίες και σε διαφορετικά στάδια αθηρωμάτωσης. Το HA φαίνεται να μειώνεται με την πάροδο της ηλικίας και στα πιο προχωρημένα στάδια αθηρωμάτωσης. Αλλαγές υφίστανται και οι άλλες γλυκοζαμινογλυκάνες, όπως παρουσιάζονται στην Εικόνα 14 και Εικόνα 15. Η μειωμένη διαπερατότητα του αρτηριακού τοιχώματος και η μειωμένη ινωδολυτική δραστηριότητά του, λόγω αυτών των αλλαγών γλυκοζαμινογλυκανών, θεωρούνται ως πιθανοί παράγοντες στην ανάπτυξη των αθηρωματικών πλακών.

CONCENTRATIONS OF TESTICULAR HYALURONIDASE-DIGESTIBLE ACID MPS COMPONENTS <sup>a</sup> IN NORMAL AND ATHEROSCLEROTIC AORTIC TISSUES, EXPRESSED AS PERCENTAGE OF THE DEFATTED DRY WEIGHT OF THE TISSUE				
	<i>Stage of disease</i>			
	<i>0</i>	<i>I</i>	<i>II</i>	<i>III</i>
Media (lesions removed)	1.07 ± 0.14 (6) <sup>b</sup>	1.15 ± 0.08 (4)	1.53 ± 0.06 (4)	1.32 ± 0.12 (4)
Intima (lesions removed)	1.51 ± 0.04 (2)	1.70 ± 0.05 (3)	2.10 ± 0.12 (3)	1.88 ± 0.03 (3)
Fatty streaks and spots	—	2.05 ± 0.12 (3)	1.91 ± 0.06 (3)	2.10 ± 0.07 (2)
Plaques	—	—	1.82 ± 0.10 (5)	1.55 ± 0.15 (4)
Atheromas	—	—	—	1.21 ± 0.02 (2)
Ulcerated lesions	—	—	—	0.63 ± 0.11 (3)

<sup>a</sup> *i.e.*, hyaluronic acid (HA) and chondroitin sulphate-C (CSA-C).  
<sup>b</sup> Standard deviation and number of pools analyzed.

**Εικόνα 14:** Μεταβολές στη σύσταση του υαλουρονικού οξέος και της θειικής χονδροϊτίνης C κατά την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης (Klynstra et al., 1967).

CONCENTRATIONS OF TESTICULAR HYALURONIDASE-RESISTANT ACID MPS COMPONENTS <sup>a</sup> IN NORMAL AND ATHEROSCLEROTIC AORTIC TISSUES, EXPRESSED AS PERCENTAGE OF THE DEFATTED DRY WEIGHT OF THE TISSUE				
	<i>Stage of disease</i>			
	<i>0</i>	<i>I</i>	<i>II</i>	<i>III</i>
Media (lesions removed)	0.54 ± 0.03 (6) <sup>b</sup>	0.69 ± 0.08 (4)	0.62 ± 0.04 (4)	0.56 ± 0.07 (4)
Intima (lesions removed)	0.61 ± 0.03 (2)	0.73 ± 0.04 (3)	0.62 ± 0.04 (3)	0.59 ± 0.01 (3)
Fatty streaks and spots	—	0.87 ± 0.01 (3)	0.84 ± 0.03 (3)	0.77 ± 0.03 (2)
Plaques	—	—	0.61 ± 0.05 (5)	0.30 ± 0.08 (4)
Atheromas	—	—	—	0.15 ± 0.02 (2)
Ulcerated lesions	—	—	—	0.02 ± 0.01 (3)

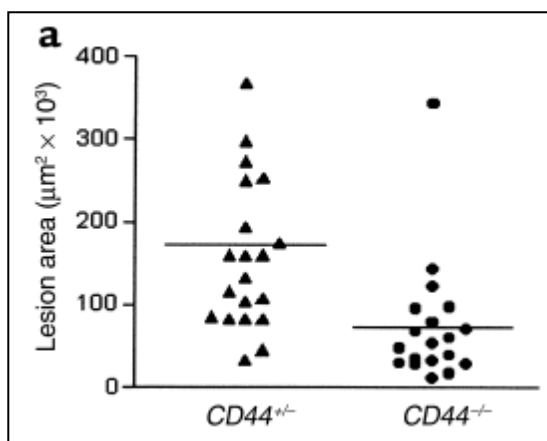
<sup>a</sup> *i.e.*, heparitin sulphate (HS) plus chondroitin sulphate-B (CSA-B).  
<sup>b</sup> Standard deviation and number of pools analyzed.

**Εικόνα 15:** Μεταβολές στη σύσταση της θειικής ηπαράνης και της θειικής χονδροϊιτινής Β κατά την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης (Klynstra et al., 1967).

Σε μελέτη των Taylor et al. βρέθηκε ότι, λόγω της φλεγμονής (όπως και ο διαβήτης και η αγγειακή αναδιαμόρφωση), το HA της μεμβράνης γίνεται διαλυτό και αντιδρά με τους υποδοχείς TLR4 (Toll-like receptor 4) των ενδοθηλιακών κυττάρων (Taylor et al., 2004). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της IL-8, που με τη σειρά του διεγείρει πλήθος διεργασιών της φλεγμονής, όπως η προσκόλληση των μονοκυττάρων, και έχει σημαντικό ρόλο στην αθηρογένεση. Το μικρού μοριακού βάρους HA προκαλεί την παραγωγή IL-6 και οδηγεί στον πολλαπλασιασμό και χημειοταξία των VSMC (κύτταρα των λείων μυικών ινών) τη διέγερση της έκφρασης των VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) (Stenvinkel et al., 2000).

Άλλος τρόπος, με τον οποίο επιδρά το HA στην αθηρωμάτωση, είναι μέσω των υποδοχέων CD44 (μεταγωγή σήματος μέσω ERK 1/ 2), που υπάρχουν σε όλα σχεδόν τα κύτταρα (πχ. T-λεμφοκύτταρα, δενδριτικά κύτταρα, μονοκύτταρα, μακροφάγα, λεία μυικά (VSMCs) και ενδοθηλιακά). Αυτό αποδεικνύεται και από μελέτη (Cuff et al., 2001), στην οποία CD44-null ποντίκια ήταν λιγότερο επιρρεπή σε αθηροσκλήρωση, λόγω της ανεπάρκειας της apoE (συνδέεται με τα υπολείμματα των χυλομικρών και της VLDL και συμμετέχει στην απομάκρυνσή τους από τη κυκλοφορία του αίματος μέσω του υποδοχέα της LDL). Βρέθηκε ότι

αυτά, σε σύγκριση με εκείνα που είχαν CD44, ανέπτυξαν σπανιότερα και σε ηπιότερο βαθμό αθηρωμάτωση (Εικόνα 16).



**Εικόνα 16:** Η ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας σε ποντίκια που έχουν ανεπάρκεια της αρρ Ε είναι μικρότερη σε ποντίκια με  $CD44^{-/-}$  από ότι σε ποντίκια με  $CD44^{+/-}$  (Toole et al., 2002).

Άλλος υποδοχέας με σημαντικό ρόλο είναι ο RHAMM, που βρίσκεται σε διάφορα κύτταρα, όπως τα μακροφάγα, οι ινοβλάστες και τα VSMCs. Ως αποτέλεσμα της ενεργοποίησης αυτού του υποδοχέα, τα κύτταρα μετακινούνται ή διαιρούνται, διεργασίες σημαντικές για τη δημιουργία και τη σταθερότητα των αθηρωματικών πλακών. Επομένως, το HA επιδρά στην αθηρογένεση με τη δράση των κυττάρων των λείων μυικών ινών των αγγείων, των ενδοθηλιακών κυττάρων και των αιμοπεταλίων, που θα αναλύσουμε αμέσως παρακάτω (Sadowitz et al., 2012).

Άλλες μελέτες έδειξαν ότι τα αιμοπετάλια, μόλις ενεργοποιηθούν, απελευθερώνουν το περιεχόμενο τους, κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες, που προάγουν την χημειοταξία και τον πολλαπλασιασμό των VSMCs και των μονοκυττάρων. Επομένως, η αυξημένη δραστηριότητα των αιμοπεταλίων έχει θετική συσχέτιση με τη σοβαρότητα της περιφερικής αθηρωματικής νόσου (Rajagopalan et al., 2007). Τα αιμοπετάλια έχουν και HYAL2, που τους επιτρέπει να διασπούν τα μεγάλα μόρια του HA σε τεμάχια, τα οποία με τη σειρά τους προκαλούν την έκκριση φλεγμονωδών χημειοκινών και κυτοκινών από τα λευκοκύτταρα, που προαναφέρθηκαν.

Από την άλλη πλευρά, τα VSMCs, που φυσιολογικά βρίσκονται στο μέσο χιτώνα των αγγείων, κατά τα πρώιμα στάδια της αθηροσκλήρυνσης μεταναστεύουν στον έσω χιτώνα και παράγουν μεγάλες ποσότητες των συστατικών του εξωκυττάριου χώρου, συμπεριλαμβανομένου και του HA. Αυτό λειτουργεί ως μέσο δέσμευσης και μεταφοράς των λεμφοκυττάρων, που ακολουθούν σε επόμενο στάδιο της αθηρογένεσης. Το ίδιο αποτέλεσμα έχει και η αλλαγή στη σύσταση της εξωκυττάριας ουσίας. Ειδικότερα, τα μακροφάγα και τα T λεμφοκύτταρα διασχίζουν το στρώμα στις περιοχές του τραυματισμού και συσσωρεύονται στο διάμεσο χώρο του τοιχώματος του αγγείου, δημιουργώντας έναν αρχικό πυρήνα της αθηρωματικής πλάκας. Το HA είναι ένας κρίσιμος μεσολαβητής αυτών των αλληλεπιδράσεων.

Με βάση τα παραπάνω, προκύπτει ότι η αναστολή της σύνθεσης HA από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων και η επακόλουθη διαταραχή του γλυκοκάλυκα, πιθανότατα να είναι ο υποκείμενος μηχανισμός των προθρομβωτικών και προφλεγμονωδών φαινομένων σε αρρΕ-ανεπαρκή ποντίκια.

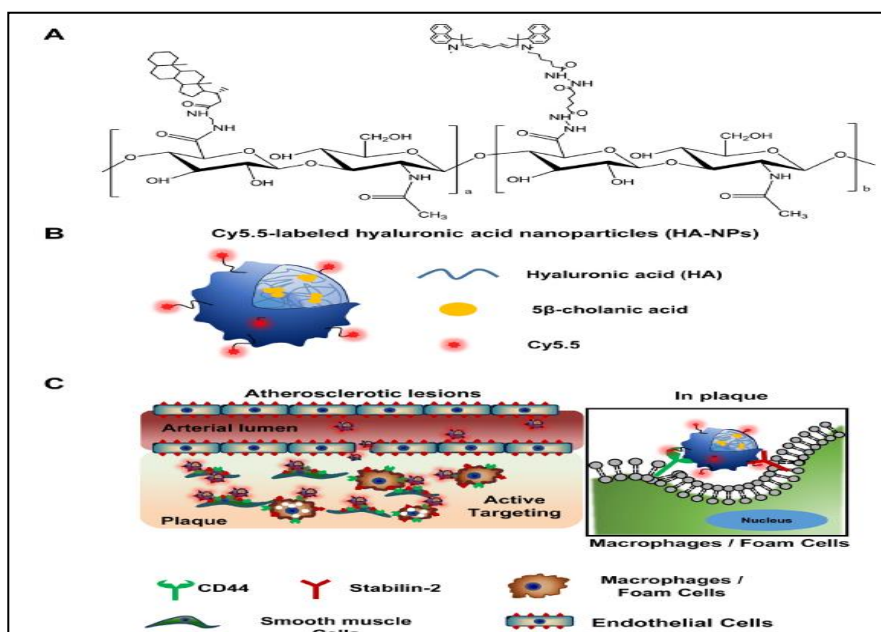
Η μελέτη των (Grandoch et al., 2013) έδειξε ότι η διέγερση των ενζύμων HAS 1-3 και, επομένως, της παραγωγής HA αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων του τοιχώματος των αγγείων (βασικού συστατικού του ινώδους καλύματος της αθηροσκληρωτικής πλάκας) και τη μετανάστευση και προσκόλληση των μονοκυττάρων.

Επίσης, αναλύοντας αρτηρίες από ενήλικες και νεογνά (Levesque et al., 1994) διαπιστώθηκε ότι κατά τα πρώτα στάδια των αθηρωματικών αλλοιώσεων υπάρχει διάχυτη πάχυνση του έσω χιτώνα και συνδέεται με μια ισχυρή έκφραση του HA γύρω από τα αφρώδη κύτταρα. Θεωρείται ότι αυτό παράγεται από τα λεία μυϊκά κύτταρα, τα ενδοθηλιακά και τους ινοβλάστες.

Συνοψίζοντας, κατανοούμε ότι το HA είναι παρόν, τόσο σε πρώιμα, όσο και σε μεταγενέστερα στάδια της αθηρωμάτωσης. Βέβαια, το να τεκμηριωθεί η συμμετοχή του HA στην πρώιμη φάση της ανθρώπινης αθηροσκλήρωσης είναι δύσκολο, αφού αυτή η φάση είναι ασυμπτωματική. Δεδομένα προκύπτουν από μελέτες ζώων. Το HA αυξάνεται δραματικά στις αρχές της πειραματικής αγγειακής βλάβης, ιδιαίτερα γύρω από τα πολλαπλασιαζόμενα λεία μυϊκά κύτταρα. Συχνά,

οι αλλοιώσεις αυτές συνοδεύονται από αυξήσεις σε μόρια, όπως η βερσικάνη, TSG-6 και CD44. Οι αγγειακές βλάβες χαρακτηρίζονται και από την παρουσία φλεγμονωδών κυττάρων, όπως τα μακροφάγα και τα λεμφοκύτταρα. Η μετακίνηση των λευκοκυττάρων από το αίμα στο αγγειακό τοίχωμα γίνεται με υποδοχείς του HA, που είναι αγκυροβολημένοι στην επιφάνεια του ενδοθηλίου, όπως ο CD44 ή ο RHAMM. Το HA βοηθά και στη συγκράτηση αυτών των κυττάρων. Στην πραγματικότητα, οι πρώτες μελέτες εντόπισαν το HA ως παράγοντα συγκόλλησης των μακροφάγων. Αργότερα αποδείχτηκε ότι η ενεργοποίησή τους πραγματοποιείται από το HA.

Επιχειρώντας να εκμεταλλευτούν τις παραπάνω ιδιότητες του HA, όπως η υπερέκφραση των υποδοχέων του HA, CD44 και stabilin-2 στις αθηρωματικές πλάκες, αναπτύχθηκε μεθοδολογία σήμανσης των πλακών αυτών (Lee et al., 2015). Σύμφωνα με αυτή, φθορίζοντα νανοσωματίδια HA προσλαμβάνονται από τους υποδοχείς και σημαίνουν τις αθηρωματικές πλάκες. Έχει αποδειχτεί ότι η σήμανση είναι πιο έντονη στις αθηρωματικές αλλοιώσεις στο τοίχωμα των αγγείων ποντικών με ανεπάρκεια apoE, από ότι στα φυσιολογικά τους αγγεία. Ο μηχανισμός αυτός περιγράφεται στην εικόνα που ακολουθεί (Εικόνα 17).



**Εικόνα 17:** Ανάπτυξη των νανοσωματιδίων υαλουρονικού οξέος (HA-NPS) για τη στόχευση της αθηροσκλήρυνσης. (A) Χημική δομή (B) Εικονογράφηση του HA- NPS. (C) Σχηματική απεικόνιση των ενεργών στόχων στην αρτηριοσκλήρυνση, HA- NPS (Lee et al., 2015).

Για την ανάπτυξη της αθηρωμάτωσης, είναι σημαντικός ο ρόλος της υπεργλυκαιμίας και της αύξησης των λιπιδίων του αίματος. Παρακάτω θα περιγραφούν μελέτες, που συσχέτισαν την υπεργλυκαιμία και τη δυσλιπιδαιμία με τις μεταβολές του HA.

Η υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης διεγείρει τη σύνθεση HA, μέσω της αυξημένης δραστηριότητας των συνθετασών του HA, HAS 1,2 και 3 (Sainio et al., 2010).

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε αρουραίους, δόθηκε στα ζώα υπερλιπιδαιμική διαίτα (Tammi et al., 1979). Στη συνέχεια, απομονώθηκαν και μετρήθηκαν γλυκοζαμινογλυκάνες από τον έσω και μέσο χιτώνα της αορτή (Εικόνα 18). Η διαίτα λιπιδίων προκάλεσε ταχεία αύξηση στη συγκέντρωση των γλυκοζαμινογλυκανών. Αυτή η έγκαιρη αντίδραση φαίνεται να είναι μάλλον ειδική για τις θειικές γλυκοζαμινογλυκάνες, διότι οι συγκεντρώσεις του υαλουρονικού οξέος, της ολικής χοληστερόλης και του κολλαγόνου στην αορτή δεν αυξήθηκαν σημαντικά. Δεν υπήρχαν ενδείξεις μακροσκοπικών βλαβών αθηροσκλήρωσης, ανιχνεύσιμες ακόμη και μετά από μεγαλύτερες περιόδους σίτισης. Θεωρήθηκε λοιπόν, ότι η πρόωμη μεταβολή των γλυκοζαμινογλυκανών λόγω της διαίτας αντικατοπτρίζει κάποιο είδος ομοιοστατικής ρύθμισης και όχι μια παθολογική συσσώρευση. Αυτό υποστηρίζεται από την ταχεία αναστρεψιμότητα της αύξησης των GAGs, όταν η τυπική εργαστηριακή διαίτα αποκαταστάθηκε. Επίσης, φάνηκε ότι η μακροχρόνια αθηρογόνος διατροφή προκαλεί μείωση της συγκέντρωσης των αορτικών θειικών γλυκοζαμινογλυκανών, ενώ η βραχυχρόνια προκαλεί αύξηση. Έτσι, η αυξημένη συγκέντρωση των θειωμένων γλυκοζαμινογλυκανών στο αρτηριακό τοίχωμα δεν είναι απαραίτητως χαρακτηριστικό μιας ήδη αθηροσκληρωτικής βλάβης, αλλά ίσως κάνει το φυσιολογικό ιστό πιο ευαίσθητο στην ασθένεια. Αυτή η μελέτη είχε τα ίδια αποτελέσματα με προηγούμενη (Ehrlich and Murray, 1978), που επίσης έδειχνε ότι η σύνθεση θειωμένων πρωτεογλυκανών από καλλιιεργημένα λεία μυϊκά κύτταρα από αορτή κουνελιού διεγέρθηκε με αύξηση της LDL στο μέσο ανάπτυξης και αναστάθηκε από την αύξηση της HDL. Επιπλέον, βρέθηκε 'τι η υψηλή συγκέντρωση HDL μπορεί να αναστείλει την επιβλαβή κατακρήμνιση συμπλόκων GAGs- LDL ή VLDL (που εμφανίζονται σε πρώιμα στάδια της



αθηρογένεσης), μειώνοντας την ποσότητα των θειικών GAGs και έχοντας προστατευτικό χαρακτήρα.

Parameter	1 week		22 weeks	
	Experimental (5)	Control (5)	Experimental (4)	Control (4)
Dry defatted weight	3.98 ± 0.04	3.82 ± 0.11	4.35 ± 0.21	3.80 ± 0.08
Collagen	243 ± 8	245 ± 10	262 ± 5	261 ± 1
Cholesterol	4.64 ± 0.21*	5.38 ± 0.11	6.76 ± 0.98*	5.49 ± 0.12
Total GAGs (uronic acid)	2.05 ± 0.10	1.62 ± 0.16	1.90 ± 0.29	1.24 ± 0.06
Total GAGs (hexosamine)	1.69 ± 0.06	1.49 ± 0.09	1.72 ± 0.23	1.19 ± 0.13
Hyaluronic acid (hexosamine)	0.59 ± 0.04	0.63 ± 0.04	0.56 ± 0.07	0.49 ± 0.08
Sulphated GAGs (hexosamine)	1.10 ± 0.06*	0.86 ± 0.06	1.16 ± 0.17*	0.71 ± 0.05

\* P < 0.05, control aortas as the reference.

**Εικόνα 18: Συγκέντρωση γλυκοζαμινογλυκανών στην αορτή κουνελιών ανάλογα με την ημέρα από την έναρξη υπερλιπιδαιμικής διαίτας (Tammi et al., 1979).**

Ανάλογη μελέτη προσδιόρισε τις μεταβολές, που έγιναν στη σύνθεση των γλυκοζαμινογλυκανών στην αορτή τους, ανάλογα με τη διαίτα που ελάμβαναν (κανονική ή αθηρογόνο) και την ταυτόχρονη χορήγηση υψηλής ή χαμηλής δόσης ασκορβικού οξέος. Διαπιστώθηκε ότι, στην ομάδα με την αθηρογόνο διατροφή, η χοληστερόλη ορού και ήπατος δεν αυξήθηκε,

το υαλουρονικό οξύ της αορτής δεν επηρεάστηκε, αλλά όλες οι θειικές γλυκοζαμινογλυκάνες της αορτής αυξήθηκαν στα ζώα, που ελάμβαναν υψηλή δόση, σε σύγκριση με εκείνη που ελάμβαναν τη χαμηλή δόση ασκορβικού οξέος. Στο ήπαρ όλες οι θειικές γλυκοζαμινογλυκάνες αυξήθηκαν, ενώ το υαλουρονικό οξύ μειώθηκε σε αμφότερες τις ομάδες με κανονική και αθηρογόνο διατροφή, που ελάμβαναν την υψηλή παρά τη χαμηλή δόση του ασκορβικού οξέος (Nambisan and Kurup, 1975).

Στη μελέτη των Sparks et al. (Sparks et al., 1986) έγινε προσπάθεια να αξιολογηθούν οι πρώιμες αλλαγές των λιπιδίων και γλυκοζαμινογλυκανών, μετά χορήγηση αθηρογόνου διατροφής με χοληστερόλη σε ποντίκια, που έπαιρναν και υψηλές δόσεις είτε σακχαρόζης είτε λακτόζης. Η διαίτα με σακχαρόζη οδήγησε συντομότερα στην ανάπτυξη υπερχοληστερολαιμίας (αύξηση ολικής χοληστερόλης, LDL, VLDL) και αθηρωμάτωσης, λόγω της μείωσης των

υποδοχέων της LDL στο ήπαρ, τη μείωση της εκκαθάρισης της από το πλάσμα και την επαγωγή της σύνθεσης της VLDL στο ήπαρ. Αύξηση παρατηρήθηκε και στο τοίχωμα της αορτής. Θετική συσχέτιση με αυτή τη μεταβολή παρατηρήθηκε με το σύνολο των γλυκοζαμινογλυκανών και ιδιαίτερα με το HA του τοιχώματος της αορτής (Εικόνα 19).

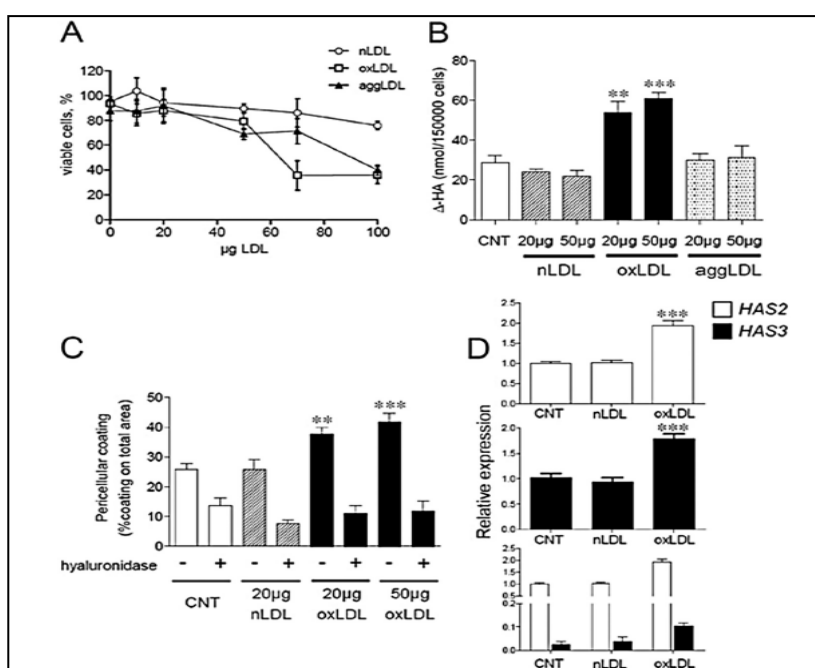
Y	X	Slope intercept				P
		r	b	a	df	
Cholesteryl ester	vs Hyaluronic acid	0.70	4.2	0.84	8	0.05
Cholesterol	vs Total glycosaminoglycans	0.86	2.48	-1.57	8	0.01
	vs Hyaluronic acid	0.88	1.05	-1.97	8	0.001
	vs Dermatan sulfate	0.87	0.45	-0.53	8	0.001
	vs Hyaluronic acid and chondroitin sulfate	0.91	1.50	-1.34	8	0.001

**Εικόνα 19: Σχέση μεταξύ των γλυκοζαμινογλυκανών και της χοληστερόλης του τοιχώματος της αορτής (Sparks et al., 1986).**

Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος, αυξάνουν το HA της αορτής και μπορεί να προδιαθέτουν σε συσσώρευση λιπιδίων, αν συμπίπτουν με υπερλιποπρωτεϊναιμία. Είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον ότι τα συμπλέγματα GAG-λιποπρωτεΐνης απομονώθηκαν από αορτές υπερχοληστερολαιμικών κουνελιών. Αυτά αποτελούνταν από VLDL και, εκτός από την θειική ηπαράνη, περιείχαν σε μεγάλο βαθμό HA και CS (Mawhinney et al., 1978, Srinivasan et al., 1980). Η δημιουργία αυτών των συμπλεγμάτων οφείλεται στην ανάπτυξη ιοντικών δεσμών μεταξύ των αρνητικά φορτισμένων γλυκοζαμινογλυκανών και των θετικών μορίων των λιποπρωτεϊνών (ελεύθερες αμινομάδες σε λιποπρωτεΐνες, που προέρχονται από υπολείμματα λυσίνης, τα αμινοτελικά άκρα των πολυπεπτιδικών αλυσίδων, τη φωσφατιδυλοσερίνη και τη φωσφατιδυλοεθаноλαμίνη) (Iverius, 1972).

Έχει επίσης, διαπιστωθεί ότι η οξειδωμένη LDL (OxLDL) και το υψηλό επίπεδο του HA είναι σημαντικοί παράγοντες ενεργοποίησης της διαδικασίας αθηροσκλήρυνσης. Το φορτίο των αορτικών oxLDL προκαλεί στα ανθρώπινα λεία μυϊκά κύτταρα (VSMC), μέσω του υποδοχέα LOX-1 (Lectin-like oxidized low-density lipoprotein (LDL) receptor-1), υπερέκφραση της HAS2 και εναπόθεση HA (Εικόνα 20) στον

περικυτταρικό χώρο (Viola et al., 2013). Η κατακράτηση της LDL στο υποενδοθηλιακό επίπεδο είναι ένα από τα πρώτα γεγονότα ενεργοποίησης της διαδικασίας αθηροσκλήρυνσης, με την ταυτόχρονη συμμετοχή των λείων μυϊκών κυττάρων για την έναρξη και εξέλιξη της νόσου. Μαζί με τα μακροφάγα και την υπερφόρτωση με χοληστερόλη (παγίδευση στο αρτηριακό τοίχωμα και τροποποίηση-οξειδωση), συμβάλλουν στο σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων. Τα λεία μυϊκά κύτταρα συνθέτουν HA, που ρυθμίζει ποικιλία διεργασιών, όπως είδαμε.



**Εικόνα 20: Επίδραση διαφορετικών σωματιδίων LDL στη βιωσιμότητα των λείων μυϊκών κυττάρων (AoSMC), το HA, την έκκριση HA και την έκφραση HA των AoSMC.**

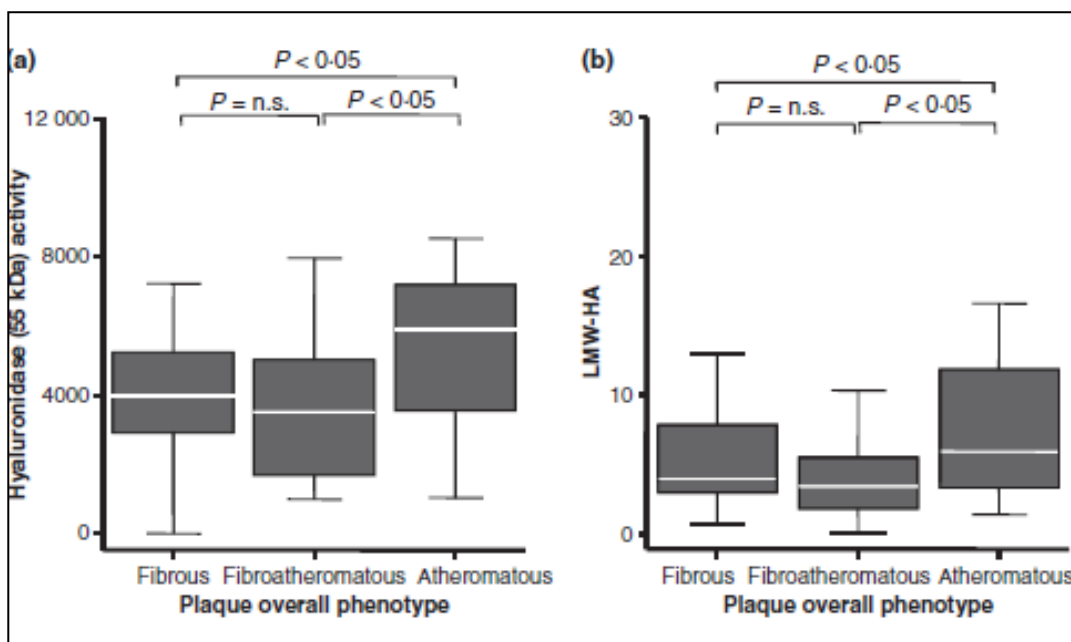
A: βιωσιμότητα των AoSMC μετά από 48 ώρες αγωγής με αυξανόμενες ποσότητες nLDL (άδειοι κύκλοι), oxLDL (κενά τετράγωνα), και aggLDL (γεμάτα τρίγωνα), που εκτιμήθηκε με χρώση trypan blue και εκφράζεται ως ποσοστό του συνολικού αριθμού των κυττάρων. B: AoSMC υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με διαφορετικές ποσότητες (20 και 50µg της LDL πρωτεϊνών / ml) του nLDL (ριγέ μπάρες), oxLDL (γεμάτες μπάρες), ή aggLDL (διακεκομμένες μπάρες) για 48 ώρες σε πλήρες μέσο. Μετά συλλέχθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν με HPLC οι γλυκοζαμινογλυκάνες. Τα ποσά του HA φαίνονται σε σχέση με τους μάρτυρες (λευκή μπάρα). Οι μέσες τιμές διαφέρουν στατιστικά σημαντικά \*\*,  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ . C: Ποσοτικοποίηση της επίστρωσης του HA περικυτταρικά μετά από 24

ώρες αγωγής με nLDL και oxLDL. Οι μέσες τιμές διαφέρουν στατιστικά σημαντικά \*\*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ ., D: Ποσοτική ανάλυση με RT PCR της έκφρασης HA των AoSMC με αγωγή ή χωρίς (CNT) 20; g του nLDL (ριγέ ράβδοι) ή oxLDL (γεμάτη μπάρα). Το RNA από τα AoSMC αναλύθηκε για τη HAS2 (άδεια μπάρα) και τη HAS3 (γεμάτη μπάρα). Το αποτέλεσμα εκφράζονται ως σχετική έκφραση των γονιδίων HAS3 και HAS2 στις αγωγές σε σχέση με το μη επεξεργασμένο AoSMC (CNT). Το κατώτερο πάνελ αντιπροσωπεύει την σχετική έκφραση HAS3 σε σχέση με HAS2 για κάθε γονίδιο, σε σχέση με το CNT. Οι μέσες τιμές των τριών ανεξάρτητων πειραμάτων διαφέρουν στατιστικά σημαντικά \*\*,  $p < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0,001$  (Viola et al., 2013).

Σημαντικός είναι ο ρόλος του HA και στην επαναστένωση των αγγείων μετά την τοποθέτηση stent. Ειδικότερα, το HA αναστέλλει την προσκόλληση και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η επαναστένωση του αγγείου. Σε πείραμα, που έγινε σε μπαμπούνους (Verheye et al., 2000), τοποθετήθηκε stent από ανοξείδωτο χάλυβα επιστρωμένο με HA. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων ελέγχθηκε με  $^{111}\text{In}$ -ραδιοσημασμένα αιμοπετάλια και με συνεχή απεικόνιση με γ-κάμερα. Η HA επίστρωση προκάλεσε σημαντική μείωση των αιμοπεταλίων στα stents. Έτσι, με την επικάλυψη από HA μειώνεται σημαντικά ο σχηματισμός θρόμβου αιμοπεταλίων σε stents και ίσως αυτό αποτελεί και μια μελλοντική θεραπεία. Επίσης, το HA αλληλεπιδρά επιφανειακά με λιπίδια LDL, προστατευοντάς τα από τη δράση οξειδωτικών παραγόντων (Schnitzer et al., 2000).

Τέλος, θα πρέπει να αναφερθούμε στο ρόλο του HA στη σταθερότητα της αθηρωματικής πλάκας. Η διάσπαση του HA σε χαμηλού μοριακού βάρους θραύσματα (LMW-HA) συνδέεται με τη φλεγμονή και τη δράση μεταλλοπρωτεασών (MMP-9). Σε μελέτη των Bot et al. αναλύθηκαν οι αθηρωματικές και οι παρακείμενες ινώδεις πλάκες από καρωτίδες (Bot et al., 2010). Αναλύθηκαν τα χαρακτηριστικά της πλάκας όπως: πυρήνας λιπιδίου, μακροφάγα, κολλαγόνο, λεία μυϊκά κύτταρα και η ποσότητα του θρόμβου, που τυχόν υπήρχε. Επίσης, αναλύθηκαν η δραστηριότητα της υαλουρονιδάσης, τα LMW-HA, οι μεταλλοπρωτεάσες και οι υποδοχείς CD44 και VEGF-A (Vascular endothelial growth factor A). Βρέθηκε ότι η δραστηριότητα της υαλουρονιδάσης, των LMW-HA και τα επίπεδα CD44 ήταν αυξημένα σε αθηρωματικές πλάκες, σε

σύγκριση με τις ινώδεις πλάκες (Εικόνα 21). Το σύνολο του υαλουρονικού οξέος συσχετίστηκε με την αστάθεια της πλάκας. Η δραστηριότητα των MMP-9 συσχετίστηκε με τους CD44, την υαλουρονιδάση και την έκφραση LMW-HA και οι CD44 συσχετίστηκαν θετικά με τον αγγειογόνο παράγοντα VEGF-A. Επομένως, κατανοούμε, ότι η αύξηση του μεταβολισμού του HA και τα αυξημένα επίπεδα CD44 συνδέονται με την αποσταθεροποίηση της πλάκας.



**Εικόνα 21:** Παρατηρείται (a) σημαντικά αυξημένη δραστηριότητα της υαλουοδινάσης 55 kD (HYAL2) στις αθηρωματικές πλάκες, σε σύγκριση με τις ινώδεις και ινο-αθηρωματικές πλάκες. (b) Ομοίως, παρατηρείται αυξημένη έκφραση των LMW-HA στις αθηρωματικές πλάκες, σε σύγκριση με τις ινο-αθηρωματικές και ινώδεις πλάκες. Τα τριτημώρια κατανέμονται ισομερώς. \* =  $P < 0.05$  (Bot et al., 2010).

Επειδή η πληθώρα των πληροφοριών, που εμπλέκουν το HA στη δημιουργία αθηρωμάτωσης και σταθερότητας της αθηρωματικής πλάκας, σε διάφορα στάδια και καταστάσεις, αναφέρονται κυρίως σε ιστούς, προέκυψε το ερώτημα της πιθανής συσχέτισης του HA του ορού με την ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας και η μελλοντική του χρήση ως δείκτη καρδιαγγειακού κινδύνου, σε ανθρώπους.

### 3.7 ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ ΚΑΙ ΔΙΑΒΗΤΗΣ

Σε μελέτη με διαβητικούς ασθενείς, που λάμβαναν αγωγή με ή χωρίς από του στόματος υπογλυκαιμικό φάρμακο ή / και ινσουλίνη, βρέθηκε ότι το HA ορού ήταν σημαντικά υψηλότερο σε διαβητικούς ασθενείς από ό, τι στα φυσιολογικά

άτομα. Σε διαβητικούς ασθενείς, η συγκέντρωση του HA του ορού συσχετίστηκε θετικά σημαντικά με τη hs-CRP. Μάλιστα, έτεινε να είναι υψηλότερη σε διαβητικούς ασθενείς με επιπλοκές, από ότι σε εκείνους, που δεν είχαν τέτοιες επιπλοκές (Mine et al., 2006).

### 3.8 ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ ΩΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

Το HA είναι ζωτικής σημασίας για τη δομική και λειτουργική ακεραιότητα του αρθρικού χόνδρου και διατηρεί τη γλοιότητα του αρθρικού υγρού. Με την ενεργοποίηση φλεγμονωδών αντιδράσεων, κυτοκίνες όπως, η ιντερλευκίνη (IL)-1 και ο παράγοντας νέκρωσης όγκου (TNF)-α προκαλούν την παραγωγή HA, που με τη σειρά του ενεργοποιεί την παραγωγή και τη δραστηριότητα των μεταλλοπρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας. Μάλιστα, το HA θεωρείται δείκτης υμενίτιδας της άρθρωσης, αυξάνεται στον ορό ασθενών με οστεοαρθρίτιδα και κυρίως διαβρωτικής μορφής και είναι προγνωστικός παράγοντας για την περαιτέρω ανάπτυξη της νόσου, δηλαδή συσχετίζεται με τις μορφολογικές αλλαγές και την ακτινολογική εικόνα (Filkova et al., 2009). Παρόμοια είναι και η εικόνα σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα (Poole et al., 1990). Μελετώντας το HA σε ιεροκλυσματικά υγρά και ορού στο σύνδρομο Sjögren's, διαπιστώνουμε πως συσχετίζεται θετικά με το βαθμό φλεγμονής και με δείκτες όπως η CRP (Tishler et al., 1999). Άλλη συσχέτιση του HA με τη φλεγμονή είναι: η διέγερση TLR4 (Toll-like receptor 4) υποδοχέων των λείων μυικών κυττάρων, των επιθηλιακών κυττάρων των αεραγωγών και του αγγειακού ενδοθηλίου από το υαλουρονικό οξύ (και από το λιποπολυσακχαρίτη (LPS), αναπνευστικό συγκυτιακό ιό, πρωτεΐνες θερμικού σοκ, ινωδοκίνη, ινωδογόνο, οξειδωμένα χαμηλής-πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (LDL)) για την παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, πολλές από τις οποίες εμπλέκονται στην αθηρογένεση (Kolek et al., 2004). Το HA επίσης, εξετάζεται ως προγνωστικός παράγοντας μαζί με τη CRP και την IL6 για την επιβίωση σε HIV λοίμωξη. Όσο αυξημένη είναι η τιμή του HA πριν την έναρξη της θεραπείας, τόσο αυξάνεται και η πιθανότητα θανάτου (Boulware et al., 2011).

Πιο σημαντική βέβαια θετική συσχέτιση του HA ορού παρατηρήθηκε με την ίνωση του ήπατος σε ηπατίτιδα C (Ninomiya et al., 1998). Ομοίως, συσχετίζεται

και με τη μελλοντική εμφάνιση ηπατικού κώματος σε ιογενή ηπατίτιδα (Peters et al., 2013).

Τέλος, το HA του ορού είναι αυξημένο μαζί με την IL-8 και τον TNF- $\alpha$  σε ασθενείς με μη αλκοολική λιπώδη ηπατική κίρρωση. Τα επίπεδα ορού του HA μπορεί να είναι ένας χρήσιμος δείκτης για την παρακολούθηση της μετατροπής από ίνωση σε κίρρωση του ήπατος (Bahcecioglu et al., 2005).

### 3.9 ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ ΚΑΙ C- ΑΝΤΙΔΡΩΣΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ (hs-CRP)

Το HA συσχετίζεται θετικά με τη hs-CRP σε ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα (Turan et al., 2007). Όμοια συσχετίζεται και στη ρευματοειδή αρθρίτιδα και θεωρείται πιο ευαίσθητος δείκτης ενεργότητας της νόσου (Bahcecioglu et al., 2005).

Σε μια μελέτη διαβητικοί ασθενείς, που λάμβαναν αγωγή με ή χωρίς από του στόματος υπογλυκαιμικό παράγοντα ή / και ινσουλίνη, βρέθηκε ότι το HA ορού ήταν σημαντικά υψηλότερο σε διαβητικούς ασθενείς από ό, τι στα φυσιολογικά άτομα. Σε διαβητικούς ασθενείς, η συγκέντρωση του HA του ορού συσχετίστηκε σημαντικά με τη hs-CRP και έτεινε να είναι υψηλότερη σε διαβητικούς ασθενείς με επιπλοκές από ότι σε εκείνους που δεν έχουν τέτοιες επιπλοκές (Mine et al., 2006).

Τέλος, στη μελέτη των Devaraj et al. επωάστηκαν με CRP σε διαφορετικές αυξανόμενες συγκεντρώσεις ανθρώπινα αορτικά ενδοθηλιακά κύτταρα (HAECs). Για in vivo πειράματα, η ανθρώπινη CRP ενέθηκε σε αρουραίους και ανθρώπινη λευκωματίνη ορού χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας. Το HA εξετάστηκε στον υπερκείμενο των HAECs χώρο και βρέθηκε δόσοεξαρτώμενη αύξησή του in vitro και in vivo. Υπήρξε επίσης, στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ HA και προσκόλλησης μονοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων. Συμπερασματικά, καταλήγουμε ότι η CRP τροποποιεί τη λειτουργία του γλυκοκάλυκα με αποτέλεσμα την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (Devaraj et al., 2009).

### 3.10 ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ ΚΑΙ C- ΑΝΤΙΔΡΩΣΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ (hs-CRP)

Από προοπτική μελέτη μεταξύ 28.263 φαινομενικά υγιών μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με μέση περίοδο παρακολούθησης μεγαλύτερη των τριών ετών για την αξιολόγηση του κινδύνου των καρδιαγγειακών συμβαμάτων, διαπιστώθηκε ότι η hs-CRP ήταν ο ισχυρότερος προγνωστικός δείκτης του κινδύνου της καρδιαγγειακών εκδηλώσεων (Ridker et al., 2000).

Σε άλλη μελέτη αποδείχθηκε πως η hs-CRP παρέχει πρόσθετες πληροφορίες πρόγνωσης σε σχέση με τα τυποποιημένα μέτρα λιπιδίων. Διαπιστώθηκε ότι, η hs-CRP σε συνδυασμό με τον έλεγχο διαλογής της υπερλιπιδαιμίας (μέτρηση χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων, HDL, LDL) είναι βελτιωμένη μέθοδος για την ανίχνευση της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης (Ridker et al., 2001).

Ο σημαντικός ρόλος της CRP επιβεβαιώνεται και με την παρακολούθηση αρχικά υγιών μεσήλικων ανδρών για τη πιθανή εκδήλωση αγγειακής νόσου. Διαπιστώνεται ότι, συμμετέχοντες με χαμηλά επίπεδα φλεγμονής, μέσω του προσδιορισμού της CRP, εμφάνισαν θρομβοεμβολικά επεισόδια. Έτσι, η CRP είναι ευαίσθητος δείκτης συστηματικής φλεγμονής, με κίνδυνο στεφανιαίας νόσου (Koenig et al., 1999).

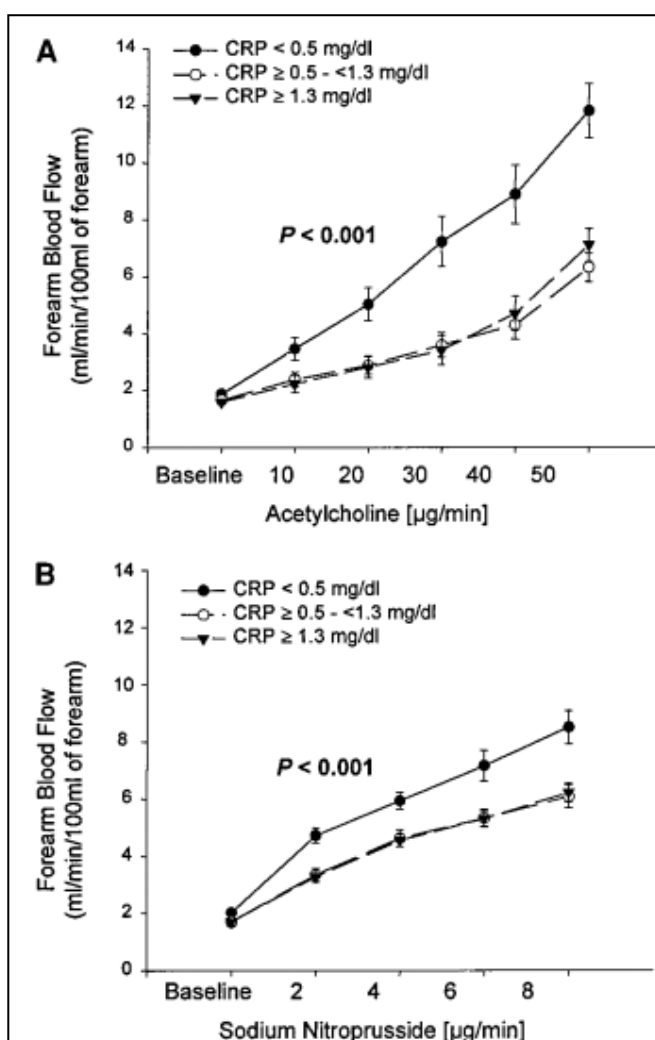
Τα επίπεδα της CRP, έχει δειχθεί, πως βοηθούν στην πρόβλεψη επαναλαμβανόμενων ισχαιμικών επεισοδίων και θανάτου σε ασθενείς με σταθερή και ασταθή στηθάγχη. Από αυτά τα κλινικά δεδομένα διαπιστώνεται ότι η αθηρωμάτωση, εκτός του ότι είναι μια ασθένεια συσσώρευσης λιπιδίων, είναι και μια χρόνια φλεγμονώδης διαδικασία. Η CRP φαίνεται να προσθέτει πληροφορία στον υπολογισμό του κινδύνου με το Framingham score και στην ύπαρξη ή όχι μεταβολικού συνδρόμου (Ridker, 2003, Lindahl et al., 2000).

Σε πρόσφατες μελέτες φαίνεται ότι η CRP μπορεί να έχει άμεσες επιπτώσεις στις προφλεγμονώδεις καταστάσεις, που σχετίζονται με την αθηρωμάτωση. Για παράδειγμα η παραγωγή της ιντερλευκίνης-6 (IL-6) αυξάνεται σε απόκριση στην CRP. Μάλιστα, αυτή η απόκριση αναστέλλεται με δόσο-εξαρτώμενο τρόπο από τη σιμβαστατίνη. Αυτό είναι ενδιαφέρον στη σύνδεση της CRP με την καρδιαγγειακή νόσο. Με βάση αυτά τα στοιχεία, φαίνεται η CRP να μην είναι



απλά δείκτης φλεγμονής, αλλά και αιτία της καρδιαγγειακής νόσου (Li and Fang, 2004).

Τέλος, φαίνεται πως τα επίπεδα CRP σχετίζονται με σημαντική δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, στη συστηματική αγγειακή αντιδραστικότητα σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Μάλιστα, η επαναφορά των τιμών της CRP σε φυσιολογικά επίπεδα συνδέεται με σημαντική βελτίωση της λειτουργίας του ενδοθηλίου, όπως μετράται με τη ροή αίματος στην αρτηρία του αντιβράχιου (Εικόνα 22). Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν την άποψη ότι οι αλλαγές στη λειτουργία του ενδοθηλίου μπορεί να συνδέουν τη συστηματική φλεγμονή με τα ισχαιμικά επεισόδια (Fichtlscherer et al., 2000).



**Εικόνα 22** : Η αιματική ροή στο αντιβράχιο σε δοσοεξαρτώμενες καμπύλες με τη δράση ακετυλοχολίνης (A) και νιτροπρουσίδης (B) σύμφωνα με τα τριτημόρια των επιπέδων της hs-CRP (mean ± SEM).

## **II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

---

Σκοπός της μελέτης ήταν:

- Να μελετηθούν οι ιδιότητες του υαλουρονικού οξέος ως μεταβλητής στο γενικό πληθυσμό και οι πιθανές συσχετίσεις του με ατομικά χαρακτηριστικά και βιοχημικούς δείκτες.
- Να διερευνήσει την πιθανή συσχέτιση του καρδιαγγειακού κινδύνου με την τιμή του υαλουρονικού οξέος του ορού.

Και δευτερευόντως:

- Να διερευνήσει την πιθανή συσχέτιση της δυσλιπιδαιμίας με την τιμή του υαλουρονικού οξέος του ορού.
- Να διερευνήσει την πιθανή συσχέτιση της τιμή της ολικής χοληστερόλης με την τιμή του υαλουρονικού οξέος του ορού.
- Να διερευνήσει την πιθανή συσχέτιση της τιμή της LDL και HDL χοληστερόλης με την τιμή του υαλουρονικού οξέος του ορού.  
Να διερευνήσει την πιθανή συσχέτιση της τιμή των τριγλυκεριδίων με την τιμή του υαλουρονικού οξέος του ορού.
- Να διερευνήσει την πιθανή συσχέτιση της τιμή της γλυκόζης με την τιμή του υαλουρονικού οξέος του ορού.
- Να διερευνήσει την πιθανή συσχέτιση της παρουσίας σακχαρώδη διαβήτη με την τιμή του υαλουρονικού οξέος του ορού.
- Να διερευνήσει την πιθανή συσχέτιση του μεταβολικού συνδρόμου με την τιμή του υαλουρονικού οξέος του ορού.
- Να διερευνήσει την πιθανή συσχέτιση των σωματομετρικών χαρακτηριστικών του πληθυσμού με την τιμή του υαλουρονικού οξέος του ορού.

- Να διερευνήσει την πιθανή συσχέτιση των χαρακτηριστικών του πληθυσμού (ηλικία, φύλο) με την τιμή του υαλουρονικού οξέος του ορού.

## **ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

---

### **2.1 ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΕΣ:**

Από χωριό της Ρόδου συλλέχτηκαν κατά τυχαίο τρόπο 1000 εθελοντές κάτοικοι ηλικίας 35-70 ετών. Κάθε συμμετοχή συνοδευόταν από γραπτή συναίνεση (παράρτημα 1) του ατόμου, που λάμβανε πλήρη γνώση του σκοπού της μελέτης. Από τους συμμετέχοντες καταγράφηκε λεπτομερές ιστορικό. Σε αυτό ανέφεραν τον τόπο καταγωγής και κατοικίας, το επάγγελμα, την ηλικία, οικογενειακή κατάσταση, το ατομικό ιατρικό ιστορικό και συνήθειες όπως το κάπνισμα.

Προσδιορίζονταν σε αυτούς το ύψος και το βάρος τους για τον υπολογισμό του BMI (Body Mass Index) και την περίμετρο μέσης και γλουτών για τον υπολογισμό του WHR (Waist Hip Ratio).

Γινόταν αδρή κλινική εξέταση και μέτρηση αρτηριακής πίεσης.

Από τους συμμετέχοντες αυτούς και για τους λόγους, που αναλύθηκαν στον πρόλογο, επιλέχθησαν 200, που πληρούσαν τα κριτήρια της μελέτης.

### **2.2 ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΜΕΛΕΤΗΣ:**

Η μελέτη διήρκεσε από το Σεπτέμβριο του 2010 έως τον Ιούνιο του 2011.

### 2.3 ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ:

Οι συμμετέχοντες έπρεπε να είναι ηλικίας 35-70 ετών οποιαδήποτε φύλου. Κάθε συμμετέχοντας είχε χαμηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο σύμφωνα με το Framingham score και φυσιολογική τιμή hs-CRP.

### 2.4 ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ:

Εξαιρούνταν οι εθελοντές με γνωστό καρδιολογικό νόσημα ή κάποια άλλη κλινική εκδήλωση της αθηρωμάτωσης (αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, διαλείπουσα χωλότητα, εμβολή αγγείου). Επίσης, εξαιρούνταν όσοι είχαν άλλο σοβαρό πρόβλημα υγείας (πχ. καρκίνο). Απαραίτητη επομένως, ήταν η φυσιολογική ηπατική και νεφρική λειτουργία. Επίσης, εξαιρούνταν όσοι είχαν παθολογικές τιμές αιμοσφαιρίνης, αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων ή αιμοπεταλίων. Από φαρμακευτική αγωγή μπορούσαν να λαμβάνουν φάρμακα για την αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας ή και του σακχαρώδη διαβήτη. Οι συμμετέχοντες μπορούσαν να έχουν κάποιον ή κάποιους παράγοντες κινδύνου αθηρωμάτωσης. Όσοι συμμετέχοντες είχαν σακχαρώδη διαβήτη τύπου II δεν έπρεπε να έχουν καμία επιπλοκή από την ασθένεια (νεφρική ανεπάρκεια, νευροπάθεια, αμφιβληστροειδοπάθεια, αγγειοπάθεια).

### 2.5 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΩΝ

Σύμφωνα με τους προδιαθεσικούς παράγοντες των καρδιαγγειακών νοσημάτων οι συμμετέχοντες διακρίθηκαν σε ομάδες με ή χωρίς δυσλιπιδαιμία (Magnussen et al., 2008), σακχαρώδη διαβήτη τύπου II (Resnick and Howard, 2002, Kannel and McGee, 1979) και μεταβολικό σύνδρομο (Mottillo et al., 2010).

Ο καρδιαγγειακός κίνδυνος υπολογίστηκε με το Framingham score (D'Agostino et al., 2008, Greenland et al., 2004) και το προσδιορισμό της hs-CRP (Ridker et al., 2003, Kuoppamaki et al., 2015, Bassuk et al., 2004).

## 2.6 ΟΡΙΣΜΟΣ ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑΣ

Μετά τον προσδιορισμό των βιοχημικών δεικτών οι συμμετέχοντες κατατάχθηκαν σε δυσλιπιδαιμικούς(που είχαν διαταραχή της μεταβολικής ισορροπίας των λιπιδίων αίματος) και όχι με τα κριτήρια της Εικόνα 23 (O'Meara et al., 2004).

ΟΡΙΣΜΟΣ	ΜΕΤΡΗΣΗ	ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΝΟΣΗΜΑΤΟΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΙΝΔΥΝΟΥ*
<b>LDL ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ</b>	>100mg/dl	ΝΑΙ	≥0
	≥130 mg/dl	ΟΧΙ	≥2
	≥160 mg/dl	ΟΧΙ	<2
<b>HDL ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ</b>	<35 mg/dl	-	-
<b>ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ</b>	≥200 mg/dl	-	-
<b>ΑΝΤΙΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ</b>	-	-	-

**HDL λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας**

**LDL λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας**

**\*Παράγοντες κινδύνου καρδιαγγειακού κινδύνου: άνδρες ηλικίας άνω των 45 ετών ή γυναίκες άνω των 55 ετών, σακχαρώδης διαβήτης, κάπνισμα, HDL<35 mg/dl και οικογενειακό ιστορικό πρόωρου καρδιαγγειακού κινδύνου σε συγγενή ηλικίας κάτω των 60 ετών. Εάν η HDL≥60 mg/dl ένας παράγοντας κινδύνου διαγράφεται.**

**Εικόνα 23: Ορισμός δυσλιπιδαιμίας.**

Η δυσλιπιδαιμία εκδηλώνεται συχνά ως στεφανιαία νόσος (CHD). Σύμφωνα με τις διεθνείς εκθέσεις, η θνησιμότητα από στεφανιαία νόσο στις ανεπτυγμένες χώρες αναμένεται να φθάσει σχεδόν το 29% των γυναικών και το 48% στους άνδρες στο διάστημα 1990-2020. Τα στοιχεία αυτά εκτιμάται ότι θα αυξηθούν κατά 120% στις γυναίκες και 137% στους άνδρες (Lenfant et al., 1998) στις αναπτυσσόμενες χώρες.

## 2.7 ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ

Οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II έπαιρναν φαρμακευτική αγωγή. Δεν έπρεπε να έχουν καμία επιπλοκή από την ασθένεια (νεφρική ανεπάρκεια, νευροπάθεια, αμφιβληστροειδοπάθεια, αγγειοπάθεια).

## 2.8 ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

Σύμφωνα με τον ορισμό κατά NCEP/ ATP III 2001 (National Cholesterol Education Program Expert Panel-Adult Treatment Panel III) ένα άτομο θεωρείται ότι πάσχει από μεταβολικό σύνδρομο, όταν έχει τουλάχιστον 3 από τα ακόλουθα 5 κριτήρια:

1. Κοιλιακή παχυσαρκία: περίμετρος μέσης >102εκ. για τους άντρες και >88εκ. για τις γυναίκες.
2. Αυξημένα τριγλυκερίδια αίματος:  $\geq 150$  mg/dl.
3. Χαμηλή HDL χοληστερόλη αίματος: <40 mg/dl για τους άντρες και <50 mg/dl για τις γυναίκες.
4. Υψηλή αρτηριακή πίεση:  $\geq 130/85$ mmHg.
5. Υψηλή γλυκόζη νηστείας: >110 mg/dl.

Στη μελέτη μας 27 συμμετέχοντες είχαν μεταβολικό σύνδρομο.

## 2.9 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Ο υπολογισμός του καρδιαγγειακού κινδύνου των συμμετεχόντων γίνεται με βάση το Framingham score (Gordon et al., 1977, Kannel et al., 1961, D'Agostino et al., 2008, Castelli, 1984, Castelli et al., 1986). Ακολουθούν οι πίνακες βάσει των οποίων γίνεται ο υπολογισμός (Εικόνα 24).

**Εικόνα 24: Framingham score, υπολογισμός 10-ετούς καρδιαγγειακού κινδύνου. Υπολογισμός του αριθμού κάθε παράγοντα κινδύνου και άθροισή τους.**

**Table 28-1.** Framingham 10-year coronary heart disease risk projections. Calculate the number of points for each risk factor. Sum the total risk score and estimate the 10-year risk.

WOMEN			MEN		
Age	Points		Age	Points	
20-34	-7		20-34	-9	
35-39	-3		35-39	-4	
40-44	0		40-44	0	
45-49	3		45-49	3	
50-54	6		50-54	6	
55-59	8		55-59	8	
60-64	10		60-64	10	
65-69	12		65-69	11	
70-74	14		70-74	12	
75-79	16		75-79	13	

Total Cholesterol	Points				
	Age 20-39	Age 40-49	Age 50-59	Age 60-69	Age 70-79
<160	0	0	0	0	0
160-199	4	3	2	1	0
200-239	8	6	4	2	1
240-279	11	8	5	3	2
≥280	13	10	7	4	2

Total Cholesterol	Points				
	Age 20-39	Age 40-49	Age 50-59	Age 60-69	Age 70-79
<160	0	0	0	0	0
160-199	4	3	2	1	0
200-239	7	5	3	1	0
240-279	9	6	4	2	1
≥280	11	8	5	3	1

Age	Points				
	20-39	40-49	50-59	60-69	70-79
Nonsmoker	0	0	0	0	0
Smoker	9	7	4	2	1

Age	Points				
	20-39	40-49	50-59	60-69	70-79
Nonsmoker	0	0	0	0	0
Smoker	8	5	3	1	1

HDL (mg/dL)	Points
≥60	-1
50-59	0
40-49	1
<40	2

HDL (mg/dL)	Points
≥60	-1
50-59	0
40-49	1
<40	2

Systolic BP (mm Hg)	Points if	
	Untreated	Points if Treated
<120	0	0
120-129	1	3
130-139	2	4
140-159	3	5
≥160	4	6

Systolic BP (mm Hg)	Points if	
	Untreated	Points if Treated
<120	0	0
120-129	0	1
130-139	1	2
140-159	1	2
≥160	2	3

(continued)



**Table 28-1.** Framingham 10-year coronary heart disease risk projections. Calculate the number of points for each risk factor. Sum the total risk score and estimate the 10-year risk. (continued)

WOMEN		MEN	
Point Total	10-Year Risk %	Point Total	10-Year Risk %
<9	<1	<0	<1
9	1	0	1
10	1	1	1
11	1	2	1
12	1	3	1
13	2	4	1
14	2	5	2
15	3	6	2
16	4	7	3
17	5	8	4
18	6	9	5
19	8	10	6
20	11	11	8
21	14	12	10
22	17	13	12
23	22	14	16
24	27	15	20
≥ 25	≥ 30	16	25
		≥ 17	≥ 30

## 2.10 C- ANΤΙΔΡΩΣΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ – high sensitivity C Reactive Protein (hs-CRP)

Άλλος τρόπος εκτίμησης του καρδιαγγειακού κινδύνου αποτελεί ο προσδιορισμός της hs-CRP. Η American Heart Association (AHA) και το US Centers for Disease Control and Prevention (CDCP) έχουν καθορίσει τις ομάδες κινδύνου ως εξής:

- Χαμηλός κίνδυνος: < 1.0mg/L
- Μέσος κίνδυνος: 1.0 - 3.0mg/L
- Υψηλός κίνδυνος: > 3.0mg/L

## 2.11 ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ ΑΙΜΑΤΟΣ

Ακολουθούσε πρωινή αιμοληψία 7 ml σε νηστικό συμμετέχοντα. Τα 2ml τοποθετούνταν σε σωληνάριο με EDTA (αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ) και τα υπόλοιπα 5 ml σε απλό σωληνάριο.

Το αίμα από το απλό σωληνάριο φυγοκεντρήθηκε για 10 λεπτά στις 2500 rpm σε erpendorff όγκου 5 ml. Έγινε λεπτομερής αιματολογικός και βιοχημικός έλεγχος που περιελάμβανε προσδιορισμό:

- σακχάρου,
- χοληστερόλης ολικής,
- LDL (χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη),
- HDL (λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας),
- τριγλυκεριδίων,
- ουρίας,
- κρεατινίνης,
- ουρικού οξέος,
- αλκαλικής φωσφατάσης (alanine transaminase),
- ασπαραγινικής τρανσαμινάσης - SGOT /AST (Serum Glutamil Oxaloacetic Transaminase),
- γλουταμινικής πυροσταφυλικής τρανσαμινάσης- SGPT/ALT (Serum Glutamic Pyruvic Transaminase) και
- γ-GT(γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση).

Επίσης, προσδιορίστηκε η hsCRP (high-sensitivity C-reactive protein).

Όλα τα δείγματα φυλάχτηκαν στους -20 °C για τον προσδιορισμό του υαλουρονικού οξέος.

#### 2.11.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

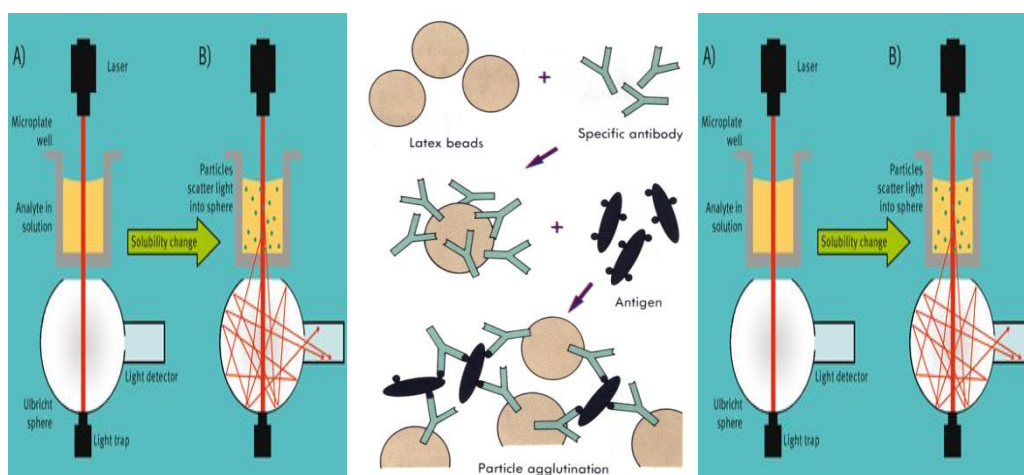
Ο προσδιορισμός των αιματολογικών δεικτών (αριθμός ερυθρών αιμοσφαιρίων, τιμή αιματοκρίτη, αιμοσφαιρίνης, αριθμός και τύπος λευκών αιμοσφαιρίων, αριθμός αιμοπεταλίων) έγινε με αυτόματο αιματολογικό αναλυτή Celltac- e mek- 7222 K (Nihon Kohden ).

#### 2.11.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Η μέτρηση των βιοχημικών δεικτών έγινε σε αυτόματο βιοχημικό αναλυτή A25 ( Biosystems S.A., Costa Brava, Barcelona, Spain) και της C-αντιδρώσα πρωτεΐνη υψηλής ευαισθησίας (high sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP)) έγινε με θολοσιμετρία/ανοσοθολοσιμετρία με αναλυτή κλινικής χημείας και ανοσολογίας, Abbott Architect c800 (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, U.S.A.).

### 2.11.3 ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό του υαλουρονικού οξέος χρησιμοποιήθηκε το αντιδραστήριο της εταιρείας Wako Hyaluronic acid LT. Αρχή της μεθόδου είναι η συγκόλληση μέσω latex και ο ποσοτικός προσδιορισμός σε αυτοματοποιημένους αναλυτές κλινικής χημείας. Πιο αναλυτικά προσθέτουμε μια πρωτεΐνη δέσμευσης του HA (HABP) (R1 αντιδραστήριο) στο δείγμα μας (ορός αίματος). Στη συνέχεια προσθέτουμε αντίσωμα της HABP σε υπόστρωμα latex (R2 αντιδραστήριο) (Εικόνα 25). Με αυτό τον τρόπο το σύμπλοκο, που δημιουργείται καθίσταται αδιάλυτο και αυξάνει τη θολερότητα του διαλύματος. Ο βαθμός θολερότητας μπορεί να μετρηθεί οπτικά, και είναι ανάλογος της συγκέντρωσης του HA.



**Εικόνα 25:** Αρχή μεθόδου μέτρησης του HA με τη μέθοδο αντιγόνου-αντισώματος και θολοσιμετρίας.

Η βαθμονόμηση βασίζεται στη θολερότητα, που είναι ανάλογη της συγκέντρωσης. Το τυφλό που χρησιμοποιείται είναι φυσιολογικός ορός (NaCl 0,9%). Τα τελικά αποτελέσματα υπολογίζονται αυτόματα και τυπώνονται σε συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα δίνονται σε ng/mL. Η μέση τιμή για το υαλουρονικό οξύ σε φυσιολογικούς ανθρώπους έχει αναφερθεί ότι είναι  $23 \pm 17$  ng/mL. Η γραμμικότητα του Wako Hyaluronic acid LT είναι μέχρι 1.000 ng / mL. Αν η συγκέντρωση του υαλουρονικού οξέος υπερβαίνει το ανώτατο όριο του μετρήσιμου εύρους, αραιώνεται το δείγμα με φυσιολογικό ορό.

### Προφυλάξεις

Τα αντιδραστήρια φυλάσσονται κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες. Δε χρησιμοποιούνται μετά την ημερομηνία λήξης, που αναγράφεται στη φιάλη.

Μετά το άνοιγμα των αντιδραστηρίων, συνιστάται η άμεση χρήση. Όταν ανοιχθούν τα αντιδραστήρια αποθηκεύονται με κλειστά τα φιαλίδια και κρατούνται κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες (θερμοκρασία 2-10 ° C και δεν καταψύχονται).

Η πρόσληψη τροφής προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης του υαλουρονικού οξέος στον ορό ή στο πλάσμα. Συνιστάται η αιμοληψία να γίνεται μετά από νηστεία.

Το ασκορβικό οξύ, η χολερυθρίνη και η αιμόλυση, όπως και τα αντιπηκτικά πχ. ηπαρίνη, κιτρικό, οξαλικό και EDTA και ο αναστολέας της γλυκόλυσης, φθοριούχο νάτριο, δεν έχουν σημαντικές επιδράσεις στη δοκιμασία.

### Ευαισθησία

Το όριο ανίχνευσης της μεθόδου αυτής είναι 5,8 μg/l. Το όριο αυτό καθορίζεται σύμφωνα με το πρωτόκολλο CLSI.

### Βαθμονομητές- Calibrators

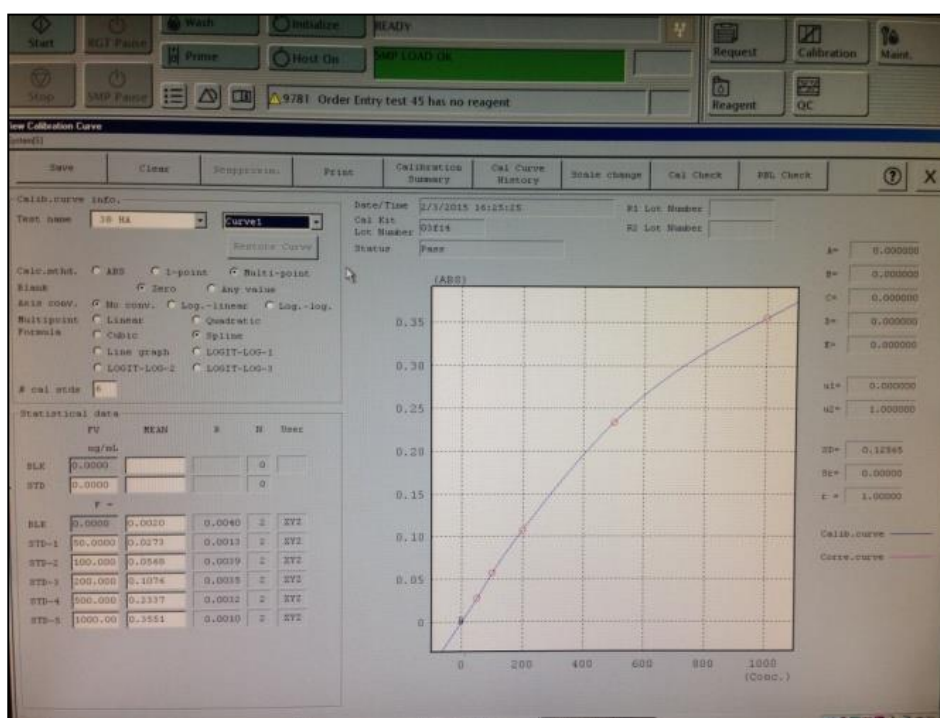
Οι έξι βαθμονομητές φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-10 ° C και δεν καταψύχονται. Περιέχουν υαλουρονικό νάτριο από *Streptococcus zooepidemicus* σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα. Δε χρειάζεται προετοιμασία του αντιδραστηρίου. Κάθε βαθμονομητής περιέχει 0.09% αζίδιο του νατρίου ως σταθεροποιητή. Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με σωληνώσεις από μόλυβδο ή χαλκό και να σχηματίσει εκρηκτικά συστατικά. Μολονότι ο βαθμονομητής περιέχει ελάχιστες ποσότητες αζιδίου του νατρίου, οι αποχετεύσεις θα πρέπει να ξεπλυθούν καλά με μία μεγάλη ποσότητα νερού, κατά την απόρριψη του βαθμονομητή.

Στον πίνακα (Πίνακας 2) που ακολουθεί παρέχονται οι συγκεντρώσεις των βαθμονομητών και οι αντίστοιχες απορροφήσεις, που σημειώθηκαν κατά τη βαθμονόμηση.

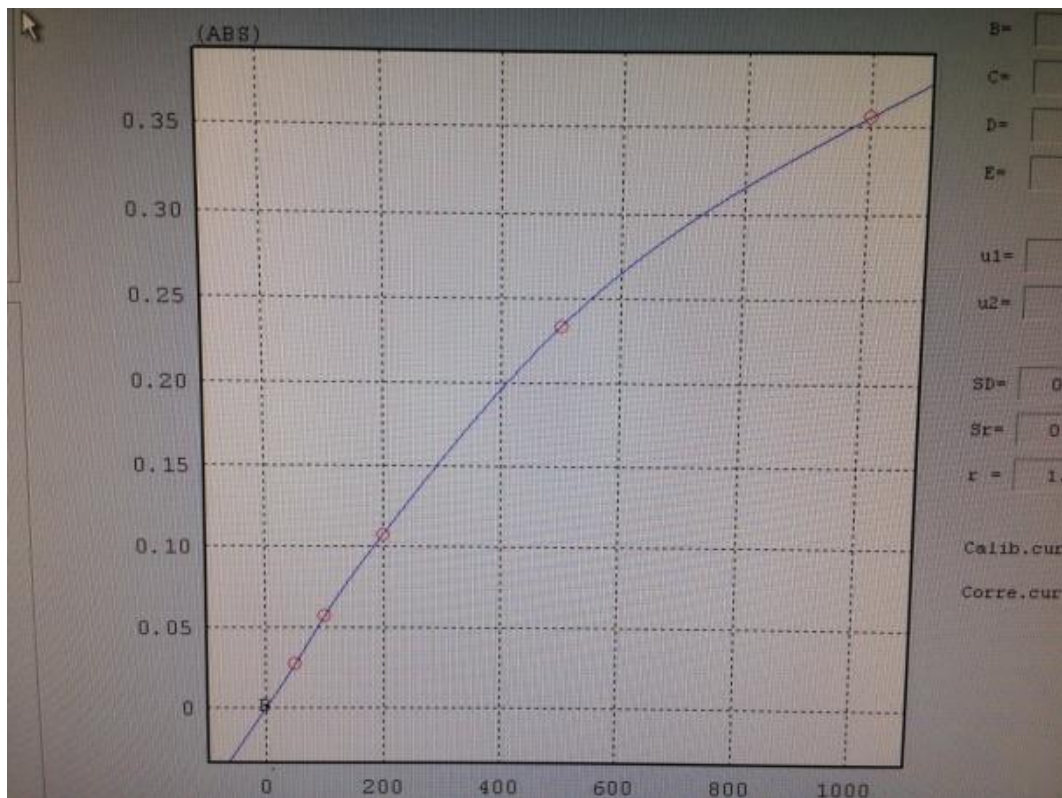
**Πίνακας 2 :Οι συγκεντρώσεις των βαθμονομητών και οι αντίστοιχες απορροφήσεις.**

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗ ΤΩΝ (NG/ML)	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ Α (ABS A)	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ Β (ABS B)
0,0000	0,00002	0,00001
50,0000	0,02863	0,02993
100,0000	0,06081	0,05694
200,0000	0,10789	0,11138
500,0000	0,23407	0,23729
1000,0000	0,35761	0,35664

Παρακάτω (Εικόνα 26, Εικόνα 27) παρουσιάζεται η καμπύλη όπως δίνεται από τον αναλυτή.



**Εικόνα 26:** Δεδομένα βαθμονόμησης όπως παρουσιάζονται από τον αναλυτή.



**Εικόνα 27 :Καμπύλη βαθμονόμησης**

### Οροί ελέγχου-Controls

Το HA- control έχει σχεδιαστεί για να χρησιμοποιηθεί ως υλικό ποιοτικού ελέγχου για τον ποσοτικό προσδιορισμό του HA. Υπάρχουν δύο controls ένα υψηλής και ένα χαμηλής συγκέντρωσης. Τα controls φυλάσσονται στους 2 - 10 ° C και δεν καταψύχονται. Περιέχουν υαλουρονικό νάτριο από *Streptococcus zooeridemicus* σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα.

Δε χρειάζεται προετοιμασία των αντιδραστηρίων.

Η εταιρεία δίνει τις συγκεντρώσεις στόχους και αυτές συγκρίνονται με την ευρεθείσα. Με τον τρόπο αυτό γίνεται ο έλεγχος του ποσοτικού προσδιορισμού του HA.

Παρακάτω (Πίνακας 3))παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του ελέγχου, που πραγματοποιήθηκε πριν τη μέτρηση των δειγμάτων.

**Πίνακας 3 Αποτελέσματα εσωτερικού ποιοτικού ελέγχου**

	TARGET=ΣΤΟΧΟΣ	ΜΕΤΡΗΘΕΙΣΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ	ΜΕΤΡΗΘΕΙΣΑ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ
HA χαμηλό control	99 ng/mL	0,05910	100 ng/mL
HA υψηλό control	399 ng/mL	0,19434	391 ng/mL

Διαπιστώσαμε πως, η μέτρηση των ορών ελέγχου έχει τις επιθυμητές τιμές. Επομένως, προχωρήσαμε στη μέτρηση των δειγμάτων.

## 2.12 Επεξεργασία των δειγμάτων

Τα δείγματα επεξεργάστηκαν όπως οι βαθμονομητές και οι οροί ελέγχου, χωρίς να υπάρξει κάποιο πρόβλημα στη διαδικασία της μέτρησης. Κανένας ορός δεν ήταν αιμολυμένος, ικτερικός ή λιπαιμικός και κανένας δεν κρίθηκε ακατάλληλος.

## 2.13 Στατιστική ανάλυση δεδομένων

Οι συσχετίσεις του HA με τα δημογραφικά και αιματολογικά δεδομένα έγιναν με το συντελεστή Pearson και Spearman. Οι διαφορές στην τιμή του HA και των άλλων δεδομένων στις διάφορες ομάδες έγινε με τα Student's t-test, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney, ANOVA, and chi-square test. Η στατιστική επεξεργασία και τα διαγράμματα πραγματοποιήθηκαν με τα στατιστικά πακέτα SPSS (Statistical Package for Social Sciences έκδοση 17, Chicago, IL) και STAT-GRAPHICS PLUS έκδοση 5.1 (Graphic Software System).

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

---

#### 3.1 ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

- Στη μελέτη συμμετείχαν 1000 εθελοντές. Μετά επιλέχθηκαν 200 εθελοντές (113 γυναίκες και 87άνδρες).
- Δυσλιπιδαιμία: 142 (70 άνδρες, 72 γυναίκες).
- Σακχαρώδης διαβήτης τύπου II: 19 (13 άνδρες , 6 γυναίκες).
- Καπνιστές: 64 (54 άνδρες, 10 γυναίκες).
- Υπό αντιλιπιδαιμική αγωγή (στατίνη): 119 (59 άνδρες, 60 γυναίκες).
- Μεταβολικό σύνδρομο: 27 (15 άνδρες, 12 γυναίκες).

#### 3.2 ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

- Μέση τιμή ηλικίας των συμμετεχόντων: 49.9 έτη (+/-7.7).
- Μέση τιμή BMI (Body Mass Index): 28.3kg/m<sup>2</sup> (+/-4.6).
- Μέση περίμετρος μέσης για τους άνδρες: 155.8cm (+/-3.3) και γλουτού 86.6 cm (+/- 1.3) και για τις γυναίκες: 145.1 cm (+/- 79.8) και 3.1cm (+/-1.2) αντίστοιχα. Το μέσο πηλίκο της περιμέτρου της μέσης προς της περιμέτρου του γλουτού (WHR): 1.9 (+/-0.04) για όλους τους συμμετέχοντες.
- Μέση αρτηριακή πίεση: φυσιολογική.

#### 3.3 ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Οι αιματολογικοί δείκτες των συμμετεχόντων παρατίθενται στον παρακάτω Πίνακας 4.

<b>ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ (g/dl)</b>	13.56 (0.58)
<b>ΛΕΥΚΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ (/μl)</b>	7.239 (128)
<b>ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ (10<sup>9</sup>/L)</b>	238 (4)

**Πίνακας 4** :Αιματολογικοί δείκτες των συμμετεχόντων.

**Τα αποτελέσματα δίνονται με μέση τιμή (SEM).**

Παρατηρούμε ότι, οι συμμετέχοντες έχουν κατά μέσο όρο φυσιολογικές τιμές αιμοσφαιρίνης, αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων και αριθμού αιμοπεταλίων. Άλλωστε, εθελοντές με παθολογικές τιμές των παραμέτρων αυτών εξαιρέθηκαν κατά την επιλογή των συμμετεχόντων.



### 3.4 ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Οι βιοχημικοί δείκτες που ελέχθησαν παρατίθενται στον Πίνακα 5.

<b>ΓΛΥΚΟΖΗ (mg/dl)</b>	95.36(2.23)
<b>ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗ (mg/dl)</b>	0.82(0.01)
<b>ΟΥΡΙΑ (mg/dl)</b>	32.20 (1.2)
<b>SGOT(U/L)</b>	28.44(0.81)
<b>SGPT(U/L)</b>	32.27 (2.26)
<b>GGT(U/L)</b>	22.83(1.06)
<b>ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΟΗ (mg/dl)</b>	187.80(2.43)
<b>HDL- ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ (mg/dl)</b>	41.77(0.69)
<b>LDL- ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ (mg/dl)</b>	121.36(2.15)
<b>ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ (mg/dl)</b>	107.7 (50-250)
<b>ΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ (mg/dl)</b>	5.00(0.70-8.80)
<b>hsCRP (mg / l)</b>	0.13(0.02-1.27)

**Πίνακας 5: Πίνακας βιοχημικών δεικτών\* των συμμετεχόντων.**

**\*Τα αποτελέσματα δίνονται με τη μέση τιμή (SEM) εκτός από τη hsCRP , τα τριγλυκερίδια και το ουρικό οξύ, που δίνονται με τη διάμεσο (εύρος).**

Παρατηρούμε ότι, οι συμμετέχοντες είχαν κατά μέσο όρο φυσιολογικές τιμές όλων των εξεταζόμενων βιοχημικών δεικτών. Άλλωστε, εθελοντές με παθολογικές τιμές των παραμέτρων αυτών εξαιρέθηκαν κατά την επιλογή των συμμετεχόντων.

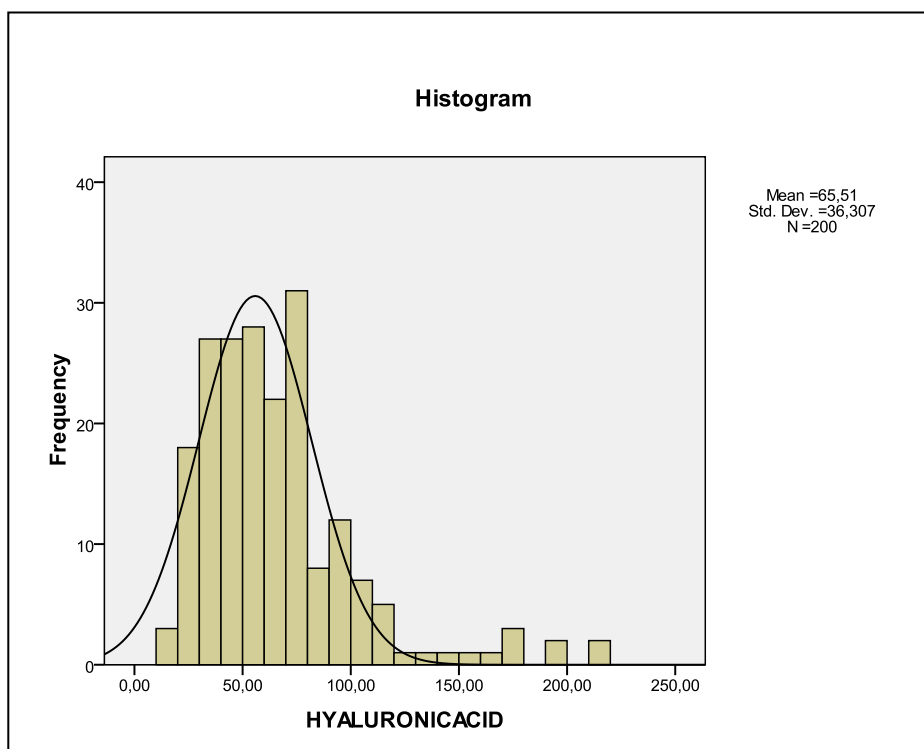
### 3.5 ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ

#### 3.5.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΛΗΤΗΣ ΤΟΥ ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Κατά την επεξεργασία και ανάλυση κανένα από τα δείγματα δεν είχε αιμόλυση, ικτερικότητα ή λιπαιμικότητα. Κατά τον προσδιορισμό δεν παρατηρήθηκε κάποιο πρόβλημα, ούτε καταγράφηκαν ακραίες τιμές. Παρακάτω (Πίνακας 6, Εικόνα 28) δίνονται οι τιμές του υαλουρονικού οξέος στο σύνολο του εξεταζόμενου πληθυσμού.

<b>ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ</b>	200
<b>Μ'ΕΣΗ ΤΙΜ'Η (μg/l)</b>	65.51
<b>STD. ERROR OF MEAN</b>	2.57
<b>ΔΙΑΜΕΣΟΣ (μg/l)</b>	57.00
<b>Ε'ΥΡΟΣ (μg/l)</b>	197.00
<b>ΕΛΑΧΙΣΤΟ (μg/l)</b>	18.00
<b>ΜΕΓΙΣΤΟ (μg/l)</b>	215.00
<b>25 ° ΕΚΑΤΟΣΤΗΜΟΡΙΟ (μg/l)</b>	41.00
<b>ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ (μg/l)</b>	57.00
<b>75 ° ΕΚΑΤΟΣΤΗΜΟΡΙΟ (μg/l)</b>	76.75

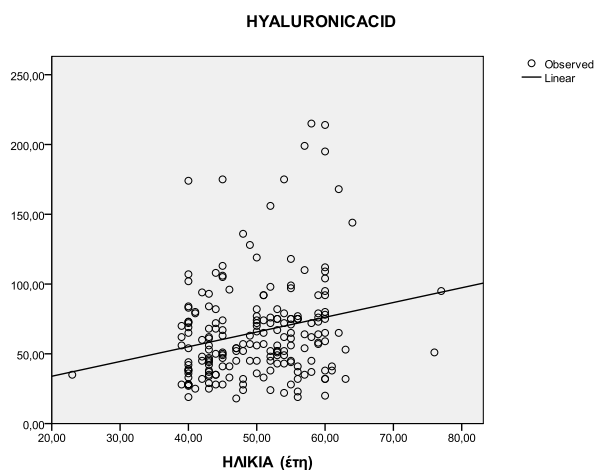
Πίνακας 6: Μέτρηση υαλουρονικού οξέος.



Εικόνα 28: Ιστόγραμμα τιμών υαλουρονικού οξέος.

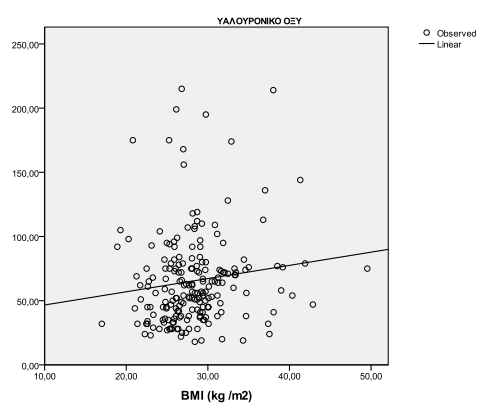
### 3.5.2 ΓΡΑΜΜΙΚΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΣΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΩΝ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΩΝ

Το υαλουρονικό οξύ (μg/L) του ορού συσχετίζεται θετικά γραμμικά σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ( $p=0.001$ ) με την ηλικία (έτη) των συμμετεχόντων, (Pearson=0.225)(Εικόνα 29).



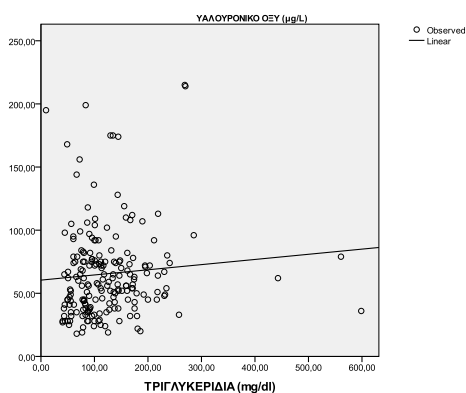
**Εικόνα 29:** Scatter plot που απεικονίζει τη συσχέτιση του υαλουρονικού οξέος ορού με την ηλικία.

Το υαλουρονικό οξύ (μg/L) του ορού συσχετίζεται θετικά γραμμικά σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ( $p=0.02$ ) με το ΔΜΣ (Δείκτης Μάζας Σώματος) ( $\text{kg} / \text{m}^2$ ) των συμμετεχόντων, (Spearman=0.170)(Εικόνα 30).



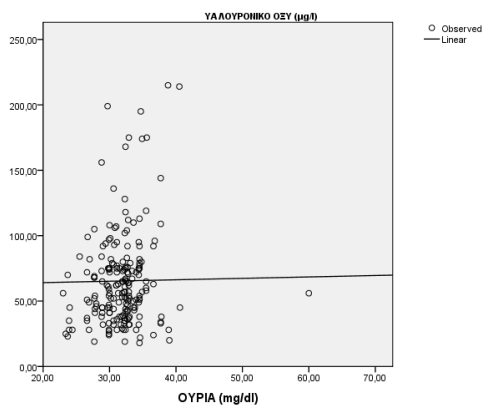
**Εικόνα 30:** Scatter plot που απεικονίζει τη συσχέτιση του υαλουρονικού οξέος ορού με το ΔΜΣ (Δείκτης Μάζας Σώματος).

Το υαλουρονικό οξύ (μg/L) του ορού συσχετίζεται θετικά γραμμικά σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ( $p=0.05$ ) με την τιμή των τριγλυκεριδίων (mg/dl) των συμμετεχόντων, (Spearman=0.142) (Εικόνα 31).



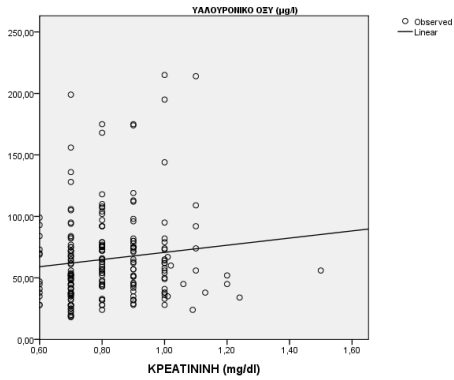
**Εικόνα 31:** Scatter plot που απεικονίζει τη συσχέτιση του υαλουρονικού οξέος ορού με τα τριγλυκερίδια ορού.

Το υαλουρονικό οξύ (μg/L) του ορού συσχετίζεται θετικά γραμμικά σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ( $p=0.05$ ) με την ουρία (mg/dl) των συμμετεχόντων, (Spearman=0.136) (Εικόνα 32).



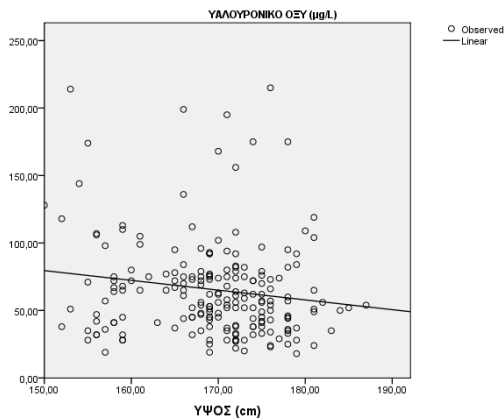
**Εικόνα 32:** Scatter plot που απεικονίζει τη συσχέτιση του υαλουρονικού οξέος ορού με την ουρία ορού.

Το υαλουρονικό οξύ (μg/L) του ορού συσχετίζεται θετικά γραμμικά σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ( $p=0.05$ ) με την κρεατινίνη (mg/dl) των συμμετεχόντων, (Spearman=0.138) (Εικόνα 33).



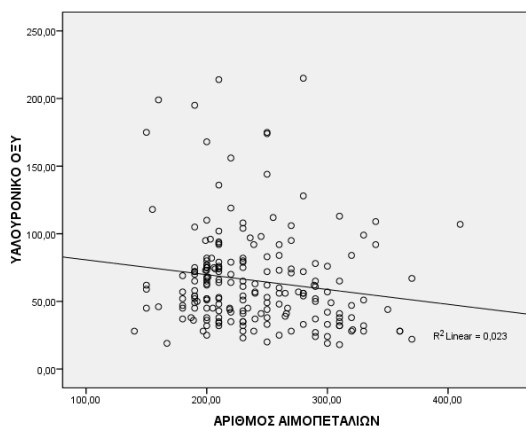
**Εικόνα 33: Scatter plot που απεικονίζει τη συσχέτιση του υαλουρονικού οξέος ορού με την κρεατινίνη ορού.**

Το υαλουρονικό οξύ (μg/L) του ορού συσχετίζεται αρνητικά γραμμικά σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ( $p=0.03$ ) με το ύψος (cm) των συμμετεχόντων, (Pearson=-0.152)(Εικόνα 34).



**Εικόνα 34: Scatter plot που απεικονίζει τη συσχέτιση του υαλουρονικού οξέος ορού με το ύψος του συμμετέχοντα.**

Το υαλουρονικό οξύ (μg/L) του ορού συσχετίζεται αρνητικά γραμμικά σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ( $p=0.017$ ) με τον αριθμό των αιμοπεταλίων ( $10^9/L$ ) των συμμετεχόντων, (Spearman=-0.169) (Εικόνα 35).



**Εικόνα 35: Scatter plot που απεικονίζει τη συσχέτιση του υαλουρονικού οξέος (μg/L) ορού με τον αριθμό των αιμοπεταλίων.**

Το υαλουρονικό οξύ (μg/L) του ορού συσχετίζεται αρνητικά γραμμικά σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ( $p=0.02$ ) με την περίμετρο της μέσης (cm) των συμμετεχόντων, (Spearman=-0.165).

Το υαλουρονικό οξύ (μg/L) του ορού συσχετίζεται αρνητικά γραμμικά σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ( $p=0.042$ ) με το πηλίκο μέσης γλουτού (WHR) των συμμετεχόντων, (Spearman=-0.144).

### 3.5.3. ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΚΑΤΑ FRAMIGHAN (FRAMIGHAN RISK SCORE)

Υπολογίζοντας το Framighan risk score διαπιστώσαμε πως 168 από τους 200 συμμετέχοντες είχαν χαμηλό κίνδυνο (56 άνδρες και 112 γυναίκες) και 32 (31 άνδρες και 1 γυναίκα) μεσαίο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακού νοσήματος την επόμενη δεκαετία.

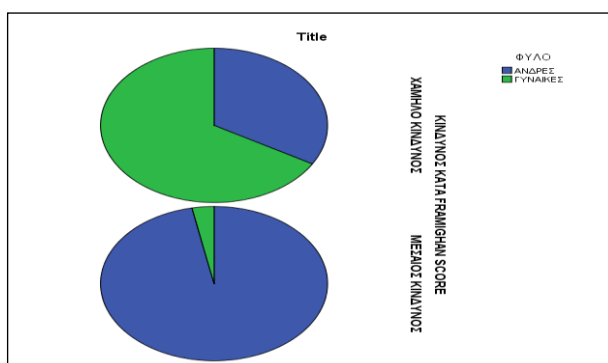
	<b>ΧΑΜΗΛΟ ΣΚΟΡ (N=168)</b>	<b>ΜΕΣΑΙΟ ΣΚΟΡ (N=32)</b>	<b>P-VALUE</b>
<b>ΑΝΔΡΕΣ(N)/ΓΥΝΑΙΚΕΣ (N)**</b>	56/112	31/1	p<0.01
<b>ΗΛΙΚΙΑ (ΕΤΗ)</b>	50.1 (0.6)	49.0(1.2)	0.465
<b>ΒΜΙ(kg/m<sup>2</sup>)</b>	28.11	29.45	0.133
<b>ΔΙΑΒΗΤΗΣ (N)**</b>	12	7	p=0.02
<b>ΚΑΠΝΙΣΜΑ (N)**</b>	42	22	p<0.01
<b>ΓΛΥΚΟΖΗ (mg/dl)*</b>	92.6(2.1)	109.8 (8.3)	p=0.04
<b>ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ (mg/dl)</b>	187.4 (2.7)	190.2 (5.4)	0.672
<b>HDL(mg/dl)*</b>	42.8 (0.8)	36.6 (1.2)	p=0.001
<b>LDL(mg/dl)</b>	120.6 (2.4)	125.3 (4.6)	0.422
<b>ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ (mg/dl)*</b>	118.9(40-250)	148.8 (43-300)	p=0.001
<b>ΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ (mg/dl)*</b>	4.9 (0.8-5.8)	5.6 (3.0-8.8)	p<0.001

**Πίνακας 7 :Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων με βάση το Framighan risk score.**

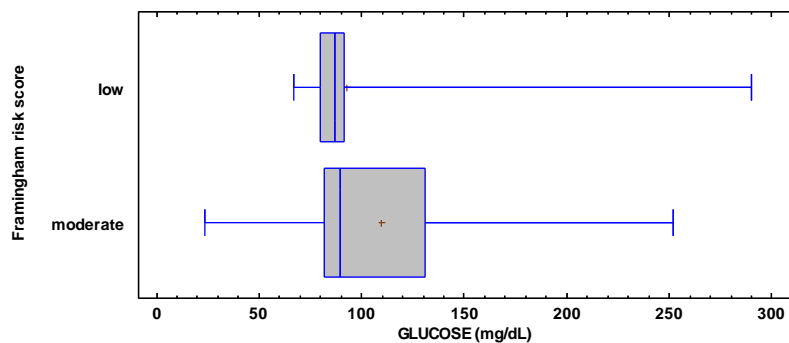
Τα αποτελέσματα δίνονται με τη μέση τιμή (SEM) εκτός από το ΒΜΙ, τα τριγλυκερίδια και το ουρικό οξύ, που δίνονται με τη διάμεσο (εύρος).

Διαφορές στατιστικά σημαντικές μεταξύ των δυο ομάδων \*p<0.05, Krusmal-Wallis test, \*\* p<0.05 ,  $\chi^2$  test.

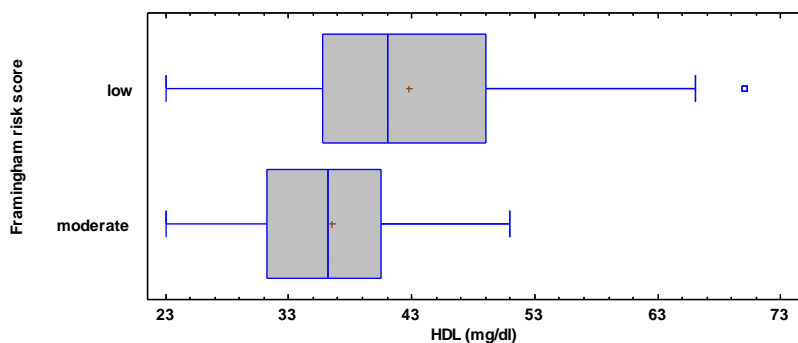
Από τον παραπάνω πίνακα συμπεραίνουμε πως μεσαίο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακού νοσήματος, σε σχέση με το χαμηλό εμφανίζουν πιο συχνά οι άντρες, οι καπνιστές, όσοι έχουν διαβήτη και όσοι έχουν πιο υψηλές τιμές γλυκόζης, τριγλυκεριδίων, χαμηλότερες τιμές HDLχοληστερόλης σε βαθμό στατιστικά σημαντικό (Εικόνα 36, Εικόνα 37, Εικόνα 38, Εικόνα 39και Εικόνα 40). Αυτοί παράλληλα έχουν και υψηλότερη τιμή ουρικού οξέος.



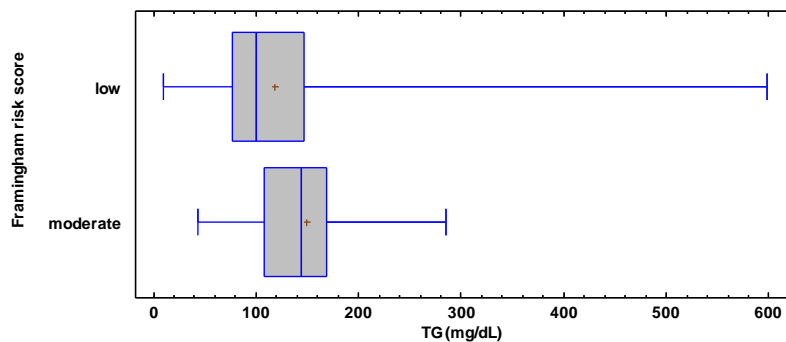
**Εικόνα 36:** Κατανομή των φύλων ανάλογα με το επίπεδο κινδύνου κατά Framighan score.



**Εικόνα 37: Βox-plot (5th–95th εκατοστημόρια) των επιπέδων της γλυκόζης (mg/dl) στις ομάδες χαμηλού και μεσαίου κατά Framingham score.**

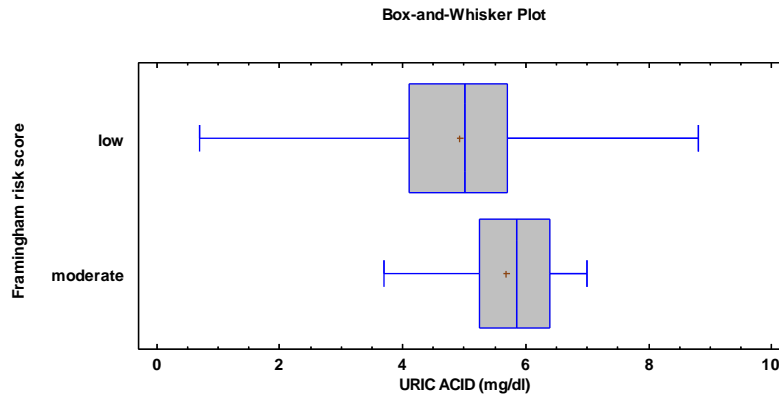


**Εικόνα 38: Βox-plot (5th–95th εκατοστημόρια) των επιπέδων της HDL (mg/dl) στις ομάδες χαμηλού και μεσαίου κατά Framingham score.**





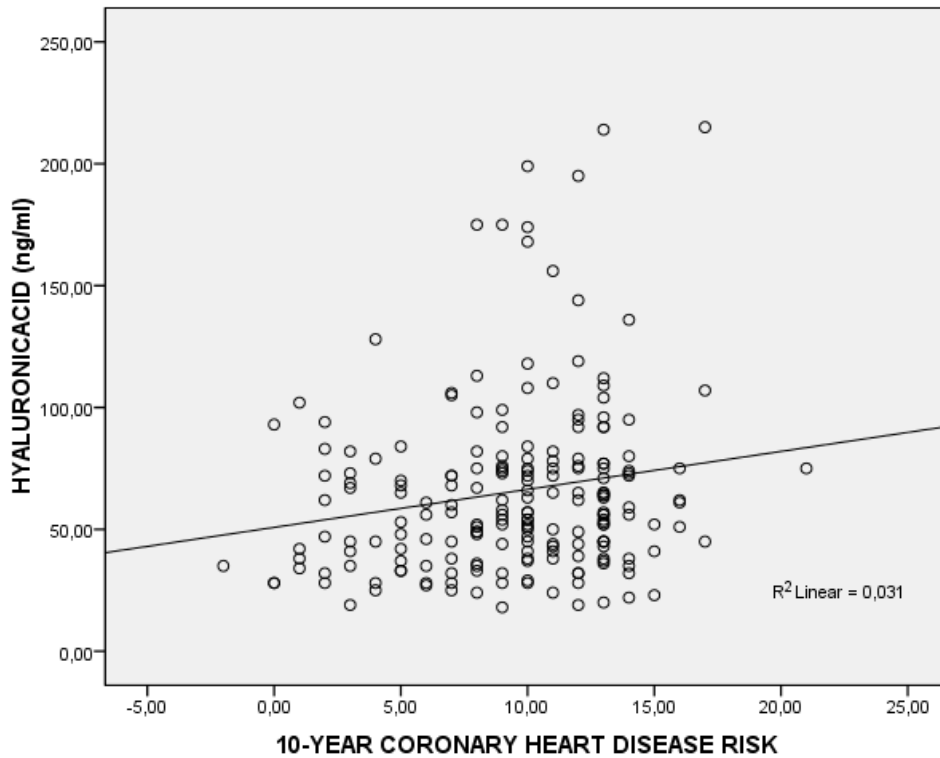
**Εικόνα 39: Box-plot (5th–95th εκατοστημόρια) των επιπέδων των τριγλυκεριδίων (mg/dl) στις ομάδες χαμηλού και μεσαίου κατά Framingham score.**



**Εικόνα 40: Box-plot (5th–95th εκατοστημόρια) των επιπέδων του ουρικού οξέος (mg/dl) στις ομάδες χαμηλού και μεσαίου κατά Framingham score.**

**Συσχέτιση της τιμής του υαλουρονικού οξέος και του Framingham score**

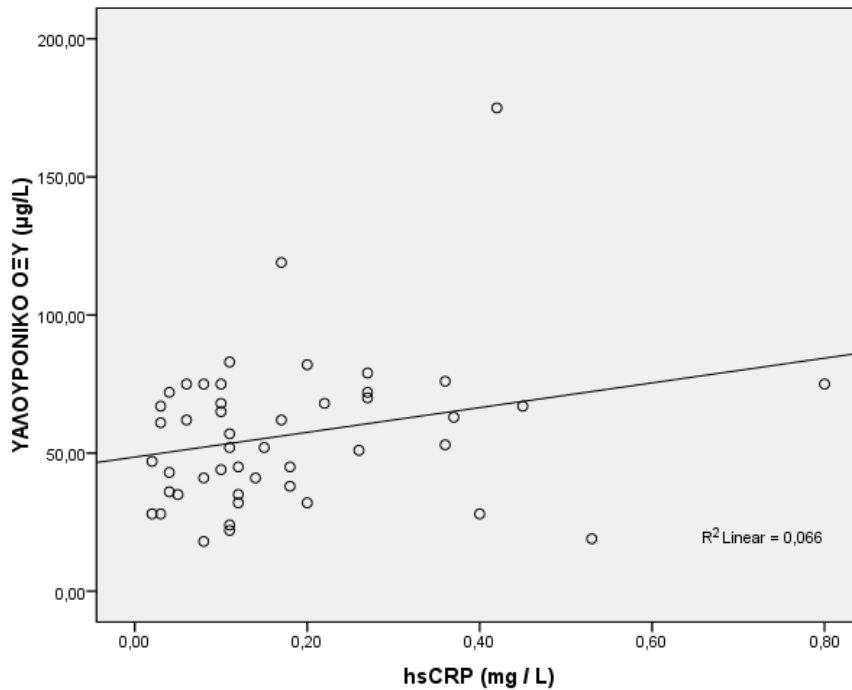
Η τιμή του υαλουρονικού οξέος συσχετίζεται σε βαθμό στατιστικά σημαντικό (Spearman ,  $\rho = 0.02$ ) (Εικόνα 41) με το Framingham score, που χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση του κινδύνου εμφάνισης καρδιακής νόσου για τα επόμενα 10 χρόνια. Η τιμή του υαλουρονικού οξέος αυξάνεται όσο αυξάνεται η τιμή του Framingham σκορ. Πρέπει να αναφέρουμε πως από το σχεδιασμό της μελέτης εξαιρέθηκαν εθελοντές με αυξημένο κίνδυνο.



**Εικόνα 41: Συσχέτιση μεταξύ του υαλουρονικού οξέος και του 10-ετούς κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακού νοσήματος κατά Framingham ( $p=0.03$ ,  $r=0.152$ ).**

**Συσχέτιση της τιμής του υαλουρονικού οξέος και της τιμής της hsCRP σε όσους έχουν μέσο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακού νοσήματος σύμφωνα με το Framingham score**

Το υαλουρονικό οξύ (μg/L) του ορού συσχετίζεται θετικά γραμμικά σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ( $p=0.05$ ) με την τιμή της hsCRP (mg/L) των συμμετεχόντων, που έχουν μέσο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακού νοσήματος σύμφωνα με το Framingham score (Spearman=0.343) (Εικόνα 42).



**Εικόνα 42: Scatter plot που απεικονίζει τη συσχέτιση του υαλουρονικού οξέος (μg/L) ορού με την τιμή της hsCRP (mg/L) ( $p=0.05$ ,  $r=0.34$ ) σε συμμετέχοντες με μέσο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακού νοσήματος σύμφωνα με το Framingham score.**

Στο σύνολο των συμμετεχόντων (χαμηλό και μέσο κίνδυνο) δε βρέθηκε συσχέτιση της τιμής του HA και της τιμής της hsCRP.

### 3.5.4 ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑ

Με τη χρήση του ορισμού για τη δυσλιπιδαιμία (O'Meara et al., 2004). διαπιστώσαμε ότι 142 από τους συμμετέχοντες είχαν δυσλιπιδαιμία. Εξετάσαμε τους συμμετέχοντες, χωρίζοντάς τους σε δυο ομάδες με κριτήριο την εμφάνιση ή όχι δυσλιπιδαιμίας.

	Χωρίς δυσλιπιδαιμία (n=58)	Με δυσλιπιδαιμία (n=142)	test,p-value
Άνδρες(n) / Γυναίκες (n)	17/41	70/72	X <sup>2</sup> - test,0.07
Ηλικία (έτη)	47.2 (0.97)	50.9(0.7)	t-test, 0.208
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	27.48(25.86)	28.0(30.63)	t-test,0.108
Διαβήτης (n)	4	15	X <sup>2</sup> - test,0.304
Κάπνισμα (n)	13	51	X <sup>2</sup> - test,0.05
Θεραπεία (στατίνη) (n)	0	118	X <sup>2</sup> -test,<0.001
Γλυκόζη (mg/dl)	91.3(4.1)	97.0(2.6)	Krusmal-Wallis test, 0.03
Χοληστερόλη (mg/dl)	182.5 (4.4)	189.9(2.9)	t-test,0.642
HDL(mg/dL)	45.1(1.2)	40.4(0.8)	t-test, 0.002
LDL(mg/dL)	118.1 (3.7)	122.7(2.6)	t-test,0.422
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	77.9	122.9	Krusmal-Wallis test,<0.001

**Πίνακας 8: Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων χωρίς και με δυσλιπιδαιμία.**

Τα αποτελέσματα δίνονται με: n τον αριθμό των συμμετεχόντων στις κατηγορικές μεταβλητές, τη μέση τιμή (SEM) εκτός από το BMI και τα τριγλυκερίδια, που δίνονται με τη διάμεσο (εύρος) στις ποσοτικές μεταβλητές.

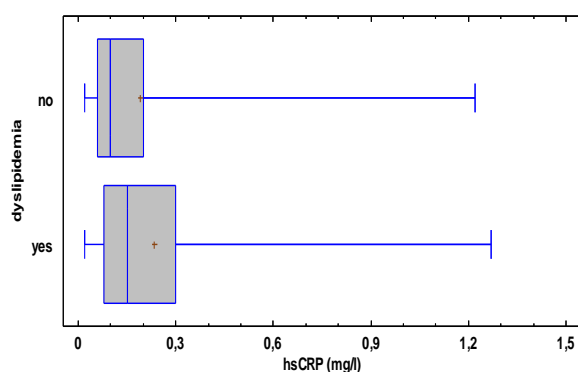
Από τον Πίνακας 8 παρατηρούμε ότι, οι δυο ομάδες διαφέρουν στους παράγοντες εκείνους, που λαμβάνουμε υπόψη μας για να κατατάξουμε κάποιον στην ομάδα αυτών με τη δυσλιπιδαιμία. Παρατηρούμε δηλαδή αναμενόμενες διαφορές.

	Χωρίς δυσλιπιδαιμία (n=58)	Με δυσλιπιδαιμία (n=142)	test,p-value
Framighan risk score(%)	1.0 (16)	2.0 (20)	Krusmal-Wallis test.p=0.05
Framingham Risk [Low(n)/Medium(n)]	L50/M 8	L 118 /M 24	
HA (ng/ml)	57.5(3.8)	68.8 (3.2)	t-test. p=0.05
hsCRP (mg / L)	0.10(1.2)	0.15 (1.25)	Krusmal-Wallis test.p=0.04
Ουρικό οξύ (mg/dl)	4.8 (4.0)	5.2 (1.0)	t-test. p=0.03

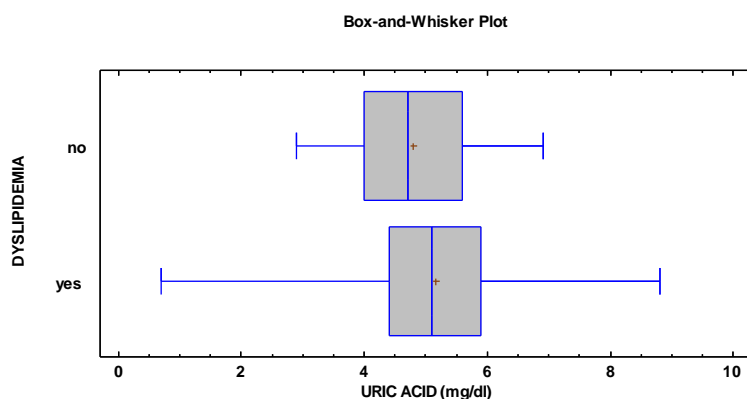
**Πίνακας 9: Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων χωρίς και με δυσλιπιδαιμία.**

Τα αποτελέσματα δίνονται με: n τον αριθμό των συμμετεχόντων στις κατηγορικές μεταβλητές, τη μέση τιμή (SEM) εκτός από το ουρικό οξύ και το Framighan risk score(%), που δίνονται με τη διάμεσο (εύρος).

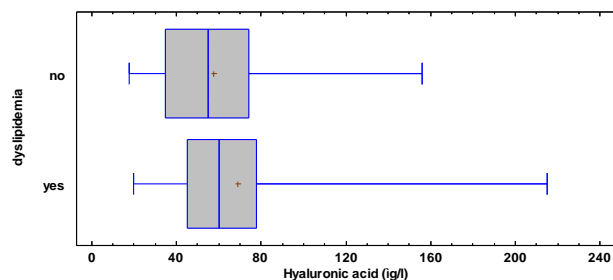
Στον Πίνακα 9 παρουσιάζονται οι διαφορές σε όλα τα μέτρα λόγω της δυσλιπιδαιμίας. Έτσι βλέπουμε ότι, η hsCRP (Εικόνα 43) και το ουρικό οξύ (Εικόνα 44) είναι υψηλότερα στα άτομα με δυσλιπιδαιμία. Ομοίως, και το Framingham risk score. Όλα αυτά επιβεβαιώνουν ότι, η δυσλιπιδαιμία αυξάνει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Στην ίδια κατεύθυνση της αύξησης στα άτομα με δυσλιπιδαιμία κινείται και το υαλουρονικό οξύ (Εικόνα 45).



**Εικόνα 43:** Box-plot (5th–95th εκατοστημόρια) των επιπέδων της hsCRP (mg/L) στις ομάδες της δυσλιπιδαιμίας.



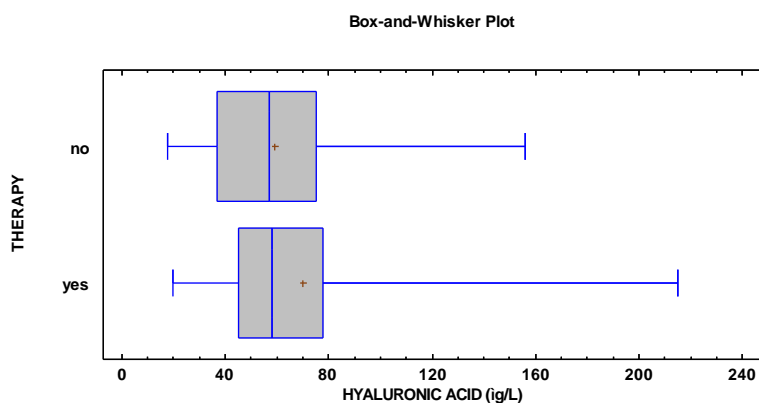
**Εικόνα 44:** Box-plot (5th–95th εκατοστημόρια) των επιπέδων του ουρικού οξέος (mg/dl) στις ομάδες της δυσλιπιδαιμίας.



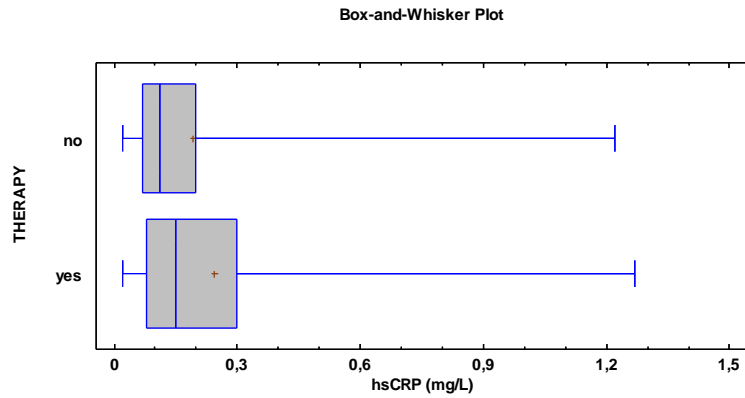
**Εικόνα 45 :Box-plot (5th–95th εκατοστημόρια) των επιπέδων του υαλουρονικού οξέος (μg/l) στις ομάδες της δυσλιπιδαιμίας.**

### 3.5.5 ΑΝΤΙΛΙΠΙΔΑΙΜΙΚΗ ΑΓΩΓΗ (ΣΤΑΤΙΝΕΣ)

Οι 119 συμμετέχοντες υπό αντιλιπιδαιμική θεραπεία (στατίνη) είχαν στατιστικά σημαντικά (t-test,  $p = 0.04$ ) υψηλότερα επίπεδα HA ορού ( $70.0 \pm 3.8 \mu\text{g} / \text{l}$ ) και στατιστικά σημαντικά (Kruskal- Wallis,  $p = 0.05$ ) υψηλότερα επίπεδα της hsCRP (διάμεση τιμή 0.15 εύρος=0.02-1.27 mg / L) σε σχέση με τους 81 συμμετέχοντες, χωρίς αντιλιπιδαιμική θεραπεία (HA ίσο με  $59.1 \pm 3.1 \mu\text{g} / \text{l}$ ). (Εικόνα 46) και hsCRP ίση με 0.11 και εύρος= 0.02-1.22 mg / L). (Εικόνα 47). Επειδή οι στατίνες επηρεάζουν την ηπατική λειτουργία πρέπει να τονίσουμε ότι τα επίπεδα των SGOT και SGPT δε διέφεραν μεταξύ των δύο ομάδων.

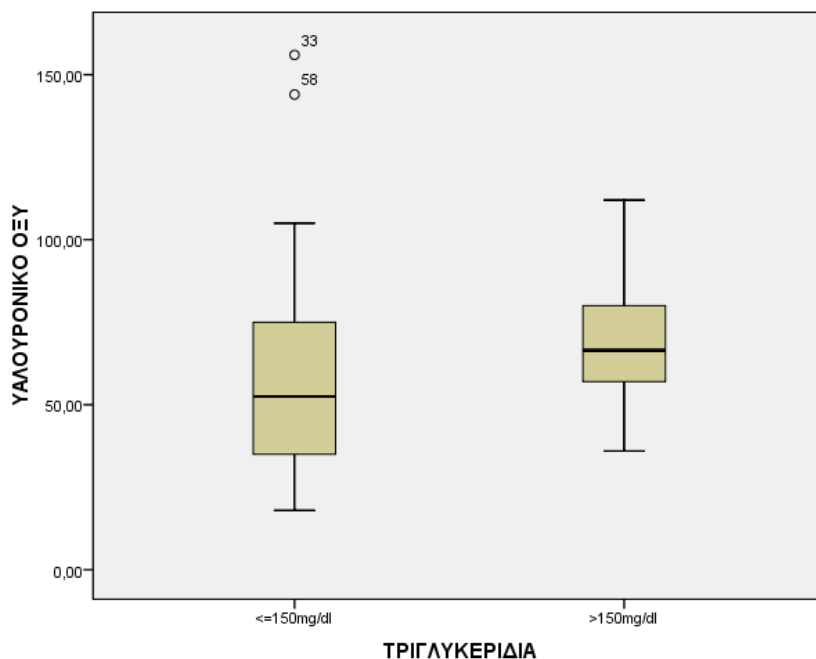


**Εικόνα 46 :Box-plot (5th–95th εκατοστημόρια) των επιπέδων του υαλουρονικού οξέος (μg/l) σε αυτούς που λάμβαναν αντιλιπιδαιμική αγωγή ή όχι.**



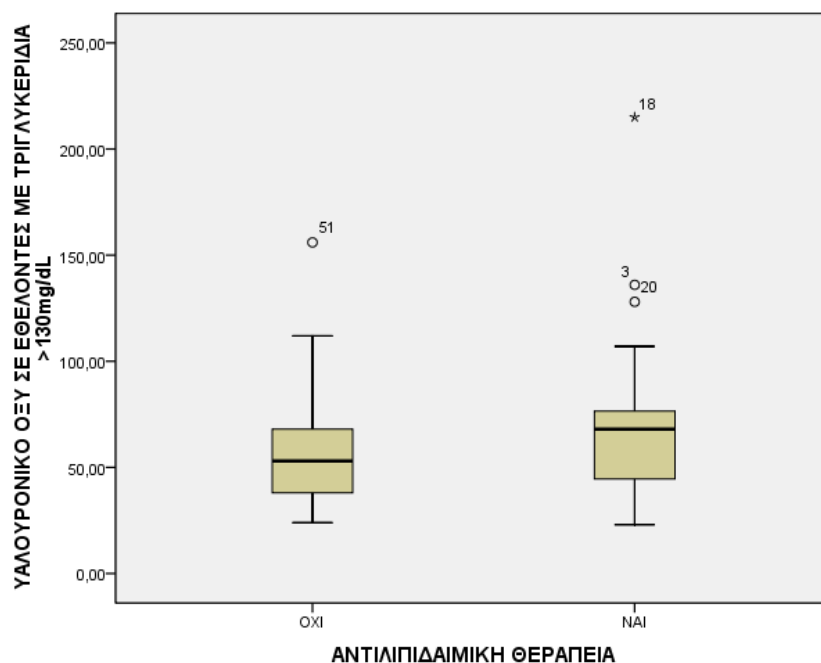
**Εικόνα 47:** Βοx-plot (5th–95th εκατοστημόρια) των επιπέδων της hsCRP (mg / L) σε αυτούς που λάμβαναν αντιλιπιδαιμική αγωγή ή όχι.

Οι 67 εθελοντές χωρίς θεραπεία για την υπερχοληστερολαιμία και με τιμή τριγλυκεριδίων > 150 mg/dl είχαν στατιστικά σημαντικά (Kruskal-Wallis,  $p = 0.04$ ) υψηλότερο επίπεδο του HA ορού ( $70.7 \pm 22.1 \mu\text{g/l}$ ) από εκείνους τους 14, χωρίς αντίστοιχη θεραπεία, αλλά με τιμή τριγλυκεριδίων < 150 mg/dl ( $\text{HA} = 56.6 \pm 28.2 \mu\text{g/l}$ ) (Εικόνα 48).



**Εικόνα 48:** Διαφορά στην τιμή του υαλουρονικού οξέος στον ορό εθελοντών χωρίς αντιλιπιδαιμική αγωγή και φυσιολογικές ή παθολογικές τιμές τριγλυκεριδίων.

Οι 39 εθελοντές υπό θεραπεία για την υπερχοληστερολαιμία και επίπεδα LDL > 130 mg/dl, είχαν στατιστικά σημαντικά (Kruskal-Wallis,  $p = 0.05$ ) υψηλότερο ΗΑ ( $69 \pm 5.6$   $\mu\text{g/l}$ ) από τους 31, χωρίς θεραπεία για την υπερχοληστερολαιμία και επίπεδα LDL > 130 mg/dl ( $\text{H}\text{A} = 55.7 \pm 4.9$   $\mu\text{g/l}$ ) (Εικόνα 28).



**Εικόνα 49 :** Διαφορές στη συγκέντρωση του υαλουρονικού οξέος μεταξύ όσων λάμβαναν θεραπεία για την υπερχοληστερολαιμία και επίπεδα LDL > 130 mg/dl και όσων δε λάμβαναν θεραπεία για την υπερχοληστερολαιμία και επίπεδα LDL > 130 mg / dl.



### 3.5.6 ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ

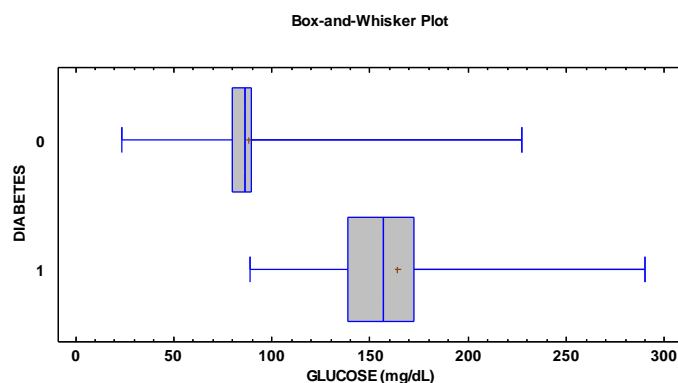
Στον Πίνακα 10 που ακολουθεί δίνονται τα χαρακτηριστικά των 19 συμμετεχόντων με σακχαρώδη διαβήτη τύπου ΙΙ.

<b>ΦΥΛΟ άνδρες(η)/γυναίκες(η)</b>	13/6
<b>Ηλικία (έτη)</b>	52.7(1.7)
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	30.0(1.2)
<b>Γλυκόζη (mg/dL)</b>	164 (11.5)
<b>HbA1c (%)</b>	7.6(6.2-11.8)
<b>Κρεατινίνη (mg/dL)</b>	0.9(0.03)
<b>Ουρία (mg/dL)</b>	34(0.6)
<b>SGOT(U/l)</b>	34.2(2.7)
<b>SGPT(U/l)</b>	36.7(2.9)
<b>GGT(U/l)</b>	33(4.9)
<b>Χοληστερόλη (mg/dL)</b>	175.8(7.4)
<b>HDL- χοληστερόλη (mg/dL)</b>	35.3(1.4)
<b>LDL- χοληστερόλη (mg/dL)</b>	111.1(6.6)
<b>Τριγλυκερίδια (mg/dL)</b>	138.8(56.7-285.7)
<b>Ουρικό οξύ (mg/dL)</b>	5.3(0.3)
<b>hsCRP (mg / L)</b>	0.22(0.03-1.19)

**Πίνακας 10 :Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων με σακχαρώδη διαβήτη τύπου ΙΙ.**

Τα αποτελέσματα δίνονται με τη μέση τιμή (Standard Error Mean) εκτός από το BMI, τη HbA1c και τα τριγλυκερίδια, που δίνονται με τη διάμεσο (εύρος).

Θα πρέπει να αναφέρουμε ότι, οι συμμετέχοντες με σακχαρώδη διαβήτη έχουν υψηλότερη τιμή γλυκόζης (164 +/-11.5 mg / L) (Εικόνα 50) σε βαθμό στατιστικά σημαντικό (t-test,  $p < 0.001$ ) από τους υπόλοιπους συμμετέχοντες (88.2 +/-1.3 mg / L), που είναι αναμενόμενο.

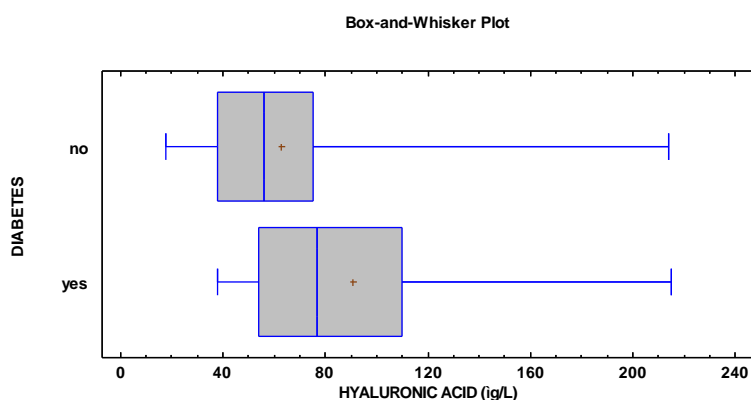


**Εικόνα 50 :Τιμή γλυκόζης (mg/dL) ανάλογα με την παρουσία σακχαρώδη διαβήτη.**

Επίσης, έχουν χαμηλότερη τιμή HDL ( $35.3 \pm 1.4$  mg/dL) σε βαθμό στατιστικά σημαντικό (t-test,  $p=0.02$ ) από τους υπόλοιπους συμμετέχοντες (HDL  $42.5 \pm 0.8$  mg /L). Και έχουν υψηλότερη τιμή κρεατινίνης ( $0.9 \pm 0.03$ mg/dL) σε βαθμό στατιστικά σημαντικό (t-test,  $p=0.02$ ) από τους υπόλοιπους συμμετέχοντες (κρεατινίνη= $0.8 \pm 0.01$  mg / L).

### **Τιμές του υαλουρονικού οξέος ανάλογα με την παρουσία ή όχι σακχαρώδη διαβήτη**

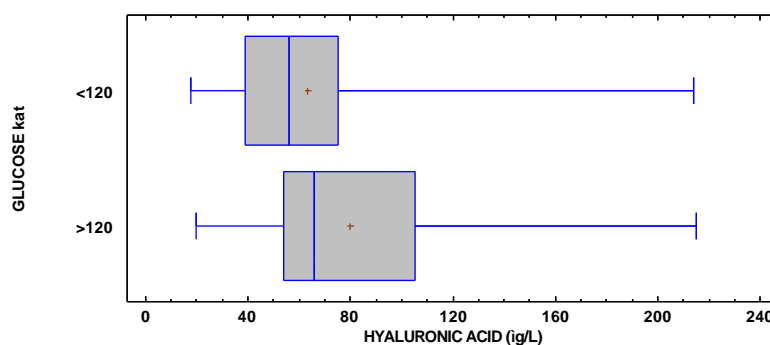
Οι 19 εθελοντές με σακχαρώδη διαβήτη είχαν τιμή HA υψηλότερη ( $90.95 \pm 10.67$   $\mu\text{g} / \text{l}$ ) σε βαθμό στατιστικά σημαντικό (t-test,  $p = 0.02$ ) από εκείνους που δεν είχαν σακχαρώδη διαβήτη ( $62.83 \pm 2.54$   $\mu\text{g} / \text{l}$ ) (Εικόνα 51). Κανείς από τους συμμετέχοντες με σακχαρώδη διαβήτη δεν είχε επιπλοκές και μόνο 5 (3 άνδρες και 2 γυναίκες) είχαν επίσης χοληστερόλη με τιμή υψηλότερη από 200mg/dl. Δε βρέθηκε συσχέτιση της τιμής του υαλουρονικού οξέος με την τιμή της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης των διαβητικών.



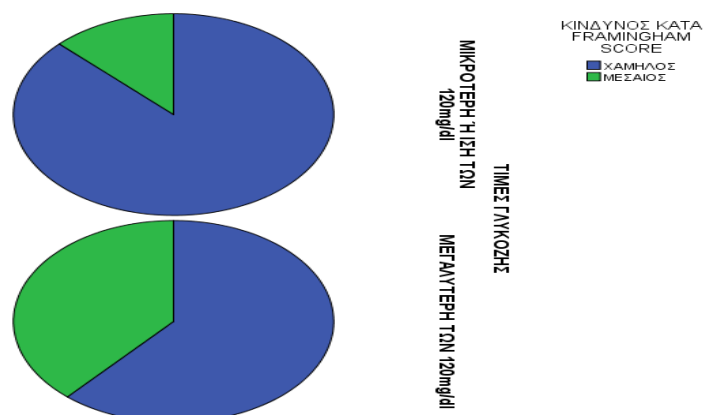
**Εικόνα 51:** Box-plot (5th–95th εκατοστημόρια) των επιπέδων του υαλουρονικού οξέος ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) σε διαβητικούς και μη.

### 3.5.7 ΤΙΜΕΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΕΣ ΤΩΝ 120mg/dl

26 εθελοντές με τιμή γλυκόζης >120 mg / dl, ανεξάρτητα από το εάν είχαν ή όχι διαβήτη, είχαν στατιστικά σημαντικά (t-test,  $p = 0.03$ ) υψηλότερη τιμή HA (76.7 +/-8.8  $\mu\text{g} / \text{l}$ ) (Εικόνα 52) από εκείνους που είχαν γλυκόζη < 120 mg / dl (63.4+/- 2.6  $\mu\text{g} / \text{l}$ ). Επίσης, είχαν και υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου, σύμφωνα με το Framingham score (X2 test,  $p = 0.02$ ) (Εικόνα 53).



**Εικόνα 52: Box-plot (5th-95th εκατοστημόρια) των επιπέδων του υαλουρονικού οξέος ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) σε εθελοντές με τιμή γλυκόζης μικρότερη ή ίση και μεγαλύτερη των 120mg/dl.**



**Εικόνα 53 :Κατανομή του καρδιαγγειακού κινδύνου ανάλογα με την τιμή της γλυκόζης.**

### 3.5.8 ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

37 εθελοντές χωρίς προδιαθεσικούς παράγοντες για ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου, που είχαν τιμή της HDL  $\geq$ των 40mg/dl, τριγλυκεριδίων  $\leq$ 150 mg / dl και γλυκόζης  $\leq$ 110 mg/dl (ομάδα A)τους συγκρίναμε με 9 εθελοντές (ομάδα B), που είχαν όλους τους προδιαθεσικούς παράγοντες, δηλαδή HDL< 40 mg / dl, τριγλυκερίδια> 150 mg / dl και γλυκόζη> 110 mg / dl. Η ομάδα A είχε στατιστικά σημαντικά ( $p = 0.02$ ) χαμηλότερα επίπεδα HA ορού (55.16  $\mu\text{g} / \text{l} \pm 4.55$ ) και hsCRP ( $p = 0.07$ ) (μέση τιμή = 0.10 εύρος = 0.02-1.22 mg / L) σε σχέση με την ομάδα B HA (85.89  $\mu\text{g} / \text{l} \pm 18.39$ ) και hsCRP (μέση τιμή = 0.23  $\pm 0.83$  mg / L).

Μεταβολικό σύνδρομο είχαν 27 εθελοντές (15 άνδρες, 12 γυναίκες). Από αυτούς, οι 13 κάπνιζαν και οι 21 έπαιρναν αντιλιπιδαιμική αγωγή.

Στον Πίνακα 11:Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων με μεταβολικό σύνδρομο.

<b>ΦΥΛΟ ΑΝΔΡΕΣ(N)/ΓΥΝΑΙΚΕΣ(N)</b>	15/12
<b>ΗΛΙΚΙΑ (ΕΤΗ)</b>	52.5(1.5)
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	33.3(1.0)
<b>ΓΛΥΚΟΖΗ (mg/dl)</b>	127.5(9.1)
<b>ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗ (mg/dl)</b>	1.9(0.03)
<b>ΟΥΡΙΑ (mg/dl)</b>	35.1(1.1)
<b>SGOT(U/L)</b>	34.6(2.5)
<b>SGPT(U/L)</b>	36.7(2.9)
<b>GGT(U/L)</b>	31.9(4.0)
<b>ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ (mg/dl)</b>	181.3(6.4)
<b>HDL- ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ (mg/dl)</b>	34.1(1.1)
<b>LDL- ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ (mg/dl)</b>	118.2(7.7)
<b>ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ (mg/dl)</b>	170.8(66.7-280)
<b>ΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ (mg/dl)</b>	5.0 (3.7-8.8)
<b>hsCRP (mg / l)</b>	0.2 (0.04-1.20)

**Πίνακας 11:Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων με μεταβολικό σύνδρομο.**

Τα αποτελέσματα δίνονται με τη μέση τιμή (Standard Error Mean) εκτός από το BMI και τα τριγλυκερίδια, που δίνονται με τη διάμεσο (εύρος).

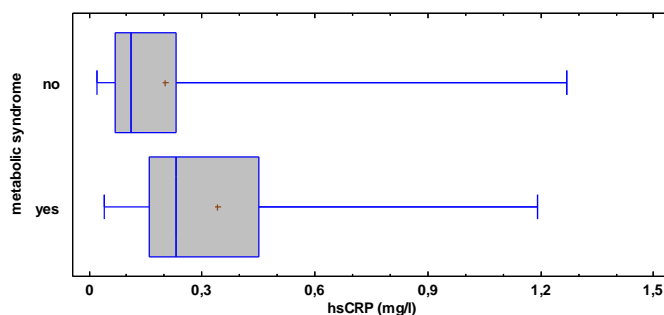
Εκτός από τις αναμενόμενες διαφορές μεταξύ των εθελοντών που έχουν μεταβολικό σύνδρομο (κατά NCEP/ ATP III 2001 National Cholesterol Education Program Expert Panel-Adult Treatment Panel III) και όσων δεν έχουν (διαφορά στο BMI, σάκχαρο, HDL χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, διάγνωση διαβήτη), παρατηρούμε και τις παρακάτω (Πίνακας 12).

	<b>ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΌ ΣΥΝΔΡΟΜΟ (N=27)</b>	<b>CONTROLS (N=173)</b>	<b>TEST, P</b>
<b>ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΪΥ (μg/l)</b>	85.2+/-9.7	62.4+/-2.5	t-test, p=0.03
<b>hs-CRP (mg/l)</b>	0.2(0.04-1.20)	0.1 (0.0-1.27)	Kruskal-Wallis, p=0.001
<b>ΟΥΡΙΚΟ ΟΞΪΥ (mg/dl)</b>	5.0(3.7-8.8)	5.0(0.7-7.6)	t-test,p=0.001
<b>FRAMIGHAN RISK SCORE LOW(%) / MEDIUM(%)</b>	16/11	152/21	X <sup>2</sup> test, p=0.001

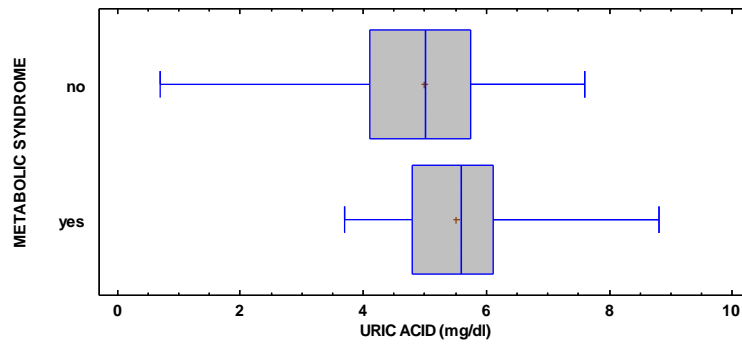
**Πίνακας 12: Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων χωρίς και με μεταβολικό σύνδρομο.**

Τα αποτελέσματα δίνονται με τη μέση τιμή (Standard Error Mean) εκτός από τη hs-CRP, που δίνεται με τη διάμεσο (εύρος).

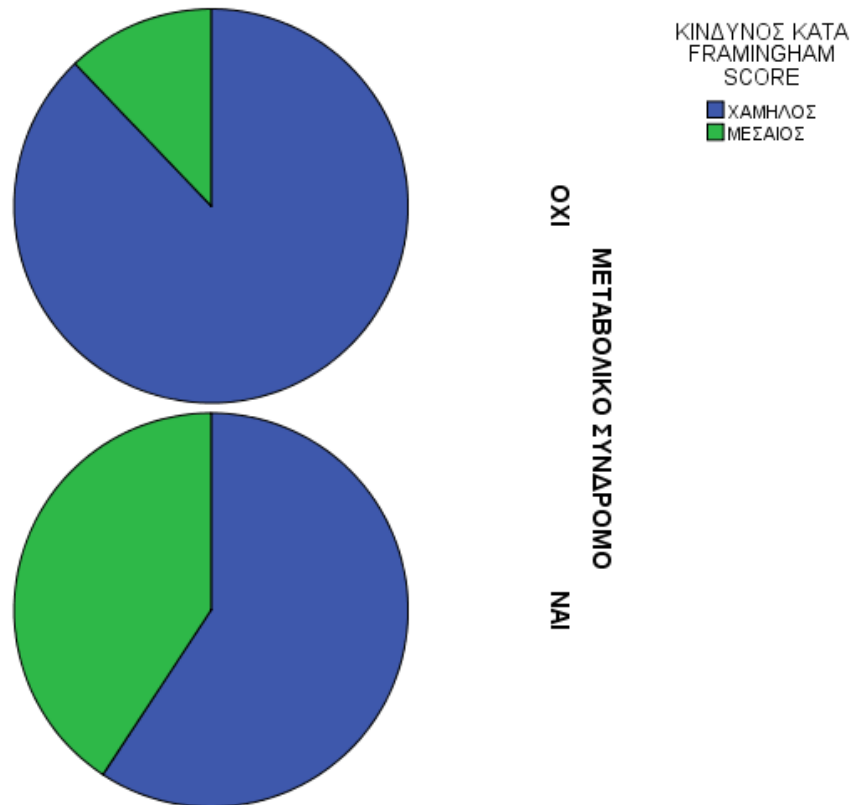
Στον Πίνακα 12 παρουσιάζονται οι διαφορές σε όλες τις παραμέτρους λόγω του μεταβολικού συνδρόμου. Έτσι βλέπουμε ότι η hsCRP (Εικόνα 54) και το ουρικό οξύ (Εικόνα 55) είναι υψηλότερα στα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο. Ομοίως και το Framighan risk score (Εικόνα 56). Όλα αυτά επιβεβαιώνουν ότι το μεταβολικό σύνδρομο αυξάνει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Στην ίδια κατεύθυνση της αύξησης στα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο κινείται και το υαλουρονικό οξύ (Εικόνα 57).



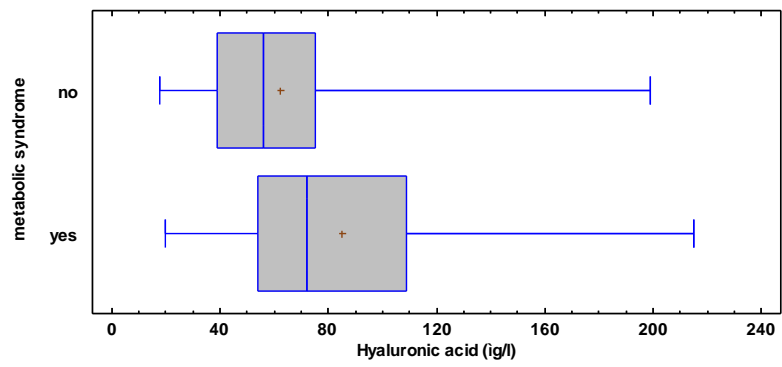
**Εικόνα 54: Box-plot (5th–95th εκατοστημόρια) των επιπέδων της hsCRP (mg / L) σε συμμετέχοντες χωρίς και με μεταβολικό σύνδρομο.**



**Εικόνα 55: Box-plot (5th–95th εκατοστημόρια) των επιπέδων του ουρικού οξέος (mg /d L) σε αυτούς που έχουν μεταβολικό σύνδρομο και αυτούς που δεν έχουν.**



**Εικόνα 56: Κατανομή του καρδιαγγειακού κινδύνου κατά Framingham ανάλογα με την παρουσία ή όχι μεταβολικού συνδρόμου.**



**Εικόνα 57: Βox-plot (5th–95th εκατοστημόρια) των επιπέδων του υαλουρονικού οξέος (µg/l) σε εθελοντές με μεταβολικό σύνδρομο και μη.**

## 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

---

Τα επίπεδα του HA ορού ρυθμίζονται μέσω της λεμφικής οδού και η απομάκρυνσή του γίνεται μέσω των υποδοχέων των ενδοθηλιακών κυττάρων του ήπατος. Η συγκέντρωση του HA ορού αυξάνεται σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η κίρρωση του ήπατος (Tanikawa, 1994, Nyberg et al., 1988, Sharif et al., 1995).

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω μαζί με τις άλλες γλυκοζαμινογλυκάνες (GAGs), το HA έχει σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση του αγγειακού ιστού και των συστατικών του αίματος. Οι GAGs μειώνουν την αλληλεπίδραση μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων και των λευκοκυττάρων (Deed et al., 1997) και συμβάλλουν στη ρύθμιση της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας, αφού εμπλέκονται στη μεσολάβηση της διατμητικά επαγόμενης απελευθέρωσης του νιτρικού οξειδίου. Επίσης, εμπλέκονται στη ρύθμιση της αντιπηκτικής αγωγής. Το HA είναι αυξημένο στις αγγειακές πλάκες (Levesque et al., 1994) και ο υψηλός μεταβολισμός του προκαλεί την αποσταθεροποίησή των αθηρωματικών πλακών (Bot et al., 2010). Η χρήση του HA στα stents της αγγειοπλαστικής αναστέλλει την επαναστένωση του αγγείου (Travis et al., 2001) και το σχηματισμό του θρόμβου (Verheye et al., 2000). Μελέτες σε αρουραίους έχουν δείξει ότι το HA ορού είναι αυξημένο την πρώτη και την τρίτη ημέρα μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου (Ohkawa et al., 1977). Το HA δεσμεύει νερό στο καρδιακό μυ και βελτιώνει τις μηχανικές και ηλεκτροφυσιολογικές λειτουργίες της καρδιάς. Έτσι, προτάθηκε ότι η εφαρμογή του HA στον καρδιακό μυ μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου θα μπορούσε να είναι μια πιθανή θεραπεία (Yoon et al., 2009). Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι το HA ορού πριν τη μεταμόσχευση καρδιάς είναι ένας δείκτης πιθανής εμφάνισης κολπικής μαρμαρυγής μετεγχειρητικά (Sezai et al., 2009). Επίσης, αναλύοντας αρτηρίες από ενήλικες και νεογνά (Levesque et al., 1994) διαπιστώθηκε ότι, κατά τα πρώτα στάδια των αθηρωματικών αλλοιώσεων, υπάρχει διάχυτη πάχυνση του έσω χιτώνα, που συνδέεται με μια ισχυρή έκφραση του HA γύρω από τα αφρώδη κύτταρα της ινώδους πλάκας. Θεωρείται ότι το HA παράγεται από όλα σχεδόν τα κύτταρα και κυρίως τα λεία μυϊκά κύτταρα (VSMCs), τα ενδοθηλιακά και τους ινοβλάστες μετά τη διέγερση των κυτταρικών υποδοχέων CD44. Επιπλέον, μέσω αυτών και των RHAMM



υποδοχέων επάγεται η χημειοταξία των VSMCs . Τα VSMCs, που φυσιολογικά βρίσκονται στο μέσο χιτώνα των αγγείων, κατά τα πρώιμα στάδια της αθηροσκληρώσεως μεταναστεύουν στον έσω χιτώνα και παράγουν μεγάλες ποσότητες των συστατικών του εξωκυττάριου χώρου συμπεριλαμβανομένων και του HA. Αυτό λειτουργεί ως μέσο δέσμευσης και μεταφοράς των λεμφοκυττάρων, που ακολουθούν σε επόμενο στάδιο της αθηρογένεσης. Το ίδιο αποτέλεσμα έχει και η αλλαγή στη σύσταση της εξωκυττάριας ουσίας. Ειδικότερα, τα μακροφάγα και τα T λεμφοκύτταρα διασχίζουν το στρώμα στις περιοχές που θα αναπτυχθεί η αθηρωματική πλάκα και συσσωρεύονται στο διάμεσο χώρο του τοιχώματος του αγγείου, δημιουργώντας τον αρχικό της πυρήνα.

Από τα παραπάνω, λοιπόν, προέκυψε το ερώτημα της παρούσας μελέτης. Εάν θα μπορούσε, δηλαδή, η τιμή του HA ορού σε εθελοντές με χαμηλό και μέσο καρδιαγγειακό κίνδυνο να είναι ένας δείκτης στην εκτίμηση αυτού του κινδύνου.

Στη μελέτη, εκτός των άλλων διαπιστώθηκε η παράλληλη αύξηση του HA στον ορό με την αύξηση της ηλικίας (Suzuki et al., 2005), του BMI, των τριγλυκεριδίων και τη μείωση του αριθμού των αιμοπεταλίων (Rajagopalan et al., 2007), όπως άλλωστε έχει διαπιστωθεί και από προηγούμενες μελέτες. Η αύξηση του HA, που συνοδεύει την αύξηση της ουρίας και της κρεατινίνης είναι λογική, αφού από το νεφρό απεκκρίνεται τι μεγάλο μέρος του.

Για το σκοπό της μελέτης έγινε προσπάθεια συσχέτισης του HA με τους παράγοντες κινδύνου των καρδιαγγειακών νοσημάτων (δυσλιπιδαιμία, μεταβολικό σύνδρομο, διαβήτης) και σε δεύτερο στάδιο με εκτιμητές του κινδύνου ανάπτυξης των νοσημάτων αυτών (hsCRP, Framingham score).

Από τα αποτελέσματά μας διαπιστώθηκε ότι, οι συμμετέχοντες, που είχαν δυσλιπιδαιμία, είχαν υψηλότερα επίπεδα HA σε σχέση με αυτούς, που δεν είχαν. Να σημειωθεί ότι, οι δυο ομάδες δεν είχαν διαφορά στην ηλικία, το BMI και τις τρανσαμινάσες, που μεταβάλλουν ανεξάρτητα το HA. Επίσης, αυτοί παρουσίασαν υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου, σύμφωνα με το Framingham score, υψηλότερες τιμές hsCRP και υψηλότερα επίπεδα ουρικού οξέος, άλλον ένα δηλαδή παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη αθηρωμάτωσης

(Ishizaka et al., 2005). Αν και οι συμμετέχοντες στη μελέτη μας είχαν χαμηλό και μέσο κίνδυνο και φυσιολογικές τιμές hsCRP, το HA του ορού σημείωσε αλλαγή, όπως εκείνη που καταγράφεται στο τοίχωμα των αγγείων με αθηρωματικές βλάβες (Sparks et al., 1986). Επομένως πρόκειται για μια πρώιμη μεταβολή, όπως εκείνη, που διαπιστώνεται κατά τα πρώτα στάδια των αθηρωματικών αλλοιώσεων. Σε αυτές υπάρχει διάχυτη πάχυνση του έσω χιτώνα, που συνδέεται με μια ισχυρή έκφραση του HA γύρω από τα αφρώδη κύτταρα της ινώδους πλάκας (Levesque et al., 1994).

Αυτή η διαφοροποίηση σημειώνεται και στους εθελοντές υπό αντιλιπιδαιμική θεραπεία. Και αυτοί είχαν υψηλότερη τιμή hsCRP και HA, σε σχέση που με αυτούς χωρίς αγωγή. Ομοίως, οι συμμετέχοντες με μεταβολικό σύνδρομο, είχαν υψηλότερα επίπεδα ορού HA και hsCRP από εκείνους χωρίς μεταβολικό σύνδρομο. Θα πρέπει να σημειωθεί πως οι τρανσαμινάσες όλων των εθελοντών ήταν εντός των φυσιολογικών ορίων και δεν παρουσίαζαν διαφοροποιήσεις μεταξύ των ομάδων. Άρα καμία αλλαγή στο HA δεν μπορεί να αποδοθεί σε ηπατική δυσλειτουργία. Παρατηρούμε ότι, η μεταβολή του HA σημειώνεται σε πιο μόνιμη και χρόνια κατάσταση υπερχοληστερολαιμίας, όπως παρατηρήθηκε και στη μελέτη των Tammi (Tammi et al., 1979).

Στην ίδια κατεύθυνση κινούνται και τα συμπεράσματα που προέκυψαν ότι, οι εθελοντές χωρίς θεραπεία για την υπερχοληστερολαιμία και τιμή τριγλυκεριδίων >150 mg / dl είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο επίπεδο του HA ορού από εκείνους, χωρίς αντίστοιχη θεραπεία αλλά τιμή τριγλυκεριδίων <150 mg / dl και οι εθελοντές υπό θεραπεία για την υπερχοληστερολαιμία και επίπεδα LDL >130 mg / dl είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο HA από εκείνους χωρίς θεραπεία για την υπερχοληστερολαιμία και επίπεδα LDL >130 mg / dl. Αυτό το εύρημα είναι ανάλογο με τη διαπίστωση ότι, η οξειδωμένη LDL (OxLDL) και το υψηλό επίπεδο του HA είναι σημαντικοί παράγοντες ενεργοποίησης της αθηροσκλήρυνσης. Βρέθηκε ότι, το φορτίο των αορτικών oxLDL προκαλεί στα VSMCs μέσω του υποδοχέα LOX-1 (Lectin-like oxidized low-density lipoprotein (LDL) receptor-1) υπερέκφραση της HAS2 και εναπόθεση HA στον περικυτταρικό χώρο (Viola et al., 2013). Επίσης στις αθηρωματικές βλάβες παρατηρούνται και συσσωματώματα LDL-HA (Srinivasan et al., 1980). Η κατακράτηση της LDL στο υποενδοθηλιακό χώρο μαζί με τα μακροφάγα και την παγίδευση της

χοληστερόλης συμβάλλουν στο σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων. Μελέτη των Sparks J. et. αποδεικνύει ότι τα επίπεδα χοληστερόλης στο πλάσμα συσχετίζονται θετικά με τα λιπίδια και το ποσό του HA στο τοίχωμα της αορτής. (Sparks J. et al.. 1986).

Επιπλέον, τα ευρήματά μας έρχονται σε συμφωνία και με τη μελέτη των Heickendorff et. κατά την οποία διαπιστώθηκε ότι, ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη είχαν αυξημένο ποσό HA στο μέσο χιτώνα του τοιχώματος των αγγείων τους με αθηρωματικές βλάβες σε σχέση με μη διαβητικούς ασθενείς. Επίσης, το HA συσχετιζόταν θετικά και με τα χρόνια παρουσίας του σακχαρώδη διαβήτη. Αυτή η μεταβολή διαπιστώθηκε και στον ορό των ασθενών στη μελέτη των Mine et al., 2006. Ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη είχαν αυξημένο ποσό HA στον ορό και hsCRP σε σχέση με συμμετέχοντες που δεν είχαν και ιδιαίτερα αυξημένο ήταν σε ασθενείς με διαβητική αγγειοπάθεια. Εμείς διαπιστώσαμε ότι, οι εθελοντές με σακχαρώδη διαβήτη είχαν τιμή HA ορού υψηλότερη σε βαθμό στατιστικά σημαντικό από εκείνους, που δεν είχαν σακχαρώδη διαβήτη. Δε διαπιστώσαμε συσχέτιση του HA με την hsCRP, όπως σε άλλες μελέτες (Mine et al., 2006). Αυτό ίσως να οφείλεται στο ότι επιλέξαμε εθελοντές με χαμηλό κίνδυνο και φυσιολογικές τιμές hsCRP.

Γνωρίζουμε ότι, άνθρωποι που έχουν τιμή γλυκόζης  $> 120$  mg / dl, ανεξάρτητα με την παρουσία ή όχι διαβήτη, έχουν υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακού νοσήματος (Levitan et al., 2004). Αυτό επιβεβαιώνεται και από τα δικά μας ευρήματα. Επιπλέον, εμείς βρήκαμε και σε αυτή τη σύγκριση ότι μαζί με τη διαφορά στον κίνδυνο μεταξύ των δυο ομάδων, υπάρχει και στατιστικά σημαντική διαφορά και στα επίπεδα του HA (Sainio et al., 2010). Αυτό επιβεβαιώνει για ακόμα μια φορά ότι, το HA μεταβάλλεται ανάλογα με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρδιακής νόσου.

Παρατηρούμε, λοιπόν, ότι χρόνιες φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως ο διαβήτης, η υπερχολησταιραιμία, το μεταβολικό σύνδρομο, συνοδεύονται από αύξηση του HA ορού. Αυτό μπορεί να ερμηνευθεί από τα αποτελέσματα της μελέτης των (Stenvinkel et al., 2000) κατά την οποία παρατηρήθηκε ότι, σε τέτοιες καταστάσεις αυξάνονται τα χαμηλού μοριακού βάρους HA μόρια, που με τη σειρά τους διεγείρουν την παραγωγή των IL-6 και IL-8. Αυτό έχει ως

αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων (VSMC) και των μονοκυττάρων, που παράγουν HA μόρια στο τοίχωμα των αγγείων.

Τέλος, διαπιστώθηκε ότι η τιμή του HA συσχετίζεται με το Framingham score και μάλιστα αυξάνεται η τιμή του όσο αυξάνεται το score. Όπως γνωρίζουμε, το σκορ αυτό βοηθά στην εκτίμηση του κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακού νοσήματος την επόμενη δεκαετία. Άρα το HA είναι ανάλογο του κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακού νοσήματος.

Αυτό έρχεται σε συμφωνία με μελέτη που έγινε σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια όπου το HA ορού συσχετίστηκε με δείκτες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, όπως sVCAM-1, vWF και angiotensin-2. Μάλιστα το ποσό του HA ορού ήταν ανάλογο του χρόνου αιμοκάθαρσης (Vlahu et al., 2012) και αποδείχθηκε ότι αποτελεί προγνωστικό δείκτη για το θάνατο κατά την αιμοκάθαρση, αλλά και την ανάπτυξη καρδιακής νόσου (Padberg et al., 2014. Stenvinkel et al., 1999. Stenvinkel et al., 2000). Αυτές οι διαφοροποιήσεις στο ποσό του HA διαπιστώθηκαν και στο τοίχωμα των αγγείων των ασθενών αυτών (Dane et al., 2014).

Εκτός όμως, από τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου (χοληστερόλη, HDL, σακχαρώδης διαβήτης, κάπνισμα, υπέρταση) έχει αποδειχτεί ότι τα επίπεδα της hsCRP βοηθούν στη βελτίωση της ταξινόμησης του κινδύνου (χαμηλού, μεσαίου, υψηλού) ανάπτυξης καρδιαγγειακού νοσήματος σε άτομα που κατατάχθηκαν στον ενδιάμεσο κίνδυνο με το Framingham score (Wilson et al., 2008). Στη μελέτη μας δείχτηκε ότι, η τιμή της hsCRP είναι ανάλογη της τιμής του HA στους συμμετέχοντες με ενδιάμεσο κίνδυνο.

Η συσχέτιση του HA τόσο με την αιτία (δυσλιπιδαιμία, μεταβολικό σύνδρομο, χρόνια ή οικογενής υπερχοληστερολαιμία- λήψη στατίνης, σακχαρώδης διαβήτης, υπεργλυκαιμία) όσο και με το αποτέλεσμα (Framingham score, hsCRP) συνηγορούν στην υπόθεση ότι το HA ίσως είναι ένας ευαίσθητος δείκτης καρδιαγγειακού κινδύνου.

Μπορεί στη μελέτη μας να μην προέκυψε συσχέτιση του HA με τη χοληστερόλη, όπως άλλωστε και στη μελέτη των (Tammi et al., 1979), η ύπαρξη

όμως σχέσης με την παρουσία δυσλιπιδαιμίας είναι ισχυρή ένδειξη προς αυτή την κατεύθυνση. Εξάλλου, δεν αναφέρεται συσχέτιση του HA του τοιχώματος των αγγείων και της τιμής της χοληστερόλης πλάσματος, παρά μόνο συσχέτιση με την τιμή της LDL και των τριγλυκεριδίων. Αυτά είναι και τα κριτήρια ορισμού της δυσλιπιδαιμίας. Φαίνεται λοιπόν ότι, το HA δε συσχετίζεται με τις τιμές των βιοχημικών δεικτών του λιπιδαιμικού προφίλ μόνο, αλλά γενικότερα με τον κίνδυνο που διατρέχει κάποιος να αναπτύξει καρδιαγγειακή νόσο. Αν και εμείς επιλέξαμε εθελοντές με χαμηλό και μεσαίο κίνδυνο, με στόχο την επίδειξη της πρώιμης αλλαγής του HA του ορού, χρήσιμο θα ήταν να υπάρξει μελλοντικός προσδιορισμός HA και σε άτομα με υψηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο ή και προοπτική παρακολούθηση των τιμών του HA με σκοπό τη διαπίστωση μελλοντικής καρδιακής νόσου.

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:

---

1. Όλοι οι συμμετέχοντες είχαν φυσιολογικές τιμές hsCRP.
2. 168 από αυτούς είχαν χαμηλό κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου, δηλαδή πιθανότητα εμφάνισης της νόσου  $\leq 10\%$  για τα επόμενα 10 έτη και 32 είχαν Framingham score μεταξύ 10% και 20%, δηλαδή μεσαίο καρδιαγγειακό κίνδυνο.
3. Οι συγκεντρώσεις HA συσχετίστηκαν θετικά με το δείκτη μάζας σώματος (BMI), την ηλικία, τα τριγλυκερίδια, την τιμή της ουρίας και της κρεατινίνης και αρνητικά με τον αριθμό των αιμοπεταλίων.
4. Οι συμμετέχοντες με δυσλιπιδαιμία είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα HA ορού, υψηλότερη τιμή hsCRP, υψηλότερα επίπεδα ουρικού οξέος και υψηλότερο καρδιαγγειακό κίνδυνο σύμφωνα με το Framingham σκορ σε βαθμό στατιστικά σημαντικό.
5. Η τιμή του HA συσχετίζεται σε βαθμό στατιστικά σημαντικό με το Framingham σκορ, που χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση του κινδύνου για στεφανιαία καρδιακή νόσο για τα επόμενα 10 χρόνια.
6. Σε άτομα με ενδιάμεσο κίνδυνο η τιμή της hsCRP συσχετίζεται θετικά με την τιμή του HA.
7. Οι συμμετέχοντες υπό θεραπεία για υπερχοληστερολαιμία (στατίνη) είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα HA ορού ( $70.0 \pm 3.8 \mu\text{g} / \text{l}$ ), υψηλότερα επίπεδα της hsCRP, σε σχέση με τους συμμετέχοντες, χωρίς αντιλιπιδαιμική θεραπεία.
8. Εθελοντές χωρίς θεραπεία για την υπερχοληστερολαιμία και τιμή τριγλυκεριδίων  $>150 \text{ mg} / \text{dl}$  είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο επίπεδο του HA ορού από εκείνους, χωρίς αντίστοιχη θεραπεία αλλά τιμή τριγλυκεριδίων  $<150 \text{ mg} / \text{dl}$ .
9. Εθελοντές υπό θεραπεία για την υπερχοληστερολαιμία και επίπεδα LDL  $>130 \text{ mg} / \text{dl}$  είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο HA από εκείνους χωρίς θεραπεία για την υπερχοληστερολαιμία και επίπεδα LDL  $>130 \text{ mg} / \text{dl}$ .
10. Εθελοντές με σακχαρώδη διαβήτη είχαν τιμή HA υψηλότερη σε βαθμό στατιστικά σημαντικό από εκείνους που δεν είχαν σακχαρώδη διαβήτη
11. Οι εθελοντές με τιμή γλυκόζης  $>120 \text{ mg} / \text{dl}$ , ανεξάρτητα από τη διάγνωση διαβήτη, είχαν σημαντικά υψηλότερη τιμή υαλουρονικού οξέος από εκείνους

που είχαν γλυκόζη <120 mg/dl. Επίσης, είχαν και υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου, σύμφωνα με το Framingham σκορ.

12.Εθελοντές με μεταβολικό σύνδρομο έχουν υψηλότερη τιμή HA, hs-CRP και καρδιαγγειακό κίνδυνο, σε σχέση με εθελοντές, χωρίς μεταβολικό σύνδρομο.

### III. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

#### IIIα. ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

A/A

#### ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ

ΕΠΩΝΥΜΟ:

ΟΝΟΜΑ:

ΟΝΟΜΑ ΠΑΤΡΟΣ:

ΓΕΝΝΗΣΗΣ (ετών):

ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ:

ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ:

ΤΗΛΕΦΩΝΑ:

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑ:

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΑΙΜΟΛΗΨΙΑΣ:

ΩΡΑ ΑΙΜΟΛΗΨΙΑΣ:

ΓΙΑΤΙ ΚΑΝΕΙ ΤΙΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ;

ΥΨΟΣ:

ΒΑΡΟΣ:



ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΓΛΟΥΤΩΝ:

ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΜΕΣΗΣ:

ΚΑΠΝΙΣΜΑ:

ΑΛΚΟΟΛ:

ΕΓΓΑΜΟΣ:

ΠΑΙΔΙΑ:

ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ

ΜΗΝΑΣ/ ΕΒΔΟΜΑΔΕΣ:

αριθμός κυήσεων:

### **ΑΤΟΜΙΚΟ ΑΝΑΜΝΗΣΤΙΚΟ**

Καρδιολογικό ιστορικό:

Υπέρταση :

Υπερλιπιδαιμία :

Σακχαρώδης διαβήτης :

Αγγειολογικά προβλήματα :

Αναπνευστικό Σύστημα :

Πεπτικό Σύστημα :

Κ.Ν.Σ. :

Μυοσκελετικό Σύστημα :

Ουρογεννητικό Σύστημα :

Ενδοκρινολογικό Σύστημα :

Χειρουργικές Παθήσεις :

## ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ

Εμβολιασμός για ηπατίτιδα:

Έχετε κάνει τατουάζ;

Κάνετε μετάγγιση;                    Πότε;

Με πόσα άτομα συμβιώνετε;

## ΦΑΡΜΑΚΑ

### **IIIβ. ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ**

#### **ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ**

Εγώ, ο κάτωθι υπογεγραμμένος/η.....  
δηλώνω υπεύθυνα ότι διάβασα (ή ο/η  
μου διάβασε) το πρωτόκολλο της μελέτης με τίτλο:

<< ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΟΓΛΥΚΑΝΕΣ ΣΤΟ ΓΕΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ>>

Θα ήθελα να δηλώσω υπεύθυνα ότι είχα το χρόνο και τη δυνατότητα να κάνω ερωτήσεις και να συζητήσω με τον ερευνητή κάθε μου απορία σχετικά με τη συμμετοχή μου στη μελέτη.

Μου δόθηκαν επαρκείς απαντήσεις σε όλα μου τα ερωτήματα.

Κατανοώ πλήρως το σκοπό και τις διαδικασίες της μελέτης.

Επίσης, γνωρίζω και αποδέχομαι ότι τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης μπορεί να δημοσιευθούν αλλά ούτε το όνομα ούτε οποιοδήποτε άλλο στοιχείο της ταυτότητάς μου θα χρησιμοποιηθεί στις δημοσιεύσεις.

Συμφωνώ και δέχομαι να συμμετέχω στη μελέτη.

ΥΠΟΓΡΑΦΗ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΟΣ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ

#### IV. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η καρδιαγγειακή νόσος είναι σήμερα η κύρια αιτία θανάτου στις αναπτυσσόμενες χώρες. Το υαλουρονικό οξύ (HA) έχει βρεθεί ότι είναι ένας σημαντικός παράγοντας της αθηροσκλήρυνσης. Σε αυτή τη μελέτη, θα διερευνηθεί η πιθανή συσχέτιση του HA ορού με τον κίνδυνο για πιθανή εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου σε έναν πληθυσμό χαμηλού / ενδιάμεσου κινδύνου για καρδιαγγειακά συμβάματα.

Μέθοδοι: Συμμετείχαν 200 άτομα με χαμηλό / ενδιάμεσο κίνδυνο για ανάπτυξη καρδιαγγειακών παθήσεων. Η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (hsCRP) χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης αθηροσκλήρυνσης. Το Framingham score χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του καρδιαγγειακού κινδύνου.

Αποτελέσματα: Οι συμμετέχοντες με δυσλιπιδαιμία είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ορού HA ( $68.8 \pm 3.2 \mu\text{g} / \text{l}$ ) σε σχέση με εκείνους που δεν είχαν δυσλιπιδαιμία ( $57.5 \pm 3.8 \mu\text{g} / \text{l}$ , t-test,  $p = 0.05$ ), υψηλότερα επίπεδα hsCRP (Kruskal-Wallis test,  $p=0.04$ ) και υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακού νοσήματος, σύμφωνα με το Framingham score (Kruskal-Wallis test,  $p = 0.05$ ). Η συγκέντρωση στον ορό του HA συσχετίζεται σημαντικά με το Framingham score, (Spearman  $r=0.152$ ,  $p=0.02$ ). Από τους συμμετέχοντες οι διαβητικοί εθελοντές είχαν σημαντικά υψηλότερο ποσό HA ορού σε σχέση με τους συμμετέχοντες χωρίς διαβήτη ( $90.95 \pm 10.67 \mu\text{g}/\text{l}$  vs  $62.83 \pm 2.54 \mu\text{g}/\text{l}$ , t-test,  $p=0.02$ ). Οι συμμετέχοντες με μεταβολικό σύνδρομο είχαν επίπεδα HA υψηλότερα στον ορό ( $85.2 \pm 9.7 \mu\text{g} / \text{l}$ ) και υψηλότερη τιμή hsCRP (δοκιμή Kruskal-Wallis,  $p=0.01$ ) σε σύγκριση με τους εθελοντές χωρίς μεταβολικό σύνδρομο ( $62.4 \pm 2.5 \mu\text{g} / \text{l}$ , t-test,  $p = 0.03$ ).

Συμπεράσματα: Το HA του ορού θα πρέπει να διερευνηθεί ως ένας πρώιμος δείκτης αθηρωμάτωσης και καρδιαγγειακού κινδύνου. Το HA του ορού σχετίζεται γενικά με τον κίνδυνο ένα υγιές άτομο να αναπτύξει καρδιαγγειακή νόσο.

Λέξεις-κλειδιά: υαλουρονικό οξύ, καρδιαγγειακός κίνδυνος, πρώιμος δείκτης αθηρωμάτωσης, μεταβολικό σύνδρομο, δυσλιπιδαιμία, διαβήτης

## IV. SUMMARY

**Background:** Cardiovascular disease is currently the leading cause of death in developing countries. Hyaluronic acid (HA) has been found to be an important trigger of atherosclerosis. In this study, we investigate the possible association of serum HA with cardiovascular disease risk in a population of low/intermediate risk for cardiovascular events.

**Methods:** We enrolled 200 subjects with low/intermediate risk for developing cardiovascular disease. High specific C-reactive protein (hsCRP) was used as an indicator of preclinical atherosclerosis. The Framingham score was used to calculate the cardiovascular risk.

**Results:** Participants with dyslipidemia had significantly higher levels of serum HA ( $68.8 \pm 3.2 \mu\text{g/l}$ ) than those without dyslipidemia ( $57.5 \pm 3.8 \mu\text{g/l}$ ; t-test,  $p = 0.05$ ), higher levels of hsCRP (Kruskal-Wallis test,  $p = 0.04$ ) and higher cardiovascular risk according to the Framingham score (Kruskal-Wallis test,  $p = 0.05$ ). Serum HA concentration correlated significantly with the Framingham score for risk for coronary heart disease over the next 10 years (Spearman  $r=0.152$ ,  $p = 0.02$ ). Diabetic volunteers had significantly higher HA than those without diabetes ( $90.95 \pm 10.67 \mu\text{g/l}$  vs  $62.83 \pm 2.54 \mu\text{g/l}$ ; t-test,  $p=0.02$ ). Participants with metabolic syndrome had higher serum HA levels ( $85.2 \pm 9.7 \mu\text{g/l}$ ) and higher hsCRP (Kruskal-Wallis test,  $p = 0.01$ ) compared to volunteers without metabolic syndrome ( $62.4 \pm 2.5 \mu\text{g/l}$ ; t-test,  $p=0.03$ ).

**Conclusions:** Serum HA should be explored as an early marker of atheromatosis and cardiovascular risk. HA is associated in general with the risk a healthy individual has to develop cardiovascular disease.

**Keywords:** hyaluronic acid, cardiovascular risk, early marker, atherosclerosis, metabolic syndrome, dyslipidemia, diabetes

## V. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ABDALLA, S., MAKHOUL, G., DUONG, M., CHIU, R. C. & CECERE, R. 2013. Hyaluronic acid-based hydrogel induces neovascularization and improves cardiac function in a rat model of myocardial infarction. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 17, 767-72.

ABE, T., FUKUHARA, T., WEN, X., NINOMIYA, A., MORIISHI, K., MAEHARA, Y., TAKEUCHI, O., KAWAI, T., AKIRA, S. & MATSUURA, Y. 2012. CD44 participates in IP-10 induction in cells in which hepatitis C virus RNA is replicating, through an interaction with Toll-like receptor 2 and hyaluronan. *J Virol*, 86, 6159-70.

AL HAJ ZEN, A., CALIGIURI, G., SAINZ, J., LEMITRE, M., DEMERENS, C. & LAFONT, A. 2006. Decorin overexpression reduces atherosclerosis development in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis*, 187, 31-9.

ALAVI, M. Z., RICHARDSON, M. & MOORE, S. 1989. The in vitro interactions between serum lipoproteins and proteoglycans of the neointima of rabbit aorta after a single balloon catheter injury. *Am J Pathol*, 134, 287-94.

ALLEN, S. J., FRASER, R. E., LAURENT, U. B., REED, R. K. & LAURENT, T. C. 1992. Turnover of hyaluronan in the rabbit pleural space. *J Appl Physiol (1985)*, 73, 1457-60.

AUGUST, M., WINGERTER, O., OELZE, M., WENZEL, P., KLESCHYOV, A. L., DAIBER, A., MULSCH, A., MUNZEL, T. & TSILIMINGAS, N. 2006. Mechanisms underlying dysfunction of carotid arteries in genetically hyperlipidemic rabbits. *Nitric Oxide*, 15, 241-51.

AVRAM, S., SHAPOSHNIKOV, S. & BUIU, C. 2014. Chondroitin sulfate proteoglycans: structure-function relationship with implication in neural development and brain disorders. 2014, 642798.

BAHCECIOGLU, I. H., YALNIZ, M., ATASEVEN, H., ILHAN, N., OZERCAN, I. H., SECKIN, D. & SAHIN, K. 2005. Levels of serum hyaluronic acid, TNF-alpha

and IL-8 in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatogastroenterology*, 52, 1549-53.

BARBOURI, D., AFRATIS, N., GIALELI, C., VYNIOS, D. H., THEOCHARIS, A. D. & KARAMANOS, N. K. 2014. Syndecans as modulators and potential pharmacological targets in cancer progression. *Front Oncol*, 4, 4.

BASSUK, S. S., RIFAI, N. & RIDKER, P. M. 2004. High-sensitivity C-reactive protein: clinical importance. *Curr Probl Cardiol*, 29, 439-93.

BI, X. L. & YANG, W. 2013. Biological functions of decorin in cancer. *Chin J Cancer*, 32, 266-9.

BJORNSSON, S. 1998. Quantitation of proteoglycans as glycosaminoglycans in biological fluids using an alcian blue dot blot analysis. *Anal Biochem*, 256, 229-37.

BOT, P. T., PASTERKAMP, G., GOUMANS, M. J., STRIJDER, C., MOLL, F. L., DE VRIES, J. P., PALS, S. T., DE KLEIJN, D. P., PIEK, J. J. & HOEFER, I. E. 2010. Hyaluronic acid metabolism is increased in unstable plaques. *Eur J Clin Invest*, 40, 818-27.

BOULWARE, D. R., HULLSIEK, K. H., PURONEN, C. E., RUPERT, A., BAKER, J. V., FRENCH, M. A., BOHJANEN, P. R., NOVAK, R. M., NEATON, J. D. & SERETI, I. 2011. Higher levels of CRP, D-dimer, IL-6, and hyaluronic acid before initiation of antiretroviral therapy (ART) are associated with increased risk of AIDS or death. *J Infect Dis*, 203, 1637-46.

BREITKREUTZ, D., KOXHOLT, I., THIEMANN, K. & NISCHT, R. 2013. Skin basement membrane: the foundation of epidermal integrity--BM functions and diverse roles of bridging molecules nidogen and perlecan. *Biomed Res Int*, 2013, 179784.

CAPOSSELA, S., SCHLAFLI, P., BERTOLO, A., JANNER, T., STADLER, B. M., POTZEL, T., BAUR, M. & STOYANOV, J. V. 2014. Degenerated human

intervertebral discs contain autoantibodies against extracellular matrix proteins. *Eur Cell Mater*, 27, 251-63; discussion 263.

CARDOSO, L. E. & MOURAO, P. A. 1994. Glycosaminoglycan fractions from human arteries presenting diverse susceptibilities to atherosclerosis have different binding affinities to plasma LDL. *Arterioscler Thromb*, 14, 115-24.

CASTELLI, W. P. 1984. Epidemiology of coronary heart disease: the Framingham study. *Am J Med*, 76, 4-12.

CASTELLI, W. P., GARRISON, R. J., WILSON, P. W., ABBOTT, R. D., KALOUSDIAN, S. & KANNEL, W. B. 1986. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study. *Jama*, 256, 2835-8.

CHAE, J. J., MULREANY, D. G., GUO, Q., LU, Q., CHOI, J. S., STREHIN, I., ESPINOZA, F. A., SCHEIN, O., TREXLER, M. M., BOWER, K. S. & ELISSEEFF, J. H. 2014. Application of a collagen-based membrane and chondroitin sulfate-based hydrogel adhesive for the potential repair of severe ocular surface injuries. *Mil Med*, 179, 686-94.

CHEN, S. & BIRK, D. E. 2013. The regulatory roles of small leucine-rich proteoglycans in extracellular matrix assembly. *Febs j*, 280, 2120-37.

CHENG, W., ZHAO, Y., WANG, S. & JIANG, F. 2014. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in vascular inflammation and atherosclerosis: a protector or culprit? *Vascul Pharmacol*, 63, 135-44.

CHROSTEK, L. & PANASIUK, A. 2014. Liver fibrosis markers in alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol*, 20, 8018-23.

COOMBE, D. R., STEVENSON, S. M., KINNEAR, B. F., GANDHI, N. S., MANCERA, R. L., OSMOND, R. I. & KETT, W. C. 2008. Platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (PECAM-1) and its interactions with glycosaminoglycans: 2. Biochemical analyses. *Biochemistry*, 47, 4863-75.



CREANEY, J., DICK, I. M., SEGAL, A., MUSK, A. W. & ROBINSON, B. W. 2013. Pleural effusion hyaluronic acid as a prognostic marker in pleural malignant mesothelioma. *Lung Cancer*, 82, 491-8.

CUFF, C. A., KOTHAPALLI, D., AZONOB, I., CHUN, S., ZHANG, Y., BELKIN, R., YEH, C., SECRETO, A., ASSOIAN, R. K., RADER, D. J. & PURE, E. 2001. The adhesion receptor CD44 promotes atherosclerosis by mediating inflammatory cell recruitment and vascular cell activation. *J Clin Invest*, 108, 1031-40.

D'AGOSTINO, R. B., SR., VASAN, R. S., PENCINA, M. J., WOLF, P. A., COBAIN, M., MASSARO, J. M. & KANNEL, W. B. 2008. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*, 117, 743-53.

DANE, M., VAN DEN BERG, B. & RABELINK, T. 2014. The endothelial glycocalyx: scratching the surface for cardiovascular disease in kidney failure. *Atherosclerosis*, 235, 56-7.

DE LEONARDIS, F., MONTI, L., GUALENI, B., TENNI, R., FORLINO, A. & ROSSI, A. 2014. Altered signaling in the G1 phase deregulates chondrocyte growth in a mouse model with proteoglycan undersulfation. *J Cell Biochem*, 115, 1779-86.

DE ROSSI, G., EVANS, A. R., KAY, E., WOODFIN, A., MCKAY, T. R., NOURSHARGH, S. & WHITEFORD, J. R. 2014. Shed syndecan-2 inhibits angiogenesis. *J Cell Sci*, 127, 4788-99.

DEED, R., ROONEY, P., KUMAR, P., NORTON, J. D., SMITH, J., FREEMONT, A. J. & KUMAR, S. 1997. Early-response gene signalling is induced by angiogenic oligosaccharides of hyaluronan in endothelial cells. Inhibition by non-angiogenic, high-molecular-weight hyaluronan. *Int J Cancer*, 71, 251-6.

DENHOLM, E. M., CAUCHON, E., POULIN, C. & SILVER, P. J. 2000. Inhibition of human dermal fibroblast proliferation by removal of dermatan sulfate. *Eur J Pharmacol*, 400, 145-53.

DEVARAJ, S., YUN, J. M., ADAMSON, G., GALVEZ, J. & JIALAL, I. 2009. C-reactive protein impairs the endothelial glycocalyx resulting in endothelial dysfunction. *Cardiovasc Res*, 84, 479-84.

DOMANSKI, M. J., FUSTER, V., DIAZ-MITOMA, F., GRUNDY, S., LLOYD-JONES, D., MAMDANI, M., ROBERTS, R., THORPE, K., HALL, J., UDELL, J. A. & FARKOUH, M. E. 2015. Next Steps in Primary Prevention of Coronary Heart Disease: Rationale for and Design of the ECAD Trial. *J Am Coll Cardiol*, 66, 1828-36.

DRAGUN, D., CATAR, R. & PHILIPPE, A. 2013. Non-HLA antibodies in solid organ transplantation: recent concepts and clinical relevance. *Curr Opin Organ Transplant*, 18, 430-5.

DU, W. W., YANG, W. & YEE, A. J. 2013. Roles of versican in cancer biology--tumorigenesis, progression and metastasis. *Histol Histopathol*, 28, 701-13.

DUFF, G. L. & MC, M. G. 1951. Pathology of atherosclerosis. *Am J Med*, 11, 92-108.

EHRlich, K. & MURRAY, M. 1978. Effect of low density lipoprotein on proteoglycan synthesis by aorta cells in culture. *Experientia*, 34, 179-81.

FARACH-CARSON, M. C., WARREN, C. R., HARRINGTON, D. A. & CARSON, D. D. 2014. Border patrol: insights into the unique role of perlecan/heparan sulfate proteoglycan 2 at cell and tissue borders. *Matrix Biol*, 34, 64-79.

FICHTLSCHERER, S., ROSENBERGER, G., WALTER, D. H., BREUER, S., DIMMELER, S. & ZEIHNER, A. M. 2000. Elevated C-reactive protein levels and impaired endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 102, 1000-6.

FILKOVA, M., SENOLT, L., BRAUN, M., HULEJOVA, H., PAVELKOVA, A., SLEGLOVA, O., KUPKA, K., GATTEROVA, J. & PAVELKA, K. 2009. Serum hyaluronic acid as a potential marker with a predictive value for further

radiographic progression of hand osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 17, 1615-9.

FILMUS, J. & CAPURRO, M. 2013. Glypican-3: a marker and a therapeutic target in hepatocellular carcinoma. *Febs j*, 280, 2471-6.

FOLDAGER, C. B. 2013. Advances in autologous chondrocyte implantation and related techniques for cartilage repair. *Dan Med J*, 60, B4600.

FORSTEN, K. E., FANNON, M. & NUGENT, M. A. 2000. Potential mechanisms for the regulation of growth factor binding by heparin. *J Theor Biol*, 205, 215-30.

FREY, H., SCHROEDER, N., MANON-JENSEN, T., IOZZO, R. V. & SCHAEFER, L. 2013. Biological interplay between proteoglycans and their innate immune receptors in inflammation. *Febs j*, 280, 2165-79.

FREYMAN, U., ENDRES, M., GOLDMANN, U., SITTINGER, M. & KAPS, C. 2013. Toward scaffold-based meniscus repair: effect of human serum, hyaluronic acid and TGF- $\beta$ 3 on cell recruitment and re-differentiation. *Osteoarthritis Cartilage*, 21, 773-81.

FRISCHKNECHT, R. & SEIDENBECHER, C. I. 2012. Brevican: a key proteoglycan in the perisynaptic extracellular matrix of the brain. *Int J Biochem Cell Biol*, 44, 1051-4.

FUNDERBURGH, J. L. 2000. Keratan sulfate: structure, biosynthesis, and function. *Glycobiology*, 10, 951-8.

GANDHI, N. S. & MANCERA, R. L. 2008. The structure of glycosaminoglycans and their interactions with proteins. *Chem Biol Drug Des*, 72, 455-82.

GHISELLI, G. & IOZZO, R. V. 2000. Overexpression of biglycan/SMC3 causes transformation. *J Biol Chem*, 275, 20235-8.

GIRISH, K. S. & KEMPARAJU, K. 2007. The magic glue hyaluronan and its eraser hyaluronidase: a biological overview. *Life Sci*, 80, 1921-43.

GLENTIS, A., GURCHENKOV, V. & MATIC VIGNJEVIC, D. 2014. Assembly, heterogeneity, and breaching of the basement membranes. *Cell Adh Migr*, 8, 236-45.

GORDON, T., CASTELLI, W. P., HJORTLAND, M. C., KANNEL, W. B. & DAWBER, T. R. 1977. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *Am J Med*, 62, 707-14.

GRANDOCH, M., HOFFMANN, J., ROCK, K., WENZEL, F., OBERHUBER, A., SCHELZIG, H. & FISCHER, J. W. 2013. Novel effects of adenosine receptors on pericellular hyaluronan matrix: implications for human smooth muscle cell phenotype and interactions with monocytes during atherosclerosis. *Basic Res Cardiol*, 108, 340.

GREENLAND, P., LABREE, L., AZEN, S. P., DOHERTY, T. M. & DETRANO, R. C. 2004. Coronary artery calcium score combined with Framingham score for risk prediction in asymptomatic individuals. *Jama*, 291, 210-5.

GRIFFIN, M. E. & HSIEH-WILSON, L. C. 2013. Synthetic probes of glycosaminoglycan function. *Curr Opin Chem Biol*, 17, 1014-22.

HALPER, J. 2014a. Connective tissue disorders in domestic animals. *Adv Exp Med Biol*, 802, 231-40.

HALPER, J. 2014b. Proteoglycans and diseases of soft tissues. *Adv Exp Med Biol*, 802, 49-58.

HAMMOND, E., KHURANA, A., SHRIDHAR, V. & DREDGE, K. 2014. The Role of Heparanase and Sulfatases in the Modification of Heparan Sulfate Proteoglycans within the Tumor Microenvironment and Opportunities for Novel Cancer Therapeutics. *Front Oncol*, 4, 195.

HATA, R. I., OHKAWA, S. I. & NAGAI, Y. 1978. Low-sulfated chondroitin sulfate in human blood and urine. *Biochim Biophys Acta*, 543, 156-66.

HELDIN, P. 2003. Importance of hyaluronan biosynthesis and degradation in cell differentiation and tumor formation. *Braz J Med Biol Res*, 36, 967-73.

HINK, U., TSILIMINGAS, N., WENDT, M. & MUNZEL, T. 2003. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus: therapeutic implications. *Treat Endocrinol*, 2, 293-304.

HITCHCOCK, A. M., COSTELLO, C. E. & ZAIA, J. 2006. Glycoform quantification of chondroitin/dermatan sulfate using a liquid chromatography-tandem mass spectrometry platform. *Biochemistry*, 45, 2350-61.

HOCKING, A. M., SHINOMURA, T. & MCQUILLAN, D. J. 1998. Leucine-rich repeat glycoproteins of the extracellular matrix. *Matrix Biol*, 17, 1-19.

HUBBARD, S. R. & GNANASAMBANDAN, K. 2013. Structure and activation of MuSK, a receptor tyrosine kinase central to neuromuscular junction formation. *Biochim Biophys Acta*, 1834, 2166-9.

IACOVELLI, V., TOPAZIO, L., GAZIEV, G., BOVE, P., VESPASIANI, G. & FINAZZI AGRO, E. 2013. Intravesical glycosaminoglycans in the management of chronic cystitis. *Minerva Urol Nefrol*, 65, 249-62.

IDOBE, Y., MURAWAKI, Y., IKUTA, Y., KODA, M. & KAWASAKI, H. 1998. Post-prandial serum hyaluronan concentration in patients with chronic liver disease. *Intern Med*, 37, 568-75.

IOZZO, R. V. 1998. Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function. *Annu Rev Biochem*, 67, 609-52.

IOZZO, R. V. & SCHAEFER, L. 2015. Proteoglycan form and function: A comprehensive nomenclature of proteoglycans. *Matrix Biol*, 42, 11-55.

IVERIUS, P. H. 1972. The interaction between human plasma lipoproteins and connective tissue glycosaminoglycans. *J Biol Chem*, 247, 2607-13.

JACKSON, R. L., BUSCH, S. J. & CARDIN, A. D. 1991. Glycosaminoglycans: molecular properties, protein interactions, and role in physiological processes. *Physiol Rev*, 71, 481-539.

JOHNSSON, C. & TUFVESON, G. 2006. Serum hyaluronan--a potential marker of cardiac allograft rejection? *J Heart Lung Transplant*, 25, 544-9.

JOKELA, T. A., LINDGREN, A., RILLA, K., MAYTIN, E., HASCALL, V. C., TAMMI, R. H. & TAMMI, M. I. 2008. Induction of hyaluronan cables and monocyte adherence in epidermal keratinocytes. *Connect Tissue Res*, 49, 115-9.

JURA-POLTORAK, A., KOMOSINSKA-VASSEV, K., KOTULSKA, A., KUCHARZ, E. J., KLIMEK, K., KOPEC-MEDREK, M. & OLCZYK, K. 2014. Alterations of plasma glycosaminoglycan profile in patients with rheumatoid arthritis in relation to disease activity. *Clin Chim Acta*, 433, 20-7.

KANNEL, W. B., DAWBER, T. R., KAGAN, A., REVOTSKIE, N. & STOKES, J., 3RD 1961. Factors of risk in the development of coronary heart disease--six year follow-up experience. The Framingham Study. *Ann Intern Med*, 55, 33-50.

KANNEL, W. B. & MCGEE, D. L. 1979. Diabetes and glucose tolerance as risk factors for cardiovascular disease: the Framingham study. *Diabetes Care*, 2, 120-6.

KARAMANOS, N. K., VANKY, P., TZANAKAKIS, G. N., TSEGENIDIS, T. & HJERPE, A. 1997. Ion-pair high-performance liquid chromatography for determining disaccharide composition in heparin and heparan sulphate. *J Chromatogr A*, 765, 169-79.

KAROUSOU, E., ASIMAKOPOULOU, A., MONTI, L., ZAFEIROPOULOU, V., AFRATIS, N., GARTAGANIS, P., ROSSI, A., PASSI, A. & KARAMANOS, N. K. 2014. FACE analysis as a fast and reliable methodology to monitor the sulfation

and total amount of chondroitin sulfate in biological samples of clinical importance. *Molecules*, 19, 7959-80.

KIANI, C., CHEN, L., WU, Y. J., YEE, A. J. & YANG, B. B. 2002. Structure and function of aggrecan. *Cell Res*, 12, 19-32.

KLUPPEL, M. 2010. The roles of chondroitin-4-sulfotransferase-1 in development and disease. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 93, 113-32.

KLYNSTRA, F. B., BOTTCHER, C. J., VAN MELSEN, J. A. & VAN DER LAAN, E. J. 1967. Distribution and composition of acid mucopolysaccharides in normal and atherosclerotic human aortas. *J Atheroscler Res*, 7, 301-9.

KOBAYASHI, H., SUN, G. W., TANAKA, Y., KONDO, T. & TERAO, T. 1999. Serum hyaluronic acid levels during pregnancy and labor. *Obstet Gynecol*, 93, 480-4.

KOENIG, W., SUND, M., FROHLICH, M., FISCHER, H. G., LOWEL, H., DORING, A., HUTCHINSON, W. L. & PEPYS, M. B. 1999. C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation*, 99, 237-42.

KOLEK, M. J., CARLQUIST, J. F., MUHLESTEIN, J. B., WHITING, B. M., HORNE, B. D., BAIR, T. L. & ANDERSON, J. L. 2004. Toll-like receptor 4 gene Asp299Gly polymorphism is associated with reductions in vascular inflammation, angiographic coronary artery disease, and clinical diabetes. *Am Heart J*, 148, 1034-40.

KOMOSINSKA-VASSEV, K., OLCZYK, P., WINSZ-SZCZOTKA, K., KLIMEK, K. & OLCZYK, K. 2011. Age- and gender-dependent changes in circulating concentrations of tumor necrosis factor-alpha, soluble tumor necrosis factor receptor-1 and sulfated glycosaminoglycan in healthy people. *Clin Chem Lab Med*, 49, 121-7.

KRETZ, F. T., LIMBERGER, I. J. & AUFFARTH, G. U. 2014. Corneal endothelial cell coating during phacoemulsification using a new dispersive hyaluronic acid ophthalmic viscosurgical device. *J Cataract Refract Surg*, 40, 1879-84.

KUMAR, S., IYER, S., BAUER, H., COENEN, M. & BAHN, R. S. 2012. A stimulatory thyrotropin receptor antibody enhances hyaluronic acid synthesis in graves' orbital fibroblasts: inhibition by an IGF-I receptor blocking antibody. *J Clin Endocrinol Metab*, 97, 1681-7.

KUOPPAMAKI, M., SALMINEN, M., VAHLBERG, T., IRJALA, K., KIVELA, S. L. & RAIHA, I. 2015. High sensitive C-reactive protein (hsCRP), cardiovascular events and mortality in the aged: a prospective 9-year follow-up study. *Arch Gerontol Geriatr*, 60, 112-7.

KWON, M. J., JANG, B., YI, J. Y., HAN, I. O. & OH, E. S. 2012. Syndecans play dual roles as cell adhesion receptors and docking receptors. *FEBS Lett*, 586, 2207-11.

LAM, D. W. & LEROITH, D. 2000. Metabolic Syndrome. *In*: DE GROOT, L. J., BECK-PECCOZ, P., CHROUSOS, G., DUNGAN, K., GROSSMAN, A., HERSHMAN, J. M., KOCH, C., MCLACHLAN, R., NEW, M., REBAR, R., SINGER, F., VINIK, A. & WEICKERT, M. O. (eds.) *Endotext*. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.

LARRAIN, J., CAREY, D. J. & BRANDAN, E. 1998. Syndecan-1 expression inhibits myoblast differentiation through a basic fibroblast growth factor-dependent mechanism. *J Biol Chem*, 273, 32288-96.

LAUDER, R. M. 2009. Chondroitin sulphate: a complex molecule with potential impacts on a wide range of biological systems. *Complement Ther Med*, 17, 56-62.

LAUER, M. E., AYTEKIN, M., COMHAIR, S. A., LOFTIS, J., TIAN, L., FARVER, C. F., HASCALL, V. C. & DWEIK, R. A. 2014. Modification of hyaluronan by heavy chains of inter-alpha-inhibitor in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *J Biol Chem*, 289, 6791-8.



LEBENSZTEJN, D. M., WIERZBICKA, A., SOCHA, P., PRONICKI, M., SKIBA, E., WERPACHOWSKA, I. & KACZMARSKI, M. 2011. Cytokeratin-18 and hyaluronic acid levels predict liver fibrosis in children with non-alcoholic fatty liver disease. *Acta Biochim Pol*, 58, 563-6.

LEE, G. Y., KIM, J. H., CHOI, K. Y., YOON, H. Y., KIM, K., KWON, I. C., CHOI, K., LEE, B. H., PARK, J. H. & KIM, I. S. 2015. Hyaluronic acid nanoparticles for active targeting atherosclerosis. *Biomaterials*, 53, 341-8.

LEISER, Y., SHILO, D., ABU EL NAAJ, I. & RACHMIEL, A. 2014. Heparanase, a potential marker for premalignant oral cavity cancer. *In Vivo*, 28, 769-77.

LENFANT, C., FRIEDMAN, L. & THOM, T. 1998. Fifty years of death certificates: the Framingham Heart Study. *Ann Intern Med*, 129, 1066-7.

LEVESQUE, H., GIRARD, N., MAINGONNAT, C., DELPECH, A., CHAUZY, C., TAYOT, J., COURTOIS, H. & DELPECH, B. 1994. Localization and solubilization of hyaluronan and of the hyaluronan-binding protein hyaluronectin in human normal and arteriosclerotic arterial walls. *Atherosclerosis*, 105, 51-62.

LEVITAN, E. B., SONG, Y., FORD, E. S. & LIU, S. 2004. Is nondiabetic hyperglycemia a risk factor for cardiovascular disease? A meta-analysis of prospective studies. *Arch Intern Med*, 164, 2147-55.

LEVITT, D. & HO, P. L. 1983. Induction of chondroitin sulfate proteoglycan synthesis and secretion in lymphocytes and monocytes. *J Cell Biol*, 97, 351-8.

LEWIS, S., CROSSMAN, M., FLANNELLY, J., BELCHER, C., DOHERTY, M., BAYLISS, M. T. & MASON, R. M. 1999. Chondroitin sulphation patterns in synovial fluid in osteoarthritis subsets. *Ann Rheum Dis*, 58, 441-5.

LI, G., YAN, Q. B. & WEI, L. M. 2006. Serum concentrations of hyaluronic acid, procollagen type III NH2-terminal peptide, and laminin in patients with chronic congestive heart failure. *Chin Med Sci J*, 21, 175-8.

LI, J. J. & FANG, C. H. 2004. C-reactive protein is not only an inflammatory marker but also a direct cause of cardiovascular diseases. *Med Hypotheses*, 62, 499-506.

LI, J. P., GONG, F., EL DARWISH, K., JALKANEN, M. & LINDAHL, U. 2001. Characterization of the D-glucuronyl C5-epimerase involved in the biosynthesis of heparin and heparan sulfate. *J Biol Chem*, 276, 20069-77.

LI, Y., TOOLE, B. P., DEALY, C. N. & KOSHER, R. A. 2007. Hyaluronan in limb morphogenesis. *Dev Biol*, 305, 411-20.

LIBBY, P. & THEROUX, P. 2005. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation*, 111, 3481-8.

LINDAHL, B., TOSS, H., SIEGBAHN, A., VENGE, P. & WALLENTIN, L. 2000. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease. *N Engl J Med*, 343, 1139-47.

LIPOWSKY, H. H. 2005. Microvascular rheology and hemodynamics. *Microcirculation*, 12, 5-15.

LOKESHWAR, V. B. & SELZER, M. G. 2000. Differences in hyaluronic acid-mediated functions and signaling in arterial, microvessel, and vein-derived human endothelial cells. *J Biol Chem*, 275, 27641-9.

LUO, Z., WU, R. R., LV, L., LI, P., ZHANG, L. Y., HAO, Q. L. & LI, W. 2014. Prognostic value of CD44 expression in non-small cell lung cancer: a systematic review. *Int J Clin Exp Pathol*, 7, 3632-46.

LUSIS, A. J. 2000. Atherosclerosis. *Nature*, 407, 233-41.

LUTHER, M. K., MERMEL, L. A. & LAPLANTE, K. L. 2014. Comparison of ML8-X10 (a prototype oil-in-water micro-emulsion based on a novel free fatty acid), taurolidine/citrate/heparin and vancomycin/heparin antimicrobial lock solutions

in the eradication of biofilm-producing staphylococci from central venous catheters. *J Antimicrob Chemother*, 69, 3263-7.

MADINIER, A., QUATTROMANI, M. J., SJOLUND, C., RUSCHER, K. & WIELOCH, T. 2014. Enriched housing enhances recovery of limb placement ability and reduces aggrecan-containing perineuronal nets in the rat somatosensory cortex after experimental stroke. *PLoS One*, 9, e93121.

MAGNUSSEN, C. G., RAITAKARI, O. T., THOMSON, R., JUONALA, M., PATEL, D. A., VIKARI, J. S., MARNIEMI, J., SRINIVASAN, S. R., BERENSON, G. S., DWYER, T. & VENN, A. 2008. Utility of currently recommended pediatric dyslipidemia classifications in predicting dyslipidemia in adulthood: evidence from the Childhood Determinants of Adult Health (CDAH) study, Cardiovascular Risk in Young Finns Study, and Bogalusa Heart Study. *Circulation*, 117, 32-42.

MAHLEY, R. W. & HUANG, Y. 2007. Atherogenic remnant lipoproteins: role for proteoglycans in trapping, transferring, and internalizing. *J Clin Invest*, 117, 94-8.

MALMSTROM, A., BARTOLINI, B., THELIN, M. A., PACHECO, B. & MACCARANA, M. 2012. Iduronic acid in chondroitin/dermatan sulfate: biosynthesis and biological function. *J Histochem Cytochem*, 60, 916-25.

MARGOLIS, R. K., RAUCH, U., MAUREL, P. & MARGOLIS, R. U. 1996. Neurocan and phosphacan: two major nervous tissue-specific chondroitin sulfate proteoglycans. *Perspect Dev Neurobiol*, 3, 273-90.

MASOLA, V., ZAZA, G., SECCHI, M. F., GAMBARO, G., LUPO, A. & ONISTO, M. 2014. Heparanase is a key player in renal fibrosis by regulating TGF-beta expression and activity. *Biochim Biophys Acta*, 1843, 2122-8.

MATTURRI, L., OTTAVIANI, G., CORTI, G. & LAVEZZI, A. M. 2004. Pathogenesis of early atherosclerotic lesions in infants. *Pathol Res Pract*, 200, 403-10.

MAWHINNEY, T. P., AUGUSTYN, J. M. & FRITZ, K. E. 1978. Glycosaminoglycan-lipoprotein complexes from aortas of hypercholesterolemic rabbits. Part 1. Isolation and characterization. *Atherosclerosis*, 31, 155-67.

MCEWAN, P. A., SCOTT, P. G., BISHOP, P. N. & BELLA, J. 2006. Structural correlations in the family of small leucine-rich repeat proteins and proteoglycans. *J Struct Biol*, 155, 294-305.

MIKAMI, T. & KITAGAWA, H. 2013. Biosynthesis and function of chondroitin sulfate. *Biochim Biophys Acta*, 1830, 4719-33.

MILLER, M. J., COSTELLO, C. E., MALMSTROM, A. & ZAIA, J. 2006. A tandem mass spectrometric approach to determination of chondroitin/dermatan sulfate oligosaccharide glycoforms. *Glycobiology*, 16, 502-13.

MIMA, K., BEPPU, T., ISHIKO, T., CHIKAMOTO, A., NAKAGAWA, S., HAYASHI, H., WATANABE, M., SAKAMAKI, K. & BABA, H. 2014. Preoperative serum hyaluronic acid level as a prognostic factor in patients undergoing hepatic resection for hepatocellular carcinoma. *Br J Surg*, 101, 269-76.

MINE, S., OKADA, Y., KAWAHARA, C., TABATA, T. & TANAKA, Y. 2006. Serum hyaluronan concentration as a marker of angiopathy in patients with diabetes mellitus. *Endocr J*, 53, 761-6.

MISHRA, M., NAIK, V. V., KALE, A. D., ANKOLA, A. V. & PILLI, G. S. 2011. Perlecan (basement membrane heparan sulfate proteoglycan) and its role in oral malignancies: an overview. *Indian J Dent Res*, 22, 823-6.

MOTTILLO, S., FILION, K. B., GENEST, J., JOSEPH, L., PILOTE, L., POIRIER, P., RINFRET, S., SCHIFFRIN, E. L. & EISENBERG, M. J. 2010. The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*, 56, 1113-32.

MULIVOR, A. W. & LIPOWSKY, H. H. 2002. Role of glycocalyx in leukocyte-endothelial cell adhesion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 283, H1282-91.

MURAMATSU, T., MURAMATSU, H., KANEDA, N. & SUGAHARA, K. 2003. Recognition of glycosaminoglycans by midkine. *Methods Enzymol*, 363, 365-76.

MURAWAKI, Y., IKUTA, Y., KODA, M., NISHIMURA, Y. & KAWASAKI, H. 1996. Clinical significance of serum hyaluronan in patients with chronic viral liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 11, 459-65.

NAGANO, O. & SAYA, H. 2004. Mechanism and biological significance of CD44 cleavage. *Cancer Sci*, 95, 930-5.

NAMBISAN, B. & KURUP, P. A. 1975. Ascorbic acid and glycosaminoglycan and lipid metabolism in guinea pigs fed normal and atherogenic diets. *Atherosclerosis*, 22, 447-61.

NASTASE, M. V., IOZZO, R. V. & SCHAEFER, L. 2014. Key roles for the small leucine-rich proteoglycans in renal and pulmonary pathophysiology. *Biochim Biophys Acta*, 1840, 2460-70.

NEGRONI, E., HENAULT, E., CHEVALIER, F., GILBERT-SIRIEIX, M., VAN KUPPEVELT, T. H., PAPY-GARCIA, D., UZAN, G. & ALBANESE, P. 2014. Glycosaminoglycan modifications in Duchenne muscular dystrophy: specific remodeling of chondroitin sulfate/dermatan sulfate. *J Neuropathol Exp Neurol*, 73, 789-97.

NEILL, T., SCHAEFER, L. & IOZZO, R. V. 2012. Decorin: a guardian from the matrix. *Am J Pathol*, 181, 380-7.

NIEUWDORP, M., MEUWESE, M. C., VINK, H., HOEKSTRA, J. B., KASTELEIN, J. J. & STROES, E. S. 2005. The endothelial glycocalyx: a potential barrier between health and vascular disease. *Curr Opin Lipidol*, 16, 507-11.

NIEUWDORP, M., VAN HAEFTEN, T. W., GOUVERNEUR, M. C., MOOIJ, H. L., VAN LIESHOUT, M. H., LEVI, M., MEIJERS, J. C., HOLLEMAN, F., HOEKSTRA, J. B., VINK, H., KASTELEIN, J. J. & STROES, E. S. 2006. Loss of endothelial glycocalyx during acute hyperglycemia coincides with endothelial dysfunction and coagulation activation in vivo. *Diabetes*, 55, 480-6.

NIKITOVIC, D., ASSOUTI, M., SIFAKI, M., KATONIS, P., KRASAGAKIS, K., KARAMANOS, N. K. & TZANAKAKIS, G. N. 2008. Chondroitin sulfate and heparan sulfate-containing proteoglycans are both partners and targets of basic fibroblast growth factor-mediated proliferation in human metastatic melanoma cell lines. *Int J Biochem Cell Biol*, 40, 72-83.

NILSSON, B., NAKAZAWA, K., HASSELL, J. R., NEWSOME, D. A. & HASCALL, V. C. 1983. Structure of oligosaccharides and the linkage region between keratan sulfate and the core protein on proteoglycans from monkey cornea. *J Biol Chem*, 258, 6056-63.

NILSSON, O., GUO, M. H., DUNBAR, N., POPOVIC, J., FLYNN, D., JACOBSEN, C., LUI, J. C., HIRSCHHORN, J. N., BARON, J. & DAUBER, A. 2014. Short stature, accelerated bone maturation, and early growth cessation due to heterozygous aggrecan mutations. *J Clin Endocrinol Metab*, 99, E1510-8.

NINOMIYA, T., YOON, S., HAYASHI, Y., SUGANO, M., KUMON, Y., SEO, Y., SHIMIZU, K. & KASUGA, M. 1998. Clinical significance of serum hyaluronic acid as a fibrosis marker in chronic hepatitis C patients treated with interferon-alpha: histological evaluation by a modified histological activity index scoring system. *J Gastroenterol Hepatol*, 13, 68-74.

NOBUHISA, T., NAOMOTO, Y., OHKAWA, T., TAKAOKA, M., ONO, R., MURATA, T., GUNDUZ, M., SHIRAKAWA, Y., YAMATSUJI, T., HAISA, M., MATSUOKA, J., TSUJIGIWA, H., NAGATSUKA, H., NAKAJIMA, M. & TANAKA, N. 2005. Heparanase expression correlates with malignant potential in human colon cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*, 131, 229-37.

NYBERG, A., ENGSTROM-LAURENT, A. & LOOF, L. 1988. Serum hyaluronate in primary biliary cirrhosis--a biochemical marker for progressive liver damage. *Hepatology*, 8, 142-6.

O'MEARA, J. G., KARDIA, S. L., ARMON, J. J., BROWN, C. A., BOERWINKLE, E. & TURNER, S. T. 2004. Ethnic and sex differences in the prevalence,

treatment, and control of dyslipidemia among hypertensive adults in the GENOA study. *Arch Intern Med*, 164, 1313-8.

OHKAWA, S. I., SUGIURA, M., HATA, R. & NAGAI, Y. 1977. Acidic glycosaminoglycans in urine, serum and myocardium of aged patients with myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol*, 9, 541-50.

OSAGO, H., SHIBATA, T., HARA, N., KUWATA, S., KONO, M., UCHIO, Y. & TSUCHIYA, M. 2014. Quantitative analysis of glycosaminoglycans, chondroitin/dermatan sulfate, hyaluronic acid, heparan sulfate, and keratan sulfate by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Anal Biochem*, 467, 62-74.

PADBERG, J. S., WIESINGER, A., DI MARCO, G. S., REUTER, S., GRABNER, A., KENTRUP, D., LUKASZ, A., OBERLEITHNER, H., PAVENSTADT, H., BRAND, M. & KUMPERS, P. 2014. Damage of the endothelial glycocalyx in chronic kidney disease. *Atherosclerosis*, 234, 335-43.

PATTHY, L. & NIKOLICS, K. 1993. Functions of agrin and agrin-related proteins. *Trends Neurosci*, 16, 76-81.

PERETTI, T., WAISBERG, J., MADER, A. M., DE MATOS, L. L., DA COSTA, R. B., CONCEICAO, G. M., LOPES, A. C., NADER, H. B. & PINHAL, M. A. 2008. Heparanase-2, syndecan-1, and extracellular matrix remodeling in colorectal carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 20, 756-65.

PETERS, L., MOCROFT, A., SORIANO, V., ROCKSTROH, J., RAUCH, A., KARLSSON, A., KNYSZ, B., PRADIER, C., ZILMER, K. & LUNDGREN, J. D. 2013. Hyaluronic acid levels predict risk of hepatic encephalopathy and liver-related death in HIV/viral hepatitis coinfecting patients. *PLoS One*, 8, e64283.

PLICHTA, J. K. & RADEK, K. A. 2012. Sugar-coating wound repair: a review of FGF-10 and dermatan sulfate in wound healing and their potential application in burn wounds. *J Burn Care Res*, 33, 299-310.

POOLE, A. R., WITTER, J., ROBERTS, N., PICCOLO, F., BRANDT, R., PAQUIN, J. & BARON, M. 1990. Inflammation and cartilage metabolism in rheumatoid arthritis. Studies of the blood markers hyaluronic acid, orosomucoid, and keratan sulfate. *Arthritis Rheum*, 33, 790-9.

POWELL, A. K., YATES, E. A., FERNIG, D. G. & TURNBULL, J. E. 2004. Interactions of heparin/heparan sulfate with proteins: appraisal of structural factors and experimental approaches. *Glycobiology*, 14, 17r-30r.

PROCHAZKA, L., TESARIK, R. & TURANEK, J. 2014. Regulation of alternative splicing of CD44 in cancer. *Cell Signal*, 26, 2234-9.

QUANTOCK, A. J., YOUNG, R. D. & AKAMA, T. O. 2010. Structural and biochemical aspects of keratan sulphate in the cornea. *Cell Mol Life Sci*, 67, 891-906.

RAHMANI, M., WONG, B. W., ANG, L., CHEUNG, C. C., CARTHY, J. M., WALINSKI, H. & MCMANUS, B. M. 2006. Versican: signaling to transcriptional control pathways. *Can J Physiol Pharmacol*, 84, 77-92.

RAJAGOPALAN, S., MCKAY, I., FORD, I., BACHOO, P., GREAVES, M. & BRITTENDEN, J. 2007. Platelet activation increases with the severity of peripheral arterial disease: implications for clinical management. *J Vasc Surg*, 46, 485-90.

RAMANI, V. C., PURUSHOTHAMAN, A., STEWART, M. D., THOMPSON, C. A., VLODAVSKY, I., AU, J. L. & SANDERSON, R. D. 2013. The heparanase/syndecan-1 axis in cancer: mechanisms and therapies. *Febs j*, 280, 2294-306.

RAUCH, U., FENG, K. & ZHOU, X. H. 2001. Neurocan: a brain chondroitin sulfate proteoglycan. *Cell Mol Life Sci*, 58, 1842-56.

REARDON, A. J., LE GOFF, M., BRIGGS, M. D., MCLEOD, D., SHEEHAN, J. K., THORNTON, D. J. & BISHOP, P. N. 2000. Identification in vitreous and molecular



cloning of opticin, a novel member of the family of leucine-rich repeat proteins of the extracellular matrix. *J Biol Chem*, 275, 2123-9.

REITSMA, S., SLAAF, D. W., VINK, H., VAN ZANDVOORT, M. A. & OUDE EGBRINK, M. G. 2007. The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflugers Arch*, 454, 345-59.

RESNICK, H. E. & HOWARD, B. V. 2002. Diabetes and cardiovascular disease. *Annu Rev Med*, 53, 245-67.

RICCIARDELLI, C., SAKKO, A. J., WEEN, M. P., RUSSELL, D. L. & HORSFALL, D. J. 2009. The biological role and regulation of versican levels in cancer. *Cancer Metastasis Rev*, 28, 233-45.

RIDKER, P. M. 2003. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*, 107, 363-9.

RIDKER, P. M., BURING, J. E., COOK, N. R. & RIFAI, N. 2003. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation*, 107, 391-7.

RIDKER, P. M., HENNEKENS, C. H., BURING, J. E. & RIFAI, N. 2000. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med*, 342, 836-43.

RIDKER, P. M., STAMPFER, M. J. & RIFAI, N. 2001. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *Jama*, 285, 2481-5.

ROBERTS, J., KAHLE, M. P. & BIX, G. J. 2012. Perlecan and the blood-brain barrier: beneficial proteolysis? *Front Pharmacol*, 3, 155.

SADOWITZ, B., SEYMOUR, K., GAHTAN, V. & MAIER, K. G. 2012. The role of hyaluronic acid in atherosclerosis and intimal hyperplasia. *J Surg Res*, 173, e63-72.

SAINIO, A., JOKELA, T., TAMMI, M. I. & JARVELAINEN, H. 2010. Hyperglycemic conditions modulate connective tissue reorganization by human vascular smooth muscle cells through stimulation of hyaluronan synthesis. *Glycobiology*, 20, 1117-26.

SANDERSON, P. N., HUCKERBY, T. N. & NIEDUSZYNSKI, I. A. 1987. Conformational equilibria of alpha-L-iduronate residues in disaccharides derived from heparin. *Biochem J*, 243, 175-81.

SCHMALFELDT, M., DOURS-ZIMMERMANN, M. T., WINTERHALTER, K. H. & ZIMMERMANN, D. R. 1998. Versican V2 is a major extracellular matrix component of the mature bovine brain. *J Biol Chem*, 273, 15758-64.

SCHNITZER, E., DAGAN, A., KRIMSKY, M., LICHTENBERG, D., PINCHUK, I., SHINAR, H. & YEDGAR, S. 2000. Interaction of hyaluronic acid-linked phosphatidylethanolamine (HyPE) with LDL and its effect on the susceptibility of LDL lipids to oxidation. *Chem Phys Lipids*, 104, 149-60.

SCOTT, R. A. & PANITCH, A. 2013. Glycosaminoglycans in biomedicine. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 5, 388-98.

SEIDLER, D. G. 2012. The galactosaminoglycan-containing decorin and its impact on diseases. *Curr Opin Struct Biol*, 22, 578-82.

SEZAI, A., HATA, M., NIINO, T., KASAMAKI, Y., NAKAI, T., HIRAYAMA, A. & MINAMI, K. 2009. Study of the factors related to atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting: a search for a marker to predict the occurrence of atrial fibrillation before surgical intervention. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 137, 895-900.

SHAO, C., SHI, X., WHITE, M., HUANG, Y., HARTSHORN, K. & ZAIA, J. 2013. Comparative glycomics of leukocyte glycosaminoglycans. *Febs j*, 280, 2447-61.

SHARIF, M., GEORGE, E., SHEPSTONE, L., KNUDSON, W., THONAR, E. J., CUSHNAGHAN, J. & DIEPPE, P. 1995. Serum hyaluronic acid level as a predictor of disease progression in osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum*, 38, 760-7.

SHARMA, S., BARRETT, F., ADAMSON, J., TODD, A., MEGSON, I. L., ZENTLER-MUNRO, P. L. & MACRURY, S. M. 2012. Diabetic fatty liver disease is associated with specific changes in blood-borne markers. *Diabetes Metab Res Rev*, 28, 343-8.

SHWORAK, N. W., SHIRAKAWA, M., MULLIGAN, R. C. & ROSENBERG, R. D. 1994. Characterization of ryudocan glycosaminoglycan acceptor sites. *J Biol Chem*, 269, 21204-14.

SILVA, C. C., DOMINGUES, A. L., LOPES, E. P., MORAIS, C. N., SANTOS, R. B., LUNA, C. F., NADER, H. B. & MARTINS, J. R. 2011. Schistosomiasis mansoni: ultrasound-evaluated hepatic fibrosis and serum concentrations of hyaluronic acid. *Ann Trop Med Parasitol*, 105, 233-9.

SIVAN, S. S., WACHTEL, E. & ROUGHLEY, P. 2014. Structure, function, aging and turnover of aggrecan in the intervertebral disc. *Biochim Biophys Acta*, 1840, 3181-9.

SKIDMORE, M. A., GUIMOND, S. E., RUDD, T. R., FERNIG, D. G., TURNBULL, J. E. & YATES, E. A. 2008. The activities of heparan sulfate and its analogue heparin are dictated by biosynthesis, sequence, and conformation. *Connect Tissue Res*, 49, 140-4.

SNOW, D. M. 2014. Neuronal growth cones and regeneration: gridlock within the extracellular matrix. *Neural Regen Res*, 9, 341-2.

SOTOODEHNEJADNEMATALAHI, F. & BURKE, B. 2013. Structure, function and regulation of versican: the most abundant type of proteoglycan in the extracellular matrix. *Acta Med Iran*, 51, 740-50.

SPARKS, J. D., SPARKS, C. E. & KRITCHEVSKY, D. 1986. Hypercholesterolemia and aortic glycosaminoglycans of rabbits fed semi-purified diets containing sucrose and lactose. *Atherosclerosis*, 60, 183-96.

SPINAS, E., KRITAS, S. K., SAGGINI, A., MOBILI, A., CARAFFA, A., ANTINOLFI, P., PANTALONE, A., TEI, M., SPEZIALI, A., SAGGINI, R. & CONTI, P. 2014. Role of mast cells in atherosclerosis: a classical inflammatory disease. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 27, 517-21.

SRINIVASAN, S. R., YOST, K., RADHAKRISHNAMURTHY, B., DALFERES, E. R., JR. & BERENSON, G. S. 1980. Lipoprotein-hyaluronate associations in human aorta fibrous plaque lesions. *Atherosclerosis*, 36, 25-37.

STENVINKEL, P., HEIMBURGER, O., WANG, T., LINDHOLM, B., BERGSTROM, J. & ELINDER, C. G. 1999. High serum hyaluronan indicates poor survival in renal replacement therapy. *Am J Kidney Dis*, 34, 1083-8.

STENVINKEL, P., LINDHOLM, B., HEIMBURGER, M. & HEIMBURGER, O. 2000. Elevated serum levels of soluble adhesion molecules predict death in pre-dialysis patients: association with malnutrition, inflammation, and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant*, 15, 1624-30.

STERN, R., ASARI, A. A. & SUGAHARA, K. N. 2006. Hyaluronan fragments: an information-rich system. *Eur J Cell Biol*, 85, 699-715.

SUN, L., LI, H., QU, L., ZHU, R., FAN, X., XUE, Y., XIE, Z. & FAN, H. 2014. Immobilized lentivirus vector on chondroitin sulfate-hyaluronate acid-silk fibroin hybrid scaffold for tissue-engineered ligament-bone junction. *Biomed Res Int*, 2014, 816979.

SUZUKI, A., ANGULO, P., LYMP, J., LI, D., SATOMURA, S. & LINDOR, K. 2005. Hyaluronic acid, an accurate serum marker for severe hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*, 25, 779-86.

SZATMARI, T. & DOBRA, K. 2013. The role of syndecan-1 in cellular signaling and its effects on heparan sulfate biosynthesis in mesenchymal tumors. *Front Oncol*, 3, 310.

TAKAOKA, M., NAOMOTO, Y., OHKAWA, T., UETSUKA, H., SHIRAKAWA, Y., UNO, F., FUJIWARA, T., GUNDUZ, M., NAGATSUKA, H., NAKAJIMA, M., TANAKA, N. & HAISA, M. 2003. Heparanase expression correlates with invasion and poor prognosis in gastric cancers. *Lab Invest*, 83, 613-22.

TAKEDA, N. & TAMURA, J. 2014. Synthesis of biotinylated keratan sulfate repeating disaccharides. *Biosci Biotechnol Biochem*, 78, 29-37.

TAMMI, M., RONNEMAA, T. & VIKARI, J. 1979. Rapid increase of glycosaminoglycans in the aorta of hypercholesterolemic rats; a negative correlation with plasma HDL concentration. *Acta Physiol Scand*, 105, 188-94.

TAMMI, M., SEPPALA, P. O., LEHTONEN, A. & MOTTONEN, M. 1978. Connective tissue components in normal and atherosclerotic human coronary arteries. *Atherosclerosis*, 29, 191-4.

TAMURA, J., NAKAMURA-YAMAMOTO, T., NISHIMURA, Y., MIZUMOTO, S., TAKAHASHI, J. & SUGAHARA, K. 2010. Synthesis of the glycosaminoglycan-protein linkage tetraosyl peptide moieties of betaglycan, which serve as a hexosamine acceptor for enzymatic glycosyl transfer. *Carbohydr Res*, 345, 2115-23.

TANIKAWA, K. 1994. Serum marker for hepatic fibrosis and related liver pathology. *Pathol Res Pract*, 190, 960-8.

TENG, Y. H., AQUINO, R. S. & PARK, P. W. 2012. Molecular functions of syndecan-1 in disease. *Matrix Biol*, 31, 3-16.

THEOCHARIS, D. A., SKANDALIS, S. S., NOULAS, A. V., PAPAGEORGAKOPOULOU, N., THEOCHARIS, A. D. & KARAMANOS, N. K. 2008. Hyaluronan and chondroitin sulfate proteoglycans in the supramolecular organization of the mammalian vitreous body. *Connect Tissue Res*, 49, 124-8.

TISHLER, M., YARON, I., SHIRAZI, I. & YARON, M. 1999. Hydroxychloroquine treatment for primary Sjogren's syndrome: its effect on salivary and serum inflammatory markers. *Ann Rheum Dis*, 58, 253-6.

TIWARI, V., CLEMENT, C., XU, D., VALYI-NAGY, T., YUE, B. Y., LIU, J. & SHUKLA, D. 2006. Role for 3-O-sulfated heparan sulfate as the receptor for herpes simplex virus type 1 entry into primary human corneal fibroblasts. *J Virol*, 80, 8970-80.

TOLLEFSEN, D. M. 2010. Vascular dermatan sulfate and heparin cofactor II. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 93, 351-72.

TOOLE, B. P., WIGHT, T. N. & TAMMI, M. I. 2002. Hyaluronan-cell interactions in cancer and vascular disease. *J Biol Chem*, 277, 4593-6.

TORNER, E., BUSSALLEU, E., BRIZ, M. D., YESTE, M. & BONET, S. 2014. Embryo development and sex ratio of in vitro-produced porcine embryos are affected by the energy substrate and hyaluronic acid added to the culture medium. *Reprod Fertil Dev*, 26, 570-7.

TOUSOULIS, D., KAMPOLI, A. M., PAPAGEORGIOU, N., ANDROULAKIS, E., ANTONIADES, C., TOUTOUZAS, K. & STEFANADIS, C. 2011. Pathophysiology of atherosclerosis: the role of inflammation. *Curr Pharm Des*, 17, 4089-110.

TRAVIS, J. A., HUGHES, M. G., WONG, J. M., WAGNER, W. D. & GEARY, R. L. 2001. Hyaluronan enhances contraction of collagen by smooth muscle cells and adventitial fibroblasts: Role of CD44 and implications for constrictive remodeling. *Circ Res*, 88, 77-83.

TROWBRIDGE, J. M. & GALLO, R. L. 2002. Dermatan sulfate: new functions from an old glycosaminoglycan. *Glycobiology*, 12, 117r-25r.

TROWBRIDGE, J. M., RUDISILL, J. A., RON, D. & GALLO, R. L. 2002. Dermatan sulfate binds and potentiates activity of keratinocyte growth factor (FGF-7). *J Biol Chem*, 277, 42815-20.

TURAN, Y., BAL, S., GURGAN, A., TOPAC, H. & KOSEOGLU, M. 2007. Serum hyaluronan levels in patients with knee osteoarthritis. *Clin Rheumatol*, 26, 1293-8.

UENO, M., YAMADA, S., ZAKO, M., BERNFIELD, M. & SUGAHARA, K. 2001. Structural characterization of heparan sulfate and chondroitin sulfate of syndecan-1 purified from normal murine mammary gland epithelial cells. Common phosphorylation of xylose and differential sulfation of galactose in the protein linkage region tetrasaccharide sequence. *J Biol Chem*, 276, 29134-40.

VALLEN, M. J., VAN DER STEEN, S. C., VAN TILBORG, A. A., MASSUGER, L. F. & VAN KUPPEVELT, T. H. 2014. Sulfated sugars in the extracellular matrix orchestrate ovarian cancer development: 'when sweet turns sour'. *Gynecol Oncol*, 135, 371-81.

VAN DOORMAAL, F. F., BULLER, H. R. & MIDDELDORP, S. 2008. Development in anticoagulant therapy. *Crit Rev Oncol Hematol*, 66, 145-54.

VERHEYE, S., MARKOU, C. P., SALAME, M. Y., WAN, B., KING, S. B., 3RD, ROBINSON, K. A., CHRONOS, N. A. & HANSON, S. R. 2000. Reduced thrombus formation by hyaluronic acid coating of endovascular devices. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20, 1168-72.

VIGETTI, D., KAROUSOU, E., VIOLA, M., DELEONIBUS, S., DE LUCA, G. & PASSI, A. 2014. Hyaluronan: biosynthesis and signaling. *Biochim Biophys Acta*, 1840, 2452-9.

VINK, H., CONSTANTINESCU, A. A. & SPAAN, J. A. 2000. Oxidized lipoproteins degrade the endothelial surface layer : implications for platelet-endothelial cell adhesion. *Circulation*, 101, 1500-2.

VIOLA, M., BARTOLINI, B., VIGETTI, D., KAROUSOU, E., MORETTO, P., DELEONIBUS, S., SAWAMURA, T., WIGHT, T. N., HASCALL, V. C., DE LUCA, G. & PASSI, A. 2013. Oxidized low density lipoprotein (LDL) affects hyaluronan synthesis in human aortic smooth muscle cells. *J Biol Chem*, 288, 29595-603.

VLAHU, C. A., LEMKES, B. A., STRUIJK, D. G., KOOPMAN, M. G., KREDIET, R. T. & VINK, H. 2012. Damage of the endothelial glycocalyx in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, 23, 1900-8.

WEINDL, G., SCHALLER, M., SCHAFFER-KORTING, M. & KORTING, H. C. 2004. Hyaluronic acid in the treatment and prevention of skin diseases: molecular biological, pharmaceutical and clinical aspects. *Skin Pharmacol Physiol*, 17, 207-13.

WESTERGREN-THORSSON, G., PERSSON, S., ISAKSSON, A., ONNERVIK, P. O., MALMSTROM, A. & FRANSSON, L. A. 1993. L-iduronate-rich glycosaminoglycans inhibit growth of normal fibroblasts independently of serum or added growth factors. *Exp Cell Res*, 206, 93-9.

WHITELOCK, J. M., MELROSE, J. & IOZZO, R. V. 2008. Diverse cell signaling events modulated by perlecan. *Biochemistry*, 47, 11174-83.

WIGHT, T. N., KINSELLA, M. G., EVANKO, S. P., POTTER-PERIGO, S. & MERRILEES, M. J. 2014. Versican and the regulation of cell phenotype in disease. *Biochim Biophys Acta*, 1840, 2441-51.

WILKINSON, C. R., BOWER, L. M. & WARREN, C. 1996. Measurement of hyaluronidase activity in normal human serum. *J Pharm Biomed Anal*, 14, 707-12.

WILLIAMS, K. J. & TABAS, I. 1995. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 15, 551-61.

WILLIS, A. I., PIERRE-PAUL, D., SUMPPIO, B. E. & GAHTAN, V. 2004. Vascular smooth muscle cell migration: current research and clinical implications. *Vasc Endovascular Surg*, 38, 11-23.

WILLIS, C. M. & KLUPPEL, M. 2014. Chondroitin sulfate-E is a negative regulator of a pro-tumorigenic Wnt/beta-catenin-Collagen 1 axis in breast cancer cells. *PLoS One*, 9, e103966.



WILSON, P. W., PENCINA, M., JACQUES, P., SELHUB, J., D'AGOSTINO, R., SR. & O'DONNELL, C. J. 2008. C-reactive protein and reclassification of cardiovascular risk in the Framingham Heart Study. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 1, 92-7.

WILUSZ, R. E., SANCHEZ-ADAMS, J. & GUILAK, F. 2014. The structure and function of the pericellular matrix of articular cartilage. *Matrix Biol*, 39, 25-32.

WOODS, A. & COUCHMAN, J. R. 2001. Proteoglycan isolation and analysis. *Curr Protoc Cell Biol*, Chapter 10, Unit 10.7.

WOSU, L., PARISELLA, R. & KALANT, N. 1983. Effect of low density lipoprotein on glycosaminoglycan secretion by cultured human smooth muscle cells and fibroblasts. Influence of serum concentration and cell proliferation rate. *Atherosclerosis*, 48, 205-20.

WU, Y. J., LA PIERRE, D. P., WU, J., YEE, A. J. & YANG, B. B. 2005. The interaction of versican with its binding partners. *Cell Res*, 15, 483-94.

XIA, F., LAI, E. C., LAU, W. Y., MA, K., LI, X., BIE, P. & QIAN, C. 2012. High serum hyaluronic acid and HBV viral load are main prognostic factors of local recurrence after complete radiofrequency ablation of hepatitis B-related small hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol*, 19, 1284-91.

YAHYA, R. S., EL-BINDARY, A. A., EL-MEZAYEN, H. A., ABDELMASSEH, H. M. & EISSA, M. A. 2014. Biochemical evaluation of hyaluronic acid in breast cancer. *Clin Lab*, 60, 1115-21.

YAMAGUCHI, R., YAMAMOTO, T., MOTOMURA, G., IKEMURA, S., IWASAKI, K., ZHAO, G., DOI, T. & IWAMOTO, Y. 2014. Bone and cartilage metabolism markers in synovial fluid of the hip joint with secondary osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 53, 2191-5.

YANG, Z., TU, Q., WANG, J. & HUANG, N. 2012. The role of heparin binding surfaces in the direction of endothelial and smooth muscle cell fate and re-endothelialization. *Biomaterials*, 33, 6615-25.

YOO, T., KIM, S. H., KIM, Y. K., CHO, S. Y. & PARK, S. J. 2013. Low-dose heparin therapy during living donor right hepatectomy is associated with few side effects and does not increase vascular thrombosis in liver transplantation. *Transplant Proc*, 45, 222-4.

YOON, S. J., FANG, Y. H., LIM, C. H., KIM, B. S., SON, H. S., PARK, Y. & SUN, K. 2009. Regeneration of ischemic heart using hyaluronic acid-based injectable hydrogel. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 91, 163-71.

YOSHIOKA, Y., KOZAWA, E., URAKAWA, H., ARAI, E., FUTAMURA, N., ZHUO, L., KIMATA, K., ISHIGURO, N. & NISHIDA, Y. 2013. Suppression of hyaluronan synthesis alleviates inflammatory responses in murine arthritis and in human rheumatoid synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum*, 65, 1160-70.

YUNG, S., COLES, G. A., WILLIAMS, J. D. & DAVIES, M. 1994. The source and possible significance of hyaluronan in the peritoneal cavity. *Kidney Int*, 46, 527-33.

ZAIA, J. 2013. Glycosaminoglycan glycomics using mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics*, 12, 885-92.

ZHANG, L. 2010. Glycosaminoglycan (GAG) biosynthesis and GAG-binding proteins. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 93, 1-17.

ZHOU, Z. H., KARNAUKHOVA, E., RAJABI, M., REEDER, K., CHEN, T., DHAWAN, S. & KOZLOWSKI, S. 2014. Oversulfated chondroitin sulfate binds to chemokines and inhibits stromal cell-derived factor-1 mediated signaling in activated T cells. *PLoS One*, 9, e94402.

ZONG, Y. & JIN, R. 2013. Structural mechanisms of the agrin-LRP4-MuSK signaling pathway in neuromuscular junction differentiation. *Cell Mol Life Sci*, 70, 3077-88.