
ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ «ΑΤΤΙΚΟΝ»



Β΄ Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική

Διευθυντής

Καθηγητής Γεράσιμος Φιλιππάτος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ RAGEs ΜΕ ΤΗ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟ

ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΑΛ.ΤΣΙΡΕΜΠΟΛΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2023

Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ RAGEs ΜΕ ΤΗ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟ

Ημερομηνία κατάθεσης αίτησης εκπόνησης διδακτορικής διατριβής: 25/08/2014

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής: 21/10/2014

Ημερομηνία έγκρισης θέματος από τη Γενική Συνέλευση Τμήματος Ιατρικής: 30/03/2015

Ημερομηνία κατάθεσης πρώτης έκθεσης προόδου: 03/10/2016

Ημερομηνία κατάθεσης δεύτερης έκθεσης προόδου: 13/06/2018

Ημερομηνία κατάθεσης τρίτης έκθεσης προόδου: 10/05/2022

Ημερομηνία κατάθεσης της διδακτορικής διατριβής: 21/06/2023

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΑΘΗΝΩΝ

Καθηγητής Γεράσιμος Σιάσος

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Λουκιανός Ραλλίδης, Καθηγητής Καρδιολογίας, Επιβλέπων Διατριβής
Μαρία Αναστασίου- Νανά, Ομότιμη Καθηγήτρια Καρδιολογίας με αντικατάσταση της
λόγω αφυπηρέτησης, από τον Καθηγητή Καρδιολογίας Σπυριδών Δευτεραίο
Ιωάννης Ρίζος, Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας με αντικατάστασή του λόγω
αφυπηρέτησης, από τον Καθηγητή Καρδιολογίας Ιωάννη Παρίση.

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Λουκιανός Ραλλίδης, Καθηγητής Καρδιολογίας
Σπυριδών Δευτεραίος, Καθηγητής Καρδιολογίας
Γεράσιμος Φιλιππάτος, Καθηγητής Καρδιολογία
Ιωάννης Παρίσης, Καθηγητής Καρδιολογίας
Ιωάννης Ρίζος, Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας
Χρήστος Κρούπης, Αναπληρωτής Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας
Ιωάννης Τούμπουλης, Επίκουρος Καθηγητής Καρδιοχειρουργικής

ΒΑΘΜΟΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

ΑΡΙΣΤΑ

Η έγκριση διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα (νόμος 5343/1932, άρθρο 202, παράγραφος 2)

ΟΡΚΟΣ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

"Ορκίζομαι στον Απόλλωνα τον Ιατρό και στον Ασκληπιό και στην Υγεία και στην πανάκεια και σ' όλους τους Θεούς επικαλούμενος την μαρτυρία τους, να τηρήσω πιστά κατά τη δύναμη και την κρίση μου αυτό τον όρκο και το συμβόλαιό μου αυτό. Να θεωρώ αυτόν που μου δίδαξε αυτή την τέχνη ίσο με τους γονείς μου και να μοιραστώ μαζί μου τα υπάρχοντά μου και τα χρήματά μου αν έχει ανάγκη φροντίδας. Να θεωρώ τους απογόνους του ίσους με τ' αδέρφια μου και να τους διδάξω την τέχνη αυτή αν θέλουν να τη μάθουν, χωρίς αμοιβή και συμβόλαιο και να μεταδώσω με παραγγελίες, οδηγίες και συμβουλές όλη την υπόλοιπη γνώση μου και στα παιδιά μου και στα παιδιά εκείνου με δίδαξε και στους άλλους μαθητές που έχουν κάνει γραπτή συμφωνία μαζί μου και σ' αυτούς που έχουν ορκισθεί στον ιατρικό νόμο και σε κανέναν άλλο και να θεραπεύω τους πάσχοντες κατά τη δύναμή μου και την κρίση μου χωρίς ποτέ, εκουσίως, να τους βλάψω ή να τους αδικήσω. Και να μη δώσω ποτέ σε κανένα, έστω κι αν μου το ζητήσει, θανατηφόρο φάρμακο, ούτε να δώσω ποτέ τέτοια συμβουλή. Ομοίως να μη δώσω ποτέ σε γυναίκα φάρμακο για ν' αποβάλει. Να διατηρήσω δε τη ζωή μου και την τέχνη μου καθαρή και αγνή. Και να μη χειρουργήσω πάσχοντες από λίθους αλλά ν' αφήσω την πράξη αυτή για τους ειδικούς. Και σ' όποια σπίτια κι αν μπω, να μπω για την ωφέλεια των πασχόντων αποφεύγοντας κάθε εκούσια αδικία και βλάβη και κάθε γενετήσια πράξη και με γυναίκες και με άνδρες, ελεύθερους και δούλους. Και ό,τι δω ή ακούσω κατά την άσκηση του επαγγέλματός μου, ή κι εκτός, για τη ζωή των ανθρώπων, που δεν πρέπει ποτέ να κοινοποιηθεί, να σιωπήσω και να το τηρήσω μυστικό. Αν τον όρκο μου αυτό τηρήσω πιστά και δεν τον αθετήσω, είτε ν' απολαύσω για πάντα την εκτίμηση όλων των ανθρώπων για τη ζωή μου και για την τέχνη μου, αν όμως παραβώ και αθετήσω τον όρκο μου να υποστώ τα αντίθετα από αυτά".

ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ Ο ΚΩΟΣ (460-370 π.Χ)

Στους γονείς μου..

Στη σύζυγο μου, Ευδοκία..

Στους δασκάλους μου..

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I) Ευχαριστίες	
II) Βιογραφικό σημείωμα.....	9
III) Πρόλογος.....	12
IV) Γενικό μέρος.....	15
1) Επιδημιολογία στεφανιαίας νόσου.....	15
2) Θεωρίες για την αθηροσκλήρωση.....	20
3) Παράγοντες κινδύνου στεφανιαίας νόσου	22
3.1. Ηλικία – Φύλο.....	24
3.2. Οικογενειακό ιστορικό	25
3.3. Κάπνισμα.....	25
3.4. Σακχαρώδης διαβήτης.....	26
3.5. Δυσλιπιδαιμία.....	27
3.6. Αρτηριακή υπέρταση.....	29
3.7. Παχυσαρκία – Καθιστική ζωή.....	30
4) Φλεγμονή και στεφανιαία νόσος	32
4.1. Εισαγωγή.....	32
4.2. Παθοφυσιολογία της φλεγμονής.....	34
- Ο ρόλος της μη ειδικής ανοσίας - το φλεγμονόσωμα.....	35
- Ο ρόλος της ειδικής ανοσίας.....	37
- LDL και HDL χοληστερόλη. Η θεωρία της «μεταβολικής φλεγμονής».....	38
4.3. Οξειδωτικό stress και αθηροσκλήρυνση.....	40
4.4. Δείκτες φλεγμονής και στεφανιαία νόσος.....	41
5) Τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs).....	44
5.1. AGEs	44
5.2. Υποδοχείς των AGEs (RAGEs).....	46

5.3. Εκκρινόμενη ισομορφή RAGE (sRAGE).....	50
6) Πρωτεΐνες S100/καλγκρανουλίνες.....	52
6.1. Εισαγωγή	52
6.2. S100B.....	52
6.3. S100A12 (EN-RAGE)	53
7) Πρωτεΐνη DJ-1.....	54
V) Ειδικό μέρος.....	56
1. Εισαγωγή – Σκοπός της μελέτης	57
2. Υλικό – Μέθοδοι – Πληθυσμός μελέτης.....	59
3. Έντυπο συμμετοχής στη μελέτη.....	61
4. Βιοχημικές μετρήσεις – προσδιορισμοί.....	64
5. Στατιστική ανάλυση.....	65
6. Αποτελέσματα ερευνητικής εργασίας.....	65
i. Χαρακτηριστικά πληθυσμού αναφοράς.....	65
ii. Προσδέτες των RAGE.....	69
iii. DJ-1, sRAGE και ο λόγος AGEs/sRAGEs.....	72
iv. Συσχετίσεις – Ανάλυση παλινδρόμησης	77
7. Συζήτηση.....	81
i. IL-6	81
ii. Άξονας AGEs – RAGEs και sRAGE.....	82
iii. S100B – S100A12.....	90
iv. DJ-1.....	92
8. Πλεονεκτήματα – Περιορισμοί – Προτάσεις	95
9. Συμπεράσματα	97
10. Περίληψη.....	98
11. Περίληψη στην αγγλική γλώσσα	99
VI) Βιβλιογραφικές αναφορές.....	100
VII) Συντομογραφίες.....	125

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή είναι πόνημα της ερευνητικής δραστηριότητας της Β' Πανεπιστημιακής Καρδιολογικής Κλινικής του Γενικού Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου «Αττικόν» σε συνεργασία με το Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο St. Michael's του Τορόντο όπου και έλαβε χώρα η επεξεργασία των δειγμάτων. Με την παρουσίαση της διατριβής μου θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που με βοήθησαν σε όλη τη διάρκεια της έρευνας, από την έναρξη μέχρι και την ολοκλήρωσή της.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω το Διευθυντή της Β' Πανεπιστημιακής Καρδιολογικής Κλινικής, καθηγητή Κο. Γεράσιμο Φιλιππάτο και όλους τους Επιμελητές αυτής για την αμέριστη εμπιστοσύνη που μου έδειξαν και για τη δυνατότητα που μου προσέφεραν να ολοκληρώσω την παρούσα μελέτη αλλά και να συμμετέχω σε άλλες σημαντικές ερευνητικές δραστηριότητες και δρώμενα της πανεπιστημιακής κλινικής σε όλη την διάρκεια της ειδικότητας μου.

Ιδιαίτερος θα ήθελα να εκφράσω τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη στους καθηγητές μου Κο. Ιωάννη Ρίζο, που ήταν και ο εμπνευστής αυτής της προσπάθειας, και Κο. Λουκιανό Ραλλίδη. Η ορθή καθοδήγησή τους υπήρξε σημείο αναφοράς της ερευνητικής και κλινικής μου δραστηριότητας. Τα επιστημονικά τους ενδιαφέροντα και η εν γένει συμπεριφορά τους ως ιατροί και ως άνθρωποι αποτέλεσαν για μένα ένα φωτεινό παράδειγμα. Θα ήταν παράλειψή μου να μην αναφερθώ στον απεριόριστο χρόνο που μου αφιέρωσαν και στη μεγάλη τους προθυμία να μου προσφέρουν τη βοήθειά τους σε όλες τις δυσκολίες της έρευνάς μου καθοδηγώντας με ακούραστα σε κάθε μου βήμα. Κοντά τους έμαθα να δουλεύω μεθοδικά, συστηματικά, με σεβασμό, υπομονή και επιμονή έχοντας ως γνώμονα τον άνθρωπο.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον συνάδελφο και φίλο Ιωάννη-Αλέξανδρο Δροσάτο και τον Mr. Jim Tsororis του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου St. Michael's του Τορόντο. Με τις πολύτιμες γνώσεις τους έπαιξαν σημαντικό ρόλο στο σχεδιασμό, την έναρξη και ολοκλήρωση της εργασίας.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: ΤΣΙΡΕΜΠΙΟΛΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

Πατρώνυμο: ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ

Ημερομηνία γέννησης: 03/03/1981

Υπηκοότητα: ΕΛΛΗΝΙΚΗ

ΣΠΟΥΔΕΣ - ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- Ευρωπαϊκή Πιστοποίηση Ηχοκαρδιογραφίας της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Καρδιαγγειακής Απεικόνισης (EACVI - European Association of Cardiovascular Imaging) κατόπιν εξετάσεων.
- Διπλωματούχος της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας (ESC) κατόπιν εξετάσεων.
- Advanced Cardiac Life Support (ACLS) Provider, Ελληνική Εταιρεία Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης
- Υπ. Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών με θέμα « Συσχέτιση των RAGEs με τη στεφανιαία νόσο»
- 2012-2016 Ειδικευόμενος Καρδιολογίας Β ΎΠανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική Π.Γ.Ν "Αττικόν".
- 2010-2012 Ειδικευόμενος Παθολογίας Α ΎΠαθολογική Κλινική 401 ΓΣΝΑ
- 2000-2006 Στρατιωτική Σχολή Αξιωματικών Σωμάτων (ΣΣΑΣ) -Ιατρική Σχολή Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης [Βαθμός πτυχίου: "ΛΙΑΝ ΚΑΛΩΣ – ΟΚΤΩ"(7.71)]

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 02/2019- Σήμερα: Επιμελητής Καρδιολογικής Κλινικής 401 ΓΣΝΑ.
- 08/2017-02/2019: Διευθυντής Ιατρείου Κέντρο Τεθωρακισμένων (ΚΕ.ΤΘ – Αυλώνας Αττικής)
- 02/2017-08/2017: Επιμελητής Καρδιολογικής Κλινικής 401 ΓΣΝΑ
- 2012-2016: Ειδικευόμενος Καρδιολογίας, Β ΎΠανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική Π.Γ.Ν "Αττικόν".

- 2010-2012: Έναρξη ειδικότητας Καρδιολογίας με επιτυχή συμπλήρωση δύο ετών Παθολογίας στο 401 ΓΣΝΑ και σύνολο εφημεριών 120.
- 2008-2010: Διευθυντής Ιατρείου 1^{ης} Ταξιαρχίας Αεροπορίας Στρατού (Στεφανοβίκειο Μαγνησίας)
- 12/2008-05/2009: Διευθυντής Ιατρείου Ειρηνευτικής Αποστολής- Ελληνικής Δύναμης Κοσσυφοπέδιου (ΕΛΔΥΚΟ-Μιτρόβιτσα Κοσσόβου)
- 2007: Εκπαιδευόμενος Σχολής Εκπαίδευσης Υγειονομικού, με συμμετοχή σε εφημερίες του ΤΕΠ του 401 ΓΣΝΑ

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ – ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΤΑ ΠΛΑΙΣΙΑ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

- Emerging markers of inflammation and oxidative stress as potential predictors of coronary artery disease. **Tsirebolos G**, Tsoporis JN, Drosatos I-A, Izhar S, Gkavogiannakis N, Sakadakis E, Triantafyllis AS, Parker TG, Rallidis LS, Rizos I. *International Journal of Cardiology*. 2023; 376:127-133.
- Decreased level of the soluble form of the receptor for advanced glycation end products is associated with increased risk for coronary artery disease in non-diabetic patients. **Tsirebolos G**, Tsoporis JN, Rigopoulos A, Sakadakis E, Simoudis A, Izhar S, Parker TG, Rizos I. *AHA Scientific Sessions 2019*; 2019 Nov 16-18, Philadelphia, PA.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

- Differential Regulation of Circulating Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products (sRAGEs) and Its Ligands S100A8/A9 Four Weeks Post an Exercise Intervention in a Cohort of Young Army Recruits. Drosatos I-A, Tsoporis JN, Izhar S, Gupta S, **Tsirebolos G**, Sakadakis E, Triantafyllis AS, Rigopoulos A, Rigopoulos D, Rallidis LS, Rizos I, Parker TG. *Biomolecules*. 2021; 11(9):1354.
- Prevalence of heterozygous familial hypercholesterolemia and combined hyperlipidemia phenotype in very young survivors of myocardial infarction and their association with the severity of atheromatous burden. Rallidis LS, Kosmas N, **Tsirebolos G**, Rallidi M, Kiouri E, Kalpakos D. *J Clin Lipidol*. 2019 May-Jun;13(3):502-508.
- The association between homocysteine levels, Mediterranean diet and cardiovascular disease: a case-control study. Foscolou A, Rallidis LS, **Tsirebolos G**, Critselis E, Katsimardos A, Drosatos A, Chrysohoou C, Tousoulis D, Pitsavos C, Panagiotakos DB. *Int J Food Sci Nutr*. 2019 Aug;70(5):603-611
- Characteristics and Long-Term Prognosis of Patients ≤ 35 Years of Age with ST Segment Elevation Myocardial Infarction and "Normal or Near Normal" Coronary Arteries. Rallidis LS, Gialeraki A, Triantafyllis AS, **Tsirebolos G**, Liakos G, Moutsatsou P, Iliodromitis E. *Am J Cardiol*. 2017 Sep 1;120(5):740-746.
- Prothrombotic genetic risk factors in patients with very early ST-segment elevation myocardial infarction. Rallidis LS, Gialeraki A, **Tsirebolos G**, Tsalavoutas S, Rallidi M, Iliodromitis E. *J Thromb Thrombolysis*. 2017 Aug;44(2):267-273.
- Prevalence of heterozygous familial hypercholesterolaemia and its impact on long-term prognosis in patients with very early ST-segment elevation myocardial infarction in the era of statins. Rallidis LS, Triantafyllis AS, **Tsirebolos G**, Katsaras D, Rallidi M, Moutsatsou P, Lekakis J. *Atherosclerosis*. 2016 Jun; 249:17-21.

- PET/CT and CMR imaging in a patient with chest pain and unobstructed coronary vessels. Anagnostopoulos CD, Georgakopoulos A, Pianou N, **Tsirebolos G**, Nekolla SG, Danias PG, Rizos IA. *J Nucl Cardiol*. 2016 Apr;23(2):326-30.
- Circadian pattern of symptoms onset in patients ≤ 35 years presenting with ST-segment elevation acute myocardial infarction. Rallidis LS, Triantafyllis AS, Sakadakis EA, Gialeraki A, Varounis C, Rallidi M, **Tsirebolos G**, Liakos G, Dargres N, Lekakis J. *Eur J Intern Med*. 2015 Oct;26(8):607-10
- «Η αναστολή της PCSK9 ως αναδυόμενη υπολιπιδαιμική αγωγή». **Τσιρέμπολος Γ**, Παλλίδης Λ.
- «Παθήσεις Αορτής». **Τσιρέμπολος Γ**, Παλλίδης Λ. Υπερηχοκαρδιογραφία στην κλινική πράξη. 2019:457-476
- «Διαχείριση ασθενούς με μυοπάθεια από στατίνες». **Τσιρέμπολος Γ**, Παλλίδης Λ. Καρδιολογική γνώμη 2013;8:287-291

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ – ΒΡΑΒΕΥΣΕΙΣ

- Βραβείο καλύτερης επίδοσης (1^{ος}) μεταξύ των ειδικευομένων της Β΄ Πανεπιστημιακής Καρδιολογικής Κλινικής στις γραπτές εσωτερικές εξετάσεις αξιολόγησης για 3 συνεχόμενα έτη (2013,2014,2015)
- « Βραβείο Καλύτερου Ερευνητικού Πρωτοκόλλου 2015 » για την εργασία `` Συσχέτιση των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου με τους διαλυτούς και μεμβρανικούς υποδοχείς των τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (soluble receptor for advanced glycation end products-sRAGE) σε ασθενείς με ή χωρίς στεφανιαία νόσο``. **Γ.Τσιρέμπολος**, Λ.Ραλλίδης, J. Tsororis, I. Ρίζος. 18^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λιπιδιολογίας, Αθηροσκλήρωσης και Αγγειακής νόσου.
- « Βραβείο Καλύτερου Ερευνητικού Πρωτοκόλλου 2014 » για την εργασία `` Ο ρόλος γενετικών πολυμορφισμών στην ανάπτυξη πρώιμης στεφανιαίας νόσου (≤ 35 ετών)``. Ε.Σακαδάκης, Λ.Ραλλίδης, **Γ.Τσιρέμπολος**, Ι.Λεκάκης. 17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λιπιδιολογίας, Αθηροσκλήρωσης και Αγγειακής νόσου.

ΜΕΛΟΣ ΣΥΛΛΟΓΩΝ

- Ιατρικός Σύλλογος Αθηνών
- Ελληνική Καρδιολογική Εταιρεία
- European Society of Cardiology
- European Society of Cardiovascular Imaging

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Άριστη γνώση Αγγλικών (Michigan Proficiency)

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Είναι ευρέως γνωστό ότι τα καρδιαγγειακά νοσήματα, με βασικότερους εκπροσώπους τη στεφανιαία νόσο (ΣΝ) και τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια (ΑΕΕ), συνιστούν την σημαντικότερη απειλή της ζωής και της υγείας παγκοσμίως. Τα νοσήματα αυτά αποτελούν την πρωταρχική αιτία θανάτου στις αναπτυσσόμενες κοινωνίες της Δύσης και υπολογίζεται πως μέχρι το τέλος των τριών πρώτων δεκαετιών του αιώνα που διανύουμε θα ευθύνονται για πάνω από το 1/3 των θανάτων παγκοσμίως και πάνω από το 40% των θανάτων στις προηγμένες κοινωνίες [1]. Είναι γεγονός ότι τα τελευταία 150 χρόνια υπήρξαν πολλές προσπάθειες να εξηγηθούν τα γεγονότα που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση, την διάχυτη και πολυεστιακή αυτή παθοφυσιολογική οντότητα, που προσβάλλοντας μεγάλο και μεσαίου μεγέθους αρτηρίες, αποτελεί το νήμα που συνδέει τις διάφορες καρδιαγγειακές παθήσεις. Σήμερα, και ενώ οι εξελίξεις στο χώρο της καρδιολογίας έχουν προσλάβει σχεδόν «εκρηκτικό» χαρακτήρα, πολλά μένουν ακόμη να διερευνηθούν και πολλά νέα πειραματικά δεδομένα που μόλις τώρα έρχονται στο φως, ίσως οδηγήσουν στην καθολική κατανόηση των διεργασιών της νόσου σε βιολογικό, μοριακό και παθολογοανατομικό υπόστρωμα.

Σε κάθε περίπτωση ανευρίσκονται ορισμένοι βλαπτικοί παράγοντες που επιδρούν και προάγουν την αθηροσκλήρωση. Εκείνοι οι παράγοντες, για τους οποίους υπήρξε ισχυρή τεκμηρίωση, μέσα από μεγάλες προοπτικές και αναδρομικές μελέτες του παρελθόντος, ότι προβλέπουν ανεξάρτητα τη στεφανιαία νόσο και τις λοιπές καρδιαγγειακές παθήσεις και πως η χαλιναγωγή τους οδηγεί στη μείωση αυτών, αναφέρονται πλέον στη βιβλιογραφία ως **κλασσικοί παράγοντες κινδύνου**. Σε αυτούς περιλαμβάνονται η ηλικία και το φύλο, το κάπνισμα, ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ), η αρτηριακή υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, το οικογενειακό ιστορικό πρώιμης ΣΝ, η παχυσαρκία και η έλλειψη σωματικής δραστηριότητας.

Η καρδιαγγειακή νόσος μπορεί να θεωρηθεί ως μία συνεχής διαδικασία που ξεκινάει από την παρουσία των παραγόντων κινδύνου και εξελίσσεται στην αγγειακή νόσο μέσω της προσβολής των οργάνων-στόχων, στην τελική οργανική ανεπάρκεια και από εκεί στο θάνατο. Αυτή η θεώρηση ενισχύει την άποψη πως η παρέμβαση σε οποιοδήποτε σημείο της αλυσίδας αυτής μπορεί να οδηγήσει στη διακοπή της αλληλουχίας των γεγονότων που ευθύνονται για την

καρδιαγγειακή εκφύλιση και επομένως η αναγνώριση των κοινών παραγόντων κινδύνου που οδηγούν στην κατεύθυνση αυτή ως ολότητα είναι η καταλληλότερη μέθοδος για να προσδιοριστεί ο συνολικός κίνδυνος του ασθενούς και μέσω αυτού να ωφεληθεί από τη βέλτιστη φαρμακευτική ή άλλη αγωγή [2, 3].

Ωστόσο, στην καθημερινή κλινική πράξη, δεν είναι λίγοι οι ασθενείς που παρουσιάζουν οξεία στεφανιαία σύνδρομα χωρίς να μπορεί να αναγνωρισθεί κάποιος από τους καθιερωμένους αυτούς παράγοντες κινδύνου οι οποίοι αδυνατούν να εξηγήσουν το σύνολο των καρδιαγγειακών επεισοδίων [4]. Η παρατήρηση αυτή οδήγησε σε νέες ερευνητικές κατευθύνσεις και έτσι σήμερα είναι γνωστές πολλές άλλες παράμετροι που σχετίζονται με τη στεφανιαία νόσο. Ανάμεσα στις κατευθύνσεις που η σύγχρονη ιατρική έχει στρέψει το ερευνητικό ενδιαφέρον είναι η φλεγμονή και το οξειδωτικό stress. Η φλεγμονώδης διεργασία διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην αθηροσκλήρωση και εμπλέκεται σε όλες τις φάσεις ανάπτυξης της αθηρωματικής πλάκας: την έναρξη, την εξέλιξη και τελικά την ρήξη. Έτσι, σήμερα, θεωρείται πλέον ότι η αθηροσκλήρωση, όπως και η αθηροθρόμβωση των αρτηριών και ειδικά των στεφανιαίων αρτηριών, αποτελεί ένα σύνθετο ανοσοφλεγμονώδες φαινόμενο. Επιπλέον, η αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών O₂ (ROS), το αυξημένο δηλαδή οξειδωτικό stress, φαίνεται ότι είναι η κοινή μοριακή κατάληξη της επίδρασης όλων των παραγόντων κινδύνου καθώς και ο βασικός ενοποιητικός διαμεσολαβητικός παράγων ευόδωσης της αθηρωματικής διαδικασίας.

Έτσι λοιπόν τα τελευταία χρόνια έχουν μελετηθεί σε βάθος διάφοροι παράγοντες που ενεργοποιούν ή εμπλέκονται με ποικίλους τρόπους στον καταρράκτη της φλεγμονώδους διεργασίας με σκοπό να διαλευκανθεί ο ακριβής μηχανισμός που οδηγεί σε οξεία στεφανιαία επεισόδια ενώ γίνονται συστηματικές προσπάθειες με στόχο την ανακάλυψη νέων βιοδεικτών που θα βοηθήσουν στην αναγνώριση ασθενών υψηλού κινδύνου για μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάματα.

Η παρούσα διατριβή που ακολουθεί αποτελεί μια προσπάθεια να ερευνησουμε τα επίπεδα δεικτών που σχετίζονται με το φλεγμονώδες φορτίο στον ορό ασθενών με ή χωρίς αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ σε συνδυασμό με κάποιους από τους συνηθέστερους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου. Μεταξύ των δεικτών που μελετήθηκαν βρίσκονται οι κάτωθι:

- 1) τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (Advanced Glycation End products, AGEs)

και οι διαλυτοί υποδοχείς τους (soluble Receptor for Advanced Glycation End products, sRAGE), 2) οι πρωτεΐνες S100B, S100A8/A9 και S100A12 της οικογένειας των ασβεστιοδεσμευτικών πρωτεϊνών S100 και 3) η αντιοξειδωτική πρωτεΐνη DJ-1/PARK7. Οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη προσήλθαν στην Β΄ Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική για προγραμματισμένο στεφανιογραφικό έλεγχο βάσει του προφίλ παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και των ευρημάτων του αναίμακτου καρδιολογικού ελέγχου που προηγήθηκε. Σκοπός της μελέτης είναι η ανάδειξη νέων βιοδεικτών φλεγμονής και οξειδωτικού stress που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την έγκαιρη αναγνώριση ασθενών με στεφανιαία νόσο πριν την κλινική εκδήλωση μείζονων καρδιαγγειακών συμβαμάτων.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

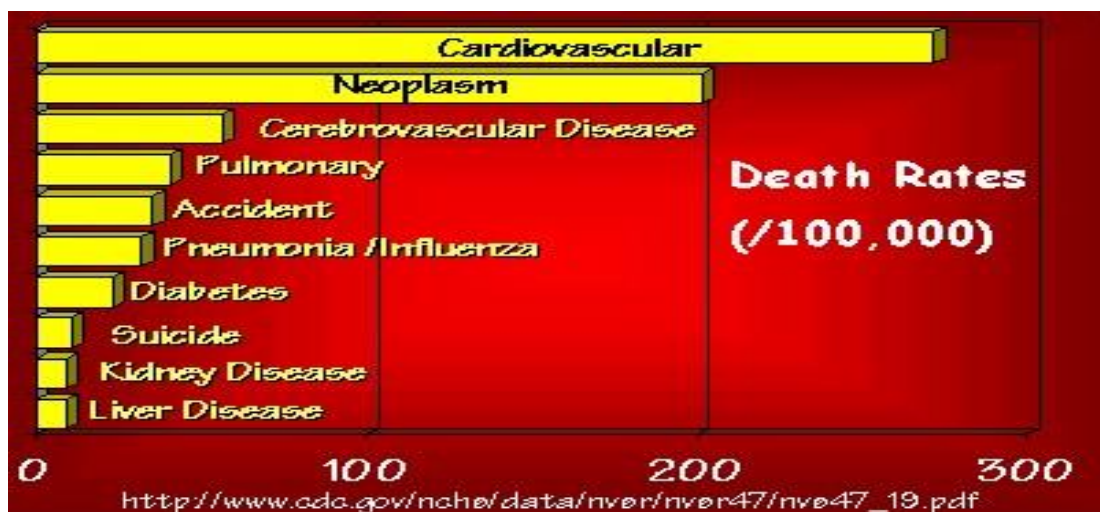
1. Επιδημιολογία Στεφανιαίας Νόσου

Η Στεφανιαία νόσος, το φάσμα δηλαδή των συμπτωμάτων και των νοσημάτων που οφείλονται σε βλάβες των στεφανιαίων αγγείων, των αρτηριών που παρέχουν αίμα στην καρδιά, αποτελεί πραγματική μάστιγα. Η νόσος αυτή, επίσης αποκαλούμενη και αθηροσκληρυντική καρδιακή νόσος ή ισχαιμική καρδιακή νόσος, είναι το αποτέλεσμα της αθηροσκλήρυνσης, η οποία προκαλεί το σχηματισμό αθηρωματικών πλακών στο τοίχωμα των αρτηριών, μειώνοντας την αιματική ροή στο μυοκάρδιο, οδηγώντας συχνά στην καρδιακή ανακοπή και στον αιφνίδιο καρδιακό θάνατο. Είναι η πρώτη αιτία θανάτου στον αναπτυγμένο κόσμο, ευθύνεται για το 54% των θανάτων από καρδιαγγειακή νόσο, ενώ η πιθανότητα για ύπαρξη ΣΝ με συμπτώματα στη διάρκεια της ζωής μετά τα 40, είναι 49% για τους άντρες και 32% για τις γυναίκες. Αναμένεται αύξηση δε των παραπάνω αριθμών στην επόμενη δεκαετία, λόγω γήρανσης του πληθυσμού και της αύξησης της συχνότητας της παχυσαρκίας, του σακχαρώδη διαβήτη, του μεταβολικού συνδρόμου και της υψηλότερης συχνότητας των παραγόντων κινδύνου στις νεότερες γενιές. Στο τέλος του 2021 οι θάνατοι από ΣΝ υπολογίστηκαν σε 9,4 εκατομμύρια παγκοσμίως συγκρινόμενοι με τα 7,1 εκατομμύρια το 2002 [5-7].

Τα δεδομένα του επιπολασμού της καρδιαγγειακής και της στεφανιαίας νόσου είναι καταγιστικά και καταδεικνύουν το μέγεθος και τη σημασία του προβλήματος. Προέρχονται κυρίως από χώρες με προηγμένο υγειονομικό σύστημα, όπου η τήρηση των στατιστικών στοιχείων είναι συνεπής. Έτσι, η καρδιαγγειακή νόσος (ΚΑΝ) ευθύνεται για 2300 θανάτους ημερησίως στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (ΗΠΑ), που αντιστοιχεί σε ένα θάνατο κάθε 39 δευτερόλεπτα [8, 9]. Η ΣΝ είναι η κυρίαρχη αιτία θανάτου στις ΗΠΑ και στο Ηνωμένο βασίλειο: ένα στεφανιαίο επεισόδιο συμβαίνει κάθε 25 δευτερόλεπτα στις ΗΠΑ, με το 34% αυτών να πεθαίνει μέσα στο έτος, αντιστοιχώντας σε ένα θάνατο κάθε ένα λεπτό [8, 9]. Σε ετήσια βάση, 785.000 Αμερικάνοι εμφανίζουν νέο στεφανιαίο επεισόδιο και 470.000 εμφανίζουν εκδήλωση

και υποτροπή προϋπάρχουσας νόσου. Ακόμα πιο εντυπωσιακό είναι το γεγονός πως 195.000 από αυτούς εμφανίζουν σιωπηρή καρδιακή ισχαιμία, η οποία συνήθως αποκαλύπτεται σε μεταγενέστερο κλινικό έλεγχο, πολλές φορές δε ως τυχαίο εύρημα [10]. Το 2007, 405.000 θάνατοι στις ΗΠΑ αποδόθηκαν στη ΣΝ, αντιστοιχώντας στο ένα έκτο της ολικής θνησιμότητας [10]. Σήμερα, 6,2 εκατομμύρια εισαγωγές στο νοσοκομείο γίνονται λόγω ΣΝ, 730.000 λόγω ΑΕΕ, ενώ 7,2 εκατομμύρια καρδιαγγειακές επεμβάσεις οποιουδήποτε τύπου επιχειρούνται ετησίως [11]. Στην Ευρώπη αντίστοιχα το 2017, η ΣΝ, που αποτελούσε την πιο κοινή εκδήλωση των καρδιαγγειακών νοσημάτων με συνολικά 34,9 εκατομμύρια περιπτώσεις ασθενών αλλά και 3,6 εκατομμύρια νέα περιστατικά, ήταν και η κύρια αιτία θανάτου καθώς ευθυνόταν για 1,67 εκατομμύρια θανάτους συνολικά με παρόμοια ποσοστά θνητότητας σε άνδρες και γυναίκες [12].

Ταυτόχρονα, η καρδιαγγειακή νόσος ευθύνεται για το 17% των ολικών δαπανών υγείας στα προηγμένα υγειονομικά συστήματα του κόσμου, ενώ το αυξανόμενο κόστος ανέρχεται στο 6% ετησίως, τη στιγμή που το συνολικό κόστος των ιατρικών δαπανών αυξάνει κατά 15% σε ετήσια βάση. Κατά τα επόμενα 20 έτη, η επίπτωση της νόσου θα ανέλθει κατά 10% και τα ετήσια κόστη για το χειρισμό της κατάστασης αυτής αναμένεται να τριπλασιαστούν. Μέχρι το 2030, και δίχως καμία αλλαγή στις πρακτικές της πρωτογενούς πρόληψης, όπως αυτή σήμερα εφαρμόζεται, υπολογίζεται ότι η ΚΑΝ θα αυξήσει την επίπτωση της από το 36.9 στο 40.5%. Μέχρι τότε, η επίπτωση των οξέων ισχαιμικών καρδιακών συμβαμάτων θα έχει ανέλθει κατά 25% [13].



Εικόνα 1. Παγκόσμιος επιπολασμός στεφανιαίας νόσου και σύγκριση με άλλες αιτίες θανάτου

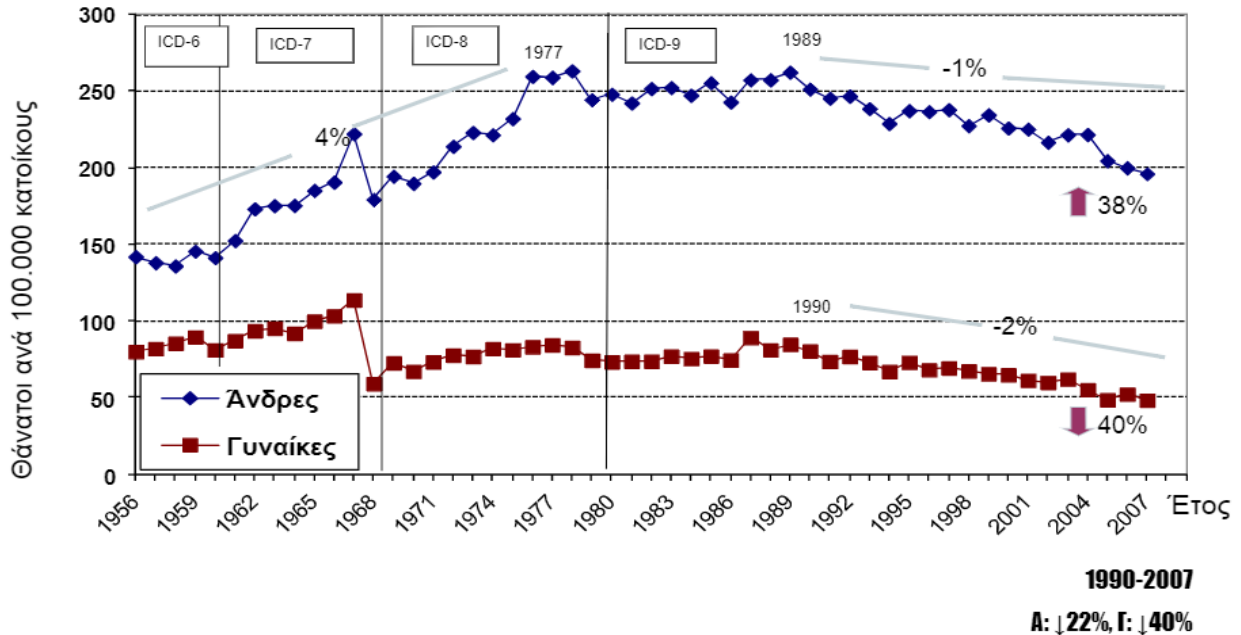
Παρόλη την ανησυχητική διάσταση του φαινομένου, επιδημιολογικά δεδομένα από την Ευρώπη, τις ΗΠΑ και από άλλες αναπτυγμένες χώρες αφήνουν παράλληλα μία εικόνα αισιοδοξίας, αφού παρατηρείται μία συνεχώς επιταχυνόμενη μείωση στην θνητότητα από τη στεφανιαία νόσο τα τελευταία 40 έτη [14]. Έτσι, η μείωση της θνητότητας από στεφανιαία νόσο από 16% την εξαετία 1993-1999 έφτασε στο 46% στην δεκαετία 1999-2007 στους άνδρες με τα αντίστοιχα ποσοστά στις γυναίκες να είναι 5% και 38% αντίστοιχα [15, 16]. Επιπλέον, αντίστοιχη μείωση παρατηρήθηκε και στην επίπτωση της θνητότητας από οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, καταδεικνύοντας την επιτυχή εφαρμογή των μέτρων πρωτογενούς πρόληψης που εφαρμόστηκαν τα τελευταία χρόνια [17, 18].

Από την άλλη, σημαντική παράμετρος στον επιπολασμό της ΣΝ εξακολουθεί να διαδραματίζει η κοινωνικό-οικονομική κατάσταση των πασχόντων, με την τάση αυτή να παραμένει αναλλοίωτη παρόλη την προαναφερόμενη πρόοδο στην επίπτωση της θνητότητας από τη νόσο. Έτσι, η διαφορά στην επίπτωση της νόσου μεταξύ του ανώτερου και κατώτερου κοινωνικό-οικονομικού στάτους είναι ίδια σε όλο το ηλικιακό φάσμα, ενώ δεδομένα δείχνουν πως το 75% της ολικής θνητότητας από τη στεφανιαία νόσο και το 82% της ολικής αναπηρίας από τα συμβάματα αυτής επισυμβαίνουν σε αναπτυσσόμενες χώρες, δηλαδή σε χώρες των οποίων οι κάτοικοι εμφανίζονται να έχουν χαμηλό ή μεσαίο εισόδημα [19]. Μεγάλο ποσοστό των παρατηρούμενων μεταβολών οφείλεται προφανώς και στη διαφορετική έκθεση σε παράγοντες κινδύνου. Η άνοδος του επιπέδου ζωής και η βιομηχανοποίηση μπορεί να αυξάνει τη βιωσιμότητα, αλλά παράλληλα αυξάνει και την έκθεση σε παράγοντες κινδύνου, οι οποίοι σχετίζονται με την επίπτωση της νόσου. Ας μην ξεχνάμε δε, ότι η αύξηση του ορίου ηλικίας προσφέρει από μόνη της μία ικανοποιητική εξήγηση στο φαινόμενο αυτό.

Σε ότι αφορά τον επιπολασμό της ΣΝ στον Ελλαδικό χώρο, τα όποια επιδημιολογικά δεδομένα προκύπτουν εν πολλοίς από μεμονωμένες ερευνητικές προσπάθειες διάφορων ερευνητών. Οι πρώτες μελέτες ανάγονται στη δεκαετία του 1970, οπότε η Καρδιολογική Κλινική του Λαϊκού Νοσοκομείου, υπό την επίβλεψη του Καθηγητού Ε. Βορίδη, πραγματοποίησε μελέτη σε περιοχή της Κορινθίας και αφού εξέτασε 938 άτομα (άνδρες και γυναίκες) άνω των 20 ετών, διαπίστωσε «έκδηλο» ΣΝ στο 8,3% των ανδρών και στο 10% των γυναικών [20]. Στη μελέτη της Σαλαμίνας που άρχισε να πραγματοποιείται το 1976, οι ερευνητές της μελέτης

διαπίστωσαν επιπολασμό ΣΝ 10,9% στους κατοίκους της Σαλαμίνας [21], ενώ η επίπτωση του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου (ΟΕΜ) στην Ελλάδα, στους μεν άνδρες αυξήθηκε από 195 ανά 100.000 άτομα το 1981 σε 297 ανά 100.000 άτομα το 1988 και στις γυναίκες από 35 σε 52 αντίστοιχα [22]. Τα πιο πρόσφατα στοιχεία για την επίπτωση του Οξέος Στεφανιαίου Συνδρόμου (ΟΣΣ) στην Ελλάδα προκύπτουν από τη μελέτη GREECS, στην οποία, από τον Οκτώβριο του 2003 ως τον Σεπτέμβριο του 2004, συγκεντρώθηκαν 2172 ασθενείς με διάγνωση εξόδου ΟΣΣ. Η ετήσια επίπτωση του ΟΣΣ ήταν 22,6 ανά 10.000 άτομα (34 ανά 10.000 άνδρες και 11 ανά 10.000 γυναίκες) [23]. Από άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη νότιο-δυτική Ελλάδα προέκυψε ότι η επίπτωση της ΣΝ είναι 39 ανά 10.000 άτομα (60,6 για τους άνδρες και 19 για τις γυναίκες). Στη μελέτη αυτή συμπεριλήφθηκαν και τα άτομα που πέθαναν αιφνιδίως, για το θάνατο των οποίων αντλήθηκαν στοιχεία από τη νεκροψία [24].

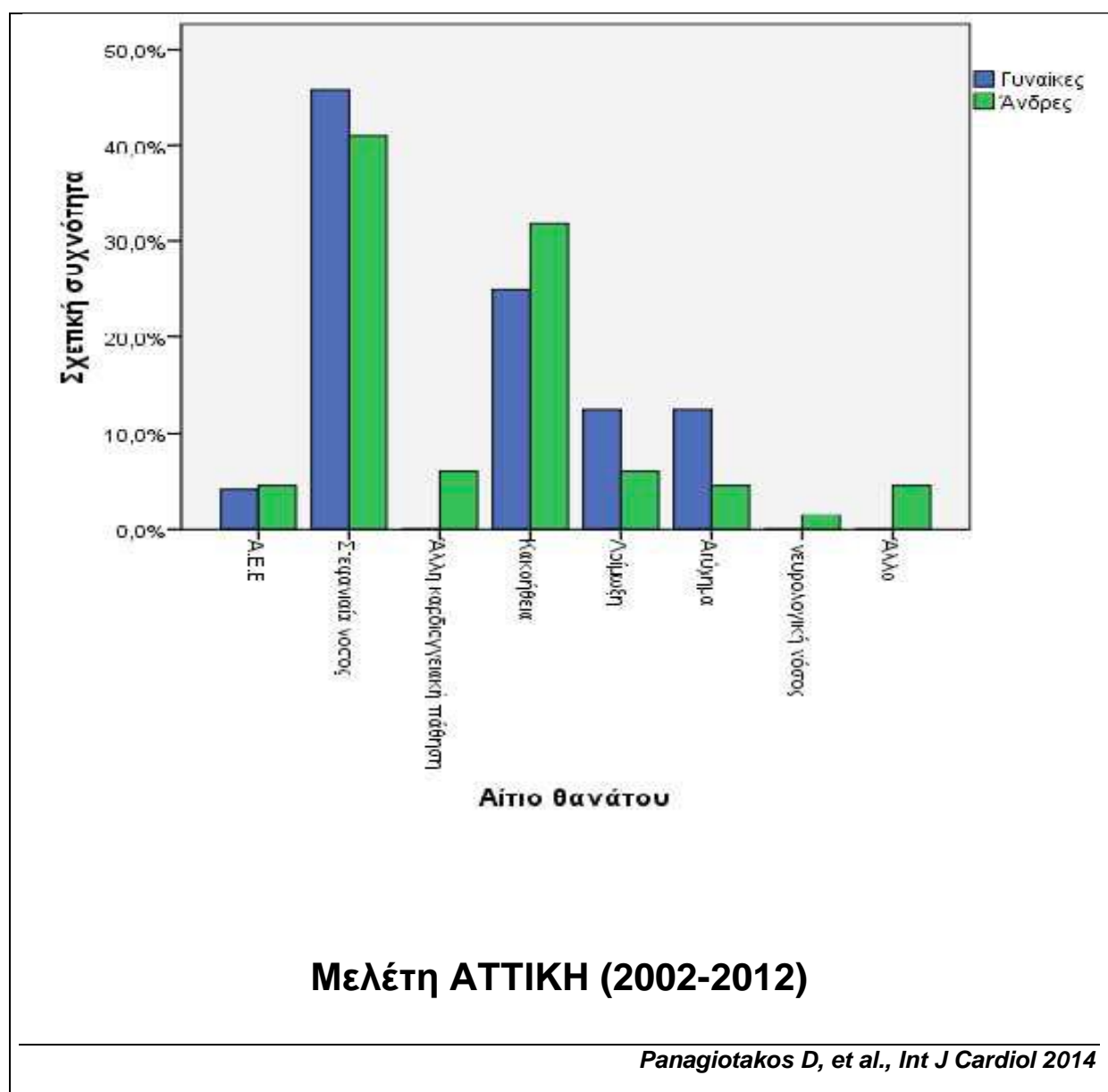
Εικόνα 2. Ηλικιακά σταθμισμένη θνησιμότητα στεφανιαίας νόσου στην Ελλάδα, στις ηλικίες 45-74 ετών.



Chimonas T, et al. *Eur J Epidemiol.* 2009;24(8):415-23

Τέλος, η μελέτη «ΑΤΤΙΚΗ», μια επιδημιολογική έρευνα καταγραφής και παρακολούθησης της υγείας του πληθυσμού, καθώς και των παραγόντων που την επηρεάζουν, στην ευρύτερη περιοχή της Αττικής, που πραγματοποιήθηκε τα έτη 2002–2012 από την Α΄ Καρδιολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών με συμμετοχή 3042 ενήλικων ατόμων (1514 άνδρες και 1528 γυναίκες), χωρίς προηγούμενο ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου, ανέδειξε τη στεφανιαία νόσο ως πρώτη αιτία θανάτου και στα δύο φύλα [25].

Εικόνα 3. Επίπτωση Καρδιαγγειακής Νόσου (2002-2012)



2. Θεωρίες για την αθηροσκλήρωση

Υπάρχουν διάφορες θεωρίες για την παθογένεση της αθηροσκλήρωσης και φαίνεται ότι κάποιες από αυτές έχουν κοινά στοιχεία και κάποιες αλληλοσυμπληρώνονται. Οι θεωρίες αυτές ξεκινούν από τα μέσα του 19^{ου} αιώνα και φτάνουν μέχρι τις μέρες μας. Με βάση δε τη σειρά που έχουν εμφανιστεί είναι οι εξής:

Η θεωρία του Rokitansky (1852). Η θεωρία αυτή περιέχεται στο φημισμένο τρίτομο βιβλίο του συγγραφέα, «Manual of Pathological Anatomy». Στην πρώτη έκδοση του έργου περιγράφει τη νόσο στο κεφάλαιο «Excessive formation of plaques on the interior of vessels» [26]. Τα συμπεράσματα του στηρίχθηκαν σε μακροσκοπικές παρατηρήσεις επί των αγγείων. Η αιτία έναρξης της διεργασίας της αθηροσκλήρωσης είναι ο τραυματισμός του αγγείου. Κατόπιν ακολουθεί στην περιοχή του τραυματισμού συρροή στοιχείων του αίματος, τα οποία οδηγούν αρχικά στη ανάπτυξη θρόμβου και τελικά στο σχηματισμό μιας ινώδους κρούστας, η οποία αποτελεί ουσιαστικά την μετέπειτα αθηροσκληρωτική ινώδη πλάκα [27].

Η θεωρία του Virchow (1858). Στηρίχθηκε σε ευρήματα των αγγείων με το μικροσκόπιο. Σύμφωνα με αυτήν τη θεωρία, η έναρξη της αθηροσκλήρωσης γίνεται επίσης μετά από τραυματισμό του ενδοθηλίου και στη συνέχεια αναπτύσσεται μια φλεγμονώδης διαδικασία, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό της αθηροσκληρωτικής πλάκας. Η θεωρία αυτή είναι και η πρώτη που περιέγραψε την πάχυνση του έσω χιτώνα των αγγείων [28]. Ανάμεσα στη θεωρία του Rokitansky και τη θεωρία του Virchow υπήρχε μια βασική διαφορά σε σχέση με το ρόλο της φλεγμονής, καθώς ο πρώτος τη θεωρούσε δευτερογενές φαινόμενο, ενώ ο δεύτερος θεωρούσε ότι έχει πρωταρχικό ρόλο. Μία μελέτη του 2006 σε δείγματα αρτηριών από τη συλλογή του Rokitansky, φαίνεται ότι δικαιώνει τον Virchow [29].

Η λοιμώδης θεωρία (1911). Η θεωρία αυτή διατυπώθηκε αρχικά στις αρχές του προηγούμενου αιώνα [30,31]. Εν τούτοις, είχε μικρή αποδοχή μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του 1970, οπότε και αναφέρθηκε σε μία εργασία ότι κοτόπουλα που πειραματικά επιμολύνθηκαν με έναν ερπητοϊό της γρίπης, ανέπτυξαν βλάβες στα αγγεία, παρόμοιες με αυτές της αθηροσκλήρωσης σε ανθρώπινα αγγεία [32]. Στη συνέχεια, πολλοί ερευνητές δημοσίευσαν

παρατηρήσεις οι οποίες ενέπλεκαν λοιμώδεις παράγοντες με την ανθρώπινη αθηροσκληρωτική νόσο. Οι κύριοι παράγοντες που ενοχοποιήθηκαν ως αιτία αθηροσκλήρωσης στον άνθρωπο είναι ο ιός του έρπητα, το χλαμύδιο της πνευμονίας, ο μεγαλοκυτταροϊός, το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού, η πορφυρομονάδα των ούλων, ο ιός της ηπατίτιδας C, ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας και ο ιός της ινφλουέντσας A. Η σχέση των λοιμωδών αυτών παραγόντων με την αθηροσκληρωτική νόσο του ανθρώπου στηρίχθηκε σε δύο στοιχεία, στην ανεύρεση τους στις αθηροσκληρωτικές βλάβες και στην ανεύρεση υψηλού τίτλου αντισωμάτων τους στον ορό ατόμων με αθηροσκληρωτική νόσο [33,34]. Παρόλα' αυτά, δεν είναι γνωστό αν αυτοί οι λοιμώδεις παράγοντες είναι αιτία αθηροσκλήρωσης ή εάν η ανεύρεσή τους είναι συνέπεια της και μετά το σχηματισμό των αθηροσκληρωτικών βλαβών διευκολύνεται η είσοδός τους σε αυτές και ενδεχομένως στη συνέχεια συμμετέχουν και στην εξέλιξή τους [35].

Η Μονοκλωνική θεωρία των Bendit & Bendit (1973). Η θεωρία αυτή στηρίζεται σε μία εργασία των Bendit E. και Bendit J., η οποία διαπίστωσε ότι τα λεία μυϊκά κύτταρα, από τα οποία αποτελείται η κάψα της αθηροσκληρωτικής πλάκας, έχουν μονοκλωνική προέλευση. Το επιχείρημα τους είναι ότι αν η παθογένεση της αθηροσκλήρωσης οφειλόταν σε απάντηση σε τραυματισμό ή σε αντίδραση σε αυξητικό ερέθισμα ή στην οργάνωση ενός τοιχωματικού θρόμβου, τότε τα λεία μυϊκά κύτταρα θα έπρεπε να έχουν πολυκλωνική προέλευση. Η μονοκλωνική προέλευση των λείων μυϊκών κυττάρων και κατ' επέκταση και της αθηροσκληρωτικής πλάκας έχει ως πιθανό μηχανισμό τη μίτωση και τα πιο πιθανά αίτια είναι χημικά μιτογόνα ή ιοί [36].

Η θεωρία της απάντησης στον τραυματισμό των Ross και Glomset (1973) [37]. Η θεωρία της απάντησης στον τραυματισμό (the response to injury hypothesis) είναι η μία από τις δύο που κυριαρχούν σήμερα και ίσως είναι και η σημαντικότερη από όλες τις θεωρίες που έχουν υποστηριχτεί μέχρι τώρα [38,39]. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, η παθογένεση της αθηροσκλήρωσης αρχίζει με βλάβη του ενδοθηλίου, που αρχικά τη θεωρούσαν τραυματισμό του ενδοθηλίου, ενώ σήμερα θεωρείται δυσλειτουργία του ενδοθηλίου [40]. Η θεωρία αυτή, που εμφανίστηκε το 1973, εξελίχθηκε στην πορεία και το 1993, στο γνωστό άρθρο του Ross, προστέθηκε η άποψη ότι η αθηροσκλήρωση εμφανίζει τα χαρακτηριστικά μιας φλεγμονώδους διεργασίας και αυτή η διεργασία είναι όμοια με άλλες χρόνιες φλεγμονώδεις, ανοσοαποκριτικές

παθήσεις, όπως για παράδειγμα η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η κίρρωση του ήπατος, η σπειραματονεφρίτιδα ή η πνευμονική ίνωση. Η διεργασία αυτή σε κάθε όργανο ή ιστό έχει τα δικά της χαρακτηριστικά, με βάση τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των κυττάρων, την παροχή αίματος και λέμφου σε αυτά και επίσης το αίτιο που την προκαλεί [40].

Η ανοσολογική θεωρία (Hansson 1989). Η θεωρία αυτή υποστηρίζει την ανοσολογική βάση της παθογένεσης της αθηροσκλήρωσης. Στηρίζεται βασικά στην παρουσία των Τ λεμφοκυττάρων στην αθηροσκληρωτική πλάκα και στη διαπίστωση ότι το ένα τρίτο αυτών των κυττάρων είναι ενεργά και εκφράζουν δείκτες ενεργοποίησης, όπως επίσης και ένα μικρότερο ποσοστό εκφράζει υποδοχείς για την ιντερλευκίνη-2. Αυτά τα ευρήματα είναι παρόμοια με τα ευρήματα στον αρθρικό υμένα ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα. Επίσης, η θεωρία αυτή λαμβάνει υπόψη της την ύπαρξη των μακροφάγων στην αθηροσκληρωτική πλάκα, που είναι κύτταρα που συμμετέχουν στην ανοσολογική διαδικασία παρουσιάζοντας ξένα αντιγόνα στα Τ-λεμφοκύτταρα [41].

Η θεωρία της οξειδωτικής μετατροπής (Steinberg 1991). Η θεωρία αυτή βασίζεται στην υπόθεση ότι η έναρξη της διαδικασίας της αθηροσκλήρωσης γίνεται με την είσοδο στον υπενδοθηλιακό χώρο μορίων της LDL-C. Το μεγαλύτερο ποσοστό αυτών απομακρύνεται στη συνέχεια, αλλά το ποσοστό που παραμένει μπορεί να οξειδωθεί από ουσίες που εκκρίνονται από κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος και λέγονται κυτταρικές οξυγενάσες. Η οξειδωθείσα LDL (Ox-LDL) ενεργοποιεί στη συνέχεια τους κυτταρικούς μηχανισμούς της αθηρογένεσης [42]. Η θεωρία αυτή είναι μαζί με τη θεωρία του Ross οι επικρατέστερες θεωρίες για την παθογένεση της αθηροσκλήρωσης.

3. Παράγοντες κινδύνου στεφανιαίας νόσου

Μεγάλες προοπτικές και αναδρομικές μελέτες του παρελθόντος ενοχοποίησαν διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες σχετικά με τον επιπολασμό της στεφανιαίας νόσου. Οι παράγοντες αυτοί, που ονομάζονται και παράγοντες κινδύνου, έχουν αποδειχθεί πως συνδέονται μεμονωμένα και ιδιαίτερα θετικά με τη στεφανιαία νόσο και η αναγνώρισή τους

αποτελεί μία από τις σημαντικότερες προόδους στην καρδιολογία [43]. Τα μετρήσιμα αυτά μεγέθη, οι παράγοντες κινδύνου δηλαδή, είναι σημαντικοί για δύο λόγους: πρώτον, είναι καθοριστικοί παράγοντες για την εκτίμηση του βαθμού του κινδύνου που διατρέχει ένα άτομο για την μελλοντική εμφάνιση στεφανιαίας νόσου και δεύτερον, αποτελούν στόχο θεραπευτικών παρεμβάσεων. Όπως έχει γίνει αντιληπτό, τα τελευταία χρόνια υπάρχει ένας «πληθωρισμός» παραγόντων που 'φιλοδοξούν' να συμπεριληφθούν στον κατάλογο των παραγόντων κινδύνου. Οι κυριότεροι (κλασσικοί) παράγοντες κινδύνου, χωρισμένοι σε τροποποιήσιμους και μη, περιγράφονται στον ακόλουθο πίνακα :

Πίνακας 1. Παράγοντες κινδύνου εκδήλωσης στεφανιαίας νόσου

<u>Τροποποιήσιμοι</u>	<u>Μη - τροποποιήσιμοι</u>
Κάπνισμα	Ηλικία (άνδρες > 45 έτη, γυναίκες > 55 έτη)
Σακχαρώδης διαβήτης	Ανδρικό φύλο
Αρτηριακή υπέρταση	Οικογενειακό ιστορικό πρώιμης στεφανιαίας νόσου (ιστορικό στεφανιαίας νόσου ή αιφνιδίου θανάτου σε πατέρα/αδερφό <55 ετών ή σε μητέρα/αδερφή <65 ετών)
Δυσλιπιδαιμίες	
Παχυσαρκία - Καθιστική ζωή	

3.1. Ηλικία – Φύλο

Ο ρόλος της ηλικίας ως σημαντικός παράγοντας κινδύνου είναι πλέον καθιερωμένος, ενώ τα νεότερα επιδημιολογικά δεδομένα εστιάζουν περισσότερο στον κρίσιμο ρόλο της αγγειακής ηλικίας παρά στην ηλικία αυτή καθαυτή. Η αγγειακή ηλικία είναι ένα σύμπλοκο φαινόμενο και οντότητα που αντανακλά την υγεία και την πραγματική ηλικία του αγγειακού συστήματος, όπως αυτή ορίζεται από τη συνισταμένη της πραγματικής ηλικίας και πλήθος παραγόντων κινδύνου [44]. Η βλάβη στα αγγεία με την πρόοδο της ηλικίας, ακόμα και επί απουσίας αθηροσκλήρυνσης, χαρακτηρίζεται από αύξηση του πάχους του μέσου χιτώνα και απώλεια της ελαστικότητας, που οδηγεί σε αυξημένη σκληρότητα των αγγείων [45, 46]. Ταυτόχρονα, η πρόοδος της ηλικίας προκαλεί στα αγγεία μεταβολές όμοιες με αυτές της αθηροσκλήρυνσης, όπως υπερπλασία των λείων μυικών κυττάρων, αυξημένη εναπόθεση κολλαγόνου και απώλεια της συνοχής των ινιδίων της ελαστίνης που οδηγούν σε διάταση του αγγείου και σε αύξηση της διαμέτρου του [47]. Τα στοιχεία αυτά σε συνδυασμό με την αυξημένη έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών οδηγούν περαιτέρω σε υπέρταση μέσω της απώλειας του ελαστικού τόνου των αρτηριών [48, 49].

Σε ό,τι αφορά το φύλο, είναι γνωστό πως οι γυναίκες εμφανίζουν στεφανιαία νόσο 7 με 10 έτη αργότερα από τους άνδρες και αυτό εν πολλοίς έχει αιτιολογηθεί από την ευεργετική επίδραση του ορμονικού περιβάλλοντος στην προ-εμμηνοπαυσιακή γυναίκα [50,51]. Παρόλα αυτά, δε θα πρέπει να παραγνωρίζεται το γεγονός πως η αντίληψη αυτή οδηγεί πολλές φορές σε υποεκτίμηση του πραγματικού συνολικού κινδύνου στις προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, που οδηγεί με τη σειρά του σε μικρότερη αντιπροσώπευση στις μεγάλες κλινικές επιδημιολογικές μελέτες και σε λιγότερο επιθετική θεραπευτική προσέγγιση σε σχέση με τους άνδρες ανάλογης ηλικίας στην πρόληψη και αντιμετώπιση της στεφανιαίας νόσου [52]. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι ακόμα και οι παράγοντες κινδύνου δρουν διαφορετικά ανάμεσα στα δύο φύλα, με το κάπνισμα για παράδειγμα στις νέες γυναίκες να δρα πιο επιζήμια σε σχέση με τους άνδρες και μάλιστα η σχέση αυτή να μπορεί να ποσοτικοποιηθεί [53, 54]. Η εμμηνόπαυση θεωρητικά αναιρεί το πλεονέκτημα του γυναικείου φύλου στην υπέρταση, στη δυσλιπιδαιμία ή ακόμη και στον καλύτερο μεταβολικό έλεγχο και μέχρι την ηλικία των 75 ετών οι διαφορές εκμηδενίζονται [52].

3.2. Οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου

Το οικογενειακό ιστορικό είναι καθολικά αποδεκτό ως σημαντικός προδιαθεσικός παράγοντας, ενώ υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν πως σε αυτό αποδίδεται έως και 25% του κινδύνου για πρώιμη εμφάνιση στεφανιαίας νόσου [55]. Το οικογενειακό ιστορικό καθιερώθηκε μετά από τις μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες της δεκαετίας του 1970 και 1980, ενώ είναι εντυπωσιακό πως στην πρώτη έκδοση της κλίμακας Framingham δεν συμπεριλήφθηκε ως παράγοντας κινδύνου [56-58]. Ο παράγοντας αυτός αναφέρεται έμμεσα στο γονιδιακό περιβάλλον της νόσου, ένα πεδίο που ερευνάται κυριολεκτικά με εκρηκτικό τρόπο σήμερα. Ο αναμφισβήτητος ρόλος του γονιδιακού περιβάλλοντος στην εμφάνιση και εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου έχει θέσει το οικογενειακό ιστορικό ως μείζονα παράγοντα κινδύνου για νόσηση και οι σύγχρονες κατευθυντήριες οδηγίες θεωρούν ως θετικό ιστορικό την εμφάνιση ΣΝ σε πρώτου βαθμού συγγενή σε ηλικία κάτω των 55 ετών για άνδρες και 65 για γυναίκες [59].

3.3. Κάπνισμα

Το κάπνισμα αποτελεί ένας από του κυριότερους τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου για στεφανιαία νόσο, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, περιφερική αγγειακή νόσο και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια [60]. Επιπλέον, η συσχέτιση του καπνίσματος με παράγοντες κινδύνου όπως η υπέρταση και η δυσλιπιδαιμία, αλλά και με θρομβωτικά φαινόμενα όπως και με τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, είναι επιβεβαιωμένη [61-64]. Το κάπνισμα θεωρείται σήμερα μείζων πρόβλημα υγείας και κοινωνική μάστιγα παγκοσμίως. Το κύριο συστατικό του, η νικοτίνη, θεωρείται ισχυρή εξαρτησιογόνος ουσία με ποικίλες αρνητικές επιδράσεις στο αγγειακό σύστημα και όχι μόνο [65]. Μέχρι το έτος 2030, το κάπνισμα θα ευθύνεται για περισσότερους από 10 εκατομμύρια θανάτους παγκοσμίως ετησίως, με το 70% αυτών σε χώρες του αναπτυσσόμενου κόσμου [66].

Παρόλο που η επίπτωση του καπνίσματος σε ενήλικες άνδρες μειώθηκε σε ορισμένες αναπτυγμένες χώρες, η συνολική επίπτωση του αυξάνει καθώς αυξάνεται με γοργό ρυθμό η κατανάλωση του από τους νέους και τις γυναίκες [67]. Η σχέση του καπνίσματος με τη στεφανιαία νόσο είναι αναντίρρητη. Η μελέτη INTERHEART, που θεωρείται μια από τις

σπουδαιότερες επιδημιολογικές μελέτες για την διευκρίνιση των παραγόντων κινδύνου του εμφράγματος του μυοκαρδίου σε παγκόσμια κλίμακα, ανέδειξε το κάπνισμα και την δυσλιπιδαιμία ως τους δύο ισχυρότερους παράγοντες κινδύνου. Ο αποδοτέος κίνδυνος σε επίπεδο πληθυσμού (Population Attributable Risk, PAR), που λαμβάνει υπόψη τον επιπολασμό κάθε παράγοντα κινδύνου και εκφράζει το ποσοστό νόσου που εξηγείται από τον συγκεκριμένο παράγοντα κινδύνου, ήταν 35,7% για το κάπνισμα. Αυτό σημαίνει ότι αν ολόκληρος ο πληθυσμός δεν κάπνιζε θα αποφεύγονταν το 1/3 των εμφραγμάτων. Μάλιστα, η μελέτη έδειξε ότι ο κίνδυνος αυξάνεται γεωμετρικά με την ποσότητα τσιγάρων που καπνίζονται ημερησίως χωρίς να υπάρχει ασφαλές κατώτερο όριο [68]. Επιπλέον, το κάπνισμα θεωρείται ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου για έμφραγμα του μυοκαρδίου σε νέα άτομα [69-71], ενώ ιδιαίτερα σημαντικό είναι ότι μπορεί να πυροδοτήσει ένα οξύ στεφανιαίο σύνδρομο σε άτομα με ελάχιστη αθηρωμάτωση ή ακόμα και με 'φυσιολογικά' στεφανιαία αγγεία, ιδιαίτερα στους νέους, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε προσωρινή απόφραξη του στεφανιαίου αγγείου ως αποτέλεσμα σχηματισμού θρόμβου, αγγειόσπασμου ή και των δύο [69-72]. Σε ότι αφορά τη χώρα μας, η μελέτη HELIOS (Hellenic Infarction Observation Study) κατέγραψε ένα απολύτως αντιπροσωπευτικό δείγμα ασθενών με έμφραγμα μυοκαρδίου από 31 νοσοκομεία της χώρας. Το 84% των ανδρών και το 32% των γυναικών ήταν νυν ή πρώην καπνιστές. Ειδικά οι ασθενείς με έμφραγμα μυοκαρδίου ηλικίας μικρότερης των 49 ετών ήταν σχεδόν όλοι καπνιστές (93%) [73].

3.4. Σακχαρώδης Διαβήτης

Ο ΣΔ τύπου 1 και 2 αποτελεί αναμφισβήτητα σημαντικό παράγοντα κινδύνου για στεφανιαία νόσο, ενώ οι κατευθυντήριες οδηγίες μεγάλων οργανισμών θεωρούν τον ΣΔ ισοδύναμη κατάσταση της στεφανιαίας νόσου από πλευράς αγγειακής επιβαρύνσεως και βλάβης [74-77]. Τα τελευταία χρόνια επίσης ιδιαίτερη σημασία δίνεται και στην προδιαβητική φάση (φάση IGT: Impaired Glucose Tolerance) που συνδέεται με αυξημένη επίπτωση των παραγόντων κινδύνου, αυξημένη συχνότητα παρουσίας του μεταβολικού συνδρόμου και διπλασιασμό του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου [78].

Αυτός ο αυξημένος κίνδυνος δεν μπορεί να εξηγηθεί μόνο από την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης μερικών από τους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου (κυρίως υπέρτασης και δυσλιπιδαιμίας). Η μεγάλη μελέτη MRFIT έδειξε ότι οι διαβητικοί σε κάθε επίπεδο οποιουδήποτε από τους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου (αλλά και σε οποιοδήποτε συνδυασμό αυτών), παρουσιάζουν τριπλάσιο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου [79]. Ταυτόχρονα, η καρδιαγγειακή νόσος αποτελεί την κυριότερη αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας των διαβητικών τύπου 2 παγκοσμίως. Από συγκλίνοντα δεδομένα φαίνεται, ότι η καρδιαγγειακή νόσος είναι υπεύθυνη για το 75% των θανάτων διαβητικών τύπου 2 και το 35% των θανάτων διαβητικών τύπου 1, ενώ η ΣΝ εκτιμάται ότι ευθύνεται για τα 3/4 των θανατηφόρων αυτών καρδιαγγειακών επεισοδίων [80]. Αξιόπιστες πληθυσμιακές μελέτες εξάλλου (Framingham Study, Strong Heart Study), δείχνουν σχετικό κίνδυνο θανάτου από ΣΝ διπλάσιο για τους διαβητικούς άνδρες και πενταπλάσιο για τις διαβητικές γυναίκες [74]. Ενδιαφέρουσα μελέτη επταετούς διάρκειας παρακολούθησης, τεκμηρίωσε επίσης ότι οι διαβητικοί χωρίς ιστορικό εμφράγματος μυοκαρδίου παρουσιάζουν την ίδια επίπτωση στεφανιαίων συμβαμάτων με τους μη διαβητικούς με ιστορικό εμφράγματος μυοκαρδίου [81], ενώ σε άλλη μελέτη φάνηκε ότι οι διαβητικοί παρουσιάζουν τον ίδιο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου με αυτόν των μη διαβητικών που είναι μεγαλύτεροι κατά 15 χρόνια [82]. Αξίζει τέλος να σημειωθεί το σημαντικό ποσοστό σιωπηλής ισχαιμίας αλλά και ασυμπτωματικής σημαντικής στένωσης των στεφανιαίων αρτηριών που παρατηρείται σε ασθενείς με ΣΔ [83,84].

Οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που συνδέουν τον ΣΔ με τη στεφανιαία νόσο είναι η γλυκοζυλίωση του κολλαγόνου και των άλλων πρωτεϊνών του αγγειακού τοιχώματος, η γλυκοζυλίωση και οξειδωση των λιποπρωτεϊνών (κυρίως της LDL), η χρόνια κινητοποίηση φλεγμονωδών διεργασιών καθώς και το χρόνια οξειδωτικό stress που οδηγούν σε ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και προάγουν την αθηρογένεση. Επιπλέον, είναι επιβεβαιωμένη η συσχέτιση του ΣΔ τύπου 2 με διαταραχές των αιμοπεταλίων και του μηχανισμού της πήξης [85].

3.5. Δυσλιπιδαιμία

Η δυσλιπιδαιμία θεωρείται ως ένας από τους σημαντικότερους τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου για στεφανιαία νόσο και όπως φάνηκε ήδη από τη δεκαετία του 1980 οι

στρατηγικές μείωσης της χοληστερόλης φαρμακευτικά οδηγούν σε σημαντική μείωση της θνητότητας από στεφανιαία νόσο [86]. Η αιτιολογική σχέση της δυσλιπιδαιμίας στην εμφάνιση και τον επιπολασμό της στεφανιαίας νόσου αποδεικνύεται και από την επιθετική μείωση των ισχαιμικών καρδιακών συμβαμάτων τόσο πρωτογενώς όσο και δευτερογενώς μετά την εφαρμογή των στατινών ως θεραπευτικών μέσων ενάντια στη μάστιγα της δυσλιπιδαιμίας [87,88]. Έχει αναφερθεί ότι ακόμα και μια μείωση της τάξης του 10% της χοληστερόλης ορού μπορεί να οδηγήσει σε μείωση των στεφανιαίων συμβαμάτων έως και 30% [89], ενώ περίπου 2,7 εκατομμύρια χρόνια ζωής πιστεύεται ότι ήταν το όφελος από τις στρατηγικές μείωσης της χοληστερόλης στο διάστημα 1980-2000 μόνο στις ΗΠΑ [90].

Αναφορικά με τη δυσλιπιδαιμία υπάρχουν διάφοροι τύποι, με συνηθέστερο αυτόν που είναι αυξημένες η ολική χοληστερόλη και η LDL-C η οποία αποτελεί και τον κύριο στόχο της φαρμακευτικής αγωγής. Συνεχώς αυξανόμενη είναι και η επίπτωση του τύπου του «μεταβολικού συνδρόμου», δηλαδή κοιλιακή παχυσαρκία, με χαμηλή (< 40 mg/dL για άντρες και < 50 mg/dL για γυναίκες) την «καλή» χοληστερόλη HDL-C και υψηλά (>150 mg/dL) τα τριγλυκερίδια. Υπάρχουν, επίσης, και μεμονωμένες μορφές, με παθολογική μόνο την HDL-C ή ιδιαίτερα αυξημένα μόνο τα τριγλυκερίδια. Οι τιμές-στόχοι για την LDL-C καθορίζονται ανάλογα με τον ασθενή και τους παράγοντες κινδύνου αυτού. Σύμφωνα με τις νεότερες κατευθυντήριες οδηγίες, σε ασθενείς μετρίου κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο (ΚΑΝ) ο στόχος είναι τιμές LDL-C < 100 mg/dL, ενώ σε ασθενείς υψηλού κινδύνου ο στόχος είναι LDL-C < 70 mg/dL. Σε ασθενείς πολύ υψηλού κινδύνου, είτε με γνωστή ΚΑΝ, είτε στα πλαίσια πρωτογενούς πρόληψης, ο στόχος της LDL-C διαμορφώνεται σε < 55 mg/dL. Σε ασθενείς μάλιστα που έχουν υποστεί δύο οξεία επεισόδια εντός διατίας (π.χ. δύο εμφράγματα ή ένα έμφραγμα και ένα εγκεφαλικό) ο στόχος μειώνεται σε < 40 mg/dL [91]. Αξιοσημείωτο μάλιστα είναι ότι τα επιστημονικά δεδομένα των τελευταίων χρόνων έδειξαν πως δεν υπάρχει χαμηλότερο όριο ασφαλείας αναφορικά με τη χαμηλή LDL-C, αλλά το όφελος από τη μείωση των καρδιαγγειακών συμβάντων μεγαλώνει όσο η LDL-C πέφτει πιο χαμηλά. Ανάλυση πολλών μελετών έδειξε ότι για κάθε μείωση της LDL-C κατά 1mmol/L, ο κίνδυνος για μείζονα καρδιαγγειακά συμβάματα μειώνεται κατά 19% ανεξάρτητα μάλιστα από τα αρχικά επίπεδα της LDL-C και την παρουσία σημαντικών παραγόντων κινδύνου για ΚΑΝ, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης και η χρόνια νεφρική νόσος [92].

Σε ότι αφορά την HDL-C, πολλές κλινικές και επιδημιολογικές μελέτες την έχουν αναδείξει ως σημαντικό προγνωστικό δείκτη καρδιαγγειακών συμβαμάτων [93,94]. Ωστόσο, παρά το γεγονός ότι η χαμηλή HDL-C αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για ΚΑΝ, η φαρμακευτική αύξηση των επιπέδων της δεν συνοδεύτηκε από μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε αρκετές μελέτες παρέμβασης, με αποτέλεσμα το σχετικό ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας να έχει ατονήσει καθώς τα μηνύματα δεν ήταν τόσο ελπιδοφόρα όσο θα περίμενε κανείς [95-99]. Τέλος, τα αυξημένα τριγλυκερίδια (TG), παρόλο που δε σχετίζονται με τα καρδιαγγειακά νοσήματα τόσο ισχυρά όσο η υπερχοληστερολαιμία, αποτελούν έναν σημαντικό ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για αυτά. Μάλιστα, υπάρχει στενή συσχέτιση των TG με άλλους λιπιδαιμικούς παράγοντες κινδύνου, όπως είναι η ολική χοληστερόλη (TC), η LDL-C (μάλιστα τα μικρά, πυκνά LDL σωματίδια), η HDL-C, οι IDL, τα μικρά VLDL, αλλά και με μη λιπιδαιμικούς παράγοντες κινδύνου, όπως είναι η παχυσαρκία, η αρτηριακή υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης και η αντίσταση στην ινσουλίνη [100-102].

3.6. Αρτηριακή υπέρταση

Η παγκόσμια επίπτωση της αρτηριακής υπέρτασης (ΑΥ) το 2015 υπολογίστηκε σε 1,15 δισεκατομμύρια [103], με πάνω από 150 εκατομμύρια ασθενείς στην κεντρική και ανατολική Ευρώπη. Η συνολική επίπτωση της ΑΥ στους ενήλικες εκτιμάται σε 30-45%, με σημαντική αύξηση με το πέρασμα της ηλικίας σε ποσοστό > 60% σε άτομα > 60 ετών [104]. Μάλιστα, με την γήρανση του πληθυσμού, την αύξηση της παχυσαρκίας και την υιοθέτηση του καθιστικού τρόπου ζωής, τα παραπάνω νούμερα εκτιμάται ότι θα αυξηθούν τα επόμενα χρόνια κατά 15-20%, διαμορφώνοντας την παγκόσμια επίπτωση της ΑΥ σε 1,5 δισεκατομμύρια ασθενείς έως το 2025 [105].

Οι σύγχρονες κατευθυντήριες οδηγίες σχετικά με την αντιμετώπιση της υπέρτασης ορίζουν τη νόσο ως συστολική αρτηριακή πίεση (ΣΑΠ) ≥ 140 mmHg ή/και διαστολική αρτηριακή πίεση (ΔΑΠ) ≥ 90 mmHg [106]. Υπάρχει μία ισχυρή αλλά σύμπλοκη σύνδεση της υπέρτασης και της ηλικίας [107]. Μέχρι τα 50 έτη, η συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση ανεβαίνουν ταυτόχρονα, αλλά πάνω από το ηλικιακό αυτό όριο, ανέρχεται η συστολική και πέφτει η διαστολική αρτηριακή πίεση. Έτσι, η επίπτωση της ΣΑΠ εξαρτάται ευθέως από την ηλικία του

πληθυσμού καθώς περισσότεροι από τους μισούς μετά την ηλικία των 65 ετών θα έχουν μεμονωμένα υψηλή ΣΑΠ και μόλις το 10% θα έχει μεμονωμένη ή ταυτόχρονα υψηλή ΔΑΠ. Επίσης, χρειάζεται να τονιστεί πως αναλογικά διαμορφώνεται και ο κίνδυνος της ισχαιμικής καρδιακής νόσου ανάλογα με την πίεση και το ηλικιακό φάσμα. Έτσι, κάτω από τα 50 έτη ο κίνδυνος αυξάνεται αναλογικά με την αύξηση της ΔΑΠ, ενώ πάνω από το ηλικιακό αυτό όριο ο κίνδυνος για στεφανιαία νόσο αυξάνει με την αύξηση της ΣΑΠ [108]. Τα δεδομένα αυτά καθιστούν απαραίτητο τον έλεγχο και τη ρύθμιση της πίεσης σε όλους, ανεξάρτητα από την παρουσία καρδιαγγειακής νόσου.

Η σχέση μεταξύ ΑΥ και θνητότητας από στεφανιαία νόσο είναι επίσης στενή και ισχυρή. Σε μία μετα-ανάλυση περισσότερων από 61 μελετών με περισσότερους από 1 εκατομμύριο συμμετέχοντες, φάνηκε πως η αρτηριακή πίεση κυμαινόμενη από το 115/75 στο 185/115 mmHg καθόρισε ευθέως τη θνητότητα από στεφανιαία νόσο [109]. Σε γενικές γραμμές, η μέση αύξηση της ΣΑΠ κατά 20 mmHg (ή της ΔΑΠ κατά 10 mmHg) διπλασιάζει την πιθανότητα θανάτου από ισχαιμική καρδιακή νόσο. Έτσι λοιπόν στη σημερινή εποχή, και παρά την σημαντική πρόοδο που σημειώθηκε τα τελευταία 30 χρόνια τόσο στον τομέα της διάγνωσης όσο και της θεραπείας, η ΑΥ παραμένει η κυρίαρχη αιτία πρόωρου θανάτου παγκοσμίως, με περίπου 10 εκατομμύρια θανάτους μόνο για το έτος 2015, με το μεγαλύτερο ποσοστό αυτών να αποδίδεται σε ισχαιμική καρδιοπάθεια (\approx 4,9 εκατομμύρια) [110-112].

3.7. Παχυσαρκία – Καθιστική Ζωή

Η παχυσαρκία είναι καθιερωμένος, ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για στεφανιαία νόσο [113], με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας να ορίζει δείκτη μάζας-σώματος (ΔΜΣ) 25-30 kg/m² ως υπέρβαρο προφίλ, ενώ για τον ορισμό της παχυσαρκίας απαιτείται ΔΜΣ > 30 kg/m² [114]. Επιπλέον, μετά την διάγνωση της ΣΝ, η παχυσαρκία επιταχύνει την εξέλιξη της ενώ παράλληλα προδιαθέτοντας στην ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη και σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, επιβαρύνει την πρόγνωση [115]. Μάλιστα, ενώ η παχυσαρκία αντιμετωπίζεται συχνά ως 'ελάσσων' παράγοντας καρδιαγγειακού κινδύνου, η απώλεια βάρους και η διατήρηση ενός ΔΜΣ < 25 kg/m² αποτελούν ευρέως αποτελεσματικές παρεμβάσεις που επηρεάζουν θετικά αρκετούς 'μείζονες' παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως την ΑΥ, την δυσλιπιδαιμία και τον

σακχαρώδη διαβήτη/αντίσταση στην ινσουλίνη [116]. Αξίζει τέλος να σημειωθεί ότι η παχυσαρκία βρέθηκε να συσχετίζεται με πρώιμη εμφάνιση αθηροσκλήρυνσης σε εφήβους και νεαρούς ενήλικες [117], ενώ επιπλέον η κοιλιακή παχυσαρκία, γνωστή επίσης ως κεντρική ή σπλαγγνική παχυσαρκία, θεωρείται ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης σιωπηρής καρδιακής ισχαιμίας σε ασυμπτωματικούς ασθενείς [118].

Από την άλλη μεριά, πληθώρα δεδομένων έχουν αναδείξει την ευεργετική επίδραση της άσκησης τόσο στην πρωτογενή όσο και στη δευτερογενή πρόληψη της στεφανιαίας νόσου [119]. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω διαφόρων μηχανισμών με κυριότερους την βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας μέσω της έκκρισης και της αυξημένης βιοδιαθεσιμότητας του NO [119], την μείωση της παρατεταμένης αγγειοσυστολής των στεφανιαίων αγγείων από την ενδοθηλίνη [120] και ασφαλώς την τροποποίηση άλλων παραγόντων κινδύνου, όπως η ΑΥ, η παχυσαρκία και η δυσλιπιδαιμία, που αποδεδειγμένα οδηγούν σε στεφανιαία νόσο [121-125]. Σημαντική είναι ακόμη η ευοδωτική δράση της άσκησης στο σχηματισμό παράπλευρων αγγείων για την καλύτερη αιμάτωση, ενώ αδιάσειστα δεδομένα αποδεικνύουν πως αναστέλλει την εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης και προλαμβάνει την εκδήλωση των κλινικών σημείων της νόσου [126-128]. Αξιοσημείωτη είναι ακόμη η δράση της άσκησης στη βελτίωση της συστολικής λειτουργίας της καρδιάς μέσω της μείωσης του μεταφορτίου και της συμπαθητικής υπερδραστηριότητας, της βελτίωσης της διαστολικής λειτουργίας αλλά και μέσω του αυξημένου ουδού μετακίνησης ιόντων ασβεστίου που οδηγούν με τη σειρά τους σε βελτίωση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου [129-133]. Οι μηχανισμοί αυτοί καθώς και τα δεδομένα των μελετών, κλινικά και πειραματικά, καταδεικνύουν το σημαντικό ρόλο της άσκησης ως ένα μέσο ενάντια στους μηχανισμούς της αθηροσκλήρυνσης, υπογραμμίζοντας σαφώς την έλλειψη φυσικής δραστηριότητας ως προδιαθεσικό παράγοντα για στεφανιαία νόσο.

4. Φλεγμονή και Στεφανιαία Νόσος

4.1. Εισαγωγή

Είναι γεγονός ότι η τροποποίηση των παραπάνω παραγόντων κινδύνου σε συνδυασμό με την εντατική φαρμακευτική μείωση της LDL-C επέφερε σημαντική μείωση στην επίπτωση της καρδιαγγειακής νόσου στον πληθυσμό. Ωστόσο, στην καθημερινή κλινική πράξη, δεν είναι λίγοι οι ασθενείς που εμφανίζονται με νέα καρδιαγγειακά συμβάματα παρά την βέλτιστη φαρμακευτική αγωγή και την επίτευξη των τιμών – στόχων για την LDL-C [134]. Στο φαινόμενο αυτό εμπλέκεται πλήθος μηχανισμών που αλληλοεπιδρούν μεταξύ τους, συχνά με σύνθετο τρόπο [135]. Στο πλαίσιο αυτό, καθοριστικός έχει αποδειχθεί ο ρόλος της φλεγμονής, που φαίνεται να έχει σημαίνοντα ρόλο στην έναρξη της παθοφυσιολογικής διαδικασίας, την εξέλιξη αλλά και την αποσταθεροποίηση και τελικώς την ρήξη της αθηρωματικής πλάκας με αποτέλεσμα την εμφάνιση των κλινικών εκδηλώσεων της καρδιαγγειακής νόσου [136]. Έτσι λοιπόν, και ενώ η τροποποίηση των μηχανισμών της φλεγμονής μέσω στοχευμένων παρεμβάσεων παραμένει μια πρόκληση, τα αποτελέσματα από πρόσφατες προοπτικές μελέτες έδειξαν ότι η 'στοχοποίηση' της φλεγμονής ως θεραπεία μπορεί να αποτελέσει μια νέα προσέγγιση με στόχο την μείωση των οξέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων.

Αρχικά, τα δεδομένα από κλινικές μελέτες και μελέτες παρατήρησης ανέδειξαν την υψηλή επίπτωση υποκλινικής φλεγμονής σε ασθενείς με ΚΑΝ παρά την αγωγή με στατίνες. Στη μελέτη VIRGO (Variation in Recovery - Role of Gender on Outcomes of Young AMI), το 60% των νεαρών ασθενών με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου είχαν αυξημένες τιμές C-αντιδρώσας πρωτεΐνης υψηλής ευαισθησίας (hs-CRP) > 2 mg/L, που αποτελεί κοινός δείκτης μέτρησης της υποκλινικής φλεγμονής [137]. Παρόμοια αποτελέσματα έδειξαν και άλλες κλινικές μελέτες με στατίνες. Στη μελέτη PROVE-IT (Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy), το 43% των ασθενών υπό αγωγή με υψηλή δόση ατορβαστατίνης είχαν επίπεδα hs-CRP > 2 mg/L [138]. Παρόμοια αποτελέσματα φάνηκαν και στη μελέτη IMPROVE-IT (Improved Reduction of Outcomes - Vytorin Efficacy International), όπου το 47% των ασθενών που τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν αγωγή με στατίνη σε συνδυασμό με εξετιμίμπη είχαν hs-CRP > 2 mg/L [139]. Και στις δύο περιπτώσεις αυτές, η παρατηρούμενη αύξηση της hs-CRP

συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακά συμβάματα παρά την επίτευξη της τιμής στόχου για την LDL-C < 70 mg/dL, γεγονός που οδήγησε κάποιους ερευνητές να υποστηρίξουν τη θεωρία του 'διπλού στόχου' της LDL-C < 70 mg/dL σε συνδυασμό με hs-CRP < 2 mg/L [139,140]. Σε μια πιο πρόσφατη μελέτη με ασθενείς μετά από διαδερμική αγγειοπλαστική και τιμές LDL-C < 70 mg/dL, φάνηκε ότι το 34% αυτών είχαν ευρήματα 'υπολειπόμενης' υποκλινικής φλεγμονής παρά τα επιθετικά θεραπευτικά μέτρα στα πλαίσια της δευτεροπαθούς πρόληψης [141]. Από τα παραπάνω λοιπόν στοιχεία είναι ξεκάθαρο ότι η παρουσία υποκλινικής συστηματικής φλεγμονής είναι κοινό εύρημα σε ασθενείς με ΚΑΝ, συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο και επομένως αποτελεί επιτακτική ανάγκη η εφαρμογή επιπρόσθετων παρεμβάσεων με στόχο την μείωση της φλεγμονής και την επακόλουθη ελάττωση του καρδιαγγειακού κινδύνου.

Ήδη άλλωστε από παλαιότερες μελέτες είχε γίνει γνωστή η σημαντική διήθηση των αθηρωματικών πλακών από κύτταρα φλεγμονής [142]. Άλλες πάλι μελέτες έδειξαν ότι καθιερωμένοι δείκτες φλεγμονής όπως η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και η ιντερλευκίνη-1β (IL-1β) συνδέονται στενά με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο [143,144], ενώ στη μελέτη AFCAPS/TexCAPS (Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study) φάνηκε ότι ασθενείς με υποκλινική φλεγμονή ενδέχεται να κινδυνεύουν ακόμα και μετά από σωστή ρύθμιση της LDL-C [145]. Σημαντική ήταν και η μελέτη JUPITER (Justification for the Use of Statins in Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin), όπου φάνηκε ότι οι συμμετέχοντες χωρίς προηγούμενο ιστορικό ΚΑΝ ή ΣΔ με τιμές LDL-C <130 mg/dL αλλά με hs-CRP > 2 mg/L έδειξαν όφελος από την αγωγή με ροσουβαστατίνη σε δόση 20mg/ημέρα, με μείωση κατά 44% του σχετικού κινδύνου εμφάνισης του σύνθετου καταληκτικού σημείου (ΟΕΜ, ΑΕΕ, αρτηριακή επαναγγείωση, νοσηλεία για ασταθή στηθάγχη, θάνατος από ΚΑΝ) [146]. Επιπλέον, καταγράφηκε ελάττωση κατά 65% του κινδύνου για αγγειακά συμβάματα όταν η χαμηλή τιμή hs-CRP < 2 mg/L συνδυάστηκε με επίτευξη τιμών LDL-C < 70 mg/dL [147]. Επομένως, η μελέτη JUPITER έδειξε ότι εκτιμώντας την υποκλινική φλεγμονή με την μέτρηση της hs-CRP, αναγνωρίζεται μια υποομάδα ασθενών που ενώ προηγουμένως δεν θεωρούνταν υποψήφιοι για αγωγή με στατίνες, εμφανίζουν αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο και τελικά εμφάνισαν όφελος από την αγωγή αυτή, αν και δεν είναι εύκολο να εξακριβωθεί εάν το όφελος της υπολιπιδαιμικής αυτής αγωγής ήταν εξαιτίας της επίδρασης της στατίνης στην LDL-C ή της αντιφλεγμονώδους

της δράσης. Ο ρόλος της φλεγμονής στην παθογένεια της αθηροσκληρυντικής καρδιαγγειακής νόσου επιβεβαιώθηκε αργότερα με τα ευρήματα της μελέτης CANTOS (Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcome Study), όπου η χορήγηση ενός μονοκλωνικού αντισώματος (canakinumab) με στόχο την IL-1β μείωσε σημαντικά τα καρδιαγγειακά συμβάντα χωρίς να επιδρά στην LDL-C [148]. Επιπλέον, στη μελέτη COLCOT η χορήγηση κολχικίνης, ενός φαρμάκου με γνωστή αντιφλεγμονώδη δράση, σε ασθενείς με πρόσφατο έμφραγμα του μυοκαρδίου, επιπρόσθετα της υπόλοιπης βάση κατευθυντήριων οδηγιών φαρμακευτικής αγωγής, οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση των ισχαιμικών καρδιαγγειακών επεισοδίων [149]. Τέλος, ασθενείς με αυτοάνοσα /συστηματικά φλεγμονώδη νοσήματα παρουσιάζουν τεκμηριωμένα αυξημένη επίπτωση ΣΝ που δεν εξηγείται επί τη βάση των κλασσικών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου. Έτσι, η επίπτωση της στεφανιαίας νόσου φτάνει το 6-15% στους ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο και το 13% στους ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η καταστολή της συστηματικής φλεγμονής που είναι θεραπευτικός στόχος και επιτυγχάνεται με τη χρήση αντιφλεγμονωδών παραγόντων συνεπάγεται και ελάττωση του καρδιαγγειακού κινδύνου για τους ασθενείς αυτούς [150,151].

4.2. Παθοφυσιολογία της φλεγμονής

Η ανοσολογική απόκριση χωρίζεται σε δύο σκέλη, με διαφορετικό εξελικτικό υπόβαθρο και διαφορετικές αλλά αλληλοσυμπληρούμενες λειτουργίες. Πρόκειται για τη μη ειδική - κατά άλλους «εγγενή» (innate immunity) - ανοσία και την ειδική ανοσία, κυτταρική και χυμική (adaptive immunity). Η πρώτη αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού απέναντι σε παθογόνα, κινητοποιείται πρώιμα, στερείται ειδικότητας και δεν αναγνωρίζει ειδικά αντιγόνα, αλλά μοριακές δομές που μπορεί να εμφανίζονται σε ποικίλα παθογόνα αλλά και σε στοιχεία του «εαυτού». Εν πολλοίς απαρτίζεται από υποδοχείς όπως οι Toll-like receptors (TLRs) και οι NOD-like receptors (NLRs), κύτταρα όπως τα μακροφάγα, τα πολυμορφοπύρηνα, τα μαστοκύτταρα και τα δενδριτικά κύτταρα, αλλά και κυτταροκίνες όπως η IL-1, η IL-6 και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (Tumor necrosis factor, TNF)-α. Η ειδική ανοσία, μεταγενέστερη

εξελικτικά, αποτελείται από τα T - και τα B - λεμφοκύτταρα, τα οποία κινητοποιούνται όψιμα, έχουν ειδικότητα έναντι συγκεκριμένων αντιγόνων και εξαρτώνται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και από τη μη ειδική ανοσία. Φλεγμονώδης απόκριση συμβαίνει όταν η ομοιοστασία του οργανισμού διαταράσσεται συνεπεία λοίμωξης ή ιστικής βλάβης. Σε τέτοια σενάρια έχουμε τη μέγιστη κινητοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος για τη σχηματοποίηση της κλασσικής φλεγμονώδους απόκρισης. Ωστόσο, μικρότερου μεγέθους κινητοποίηση των ανοσολογικών μηχανισμών και επομένως φλεγμονώδη φαινόμενα ηπιότερης έντασης συμβαίνουν όταν τοπικά διαταραχθεί η λειτουργία των ιστών ή αυτοί υποβληθούν σε οποιαδήποτε μηχανική ή χημική καταπόνηση. Πρόκειται για την «παραφλεγμονή» (parainflammation), η οποία σε χρόνια μορφή ενέχεται σε πολλές παθολογικές καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένης της χρόνιας στεφανιαίας νόσου, του σακχαρώδους διαβήτη και του μεταβολικού συνδρόμου [152]. Από παθοφυσιολογικής άποψης, όλα τα στάδια εξέλιξης της αθηρωματικής πλάκας μπορούν να θεωρηθούν ως μια φλεγμονώδης απάντηση σε βλαπτικούς παράγοντες όπως η δυσλιπιδαιμία, η υπεργλυκαιμία, η αρτηριακή υπέρταση και το κάπνισμα [153,154]. Αυτοί οι βλαπτικοί παράγοντες οδηγούν στο σχηματισμό ουσιών που προκαλούν δυσλειτουργία στη φυσιολογική ομοιόσταση του ενδοθηλίου, προάγοντας τη φλεγμονώδη διαδικασία.

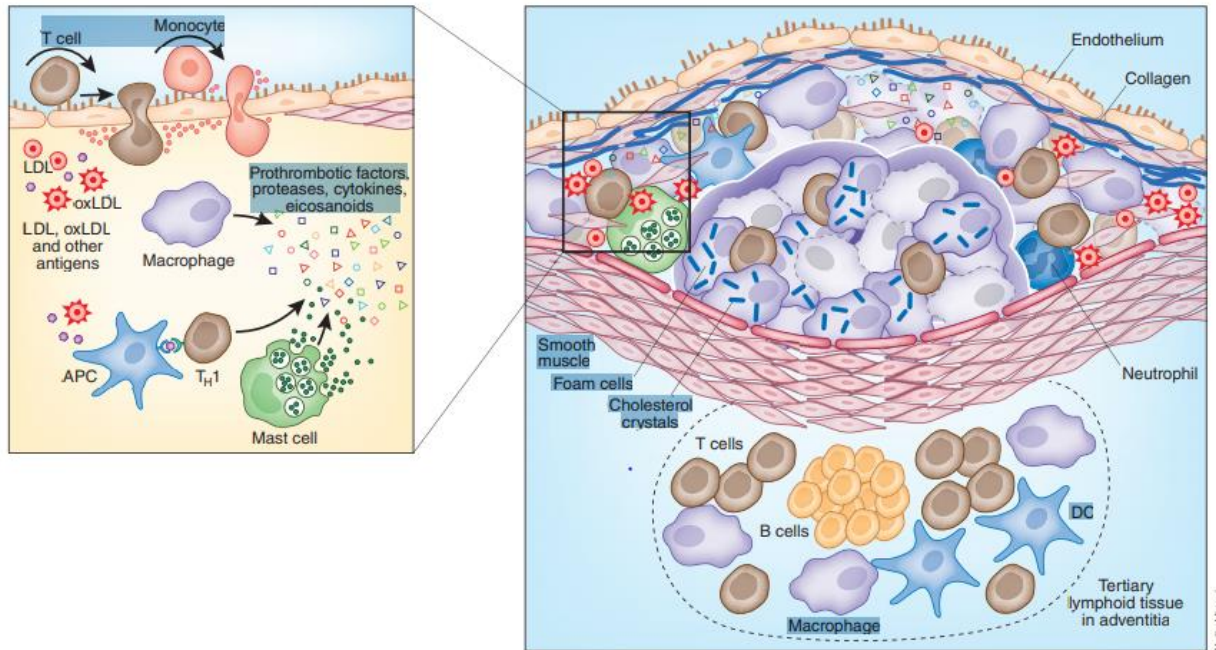
Ο ρόλος της μη ειδικής ανοσίας - Το φλεγμονόσωμα

Η αθηρωματική πλάκα αποτελείται από ένα στρώμα λιπιδίων το οποίο εντοπίζεται μέσα στο αρτηριακό τοίχωμα και συνυπάρχει με φλεγμονώδη κύτταρα ενώ καλύπτεται από μία ινώδη πλάκα άλλοτε άλλου πάχους που είναι δυνατόν να επασβεστώνεται. Η δημιουργία αλλά και η επέκταση της αθηρωματικής πλάκας σχετίζεται με την κινητοποίηση τόσο της μη ειδικής (εγγενούς, innate immunity) όσο και της ειδικής ανοσίας (adaptive immunity). Αρχικά τα σωματίδια LDL δεσμεύονται από υποδοχείς της μη ειδικής ανοσίας όπως οι SR (Scavenger Receptor)-AI, SR-AII, MARCO (macrophage receptor with collagenous structure), NLRs και TLRs οι οποίοι αναγνωρίζουν αντιγονικούς επιτόπους της οξειδωμένης LDL. Ιδιαίτερη μνεία θα πρέπει να γίνει στους υποδοχείς TLRs και NLRs οι οποίοι υπό κανονικές συνθήκες αναγνωρίζουν μοριακές δομές παθογόνων και κινητοποιούν την πρώτη γραμμή άμυνας του

οργανισμού έναντι αυτών. Οι εν λόγω υποδοχείς ανευρίσκονται είτε στα ενδοθηλιακά και επιθηλιακά κύτταρα είτε πάνω σε μακροφάγα και κύτταρα φλεγμονής και έχουν την ιδιότητα να επάγουν την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες της φλεγμονής όπως οι κυτταροκίνες IL-1, IL-18 και ο TNF-α. Μάλιστα, οι NLRs μπορούν να οργανώνονται πάνω σε ειδικές μοριακές «πλατφόρμες» που ονομάζονται φλεγμονοσώματα («inflammasomes») [155,156].

Το πλέον μελετημένο φλεγμονόσωμα είναι το NLRP-3. Αυτό φαίνεται να έχει ιδιαίτερο ρόλο στην αθηρωμάτωση, καθώς μπορεί να κινητοποιείται από κρυστάλλους χοληστερόλης και πρωτεΐνες οξειάς φάσεως. Μάλιστα έχει φανεί ότι η ενεργοποίησή του είναι απαραίτητη για την αθηρογένεση [157]. Επίσης εμπλέκεται στο μεταβολικό σύνδρομο και το σακχαρώδη διαβήτη, αφού αναγνωρίζει δραστικές μορφές οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) και θραύσματα γενετικού υλικού, πυροδοτώντας την έκφραση φλεγμονωδών κυτταροκινών (όπως της IL-1) και συνδράμοντας στην καταστροφή των παγκρεατικών και άλλων κυττάρων [157,158]. Τέλος, σε πειραματικά πρότυπα μυοκαρδιακής βλάβης, το φλεγμονόσωμα επάγει τη μη προσαρμοστική καρδιακή αναδιαμόρφωση μετά από έμφραγμα [159]. Ενδεικτικές δράσεις της IL-1 που συνδέονται με την αθηρωμάτωση είναι η αναστολή της σύνθεσης μονοξειδίου του αζώτου, η αύξηση της ενδοθηλίνης και μορίων προσκόλλησης, η ενεργοποίηση των μακροφάγων αλλά και η ενεργοποίηση του ενδοθηλίου.

Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου αντίστροφα συνεπάγεται ενίσχυση της φλεγμονής και της θρομβογονικότητας, αγγειοσύσπαση και κυτταρική υπερτροφία. Θεωρείται ότι το ενδοθήλιο ενεργοποιείται αρκετά πρώιμα όταν δυσμενείς αιμοδυναμικές συνθήκες – πχ στροβιλώδης ροή σε σημεία διχασμών ή υψηλή διαμητική τάση όπως επί αρτηριακής υπέρτασης- αλλά και η ίδια η παρουσία οξειδωμένης LDL πυροδοτούν την έκφραση μορίων προσκόλλησης (ICAM, VCAM) και χημειοκινών που προσελκύουν και δεσμεύουν περισσότερα μονοκύτταρα και T-λεμφοκύτταρα ενώ επάγουν και τη διαφοροποίηση των πρώτων σε μακροφάγα οδηγώντας στη συσσώρευση αφρωδών κυττάρων.

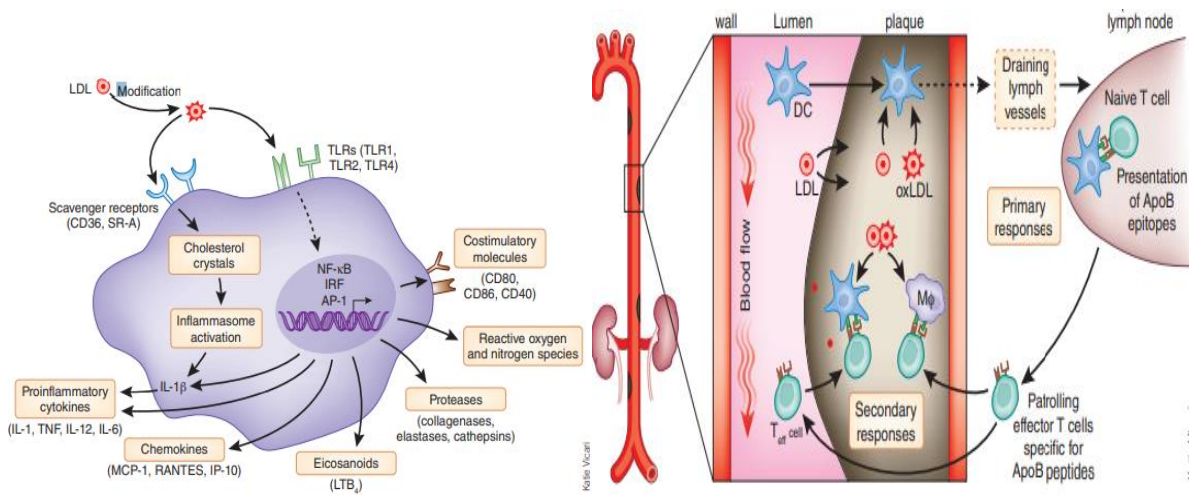


Εικόνα 4. Τα ανοσολογικά στοιχεία της αθηρωματικής πλάκας

Το αθήρωμα αποτελείται από έναν πυρήνα λιπιδίων που καλύπτεται από ινώδη πλάκα αποτελούμενη από λεία μυϊκά κύτταρα και κολλαγόνο. Οι λιποπρωτεΐνες του πλάσματος συγκεντρώνονται στην υπενδοθηλιακή στοιβάδα. Διάφοροι τύποι κυττάρων του ανοσοποιητικού συμμετέχουν στο σχηματισμό του αθηρώματος, μεταξύ αυτών μακροφάγα, T-λεμφοκύτταρα, μαστοκύτταρα και δενδριτικά κύτταρα. *APC: antigen presenting cell. **Hansson GK, Hermansson A. Nature Immunol 2011; 12: 204-21**

Ο ρόλος της ειδικής ανοσίας

Ενώ υπό κανονικές συνθήκες τα δενδριτικά κύτταρα επάγουν την «ανοχή», δηλαδή «εκπαιδεύουν» τα κύτταρα της ειδικής ανοσίας (T- και B- λεμφοκύτταρα) να μην επιτίθενται σε ενδογενή μόρια, φαίνεται ότι πρωτεΐνες που απελευθερώνονται κατά την εξέλιξη της διαδικασίας της αθηρωμάτωσης όπως οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ (heat shock proteins-HSPs) και η οξειδωμένη LDL προάγουν μέσω της παραγωγής IL-12 από τα δενδριτικά κύτταρα, τη διέγερση των T-λεμφοκυττάρων. Έτσι, σε ένα μεταγενέστερο του αρχικού στάδιο, τα T-λεμφοκύτταρα που εντοπίζονται στην αθηρωματική πλάκα παράγουν IFN- γ , IL-10 και TNF- α ευοδώνοντας τη νεοαγγείωση, την αποδόμηση της εξωκυττάριας ουσίας και τη θρομβογονικότητα, συμβάλλοντας έτσι στην εξέλιξη της νόσου [160].



Εικόνα 5. Σχηματική αναπαράσταση της φλεγμονώδους απόκρισης στη στεφανιαία νόσο

Στο σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας συμμετέχουν τόσο η ειδική όσο και η μη ειδική ανοσία. **Αριστερά:** η ενεργοποίηση της μη ειδικής ανοσίας. Η συλλογή από τους υποδοχείς «scavenger» οξειδωμένης LDL οδηγεί στην ενδοκυττάρια συσσώρευσή της και στην ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος. Η LDL επίσης ενεργοποιεί τους υποδοχείς TLRs επάγοντας το σηματοδοτικό μονοπάτι που καταλήγει στην έκφραση μεταγραφικών παραγόντων όπως είναι ο NF-κΒ, και στην παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών, χημειοκινών, οξειδασών και άλλων μορίων. **Δεξιά:** η κινητοποίηση της ειδικής ανοσίας. Τα T-λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται μέσα στο αρτηριακό τοίχωμα. Δενδριτικά κύτταρα μεταναστεύουν από το περιφερικό αίμα στις αρτηρίες, αναγνωρίζουν αντιγονικούς επιτόπους όπως η apoB100 της LDL και μεταφέρονται σε επιχώριους λεμφαδένες όπου αναλαμβάνουν την αντιγονική παρουσίαση σε δραστικά T-λεμφοκύτταρα (T-effector cells), τα οποία με τη σειρά τους μπαίνουν στην κυκλοφορία. Όταν αυτά βρεθούν μέσα στην αθηρωματική πλάκα, επανενεργοποιούνται από τα ίδια αντιγόνα που αυτή τη φορά παρουσιάζονται από τα τοπικά μακροφάγα, και διαιωνίζουν τη φλεγμονή. *LDL: low density lipoprotein, oxLDL: oxidized LDL, APC: antigen presenting cell, TH1: T helper 1, DC: dendritic cell, TLR: toll-like receptor, CD: cluster of differentiation, NF-κΒ: nuclear factor kappa beta, AP: activated protein, IRF: interferon regulating factor, SR-A: scavenger receptor A, IL: interleukin, TNF: tumour necrosis factor, MCP-1: monocyte chemoattractant protein, RANTES: regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted, IP: interferon induced protein, LTB4: leukotriene B4, Mφ: macrophage. **Hansson GK, Hermansson A. Nature Immunol 2011; 12: 204-212**

LDL και HDL χοληστερόλη. Η θεωρία της «μεταβολικής φλεγμονής» (metabolic inflammation)

Η συσχέτιση ανάμεσα στην υψηλή συγκέντρωση αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών (δηλαδή συγκεκριμένων μορφών LDL, μεταγευματικών χυλομικρών και τριγλυκεριδίων νηστείας) και την ενεργοποίηση του ενδοθηλίου είναι καλά τεκμηριωμένη. Η παρουσία οξειδωμένης LDL χοληστερόλης στον έσω αρτηριακό χιτώνα και κατά κύριο λόγο σε περιοχές που υφίστανται

αυξημένη αιμοδυναμική φόρτιση πυροδοτεί την έκφραση από τα ενδοθηλιακά κύτταρα μορίων προσκόλλησης (VCAM, RANTES) που στη συνέχεια επιτρέπουν την προσέλκυση και προσκόλληση περισσότερων λευκοκυττάρων αλλά και την παραγωγή από αυτά κυτταροκινών που επαυξάνουν και διαιωνίζουν τη φλεγμονή. Τα μεταγευματικά τριγλυκερίδια σχετίζονται με αυξημένες συγκεντρώσεις χημειοκινών και κυτταροκινών όπως ο TNF- α , η IL-6 και τα διαλυτά μόρια s-ICAM και s-VCAM, γεγονός που καταδεικνύει την προφλεγμονώδη δράση τους [161].

Η HDL χοληστερόλη δρα προστατευτικά στην εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου και τα επίπεδά της σχετίζονται κατά αντιστρόφως ανάλογο τρόπο με το αθηρωματικό φορτίο. Πέραν της μεταφοράς χοληστερόλης από την περιφέρεια στο ήπαρ, η HDL χοληστερόλη έχει αρκετές ακόμα θετικές δράσεις που πρόσφατα έχουν περιγραφεί και την έχουν καταστήσει πειραματικό φαρμακευτικό στόχο στη θεραπευτική της στεφανιαίας νόσου. Έτσι μεταξύ άλλων, η HDL χοληστερόλη έχει αντιφλεγμονώδεις δράσεις καθώς μπορεί να αναστέλλει την έκφραση μορίων προσκόλλησης από το ενδοθήλιο και συνεπώς τη δέσμευση στον έσω αρτηριακό χιτώνα μονοκυττάρων και άλλων κυττάρων φλεγμονής. Επιπλέον παρεμβάλλεται στο σηματοδοτικό μονοπάτι που διαμεσολαβεί την έκφραση παραγόντων φλεγμονής, μέσω καταστολής της έκφρασης γονιδίων όπως ο NF- κ B (Nuclear factor kappa B) και η ERK (Extracellular-signal-Regulated Kinase). Επιπλέον, κυρίως μέσω του ενζύμου Lp-PLA2 (lipoprotein-associated phospholipase A2), είναι ικανή να αναστέλλει την οξείδωση των σωματιδίων LDL καθιστώντας τα έτσι λιγότερο αθηρογόνα. Τέλος, αυξάνει την ενζυμική δράση της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου επάγοντας την αγγειοδιαστολή, ενώ ταυτόχρονα εμποδίζει τη διήθηση από λεία μυϊκά κύτταρα και την εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας [162].

Διαταραχές στο μεταβολικό προφίλ είναι δυνατόν να οδηγούν σε μία κατάσταση χρόνιας φλεγμονής που αφορά σε ποικίλα όργανα (πχ ήπαρ και λιπώδης ιστός στο μεταβολικό σύνδρομο, πάγκρεας στο σακχαρώδη διαβήτη) και στο αρτηριακό τοίχωμα. Σε αυτή τη «μεταβολική φλεγμονή» σημαντικό ρόλο διαδραματίζει το φλεγμονόσωμα που αναφέρθηκε και νωρίτερα. Το τελευταίο σύμφωνα με νεότερα πειραματικά δεδομένα, φαίνεται να εμπλέκεται όπως αναφέραμε και στη διαδικασία της μη προσαρμοστικής αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας μετά το έμφραγμα. Έτσι, η ίδια η μυοκαρδιακή βλάβη οδηγεί στην απελευθέρωση «μορίων βλάβης» (damage associated molecular patterns, DAMPs), που είναι ικανά να

κινητοποιούν το φλεγμονόσωμα και τους TLRs με συνέπεια την τοπική παραγωγή κυτταροκινών, χημειοκινών και αυξητικών παραγόντων που προάγουν την απώλεια μυοκαρδιακών κυττάρων και ευοδώνουν την κυτταρική υπερτροφία και την διάταση των καρδιακών κοιλοτήτων [163].

4.3. Οξειδωτικό stress και αθηροσκλήρυνση

Ως οξειδωτικό stress (oxidative stress, OS) ορίζεται η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των οξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών ουσιών του κυττάρου και οφείλεται είτε σε αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου είτε σε ανεπάρκεια των κυτταρικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών [164]. Η περίσσεια των δραστικών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) προκαλεί βλάβες στα κυτταρικά λιπίδια, τις πρωτεΐνες ή το DNA, αναστέλλοντας έτσι τη λειτουργία τους. Κατά συνέπεια, το οξειδωτικό stress ενοχοποιείται στην παθοφυσιολογία πολλών νοσημάτων καθώς και στη διεργασία της γήρανσης.

Ο ρόλος του οξειδωτικού stress έχει καταστεί πλέον αποδεκτός στην παθοφυσιολογία της αθηροσκλήρυνσης, της στεφανιαίας νόσου και της καρδιακής ανεπάρκειας ενώ καρδιαγγειακοί παράγοντες κινδύνου όπως το κάπνισμα, η υπερχοληστερολαιμία, η αρτηριακή υπέρταση και η υπεργλυκαιμία, σχετίζονται στενά με το οξειδωτικό stress [165,166]. Σε ό,τι αφορά την αθηροσκλήρυνση, το οξειδωτικό stress φαίνεται να κατέχει θεμελιώδη ρόλο τόσο στην έναρξη όσο και στην εξέλιξη της. Η ανθρώπινη αθηρωματική πλάκα περιέχει οξειδωμένα λιπαρά οξέα, οξειδωμένα μόρια LDL [167], προϊόντα οξειδωμένης χοληστερόλης (οξυστερόλες) [168], υπεροξειδία λιπιδίων [169], πρωτεΐνες, τριγλυκερίδια [170, 171], και μειωμένα επίπεδα αντιοξειδωτικών [172]. Τα οξειδωμένα λιπαρά οξέα προάγουν την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης, εξαιτίας τόσο της αύξησης του OS όσο και των μεταβολών του λιπιδαιμικού προφίλ στο πλάσμα [167].

Η οξειδωμένη LDL (Ox-LDL) προάγει τον σχηματισμό πλακών με διάφορους τρόπους, συμπεριλαμβανομένης της πρόσληψης μονοκυττάρων στο τοίχωμα του αγγείου, αύξηση της πρόσληψης λιποπρωτεϊνών από τα μακροφάγα και ενίσχυση του σχηματισμού αφρωδών κυττάρων [173]. Επιπλέον, θεωρείται υπεύθυνη για την αύξηση της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης, η οποία οδηγεί σε προσκόλληση των κυττάρων του ανοσοποιητικού

συστήματος (μονοκυττάρων, μακροφάγων, T-λεμφοκυττάρων) στο ενδοθήλιο. Αυτή η ενεργοποίηση του ενδοθηλίου οδηγεί στην απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών, ιντερλευκινών, ιντερφερόνης και χημειοτακτικών παραγόντων. Το ενδοθήλιο γίνεται διαπερατό στα λιπίδια και στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, με αποτέλεσμα τα μακροφάγα να φαγοκυτταρώνουν την οξειδωμένη LDL και να μετατρέπονται έτσι σε αφρώδη κύτταρα [174]. Άλλα οξειδωμένα μόρια όπως οι οξυστερόλες και τα υπεροξειδία λιπιδίων έχουν πολυάριθμες επιδράσεις που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση, όπως η ρύθμιση του κυτταρικού θανάτου, η κυτταρική ανάπτυξη, η ενεργοποίηση ορισμένων κινασών και η έκφραση προφλεγμονωδών πρωτεϊνών [175,176].

Εκτός από τα παραπάνω, το οξειδωτικό stress προάγει την αθηρωμάτωση και με άλλους μηχανισμούς καθώς οι ρίζες υδροξυλίου έχουν άμεση βλαπτική δράση στις κυτταρικές μεμβράνες και στους πυρήνες των κυττάρων ενώ ταυτόχρονα οι δραστικές ρίζες οξυγόνου επιδρούν στη διεργασία της αθηρογένεσης αλληλοεπιδρώντας με ενδογενείς αγγειοδραστικούς μεσολαβητές, που παράγονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα [177].

4.4. Δείκτες φλεγμονής και στεφανιαία νόσος

Η διαπίστωση ότι η φλεγμονή διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη δημιουργία και την εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας είχε ως αποτέλεσμα τη στροφή της προσοχής των ερευνητών στους επονομαζόμενους βιοδείκτες (biomarkers) της φλεγμονής [178]. Οι βιοδείκτες της φλεγμονής είναι ουσίες που παράγονται κατά τη διάρκεια της φλεγμονώδους διαδικασίας, ανιχνεύονται με εργαστηριακές μεθόδους και φαίνεται ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να γίνει πιο ακριβής η εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου, ιδιαίτερα σε άτομα που με βάση τους κλασσικούς παράγοντες εμφανίζουν χαμηλό ή ενδιάμεσο κίνδυνο. Πέρα όμως από το γεγονός ότι αποτελούν απλούς δείκτες, οι βιοδείκτες αυτοί φαίνεται ότι έχουν έναν πιο ουσιαστικό ρόλο στην αθηρωμάτωση των στεφανιαίων αγγείων και την εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου καθώς οι ουσίες αυτές διαδραματίζουν ενεργό ρόλο στην αθηρογένεση, όντας παράγοντες που μπορούν τόσο να προάγουν (προφλεγμονώδης δράση), όσο και να εμποδίσουν (αντιφλεγμονώδης δράση) την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης.

Οι κυριότεροι δείκτες που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι οι πρωτεΐνες οξειάς φάσεως όπως η CRP, οι κυτταροκίνες όπως η IL-1, η IL-6 και η IL-18, το αμυλοειδές του ορού, το ινωδογόνο, το CD40, τα διαλυτά μόρια προσκόλλησης, ο TNF-α και η P και E σελεκτίνες [179-187]. Ομοίως, η προφλεγμονώδης σχετιζόμενη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A2 (Lp-PLA2) [188] ή η μυελοϋπεροξειδάση έχει φανεί ότι μπορούν δυνητικά να βοηθήσουν στην πρόβλεψη επαπειλούμενων ΟΣΣ [189,190]. Από αυτά τα μόρια άλλα παράγονται άμεσα στην περιοχή της αθηρωματικής πλάκας, άλλα παράγονται έμμεσα ως αποτέλεσμα της διαδικασίας της φλεγμονής σε απομακρυσμένες θέσεις και άλλα παράγονται τόσο στην περιοχή της αθηρωματικής πλάκας όσο και σε κάποια άλλη θέση. Μέχρι στιγμής δεν υπάρχει καθολική σύσταση για συστηματικό έλεγχο αυτών των δεικτών για την πρόγνωση και τη θεραπεία της στεφανιαίας νόσου. Φαίνεται όμως πως η χρήση τους σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες κινδύνου μπορεί να βοηθήσει στη σωστότερη εκτίμηση του κινδύνου και στην επιλογή της καταλληλότερης θεραπείας. Στη συνέχεια θα αναφερθούμε επιγραμματικά στην CRP και στην IL-6 που εκτιμήθηκαν και στη δική μας μελέτη.

C- αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)- hsCRP

Ο δείκτης που μέχρι σήμερα έχει μελετηθεί περισσότερο από όλους, σε σχέση με την αθηροσκλήρωση και τη στεφανιαία νόσο, είναι η CRP. Η CRP είναι μια πρωτεΐνη οξειάς φάσης που παράγεται κυρίως στο ήπαρ και η σύνθεσή της στον οργανισμό σε φυσιολογικές συνθήκες είναι συνεχής και σταθερή. Γι' αυτόν το λόγο ανευρίσκεται στο πλάσμα σε μικρές ποσότητες [191].

Υπάρχει πληθώρα δεδομένων που δείχνουν ότι η CRP συμβάλλει στην πρόγνωση του κινδύνου καρδιαγγειακών επεισοδίων επιπρόσθετα από τους καθιερωμένους παράγοντες κινδύνου [192]. Σε προοπτικές μελέτες, φάνηκε ότι υγιείς άνδρες και γυναίκες με υψηλά επίπεδα CRP εμφανίζουν υψηλότερο κίνδυνο μελλοντικών καρδιαγγειακών επεισοδίων [193]. Επιπλέον, η CRP σχετίζεται με υποκλινική επασβέστωση των επικαρδιακών στεφανιαίων αγγείων [194] και είναι σημαντικά αυξημένη σε ασθενείς με αιφνίδιο θάνατο καρδιακής αιτιολογίας [195]. Υψηλά επίπεδα CRP συνδέονται επίσης με υψηλότερη συχνότητα επιπλοκών μετά από επιτυχή

αγγειοπλαστική και τοποθέτηση stent [196] καθώς και με την παρουσία ινοαθηρώματος με λεπτή κάψα που προδιαθέτει σε ρήξη της αθηρωματικής πλάκας [197,198].

Εκτός όμως από τον ρόλο της ως βιοδείκτης, η CRP φαίνεται να συμμετέχει στη διαδικασία της αθηρογένεσης με πολλές in vitro μελέτες να υποδηλώνουν την πλειοτροπική αθηρωματώδη δράση της σε τρία επίπεδα: α) στα ενδοθηλιακά κύτταρα [199-201], β) στα μονοκύτταρα/μακροφάγα [202,203] και γ) στα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών [204]. Άλλωστε, σε αθηρωματικές πλάκες έχει ανιχνευθεί η παρουσία τόσο mRNA CRP όσο και η ίδια η πρωτεΐνη [205-207], ενώ η εισαγωγή ανθρώπινου γονιδίου CRP σε διαγονιδιακά ποντίκια προάγει το σχηματισμό θρόμβου [208].

Σε συμφωνία με τα παραπάνω, η ελάττωση της CRP φαίνεται ότι έχει ευνοϊκά αποτελέσματα στο καρδιαγγειακό σύστημα. Στη μελέτη REVERSAL, μια τυχαίοποιημένη μελέτη 502 ατόμων με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ οι οποίοι έλαβαν 40mg πραβαστατίνης ή 80mg ατορβαστατίνης, φάνηκε ότι η ελάττωση της CRP επιβραδύνει σημαντικά την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης και η συσχέτιση αυτή είναι σημαντική και ανεξάρτητη από την ελάττωση των λιπιδίων [209]. Στο πνεύμα αυτό, οι μελέτες JUPITER και PROVE IT-TIMI 22 που αναφέρθηκαν και νωρίτερα, έδειξαν την σημασία της υποκλινικής φλεγμονής και παράλληλα την πλειοτροπική δράση των στατινών στην πρωτογενή και δευτερογενή πρόληψη των καρδιαγγειακών επεισοδίων αντίστοιχα, σε άτομα με χαμηλή μεν LDL-C αλλά υψηλή τιμή hs-CRP, καθώς τα άτομα με χαμηλότερα επίπεδα hs-CRP μετά την χορήγηση στατίνης είχαν καλύτερη κλινική έκβαση αλλά και πρόγνωση συγκριτικά με τα άτομα με υψηλότερες τιμές hs-CRP [147,138].

Ιντερλευκίνη – 6

Η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) είναι μια κυτταροκίνη που έχει τόσο προφλεγμονώδη όσο και αντιφλεγμονώδη δράση και παίζει κεντρικό ρόλο στη φλεγμονή [210,211]. Η IL-6 παράγεται από πολλά αγγειακά κύτταρα στα οποία περιλαμβάνονται τα ενδοθηλιακά, τα λεία μυϊκά κύτταρα, τα λεμφοκύτταρα και τα μακροφάγα [212] και είναι ένας από τους σημαντικούς μεσολαβητές στην αντίδραση οξειάς φάσης.

Εξαιτίας του κεντρικού της ρόλου στη φλεγμονώδη απάντηση συμμετέχει στην παθογένεση της στεφανιαίας νόσου και έχει χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της αθηρωματικής φλεγμονώδους διαδικασίας. Η IL-6 προάγει τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων, την έκφραση του ιστικού παράγοντα της πήξης των LDL υποδοχέων στα μακροφάγα και αυξάνει τα επίπεδα της CRP και του ινωδογόνου. Επιπλέον, ρυθμίζει την έκφραση και άλλων φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως η IL-1 και ο TNFα, και εμφανίζει μιτωτικές ιδιότητες για τα λεία μυϊκά κύτταρα [213,214].

Αυξημένα επίπεδα IL-6 έχουν βρεθεί σε αθηρωματικές πλάκες και αρκετές μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση ανάμεσα στη στεφανιαία νόσο και τα επίπεδά της. Συγκεκριμένα, αυξημένα επίπεδα IL-6 έχουν καταγραφεί σε ασθενείς με παθολογικό ΗΚΓ [215], αλλά και σε άτομα με υποκλινική αθηρωμάτωση [216]. Επιπρόσθετα, αυξημένα επίπεδα της IL-6 έχουν βρεθεί σε ασθενείς με οξεία στεφανιαία σύνδρομο και μάλιστα με το βαθμό αύξησης να συσχετίζεται ευθέως με την πρόγνωση σε αυτούς τους ασθενείς καθώς όσο πιο αυξημένα είναι τα επίπεδα τόσο χειρότερη φαίνεται να είναι και η πρόγνωση [217,218]. Τέλος, φαίνεται ότι τα αυξημένα επίπεδα της IL-6 μπορούν να αποτελέσουν προγνωστικό δείκτη μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβαμάτων και στα δύο φύλα και μάλιστα σε ασθενείς χωρίς γνωστή στεφανιαία νόσο και ιδιαίτερα σε διαβητικούς [219-221].

5. Τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs)

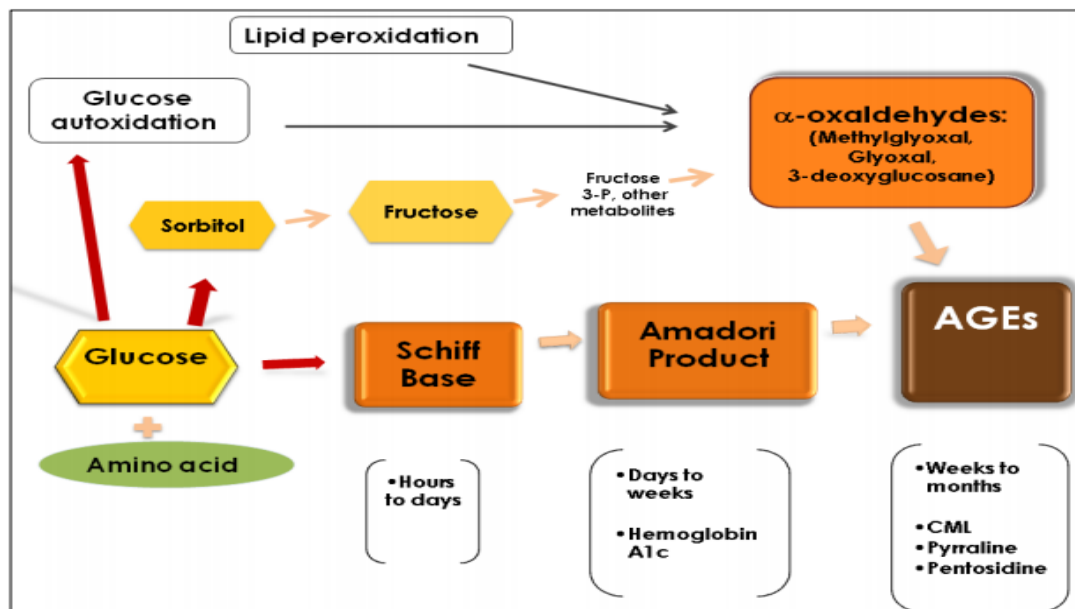
5.1. AGEs

Τα τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (Advanced Glycation End Products, AGEs) είναι μόρια υψηλής δραστηριότητας, τα οποία προκύπτουν από τη μη ενζυμική αντίδραση της γλυκόζης με βιομόρια όπως οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια ή τα νουκλεϊκά οξέα (γλυκοζυλίωση). Πιο συγκεκριμένα, η καρβοξυλική ομάδα της γλυκόζης συνδέεται μη ενζυματικά με τις αμινομάδες των πρωτεϊνών, των λιπιδίων και των νουκλεϊκών οξέων προκαλώντας μεταβολές στη δομή και τη λειτουργία τους. Η διεργασία αυτή εξελισσόμενη, δίνει γένεση σε όλο και πιο σταθερά - μη αναστρέψιμα προϊόντα, καταλήγοντας στα AGEs. Ενδιάμεσα στάδιο στη

δημιουργία των AGEs είναι ο σχηματισμός ενδιάμεσων μη σταθερών προϊόντων γλυκοζυλίωσης, όπως η βάση Schiff και τα προϊόντα Amadori (Εικόνα 6) [222].

Τα AGEs, πέραν των διεργασιών που σχετίζονται με τη γλυκόζη, παράγονται μέσω μηχανισμών που ενεργοποιούνται στα ουδετερόφιλα, τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα κύτταρα μέσω της δράσης του ενζύμου της μυελοϋπεροξειδάσης (MPO). Συγκεκριμένα, η ενεργοποίηση αυτών των κυττάρων σε περιβάλλον φλεγμονής προκαλεί την επαγωγή της δράσης της MPO, η οποία συμμετέχει στην παραγωγή υποχλωρικού οξέος από υπεροξειδίο του υδρογόνου και χλώριο. Το προϊόν της αντίδραση αυτής σχετίζεται με την παραγωγή ενεργών αλδεϋδών από ελεύθερα αμινοξέα (οξειδωση αμινοξέων) καθώς και AGEs από πρωτεϊνικά μόρια, επί παρουσίας ελεύθερων αμινοξέων [223]. Η σύνθεση των AGEs από τα ενεργοποιημένα φλεγμονώδη κύτταρα ενισχύει την άποψη για στενή σχέση μεταξύ των διαδικασιών της φλεγμονής, των AGEs και πιθανόν των επιπλοκών του ΣΔ.

Η ενδογενής σύνθεση των AGEs αυξάνεται σε φυσιολογικές καταστάσεις όπως η γήρανση αλλά και σε διάφορες παθολογικές όπως η υπεργλυκαιμία (ΣΔ), η νόσος Alzheimer ή η νεφρική δυσλειτουργία [224]. Πλην της ενδογενούς σύνθεσης, τα AGEs μπορεί να ληφθούν και εξωγενώς, μέσω του καπνού των τσιγάρων και διαφόρων τροφών (ιδίως αυτών πλούσιων σε λιπαρά, το κρέας και τα υποκατάστατα αυτού, τα τηγανητά κ.ά.) [225,226]. Τα AGEs που λαμβάνονται μέσω τροφής διαθέτουν τις ίδιες προ-οξειδωτικές και προ-φλεγμονώδεις ιδιότητες με τα ενδογενώς συντιθέμενα AGEs [227], για το λόγο αυτό θεωρείται πως συσχετίζονται με την ανάπτυξη χρόνιων φλεγμονωδών καταστάσεων σε κατά τα άλλα υγιή άτομα [228]. Επίσης, έχει βρεθεί πως η υπέρμετρη διατροφική χρήση θερμικά επεξεργασμένων τροφίμων μπορεί να επιφέρει στον οργανισμό διαβητογόνα και νεφροτοξικά αποτελέσματα, ήπια φλεγμονώδη αντίδραση και επαγωγή της αθηροσκλήρωσης [229].



Εικόνα 6: Σχηματική αναπαράσταση την παραγωγής των τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs) έπειτα από τη μη ενζυματική σύνδεση της γλυκόζης με υποστρώματα (πρωτεΐνες, λιπίδια, νουκλεοτίδια). Φαίνονται τα ενδιάμεσα στάδια παραγωγής των AGEs - βάση Schiff, προϊόντα Amadori. Σε παρένθεση αναγράφεται το χρονικό διάστημα που απαιτείται για κάθε στάδιο και εκπρόσωποι κάθε σταδίου [222].

Το καλύτερο μελετημένο AGE είναι η N^ε-(καρβοξυμεθυλ)-λυσίνη (CML) και θεωρείται ως κυρίαρχη μορφή των AGEs που συσσωρεύεται in vivo. Έχει συσχετισθεί ισχυρά με διαδικασίες γήρανσης, φλεγμονής, οξειδωτικού stress, καθώς και νόσους όπως ο ΣΔ, η αθηρωμάτωση και η νόσος Alzheimer. Φαίνεται πως αυτό επιτυγχάνεται μέσω επαγωγής της παραγωγής του NO και την ενεργοποίηση του NF-κB (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells). [230-234].

5.2. RAGEs

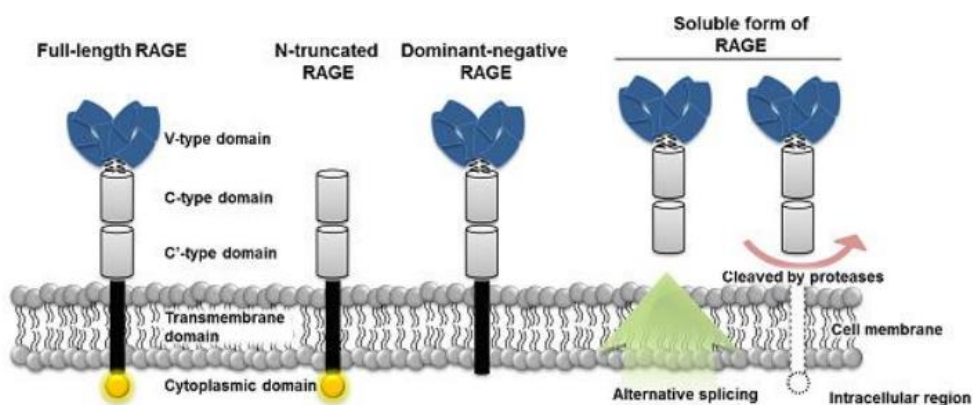
Τα AGEs που αναφέρθηκαν παραπάνω επιδρούν σε πλήθος μορίων που κυκλοφορούν στο αίμα, με αποτέλεσμα την τροποποίηση στη δομή και τη λειτουργικότητά τους. Παράδειγμα τέτοιων ουσιών είναι τα λιπίδια, ορμόνες, κυτοκίνες και δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS). Αποτέλεσμα αυτών των επιδράσεων είναι η εμφάνιση οξειδωτικού stress σε πλήθος ιστών και η συνεπακόλουθη ενεργοποίηση ενδοκυττάρων θρομβωτικών και φλεγμονωδών διαδικασιών. Η ενδοκυττάρια ενεργοποίηση αυτών των διεργασιών γίνεται

διαμέσου του μεμβρανικού υποδοχέα των AGEs, τον RAGE (Receptor of Advanced Glycation Endproducts).

Ο RAGE αποτελεί τον καλύτερα μελετημένο υποδοχέα των AGEs. Είναι ένας υποδοχέας της κυτταρικής μεμβράνης και ανήκει στην υπερικογένεια των ανοσοσφαιρινών. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, στην ενήλικη ζωή ο RAGE εκφράζεται σε χαμηλά επίπεδα στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μεσαγγειακά κύτταρα, τις λείες μυϊκές ίνες, τα μονοκύτταρα, τους ινοβλάστες και τα νευρικά κύτταρα ενώ παρατηρείται φυσιολογικά αυξημένη έκφραση του στα τύπου I πνευμονοκύτταρα και στα εμβρυϊκά κύτταρα [235,236]. Η έκφραση του RAGE αυξάνεται σε καταστάσεις που σχετίζονται με τις διαδικασίες της φλεγμονής όπως οι αγγειακές νόσοι, ο καρκίνος και ο σακχαρώδης διαβήτης [237-240]. Είναι ενδιαφέρον πως, σε αντίθεση με άλλους υποδοχείς, η έκφραση του RAGE ρυθμίζεται θετικά από την παραγωγή των προσδετών του. Αυτό σημαίνει πως όσο αυξάνονται οι προσδέτες τόσο αυξάνονται οι RAGE στην κυτταρική μεμβράνη και κατ' επέκταση τόσο ενεργοποιούνται τα εμπλεκόμενα μεταγωγικά μονοπάτια [241].

Υπάρχουν 4 μορφές του RAGE:

- 1) Πλήρους μήκους RAGE (full-length RAGE)
- 2) RAGE χωρίς N-τελικό άκρο (N-truncated RAGE)
- 3) RAGE χωρίς κυτταροπλασματική ουρά (dominant-negative RAGE)
- 4) Διαλυτές μορφές RAGE (soluble RAGE, sRAGE) (Εικόνα 7)



Εικόνα 7: Σχηματική απεικόνιση του πλήρους μήκους RAGE και των ισομορφών του. Από αριστερά προς δεξιά: ο πλήρους μήκους RAGE, ο RAGE που στερείται N-τελικό άκρο, RAGE χωρίς κυτταροπλασματική ουρά και οι διαλυτές μορφές του RAGE (sRAGE) που προκύπτουν 1) μέσω ενζυματικής (MMP-9 και ADAM-10) διατομής του RAGE (cleaved RAGE - cRAGE) και 2) μετά από εναλλακτικό μάτισμα του RAGE γονιδίου (endogenous secretory RAGE - esRAGE). Όλες οι μορφές RAGE, πλην αυτού χωρίς N-τελικό άκρο, διαθέτουν κοινό εξωκυττάριο τμήμα, με αποτέλεσμα να μοιράζονται κοινούς προσδέτες [242].

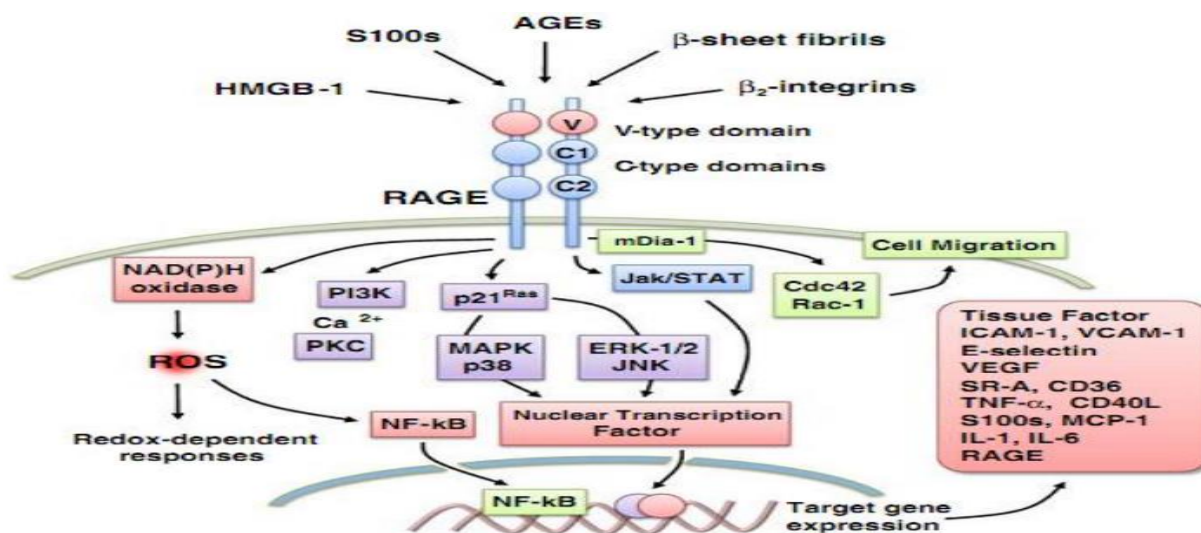
Ο πλήρους μήκους RAGE αποτελείται από 404 αμινοξέα (αα) και μέγεθος ~55kDa. Συνίσταται από μια εξωκυττάρια υπομονάδα (1-342αα), μια υδρόφοβη διαμεμβρανική α-έλικα (343-363αα) και μια μικρή ενδοκυττάρια ουρά (364-404αα). Το εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα αποτελείται από 3 δομές που ομοιάζουν με ανοσοσφαιρίνες: 2 σταθερές C-δομές (C1, C2) και μια μεταβλητή V δομή στο αμινοτελικό άκρο (N). Οι V και C1 δομές δεν είναι ανεξάρτητες μεταξύ τους και αποτελούν μια ενιαία δομική μονάδα. Αντίθετα, η C2 είναι πλήρως ανεξάρτητη δομή και συνδέεται με τη V-C1 μέσω ενός εύκαμπτου συνδέτη. Η κυρίως υπεύθυνη δομή για τη σύνδεση των προσδετών στον RAGE είναι η V-δομή, ωστόσο συνεργιστικό αλλά δευτερεύοντα ρόλο διαδραματίζει και η C1-δομή. [243,244]. Στους προσδέτες των RAGEs περιλαμβάνονται, εκτός των AGEs, οι πρωτεΐνες της ομάδας S100/καλγκρανουλίνες (μέλη της οποίας αποτέλεσαν αντικείμενο και της δικής μας μελέτης), η πρωτεΐνη υψηλής κινητικότητας της ομάδας B1 (HMGB-1), τα β-αμυλοειδή πεπτιδία και οι ίνες β-πτυχωτής επιφάνειας που ενέχονται στη νόσο Alzheimer και την αμυλοειδωση, η ιντεγκρίνη Mac-1 και το λυσοφωσφατιδικό οξύ (LPA) που εμπλέκεται σε παθήσεις των αγγείων και κακοήθειες [245-247]. Όπως φαίνεται, οι περισσότεροι προσδέτες του RAGE εκκρίνονται από κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος (π.χ. μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα), γεγονός που ισχυροποιεί τον ρόλο του συγκεκριμένου υποδοχέα στις διαδικασίες της φλεγμονής [248,249].

Η ενεργοποίηση του υποδοχέα προκαλεί την ενεργοποίηση μορίων που ανήκουν σε διαφορετικά μεταγωγικά μονοπάτια μεταξύ των οποίων είναι το μονοπάτι των MAP κινασών [mitogen activated protein kinases (MAPK)] των (ERK)-1/2 (extracellular regulated kinase), p38 και c-Jun N-terminal kinase (JNK), το μονοπάτι JAK/STAT, phosphoinositol 3-kinase (PI3K) καθώς και το μονοπάτι της Rho GTPase με τα μόρια Cdc42 και Rac-1 [238-240,250-253]. Επιπλέον όμως, η ενεργοποίηση του RAGE επάγει το σχηματισμό ROS μέσω της ενεργοποίησης της NAD(P)H οξειδάσης και άλλων ενδοκυττάρια πηγών ROS, όπως η μιτοχονδριακή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων [254].

Τελικό αποτέλεσμα της κινητοποίησης αυτών των μεταγωγικών μορίων / μονοπατιών είναι η ενεργοποίηση πυρηνικών μεταγραφικών παραγόντων, όπως ο NF-kB και η μεταβολή στην έκφραση πλήθους γονιδίων όπως: κάποια αντιαποπτωτικά (π.χ. Bcl) επηρεάζοντας την

κυτταρική επιβίωση, γονίδια της ενδοθηλίνης-1, του ιστικού παράγοντα (Tissue Factor, TF), της θρομβομοδουλίνης, των προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως IL-1α, IL-6 και TNF- α καθώς και των μορίων προσκόλλησης (VCAM-1, ICAM-1) [224,234,240,241,250,255-258]. Τέλος, η ενεργοποίηση του RAGE επάγει την περαιτέρω έκφραση του γονιδίου του ίδιου καθώς και ορισμένων από τους υπόλοιπους υποδοχείς των AGEs (όπως οι εκκαθαριστικοί υποδοχείς SR-A & CD36).

Συνοψίζοντας, η ενεργοποίηση του RAGE συμβάλλει στην ανάπτυξη αγγειοπάθειας μέσω 1) αύξησης στην έκφραση προ-φλεγμονωδών και προσκολλητικών μορίων και 2) παραγωγής βλαπτικών οξειδωτικών παραγώγων σε κύτταρα όπως τα ενδοθηλιακά και τα μονοκύτταρα. Αυτό οδηγεί σε ήπια χρόνια φλεγμονώδη διήθηση των αγγείων από ενεργοποιημένα μονοκύτταρα και διαταραχή στη διαπερατότητά τους. Επίσης, λόγω της αυξημένης έκφρασης των εκκαθαριστικών υποδοχέων των AGEs (SR-A & CD36) στα μονοκύτταρα - μακροφάγα παρατηρείται αυξημένη ενδοκυττάρωση της oxLDL (που είναι AGE) και δημιουργία των αφρωδών κυττάρων που σχετίζονται στενά με την ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας (εικόνα 8).



Εικόνα 8 : Σχηματική απεικόνιση των ενδοκυττάρων μεταγωγικών μονοπατιών που συνδέονται με την ενεργοποίηση του RAGE. PI3K: 3-φωσφατιδυλο-ινοσιτόλη κινάση, MAPK: ενεργοποιημένη από μιτογόνα πρωτεϊνική κινάση, NF-κB: πυρηνικός παράγοντας-κΒ, ICAM-1: διακυτταρικό προσκολλητικό μόριο-1, VCAM-1: ενδοθηλιακό προσκολλητικό μόριο-1, VEGF: αγγειακός αυξητικός παράγοντας, TNF-α: παράγοντας νέκρωσης του όγκου-α, MCP-1: χημειοτακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων-1, SR: εκκαθαριστικός υποδοχέας, IL: ιντερλευκίνη [239].

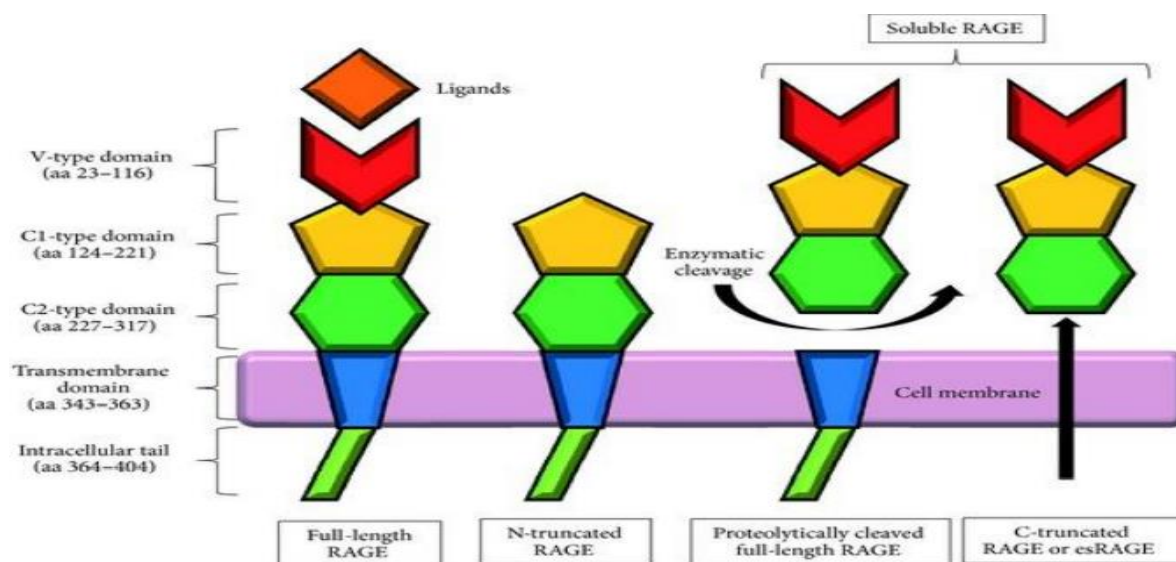
5.3. Εκκρινόμενη ισομορφή RAGE - sRAGE

Ο RAGE, όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, έχει μια εκκρινόμενη ισομορφή, που ονομάζεται **soluble RAGE (sRAGE)**. Επειδή από αυτή την ισομορφή λείπει η διαμεμβρανική περιοχή, το sRAGE εκκρίνεται και είναι διαλυτό (Εικόνα 7). Η διαλυτή αυτή μορφή του RAGE (sRAGE) ανιχνεύεται στο περιφερικό αίμα και αποτελείται: 1) από ένα ενδογενές εκκρινόμενο μόριο (**endogenous secretory RAGE - esRAGE**) που αποτελεί προϊόν του εναλλακτικού ματίσματος του RAGE και δεν έχει τη διαμεμβρανική περιοχή του υποδοχέα, και 2) από πρωτεολυτικά διασπασμένες μορφές (**cleaved RAGE – cRAGE**) που αποβάλλονται στην κυκλοφορία κατόπιν ενζυμικής διατομής του πλήρους μήκους RAGE από τις μεταλλοπρωτεϊνάσες (Matrix Metalloproteinases, MMPs), [242,259]. Ο όρος sRAGE χρησιμοποιείται στην πράξη για τον προσδιορισμό όλων των υδατοδιαλυτών / κυκλοφορούντων μορφών του RAGE (προερχόμενων από εναλλακτικό μάτισμα & από ενζυμικό κόψιμο του πλήρους υποδοχέα) και για να αποφευχθεί κάποια σύγχυση, συχνά προσδιορίζεται με τον όρο "ολικό sRAGE". Τόσο ο esRAGE όσο και ο cRAGE μπορούν να συνδεθούν με τα AGEs στην κυκλοφορία, αποτρέποντας κατ' αυτό τον τρόπο τις βλαπτικές δράσεις του AGEs-RAGEs άξονα ενδοκυτταρίως [239,242], αν και σε γενικές γραμμές, ο esRAGE αποτελεί το 20-25% του ολικού sRAGE, γεγονός που δείχνει ότι η ενζυμική διατομή είναι ο πιο συχνός τρόπος παραγωγής διαλυτών μορφών του RAGE [260]. Επιπλέον, σημειώνεται ότι τα επίπεδα του sRAGE που υπολογίζονται στο ανθρώπινο περιφερικό αίμα με τη συνηθισμένη τεχνική ELISA αναφέρονται στο "ολικό sRAGE", χωρίς να επιτρέπεται ο διαχωρισμός του esRAGE από το cRAGE.

Πιο αναλυτικά, ο **esRAGE**, το προϊόν εναλλακτικής συναρμογής των αντιγράφων του pre-mRNA του RAGE, είναι γνωστός και ως RAGEv1 και εκκρίνεται εξωκυτταρίως. Αποτελείται από το εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα, στερείται του διαμεμβρανικού και ενδοκυτταρίου τμήματος του RAGE, ενώ χαρακτηρίζεται από μια ειδική καρβοξυτελική αλληλουχία 16 αμινοξέων (16aa) [242,261]. Το esRAGE εκφράζεται κυρίως στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα, τα νευρικά κύτταρα, τα β-παγκρεατικά κύτταρα, τα αδρενεργικά κύτταρα και τα ηπατικά κύτταρα [262]. Παράγεται ανεξάρτητα από το cRAGE αλλά επιτελεί παρόμοιες λειτουργίες με αυτό [263].

Από την άλλη, ο **cRAGE** είναι προϊόν δράσης των ενζύμων ADAM-10 (A Disintegrin And Metalloprotease-10) και MMP-9 (Metalloproteinase-9) στο εξωκυττάριο τμήμα του RAGE [264,265] με ενίσχυση από τα ισοένζυμα της πρωτεϊνικής κινάσης C , PKCa και PKCβι [263]. Ο RAGE κόβεται ενζυματικά μεταξύ της C2 δομής και του διαμεμβρανικού τμήματος και το τελικό προϊόν (ο cRAGE) περιλαμβάνει τη V-C1- C2 δομή (Εικόνα 9). Οι πλήρους μήκους υποδοχείς που είναι αγκιστρωμένοι στη μεμβράνη αποτελούν το υπόστρωμα για την παραγωγή των cRAGE.

Φαίνεται λοιπόν, ότι το ολικό sRAGE (esRAGE + cRAGE) αποτελεί ένα κυτταροπροστατευτικό μόριο, καθώς μετά την έκκριση του εξωκυτταρίως συνδέεται με τους φλεγμονώδεις προσδέτες του RAGE και τους απομακρύνει από την κυκλοφορία μέσω αποδόμησης τους στο σπλήνα και το ήπαρ. Με τον τρόπο αυτό, δρα ως «παγίδα» για τα AGEs, τα «αιχμαλωτίζει» και τα οδηγεί προς αποδόμηση εξουδετερώνοντας τη δράση τους, αποτρέποντας την ανάπτυξη κυτταρικής δυσλειτουργίας αφού πλέον εμποδίζεται η ενεργοποίηση και η επαγωγή της ενδοκυττάριας σηματοδότησης, τόσο του RAGE, όσο και των λοιπών μεμβρανικών υποδοχέων των AGEs [239,266].



Εικόνα 9 : Σχηματική απεικόνιση του RAGE και των διαλυτών μορφών του (soluble RAGE, sRAGE) [242].

6. Πρωτεΐνες S100/καλγκρανουλίνες

6.1. Εισαγωγή

Η οικογένεια των πολυπεπτιδίων S100/καλγκρανουλίνες είναι μία ξεχωριστή οικογένεια μορίων που περιλαμβάνει τουλάχιστον 25 μέλη. Οι S100/καλγκρανουλίνες είναι πρωτεΐνες συνδεδεμένες με το ασβέστιο που γενικά λειτουργούν ως διμερή και έχουν ένα ευρύ φάσμα λειτουργιών, μέσα κι έξω από το κύτταρο. Κάθε μία από αυτές εμφανίζει διαφορετική έκφραση σε διαφορετικά κύτταρα. Εκτός από τη διαχείριση του ασβεστίου εμφανίζουν ποικίλες δράσεις σε υγιείς καταστάσεις και τις ασκούν στον πυρήνα ή το κυτταρόπλασμα αλληλοεπιδρώνοντας με άλλα μόρια-στόχους. Έτσι λοιπόν, εμπλέκονται σε ένα μεγάλο αριθμό κυτταρικών δραστηριοτήτων όπως η μεταγωγή σήματος, η διαφοροποίηση των κυττάρων, η ρύθμιση της κυτταρικής κινητικότητας, η μεταγραφή και η πρόοδος του κυτταρικού κύκλου [267]. Επιπρόσθετα, διάφορες S100 πρωτεΐνες, όπως οι S100B, S100A12 και το ετεροδιμερές S100A8/A9, εκκρίνονται στον εξωκυττάριο χώρο μέσω ενός σήματος ασβεστίου, όπου παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων ιόντων Ca^{2+} και Zn^{2+} σχηματίζουν πολυμερή και δεσμεύονται στον υποδοχέα RAGE, παίζοντας σημαντικό ρόλο σε διάφορες φλεγμονώδεις και εκφυλιστικές διεργασίες [268,269].

6.2. S100B

Πιο συγκεκριμένα, η S-100B ανήκει στην οικογένεια των συνδεδεμένων με Ca^{2+} πρωτεϊνών και εκφράζεται πρωτίστως σε κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος (κυρίως αστροκύτταρα-ολιγοδενδροκύτταρα) αλλά και αλλού όπως μελανοκύτταρα, κύτταρα Langerhans, δενδριτικά κύτταρα, σε υποπληθυσμούς λεμφοκυττάρων, στους μυς και στο λιπώδη ιστό [270]. Σε φυσιολογικά καρδιομυοκύτταρα είναι μη ανιχνεύσιμη, ωστόσο εντοπίζεται στο μυοκάρδιο μετά από οξύ έμφραγμα [271].

Εμφανίζει τόσο ενδοκυττάριας όσο και εξωκυττάριας δράσεις. Ενδοκυττάρια συμμετέχει στη ρύθμιση της λειτουργίας του κυτταροσκελετού, ενώ η εξωκυττάρια δράση της S100B καθορίζεται από τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης. Σε συγκεντρώσεις nM (νανομοριακά επίπεδα) εμφανίζει ευεργετικές-τροφικές ιδιότητες συμβάλλοντας στην αύξηση των κυττάρων, σε συγκεντρώσεις

όμως mM (μικρομοριακά επίπεδα) σχετίζεται με επιβλαβείς επιδράσεις και προάγει την απόπτωση [272]. Μάλιστα, φαίνεται να αποτελεί ένα από τα μόρια της φλεγμονής και να συμμετέχει στη φλεγμονώδη διεργασία είτε ως αυτούσια κυτοκίνη είτε ως μόριο DAMP (Damage-associated Molecular Pattern molecule-alarmins). Οι τελευταίες ουσίες συντηρούν την παραγωγή των μεσολαβητών της φλεγμονής οδηγώντας σε ενίσχυση της φλεγμονής και κατά συνέπεια της ιστικής βλάβης [273]. Η δράση αυτή της S100B στα νευρικά και σε άλλα κύτταρα (τόσο η τροφική όσο και η τοξική) φαίνεται να ασκείται κυρίως μέσω του RAGE [274].

Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις από τη μέχρι σήμερα βιβλιογραφία ότι η S100B πρωτεΐνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοχημικός προγνωστικός δείκτης σε νευρολογικές και μη νόσους. Τόσο η S100B στο ENY όσο και στο αίμα αποτελούν αξιόπιστο προγνωστικό δείκτη σε περιπτώσεις οξείας νευρικής βλάβης από τραύμα ή άλλη νευρολογική νόσο [275]. Παράλληλα, η S100B θεωρείται ένας από τους σημαντικότερους βιοχημικούς δείκτες που αυξάνεται πρώιμα σε AEE και μπορεί να βοηθήσει στην έγκαιρη διάγνωση συμπληρώνοντας τον απεικονιστικό έλεγχο [276]. Επιπρόσθετα, έχει προταθεί και ως βιοχημικός δείκτης εγκεφαλικής βλάβης μετά από επέμβαση αορτοστεφανιαίας παράκαμψης [277], ενώ αποτελεί πρώιμο και ευαίσθητο δείκτη υποξαιμικής εγκεφαλικής βλάβης μετά από καρδιακή ανακοπή [278].

6.3. S100A12

Η S100A12, γνωστή και ως καλγκρανουλίνη C ή EN-RAGE (extracellular newly identified receptor for Advanced glycation endproducts binding protein), αποτελεί ένα άλλο μέλος της οικογένειας των πρωτεϊνών S100 που εκκρίνεται κυρίως από τα ενεργοποιημένα κοκκιοκύτταρα, ουδετερόφιλα και σε πολύ μικρότερο βαθμό από άλλους τύπους κυττάρων όπως τα μονοκύτταρα [279].

Η εξωκυττάρια έκκριση της πυροδοτεί μια προ-φλεγμονώδη ανοσοαπόκριση μέσω της σύνδεσης της με τον RAGE που οδηγεί σε ενεργοποίηση των ενδοκυττάρων μεταγωγικών οδών που αναφέρθηκαν παραπάνω, όπως το μονοπάτι των MAP κινασών και του πυρηνικού παράγοντα NF-κB. Με τον τρόπο αυτό, η S100A12 προάγει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών, όπως ο TNF-α και η IL-1β, και επάγει την έκφραση μορίων προσκόλλησης (ICAM-1, VCAM-1), με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση του οξειδωτικού stress και την κινητοποίηση

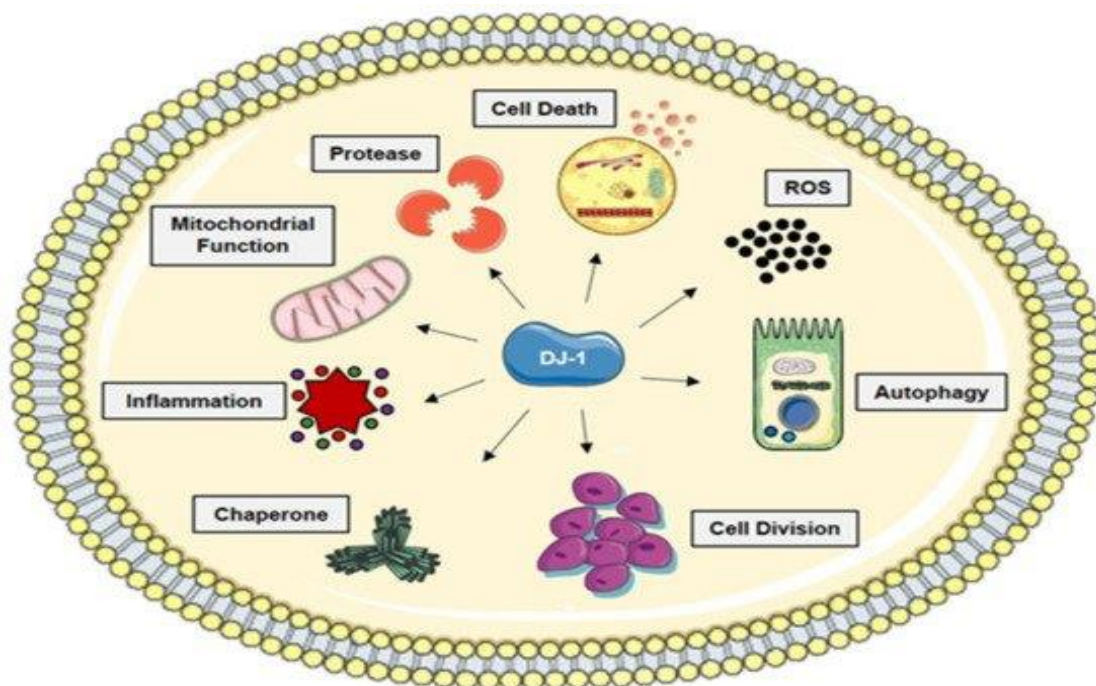
μηχανισμών φλεγμονής σε λεμφοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα, ουδετερόφιλα, και μονοκύτταρα μακροφάγα [280]. Μάλιστα, οι δράσεις αυτές της προσδίδουν και κλινική αξία, αφού χρησιμοποιείται ως βιοδείκτης για την αξιολόγηση σε μια σειρά από φλεγμονώδη νοσήματα [281].

7. Πρωτεΐνη DJ-1

Η DJ-1 είναι μία ευρέως εκφραζόμενη πρωτεΐνη που αποτελείται από 189 αμινοξέα και αρχικά αναγνωρίστηκε ως παράγωγο ενός ογκογονιδίου, εμπλεκόμενη σε μία οδό μετάδοσης σήματος σχετιζόμενη με την πρωτεΐνη Ras [282]. Το 2003 οι Bonifati et al ανέφεραν ότι μεταλλάξεις που οδηγούσαν σε απώλεια της λειτουργίας της DJ-1 συσχετιζόνταν με την PARK7, μία μορφή πρώιμης νόσου του Parkinson που κληρονομείται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα, που χαρακτηρίζεται από εκφύλιση των νευρώνων [283]. Αυτά τα ευρήματα υπονόησαν έναν κεντρικό ρόλο της DJ-1 στη διατήρηση της ομοιόστασης των κυττάρων και στην αντίδραση τους σε διάφορα ερεθίσματα. Η μειωμένη έκφραση της θα μπορούσε να οδηγήσει σε απόπτωση (όπως στη νόσο Parkinson) και υπερέκφραση αυτής σε ανεξέλεγκτη αναπαραγωγή (όπως στις νεοπλασματικές νόσους). Η DJ-1 συμμετέχει σε ποικίλες βιολογικές διαδικασίες, όπως η ρύθμιση της μεταγραφής, της λειτουργίας των μιτοχονδρίων ενώ εμφανίζει και δραστηριότητες πρωτεάσης αλλά και σαπερόνης (chaperone). Η κύρια όμως και πιο καλά μελετημένη λειτουργία της φαίνεται ότι είναι η συμμετοχή στην αντίδραση των κυττάρων έναντι του οξειδωτικού stress (εικόνα 10).

Αντιοξειδωτικά είναι τα μόρια που μπορούν α) να απομακρύνουν απευθείας (εκκαθαρίσουν) τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, β) να επιταχύνουν μονοπάτια αποδόμησης των ελευθέρων ριζών και γ) να εμποδίσουν μονοπάτια δημιουργίας των ελευθέρων ριζών. Η DJ-1 δρα σαν αντιοξειδωτικό και με τους τρεις μηχανισμούς. Η έκφραση της DJ-1 αυξάνεται μετά από οξειδωτική προσβολή και ωθεί το κύτταρο να προσπαθήσει να μειώσει το οξειδωτικό stress. Ακόμα, εμφανίζει δράσεις τύπου περοξειρεδοξίνης (peroxiredoxine-like) ελέγχοντας τα προκαλούμενα από κυτοκίνες επίπεδα του υπεροξειδίου του υδρογόνου, ενώ ασκεί θετική ρυθμιστική δράση στον Nrf2 (NF-E2 related factor-2), ο οποίος είναι ένας κεντρικός

μεταγραφικός παράγοντας στην οργάνωση των αντιοξειδωτικών γονιδίων και στη διατήρηση της οξεοβασικής ισορροπίας του κυττάρου. Επιπλέον, σε συνθήκες οξειδωτικού stress η DJ-1 έχει επίδραση και στον κυτταρικό θάνατο, αναστέλλοντας μονοπάτια που σχετίζονται με την κυτταρική απόπτωση και συμβάλλοντας με τον τρόπο αυτό στην αποτροπή του [284].



Εικόνα 10. Σχηματική απεικόνιση των λειτουργιών της πρωτεΐνης DJ-1. *Tsoporis et al. Molecules 2021; 26(13):3795*

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή – Σκοπός της μελέτης

Η παραδοσιακή θεώρηση της στεφανιαίας νόσου ως μίας παθητικής διεργασίας που προκύπτει από την εναπόθεση λίπους στο τοίχωμα των αρτηριών έχει πλήρως αναθεωρηθεί. Σήμερα είναι καλά τεκμηριωμένο πως οι υποκείμενες διεργασίες της φλεγμονής και του οξειδωτικού stress είναι θεμελιώδεις παθοφυσιολογικές διαταραχές που εκκινούν τον καταρράκτη της αθηροσκλήρυνσης, οδηγώντας στην κλινική έκφραση αυτής και τελικά στα μείζονα καρδιαγγειακά συμβάματα. Επιπλέον, είναι πια γνωστό πως η σύμπλοκη διαδικασία της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας είναι η πρώτη εκδήλωση της αθηροσκλήρυνσης και μάλιστα πολλές φορές προϋπάρχει δεκαετίες πριν την κλινική εκδήλωση της νόσου. Η ενδοθηλιακή αυτή δυσλειτουργία είναι το αποτέλεσμα της υψηλής και τροποποιημένης LDL χοληστερόλης, της ύπαρξης των ελεύθερων ριζών οξυγόνου, λοιμωδών μικροοργανισμών, του υψηλού διατημητικού στρες, της υπέρτασης, των τοξινών μετά από χρήση καπνού καθώς και συνδυασμού όλων των ανωτέρω, που οδηγούν σε μία σημαντική φλεγμονώδη απόκριση. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία χαρακτηρίζεται από μειωμένη σύνθεση μονοξειδίου του αζώτου, από αυξημένη τοπική οξειδωση λιποπρωτεϊνών καθώς και από διείσδυση των τελευταίων στο αρτηριακό τοίχωμα. Η αυξημένη έκφραση των μορίων προσκόλλησης κατόπιν διέγερσης τους από παράγοντες κινδύνου που τραυματίζουν το ενδοθήλιο, προκαλούν την αυξημένη χημειοτακτικότητα των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων, που εισέρχονται στην περιοχή της αρχόμενης βλάβης και εκκινούν μία περαιτέρω διαδικασία, που καταλήγει στο σχηματισμό των αθηρωματικών πλακών. Η φλεγμονώδης αυτή απόκριση προκαλεί με τη σειρά της την ενεργοποίηση του ιστικού παράγοντα και μέσω αυτού την ενεργοποίηση της θρομβίνης. Η θρομβίνη με τη σειρά της προκαλεί μία σειρά από ενέργειες, οι οποίες αυξάνουν τη φλεγμονή και έτσι δημιουργείται ένας φαύλος κύκλος φλεγμονής/θρόμβωσης που καταλήγει στις κλινικές, συχνά θανατηφόρες, εκδηλώσεις της αθηροσκλήρυνσης.

Εκτός από τους καθιερωμένους και καλά μελετημένους μεσολαβητές και μόρια φλεγμονής όπως η CRP και οι ιντερλευκίνες, σημαντικό ρόλο σε όλες αυτές τις διεργασίες φαίνεται να έχουν και οι RAGEs που παίζουν ενεργό ρόλο στο φαύλο κύκλο της φλεγμονώδους και θρομβωτικής απόκρισης που οδηγεί τελικά στη στεφανιαία νόσο. Η ενεργοποίηση των υποδοχέων αυτών από

μόρια-προσδέτες, όπως τα τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs) και πρωτεΐνες της οικογένειας S100, προκαλεί την κινητοποίηση μορίων που ανήκουν σε διαφορετικά μεταγωγικά μονοπάτια με τελικό αποτέλεσμα την ανάπτυξη αγγειοπάθειας μέσω αυξημένης έκφρασης μορίων προσκόλλησης, ενίσχυσης του οξειδωτικού stress και παραγωγής βλαπτικών προ-φλεγμονωδών και προ-θρομβωτικών μορίων σε κύτταρα όπως τα ενδοθηλιακά και τα μονοκύτταρα.

Από την άλλη μεριά, η διαλυτή μορφή του RAGE (sRAGE), προϊόν εναλλακτικής συναρμογής και πρωτεολυτικής διάσπασης του πλήρους μήκους RAGE, εκκρίνεται εξωκυττάρια και κυκλοφορεί στο περιφερικό αίμα. Τα sRAGE θεωρούνται κυτταροπροστατευτικά μόρια, καθώς μετά την έκκριση τους εξωκυττάρια συνδέονται με τους φλεγμονώδεις προσδέτες των RAGEs και τους απομακρύνουν από την κυκλοφορία δρώντας ως «παγίδα», αποτρέποντας με τον τρόπο αυτό την ανάπτυξη κυτταρικής δυσλειτουργίας αφού πλέον εμποδίζεται η ενεργοποίηση και η επαγωγή της ενδοκυττάριας σηματοδότησης των RAGEs. Επιπλέον, με δεδομένη την συμβολή του οξειδωτικού stress σε όλα τα στάδια της αθηροσκληρωτικής καρδιαγγειακής νόσου, η πρωτεΐνη DJ-1 με τις πολλαπλές της αντιοξειδωτικές ιδιότητες ενδέχεται να δρα καρδιοπροστατευτικά ενάντια στην εμφάνιση της στεφανιαίας νόσου γι' αυτό και μελετήθηκε ο ρόλος της στην παρούσα εργασία.

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι να αναζητηθούν πιθανές συσχετίσεις ανάμεσα στα επίπεδα δεικτών του ορού που σχετίζονται με το φλεγμονώδες φορτίο και το οξειδωτικό stress με την παρουσία αγγειογραφικά επιβεβαιωμένης στεφανιαίας νόσου, σε συνδυασμό με καθιερωμένους κλινικούς και βιοχημικούς προγνωστικούς δείκτες της νόσου. Μεταξύ των δεικτών που μελετήθηκαν βρίσκονται οι κάτωθι: 1) τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (Advanced Glycation End products, AGEs), οι διαλυτοί υποδοχείς τους (soluble Receptor for Advanced Glycation End products, sRAGE) και ο λόγος τους (AGEs/sRAGE), 2) πρωτεΐνες της ομάδας S100 όπως η S100B, S100A8/A9, S100A12 και 3) η πρωτεΐνη DJ-1.

2. Υλικό – Μέθοδοι – Πληθυσμός της μελέτης

Στη μελέτη συμμετείχαν συνολικά 100 ασθενείς ηλικίας 45 έως 75 ετών, χωρίς γνωστό ιστορικό ΣΝ, που προσήλθαν στην Β΄ Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική του νοσοκομείου «Αττικόν» για προγραμματισμένο στεφανιογραφικό έλεγχο. Για τη διενέργεια της παραπάνω μελέτης με όνομα «Συσχέτιση των RAGEs με τη στεφανιαία νόσο» δόθηκε η έγκριση από την επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας και το Επιστημονικό Συμβούλιο του νοσοκομείου «Αττικόν» στις 21 Οκτωβρίου 2014. Όλοι οι ασθενείς ενημερώθηκαν αναλυτικά για την ένταξη τους στη μελέτη και το σκοπό αυτής και υπέγραψαν έντυπο συγκατάθεσης.

Οι συμμετέχοντες κλήθηκαν να συμπληρώσουν ένα προκαθορισμένο ερωτηματολόγιο (το οποίο και παρατίθεται στις επόμενες σελίδες) όπου πέραν της ηλικίας, κατεγράφησαν σωματομετρικά στοιχεία (ύψος και βάρος) ενώ έγινε αναλυτική καταγραφή των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου (κάπνισμα, ΣΔ, αρτηριακή υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, ύπαρξη ΣΝ στην οικογένεια του ασθενούς) καθώς και της λαμβανόμενης φαρμακευτικής αγωγής. Ακολουθούσε φυσική εξέταση, ΗΚΓ 12 απαγωγών και διαθωρακικό ηχοκαρδιογράφημα στο οποίο και προσδιορίστηκε το κλάσμα εξώθησης (ΚΕ) της αριστερής κοιλίας με τη χρήση της τροποποιημένης μεθόδου των δίσκων σε δύο προβολές κατά Simpson, ενώ ταυτόχρονα αποκλείστηκε η παρουσία οργανικής καρδιοπάθειας που αποτελούσε κριτήριο αποκλεισμού από την μελέτη.

Στη συνέχεια ακολούθησε η στεφανιογραφία στο αιμοδυναμικό εργαστήριο της Β΄ Πανεπιστημιακής Καρδιολογικής Κλινικής. Ως στεφανιαίοι ασθενείς χαρακτηρίστηκαν εκείνοι στους οποίους ανευρέθηκε στένωση $\geq 50\%$ σε ένα τουλάχιστον από τα 3 κύρια στεφανιαία αγγεία ή τους πρωτεύοντες τους κλάδους, ενώ ως ομάδα ελέγχου χαρακτηρίστηκαν άτομα στα οποία δεν υπήρχε ένδειξη σημαντικών αθηρωματικών βλαβών στα αγγεία τους. Σημειώνεται ότι όλοι οι ασθενείς είχαν παραπεμφθεί για στεφανιογραφικό έλεγχο λόγω παθολογικών ευρημάτων σε αναίμακτο έλεγχο που προηγήθηκε (δοκιμασία κόπωσης, σπινθηρογράφημα μυοκαρδίου, stress echo, αξονική στεφανιογραφία). Η πλειοψηφία των ασθενών (90%) ήταν ασυμπτωματικοί και είχαν υποβληθεί στον αναίμακτο έλεγχο για αποκλεισμό σιωπηλής ισχαιμίας στα πλαίσια πολλαπλών παραγόντων κινδύνου, ενώ οι υπόλοιποι ασθενείς (10%) παρουσίαζαν ταυτόχρονα άτυπα θωρακικά ενοχλήματα χωρίς χαρακτήρες στηθάγχης.

Χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι ορισμοί:

- 1) Αρτηριακή υπέρταση (ΑΥ): αρτηριακή πίεση $\geq 140/90$ mmHg άνευ αγωγής ή λήψη αντιυπερτασικής αγωγής ανεξάρτητα επίτευξης του παραπάνω στόχου.
- 2) Δυσλιπιδαιμία: ολική χοληστερόλη >200 mg/dL ή/και τριγλυκερίδια >150 mg/dL ή/και HDL-C < 40 mg/dL ή λήψη οποιασδήποτε υπολιπιδαιμικής αγωγής.
- 3) Σακχαρώδης Διαβήτης (ΣΔ): τιμή γλυκόζης νηστείας >125 mg/dL, γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c) $\geq 6,5\%$ άνευ αγωγής ή λήψη αντιδιαβητικής αγωγής.
- 4) Κάπνισμα: κατανάλωση ενός τουλάχιστον τσιγάρου ημερησίως.
- 5) Θετικό οικογενειακό ιστορικό: ιστορικό στεφανιαίας νόσου ή αιφνίδιου θανάτου σε πατέρα/αδερφό <55 ετών ή σε μητέρα/αδερφή <65 ετών.
- 6) ΔΜΣ: Σωματικό βάρος σε χιλιόγραμμα διαιρούμενο με τη τετραγωνική δύναμη του ύψους σε όρθια θέση σε μέτρα, δηλαδή $\Delta\text{Μ}\Sigma = \text{B}/\text{Y}^2$.

Οι ασθενείς αποκλείονταν από τη μελέτη αν απαντούσαν ένα από τα κάτωθι κριτήρια αποκλεισμού:

- Ηλικία > 75 έτη
- Δείκτης Μάζας Σώματος (BMI) >30 kg/m²
- Οξύ στεφανιαίο σύνδρομο.
- Καρδιακή ανεπάρκεια (επιθυμητό κλάσμα εξώθησης $\geq 50\%$)
- Μυοκαρδιοπάθειες
- Βαλβιδοπάθειες μετρίου ή σοβαρού βαθμού
- Νεφρική ανεπάρκεια (επιθυμητό eGFR ≥ 60 mL/min/1.73m²)
- Ηπατική ή αναπνευστική ανεπάρκεια
- Κακοήθειες, πρόσφατη λοίμωξη ή ενεργός φλεγμονή
- Έμμηνος ρύση, κύηση, θηλασμός

3. ΕΝΤΥΠΟ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΣΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗ

- Ημερομηνία:
- Ονοματεπώνυμο: Κωδικός: A/Θ
- Ημ/νια γέννησης: Ύψος: Βάρος: BMI:

ΙΣΤΟΡΙΚΟ

- ΑΥ:ΝΑΙ/ΟΧΙ Φάρμακα για ΑΥ:ΝΑΙ/ΟΧΙ
- ΣΔ: ΝΑΙ/ΟΧΙ Φάρμακα για ΣΔ: ΝΑΙ/ΟΧΙ
- Δυσλιπιδαιμία: ΝΑΙ/ΟΧΙ
Φάρμακα για δυσλιπιδαιμία: ΝΑΙ/ΟΧΙ
Λαμβανόμενη στατίνη:
- Κάπνισμα: ΝΑΙ/ΟΧΙ Αν ΟΧΙ, καπνίζατε ποτέ στο παρελθόν: ΝΑΙ/ΟΧΙ
Αριθμός τσιγάρων/ημέρα
- Οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου: ΝΑΙ/ΟΧΙ
- Περιφερική αγγειοπάθεια/νόσος καρωτίδων: ΝΑΙ/ΟΧΙ
- Κακόηθες νόσημα: ΝΑΙ/ΟΧΙ
- Θρομβιφιλία: ΝΑΙ/ΟΧΙ
- Αυτοάνοσα νοσήματα: ΝΑΙ/ΟΧΙ Φάρμακα για αυτοάνοσα: ΝΑΙ/ΟΧΙ
- Έμμηνος ρύση: ΝΑΙ/ΟΧΙ Κύηση/γαλουχία: ΝΑΙ/ΟΧΙ
- Πρόσφατη λοίμωξη: ΝΑΙ/ΟΧΙ

- Φάρμακα για κάποιο λόγο: ΝΑΙ/ΟΧΙ
Αν ΝΑΙ προσδιορίστε
- Δυσανεξία σε ασπιρίνη: ΝΑΙ/ΟΧΙ
- Άλλο πρόβλημα υγείας (λ.χ. ΧΑΠ, ΓΟΠ)
- Έναρξη συμπτωμάτων (χρονική διάρκεια):

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

- ΑΠ: Σφύξεις: SaO₂: θ:
- Κεφαλή-τράχηλος:
- Λεμφαδένες: Δέρμα:
- Αναπνευστικό:
- Καρδιαγγειακό:
- Γαστερντερικό:
- Νευρολογικό: Μυοσκελετικό:
- Λοιπά:

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Ht: Hb: WBC: INR: PLT: TKE:

CRP: Urea: Cre: SGOT: SGPT: γGT:

ALP: HbA1c: T-chol: LDL-C: HDL-C: TG:

hs-trop:

ΗΚΓ:

TRIPLEX καρδιάς:

Ένδειξη στεφανιογραφίας :

Αποτέλεσμα στεφανιογραφικού ελέγχου :

4. Βιοχημικές μετρήσεις - προσδιορισμοί

Μετά τη συμπλήρωση του προαναφερθέντος ερωτηματολογίου, έγινε αιμοληψία στους επιλεγμένους ασθενείς με τη συλλογή δειγμάτων φλεβικού αίματος τις πρωινές ώρες, μετά από αποχή από φαγητό, ρόφημα καφέ ή τσάι και αλκοολούχο ποτό για τουλάχιστον 12 ώρες. Προκειμένου να αποφευχθούν πιθανές αλληλεπιδράσεις από την επεμβατική πράξη της στεφανιογραφίας και της έκφρασης των υπό μελέτη παραγόντων, όλες οι αιμοληψίες έγιναν πριν την αγγειογραφία. Αμέσως μετά τη λήψη αίματος, προσδιορίστηκαν την ίδια ημέρα τα επίπεδα των βασικών εργαστηριακών εξετάσεων (γενική αίματος, βιοχημικές εξετάσεις, λιπίδια ορού, CRP) ενώ ο υπόλοιπος ορός τοποθετήθηκε σε EDTA φιαλίδια, φυγοκεντρήθηκε στις 3500 στροφές/λεπτό για 10 λεπτά και αποθηκεύτηκε σε βαθιά κατάψυξη στους -80 °C εν αναμονή της περαιτέρω ανάλυσης. Τα επίπεδα στον ορό της ολικής χοληστερόλης, της HDL-C και των τριγλυκεριδίων μετρήθηκαν με ενζυμική μέθοδο προσδιορισμού σε έναν αυτόματο αναλυτή (Dimension RXL, Dade Behring, Marburg, Germany). Η LDL-C υπολογίσθηκε εμμέσως με τη χρήση της φόρμουλας Friedewald (εφόσον τριγλυκερίδια ορού <400 mg/dl) ως εξής:

$$\text{LDL-C (mg/dL)} = \text{χοληστ. (mg/dL)} - [(\text{HDL-C(mg/dL)} + \text{τριγλυκερίδια(mg/dL)})/5]$$

Η περαιτέρω ανάλυση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στο Keenan Research Centre του St. Michael's Hospital στο Τορόντο του Καναδά. Μετρήθηκαν τα επίπεδα στο πλάσμα των AGEs, sRAGE, S100A8/A9, S100B, S100A12, IL-6 και DJ-1 με τα αντίστοιχα DuoSet ELISA αντιδραστήρια, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN).

5. Στατιστική ανάλυση

Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS 20.0 για Windows (Version 20.0, IBM SPSS, Markham, ON, Canada). Η υπόθεση της κανονικής κατανομής των δεδομένων υπό μελέτη ελέγχθηκε με βάση το Kolmogorov-Smirnov test. Δεδομένα με κανονική κατανομή παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση, ενώ δεδομένα που δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή ως διάμεσος με ενδοτεταρτημοριακό εύρος (25%-75%). Οι διαφορές μεταξύ συνεχών μεταβλητών εκτιμήθηκαν με την χρήση του t test ή την μέθοδο Mann-Whitney όπου δεν πληρούνταν τα κριτήρια του t test. Οι συσχετίσεις μεταξύ συνεχών μεταβλητών ελέγχθηκαν με βάση τις μεθόδους Pearson και Spearman για παραμετρικές και μη παραμετρικές μεταβλητές αντίστοιχα. Η απλή (univariable) και πολλαπλή (multivariable) ανάλυση παλινδρόμησης πραγματοποιήθηκε με σκοπό την ανάδειξη πιθανών προγνωστικών δεικτών για την εμφάνιση ΣΝ. Οι μεταβλητές που συσχετίστηκαν με την παρουσία ΣΝ με τιμή p (p value) < 0.1 στην απλή ανάλυση συμπεριλήφθηκαν στο πολυπαραγοντικό μοντέλο. Για όλα τα προαναφερθέντα test, τιμή p μικρότερη από 0.05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

6. Αποτελέσματα ερευνητικής εργασίας

i. Χαρακτηριστικά πληθυσμού αναφοράς

Συνολικά 108 διαδοχικοί ασθενείς χωρίς γνωστό ιστορικό ΣΝ συμπεριλήφθηκαν αρχικώς, από τους οποίους οι 8 αποκλείστηκαν από την περαιτέρω διαδικασία λόγω υποψίας ενεργού φλεγμονής (επίπεδα CRP >10 mg/L) με αποτέλεσμα να παραμείνει μια δεξαμενή 100 ασθενών στους οποίους πραγματοποιήθηκαν οι τελικές στατιστικές αναλύσεις. Από τους 100 ασθενείς, οι 50 (50%) είχαν αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ ενώ οι υπόλοιποι 50 (50%) είχαν στεφανιαία αγγεία χωρίς αιμοδυναμικά σημαντικές στενώσεις. Από τους ασθενείς με ΣΝ, 23 (46%) είχαν νόσο ενός αγγείου, 24 (48%) πολυαγγειακή νόσο (νόσο 2 ή 3 αγγείων) ενώ 3 (6%) νόσο στελέχους. Η μέση ηλικία του πληθυσμού της μελέτης ήταν 60.6 ± 6.8 έτη και οι 74 ήταν άνδρες (ποσοστό 74%).

Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, οι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και τα κυριότερα εργαστηριακά αποτελέσματα των συμμετεχόντων στην μελέτη συνοψίζονται στον **Πίνακα 2**. Στο συνολικό στατιστικό δείγμα όπως φαίνεται, οι ασθενείς με στεφανιαία νόσο ήταν κυρίως άντρες, με υψηλότερη επίπτωση ΣΔ, σημαντικά υψηλότερα επίπεδα HbA1c και IL-6 και σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα HDL-C συγκριτικά με τους ασθενείς χωρίς σημαντικές αθηρωματικές βλάβες στα στεφανιαία τους αγγεία. Οι δύο κατηγορίες ασθενών ήταν συγκρίσιμες όσον αφορά την ηλικία και το ΔΜΣ, χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές στην επίπτωση κλασικών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου όπως το κάπνισμα, η αρτηριακή υπέρταση και το οικογενειακό ιστορικό πρώιμης ΣΝ καθώς επίσης και στις τιμές εργαστηριακών παραμέτρων όπως η ολική χοληστερόλη, η LDL-C και η CRP.

Σε μία περαιτέρω ανάλυση ταξινομήσαμε τους εξεταζόμενους σε διαβητικούς (n=28, ποσοστό 28%) και μη-διαβητικούς (n=72, ποσοστό 72%) (**Πίνακας 3**). Στην ομάδα των μη-διαβητικών, οι εργαστηριακές εξετάσεις έδειξαν επίσης σημαντικά υψηλότερα επίπεδα HbA1c, IL-6 και τριγλυκεριδίων και σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα HDL-C στους στεφανιαίους ασθενείς συγκριτικά με τους ασθενείς χωρίς ΣΝ. Κατά παρόμοιο τρόπο, και στην ομάδα αυτή δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές σε ότι αφορά την ηλικία, τον ΔΜΣ, την επίπτωση καθιερωμένων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και τα επίπεδα των λοιπών βασικών εργαστηριακών παραμέτρων μεταξύ των ασθενών με και χωρίς ΣΝ. Τέλος, στη μικρότερη ομάδα των διαβητικών, οι ασθενείς με ΣΝ ήταν κυρίως άντρες με στατιστικά σημαντικές διαφορές στο λιπιδαιμικό τους προφίλ (ολική χοληστερόλη, LDL-C, HDL-C) συγκριτικά με αυτούς χωρίς ΣΝ, χωρίς την καταγραφή διαφορών στις υπόλοιπες παραμέτρους.

Πίνακας 2. Δημογραφικά χαρακτηριστικά, επίπτωση παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και κυριότερα εργαστηριακά αποτελέσματα

Παράμετρος	Ασθενείς χωρίς ΣΝ (n=50)	Ασθενείς με ΣΝ (n=50)	Επίπεδο Στατιστικής σημαντικότητας (p value)
Φύλο (άνδρες)	29 (58%)	45 (90%)	<0.001
Ηλικία (έτη)	59.9±6.6	61.2±7.0	0.360
ΔΜΣ (kg/m ²)	27.5±1.9	27.4±2.2	0.825
Σακχαρώδης διαβήτης	8 (16%)	20 (40%)	0.014
Αρτηριακή Υπέρταση	27 (54%)	35 (70%)	0.099
Δυσλιπιδαιμία	39 (78%)	44 (88%)	0.183
Κάπνισμα	18 (36%)	20 (40%)	0.680
Οικογενειακό ιστορικό ΣΝ	15 (30%)	16(32%)	0.829
Κρεατινίνη (mg/dL)	0.80±0.18	0.84±0.18	0.240
HbA1c (mmol/L)	6.0±0.58	6.7±1,1	<0.001
CRP (mg/L)	3.6±1.1	4.6±3.4	0.053
IL-6 (pg/mL)	2.3 (0.3,7.2)	3.5 (1.6,16.1)	0.006
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	184.9±35.2	181.1±51.7	0.665
LDL-C (mg/dL)	113.7±28.4	115.7±44.0	0.784
HDL-C (mg/dL)	50.4±12.8	41.3±9.2	<0.001
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	112.6±37	132.1±60.2	0.055

ΔΜΣ – Δείκτης Μάζας Σώματος, ΣΝ – Στεφανιαία Νόσος, CRP – C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, LDL-C – Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη, HDL-C – Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη, IL-6 – ιντερλευκίνη- 6. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή (τυπική απόκλιση) ή ως ενδιάμεσος (ενδοτεταρτημοριακή απόκλιση: 75° τεταρ. – 25° τεταρ.) .

Πίνακας 3. Δημογραφικά χαρακτηριστικά, επίπτωση παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και κυριότερα εργαστηριακά αποτελέσματα ανάλογα με την παρουσία ή όχι ΣΔ.

Παράμετρος	Ασθενείς χωρίς ΣΔ			Ασθενείς με ΣΔ		
	Ασθενείς χωρίς ΣΝ (n=42)	Ασθενείς με ΣΝ (n=30)	P value	Ασθενείς χωρίς ΣΝ (n=8)	Ασθενείς με ΣΝ (n=20)	P value
Φύλο (άνδρες)	26(64%)	29 (97%)	0.001	3 (37%)	16 (80%)	0.03
Ηλικία (έτη)	59.9±6.9	60.2±7.4	0.863	60.1±5.5	62.7±6.2	0.317
ΔΜΣ (kg/m ²)	27.5±2.0	27.1±2.2	0.528	27.5±1.7	27.7±2.2	0.824
Αρτηριακή Υπέρταση	21 (50%)	19 (63%)	0.262	6 (75%)	16 (80%)	0.771
Δυσλιπιδαιμία	32 (76%)	26 (87%)	0.268	7 (87.5%)	18 (90%)	0.847
Κάπνισμα	17 (40%)	14 (47%)	0.601	1 (12.5%)	6 (30%)	0.334
Οικογενειακό ιστορικό ΣΝ	13 (31%)	12 (40%)	0.427	2 (25%)	4 (20%)	0.771
Κρεατινίνη (mg/dL)	0.81±0.15	0.85±0.17	0.375	0.73±0.30	0.84±0.20	0.268
HbA1c (mmol/L)	5.78±0.26	5.99±0.27	0.001	7.1±0,53	7.7+1.0	0.164
CRP (mg/L)	3.51±0.94	4.71±3.89	0.113	3.9±1.7	4.4±2.6	0.612
IL-6 (pg/mL)	2.3 (0.4,7.8)	4.6 (2.1,31.6)	0.014	1.2 (0.3,6.2)	2.5 (1.4,10.7)	0.070
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	184.1±36.8	196.3±57.2	0.271	189.5±27.4	158.2±31.4	0.021
LDL-C (mg/dL)	113.1±29.9	129.4±49.7	0.086	117.0±19.5	95.2±22.1	0.022
HDL-C (mg/dL)	50.5±13.3	41.2±9.3	0.002	50.0±11.4	41.4±9.4	0.048
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	110.6±34.6	131.4±53.4	0.048	123.3±49.7	133.1±70.5	0.722

ΔΜΣ – Δείκτης Μάζας Σώματος, ΣΝ – Στεφανιαία Νόσος, CRP – C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, LDL-C – Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη, HDL-C – Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη, IL-6 – ιντερλευκίνη- 6. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή (τυπική απόκλιση) ή ως ενδιάμεσος (ενδοτεταρτημοριακή απόκλιση: 75^ο τεταρ. – 25^ο τεταρ.).

ii. Προσδέτες των RAGE

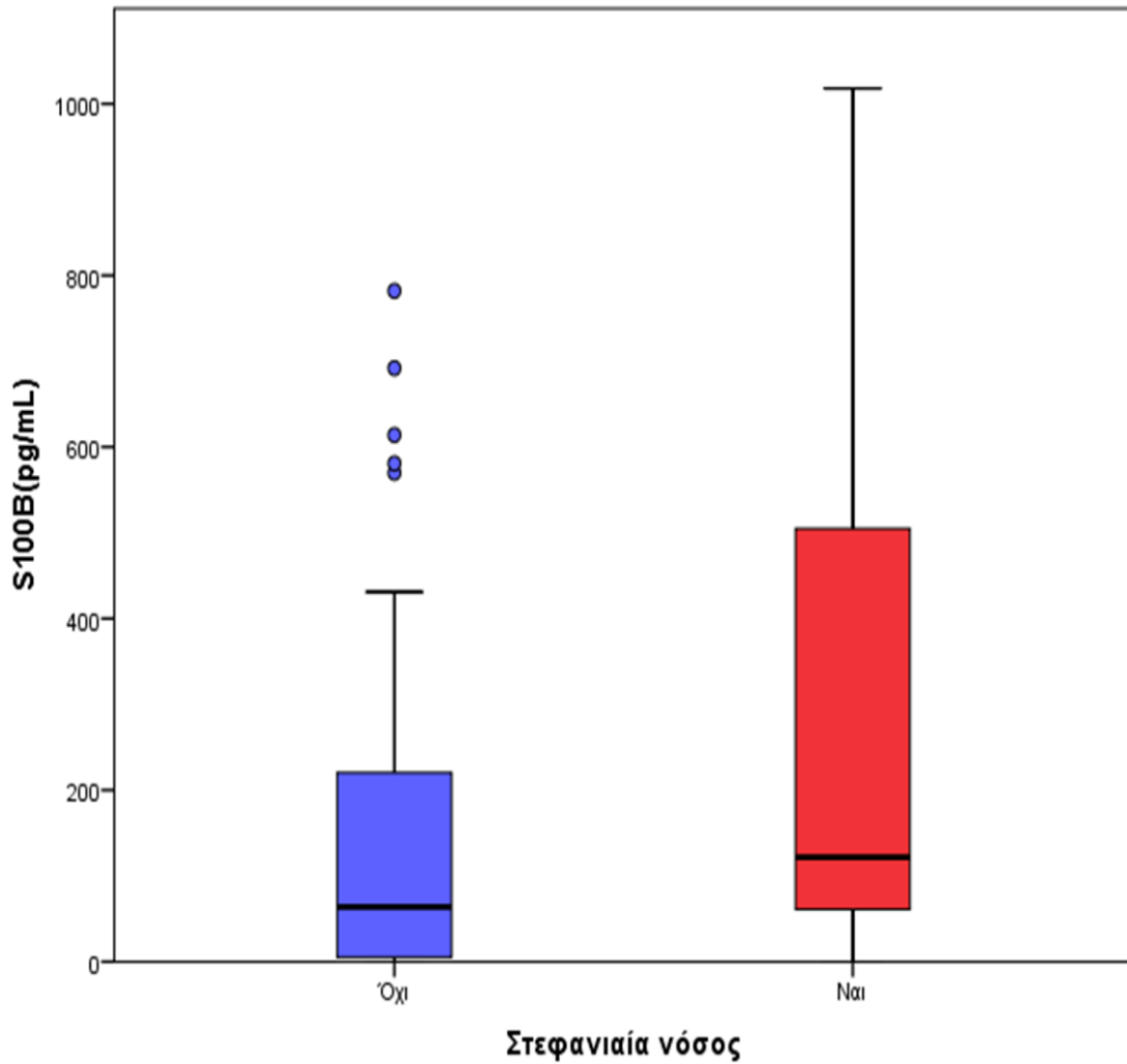
Αρχικά, υπολογίσαμε τα επίπεδα καθιερωμένων προσδετών των RAGE, όπως είναι τα AGEs και οι πρωτεΐνες S100B, S100A12(EN-RAGE) και S100A8/A9 στο σύνολο των εξεταζόμενων (**Πίνακας 4**) και διαπιστώσαμε ότι τα επίπεδα των S100B και S100A12 ήταν σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς με ΣΝ συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (**Σχήματα 1 και 2**).

Στη συνέχεια ταξινομήσαμε τους ασθενείς σε 2 υποομάδες ανάλογα με την παρουσία ή όχι ΣΔ (**Πίνακας 5**) και είδαμε ότι δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα των παραπάνω προσδετών των RAGE μεταξύ των ασθενών με ΣΝ και αυτών με αγγεία χωρίς σημαντικές αθηρωματικές βλάβες.

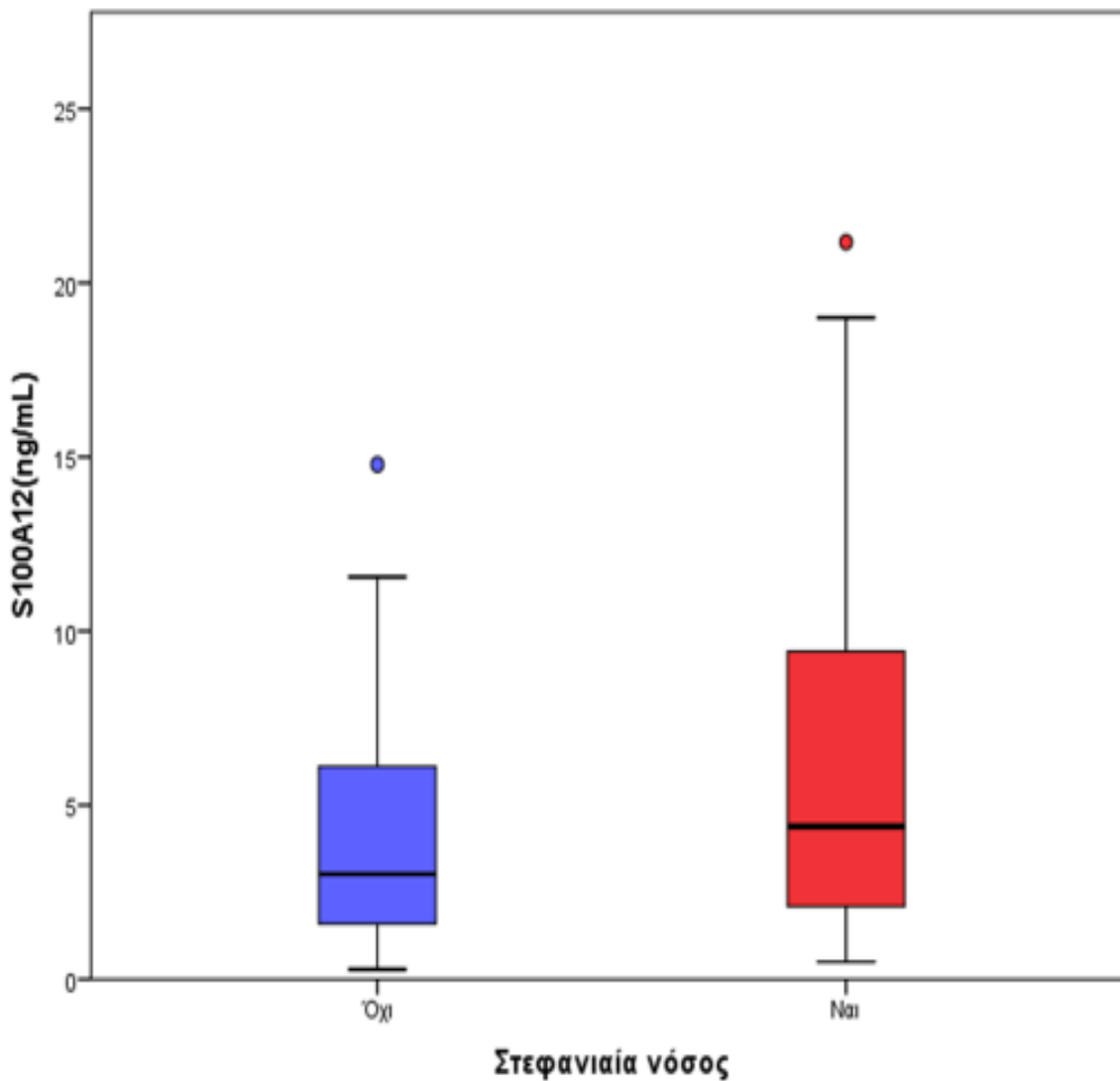
Πίνακας 4. Προσδέτες των RAGE στο σύνολο των ασθενών με και χωρίς ΣΝ

Παράμετρος	Ασθενείς χωρίς ΣΝ (n=50)	Ασθενείς με ΣΝ (n=50)	P value
AGEs (μg/mL)	2.1 (1.8,2.4)	2.1 (1.7,2.5)	0.953
S100B (pg/mL)	63.8 (5.4,222.5)	121.8 (60.9,507.5)	0.022
S100A8/S100A9 (μg/mL)	0.9 (0.3,3.1)	1.4 (0.5,3.1)	0.370
S100A12 (ng/mL)	3 (1.6,6.2)	4.4 (2.1,9.5)	0.049

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως ενδιάμεσος τιμή (ενδοτεταρτημοριακή απόκλιση: 75^ο τεταρ. – 25^ο τεταρ.).



Σχήμα 1. Συγκέντρωση της S100B στο πλάσμα του συνόλου των ασθενών με και χωρίς στεφανιαία νόσο (median + interquartile range)



Σχήμα 2. Συγκέντρωση της S100A12 στο πλάσμα του συνόλου των ασθενών με και χωρίς στεφανιαία νόσο (median + interquartile range)

Πίνακας 5. Προσδέτες των RAGE σε ασθενείς με και χωρίς ΣΝ ανάλογα με την παρουσία ή όχι ΣΔ.

Παράμετρος	Ασθενείς χωρίς ΣΔ		P value	Ασθενείς με ΣΔ		P value
	Ασθενείς χωρίς ΣΝ (n=42)	Ασθενείς με ΣΝ (n=30)		Ασθενείς χωρίς ΣΝ (n=8)	Ασθενείς με ΣΝ (n=20)	
AGEs (μg/mL)	2.1 (1.8,2.3)	1.9 (1.7,2.5)	0.511	2.4 (1.9,2.5)	2.4 (1.7,2.6)	0.940
S100B (pg/mL)	66.7 (12.1,233.4)	118.2 (49.9,457.2)	0.160	84.1 (0.0,192.9)	136.3 (63.8,641,6)	0.123
S100A8/S100A9 (μg/mL)	0.9 (0.4,3.3)	1.3 (0.4,2.6)	0.891	0.9 (0.1,3.3)	2.2 (0.5,7.5)	0.123
S100A12 (ng/mL)	2.9 (1.6,4.7)	3.1 (1.7,9.1)	0.226	4.8 (1.7,7.4)	5.1 (3.2,10.1)	0.500

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως ενδιάμεσος τιμή (ενδοτεταρτημοριακή απόκλιση: 75^ο τεταρ. – 25^ο τεταρ.).

iii. DJ-1, sRAGE και ο λόγος AGEs/sRAGEs

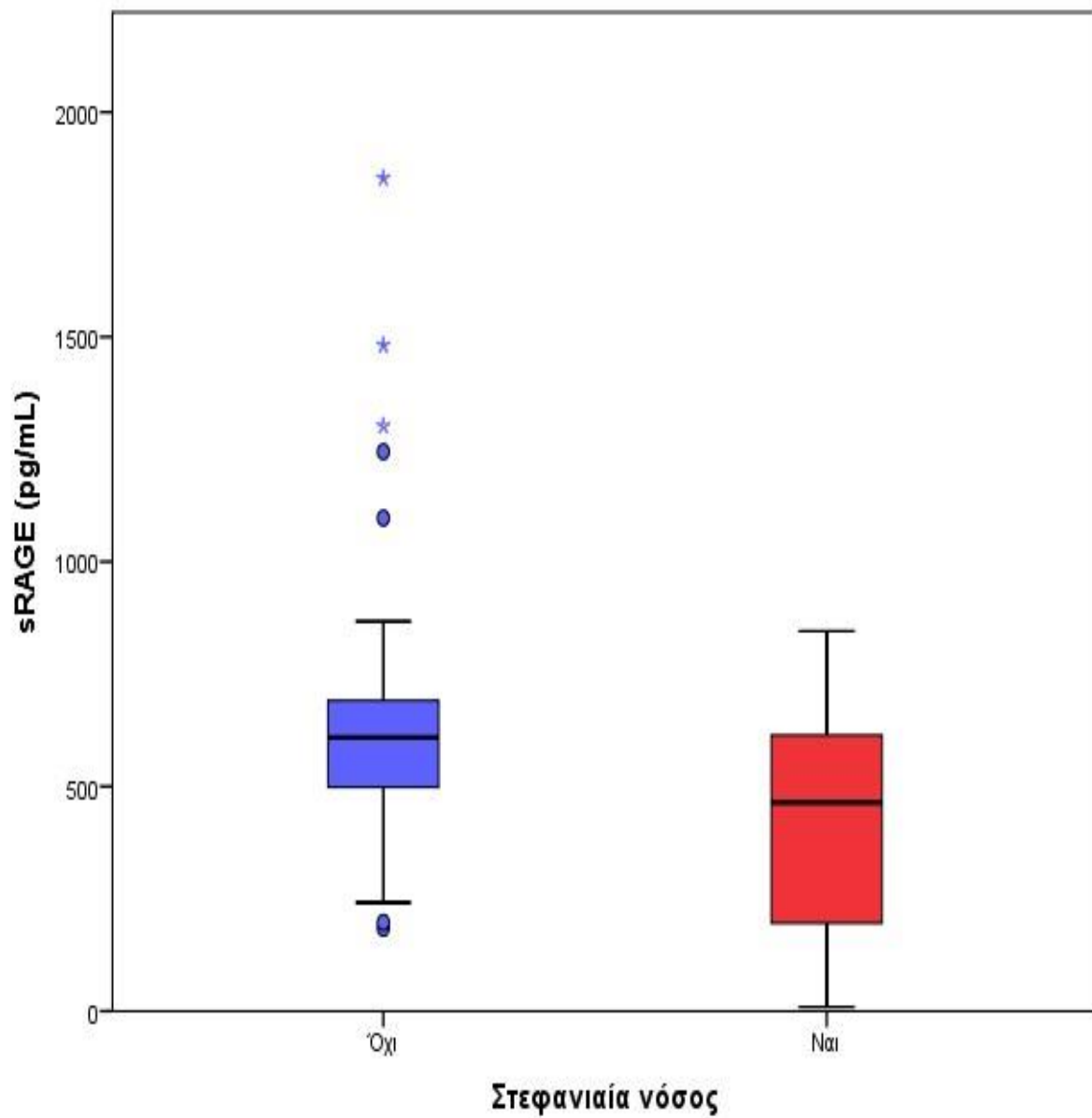
Ακολούθησε ο υπολογισμός των διαλυτών μορφών sRAGE, της πρωτεΐνης DJ-1 και του λόγου AGEs/sRAGE στο σύνολο των εξεταζόμενων (**Πίνακας 6**). Διαπιστώσαμε ότι στους στεφανιαίους ασθενείς τα επίπεδα των sRAGE ήταν σημαντικά χαμηλότερα ενώ ο λόγος AGEs/sRAGE ήταν σημαντικά υψηλότερος συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (**Σχήματα 3 και 4**).

Ταξινομώντας στη συνέχεια τους εξεταζόμενους σε διαβητικούς και μη-διαβητικούς όπως παραπάνω (**Πίνακας 7**), διαπιστώσαμε στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα των μη-διαβητικών σε όλες τις παραμέτρους, με τα επίπεδα των sRAGE και του DJ-1 να εμφανίζονται σημαντικά χαμηλότερα ενώ ο λόγος AGEs/sRAGE σημαντικά υψηλότερος στους ασθενείς με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (**Σχήματα 5, 6 και 7**). Στην μικρότερη στατιστική ομάδα των διαβητικών ασθενών, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στις παραπάνω μεταβλητές μεταξύ των ασθενών με και χωρίς ΣΝ, ωστόσο αξίζει να σημειωθεί ότι και στην ομάδα αυτή καταγράφηκαν υψηλότερες τιμές του λόγου AGEs/sRAGE στους στεφανιαίους ασθενείς που οριακά δεν έφτασαν το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (p value=0.05).

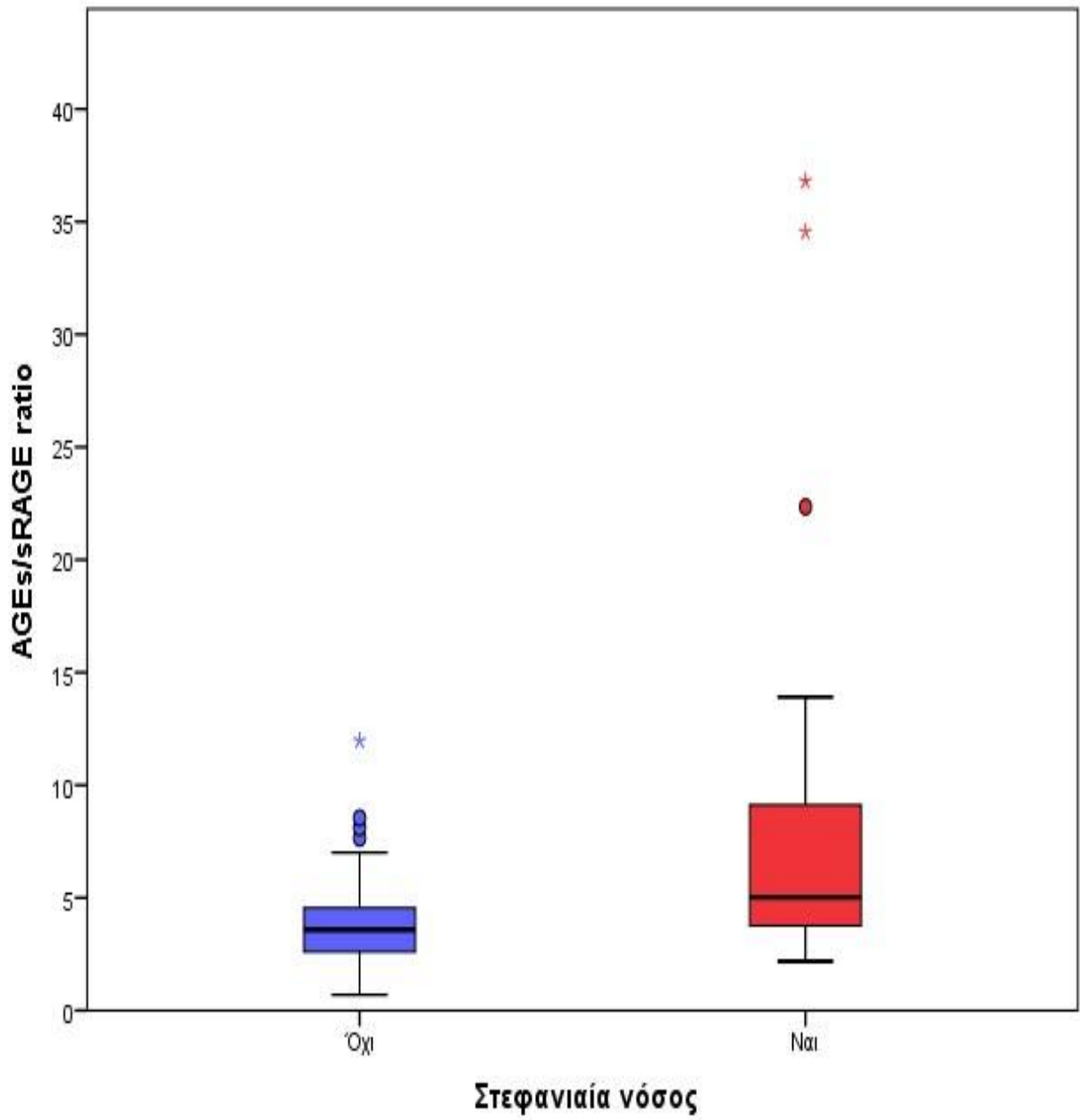
Πίνακας 6. DJ-1, sRAGE και ο λόγος AGEs/sRAGE στο σύνολο των ασθενών με και χωρίς ΣΝ

Παράμετρος	Ασθενείς χωρίς ΣΝ (n=50)	Ασθενείς με ΣΝ (n=50)	P value
sRAGE (pg/mL)	608.5 (496.8,696.1)	464.5 (194.1,615.1)	<0.001
AGEs/sRAGE	3.6 (2.6,4.6)	5.1 (3.8,9.2)	<0.001
DJ-1 (ng/mL)	3.4 (2.5,6.7)	2.8 (2.3,3.5)	0.064

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως ενδιάμεσος τιμή (ενδοτεταρτημοριακή απόκλιση: 75^ο τεταρ. – 25^ο τεταρ.).



Σχήμα 3. Συγκέντρωση των sRAGE στο πλάσμα του συνόλου των ασθενών με και χωρίς στεφανιαία νόσο (median + interquartile range)

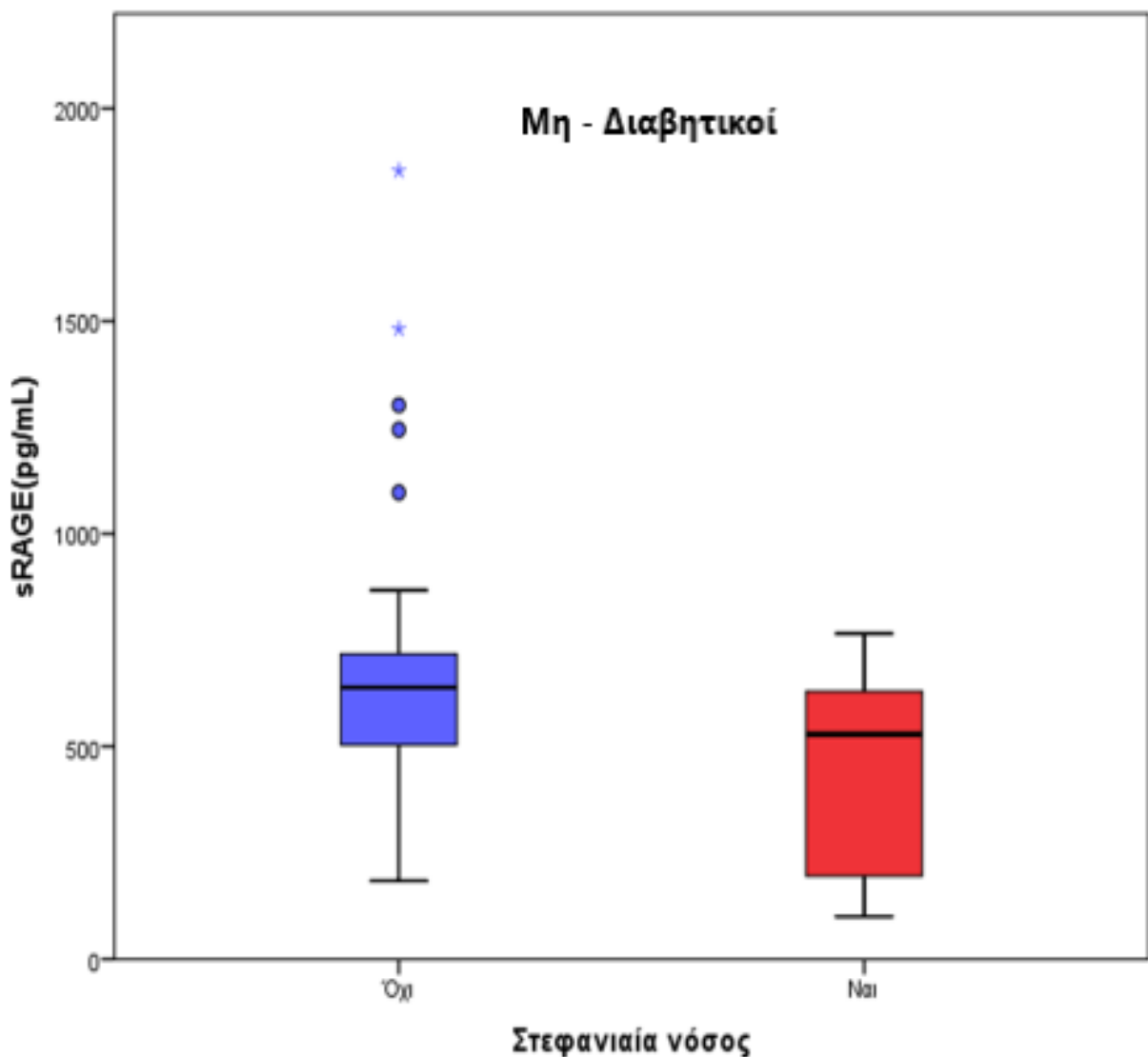


Σχήμα 4. Ο λόγος AGEs/sRAGE στο πλάσμα του συνόλου των ασθενών με και χωρίς στεφανιαία νόσο (median + interquartile range)

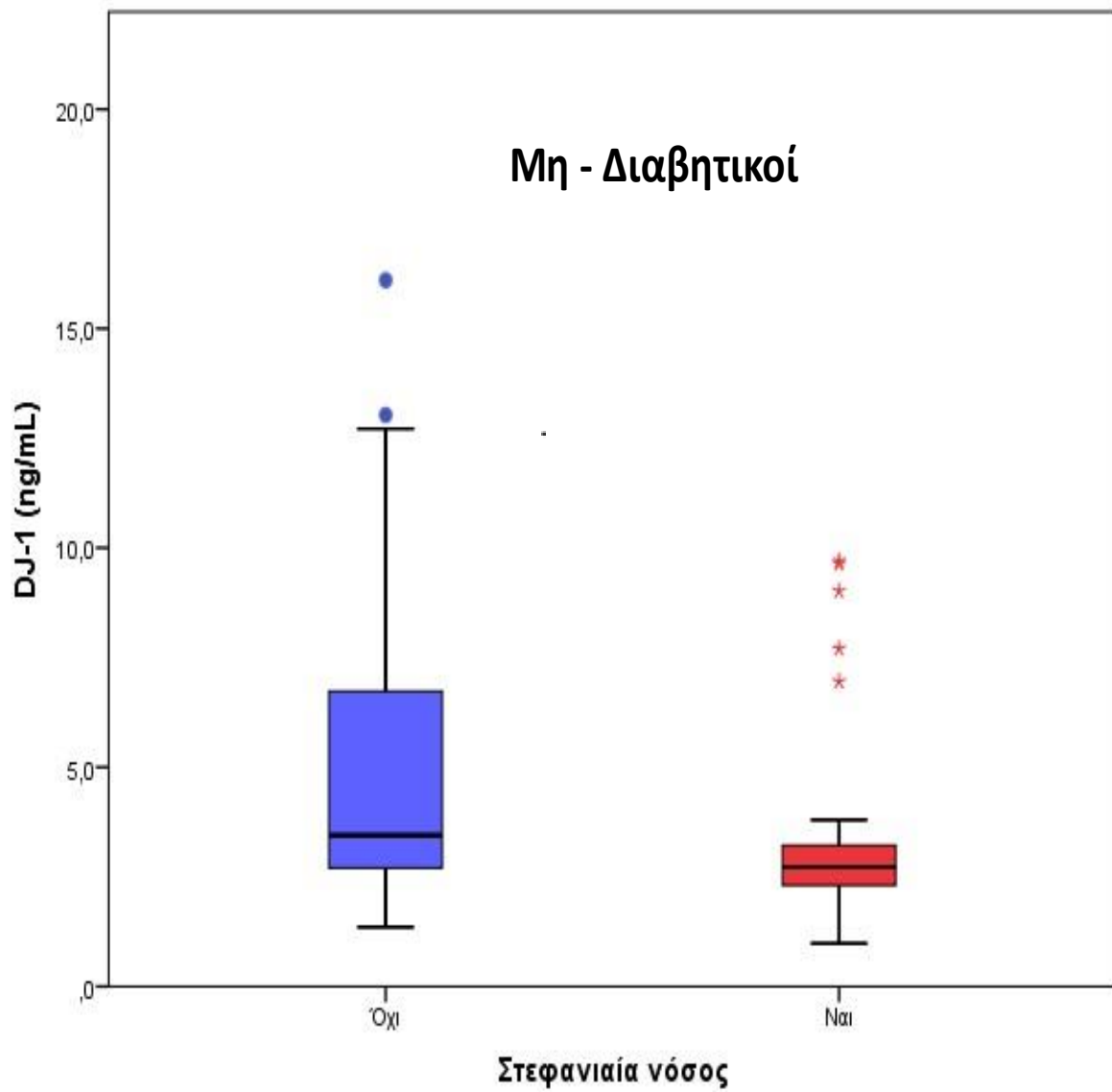
Πίνακας 7. DJ-1, sRAGE και ο λόγος AGEs/sRAGE σε ασθενείς με και χωρίς ΣΝ ανάλογα με την παρουσία ή όχι ΣΔ

Παράμετρος	Ασθενείς χωρίς ΣΔ			Ασθενείς με ΣΔ		
	Ασθενείς χωρίς ΣΝ (n=42)	Ασθενείς με ΣΝ (n=30)	P value	Ασθενείς χωρίς ΣΝ (n=8)	Ασθενείς με ΣΝ (n=20)	P value
sRAGE (pg/mL)	638.9 (502.2,727)	528.7 (192.7,632.2)	<0.001	562.5 (437.5,638)	397.9 (202,593.7)	0.110
AGEs/sRAGE	3.3 (2.4,4.5)	4.3 (3.2,9.5)	0.003	4.2 (3.9,4.7)	5.8 (4.5,7.4)	0.05
DJ-1 (ng/mL)	3.4 (2.6,7.5)	2.7 (2.3,3.5)	0.028	2.5 (2.4,4.7)	2.8 (2.2,4.6)	0.836

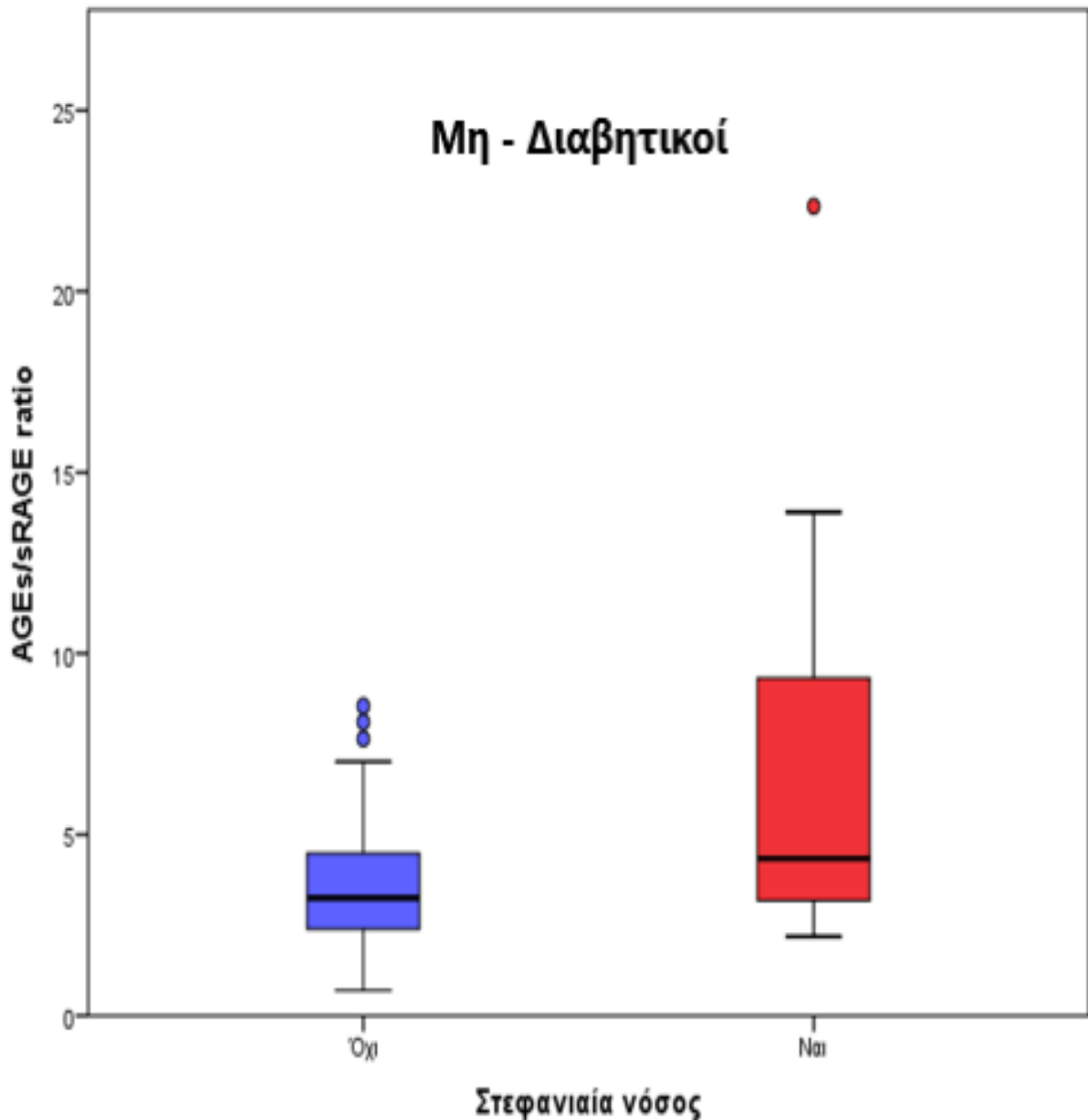
Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως ενδιάμεσος τιμή (ενδοτεταρτημοριακή απόκλιση: 75^ο τεταρ. – 25^ο τεταρ.).



Σχήμα 5. Συγκέντρωση των sRAGE στο πλάσμα των μη – διαβητικών ασθενών με και χωρίς στεφανιαία νόσο (median + interquartile range)



Σχήμα 6. Συγκέντρωση της πρωτεΐνης DJ-1 στο πλάσμα των μη – διαβητικών ασθενών με και χωρίς στεφανιαία νόσο (median + interquartile range).



Σχήμα 7. Ο λόγος AGEs/sRAGE στο πλάσμα των μη - διαβητικών ασθενών με και χωρίς στεφανιαία νόσο (median + interquartile range)

iv. Συσχετίσεις – Ανάλυση Παλινδρόμησης

Στο σύνολο των ασθενών, ο λόγος AGEs/sRAGE είχε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με την HbA1c ($\rho = .242$, $p = 0.015$), ενώ τα sRAGE συσχετίστηκαν αρνητικά με την HbA1c ($\rho = -.228$, $p = 0.022$). Επιπλέον, η S100B εμφάνισε στατιστικά σημαντική θετική

Ακολούθησε απλή (univariable) και πολλαπλή (multivariable) ανάλυση παλινδρόμησης με σκοπό την ανάδειξη πιθανών προγνωστικών δεικτών για την εμφάνιση ΣΝ. Οι μεταβλητές που συσχετίστηκαν με την παρουσία ΣΝ με τιμή p (p value) < 0.1 στην απλή ανάλυση συμπεριλήφθηκαν στο πολυπαραγοντικό μοντέλο. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε απλή ανάλυση στο σύνολο των ασθενών η οποία ανέδειξε τα sRAGE, τον λόγο AGEs/sRAGE, την S100A12, την S100B, την HbA1c, την HDL-C και το άρρεν φύλο ως προγνωστικούς δείκτες εμφάνισης ΣΝ. Οι μεταβλητές αυτές, μαζί με τα τριγλυκερίδια, την CRP και τα S100A8/A9, συμπεριλήφθηκαν στην συνέχεια στην πολλαπλή ανάλυση η οποία ανέδειξε τον λόγο AGEs/sRAGE ως ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη για την εμφάνιση ΣΝ ($p=0.034$, $OR=1.247$, [95%CI: 1.024, 1.0519]), μαζί με την HbA1c ($p=0.010$, $OR=3.075$, [95%CI: 1.31, 7.21]) και το άρρεν φύλο (**Πίνακας 8**).

Πίνακας 8. Ανάλυση παλινδρόμησης για την ανάδειξη προγνωστικών δεικτών ΣΝ στο σύνολο των ασθενών

Variable	Univariable					Multivariable				
	b	SE	p	OR	95%CI	b	SE	p	OR	95%CI
Age	0.027	0.03	0.357	1.028	0.97-1.09					
HbA1c	1.162	0.34	0.001	3.197	1.65-6.18	1.123	0.435	0.010	3.075	1.31-7.21
Gender (male)	1.708	0.55	0.002	5.516	1.86-16.34	1.96	0.858	0.022	7.101	1.32-38.2
BMI	-0.022	0.098	0.823	1.826	0.81-1.19					
Smoking	-0.17	0.412	0.680	0.844	0.38-1.89					
Creatinine	1.330	1.13	0.239	3.782	0.41-34.68					
CRP	0.199	0.115	0.085	1.22	0.97-1.53	0.206	0.165	0.212	1.229	0.89-1.7
IL-6	0.019	0.013	0.151	1.019	0.99-1.05					
Cholesterol	-0.002	0.005	0.662	0.998	0.99-1.01					
LDL-C	0.002	0.005	0.781	1.002	0.99-1.01					
HDL-C	-0.075	0.021	<0.001	0.927	0.89-0.97	0.048	0.028	0.089	0.953	0.9-1.01
Triglycerides	0.008	0.004	0.061	1.008	1.00-1.02	0.002	0.006	0.728	1.002	0.99-1.02
sRAGE*	-0.004	0.001	<0.001	0.996	0.994-0.998					
AGE/sRAGE	0.319	0.100	0.001	1.376	1.13-1.67	0.215	0.101	0.034	1.24	1.02-1.51
S100A12	0.130	0.055	0.019	1.139	1.02-1.27	0.057	0.080	0.478	1.059	0.9-1.24
S100A8/A9	0.144	0.074	0.053	1.155	0.998-1.335	0.062	0.111	0.576	1.064	0.86-1.32
S100B	0.002	0.001	0.033	1.002	1.000-1.003	0.002	0.001	0.095	1.002	1.00-1.01
DJ-1	-0.092	0.067	0.173	0.913	0.80-1.04					
Constant						-9.4	3.67	0.011		

Goodness-of-fit statistics: $R^2=0.42$ (Cox&Snell), 0.56 (Nagelkerke). Model $\chi^2(9)=54.5$, $p<0.001$

*sRAGE was not included in the multivariable regression analysis due to collinearity with AGE/sRAGE ratio
 BMI – body mass index; CAD – coronary artery disease; CRP – C-reactive protein; LDL-C – low density lipoprotein cholesterol; HDL-C –high density lipoprotein cholesterol; AGEs – advanced glycation endproducts; sRAGE – soluble receptors for advanced glycation endproducts

Κατά τον ίδιο τρόπο, πραγματοποιήθηκε απλή ανάλυση παλινδρόμησης στην υποομάδα των μη-διαβητικών ασθενών που ανέδειξε και εδώ τα sRAGE, τον λόγο AGEs/sRAGE, την HbA1c, την HDL-C και το άρρεν φύλο ως προγνωστικούς δείκτες εμφάνισης ΣΝ. Οι μεταβλητές αυτές, μαζί με τα τριγλυκερίδια και την S100A12, συμπεριλήφθηκαν στην συνέχεια στην πολλαπλή ανάλυση η οποία ανέδειξε και στην υποομάδα αυτή τον λόγο AGEs/sRAGE ($p=0.021$, $OR=1.363$, $95\%CI [1.048, 1.77]$) και την HbA1c ($p=0.002$, $OR=83.41$, $95\%CI [4.866, 1429.718]$) ως σημαντικούς προγνωστικούς δείκτες εμφάνισης ΣΝ, ανεξάρτητα από άλλους βιοδείκτες και καθιερωμένους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (Πίνακας 9).

Πίνακας 9. Ανάλυση παλινδρόμησης για την ανάδειξη προγνωστικών δεικτών ΣΝ στην ομάδα ασθενών χωρίς σακχαρώδη διαβήτη

Variable	Univariable					Multivariable				
	b	SE	p	OR	95%CI	b	SE	p	OR	95%CI
Age	0.006	0.034	0.861	1.006	0.94-1.08					
HbA1c	3.086	1.017	0.002	21.89	2.98-160.8	4.424	1.45	0.002	83.41	4.9-1429.7
Gender (male)	2.78	1.067	0.009	16.11	1.99-130.4	2.586	1.4	0.064	13.279	0.86-205.7
BMI	-0.075	0.117	0.522	0.928	0.74-1.17					
Smoking	-0.252	0.482	0.601	0.777	0.30-2.00					
Creatinine	1.36	1.52	0.371	3.896	0.2-76.6					
CRP	0.202	0.127	0.111	1.224	0.96-1.57					
IL-6	0.021	0.013	0.106	1.021	0.99-1.05					
Cholesterol	0.006	0.005	0.275	1.006	0.995-1.02					
LDL-C	0.011	0.007	0.102	1.011	0.998-1.03					
HDL-C	-0.073	0.025	0.004	0.929	0.88-0.98	0.034	0.036	0.354	0.967	0.90-1.04
Triglycerides	0.011	0.006	0.058	1.011	1.0-1.023	0.013	0.009	0.125	1.014	0.996-1.03
sRAGE*	-0.004	0.001	0.004	0.996	0.993-0.999					
AGE/sRAGE	0.321	0.107	0.003	1.379	1.118-1.7	0.309	0.134	0.021	1.363	1.048-1.77
S100A12	0.120	0.066	0.069	1.127	0.99-1.28	0.117	0.093	0.209	1.124	0.94-1.35
S100A8/A9	0.079	0.098	0.419	1.083	0.89-1.31					
S100B	0.001	0.001	0.215	1.001	0.999-1.003					
DJ-1 **	-0.163	0.094	0.082	0.849	0.706-1.021	0.077	0.136	0.572	0.926	0.71-1.21
Constant						30.87	9.8	0.002		

Goodness-of-fit statistics: $R^2=0.44$ (Cox&Snell), 0.59 (Nagelkerke). Model $\chi^2(6)=41.7$, $p<0.001$

*sRAGE was not included in the multivariable regression analysis due to collinearity with AGE/sRAGE ratio

**Multivariable regression analysis was run at first with DJ-1 to test if DJ-1 was a predictor of CAD and then without DJ-1 because of missing values (10 out of 72) that affected results

BMI – body mass index; CAD – coronary artery disease; CRP – C-reactive protein; LDL-C – low density lipoprotein cholesterol; HDL-C –high density lipoprotein cholesterol; AGEs – advanced glycation endproducts; sRAGE – soluble receptors for advanced glycation endproducts

7. Συζήτηση

Τα σημαντικότερα ευρήματα της μελέτης μας είναι η σημαντική συσχέτιση των sRAGE και του λόγου AGEs/sRAGE με την παρουσία ΣΝ σε ασυμπτωματικούς ασθενείς χωρίς γνωστό ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου. Ακόμα πιο σημαντικό εύρημα είναι η ανάδειξη του λόγου AGEs/sRAGE ως ανεξάρτητου προγνωστικού δείκτη εμφάνισης ΣΝ, μαζί με την HbA1c, πάνω από καθιερωμένους βιοδείκτες και παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Παράλληλα μελετήσαμε για πρώτη φορά τη συσχέτιση της αγγειογραφικά επιβεβαιωμένης ΣΝ με την αντιοξειδωτική πρωτεΐνη DJ-1, η οποία βρέθηκε σημαντικά μειωμένη στους μη-διαβητικούς ασθενείς με ΣΝ, ενώ επιπλέον καταγράψαμε σημαντική συσχέτιση μεταξύ ΣΝ και των πρωτεϊνών της ομάδας S100, S100B και S100A12, επιβεβαιώνοντας τον ρόλο τους ως ξεχωριστοί μεσολαβητές της φλεγμονής που χαρακτηρίζει όλα τα στάδια της ΣΝ.

i. IL-6

Είναι πλέον καθολικά αποδεκτό ότι η φλεγμονή διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο τόσο στην έναρξη της παθοφυσιολογικής διαδικασίας της στεφανιαίας νόσου όσο και στην εξέλιξη αλλά και την αποσταθεροποίηση - ρήξη της αθηρωματικής πλάκας με αποτέλεσμα την εμφάνιση των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων. Στο πλαίσιο αυτό, η IL-6 αποτελεί μια προφλεγμονώδη κυτοκίνη, εμφανιζόμενη από τα αρχικά στάδια του φλεγμονώδους καταρράκτη, αμέσως μετά τον TNF- α και την IL-1 β , που ενέχεται στην παθογένεια της αθηροσκλήρωσης και έχει παραδοσιακά συνδεθεί αιτιολογικά με την ΣΝ [285-287]. Μεγάλες μάλιστα επιδημιολογικές μελέτες την ανέδειξαν ήδη από 20ετίας σε εξίσου ισχυρό προγνωστικό δείκτη για μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάματα με την LDL-C [288], θεωρία που παραμένει επίκαιρη έως και σήμερα [289]. Η μελέτη CANTOS άλλωστε, επιβεβαίωσε τον κομβικό ρόλο της IL-6 στην φλεγμονή που χαρακτηρίζει την ΣΝ, καθώς φάνηκε ότι το όφελος της σύγχρονης θεραπευτικής προσέγγισης με την χορήγηση αντιφλεγμονώδους αγωγής στη ΣΝ ήταν άμεσα συνδεδεμένο με το μέγεθος της μείωσης της IL-6 που καταγράφηκε [290]. Στη δική μας μελέτη, τα επίπεδα της IL-6 ήταν

σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς με ΣΝ συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, τόσο στο σύνολο των ασθενών όσο και στην υποομάδα των μη-διαβητικών, γεγονός που επιβεβαιώνει από την μια πλευρά τον ρόλο της φλεγμονής στην παθογένεια της ΣΝ και από την άλλη την ξεχωριστή θέση της IL-6 σε αυτό, ως μεσολαβητής που συνδέει τους κλασσικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου με την εγκατάσταση τελικά της ΣΝ.

ii. Άξονας AGEs – RAGEs και sRAGE

Η αναγνώριση του κομβικού ρόλου της φλεγμονής στην καρδιαγγειακή νόσο οδήγησε τα τελευταία χρόνια την έρευνα στην διαρκή αναζήτηση νέων, πέρα των καθιερωμένων, μορίων που εμπλέκονται στα μεταγωγικά μονοπάτια της φλεγμονής με σκοπό την ανάδειξη νέων βιοδεικτών που θα μπορούσαν ενδεχομένως να χρησιμοποιηθούν για την έγκαιρη αναγνώριση ασθενών με ΣΝ, πριν την εκδήλωση των οξέων καρδιακών συμβαμάτων. Στο πλαίσιο αυτό, τα τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs), ενδογενή και εξωγενή, ως προ-φλεγμονώδεις και προ-οξειδωτικές ενώσεις, εμπλέκονται στην παθογένεια και την εξέλιξη της ΣΝ είτε με απευθείας οξειδωτικές και άλλες δράσεις, είτε μέσω της σύνδεσης με τους RAGE υποδοχείς τους. Η αλληλεπίδραση AGEs-RAGEs επάγει το οξειδωτικό stress και τον σχηματισμό ROS [291], καθώς και την ενεργοποίηση διαφορετικών μεταγωγικών μονοπατιών, με κυριότερο αυτό των MAP κινασών, με τελικό αποτέλεσμα την ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων όπως ο NF-κB. Αυτός με την σειρά του προάγει διάφορες διεργασίες απαραίτητες για την έναρξη και την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης, όπως την ενεργοποίηση προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών (TNF-α, IL-1, IL-2, IL,6), χημειοκινών (MCP-1) και την υπερέκφραση προσκολλητικών μορίων (VCAM-1, ICAM-1) και αυξητικών παραγόντων (VEGF, PDGF) [292]. Στο πλαίσιο αυτό, διάφορες μελέτες έχουν δείξει την συσχέτιση των AGEs τόσο με την παρουσία όσο και με την βαρύτητα της ΣΝ σε διαβητικούς αλλά και μη-διαβητικούς ασθενείς [293-295], ενώ ειδικά στη μελέτη των Kiuchi et al η συσχέτιση αυτή ήταν ανεξάρτητη από την παρουσία καθιερωμένων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου [296].

Από την άλλη πλευρά, η διαλυτή μορφή των RAGE (sRAGE) θεωρείται κυτταροπροστατευτικό μόριο, καθώς μετά την έκκριση του εξωκυτταρίως συνδέεται με τους

φλεγμονώδεις προσδέτες των RAGE και τους απομακρύνει από την κυκλοφορία μέσω αποδόμησης τους στο σπλήνα και το ήπαρ. Με τον τρόπο αυτό, δρα ως «παγίδα» για τα AGEs, τα «αιχμαλωτίζει» και τα οδηγεί προς αποδόμηση εξουδετερώνοντας τη δράση τους, αποτρέποντας την ανάπτυξη κυτταρικής δυσλειτουργίας, αφού πλέον εμποδίζεται η ενεργοποίηση και η επαγωγή της ενδοκυττάριας σηματοδότησης, τόσο του RAGE, όσο και των λοιπών μεμβρανικών υποδοχέων των AGEs [239,266].

Διάφορες μελέτες έδειξαν την συσχέτιση των sRAGE με την αθηρωματική καρδιαγγειακή νόσο (**Πίνακας 10**). Οι Falcone et al μετρώντας τα επίπεδα των sRAGE στο πλάσμα 328 μη-διαβητικών ατόμων με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ και σε 328 'υγιείς' ασθενείς χωρίς κριτικές στενώσεις, έδειξαν ότι τα χαμηλά επίπεδα των sRAGE σχετίζονται με την παρουσία ΣΝ σε ασθενείς χωρίς σακχαρώδη διαβήτη, ανεξάρτητα από καθιερωμένους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου [297]. Παρόμοια αποτελέσματα ανέφεραν οι ίδιοι ερευνητές σε άλλη μελέτη με στεφανιαίους ασθενείς με και χωρίς περιφερική αγγειοπάθεια, υπογραμμίζοντας επιπλέον ότι οι στεφανιαίοι ασθενείς με συνοδό περιφερική αγγειοπάθεια είχαν χαμηλότερα επίπεδα sRAGE συγκριτικά με αυτούς χωρίς [298]. Παρομοίως, στη μελέτη των Mahazan et al που συμπεριέλαβε 140 μη-διαβητικούς ασθενείς με πρώιμη ΣΝ, φάνηκε η συσχέτιση μεταξύ χαμηλών επιπέδων sRAGE και ΣΝ που επιπλέον ήταν και αντιστρόφως ανάλογη με την σοβαρότητα της [299]. Αντίστοιχη συσχέτιση μεταξύ μειωμένων τιμών sRAGE και ΣΝ στους μη-διαβητικούς έδειξε και η μελέτη των Yan et al [300], ενώ σε άλλη μεγάλη μελέτη με 2571 συμμετέχοντες φάνηκε ότι τα επίπεδα των sRAGE εμφάνισαν αντίστροφη συσχέτιση με το φορτίο ασβεστίου στα στεφανιαία αγγεία αλλά και με καθιερωμένους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου όπως το κάπνισμα, την ηλικία, την αρτηριακή υπέρταση και το μεταβολικό σύνδρομο [301]. Επιπρόσθετα, στην μελέτη των Basta et al τα χαμηλά sRAGE συσχετίστηκαν αντιστρόφως ανάλογα με την παρουσία ευάλωτης (μη-ασβεστοποιημένης) αθηρωματικής πλάκας, όπως αυτή εκτιμήθηκε με αξονική στεφανιογραφία, υπονοώντας ότι τα sRAGE ενδέχεται να παίζουν ρόλο στην πρώιμη εμφάνιση και εξέλιξη της αθηρωματικής νόσου [302].

Αξίζει να σημειωθεί ότι ο προστατευτικός ρόλος των sRAGE στην αθηρωματική καρδιαγγειακή νόσο επιβεβαιώθηκε και σε πληθυσμιακές μελέτες παρακολούθησης. Αρχικά, οι

Chiang et al το 2009 σε μελέτη με 180 άτομα χωρίς σακχαρώδη διαβήτη και διάρκεια παρακολούθησης 48 μήνες, ανακοίνωσαν ότι τα χαμηλά επίπεδα των sRAGE αναδείχθηκαν προγνωστικός δείκτης για μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάματα, ενώ από την άλλη πλευρά τα αυξημένα επίπεδα αυτών συνδυάστηκαν με καλύτερη ενδοθηλιακή λειτουργία, η εκτίμηση της οποίας έγινε με τη μέτρηση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (flow-mediated dilation, FMD) της βραχιόνιας αρτηρίας [303]. Αργότερα, οι Selvin et al το 2013 σε μελέτη με 1201 άτομα (1057 μη-διαβητικοί) χωρίς γνωστό ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου και διάρκεια παρακολούθησης 18 έτη, ανακοίνωσαν ότι τα χαμηλά sRAGE κατά την αρχική μέτρηση αποτέλεσαν σημαντικό και ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη θνησιμότητας και μελλοντικής εμφάνισης στεφανιαίας νόσου και σακχαρώδους διαβήτη [304]. Ιδιαίτερα ωστόσο σημαντική στην ανάδειξη της αντιαθηρωματικής δράσης των sRAGE, μέσω της ανασταλτικής τους επίδρασης στον άξονα AGEs-RAGEs, υπήρξε η μελέτη των Bucciarelli et al κατά την οποία η εξωγενής χορήγηση ανασυνδυσμένου sRAGE σε ποντίκια που είχαν καταστεί διαβητικά και ανενεργά για το γονίδιο της απολιποπρωτεΐνης E, οδήγησε τόσο σε καταστολή της εξέλιξης της αθηροσκλήρωσης και της αγγειακής φλεγμονής κατά δόσοεξαρτώμενο τρόπο, όσο και σε σταθεροποίηση της ήδη εγκατασταθείσας αθηροσκληρωτικής βλάβης [305]. Από όλες τις προαναφερθείσες μελέτες προκύπτουν ισχυρά στοιχεία ότι τα χαμηλά επίπεδα των sRAGE συσχετίζονται με την εμφάνιση της αθηρωμάτωσης και αποτελούν προγνωστικό δείκτη αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου. Τα αποτελέσματα της δικής μας μελέτης επιβεβαιώνουν την αντιαθηρωματική φύση των sRAGE καθώς καταγράφηκαν στατιστικώς σημαντικά μειωμένα επίπεδα στους στεφανιαίους ασθενείς, τόσο στη συνολική στατιστική ομάδα όσο και στην υποομάδα των ασθενών χωρίς σακχαρώδη διαβήτη.

Ωστόσο, έχουν αναφερθεί και αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με τον παθοφυσιολογικό ρόλο των sRAGE. Ενώ λοιπόν μελέτες όπως οι παραπάνω έδειξαν ότι τα sRAGE είναι χαμηλά στους ασθενείς με καρδιαγγειακά νοσήματα, άλλες κατέγραψαν αντίθετα αποτελέσματα και ανέφεραν ότι τα αυξημένα επίπεδα των sRAGE αποτελούν προγνωστικό δείκτη μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβαμάτων, ειδικά σε διαβητικούς ασθενείς. Αρχικά, το 2009 οι Nin et al σε μελέτη με 477 ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1, έδειξαν ότι τα αυξημένα sRAGE συνδέονται με αυξημένη επίπτωση καρδιαγγειακής νόσου ανεξάρτητα από

την παρουσία κλασικών παραγόντων κινδύνου, και το αποτέλεσμα αυτό αποδόθηκε εν μέρει στη θετική συσχέτιση των sRAGE με δείκτες ενδοθηλιακής και νεφρικής δυσλειτουργίας όπως και με καθιερωμένους δείκτες φλεγμονής (CRP, TNF- α , IL-6) στους ασθενείς αυτούς [306]. Λίγο αργότερα, η ίδια ομάδα ερευνητών σε μελέτη παρακολούθησης αυτή την φορά με παρόμοιο πληθυσμό και διάρκεια παρακολούθησης 12 έτη, ανέφεραν ότι τα αυξημένα sRAGE συσχετίστηκαν με αυξημένη ολική θνησιμότητα καθώς και επίπτωση θανατηφόρων και μη καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 [307]. Επιπλέον, σε άλλη μεγάλη μελέτη με 3100 ασθενείς με διαβήτη τύπου 1 και διάρκεια παρακολούθησης 9 έτη, φάνηκε ότι τα αυξημένα sRAGE στην αρχική καταμέτρηση αποτέλεσαν ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη υψηλής καρδιαγγειακής και ολικής θνησιμότητας [308].

Αντίστοιχα αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και σε μελέτες με ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, όπως στη μελέτη των Yan et al που ανέδειξε θετική συσχέτιση μεταξύ sRAGE και ΣΝ στην ομάδα των διαβητικών ασθενών, σε αντίθεση με την ομάδα των μη-διαβητικών όπου η συσχέτιση αυτή ήταν αρνητική όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα [300]. Παρόμοια θετική συσχέτιση μεταξύ sRAGE και ΣΝ σε διαβητικούς τύπου 2 καταγράφηκε και στη μελέτη των Nakamura et al [309], ενώ οι Colhoun et al αξιοποιώντας δεδομένα από την μεγάλη τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη CARDS (Collaborative Atorvastatin Diabetes Study) σε διαβητικό πληθυσμό χωρίς προηγούμενο ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου και μέση διάρκεια παρακολούθησης περίπου 4 έτη, ανέφεραν ότι τα αυξημένα επίπεδα των sRAGE συσχετίστηκαν με αυξημένη επίπτωση στεφανιαίας νόσου [310]. Κατά παρόμοιο τρόπο, οι Fujisawa et al μελετώντας Ιάπωνες ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και μέση διάρκεια παρακολούθησης 5,6 έτη, έδειξαν ότι τα αυξημένα sRAGE αποτελούν προγνωστικό δείκτη καρδιαγγειακών συμβαμάτων στην κατηγορία αυτή του πληθυσμού, ανεξάρτητα μάλιστα από καλά μελετημένους παράγοντες κινδύνου όπως η ηλικία, το φύλο, το κάπνισμα, η υπέρταση και άλλες παραμέτρους όπως το BMI, η HbA1c, η κρεατινίνη, η LDL-C και η HDL-C [311].

Τα διφορούμενα αυτά αποτελέσματα σχετικά με τον ρόλο των sRAGE στην καρδιαγγειακή νόσο αποτυπώθηκαν και σε μελέτες που συμπεριέλαβαν ασθενείς με οξεία στεφανιαία σύνδρομο (ΟΣΣ), όπου καταγράφηκαν αυξημένα επίπεδα sRAGE στην οξεία φάση των ΟΣΣ συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου [312,313]. Επιπλέον, τα αυξημένα sRAGE σε αυτούς τους ασθενείς

συσχετίστηκαν με χειρότερη ενδονοσοκομειακή πρόγνωση [314], αλλά και με επηρεασμένη συστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας στους 7 μήνες παρακολούθησης [315]. Αξιοσημείωτη ωστόσο είναι η σχετικά πρόσφατη μελέτη παρακολούθησης των Larsen et al που αξιολόγησαν τα επίπεδα των sRAGE σε ασθενείς με ΟΣΣ, τόσο στην οξεία φάση (εντός 24 ωρών) όσο και 6 εβδομάδες μετά, και ανέφεραν ότι τα αυξημένα sRAGE στην οξεία φάση συσχετίστηκαν με χαμηλότερο κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας στο 1 έτος παρακολούθησης και αυξημένο κίνδυνο για υποτροπιάζοντα καρδιαγγειακά συμβάματα και εκδήλωση καρδιακής ανεπάρκειας σε μια μέση διάρκεια παρακολούθησης 2,5 ετών, ανεξαρτήτως μάλιστα από την ηλικία, το φύλο, την παρουσία παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου αλλά και κλασσικών προγνωστικών δεικτών όπως η τροπονίνη T, η hs-CRP και το NT-proBNP. Σε αντίθεση όμως με την οξεία φάση, οι ασθενείς με αυξανόμενα επίπεδα sRAGE στις 6 εβδομάδες μετά το επεισόδιο, εμφανίστηκαν με μικρότερο κίνδυνο για υποτροπιάζοντα ΟΣΣ κατά την διάρκεια της παρακολούθησης συγκριτικά με τους ασθενείς με μειωμένα sRAGE στο ίδιο χρονικό διάστημα [316]. Η ενδιαφέρουσα αυτή τροπή των αποτελεσμάτων ανάμεσα στα δύο χρονικά διαστήματα ερμηνεύτηκε ως εξής: στην οξεία φάση τα αυξημένα κυκλοφορούντα sRAGE πιθανότατα αντανakλούν τον βαθμό της φλεγμονώδους απόκρισης και της συνακόλουθης ενεργοποίησης της φυσικής ανοσίας που πυροδοτείται από την μυοκαρδιακή βλάβη και χαρακτηρίζεται από αυξημένη παραγωγή φλεγμονωδών προσδετών των RAGE (AGEs, S100A12, HBGB1), που οδηγεί με τη σειρά της σε αυξημένη ενεργοποίηση και πρωτεολυτική διάσπαση των RAGE με αποτέλεσμα την αντιροπυστική αύξηση των sRAGE. Από την άλλη μεριά, αφού παρέλθει η οξεία φάση και επέλθει η φάση 'αποκατάστασης' 6 εβδομάδες μετά το επεισόδιο, παρατηρείται υποχώρηση της φλεγμονής με αυξημένη παραγωγή προ-ινωτικών παραγόντων και αντιφλεγμονωδών κυτοκινών. Στη φάση αυτή, τα αυξημένα sRAGE δρουν προστατευτικά και πιθανότατα αποτρέπουν την υποτροπή του ΟΣΣ δεσμεύοντας τους φλεγμονώδεις προσδέτες των RAGE και αναστέλλοντας την επακόλουθη ενεργοποίηση τους.

Πίνακας 10. Συνοπτικά οι κυριότερες μελέτες που ερεύνησαν την συσχέτιση των sRAGE με την αθηρωματική καρδιαγγειακή νόσο

Ασθενείς	sRAGE	Κύρια ευρήματα	Συγγραφείς
Μη-διαβητικοί με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ (n=328), ομάδα ελέγχου (n=328)	↓	Μειωμένα sRAGE στους ασθενείς με ΣΝ ανεξάρτητα από κλασσικούς παράγοντες κινδύνου	Falcone et al
Αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ (n=544 - 213 με συνοδό PAD) ομάδα ελέγχου(n=328)	↓	- ↓ sRAGE σε ΣΝ, με και χωρίς PAD - Μεταξύ των ασθενών με ΣΝ, ↓ sRAGE σε συνοδό PAD vs no-PAD	Falcone et al
Μη-διαβητικοί με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ (n=100), ομάδα ελέγχου (n=40)	↓	- Μειωμένα sRAGE και ↑ hs-CRP στην ΣΝ - Αρνητική συσχέτιση των sRAGE με την βαρύτητα της ΣΝ	Mahajan et al
-Μη-διαβητικοί με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ (n=149), ομάδα ελέγχου (n=132) - Διαβητικοί με ΣΝ (n=151), ομάδα ελέγχου (n=80)	↓ ↑	- Μειωμένα sRAGE στους μη-διαβητικούς με συνοδό ΣΝ - Αυξημένα sRAGE στους διαβητικούς με συνοδό ΣΝ	Yan et al
Επίπεδα sRAGE – φορτίο ασβεστίου (n=2571)	↓	Αρνητική συσχέτιση sRAGE με φορτίο ασβεστίου και με παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου	Lindsey et al
Ασθενείς με αξονική στεφανιογραφία για εκτίμηση ευάλωτης αθηρωματικής πλάκας (n=140)	↓	Αρνητική συσχέτιση sRAGE με την παρουσία ευάλωτης (μη-ασβεστοποιημένης) πλάκας	Basta et al
Μη-διαβητικοί (n=180) με υποψία ΣΝ Follow up: 48 μήνες	↓	-↓ sRAGE αποτελούν προγνωστικό δείκτη για μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάματα	Chiang et al
Μη-διαβητικοί (n=1057) Follow up: 18 έτη	↓	-↓ sRAGE αποτελούν προγνωστικό δείκτη υψηλής θνησιμότητας και μελλοντικής εμφάνισης ΣΝ και ΣΔ	Selvin et al
Διαβητικοί τύπου 1 -με KAN (n=116) -χωρίς KAN (n=178)	↑	-θετική συσχέτιση sRAGE με KAN ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες κινδύνου -θετική συσχέτιση sRAGE με δείκτες ενδοθηλιακής-δυσλειτουργίας και δείκτες φλεγμονής (IL-6, TNF-α, hs-CRP)	Nin et al
Διαβητικοί τύπου 1 χωρίς γνωστή KAN (n=170), follow up: 12 έτη	↑	↑ sRAGE συσχετίστηκαν με ↑θνησιμότητα και KAN ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες κινδύνου	Nin et al
Διαβητικοί τύπου 1 (n=3100) follow up: 9 έτη	↑	↑ sRAGE αποτελούν ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη υψηλής καρδιαγγειακής και ολικής θνησιμότητας	Thomas et al
Διαβητικοί τύπου 2 χωρίς γνωστή KAN (n=715), follow up: 3,9 έτη	↑	↑ sRAGE συσχετίστηκαν με αυξημένη επίπτωση ΣΝ	Colhoun et al
Διαβητικοί τύπου 2 χωρίς γνωστή KAN (n=276), follow up: 5,6 έτη	↑	↑ sRAGE συσχετίστηκαν με αυξημένο κίνδυνο KAN ανεξάρτητα από κλασσικούς δείκτες-παράγοντες κινδύνου	Fujisawa et al
ΟΣΣ (n=420), ομάδα ελέγχου (n=251)	↑	↑ sRAGE στους ασθενείς με ΟΣΣ vs ομάδα ελέγχου	Cai et al
STEMI (n=54), ομάδα ελέγχου (n=54)	↑	- ↑sRAGE στους ασθενείς με STEMI vs ομάδα ελέγχου - ↑sRAGE διαβητικοί vs μη-διαβητικοί στην STEMI ομάδα	Park et al
STEMI (n=80), follow up: 7 μήνες	↑	- ↑sRAGE στην οξεία φάση που συσχετίστηκαν με ↓ LVEF στους 7 μήνες παρακολούθησης	Jensen et al
ΟΣΣ (n=524-114), μέτρηση sRAGE στην οξεία φάση και 6 εβδομάδες μετά Follow up: 1 έτος – 2,5 έτη	↑	-↑sRAGE στην οξεία φάση συσχετίστηκαν με α. ↓LVEF στο 1 έτος και β. ↑MACE – HF στα 2,5 έτη ανεξάρτητα από κλασσικούς δείκτες-παράγοντες κινδύνου -↑sRAGE στις 6 εβδομάδες συσχετίστηκαν με μικρότερο κίνδυνο για υποτροπιάζοντα ΟΣΣ στα 2,5 έτη	Larsen et al

ΣΝ: στεφανιαία νόσος, KAN: καρδιαγγειακή νόσος, ΟΣΣ: οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, ΣΔ: σακχαρώδης διαβήτης, PAD: peripheral artery disease, STEMI: ST elevation myocardial infarction, LVEF: left ventricular ejection fraction, HF: heart failure, MACE: major adverse cardiovascular events.

Επομένως, με βάση τα παραπάνω φαίνεται ότι τα sRAGE, τόσο από παθοφυσιολογικής άποψης όσο και από τα αντικρουόμενα δεδομένα των κλινικών μελετών, έχουν διπλό ρόλο: 1) δρουν ως δόλωμα για τους διάφορους προσδέτες των RAGE (S100, AGEs, HMGB-1) εμποδίζοντας τον φλεγμονώδη καταρράκτη συνδεόμενα μαζί τους στον ορό και αδρανοποιώντας τους, αλλά και 2) λειτουργούν ως ένας δείκτης αυξημένης ενεργοποίησης των RAGEs και κατά συνέπεια αυξημένου φλεγμονώδους ή γλυκαιμικού φορτίου, αφού, εκ φύσεως, το συντριπτικό ποσοστό των sRAGE παράγεται από πρωτεολυτικό κόψιμο των RAGE [260]. Συνεπώς, σε καταστάσεις που υπάρχουν AGEs και RAGEs σε αφθονία (π.χ. ΣΔ, ΟΣΣ, χρόνια νεφρική νόσος), υπάρχει άφθονο υπόστρωμα για την δράση των μεταλλοπρωτεϊνών (MMPs) και αυξημένη αντιρροπιστική παραγωγή sRAGE που προσπαθούν να εξισορροπήσουν, τουλάχιστον εν μέρει, την αύξηση ή τη δράση των AGEs και των άλλων φλεγμονωδών προσδετών των RAGEs σ' αυτούς τους ασθενείς. Αυτή η θεωρία υποστηρίχθηκε και από τους Yamagishi et al στη δημοσίευσή τους που ανέφεραν μια ανεξάρτητη από άλλους παράγοντες θετική συσχέτιση των sRAGE με τα AGEs [317], ενώ άλλοι ερευνητές αναφέρουν θετική συσχέτιση των sRAGE με κλασσικούς φλεγμονώδεις δείκτες [318, 319].

Αυτή η 'διπλή' παθοφυσιολογική σημασία των sRAGE φαίνεται να δυσχεραίνει και την χρήση τους ως βιοδείκτη. Επιπρόσθετα, ενώ τα χαμηλά επίπεδα των sRAGE έχουν προταθεί ως βιοδείκτης ποικίλων νοσημάτων [297, 301, 304, 320-322], αυξημένα επίπεδα αυτών - όπως αναφέρθηκε και παραπάνω - έχουν καταγραφεί σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 1 και 2 [307,311], καθώς και σε ασθενείς με νεφρική δυσλειτουργία [323], αντανακλώντας 1) την αυξημένη έκφραση των RAGEs στην κυτταρική μεμβράνη των ασθενών αυτών ως αποτέλεσμα της υπέρμετρης αύξησης των AGEs και 2) την αυξημένη ενεργοποίηση των MMPs στις παραπάνω καταστάσεις που οδηγεί στη συνέχεια σε αυξημένη πρωτεολυτική διάσπαση των RAGE. Από όλα τα παραπάνω προκύπτει ότι η κλινική σημασία των sRAGE ως βιοδείκτης διαφέρει σημαντικά ανάλογα με τα επίπεδα των κυκλοφορούντων AGEs, επομένως ο λόγος AGEs/sRAGE, παρά η καθεμία παράμετρος ξεχωριστά, φαίνεται να αποτελεί πιο ειδικό βιοδείκτη που αντανακλά την δράση του άξονα AGEs-RAGEs στους ανθρώπους [324]. Εξάλλου και στη δική μας μελέτη

καταγράφηκε θετική συσχέτιση μεταξύ AGEs και sRAGEs στην υποομάδα των ασθενών με ΣΔ, εύρημα που υπογραμμίζει τον σύμπλοκο παθοφυσιολογικό ρόλο των sRAGE που αναφέρθηκε παραπάνω αλλά και τις δυσκολίες που προκύπτουν στην προσπάθεια ερμηνείας των τιμών τους ξεχωριστά.

Λαμβάνοντας υπόψιν τα παραπάνω, θεωρούμε ότι το σημαντικότερο εύρημα της παρούσας μελέτης είναι η καταγραφή σημαντικής θετικής συσχέτισης του λόγου AGEs/sRAGE με την παρουσία αγγειογραφικά επιβεβαιωμένης ΣΝ, τόσο στο σύνολο των ασθενών όσο και στην υποομάδα των ασθενών χωρίς ΣΔ. Αξίζει μάλιστα να σημειωθεί ότι ακόμα και στην μικρότερη στατιστική ομάδα των διαβητικών ασθενών καταγράφηκαν υψηλότερες τιμές του λόγου αυτού στους στεφανιαίους ασθενείς που οριακά δεν έφτασαν το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (p value=0.05), γεγονός που ενισχύει την αξία του ρόλου του ως πιθανός προγνωστικός δείκτης ΣΝ. Ακόμα πιο σημαντικό στοιχείο είναι ότι στην ανάλυση παλινδρόμησης που ακολούθησε, η συσχέτιση αυτή του λόγου AGEs/sRAGE με την ΣΝ ήταν ανεξάρτητη και πάνω από καθιερωμένους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου όπως η ηλικία, το κάπνισμα, η αρτηριακή υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία και το οικογενειακό ιστορικό πρώιμης ΣΝ. Απ'όσο γνωρίζουμε, η μελέτη μας είναι η πρώτη στη διεθνή βιβλιογραφία που αξιολόγησε τα επίπεδα του λόγου AGEs/sRAGE σε ασυμπτωματικούς ασθενείς χωρίς γνωστό ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου και κατέγραψε τέτοια σημαντική και ανεξάρτητη συσχέτιση, ενώ τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με αναδυόμενες αναφορές που προτείνουν την χρήση του λόγου AGEs/sRAGE ως καθολικού προγνωστικού δείκτη των διαφόρων νοσημάτων, ανεξάρτητα από τα υψηλά ή χαμηλά επίπεδα των sRAGE που αυτά συνοδεύονται [325]. Με δεδομένο μάλιστα ότι και στη σημερινή εποχή η ανάγκη ανίχνευσης νέων βιοδεικτών της ΣΝ παραμένει πάντα επίκαιρη και σημαντική, πιστεύουμε ότι τα αποτελέσματα αυτά είναι ιδιαίτερα σημαντικά για την πιθανή ανάδειξη του λόγου AGEs/sRAGE ως ανεξάρτητου βιοδείκτη που αξίζει να αποτελέσει το αντικείμενο μελλοντικών ερευνητικών προσπαθειών με σκοπό την έγκαιρη και πρώιμη αναγνώριση των ασθενών με ΣΝ.

iii. S100B – S100A12

Οι πρωτεΐνες της ομάδας S100, συμπεριλαμβανομένης της S100B και της S100A12, ανήκουν επίσης στους φλεγμονώδεις προσδέτες των RAGE και αντιπροσωπεύουν ένα ξεχωριστό μεταβολικό μονοπάτι που προάγει την ανάπτυξη και την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης. Στη μελέτη των Cai et al με 882 ασθενείς, καταγράφηκαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα της S100B στην ομάδα των ασθενών με ΟΣΣ συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, ενώ σε πειραματικά μοντέλα της ίδιας μελέτης μετά από έμφραγμα, σημειώθηκε παράλληλη αύξηση των S100B και των RAGE στην εμφραγματική και περιεμφραγματική περιοχή, ενδεικτική της ενεργοποίησης του άξονα S100-RAGE, και επιπλέον η αύξηση αυτή ήταν ανάλογη του μεγέθους του εμφράγματος [312]. Επιπλέον, σε άλλες μελέτες των Tzouris et al με ζωικά μοντέλα μετά από έμφραγμα, η αλληλεπίδραση S100B-RAGE φάνηκε να παίζει σημαντικό ρόλο στην μετεμφραγματική αναδιαμόρφωση (remodeling) της αριστερής κοιλίας [326], καθώς και στην απόπτωση των μυοκαρδιακών κυττάρων [327].

Αντίστοιχα, υπάρχουν αρκετές μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία που έχουν αναδείξει τον ρόλο της πρωτεΐνης S100A12 ή αλλιώς EN-RAGE στις φλεγμονώδεις διεργασίες που διέπουν την αθηρωματική καρδιαγγειακή νόσο (**Πίνακας 11**). Αρχικά, στην μελέτη των Mahajan et al που αναφέρθηκε και νωρίτερα και συμπεριέλαβε 100 μη-διαβητικά άτομα με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη πρώιμη ΣΝ, καταγράφηκε σημαντικά αυξημένη έκφραση τόσο της S100A12 όσο και των RAGE σε μονοπύρηννα κύτταρα του περιφερικού αίματος (PBMCs) στην ομάδα των ασθενών με ΣΝ συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, αυξήσεις που παράλληλα συσχετίστηκαν θετικά με την σοβαρότητα της ΣΝ. Επιπλέον, η έκφραση της S100A12 εμφάνισε συσχέτιση θετική με την έκφραση των RAGE και την hs-CRP και αρνητική με τα επίπεδα των sRAGE στον ορό του αίματος [299]. Κατά παρόμοιο τρόπο, και σε πληθυσμό με ΣΔ τύπου 2 η S100A12 εμφάνισε θετική και ανεξάρτητη συσχέτιση τόσο με την παρουσία όσο και με τη βαρύτητα της ΣΝ [328], ενώ ακόμα μεγαλύτερη αύξηση της S100A12 καταγράφηκε σε ασθενείς με ΟΣΣ συγκριτικά τόσο με υγιείς όσο και με ασθενείς με σταθερή ΣΝ [329,330]. Μάλιστα στις δύο αυτές τελευταίες μελέτες, η S100A12 αναγνωρίστηκε ως πιθανός προγνωστικός δείκτης αστάθειας

των αθηρωματικών πλακών στο στεφανιαίο δίκτυο, καθώς τα επίπεδα της συσχετίστηκαν κατά τρόπο ανεξάρτητο με την εκδήλωση ΟΣΣ [329], αλλά και με την ανίχνευση αγγειογραφικά σύμπλοκων αθηρωματικών βλαβών αντίστοιχα [330]. Ο ρόλος της S100A12 στην παθοφυσιολογία της ΣΝ επιβεβαιώθηκε και σε πληθυσμιακές μελέτες παρακολούθησης, όπου η S100A12 αναγνωρίστηκε ως ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης μείζονων καρδιαγγειακών συμβαμάτων τόσο σε ασθενείς με σταθερή ΣΝ [331], όσο και σε ασθενείς μετά από οξύ στεφανιαίο σύνδρομο [316]. Στο πλαίσιο αυτό, ιδιαίτερα ενδιαφέροντα ευρήματα προέκυψαν από τη μελέτη των Ligthart et al σε πληθυσμιακή ομάδα 839 ατόμων χωρίς προηγούμενο ιστορικό ΣΝ και μέση διάρκεια παρακολούθησης 10,6 έτη, όπου τα υψηλά επίπεδα της S100A12 αναδείχθηκαν ως ο ισχυρότερος προγνωστικός δείκτης μελλοντικής εμφάνισης ΣΝ, ανάμεσα σε 16 συνολικά μετρημένους δείκτες φλεγμονής, και μάλιστα ανεξάρτητα από καθιερωμένους παράγοντες κινδύνου [332].

Τα αποτελέσματα της δικής μας έρευνας είναι σε συμφωνία με τις προαναφερθείσες μελέτες, καθώς τα επίπεδα τόσο της S100B όσο και της S100A12 εμφανίζονται σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα των ασθενών με ΣΝ συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, επιβεβαιώνοντας τον ξεχωριστό ρόλο των πρωτεϊνών της ομάδας S100 στις φλεγμονώδεις διεργασίες που περιβάλλουν τη ΣΝ. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι στην υποομάδα των μη-διαβητικών ασθενών, στην οποία επικεντρώθηκε κατά κύριο λόγο το ενδιαφέρον της μελέτης μας, δεν καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα των S100 πρωτεϊνών μεταξύ των ασθενών με και χωρίς ΣΝ. Από την άλλη μεριά, η θετική συσχέτιση που καταγράφηκε στην υποομάδα αυτή μεταξύ AGEs, sRAGE και S100A8/A9 είναι ενδεικτική της αλληλεπίδρασης των πρωτεϊνών S100 με τον άξονα AGEs-RAGEs.

Πίνακας 11. Συνοπτικά οι κυριότερες μελέτες που ερεύνησαν την συσχέτιση των S100A12 με την αθηρωματική καρδιαγγειακή νόσο

Ασθενείς	Κύρια ευρήματα	Συγγραφέας
- Μη-διαβητικοί με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ (n=100), - ομάδα ελέγχου (n=40)	- ↑ έκφραση S100A12-RAGE στα PBMCs στη ΣΝ - θετική συσχέτιση της S100A12 με 1) τη βαρύτητα της ΣΝ και 2) τους RAGE - αρνητική συσχέτιση S100A12 με sRAGE	Mahajan et al
- Διαβητικοί τύπου 2 με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ (n=85), - ομάδα ελέγχου (n=103)	θετική / ανεξάρτητη συσχέτιση S100A12 με την παρουσία και τη βαρύτητα της ΣΝ	Zhao et al
ΟΣΣ(n=30), σταθερή ΣΝ (n=30) ομάδα ελέγχου(n=30)	-↑ S100A12 σε ΟΣΣ vs σταθερή ΣΝ-ομάδα ελέγχου - θετική/ ανεξάρτητη συσχέτιση S100A12 με ΟΣΣ	Buyukterzi et al
ΟΣΣ(n=138), σταθερή ΣΝ (n=102) ομάδα ελέγχου (n=68)	-↑ S100A12 σε ΟΣΣ vs σταθερή ΣΝ -↑ S100A12 σε σταθερή ΣΝ vs ομάδα ελέγχου -θετική/ ανεξάρτητη συσχέτιση S100A12 με σύμπλοκη ΣΝ	Liu et al
Σταθερή ΣΝ (n=652) Follow up: 973±673 ημέρες	-↑ S100A12 αποτελούν σημαντικό προγνωστικό δείκτη για μείζονα καρδιαγγειακά συμβάματα - θετική συσχέτιση S100A12 με hs-CRP	Saito et al
ΟΣΣ (n=524) Follow up: 2,5 έτη	-↑ S100A12 στην οξεία φάση αποτελούν σημαντικό προγνωστικό δείκτη για μείζονα καρδιαγγειακά συμβάματα ανεξάρτητα από κλασσικούς παράγοντες κινδύνου	Larsen et al
Ασθενείς χωρίς ιστορικό ΣΝ (n=839) μέτρηση 16 δεικτών φλεγμονής Follow up: 10,6 έτη	Τα ↑ S100A12 αποτελούν τον ισχυρότερο προγνωστικό δείκτη, ανάμεσα στους 16 συνολικά, για μελλοντική εμφάνιση ΣΝ, ανεξάρτητα από καθιερωμένους παράγοντες κινδύνου	Ligthart et al

ΣΝ: στεφανιαία νόσος, ΟΣΣ: οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, hs-CRP: high sensitive-CRP, PBMCs : peripheral blood mononuclear cells.

iv. DJ-1

Το οξειδωτικό stress, δηλαδή η ρήξη της ισορροπίας μεταξύ των προοξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών ουσιών του κυττάρου, που χαρακτηρίζεται κατά κύριο λόγο από αυξημένη παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS) και οξειδωμένων μορίων LDL (Ox-LDL), παίζει κεντρικό ρόλο στην παθοφυσιολογία όλων των σταδίων της αθηρογένεσης με τελική κατάληξη το σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας. Η πρωτεΐνη DJ-1 αποτελεί ένα μόριο με πολλαπλές λειτουργίες, η έκφραση της οποίας επάγεται υπό συνθήκες αυξημένου οξειδωτικού φορτίου. Η αντιοξειδωτική δράση της DJ-1 μπορεί να διεκπεραιωθεί τόσο με την απευθείας συλλογή ROS, όσο και με την ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων που μετέχουν σε αντιοξειδωτικά μονοπάτια,

κυρίως μέσω του Nrf2 ο οποίος είναι ένας κεντρικός μεταγραφικός παράγοντας στην οργάνωση των αντιοξειδωτικών γονιδίων και στη διατήρηση της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας του κυττάρου [284].

Τα τελευταία χρόνια μέρος της ερευνητικής προσπάθειας επικεντρώνεται στις δράσεις της DJ-1 στο καρδιαγγειακό σύστημα. Πειραματικά μοντέλα έδειξαν ότι η DJ-1 όχι μόνο προστατεύει από το οξειδωτικό stress [333], αλλά επιπλέον συμμετέχει στην πρώιμη και όψιμη ισχαιμική προετοιμασία του μυοκαρδίου πριν από ένα μείζον ισχαιμικό επεισόδιο [334-336]. Επίσης ποντίκια που στερούνταν DJ-1 εμφάνισαν μεγαλύτερη υπερτροφία και ίνωση του μυοκαρδίου μετά από υπερφόρτιση πίεσης [337]. Μάλιστα, είναι αξιοσημείωτο ότι δεν παρατηρούνται διαφορές στα μυοκαρδιακά κύτταρα με ή χωρίς DJ-1 υπό φυσιολογικές συνθήκες, γεγονός που υπογραμμίζει την συμβολή της DJ-1 στην αντίσταση των κυττάρων στο stress. Επιπλέον, δύο μικρές μελέτες ως τώρα έχουν μετρήσει τα επίπεδα της DJ-1 στο ανθρώπινο μυοκάρδιο. Στην πρώτη, οι ερευνητές διαπίστωσαν χαμηλά επίπεδα DJ-1 στο μυοκάρδιο ασθενών με τελικού σταδίου καρδιακή ανεπάρκεια σε σχέση με το μυοκάρδιο της υγιούς ομάδας ελέγχου [333], ενώ παρόμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν πρόσφατα και από τους ερευνητές της δεύτερης μελέτης [338]. Στην τελευταία μάλιστα, τα χαμηλά επίπεδα της DJ-1 συσχετίστηκαν με υψηλά επίπεδα AGE και RAGE, αναδεικνύοντας επιπλέον τον προστατευτικό ρόλο της DJ-1 έναντι του γλυκαιμικού stress - που εκφράζεται από αυξημένη συγκέντρωση των AGE και ενεργοποίηση των RAGE- και των δυσμενών επιδράσεων αυτού στο μυοκάρδιο. Επιπρόσθετα, η ερευνητική μας ομάδα έχει αναφέρει αυξημένα επίπεδα DJ-1 σε συνδυασμό με μειωμένα επίπεδα του λόγου AGEs/sRAGE σε μη-διαβητικούς ασθενείς με στεφανιαία νόσο μετά από αορτοστεφανιαία παράκαμψη σε σχέση με τα επίπεδα αυτών πριν την επέμβαση, υπονοώντας την συμμετοχή της DJ-1 στη μετεγχειρητική βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας και φυσιολογίας [339].

Στην παρούσα μελέτη, προσδιορίστηκαν για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία τα επίπεδα της πρωτεΐνης DJ-1 στον ορό ασθενών με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ και καταγράφηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των χαμηλών επιπέδων αυτής και της παρουσίας ΣΝ σε πληθυσμιακή ομάδα ασθενών χωρίς σακχαρώδη διαβήτη. Με βάση τα αποτελέσματα αυτά και λαμβάνοντας υπόψιν τον κεντρικό ρόλο της DJ-1 στην διατήρηση της ομοιόστασης των κυττάρων έναντι του οξειδωτικού stress, πιστεύουμε ότι η πρωτεΐνη DJ-1 θα μπορούσε να

αποτελέσει έναν πολλά υποσχόμενο βιοδείκτη οξειδωτικού stress για την έγκαιρη αναγνώριση ασθενών με ΣΝ, θεωρία που φυσικά χρήζει επιβεβαίωσης σε περισσότερες και μεγαλύτερες μελέτες.

Επεκτείνοντας τη θεώρησή μας, δεν θα ήταν παράλογο να σκεφτούμε ότι τα αποτελέσματά μας θα μπορούσαν επιπλέον να ανοίξουν νέους ορίζοντες στην αντιμετώπιση της αθηρωματικής καρδιαγγειακής νόσου. Το οξειδωτικό stress, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, κατέχει σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία των καρδιαγγειακών νοσημάτων, μεταξύ αυτών και στην καρδιακή ανεπάρκεια. Μετά από ενθαρρυντικά δεδομένα από τη βασική έρευνα, σχεδιάστηκαν αρκετές μελέτες που προσπάθησαν φαρμακευτικά να βελτιώσουν δείκτες οξειδωτικού stress όπως η γλουταθειόνη, η δισμουτάση του υπεροξειδίου, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και άλλοι. Δυστυχώς όμως καμία από αυτές δεν κατάφερε να βελτιώσει την πρόγνωση των ασθενών [340]. Επειδή όμως, από παθοφυσιολογικής σκοπιάς, το σκεπτικό ότι η βελτίωση του οξειδωτικού stress μπορεί να βελτιώσει την πρόγνωση των ασθενών εξακολουθεί να ευσταθεί, η έρευνα για την ανεύρεση του ιδανικού τρόπου βελτίωσης των οξειδωτικών παραμέτρων συνεχίζεται, με το ενδιαφέρον να στρέφεται στην βελτίωση της ενδογενούς αντιοξειδωτικής δυνατότητας και της ενδογενούς παραγωγής αντιοξειδωτικών. Μπορούμε λοιπόν να υποθέσουμε, με βάση και τα δικά μας αποτελέσματα των μειωμένων επιπέδων DJ-1 στη ΣΝ, ότι η DJ-1 με τις καρδιοπροστατευτικές της ιδιότητες θα μπορούσε να είναι ένας μελλοντικός θεραπευτικός στόχος για τη βελτίωση του οξειδωτικού stress στα καρδιαγγειακά νοσήματα. Πριν αυτή η υπόθεση επιβεβαιωθεί θα πρέπει να απαντηθούν μια σειρά από ερωτήματα όπως η συσχέτιση των επιπέδων της DJ-1 στο αίμα και τον καρδιακό ιστό, καθώς και η in vivo επιβεβαίωση των in vitro θετικών επιδράσεων της DJ-1 στην καρδιακή λειτουργία.

8. Πλεονεκτήματα – περιορισμοί – προτάσεις

Ένα από τα βασικά πλεονεκτήματα της μελέτης μας είναι η ίδια η επιλογή των βιοδεικτών που μελετήθηκαν. Οι προσδέτες των RAGE (AGEs, S100B, S100A12) και τα sRAGE είναι νεότεροι φλεγμονώδεις δείκτες πιθανόν πιο ευαίσθητοι από τους κλασσικούς δείκτες (CRP, IL-6, TNFα) που έχουν χρησιμοποιηθεί στις περισσότερες μελέτες που ερεύνησαν τη σχέση φλεγμονής και ΣΝ. Μάλιστα, σε αντίθεση με την πλειοψηφία των έως τώρα εργασιών που μελέτησαν ξεχωριστά τη συσχέτιση των AGEs και των sRAGE με τη ΣΝ, στη δική μας μελέτη μετρήσαμε ταυτόχρονα τα επίπεδα των AGEs και sRAGE και καταγράψαμε για πρώτη φορά στη διεθνή βιβλιογραφία τον λόγο τους AGEs/sRAGE σε ασυμπτωματικούς κατά βάση ασθενείς με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ συγκριτικά με παρόμοιας ηλικίας πληθυσμό με στεφανιαία αγγεία χωρίς κριτικές στενώσεις, αναδεικνύοντας επιπλέον για πρώτη φορά σημαντική και ανεξάρτητη συσχέτιση του λόγου αυτού με τη ΣΝ. Παράλληλα, η πρωτεΐνη DJ-1 είναι μια σχετικά πρόσφατα ανακαλυφθείσα πρωτεΐνη με προστατευτικές δράσεις έναντι του οξειδωτικού stress, της οποίας ο ρόλος στην καρδιακή παθοφυσιολογία μόλις τα τελευταία χρόνια ερευνάται και η μελέτη μας είναι η πρώτη που έδειξε συσχέτιση των επιπέδων της στο πλάσμα με την παρουσία ΣΝ σε ασθενείς χωρίς σακχαρώδη διαβήτη. Επιπρόσθετα, αξίζει να σημειωθεί ότι οι παραπάνω βιοδείκτες κυκλοφορούν σε αφθονία στο ανθρώπινο πλάσμα και η συγκέντρωσή τους προσδιορίζεται εύκολα με τα κατάλληλα διαθέσιμα αντιδραστήρια ELISA με αποδεκτό κόστος.

Πιθανοί περιορισμοί της μελέτης μας είναι ο σχετικά μικρός αριθμός των ατόμων που συμμετείχαν καθώς και όλοι οι περιορισμοί που συνοδεύουν κάθε μελέτη παρατήρησης, καθώς εκτιμήσαμε συσχέτιση και όχι αιτιώδη συνάφεια. Έτσι λοιπόν, ενώ τα επίπεδα ορού των υπό μελέτη δεικτών φλεγμονής και οξειδωτικού stress προβλέπουν τη παρουσία ΣΝ, αυτό από μόνο του δεν είναι αρκετό για να υποστηρίξουμε πιθανό αιτιολογικό ρόλο στην παθογένεια της ΣΝ. Επιπλέον, η παρουσία διαφόρων συννοσηροτήτων σε πληθυσμιακή ομάδα με ΣΝ και η

αντίστοιχη χρήση διαφορετικών φαρμάκων προσθέτει έναν επιπλέον περιορισμό στην ερμηνεία των παραπάνω αποτελεσμάτων.

Πιστεύουμε ότι η μελέτη μας μπορεί να αποτελέσει μια βάση για την περαιτέρω έρευνα των παραπάνω νεότερων δεικτών φλεγμονής και οξειδωτικού stress και την προγνωστική τους αξία στα καρδιαγγειακά νοσήματα. Ο λόγος AGEs/sRAGE, σύμφωνα και με την βιβλιογραφία των τελευταίων ετών, αποτυπώνει πληρέστερα την παθοφυσιολογική σημασία και δράση του άξονα AGE - RAGE στον άνθρωπο και μπορεί να αποτελέσει έναν αξιόπιστο προγνωστικό δείκτη νοσημάτων, καθώς η χρήση του καταργεί τους περιορισμούς και τις δυσκολίες που συνοδεύουν την ερμηνεία των sRAGE ως ανεξάρτητη παράμετρος λόγω του διπλού τους ρόλου που αναφέρθηκε παραπάνω. Επιπλέον, οι S100B και S100A12 μπορούν να αποτελέσουν ευαίσθητους προφλεγμονώδεις δείκτες, ανιχνεύοντας μικρές αλλά σημαντικές μεταβολές της φλεγμονώδους κατάστασης, αντικαθιστώντας ή λειτουργώντας συμπληρωματικά με τον πλέον χρησιμοποιημένο δείκτη που είναι η CRP. Όσον αφορά την πρωτεΐνη DJ-1, είναι ένας πολλά υποσχόμενος αντιοξειδωτικός δείκτης. Ο ρόλος της στην καρδιακή παθοφυσιολογία στον άνθρωπο είχε αναδειχθεί ως τώρα σε πολύ μικρές μελέτες που μέτρησαν τα επίπεδα της στον καρδιακό ιστό. Θα πρέπει αρχικά να ερευνηθεί σε μελλοντικές εργασίες η σχέση των επιπέδων της DJ-1 στο πλάσμα και στον καρδιακό ιστό και κατόπιν να επιβεβαιωθεί η θετική επίδραση των αυξημένων επιπέδων της DJ-1 in vivo. Με αυτές τις προϋποθέσεις και υπό το πρίσμα των αποτελεσμάτων της μελέτης μας, θα μπορούσε να διερευνηθεί περαιτέρω η αύξηση των επιπέδων της DJ-1 ως πιθανό μέτρο πρόληψης ή ακόμα και ως θεραπευτικός στόχος στην καρδιαγγειακή νόσο.

9. Συμπεράσματα

Η μελέτη μας με τα αποτελέσματα της επιβεβαίωσε ότι ο άξονας AGE – RAGE αποτελεί ένα σημαντικό αναδύομενο μεταγωγικό μονοπάτι που συνδέει την φλεγμονή με τη ΣΝ και έδειξε ότι ο λόγος AGEs/sRAGE θα μπορούσε να αποτελέσει έναν σύγχρονο προγνωστικό βιοδείκτη ΣΝ, ακόμα και σε ασυμπτωματικούς ασθενείς χωρίς γνωστό ιστορικό, ανεξάρτητα μάλιστα από τους καθιερωμένους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Επιπλέον, καταγράψαμε για πρώτη φορά μια άμεση συσχέτιση μεταξύ των χαμηλών επιπέδων ορού της αντιοξειδωτικής πρωτεΐνης DJ-1 με την παρουσία αγγειογραφικά επιβεβαιωμένης ΣΝ σε πληθυσμό χωρίς σακχαρώδη διαβήτη. Με δεδομένο ότι η φλεγμονή και το οξειδωτικό stress έχουν εξέχοντα ρόλο στην παθογένεια της ΣΝ, η έγκαιρη αναγνώριση προγνωστικών δεικτών πριν την εκδήλωση των μείζονων συμβαμάτων οφείλει να αποτελεί μέρος της διαστρωμάτωσης του συνολικού καρδιαγγειακού κινδύνου. Η παρούσα εργασία έχει το πλεονέκτημα να αποτελεί την πρώτη που καταγράφει τέτοιες σημαντικές συσχετίσεις, επομένως είναι αναγκαία η διεξαγωγή μεγαλύτερων τυχαιοποιημένων-προοπτικών μελετών για επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων μας και επέκταση τους στην κλινική πράξη.

10. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Υπάρχουσα γνώση και σκοπός: Οι RAGE με τους προσδέτες τους AGEs και τις πρωτεΐνες της ομάδας S100 αποτελούν σημαντικούς μεσολαβητές της φλεγμονής και του οξειδωτικού stress, ενώ η εκκρινόμενη ισομορφή των RAGE (sRAGE) δρώντας ως 'δόλωμα' και η αντιοξειδωτική πρωτεΐνη DJ-1/PARK7 εμφανίζουν αντιαθηρωματικές δράσεις. Στην παρούσα μελέτη εξετάσαμε εάν τα sRAGE και οι προσδέτες τους AGEs, S100A8/A9, S100B και S100A12 καθώς και η πρωτεΐνη DJ-1 σχετίζονται με την παρουσία αγγειογραφικά επιβεβαιωμένης στεφανιαίας νόσου (ΣΝ) σε ασυμπτωματικούς ασθενείς με και χωρίς σακχαρώδη διαβήτη.

Μέθοδοι και αποτελέσματα: Τα επίπεδα των RAGE προσδετών, των sRAGE και της DJ-1 υπολογίστηκαν στο πλάσμα 50 ασθενών με αγγειογραφικά επιβεβαιωμένη ΣΝ και 50 'υγιών' ατόμων παρόμοιας ηλικίας με στεφανιαία αγγεία χωρίς κριτικές στενώσεις που αποτέλεσαν και την ομάδα ελέγχου. Στο συνολικό στατιστικό δείγμα, τα μειωμένα επίπεδα των sRAGE και τα αυξημένα επίπεδα της ιντερλευκίνης-6 (IL-6), S100B, S100A12 καθώς και του λόγου AGEs/sRAGE συσχετίστηκαν με την παρουσία ΣΝ. Στην υποομάδα των ασθενών χωρίς σακχαρώδη διαβήτη (n=72), τα μειωμένα επίπεδα των sRAGE και της DJ-1 και τα αυξημένα επίπεδα της IL-6 και του λόγου AGEs/sRAGE συσχετίστηκαν με την παρουσία ΣΝ. Στην πολλαπλή (multivariable) ανάλυση παλινδρόμησης που ακολούθησε, ο λόγος AGEs/sRAGE αναδείχθηκε ως ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης της ΣΝ τόσο στο συνολικό στατιστικό δείγμα ($p=0.034$, OR=1.247, [95%CI: 1.024, 1.0519]) όσο και στην υποομάδα των ασθενών χωρίς σακχαρώδη διαβήτη ($p=0.021$, OR=1.363, 95%CI [1.048, 1.771]), πάνω από τους καθιερωμένους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου.

Συμπέρασμα: Οι μεταβολές της συγκέντρωσης στο πλάσμα των φλεγμονωδών μεσολαβητών του άξονα των RAGE συνδέονται με την αθηροσκλήρωση και τα αυξημένα επίπεδα του λόγου AGEs/sRAGE εμφανίζουν ανεξάρτητη συσχέτιση με την παρουσία ΣΝ σε ασυμπτωματικούς ασθενείς και ως εκ τούτου θα μπορούσαν να αποτελέσουν έναν νέο βιοδείκτη με στόχο την πρόβλεψη της ΣΝ. Επιπλέον, η πρωτεΐνη DJ-1 αναδύεται ως υποσχόμενος

βιοδείκτης οξειδωτικού stress σε στεφανιαίους ασθενείς χωρίς σακχαρώδη διαβήτη, εύρημα που αξίζει περαιτέρω έρευνας.

11. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

Background and aims: The multi-ligand receptor for advanced glycation end products (RAGE) and its ligands AGEs and S100/calgranulin proteins are important mediators of inflammation and oxidative stress whereas the soluble form of RAGE (sRAGE) by acting as a decoy and the antioxidant PARK7/DJ-1 exert antiatherogenic effects. We examined whether sRAGE and its ligands AGEs, S100A8/A9, S100B, S100A12 and DJ-1 are associated with the presence of angiographic coronary artery disease (CAD) in asymptomatic patients with and without diabetes.

Methods and results: Plasma levels of RAGE ligands, sRAGE and DJ-1 were determined in 50 patients with angiographically proven CAD and in 50 age-matched healthy controls. In the whole cohort, lower levels of sRAGE and higher levels of interleukin-6 (IL-6), the RAGE ligands S100B, S100A12 and the AGEs/sRAGE ratio were associated with CAD. In patients without diabetes (n=72), lower levels of sRAGE and DJ-1 and higher levels of IL-6 and AGEs/sRAGE ratio were associated with CAD. In multivariable analysis, AGEs/sRAGE ratio was an independent predictor of CAD both in the whole cohort (p= 0.034, OR=1.247, [95%CI: 1.024, 1.0519]) and in the subgroup of patients without diabetes (p=0.021, OR=1.363, 95%CI [1.048, 1.771]) on top of established cardiovascular risk factors.

Conclusion: Alterations in plasma RAGE axis inflammatory mediators are associated with atherosclerosis, and higher levels of AGEs/sRAGE ratio are independently associated with CAD in asymptomatic patients and may act as a novel biomarker for predicting CAD. DJ-1 emerges as promising marker of oxidative stress in CAD patients without diabetes, a finding that deserves further study

VI. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] Dawber TR, Kannel WB. The Framingham study. An epidemiological approach to coronary heart disease. *Circulation*. 1966;34:553-555.
- [2] Dzau VJ, Antman EM, Black HR, et al. The cardiovascular disease continuum validated: clinical evidence of improved patient outcomes: part II: Clinical trial evidence (acute coronary syndromes through renal disease) and future directions. *Circulation*. 2006;114:2871-2891.
- [3] Dzau VJ, Antman EM, Black HR, et al. The cardiovascular disease continuum validated: clinical evidence of improved patient outcomes: part I: Pathophysiology and clinical trial evidence (risk factors through stable coronary artery disease). *Circulation*. 2006;114:2850-2870.
- [4] Lefkowitz RJ, Willerson JT. Prospects for cardiovascular research. *JAMA*. 2001;285:581-587.
- [5] Vaduganathan M, Mensah G, Turco J, et al. The Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk. *J Am Coll Cardiol*. 2022;80(25):2361–2371.
- [6] Towfighi A, Zheng L, Ovbiagele B. Sex-specific trends in midlife coronary heart disease risk and prevalence. *Arch Intern Med*. 2009;169:1762-6.
- [7] Daly CA, Clemens F, Sendon JL, et al. The clinical characteristics and investigations planned in patients with stable angina presenting to cardiologists in Europe: from the Euro Heart Survey of Stable Angina. *Eur Heart J*. 2005;26:996-1010.
- [8] Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, et al. Heart disease and stroke statistics--2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2009;119:480-486.
- [9] Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, et al. Heart disease and stroke statistics--2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2009;119:e21-181.
- [10] Lloyd-Jones DM, Hong Y, Labarthe D, et al. Defining and setting national goals for cardiovascular health promotion and disease reduction: the American Heart Association's strategic Impact Goal through 2020 and beyond. *Circulation*. 2010;121:586-613.
- [11] Health, United States, 2009: with special feature on medical technology. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics, 2010. F38.
- [12] European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2019. *European Heart Journal*. 2020;41:12-85.
- [13] Heidenreich PA, Trogon JG, Khavjou OA, et al. Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States: a policy statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2011;123:933-944.

- [14] Nabel EG, Braunwald E. A tale of coronary artery disease and myocardial infarction. *The New England journal of medicine*. 2012;366:54-63.
- [15] Briffa T, Nedkoff L, Peeters A, et al. Discordant age and sex-specific trends in the incidence of a first coronary heart disease event in Western Australia from 1996 to 2007. *Heart*. 2011;97:400-404.
- [16] Vaartjes I, O'Flaherty M, Grobbee DE, et al. Coronary heart disease mortality trends in the Netherlands 1972-2007. *Heart*. 2011;97:569-573.
- [17] Schmidt M, Jacobsen JB, Lash TL, et al. 25 year trends in first time hospitalisation for acute myocardial infarction, subsequent short and long term mortality, and the prognostic impact of sex and comorbidity: a Danish nationwide cohort study. *BMJ*. 2012;344:e356.
- [18] Smolina K, Wright FL, Rayner M, Goldacre MJ. Determinants of the decline in mortality from acute myocardial infarction in England between 2002 and 2010: linked national database study. *BMJ*. 2012;344:d8059
- [19] Gaziano TA, Bitton A, Anand S, et al. Growing epidemic of coronary heart disease in low- and middle-income countries. *Current Problems in Cardiology*. 2010;35:72-115.
- [20] Κατσαβοχρήστος Κ και συν. Ελλην Καρδιολ Επιθ 1977
- [21] Κριτσίκης Σ και συν. Αρχεία Ιατρ Εταιρ 1981
- [22] Chimonas ET. The treatment of coronary heart disease: an update. Part 2: Mortality trends and main causes of death in the Greek population. *Current medical research and opinion*. 2001;17:27-33.
- [23] Κουρλαμπά Γ. Επιδημιολογία οξέος στεφανιαίου συνδρόμου σε δείγμα Ελληνικού πληθυσμού. Διπλωματική Διατριβή, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
- [24] Papathanasiou AI, Pappas KD, Korantzopoulos P, et al. An epidemiologic study of acute coronary syndromes in northwestern Greece. *Angiology*. 2004;55(2):187-94.
- [25] Panagiotakos DB, Georgousopoulou EN, Pitsavos C, Chrysohoou C, Metaxa V, Georgiopoulos GA, et al. Ten-year (2002–2012) cardiovascular disease incidence and all-cause mortality, in urban Greek population: The ATTICA Study. *Int J Cardiol*. 2015;180:178–84.
- [26] Steiner I, Laco J. Rokitansky on atherosclerosis. *Cesk Patol*. 2008;44:23-24.
- [27] Rokitansky C. Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie. 3 umgearbeitete Aufl, Bd I Braumuller und Seidet Wien. Εις Arteriosclerosis Just H, Hort W, Zeicher (eds), Springer-Verlag, New York 1994.
- [28] Virchow R. Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre. Aufl. Hirschwald, Berlin. Εις Arteriosclerosis Just H, Hort W, Zeicher (eds), Springer-Verlag, New York 1994.
- [29] Mayerl C, Lukasser M, Sedivy R, Niederegger H, Seiler R, Wick G. Atherosclerosis research from past to present--on the track of two pathologists with opposing views, Carl von Rokitansky and Rudolf Virchow. *Virchows Arch*. 2006;449:96-103.

- [30] Frothingham C. The relation between acute infectious diseases and arterial lesions. *Arch Intern Med.* 1911;8:153-162.
- [31] Ophuls W. Arteriosclerosis and cardiovascular disease: their relation to infectious diseases. *JAMA.* 1921;76:700-701.
- [32] Fabricant CG, Fabricant J, Litrenta MM, Minick CR. Virus-induced atherosclerosis. *J Exp Med.* 1978;148:335-340.
- [33] Buja LM. Does Atherosclerosis Have an Infectious Etiology? *Circulation.* 1996;94:872-873.
- [34] Rosenfeld ME, Campbell LA. Pathogens and atherosclerosis. Update on the potential contribution of multiple infectious organisms to the pathogenesis of atherosclerosis. *Thromb Haemost.* 2011;106: 858–867.
- [35] Libby P, Egan D, Skarlatos S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation.* 1997;96:4095-103.
- [36] Benditt EP, Benditt JM. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1973;70:1753-1756.
- [37] Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science.* 1973;180:1332-1339.
- [38] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis--an update. *N Engl J Med.* 1986;314:488-500.
- [39] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature.* 1993; 362:801 – 809.
- [40] Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340:115–126.
- [41] Hansson GK, Jonasson L, Seifert PS, Stemme S. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arteriosclerosis.* 1989;9:567-578.
- [42] Steinberg D. Antioxidants and atherosclerosis. A current assessment. *Circulation.* 1991; 84:1420-1425.
- [43] Wood D. Established and emerging cardiovascular risk factors. *Am Heart J.* 2001;141:49-57.
- [44] Wang JC, Bennett M. Aging and atherosclerosis: mechanisms, functional consequences, and potential therapeutics for cellular senescence. *Circulation research.* 2012;111:245-259.
- [45] Virmani R, Avolio AP, Mergner WJ, et al. Effect of aging on aortic morphology in populations with high and low prevalence of hypertension and atherosclerosis. Comparison between occidental and Chinese communities. *The American journal of pathology.* 1991; 139:1119-1129.
- [46] O'Rourke MF, Hashimoto J. Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. *Journal of the American College of Cardiology.* 2007;50:1-13.
- [47] Ziemann S, Kass D. Advanced glycation end product cross-linking: pathophysiologic role and therapeutic target in cardiovascular disease. *Congestive heart failure.* 2004;10:144-149; quiz 150-141.

- [48] Astrand H, Stalhand J, Karlsson J, et al. In vivo estimation of the contribution of elastin and collagen to the mechanical properties in the human abdominal aorta: effect of age and sex. *Journal of applied physiology*. 2011;110:176-187.
- [49] Franklin SS, Gustin Wt, Wong ND, et al. Hemodynamic patterns of age-related changes in blood pressure. The Framingham Heart Study. *Circulation*. 1997;96:308-315.
- [50] Hochman JS, Tamis JE, Thompson TD, et al. Sex, clinical presentation, and outcome in patients with acute coronary syndromes. Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries in Acute Coronary Syndromes IIb Investigators. *The New England journal of medicine*. 1999;341:226-232.
- [51] Vaccarino V, Parsons L, Every NR, et al. Sex-based differences in early mortality after myocardial infarction. National Registry of Myocardial Infarction 2 Participants. *The New England journal of medicine*. 1999;341:217-225.
- [52] Maas AH, Appelman YE. Gender differences in coronary heart disease. *Netherlands heart journal : monthly journal of the Netherlands Society of Cardiology and the Netherlands Heart Foundation*. 2010;18:598-603.
- [53] Grundtvig M, Hagen TP, German M, Reikvam A. Sex-based differences in premature first myocardial infarction caused by smoking: twice as many years lost by women as by men. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*. 2009;16:174-179.
- [54] Prescott E, Hippe M, Schnohr P, et al. Smoking and risk of myocardial infarction in women and men: longitudinal population study. *BMJ*. 1998;316:1043-1047.
- [55] Assimes TL. Family history of heart disease: the re-emergence of a traditional risk factor. *Journal of the American College of Cardiology*. 2011;57:628-629.
- [56] Kannel WB, McGee D, Gordon T. A general cardiovascular risk profile: the Framingham Study. *The American journal of cardiology*. 1976;38:46-51.
- [57] National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection E, Treatment of High Blood Cholesterol in A. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002;106:3143-3421.
- [58] Fedder DO, Koro CE, L'Italien GJ. New National Cholesterol Education Program III guidelines for primary prevention lipid-lowering drug therapy: projected impact on the size, sex, and age distribution of the treatment-eligible population. *Circulation*. 2002;105:152-156.
- [59] Knuuti J., Wijns W et al. ESC Scientific Document Group 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *Eur. Heart J*. 2020;41:407–477.
- [60] Ockene IS, Miller NH. Cigarette smoking, cardiovascular disease, and stroke: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. American Heart Association Task Force on Risk Reduction. *Circulation*. 1997;96:3243-3247.

- [61] Muscat JE, Harris RE, Haley NJ, Wynder EL. Cigarette smoking and plasma cholesterol. *American heart journal*. 1991;121:141-147.
- [62] Hung J, Lam JY, Lacoste L, Letchacovski G. Cigarette smoking acutely increases platelet thrombus formation in patients with coronary artery disease taking aspirin. *Circulation*. 1995;92:2432-2436.
- [63] Campisi R, Czernin J, Schoder H, et al. Effects of long-term smoking on myocardial blood flow, coronary vasomotion, and vasodilator capacity. *Circulation*. 1998;98:119-125.
- [64] Fusegawa Y, Goto S, Handa S, et al. Platelet spontaneous aggregation in platelet-rich plasma is increased in habitual smokers. *Thrombosis research*. 1999;93:271-278.
- [65] Barnoya J, Glantz SA. Smoking, secondhand smoke and cardiovascular disease. In: Willerson JT, Cohn JN, Wellens HJ, Holmes DR, Editors. *Cardiovascular Medicine*. 3rd Ed. London: Springer-Verlag; 2007.P. 2649-64.
- [66] Jha P, Chaloupka Frank J. *Curbing the epidemic. Governments and the economics of tobacco control*. Washington, DC: World Bank;1999.
- [67] *Tobacco control: Country Profiles*. Atlanta, GA: American Cancer Society; 2000.
- [68] Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004;364:937-952.
- [69] Doughty M, Mehta R, Bruckman D, Das S, Karavite D, Tsai T, et al. Acute myocardial infarction in the young—The University of Michigan experience. *Am Heart J*. 2002;143:56–62.
- [70] Doyle JT, Dawber TR, Kannel WB, Heslin AS, Kahn HA. Cigarette smoking and coronary heart disease. Combined experience of the Albany and Framingham studies. *N Engl J Med*. 1988;266:796–801.
- [71] Eliasson M, Lundblad D, Hagg E. Cardiovascular risk factors in young snuff-users and cigarette smokers. *J Intern Med*. 1991;230:17–22.
- [72] Farley TM, Meirik O, Chang CL, Poulter NR. Combined oral contraceptives, smoking, and cardiovascular risk. *J Epidemiol Community Health*. 1998;52:775–85.
- [73] Andrikopoulos G, Pipilis A, Goudevenos J, et al. Epidemiological characteristics, management and early outcome of acute myocardial infarction in Greece: The Hellenic Infarction Observation Study (HELIOS). *Hellenic J Cardiol*. 2007;48:325-348.
- [74] Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA*. 1979;241:2035-2038.
- [75] Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular risk factors: the Framingham study. *Circulation*. 1979;59:8-13.
- [76] Pajunen P, Taskinen MR, Nieminen MS, Syvanne M. Angiographic severity and extent of coronary artery disease in patients with type 1 diabetes mellitus. *The American journal of cardiology*. 2000;86:1080-1085.

- [77] Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285:2486-2497.
- [78] Beckman JA, Geage IM A, Libby D. Diabetes and Atherosclerosis. *JAMA*. 2002;287:2570-2581.
- [79] Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. Diabetes, other risks, and 12-year cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care*. 1993;16:434-44.
- [80] Resnick HE, Shorr RI, Kuller L, et al. Prevalence and clinical implications of American Diabetes Association -defined diabetes and other categories of glucose dysregulation in other adults. *J Clin Epidemiol*. 2001;54:869-876.
- [81] Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, et al. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1998;339:229-234.
- [82] Booth GL, Kapral MK, Fung K, Tu JV. Relation between age and cardiovascular disease in men and women with diabetes compared with non-diabetic people: a population-based retrospective cohort study. *Lancet*. 2006;368: 29-36.
- [83] Wackers FJ, et al. Detection of silent myocardial ischemia in asymptomatic diabetic subjects: the DIAD study. *Diabetes Care*. 2004;27:1954–1961.
- [84] Park GM, et al. Coronary computed tomographic angiographic findings in asymptomatic patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 2014;113:765-71.
- [85] Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340:115–26.
- [86] Vijayakrishnan R, Kalyatanda G, Srinivasan I, Abraham GM. Compliance with the Adult Treatment Panel III guidelines for hyperlipidemia in a resident-run ambulatory clinic: a retrospective data analysis. *Journal of clinical lipidology*. 2013;7:43-47.
- [87] Dzau VJ, Antman EM, Black HR, et al. The cardiovascular disease continuum validated: clinical evidence of improved patient outcomes: part II: Clinical trial evidence (acute coronary syndromes through renal disease) and future directions. *Circulation*. 2006;114:2871-2891.
- [88] Dzau VJ, Antman EM, Black HR, et al. The cardiovascular disease continuum validated: clinical evidence of improved patient outcomes: part I: Pathophysiology and clinical trial evidence (risk factors through stable coronary artery disease). *Circulation*. 2006;114:2850-2870.
- [89] Law MR, Wald NJ, Thompson SG. By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? *Br Med J*. 1994; 308:367-372.
- [90] Capewell S, Hayes DK, Ford ES et al. Life-years gained among US adults from modern treatments and changes in the prevalence of 6 coronary heart disease risk factors between 1980 and 2000. *American journal of epidemiology*. 2009;170:229-236.

- [91] Mach F, et al. ESC Scientific Document Group. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J*. 2020;41:111–188
- [92] Wang N, et al. (2020). Intensive LDL cholesterol-lowering treatment beyond current recommendations for the prevention of major vascular events: a systematic review and meta-analysis of randomised trials including 327 037 participants. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2020;8(1):36–49.
- [93] Prospective Studies Collaboration, Lewington S, et al. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths. *Lancet*. 2007;370:1829-1839.
- [94] Emerging Risk Factors Collaboration, Di Angelantonio E, et al. Lipid-related markers and cardiovascular disease prediction. *JAMA*. 2012;307:2499-2506.
- [95] Lincoff AM, et al. ACCELERATE Investigators. Evacetrapib and cardiovascular outcomes in high-risk vascular disease. *N Engl J Med*. 2017;376:1933-1942.
- [96] HPS/TIMI/REVEAL Collaborative Group, Bowman L, Hopewell JC, Chen F, Wallendszus K, Stevens W, Collins R, Wiviott SD, Cannon CP, Braunwald E, Sammons E, Landray MJ. Effects of anacetrapib in patients with atherosclerotic vascular disease. *N Engl J Med*. 2017;377:1217-1227.
- [97] Schwartz GG, et al. dal-OUTCOMES Investigators. Effects of dalcetrapib in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med*. 2012;367:2089-2099.
- [98] Aim-High Investigators, Boden WE, Probstfield JL, Anderson T, Chaitman BR, Desvignes-Nickens P, Koprowicz K, McBride R, Teo K, Weintraub W. Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. *N Engl J Med*. 2011;365:2255-2267.
- [99] Group HTC, Landray MJ, Haynes R, Hopewell JC, Parish S, Aung T, Tomson J, Wallendszus K, Craig M, Jiang L, Collins R, Armitage J. Effects of extended-release niacin with laropiprant in high-risk patients. *N Engl J Med*. 2014;371:203-212.
- [100] Triglyceride Coronary Disease Genetics Consortium, Emerging Risk Factors Collaboration, Sarwar N, et al. Triglyceride-mediated pathways and coronary disease: collaborative analysis of 101 studies. *Lancet*. 2010;375:1634-1639.
- [101] Varbo A, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Jorgensen AB, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG. Remnant cholesterol as a causal risk factor for ischemic heart disease. *J Am Coll Cardiol*. 2013;61: 427436.
- [102] Lewis GF, Xiao C, Hegele RA. Hypertriglyceridemia in the genomic era: a new paradigm. *Endocr Rev*. 2015;36:131147.
- [103] NCD Risk Factor Collaboration. Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19.1 million participants. *Lancet*. 2017;389:37–55.

- [104] Chow CK, et al. PURE Study Investigators. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in rural and urban communities in high-, middle-, and low-income countries. *JAMA*. 2013;310:959–968.
- [105] Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005;365:217–223.
- [106] Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, Clement DL, Coca A, de Simone G, Dominiczak A, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management Of Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. *J.Hypertens*. 2018;36:1953–2041.
- [107] Rosendorff C. Hypertension and coronary artery disease: a summary of the American Heart Association scientific statement. *Journal of clinical hypertension*. 2007;9:790-795.
- [108] Franklin SS, Larson MG, Khan SA, et al. Does the relation of blood pressure to coronary heart disease risk change with aging? The Framingham Heart Study. *Circulation*. 2001; 103:1245-1249.
- [109] Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, et al. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2002;360:1903-1913.
- [110] Chow CK, Teo KK, Rangarajan S, et al. PURE Study Investigators. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in rural and urban communities in high-, middle-, and low-income countries. *JAMA*. 2013;310:959–968.
- [111] Falaschetti E, Mindell J, Knott C, Poulter N. Hypertension management in England: a serial cross-sectional study from 1994 to 2011. *Lancet*. 2014;383:1912–1919.
- [112] Forouzanfar MH, Liu P, Roth GA, et al. Burden of hypertension and systolic blood pressure of at least 110 to 115 mm Hg, 1990-2015. *JAMA*. 2017;317:165–182.
- [113] Wilson PW, D'Agostino RB, Sullivan L, et al. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. *Arch Intern Med*. 2002;162:1867–72.
- [114] WHO. Prevention and management of the Global Epidemic of Obesity. Report of the WHO, Consultation on Obesity (Geneva, June 3-5, 1997) 1997.
- [115] Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, et al. American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005;112:2735–52.
- [116] Ades PA, Savage PD, Toth MJ, et al. High-calorie-expenditure exercise: a new approach to cardiac rehabilitation for overweight coronary patients. *Circulation*. 2009;119:2671–8.
- [117] McGill HC, McMahan CA, Herderick EE, et al. Obesity accelerates the progression of coronary atherosclerosis in young men. *Circulation*. 2002;105:2712-2718.

- [118] Katzel LI, Sorkin KD, Colman E, et al. Risk factors for exercise-induced silent myocardial ischemia in healthy volunteers. *The American journal of cardiology*. 1994;74:869-874.
- [119] Wienbergen H, Hambrecht R. Physical exercise and its effects on coronary artery disease. *Current opinion in pharmacology*. 2013;13:218-225.
- [120] De Beer VJ, Bender SB, Taverne YJ, et al. Exercise limits the production of endothelin in the coronary vasculature. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;300:H1950-1959.
- [121] Ekblom-Bak E, Hellenius ML, Ekblom O, et al. Independent associations of physical activity and cardiovascular fitness with cardiovascular risk in adults. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation: official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*. 2010;17:175-180.
- [122] Perk J, De Backer G, Gohlke H, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *European heart journal*. 2012;33:1635-1701.
- [123] Andersen LB, Riddoch C, Kriemler S, Hills AP. Physical activity and cardiovascular risk factors in children. *British journal of sports medicine*. 2011;45:871-876.
- [124] Boule NG, Haddad E, Kenny GP, et al. Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials. *JAMA*. 2001;286:1218-1227.
- [125] Kelley GA, Kelley KS, Franklin B. Aerobic exercise and lipids and lipoproteins in patients with cardiovascular disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of cardiopulmonary rehabilitation*. 2006;26:131-139.
- [126] Gielen S, Schuler G, Hambrecht R. Exercise training in coronary artery disease and coronary vasomotion. *Circulation*. 2001;103:E1-6.
- [127] Ornish D, Scherwitz LW, Billings JH, et al. Intensive lifestyle changes for reversal of coronary heart disease. *JAMA: the journal of the American Medical Association*. 1998;280:2001-2007.
- [128] Ornish D. Avoiding revascularization with lifestyle changes: The Multicenter Lifestyle Demonstration Project. *The American journal of cardiology*. 1998;82:72T-76T.
- [129] Gielen S, Schuler G, Adams V. Cardiovascular effects of exercise training: molecular mechanisms. *Circulation*. 2010;122:1221-1238.
- [130] Hambrecht R, Gielen S, Linke A, et al. Effects of exercise training on left ventricular function and peripheral resistance in patients with chronic heart failure: A randomized trial. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2000;283:3095-3101.

- [131] Murphy MH, Nevill AM, Murtagh EM, Holder RL. The effect of walking on fitness, fatness and resting blood pressure: a meta-analysis of randomised, controlled trials. *Preventive medicine*. 2007;44:377-385.
- [132] Hambrecht R, Walther C, Mobius-Winkler S, et al. Percutaneous coronary angioplasty compared with exercise training in patients with stable coronary artery disease: a randomized trial. *Circulation*. 2004;109:1371-1378.
- [133] Rolim NP, Medeiros A, Rosa KT, et al. Exercise training improves the net balance of cardiac Ca²⁺ handling protein expression in heart failure. *Physiological genomics*. 2007; 29:246-252.
- [134] Sampson UK, Fazio S, Linton MF. Residual cardiovascular risk despite optimal LDL cholesterol reduction with statins: the evidence, etiology, and therapeutic challenges. *Curr Atherosclerosis Rep*. 2012;14:1-10.
- [135] Gallone G, Baldetti L, Pagnesi M, et al. Medical therapy for long-term prevention of atherothrombosis following an acute coronary syndrome: JACC state-of-the-art review. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72:2886-2903.
- [136] Libby P. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *Am J Clin Nutr*. 2006; 83:456S-460S.
- [137] Lu Y, Zhou S, Dreyer RP, et al. Sex differences in inflammatory markers and health status among young adults with acute myocardial infarction: results from the VIRGO (variation in recovery: role of gender on outcomes of young acute myocardial infarction patients) study. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2017;10.
- [138] Ridker PM, Cannon CP, Morrow D, et al. CRP levels and outcomes after statin therapy – the PROVE IT-TIMI 22 study. *N Engl J Med*. 2005;352: 20-8.
- [139] Bohula EA, Giugliano RP, Cannon CP, et al. Achievement of dual low-density lipoprotein cholesterol and high-sensitivity C-reactive protein targets more frequent with the addition of ezetimibe to simvastatin and associated with better outcomes in IMPROVE-IT. *Circulation*. 2015;132:1224-1233.
- [140] Ridker PM, Morrow DA, Rose LM, et al. Relative efficacy of atorvastatin 80 mg and pravastatin 40 mg in achieving the dual goals of low-density lipoprotein cholesterol <70 mg/dl and C-reactive protein <2 mg/l: an analysis of the PROVE-IT TIMI-22 trial. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45:1644-1648.
- [141] Guedeney P, Claessen BE, Kalkman DN, et al. Residual inflammatory risk in patients with low LDL cholesterol levels undergoing percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73:2401-2409.
- [142] Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340:115-126.
- [143] Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*. 2000; 101:1767-1772.

- [144] Bermudez EA, Rifai N, Buring J, et al. Interrelationships among circulating interleukin-6, C-reactive protein, and traditional cardiovascular risk factors in women. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002;22:1668-1673.
- [145] Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, et al. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N Engl J Med.* 2001;344:1959-1965.
- [146] Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med.* 2008;359:2195-2207.
- [147] Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, et al. Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. *Lancet.* 2009;373:1175-1182.
- [148] Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *N Engl J Med.* 2017;377:1119-1131.
- [149] Tardif JC, Kouz S, Waters DD, et al. Efficacy and safety of low-dose colchicine after myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2019;381:2497-2505.
- [150] Symmons DP, Gabriel SE. Epidemiology of CVD in rheumatic disease, with focus on RA and SLE. *Nat Rev Rheumatol.* 2011;7(7):399-408.
- [151] Van Halm VP, Nurmohamed MT, Twisk JW et al. Disease-modifying antirheumatic drugs are associated with a reduced risk for cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: a case control study. *Arthritis Res Ther.* 2006;8:R 151
- [152] Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature.* 2008;454:428-435.
- [153] Libby P, Ridker PM. Novel inflammatory markers of coronary risk. *Circulation.* 1999;100: 1148-50.
- [154] Plutzky J. Inflammatory pathways in atherosclerosis and acute coronary syndromes. *Am J Cardiol.* 2001;88:10K-15K.
- [155] Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, Flavell R. Inflammasomes in health and disease. *Nature.* 2012;481-278-286
- [156] Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nature Immunol.* 2009;27:165- 197.
- [157] Duewell P, Kono H, Rayner KJ, Sirois CM, Vladimer G, Bauernfeind FG, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and are activated by cholesterol crystals. *Nature.* 2010;464:1357-1362.
- [158] Stienstra R, Tack CJ, Kanneganti T-D, Joosten LA, Netea MG. The inflammasome puts obesity in the danger zone. *Cell Metabolism.* 2012;15:10-18.
- [159] Mezzaroma E, Toldo S, Farkas D, Seropian IM, van Tassel BW, Salloum FN, et al. The inflammasome promotes adverse cardiac remodeling following acute myocardial infarction in the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108: 19725-30.

- [160] Papadimitraki ED, Boumpas DT. Inflammation and atherosclerosis. Introduction to translational cardiovascular research by D.V. Cokkinos (ed) 2015;p:217-238.
- [161] Hansson GH, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nature Immunol.* 2011;12:204- 212.
- [162] Yasuda T, Ishida T, Rader DJ. Update on the role of endothelial lipase in high density lipoprotein metabolism, reverse cholesterol transport and atherosclerosis. *Circ J.* 2010;74: 2263-2270.
- [163] Takahashi M. Role of NLRP3 Inflammasome in Cardiac Inflammation and Remodeling after Myocardial Infarction. *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* 2019;42(4):518–523.
- [164] Klatt P, Lamas S. Regulation of protein function by S-glutathiolation in response to oxidative and nitrosative stress. *Eur J Biochem.* 2000;267:4928–4944.
- [165] Kojoda G, Harrison DG. Interactions between NO and reactive oxygen species: Pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc Res.* 1999;43:562–567.
- [166] Touyz RM. Molecular and cellular mechanisms in vascular injury in hypertension: Role of angiotensin II: Editorial review. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2005;14:125–131.
- [167] Khan-Merchant N, Penumetcha M, Meilhac O, Parthasarathy S. Oxidized fatty acids promote atherosclerosis only in the presence of dietary cholesterol in low-density lipoprotein receptor knockout mice. *J Nutr.* 2002;132:3256–3262.
- [168] Vaya J, Aviram M, Mahmood S, et al. Selective distribution of oxysterols in atherosclerotic lesions and human plasma lipoproteins. *Free Radic Res.* 2001;34:485–497.
- [169] Aviram M, Hardak E, Vaya J, et al. Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation.* 2000;101:2510–2517.
- [170] Mackness B, Hunt R, Durrington PN, Mackness MI. Increased immunolocalization of paraoxonase, clusterin, and apolipoprotein A-I in the human artery wall with the progression of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:1233–1238.
- [171] Stadler N, Stanley N, Heeneman S, et al. Accumulation of zinc in human atherosclerotic lesions correlates with calcium levels but does not protect against protein oxidation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28:1024– 1030.
- [172] Aviram M, Maor I, Keidar S, et al. Lesioned low density lipoprotein in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient transgenic mice and in humans is oxidized and aggregated. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;216: 501–513.
- [173] Stocker R, Keaney JF. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev.* 2004;84:1381–1478.
- [174] Witztum JL, Horkko S. The role of oxidized LDL in atherogenesis: Immunological response and antiphospholipid antibodies. *Ann N Y Acad Sci.* 1997;811:88–99.

- [175] Guardiola F, Codony R, Addis PB, Rafecas M, Boatella J. Biological effects of oxysterols: current status. *Food Chem Toxicol.* 1996;34:193–211.
- [176] Skoczynska A. The role of lipids in atherogenesis. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*.2005; 59:346– 357.
- [177] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39:44– 84.
- [178] Libby P. History of discovery: Inflammation and atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology.* 2012;32:2045-2051.
- [179] Elaine W, Raines and Nicola Ferri. Thematic Review Series: The Immune System and Atherogenesis. Cytokines affecting endothelial and smooth muscle cells in vascular disease. *Journal of Lipid Research.* 2005;46:1081-1092.
- [180] Lind L. Circulating markers of inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2003; 169:203–214.
- [181] Fyfe AI, Rothenberg LS, DeBeer FC, Cantor RM, Rotter JI, Lusis AJ. Association between serum amyloid A proteins and coronary artery disease: evidence from two distinct arteriosclerotic process. *Circulation.* 1997;96:2914-2919.
- [182] Pfeffer MA, Sacks FM, Moyé LA, Brown L, Rouleau JL, Hartley LH, et al. Cholesterol and Recurrent Events: a secondary prevention trial for normolipidemic patients. CARE Investigators, *Am J Cardiol.* 1995;76:98C-106C
- [183] Luigi Giusto Spagnoli Bonanno E, Sangiorgi G, Mauriello A. Role of Inflammation in Atherosclerosis. *J Nucl Med.* 2007;48:1800–1815.
- [184] Ridker P.M., Buring J.E., Rifai N. Soluble P-Selectin and the Risk of Future Cardiovascular Events. *Circulation.* 2001;103:491–495.
- [185] Roldán V., Marín F., Lip G.Y., Blann A.D. Soluble E-selectin in cardiovascular disease and its risk factors. A review of the literature. *Thromb. Haemost.* 2003;90:1007–1020.
- [186] Bruemmer D, Riggers U, Holzmeister J, et al. Expression of CD40 in vascular smooth muscle cells and macrophages is associated with early development of human atherosclerotic lesions. *Am J Cardiol.* 2001;87:21-7.
- [187] Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, et al. Reduction of atherosclerosis in mice by inhibition of CD40 signaling. *Nature.* 1998;394:200-3.
- [188] Packard CJ, O'Reilly DSJ, Caslake MJ, McMahan AD, Ford I, Cooney J, MacPhee CH, Suckling KE, Krishna M, Wilkinson FE, Rumley A, Lowe GDO, Docherty G, Burczak JD. Lipoprotein-associated phospholipase a2 as an independent 130 predictor of coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2000;343:1148-1155.
- [189] Ferrante G, Nakano M, Prati F, Niccoli G, Mallus MT, Ramazzotti V, Montone RA, Kolodgie FD, Virmani R, Crea F. High levels of systemic myeloperoxidase are associated with coronary plaque erosion in patients with acute coronary syndromes: A clinicopathological study. *Circulation.* 2010;122:2505-2513.

- [190] Sawicki M, Sypniewska G, Kozinski M, Gruszka M, Krintus M, Obonska K, Pilaczynska-Cemel M, Kubica J. Diagnostic efficacy of myeloperoxidase for the detection of acute coronary syndromes. *European Journal of Clinical Investigation*. 2011;41:667-671.
- [191] Siegal LH, Ron Y. The acute phase response to inflammation. Immunology and Inflammation. Basic mechanisms and clinical consequences. *International Editions*. 1994;16:287-301.
- [192] Ridker PM, Everett BM. Letter by ridker and everett regarding article, "the inflammatory hypothesis: Any progress in risk stratification and therapeutic targets?" *Circulation*. 2007;115(20):e475; author reply e476.
- [193] Van der Meer I, de Maat MP, Bots ML, et al. Inflammatory mediators and cell adhesion molecules as indicators of severity of atherosclerosis: the Rotterdam Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:838-42.
- [194] Wang TJ, Larson MG, Levy D, et al. CRP is associated with subclinical epicardial coronary calcification in men and women: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2002;106:1189-91.
- [195] Burke AP, Tracy RP, Kolodgie F, et al. Elevated CRP values and atherosclerosis in sudden coronary death: association with different pathologies. *Circulation*. 2002;105:2019-23.
- [196] Zairis MN, Ambrose JA, Manousakis SJ, et al. The impact of plasma levels of CRP, Lpa and homocysteine on the long-term prognosis after successful coronary stenting: the Global Evaluation of New Events and Restenosis After Stent Implantation Study. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40:1375-82.
- [197] Kashiwagi M, Tanaka A, Kitabata H, et al. Relationship between coronary arterial remodeling, fibrous cap thickness and high-sensitivity c-reactive protein levels in patients with acute coronary syndrome. *Circ J*. 2009;73:1291-1295.
- [198] Tanaka A, Imanishi T, Kitabata H, et al. Distribution and frequency of thin-capped fibroatheromas and ruptured plaques in the entire culprit coronary artery in patients with acute coronary syndrome as determined by optical coherence tomography. *Am J Cardiol*. 2008;102:975-979.
- [199] Verma S, Wang CH, Li SH, et al. A self-fulfilling prophecy: CRP attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation*. 2002;106:91.
- [200] Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of CRP on human endothelial cells. *Circulation*. 2000;102:2165-8.
- [201] Szmítko PE, Wang CH, Weisel RD, et al. New markers of inflammation and endothelial cell activation – Part I. *Circulation*. 2003;108:1917-23.
- [202] Torzewski M, Rist C, Mortensen RF, et al. CRP in the arterial intima: role of CRP receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:2094-9.
- [203] Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. CRP-mediated LDL uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation*. 2001;103:11.

- [204] Wang CH, Li SH, Weisel RD, et al. CRP upregulates angiotensin type 1 receptors in vascular smooth muscle. *Circulation*. 2003;107:1783-9.
- [205] Calabro P, Willerson JT, Yeh ET. Inflammatory cytokines stimulated CRP production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation*. 2003;108:1930-2.
- [206] Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Generation of CRP and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol*. 2001;158:1039-51.
- [207] Kobayashi S, Inoue N, Ohashi Y, et al. Interaction of oxidative stress and inflammatory response in coronary plaque instability: important role of CRP. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:1398-1404.
- [208] Danenberg A. Increased thrombosis after arterial injury in human CRP transgenic mice. *Circulation*. 2003;108:512-5.
- [209] Nissen S, Tuzku M, Schoenhagen P, et al. Statin therapy, LDL cholesterol, CRP, and coronary artery disease – the REVERSAL study. *N Engl J Med*. 2005;352:29-38.
- [210] Aggawal B, Puri R, et al. Human cytokines: their role in disease and therapy. Cambridge, MA: Blackwell Science 1995
- [211] Montavi A. The interplay between primary and secondary cytokines. Cytokines involved in the regulation of monocyte recruitment. *Drugs*. 1997;97:15–2312.
- [212] Lotz M. Interleukin-6. *Cancer Invest*. 1993;11:732–742.
- [213] Ikeda U, Ito T, Shimada K. IL-6 and acute coronary syndromes. *Clin Cardiol*. 2001;24:701-4.
- [214] Ikeda U, Ikeda M, Oohara T, Oguchi A, Kamitani T, Tsuruya Y, et al. Interleukin-6 stimulates the growth of vascular cells in a PDGF dependent manner. *Am J Physiol*. 1991; 260:H1713–H1717.
- [215] Mendall MA, Patel P, Asante M, Ballam L, Morris J, Strachan DP, et al. Relation of serum cytokine concentrations to cardiovascular risk factors and coronary heart disease. *Heart*. 1997;78:273–277.
- [216] Amar J. Interleukin 6 is associated with subclinical atherosclerosis: a link with soluble intercellular adhesion molecule 1. *J Hypertens*. 2006;24:1083-1088.
- [217] Lindmark E, Diderholm E, Wallentin L, Siegbahn A. Relationship between interleukin 6 and mortality in patients with unstable coronary artery disease. *JAMA*. 2001;286:2107–2113.
- [218] Biasucci L, Liuzzo G, Fantuzzi G, Caligiuri G, Rebuffi A, Ginnetti F, et al. Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events. *Circulation*. 1999;99:2079–2084.
- [219] Pai JK, Pischon T, Ma J, et al. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N Engl J Med*. 2004;351:2599-610.
- [220] Herder C. Interleukin-6 in the prediction of primary cardiovascular events in diabetes patients: results from the ESTHER study. *Atherosclerosis*. 2011;216:244-247.

- [221] Tetsuji S. Interleukin-6 as an Independent Predictor of Future Cardiovascular Events in Patients with Type-2 Diabetes without Structural Heart Disease. *Clin Exp Cardiol*.2012;3:9.
- [222] Luevano - Contreras C., Chapman - Novakofski K. Dietary Advanced Glycation End Products and Aging. *Nutrients*. 2010;2(12):1247–1265.
- [223] Anderson MM, Heinecke JW. Production of N-ε- (carboxymethyl)lysine is impaired in mice deficient in NADPH oxidase: a role for phagocyte-derived oxidants in the formation of advanced glycation end products during inflammation. *Diabetes*. 2003;52:2137–2143.
- [224] Singh R, Barden A, Mori T., Beilin L. Advanced glycation end products: a review. *Diabetologia*. 2001;44:129-14.
- [225] Nicholl ID, Bucala R. Advanced glycation end products and cigarette smoking. *Cell Mol Biol*. 1998;44(7):1025-33.
- [226] Cerami C, Founds H, Nicholl I, Mitsuhashi T, Giordano D, Vanpatten S, Lee A, Al-Abed Y, Vlassara H, Bucala R, Cerami A. Tobacco smoke is a source of toxic reactive glycation products. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94(25):13915-20.
- [227] Cai W, Gao QD, Zhu L, Peppia M, He C, Vlassara H. Oxidative stress inducing carbonyl compounds from common foods: novel mediators of cellular dysfunction. *Mol Med*. 2002;8(7):337-46.
- [228] Uribarri J, Cai W, Sandu O, Peppia M, Goldberg T, Vlassara H. Diet Derived Advanced Glycation End Products Are Major Contributors to the Body's AGE Pool and Induce Inflammation in Healthy Subjects. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 2005;1043: 461–466.
- [229] Sebeková K, Somoza V. Dietary advanced glycation endproducts (AGEs) and their health effects. *PRO. Mol Nutr Food Res*. 2007;51(9):1079-84.
- [230] Kislinger T, Fu C, Huber B, et al. Nε -(carboxymethyl)- lysine adducts of proteins are ligands for receptor for advanced glycation end products that activate cell signalling pathways and modulate gene expression. *J Biol Chem*. 1999;274:31740-31749.
- [231] Ikeda K, Higashi T, Sano H, Jinnouchi Y, Yoshida M, Araki T, Ueda S, Horiuchi S. N (epsilon)-(carboxymethyl) lysine protein adduct is a major immunological epitope in proteins modified with advanced glycation end products of the Maillard reaction. *Biochemistry*. 1996; 35:8075 –8083.
- [232] Schleicher E, Wagner E, Nerlich A. Increased accumulation of glycoxidation product carboxymethyllysine in human tissues in diabetes and aging. *J Clin Invest*. 1997;99:457–68.
- [233] Berg TJ, Clausen JT, Torjesen PA, Jørgensen KD, Bangstad HJ, Hanssen KF. The Advanced Glycation End Product N-(carboxymethyl) lysine Is Increased in Serum from Children and Adolescents with Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 1998;21:1997–2002.
- [234] Gironès X, Guimerà A, Cruz-Sánchez C.Z, et al. N-ε-carboxymethyllysine in brain aging, diabetes mellitus, and Alzheimer's disease. *Free Radical Biology & Medicine*. 2004;36(10):1241 – 1247.

- [235] Brett J, Schmidt AM, Yan SD, Zou YS, Weidman E, Pinsky D, Nowygrad R, Neeper M, Przysiecki C, Shaw A, et al. Survey of the distribution of a newly characterized receptor for advanced glycation end products in tissues. *Am J Pathol.* 1993;143:1699–1712.
- [236] Demling N, Ehrhardt C, Kasper M, Laue M, Knels L, Rieber E. Promotion of cell adherence and spreading: a novel function of RAGE, the highly selective differentiation marker of human alveolar epithelial type I cells. *Cell and Tissue Research.* 2006;323:475-488.
- [237] Yan S, Ramasamy R, Schmidt A. Receptor for AGE (RAGE) and its ligands—cast into leading roles in diabetes and the inflammatory response. *Journal of Molecular Medicine.* 2009;87:235-247.
- [238] Chavakis T, Bierhaus A, Nawroth PP. RAGE (receptor for advanced glycation end products): a central player in the inflammatory response. *Microbes and Infection.* 2004; 6:1219–1225.
- [239] Vazzana N, Santilli F, Cuccurullo C, Davi G. Soluble forms of RAGE in internal medicine. *Intern Emerg Med.* 2009;4:389–401.
- [240] Sparvero LJ, Asafu-Adjei D, Kang R., et al. RAGE (Receptor for Advanced Glycation Endproducts), RAGE Ligands, and their role in Cancer and Inflammation. *Journal of Translational Medicine.* 2009;7:17.
- [241] Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M, Wendt T, Chavakis T, Arnold B, Stern DM, Nawroth PP. Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *J Mol Med (Berl).* 2005;83:876-886.
- [242] Yonekura H, Yamamoto Y, Sakurai S, et al. Novel splice variants of the receptor for advanced glycation end products expressed in human vascular endothelial cells and pericytes, and their putative roles in diabetes-induced vascular injury. *Biochem. J.* 2003;370:1097-1109.
- [243] Neeper M, Schmidt AM, Brett J, Yan SD, Wang F, Pan YC, Elliston K, Stern D, Shaw A. Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. *J Biol Chem.* 1992;267:14998- 15004.
- [244] Dattilo BM, Fritz G, Leclerc E, Vander Kooi CW, Heizmann CW, Chazi WJ. The Extracellular Region of the Receptor for Advanced Glycation End Products is Comprised of Two Independent Structural Units. *Biochemistry.* 2007;46(23):6957–6970.
- [245] Yan S, Ramasamy R, Schmidt AM. The RAGE Axis: A Fundamental Mechanism Signaling Danger to the Vulnerable Vasculature. *Circ Res.* 2010;106:842–853.
- [246] Schmidt AM, Sahagan B, Nelson RB, Selmer J, Rothlein R, Bell JM. The role of RAGE in amyloid-beta peptide-mediated pathology in Alzheimer's disease. *Curr Opin Investig Drugs.* 2009;10:672–680.
- [247] Rai V, Toure F, Chitayat S, Pei R, Song F, Li Q, Zhang J, Rosario R, Ramasamy R, Chazin WJ, Schmidt AM. Lysophosphatidic Acid Targets Vascular and Oncogenic Pathways via RAGE Signaling. *J Exp Med.* 2012;209:2339–2350.

- [248] Chuah YK, Basir R, Talib H, Tie TH, Nordin N. Receptor for advanced glycation end products and its involvement in inflammatory diseases. *Int J Inflam*. 2013;403-460.
- [249] Maillard-Lefebvre H, Boulanger E, Daroux M, Gaxatte C, Hudson B.I, Lambert M. Soluble receptor for advanced glycation end products: a new biomarker in diagnosis and prognosis of chronic inflammatory diseases. *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48:1190-1196.
- [250] Huttunen HJ, Fages C, Rauvala H. Receptor for advanced glycation end products (RAGE)-mediated neurite outgrowth and activation of NF-kappa B require the cytoplasmic domain of the receptor but different downstream signaling pathways. *J Biol Chem*. 1999;274:19919-19924.
- [251] Lander HM, Tauras JM, Ogiste JS, Hori O, Moss RA, Schmidt AM. Activation of the receptor for advanced glycation end products triggers a p21(ras)-dependent mitogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress. *J Biol Chem*. 1997;272:17810-17814.
- [252] Ishihara K, Tsutsumi K, Kawane S, Nakajima M, Kasaoka T. The receptor for advanced glycation end-products (RAGE) directly binds to ERK by a D-domain-like docking site. *FEBS Lett*. 2003;550:107-113.
- [253] Hudson BI, Kalea AZ, Del Mar Arriero M, Harja E, Boulanger E, D'Agati V, Schmidt AM. Interaction of the RAGE cytoplasmic domain with diaphanous-1 is required for ligand-stimulated cellular migration through activation of Rac1 and Cdc42. *J Biol Chem*. 2008; 283:34457-34468.
- [254] Wautier MP, Chappey O, Corda S, Stern DM, Schmidt AM, Wautier JL. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001;280:E685-E694.
- [255] Ahmed N. Advanced glycation end products—role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2005;67:3–21.
- [256] Bierhaus A, Schiekofler S, Schwaninger M, Andrassy M, Humpert P, Chen J, Hong M, Luther T, Henle T, Kloting I. Diabetes-associated sustained activation of the transcription factor nuclear factor- kappa B. *Diabetes*. 2001;50:2792- 2808.
- [257] Schmidt AM, Hori O, Chen JX, et al. Advanced glycation end products interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes. *J Clin Invest*. 1995;96(3):1395-403.
- [258] Xie J, Méndez JD, Méndez-Valenzuela V, Aguilar-Hernández MM. Cellular signaling of the receptor for advanced glycation end products (RAGE). *Cell Signal*. 2013;25(11):2185-97.
- [259] Katakami N, Matsuhisa M, Kaneto H, et.al. Decreased endogenous secretory advanced glycation end product receptor in type 1 diabetic patients: its possible association with diabetic vascular complications. *Diabetes Care*. 2005;28(11):2716-2721.
- [260] Schmidt AM. Soluble RAGEs - Prospects for treating & tracking metabolic and inflammatory disease. *Vascul Pharmacol*. 2015;72:1–8

- [261] Hudson BI, Carter AM, Harja E, Kalea AZ, Arriero M, Yang H, Grant PJ, Schmidt AM. Identification, classification, and expression of RAGE gene splice variants. *FASEB J.* 2008;22:1572–1580.
- [262] Cheng C, Tsuneyama K, Kominami R, Shinohara H, Sakurai S, Yonekura H, Watanabe T, Takano Y, Yamamoto H, Yamamoto Y. Expression profiling of endogenous secretory receptor for advanced glycation end products in human organs. *Modern Pathology.* 2005;18:1385–1396.
- [263] Zhang L., Bukulin M, Kojro E, Roth A, Metz VV, Fahrenholz F, Nawroth PP, Bierhaus A, Postina R. Receptor for advanced glycation end products is subjected to protein ectodomain shedding by metalloproteinases. *J Biol Chem.* 2008;283(51):35507-16.
- [264] Raucci A, Cugusi S, Antonelli A, Barabino SM, Monti L, Bierhaus A, Reiss K, Saftig P, Bianchi ME. A soluble form of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) is produced by proteolytic cleavage of the membrane-bound form by the sheddase A Disintegrin And Metalloprotease 10 (ADAM10). *FASEB J.* 2008;22:3716–3727.
- [265] Parkin E, Harris B. A disintegrin and metalloproteinase (ADAM)- mediated ectodomain shedding of ADAM10. *J Neurochem.* 2009;108:1464–1479.
- [266] Sakurai S, Yonekura H, Yamamoto Y, Watanabe T, Tanaka N, Li H, Rahman AK, Myint KM, Kim CH, Yamamoto H. The AGE-RAGE system and diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(8 Suppl 3): S259- S263.
- [267] Schäfer B., Heizmann C. The S100 family of EF-hand calcium-binding proteins: functions and pathology. *Trends Biochem Sci.* 1996;21:134-140.
- [268] Donato R. RAGE: a single receptor for several ligands and different cellular responses: the case of certain S100 proteins. *Curr Mol Med.* 2007;7:711–24.
- [269] Leclerc E, Fritz G, Vetter SW, Heizmann CW. Binding of S100 proteins to RAGE: an update. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1793:993–1007.
- [270] Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2001;33:637-668.
- [271] Tsoporis J., Marks A., Kahn H., Butany J., Liu P., O'Hanlon D., Parker T. S100 β inhibits α 1-adrenergic induction of the hypertrophic phenotype in cardiac myocytes. *J. Biol. Chem.* 1997;272:31915-31921.
- [272] Donato R, Sorci G, Riuzzi F, Arcuri C, Bianchi R, Brozzi F, Tubaro C, Giambanco I. S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal. Intracellular and extracellular roles of S100 proteins. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1793:1008–1022.
- [273] Bianchi ME. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol.* 2007;81:1-5.
- [274] Huttunen HJ, Kuja-Panula J, Sorci G, Agneletti AL, Donato R, Rauvala H. Coregulation of neurite outgrowth and cell survival by amphotericin and S100 proteins through receptor for advanced glycation end products (RAGE) activation. *J. Biol. Chem.* 2000;275: 40096–40105.

- [275] Vos PE, Jacobs B, Andriessen TM, et al. GFAP and S100B are biomarkers of traumatic brain injury: an observational cohort study. *Neurology*. 2010;75:1786–1793.
- [276] Reynolds MA, Kirchick HJ, Dahlen JR, Anderberg JM, McPherson PH, Nakamura KK, et al. Early biomarkers of stroke. *Clin Chem*. 2003;49:1733-1739.
- [277] Anderson RE, Hansson LO, Vaage J. Release of S100B during coronary artery bypass grafting is reduced by off-pump surgery. *Ann Thorac Surg*. 1999;67:1721– 1725.
- [278] Böttiger BW, Möbes S. Astroglial Protein S-100 Is an Early and Sensitive Marker of Hypoxic Brain Damage and Outcome After Cardiac Arrest in Humans. *Circulation*. 2001;103:2694-2698.
- [279] Pietzsch J, Hoppmann S. “Human S100A12: a novel keyplayer in inflammation?” *Amino Acids*. 2009;36(3):381–389.
- [280] Yang Z, Yan WX, Cai H et al. “S100A12 provokes mast cell activation: a potential amplification pathway in asthma and innate immunity,” *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2007;119(1):106–114.
- [281] Meijer, B., Geary, R. B. & Day, A. S. The role of S100A12 as a systemic marker of inflammation. *Int J Inflamm*. 2012;2012:907078.
- [282] Nagakubo D, Taira T, Kitaura H, Ikeda M, Tamai K, Iguchi-Arigo SMM, et al. DJ-1, a novel oncogene which transforms mouse NIH3T3 cells in cooperation with ras. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997;231(2):509–13.
- [283] Bonifati V, Rizzu P, Van Baren MJ, Schaap O, Breedveld GJ, Krieger E, et al. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science*. 2003;299(5604):256–9.
- [284] Tsoporis JN, Drosatos IA, Gupta S, Amatullah H, Izhar S, Dos Santos CC, et al. Cytoprotective mechanisms of dj-1: Implications in cardiac pathophysiology. *Molecules*. 2021;26(13):1–22.
- [285] Niu W, Liu Y, Qi Y, Wu Z, Zhu D, Jin W. Association of interleukin-6 circulating levels with coronary artery disease: a meta-analysis implementing mendelian randomization approach. *Int J Cardiol*. 2012;157:243–252.
- [286] Swerdlow DI, Holmes MV, Kuchenbaecker KB, Engmann JEL, Shah T, Sofat R, Guo Y, Chung C, Peasey A, Pfister R, et al. Interleukin-6 Receptor Mendelian Randomisation Analysis (IL6R MR) Consortium. The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomisation analysis. *Lancet*. 2012;379:1214–1224.
- [287] Sarwar N, Butterworth AS, Freitag DF, Gregson J, Willeit P, Gorman DN, Gao P, Saleheen D, Rendon A, Nelson CP, et al. IL6R Genetics Consortium Emerging Risk Factors Collaboration. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies. *Lancet*. 2012;379:1205–1213.

- [288] Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*. 2000;101:1767–1772.
- [289] Ridker PM, MacFadyen JG, Glynn RJ, Bradwin G, Hasan AA, Rifai N. Comparison of interleukin-6, C-reactive protein, and low-density lipoprotein cholesterol as biomarkers of residual risk in contemporary practice: a secondary analysis from the Cardiovascular Inflammation Reduction Trial. *Eur. Heart J*. 2020;41:2952-2961.
- [290] Ridker PM, Libby P, MacFadyen JG, et al. Modulation of the interleukin-6 signaling pathway and incidence rates of atherosclerotic events and all-cause mortality: Analyses from the Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes study (CANTOS). *Eur Heart J*. 2018;39:3499-3507.
- [291] Wautier MP, Chappey O, Corda S, Stern DM, Schmidt AM, Wautier JL. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001;280(05):E685–E694.
- [292] Basta G, Lazzerini G, Massaro M. Advanced glycation end products activate endothelium through signal-transduction receptor RAGE: a mechanism for amplification of inflammatory responses. *Circulation*. 2002;105(07):816–822.
- [293] Lu L, Pu L J, Zhang Q. Increased glycated albumin and decreased esRAGE levels are related to angiographic severity and extent of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2009;206(02):540–545.
- [294] Aso Y, Inukai T, Tayama K, Takemura Y. Serum concentrations of advanced glycation endproducts are associated with the development of atherosclerosis as well as diabetic microangiopathy in patients with type 2 diabetes. *Acta Diabetol*. 2000;37(02):87–92.
- [295] Kanauchi M, Tsujimoto N, Hashimoto T. Advanced glycation end products in nondiabetic patients with coronary artery disease. *Diabetes Care*. 2001;24(09):1620–1623.
- [296] Kiuchi K, Nejima J, Takano T, Ohta M, Hashimoto H. Increased serum concentrations of advanced glycation end products: a marker of coronary artery disease activity in type 2 diabetic patients. *Heart*. 2001;85(01):87–91.
- [297] Falcone C, Emanuele E, D'Angelo A. Plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end products and coronary artery disease in nondiabetic men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(05):1032–1037.
- [298] Falcone C, Bozzini S, Guasti L. Soluble RAGE plasma levels in patients with coronary artery disease and peripheral artery disease. *Scientific World Journal*. 2013;2013:584504.
- [299] Mahajan N, Malik N, Bahl A, Dhawan V. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) and its inflammatory ligand EN-RAGE in non-diabetic subjects with premature coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2009;207:597–602.

- [300] Yan XX, Lu L, Peng WH, Wang LJ, Zhang Q, Zhang RY, et al. Increased serum HMGB1 level is associated with coronary artery disease in nondiabetic and type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis*. 2009;205(2):544–8.
- [301] Lindsey J B, de Lemos J A, Cipollone F. Association between circulating soluble receptor for advanced glycation end products and atherosclerosis: observations from the Dallas Heart Study. *Diabetes Care*. 2009;32(07):1218–1220.
- [302] Basta G, Del Turco S, Navarra T, Mazzarisi A, Cocci F, Coceani M, Bianchi M, Schlueter M, Marraccini P. Inverse association between circulating levels of soluble receptor for advanced glycation end-products and coronary plaque burden. *J Atheroscler Thromb*. 2012;19:941–948.
- [303] Chiang K H, Huang P H, Huang S S, Wu T C, Chen J W, Lin S J. Plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end products are associated with endothelial function and predict cardiovascular events in nondiabetic patients. *Coron. Artery Dis*. 2009;20(04):267–273.
- [304] Selvin EM, Halushka MK, Rawlings AM, et al. sRAGE and risk of diabetes, cardiovascular disease and death. *Diabetes*. 2013;62:2116–2121.
- [305] Bucciarelli LG, Wendt T, Qu W, et al. RAGE blockade stabilizes established atherosclerosis in diabetic apolipoprotein E-null mice. *Circulation*. 2002;106:2827–2835.
- [306] Nin JW, Ferreira I, Schalkwijk CG, Prins MH, Chaturvedi N, Fuller JH, et al. Levels of soluble receptor for AGE are cross-sectionally associated with cardiovascular disease in type 1 diabetes, and this association is partially mediated by endothelial and renal dysfunction and by low-grade inflammation: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetologia*. 2009;52:705–714.
- [307] Nin JW, Jorsal A, Ferreira I, Schalkwijk CG, Prins MH, Parving HH, Tarnow L, Rossing P, Stehouwer CD. Higher plasma soluble Receptor for Advanced Glycation End Products (sRAGE) levels are associated with incident cardiovascular disease and all-cause mortality in type 1 diabetes: a 12-year follow-up study. *Diabetes*. 2010;59:2027–2032.
- [308] Thomas M.C, Söderlund J, Lehto M, et al. Soluble receptor for AGE (RAGE) is a novel independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2011;54:2669–2677.
- [309] Nakamura K et al. Elevation of soluble form of receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in diabetic subjects with coronary artery disease. *Diabetes Metab. Res. Rev*. 2006;10.1002/dmrr.690.
- [310] Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington P, et al. Total soluble and endogenous secretory receptor for advanced glycation end products as predictive biomarkers of coronary heart disease risk in patients with type 2 diabetes: an analysis from the CARDS trial. *Diabetes*. 2011;60:2379e85.
- [311] Fujisawa K, Katakami N, Kaneto H, Naka T, Takahara M, Sakamoto F, Irie Y, Miyashita K, Kubo F, Yasuda T, Matsuoka TA, Shimomura I. Circulating soluble RAGE as a predictive

- biomarker of cardiovascular event risk in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2013; 227:425–428.
- [312] Cai XY, Lu L, Wang YN, et al. Association of increased S100B, S100A6 and S100P in serum levels with acute coronary syndrome and also with the severity of myocardial infarction in cardiac tissue of rat models with ischemia-reperfusion injury. *Atherosclerosis*. 2011;217:536-542.
- [313] Park HJ, Baek JY, Shin WS, et al. Soluble receptor of advanced glycated endproducts is associated with plaque vulnerability in patients with acute myocardial infarction. *Circ J*. 2011;75(7):1685-90.
- [314] Raposeiras-Roubín S, Rodiño-Janeiro BK, Paradela-Dobarro B, Grigorian-Shamagian L, García-Acuña JM, Aguiar-Souto P, et al. Fluorescent Advanced Glycation End Products and Their Soluble Receptor: The Birth of New Plasmatic Biomarkers for Risk Stratification of Acute Coronary Syndrome. *PLoS One*. 2013; 8(9): e74302.
- [315] Jensen LJ, Lindberg S, Hoffmann S, et al. Dynamic changes in sRAGE levels and relationship with cardiac function in STEMI patients, *Clin. Biochem*. 2015;48(4-5):297–301.
- [316] Larsen HG, Yndigegn T, Marinkovic G, et al. "The soluble receptor for advanced glycation end-products (sRAGE) has a dual phase-dependent association with residual cardiovascular risk after an acute coronary event.". *Atherosclerosis*. 2019;287:16-23.
- [317] Yamagishi S, Adachi H, Nakamura K, Matsui T, et al. Positive association between serum levels of advanced glycation end products and the soluble form of receptor for advanced glycation end products in nondiabetic subjects. *Metabolism*. 2006 Sep;55(9):1227–31.
- [318] Yoshizaki A, Komura K, Iwata Y, Ogawa F, Hara T, Muroi E, et al. Clinical significance of serum HMGB-1 and sRAGE levels in systemic sclerosis: Association with disease severity. *J Clin Immunol*. 2009;29(2):180–9.
- [319] Nakamura K, Yamagishi Si, Adachi H, et al. Serum Levels of sRAGE, the Soluble Form of Receptor for Advanced Glycation End Products, Are Associated with Inflammatory Markers in Patients with Type 2 Diabetes. *Mol Med*. 2007;13:185–189.
- [320] Hudson BI, Moon YP, Kalea AZ, et al. Association of serum soluble receptor for advanced glycation end-products with subclinical cerebrovascular disease: the Northern Manhattan Study (NOMAS). *Atherosclerosis*. 2011;216:192–198.
- [321] Santilli F, Bucciarelli L, Noto D, et al. Decreased plasma soluble RAGE in patients with hypercholesterolemia: effects of statins. *Free Radic. Biol. Med*. 2007;43:1255–1262.
- [322] Geroldi D, Falcone C, Emanuele E, et al. Decreased plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end-products in patients with essential hypertension. *J. Hypertens*. 2005; 23:1725–1729.
- [323] Kalousová M, Hodková M, Kazderová M, et al. Soluble receptor for advanced glycation end products in patients with decreased renal function. *Am J Kidney Dis*. 2006;47:406–411.

- [324] Tahara N, Yamagishi S, Tahara A, et al. Adiponectin is inversely associated with ratio of serum levels of AGEs to sRAGE and vascular inflammation. *Int. J. Cardiol.* 2012;158:461–462.
- [325] Prasad K. Is there any evidence that AGE/sRAGE is a universal biomarker/risk marker for diseases? *Mol. Cell. Biochem.* 2019;451:139–144.
- [326] Tsoporis JN, Marks A, Haddad A, Dawood F, Liu PP, and Parker TG. S100B expression modulates left ventricular remodeling after myocardial infarction in mice. *Circulation.* 2005; 111:598–606.
- [327] Tsoporis JN, Izhar S, Leong-Poi H, Desjardins JF, Huttunen HJ, and Parker TG. S100B interaction with the receptor for advanced glycation end products (RAGE): a novel receptor-mediated mechanism for myocyte apoptosis postinfarction. *Circulation Research.* 2010; 106:93–101.
- [328] Zhao P, Wu M, Yu H, et al. Serum S100A12 Levels Are Correlated with the Presence and Severity of Coronary Artery Disease in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Investigative Medicine.* 2013;61(5):861-866.
- [329] Buyukterzi Z, Can U, Alpaydin S, et al. Enhanced S100A9 and S100A12 expression in acute coronary syndrome. *Biomark. Med.* 2017;11:229–237.
- [330] Liu J, Ren YG, Zhang LH, Tong YW, Kang L. Serum S100A12 concentrations are correlated with angiographic coronary lesion complexity in patients with coronary artery disease. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation.* 2014;74(2):149-154.
- [331] Saito T, Hojo Y, Ogoyama Y, et al. S100A12 as a marker to predict cardiovascular events in patients with chronic coronary artery disease. *Circ. J.* 2012;76:2647–2652.
- [332] Ligthart S, Sedaghat S, Ikram MA, et al. EN-RAGE: a novel inflammatory marker for incident coronary heart disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014;34:2695–2699.
- [333] Billia F, Hauck L, Grothe D, et al. Parkinson-susceptibility gene DJ-1/PARK7 protects the murine heart from oxidative damage in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013;110:6085–90.
- [334] Yan YF, Chen HP, Huang XS, et al. DJ-1 Mediates the Delayed Cardioprotection of Hypoxic Preconditioning Through Activation of Nrf2 and Subsequent Upregulation of Antioxidative Enzymes. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2015;66:148–58.
- [335] Wang H, Li YY, Qiu LY, Yan YF, Liao ZP, Chen HP. Involvement of DJ-1 in ischemic preconditioning-induced delayed cardioprotection in vivo. *Mol Med Rep.* 2017;15(2):995–1001.
- [336] Dongworth RK, Mukherjee UA, Hall AR, Astin R, Ong SB, Yao Z, et al. DJ-1 protects against cell death following acute cardiac ischemia reperfusion injury. *Cell Death Dis.* 2014;5(2):e1082-7.
- [337] Xue R, Jiang J, Dong B, et al. DJ-1 activates autophagy in the repression of cardiac hypertrophy. *Arch Biochem Biophys.* 2017; 633:124–132.
- [338] Shimizu Y, Nicholson CK, Polavarapu R, et al. Role of DJ-1 in modulating glycation stress in heart failure. *J Am Heart Assoc.* 2020;9(4).

[339] Tsirebolos G, Tsoporis JN, Rigopoulos A, et al. Decreased level of the soluble form of the receptor for advanced glycation end products is associated with increased risk for coronary artery disease in non-diabetic patients. *Circulation*. 2019;140:A16247.

[340] van der Pol A, van Gilst WH, Voors AA, van der Meer P. Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future. *Eur J Heart Fail*. 2019;21(4):425–35.

VII. Συντομογραφίες

ADAM-10	A Disintegrin And Metalloprotease-1
AGEs	Advanced glycation end products
BMI	Body mass index
CD36	Cluster of differentiation 36
CRP	C-reactive protein
DAMPs	Damage Associated Molecular Patterns
DNA	Deoxyribonucleic acid
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid
ERK 1/2	Extracellular signal-regulated kinase 1/2
HDL-C	High Density Lipoprotein cholesterol
HMGB-1	High Mobility Group Box-1
ICAM-1	Intracellular adhesion molecule-1
IDL	Intermediate Density Lipoproteins
IFN- γ	Interferon- γ
IL-1	Interleukin-1
IL-1a	Interleukin-1a
IL-1 β	Interleukin-1 β
IL-6	Interleukin -6
IL-10	Interleukin-10
IL-12	Interleukin-12
IL-18	Interleukin-18
Jak/STAT	Janus kinase/signal transducers and activators of transcription
JNK	c-Jun N-terminal kinase
LDL-C	Low Density Lipoprotein cholesterol
LPA	Lysophosphatidic acid
Lp-PLA2	Lipoprotein associated phospholipase A2
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase
MARCO	Macrophage receptor with collagenous structure
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein -1
MMP-9	Metalloproteinase-9
MPO	Myeloperoxidase
mRNA	messenger Ribonucleic Acid
NAD(P)H	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NF- κ B	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NO	Nitric Oxide
NLRs	Nod like receptors
NLRP3	Nucleotide-binding domain, leucine-rich-containing family, pyrin domain-containing-3
NT-proBNP	N-terminal pro-brain natriuretic peptide
OS	Oxidative stress
Ox-LDL	Oxidized low density lipoprotein
PBMCs	Peripheral blood mononuclear cells
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PI3K	Phosphoinositide 3-kinases
RAGE	Receptor for Advanced Glycation End Products
ROS	Reactive Oxygen Species
RANTES	Regulated upon Activation, Normal T Cell Expressed and Presumably Secreted
SR	Scavenger Receptors
sRAGE	Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products
TF	Tissue Factor

TG	Triglycerides
TLRs	Toll like receptors
TNF-a	Tumor necrosis factor – a
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule-1
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VLDL	Very Low Density Lipoproteins
ΗΚΓ	Ηλεκτροκαρδιογράφημα