Ελληνική Επιθεώρηση Αθηροσκλήρωσης 4(1):45–50

Η HDL ως μεταφορέας των microRNAs στο πλάσμα
Πιθανός παθοφυσιολογικός ρόλος

Α.Ι. Γατσιού,[1] K. Stellos,[2] Α.Δ. Τσελέπης[1]

[1]Ερευνητικό Κέντρο Αθηροθρόμβωσης, Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα,
[2]Vascular Inflammation Group, Institute for Cardiovascular Regeneration, Centre of Molecular Medicine & Centre of Internal Medicine, J.W. Goethe University Frankfurt am Main, Germany

ΠΕΡΙΛΗΨΗ: Τα microRNAs (miRNAs, miRs) είναι μικρά ριβονουκλεοτιδικά μόρια τα οποία ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση των mRNAs-στόχων τους. Η βιογένεσή τους ξεκινά στον πυρήνα και ολοκληρώνεται στο κυτταρόπλασμα με τη συνδρομή αρκετών ενζύμων ενώ για τη δράση τους απαιτείται ένα πολυπρωτεϊνικό σύμπλοκο (RISC). Φυσιολογικά, στο πλάσμα του αίματος τα miRs κυκλοφορούν είτε συνδεδεμένα σε φορείς, όπως τα κυτταρικά μικροσωματίδια ή οι λιποπρωτεΐνες, είτε σε σύμπλοκα με πρωτεΐνες (free circulating miRs). Πρόσφατα, βρέθηκε ότι πληθώρα miRs είναι συνδεδεμένα στη λιποπρωτεΐνη HDL του ανθρώπινου πλάσματος. Αν και ο ακριβής μηχανισμός που ενέχεται στην πρόσληψη των miRs από την HDL δεν είναι μέχρι στιγμής γνωστός, σημαντικό ρόλο στη συγκεκριμένη διαδικασία φαίνεται πως διαδραματίζει ο υποδοχέας ABCA1 και πιθανώς η φωσφατιδυλοχολίνη. Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι τα miRs μεταφέρονται από την HDL και αποδίδονται σε κύτταρα-δέκτες (όπως π.χ. τα ηπατοκύτταρα) καταστέλλοντας τη γονιδιακή έκφραση των mRNAs-στόχων τους και συνεπώς μεταβάλλουν τη λειτουργία των κυττάρων-δεκτών. Η διαδικασία αυτή επιτυχγάνεται διαμέσου του υποδοχέα εκκαθαριστή B1 (scavenger

Αλέξανδρος Τσελέπης, MD, PhD
Καθηγητής Βιοχημείας-Κλινικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 451 10 Ιωάννινα
Τηλ.: 26510-083 65, Fax.: 26510-087 85
e-mail: atselep@uoi.gr

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

Hellenic Journal of Atherosclerosis 4(1):45–50

HDL as a transporter of microRNAs in plasma
Potential pathophysiological role

A.I. Gatsiou,[1] K. Stellos,[2] A.D. Tselepis[1]

[1]Atherothrombosis Research Centre, Laboratory of Biochemistry, Department of Chemistry, University of Ioannina, Ioannina, Greece.
[2]Vascular Inflammation Group, Institute for Cardiovascular Regeneration, Centre of Molecular Medicine & Centre of Internal Medicine, J.W. Goethe University Frankfurt am Main, Germany

ABSTRACT: MicroRNAs (miRNAs, miRs) are small ribonucleic molecules which modulate the gene expression of their mRNA-targets. MiRNAs biogenesis initiates in the nucleus of the cell and is completed in the cytoplasm with the contribution of several enzymes. Binding of miRs into a multi-protein complex named RISC is required for their function. Circulating miRNAs are transported either bound in microparticles or as extracellular free molecules in complex with specific proteins. Recently, it has additionally been shown that an abundance of miRs array is bound on plasma HDL. However, the mechanism which mediates the uptake of miRs from HDL has not been elucidated yet. It has been shown though that ABCA1 receptor is important for the efflux of miRs to nascent HDL and that phosphatidylocholine may contribute to this process. Of interest, miRs are carried by HDL and delivered to recipient cells (e.g. hepatocytes) where miRs suppress the gene expression of their mRNAs-targets. As a result, miRs modulate the function of the recipient cells. This process is mediated by the scavenger receptor B1 (SRB1). Although, there are specific miRs detected exclusively or in higher concentrations in HDL from patients with familial hypercholesterolemia (FH), oth-

Alexandros Tselepis, MD, PhD
Professor of Biochemistry-Clinical Chemistry, Department of Chemistry, University of Ioannina, GR-451 10 Ioannina, Greece
Tel.: (+30) 26510-083 65, Fax.: (+30) 26510-087 85
e-mail: atselep@uoi.gr

receptor B1, SRB1). Από το πλήθος των miRs που έχουν περιγραφεί στην HDL, άλλα εντοπίζονται αποκλειστικά ή σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε άτομα με FH, ενώ άλλα miRs εντοπίζονται αποκλειστικά ή σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε υγιή άτομα. Τέλος οι συγκεντρώσεις ορισμένων miRs είναι παρόμοιες σε υγιή άτομα και σε άτομα με FH. Συνεπώς, εύλογα προκύπτει η υπόθεση πως τα miRs της HDL θα μπορούσαν να αποτελέσουν πιθανούς βιοδείκτες του πλάσματος και να συμβάλουν στην πρόγνωση/διάγνωση διαταραχών του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών και κατ' επέκταση των νοσημάτων του καρδιαγγειακού συστήματος.

Λέξεις ευρετηρίου: Αθηροσκλήρωση, καρδιαγγειακή νόσος, HDL, λιποπρωτεΐνες, miRNAs.

ers are shown to be signatures miRs of HDL from healthy subjects. There are also commonly expressed HDL-bound miRs in healthy subjects and FH. A possible prognostic/diagnostic role of HDL-bound miRs as plasma biomarkers for disorders of lipoprotein metabolism and further for cardiovascular disease appears to emerges.

Key words: Atherosclerosis, cardiovascular disease, HDL, lipoproteins, miRNAs.

1. Τι είναι τα microRNAs και πώς λειτουργούν;

Η πρώτη αναφορά για την ύπαρξη των microRNAs (miRNAs ή miRs) έγινε από τους Ambros V et al το 1993. Τα miRs είναι μικρά μόρια που αποτελούνται από 16–35 νουκλεοτίδια μη κωδικοποιημένου ριβονουκλεοτιδικού οξέος (RNA), τα οποία εντοπίζονται σε ευκαρυωτικά κύτταρα. Το πρόθεμα "miR" ακολουθείται από μία παύλα και έναν αριθμό ο οποίος υποδεικνύει συνήθως τη σειρά ονοματοδοσίας. Για παράδειγμα, το miR-126 ανακαλύφθηκε πριν το miR-424. Τα miRs λειτουργούν ως ρυθμιστικοί παράγοντες της γονιδιακής έκφρασης καθότι αλληλεπιδρούν με τα αγγελιαφόρα ριβονουκλεοτιδικά μόρια (messenger RNAs, mRNAs), σύμφωνα με την αρχή της συμπληρωματικότητας κατά Watson-Crick. Ανάλογα με το ποσοστό της συμπληρωματικότητας που διέπει κάθε αλληλεπίδραση miR με το mRNA-στόχο του, επάγεται είτε μεταφραστική καταστολή (ατελής συμπληρωματικότητα) είτε αποικοδόμηση του συγκεκριμένου mRNA (πλήρης συμπληρωματικότητα) αλλά αυτό δεν είναι απόλυτο. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μειώνεται αισθητά και να διατηρείται σε βασικά επίπεδα η έκφραση του mRNA-στόχου.[1,2] Συνεπώς, τα miRs ασκούν μια μετα-μεταγραφική ρύθμιση στη γονιδιακή έκφραση. Στο ανθρώπινο γονιδίωμα κωδικοποιούνται πάνω από 1000 miRs τα οποία στοχεύουν δυνητικά περίπου το 60% των γονιδίων σε πολλά είδη κυττάρων.[3,4]

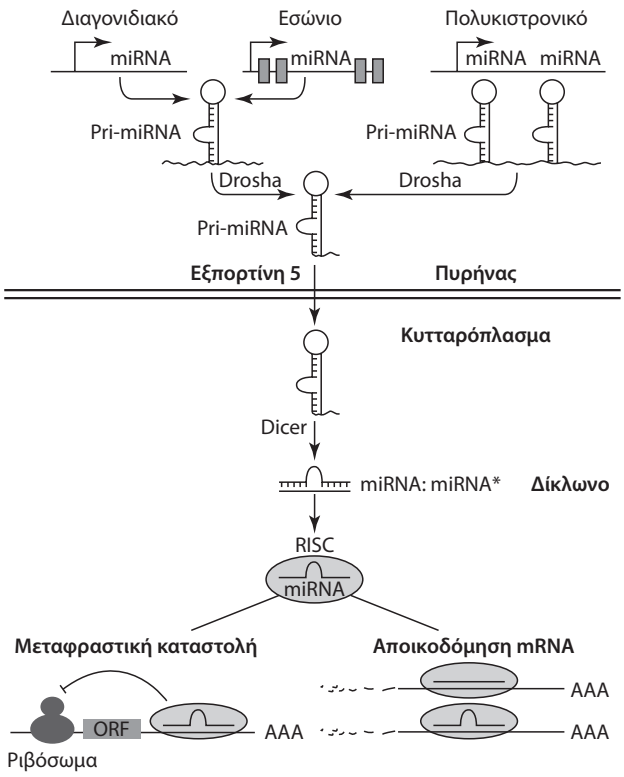
Η περιοχή αλληλεπίδρασης του ετεροδιμερούς miR: mRNA έχει έκταση 2–7 βάσεις στο 5΄ άκρο του miR (τη γνωστή και ως seed region). Το κάθε miR έχει τη δυνατότητα να αλληλεπιδρά με πολλές περιοχές που ανήκουν στο ίδιο ή σε διαφορετικά mRNAs.[5] Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι τα miRs στοχεύουν κυρίως περιοχές που εδράζονται στην 3΄ αμετάφραστη περιοχή (3΄ UTR) των διαφόρων mRNA-στόχων.[6]

2. Η δημιουργία των miRs

Η πλειονότητα των ταυτοποιημένων γονιδιακών περιοχών από τις οποίες προέρχονται τα miRs εντοπίζονται είτε σε διαγονιδιακές περιοχές (intergenic, περιοχές μεταξύ δύο γονιδίων) του DNA είτε σε εσώνια γονιδίων και μεταγράφονται ως ανεξάρτητες μονάδες. Παρόλ' αυτά, η μεταγραφή δύο miRs μπορεί να υπόκειται σε κοινό έλεγχο συνιστώντας μία πολυκιστρονική μονάδα[7,8] (σχήμα 1).

Τα γονίδια των miRNAs συνήθως μεταγράφονται από την RNA πολυμεράση II (Pol II).[8] Αρχικά, το κάθε miR μεταγράφεται ως μέρος ενός βραχίονα περίπου 80 νουκλεοτιδίων σε δομή στελέχους-βρόγχου (hairpin loop), που ονομάζεται πρωταρχικό miR (primary/pri-miRNA). Η δίκλωνη RNA δομή των βρόγχων σε ένα pri-miRNA αναγνωρίζεται από μια πυρηνική πρωτεΐνη γνωστή ως DiGeorge Syndrome Critical Region 8 (DGCR8), η οποία συνεργάζεται με το ένζυμο Drosha, μία ριβονουκλεάση, για τον σχηματισμό ενός συμπλόκου (Microprocessor complex).[9] Το σύμπλοκο αυτό αποκόπτει περίπου 11 νουκλεοτίδια από τη βάση του βρόγχου και η προκύπτουσα δομή miR ονομάζεται pre-miR (precursor miR). Τα pre-miRs μεταφέρονται έξω από τον πυρήνα με μία διαδικασία που εξαρτάται από την πυρηνική διαμεμβρανική πρωτεΐνη Εξπορτίνη 5 (Exportin- 5, Exp5).[10,11]

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης



Σχήμα 1. Βιογένεση των miRNAs (adapted by van Rooij E. *J Clin Invest* 2007).

Στο κυτταρόπλασμα, το κάθε pre-miR διασπάται από μία ενδοριβονουκλεάση III, την Dicer και παράγεται ένα ημισυμπληρωματικό miR:miR δίκλωνο μόριο μήκους περίπου 22 νουκλεοτιδίων.[12] Το ώριμο miR αποτελεί συστατικό ενός ενεργού πολυπρωτεϊνικού συμπλόκου, του RISC (RNA-induced silencing complex). Το σύμπλοκο αυτό περιέχει την Dicer και πολλές ακόμη πρωτεΐνες, όπως η Ago2.[13] Γενικά, μόνο ένας κλώνος ενσωματώνεται στο σύμπλοκο ενώ ο άλλος κλώνος αποικοδομείται [ο αστερίσκος (*) συμβολίζει τον υπο-εκφραζόμενο κλώνο].[14] Σπάνια και οι δύο κλώνοι διατηρούνται και γίνονται λειτουργικοί στοχεύοντας διαφορετικά mRNAs.[15]

2.1. Τα miRs του πλάσματος

Τα miRs αρχικά ανιχνεύθηκαν στο πλάσμα ενσωματωμένα σε σύμπλοκα πρωτεϊνών. Επίσης, κάποια miRs του πλάσματος κυκλοφορούν συνδεδεμένα σε μικρά εξωσώματα, τα μικροκυστίδια (ιδίως κυτταρικά μικροσωματίδια).[16–20] Πρόσφατα, μια πολύ ενδιαφέρουσα μελέτη απέδειξε ότι εντοπίζονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στην υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (HDL) του πλάσματος.[21]

2.2. miRs συνδεδεμένα με πρωτεΐνες

Στην κυκλοφορία του αίματος υπάρχουν ελεύθερα miRs που επιδεικνύουν εντυπωσιακή ανθεκτικότητα στα ένζυμα αποικοδόμησης ριβονουκλεοτιδίων (RNAάσες), τα οποία αφθονούν στο αίμα. Συνεπώς, η ανθεκτικότητα αυτών των miRs τα καθιστά ιδανικούς υποψήφιους για να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες σε διάφορες ασθένειες συμπεριλαμβανομένης και της καρδιαγγειακής νόσου.[17] Ενώ αρχικά η ανθεκτικότητά τους στις RNAάσες αποδόθηκε σε ένα ιδιαίτερο, ενδογενές χαρακτηριστικό αυτών των μορίων, νέες έρευνες που εστιάστηκαν στην εξέταση αυτού του φαινομένου, δοκίμασαν αυτούσια μόρια miRs σε περιβάλλον RNAασών τα οποία όμως αποικοδομήθηκαν αμέσως. Αντίθετα, miRNAs που κυκλοφορούν συνδεδεμένα με πρωτεΐνες όπως η Ago2, είναι ανθεκτικά στη δράση RNAασών και μπορούν να απομονωθούν από το πλάσμα.[19,20]

2.3. miRs συνδεδεμένα σε μικροκυστίδια και μικροσωματίδια των αιμοπεταλίων

Για πρώτη φορά ανιχνεύθηκαν στο πλάσμα miRs τα οποία εντοπίζονται στο εσωτερικό των μικροκυστιδίων από τους Valadi et al. Συγκεκριμένα, οι ερευνητές εντόπισαν περίπου 121 miRNAs σε μικροκυστίδια που απελευθερώνονται από κύτταρα τόσο στο πλάσμα του ανθρώπου όσο και στο πλάσμα του ποντικού.[22]

Τα μικροκυστίδια που απελευθερώνονται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, τα μικροσωματίδια (platelet microparticles, PMPs), εκπροσωπούν περίπου το 70% του συνόλου των μικροκυστιδίων στο αίμα.[18,23–25] Τα PMPs βρέθηκαν ότι περιέχουν miRs, χωρίς ωστόσο να έχει αποδειχθεί προς το παρόν ότι η απόδοσή τους σε κύτταρα-δέκτες επάγει τη ρύθμιση της έκφρασης κάποιων mRNAs-στόχων τους. Ενδέχεται όμως miRs που βρίσκονται σε μικρο-κυστίδια να προσλαμβάνονται από κύτταρα-δέκτες και να έχουν λειτουργική σημασία ρυθμίζοντας την έκφραση γονιδίων στα κύτταρα-δέκτες (μορφή δια-κυτταρικής επικοινωνίας). Για παράδειγμα, το αιμοπεταλιακό miR-126, το οποίο στρατολογεί κυκλοφορούντα πρόδρομα κύτταρα με στόχο την αναγέννηση του αγγειακού τοιχώματος, βρίσκεται εκφραζόμενο σε υψηλά επίπεδα στα PMPs και συνεπώς μπορούμε να υποθέσουμε πως η απόδοσή του από τα PMPs σε αγγειακά κύτταρα δύναται να ενισχύσει περαιτέρω τις διαδικασίες της φλεγμονής του αγγειακού τοιχώματος.[18]

Βέβαια, πέραν των miRs αιμοπεταλιακής προέλευσης, στα PMPs, ενδέχεται να υφίστανται και miRs που έχουν προέλθει από άλλα κύτταρα και έχουν προσληφθεί από τα αιμοπετάλια. Μελλοντικές έρευνες απαιτούνται

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

ώστε να αποσαφηνιστεί η προέλευση αυτών των miRs καθώς και ο ρόλος τους.

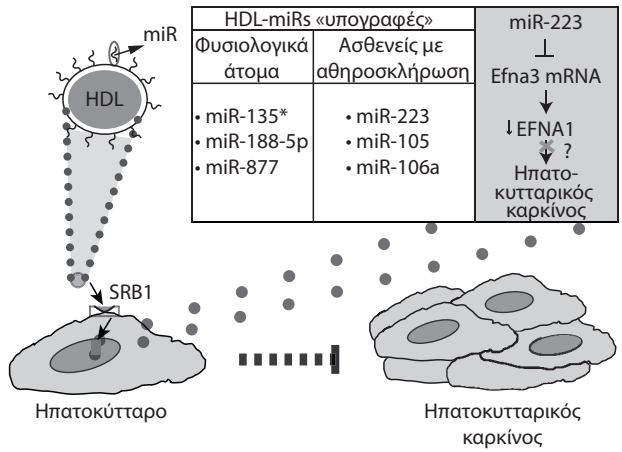
2.3.1. Οι λιποπρωτεΐνες του πλάσματος ως φορείς των miRNAs. Λιπίδια που εντοπίζονται στις λιποπρωτεΐνες, π.χ. η φωσφατιδυλοχολίνη, έχουν καταδειχθεί ότι σχηματίζουν σύμπλοκα με νουκλεϊνικά οξέα.[26] Για αυτόν τον λόγο, χρησιμοποιήθηκαν τα λιποσώματα ως φορείς για τη συστηματική και εξειδικευμένη μεταφορά μορίων small interfering RNA (siRNA) σε πειραματικά μοντέλα *in vivo*.[27] Τα λιποσώματα αυτά περιέχουν την απολιποπρωτεΐνη A-I (apoA-I) η οποία αποτελεί το κυριότερο πρωτεϊνικό συστατικό των HDL. Έτσι, οι Vickers et al οδηγήθηκαν στην εξαιρετικά ενδιαφέρουσα υπόθεση ότι η HDL του πλάσματος μπορεί να προσδένει και να μεταφέρει ενδογενή miRNAs.[21]

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις HDL-χοληστερόλης (>60 mg/dL) έχουν προστατευτική δράση έναντι της καρδιαγγειακής νόσου, ενώ χαμηλά επίπεδα της HDL-χοληστερόλης (<40 mg/dL για τους άνδρες και <50 mg/dL για τις γυναίκες) αυξάνουν τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Ο καρδιοπροστατευτικός ρόλος των HDL οφείλεται στην αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης καθώς και σε αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές, αντιαποπτωτικές και αντιθρομβωτικές δράσεις της.[28]

Με διαδοχικές υπερφυγοκεντρήσεις, οι Vickers et al απομόνωσαν υψηλής καθαρότητας κλάσματα HDL από το πλάσμα ατόμων.[21] Στη συνέχεια, απομόνωσαν το ολικό RNA από την HDL και ταυτοποίησαν την παρουσία μικρού μήκους RNAs τα οποία ήταν miRs. Επίσης, απέδειξαν πως η HDL έχει την ικανότητα να προσλαμβάνει miRs τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* αποτελώντας όντως έναν σημαντικό φορέα των miRs στο πλάσμα. Στα πλαίσια αυτά, διερευνήθηκε ο ρόλος του υποδοχέα ABCA1 στη μεταφορά των miRs από τα κύτταρα στην HDL. Ο συγκεκριμένος υποδοχέας διαμεσολαβεί την πρόσληψη της χοληστερόλης (όπως και των φωσφολιπιδίων) στην HDL. Πράγματι, όταν μακροφάγα, που υπερεκφράζουν τον υποδοχέα, ήρθαν σε αλληλεπίδραση με συνθετικά σωματίδια HDL, μετρήθηκε η έκφραση του miR-223 και βρέθηκε αυξημένη στην HDL μετά την ενεργοποίηση του υποδοχέα. Συνεπώς, φαίνεται ότι στη μεταφορά των miRs από τα κύτταρα στην HDL συμβάλλει ο υποδοχέας ABCA1. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η ιδιότητα της HDL να μεταφέρει σε κύτταρα-δέκτες λειτουργικά miRs που ρυθμίζουν την έκφραση του γονιδιώματος των κυττάρων. Συγκεκριμένα, ηπατοκύτταρα βρέθηκαν να περιέχουν αυξημένα επίπεδα των miR-375 και miR-223 αφού προηγουμένως είχαν επωαστεί με σύμπλοκα HDL-miR-375 και HDL-miR-223. Ειδικότερα, η μεταφορά του miR-223 στα ηπατοκύτταρα από την HDL επέφερε την καταστολή της έκφρασης των mRNAs-στόχων του, της πρωτεΐνης RhoB και της εφρίνης A1 (Ephrin A1, EFNA1). Η EFNA1 έχει αυξημένη έκφραση σε καταστάσεις ηπατικού καρκινώματος και συνεπώς η καταστολή της από το miR-223 μπορεί να αποτελεί μία τουλάχιστον οδό διαμέσου της οποίας αποτρέπεται η μεταλλαγή του ηπατοκυττάρου στον καρκινικό τύπο ενώ θα είχε ενδιαφέρον η εξωγενής χορήγηση ενός μιμητικού miR-223 ώστε να διαπιστωθεί αν καταστέλλεται η ανάπτυξη του καρκινώματος, όπως επίσης και η συσχέτιση της έκφρασης του miR-223 με την παρουσία ηπατικού καρκινώματος σε ασθενείς (σχήμα 2).

Όσον αφορά στην οδό διαμέσου της οποίας αποδίδονται τα διάφορα HDL-συνδεδεμένα miRs, διερευνήθηκε ο ρόλος του υποδοχέα εκκαθαριστή B1 (scavenger receptor 1, SRB1) ο οποίος, όπως είναι γνωστό, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μεταφορά της χοληστερόλης από τους περιφερικούς ιστούς προς το ήπαρ διαμέσου της HDL (αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης, reverse cholesterol transport), η οποία συνιστά έναν προστατευτικό μηχανισμό στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης.[29–31] Αποδείχθηκε ότι ο συγκεκριμένος υποδοχέας αποδίδει τα διάφορα miRs στα κύτταρα-στόχους σύμφωνα με τη φυσιολογική πορεία που ακολουθείται κατά την πρόσληψη των εστέρων της χοληστερόλης της HDL.[21] Έτσι, η HDL φαίνεται να διαδραματίζει έναν νέο ρόλο στη γονιδιακή έκφραση και στην ενδοκυττάρια σηματοδότηση.

2.3.2. Τα miRs της HDL σε ασθενείς με οικογενή υπερχοληστερολαιμία. Οι διαφορές στα επίπεδα έκφρασης των miRs που είναι συνδεδεμένα στην HDL μελετήθηκαν σε υγιή και σε άτομα που πάσχουν από οικογενή υπερχοληστερολαιμία (FH) (με αντίστοιχα επίπεδα HDL)[21] με σκοπό να διερευνηθεί το συγκεκριμένο προφίλ των



Σχήμα 2. miRs της HDL σε φυσιολογικά άτομα και σε ασθενείς με αθηροσκλήρυνση και ο πιθανός τους ρόλος στο ηπατικό καρκίνωμα.

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

miRs που μεταφέρονται με την HDL και συσχετίζεται με την παρουσία FH. Για τον λόγο αυτόν, απομονώθηκε το ολικό RNA από υψηλής καθαρότητας HDL από το πλάσμα υγιών ατόμων και ασθενών με FH και στη συνέχεια αναλύθηκαν τα επίπεδα έκφρασης των miRs τα οποία εντοπίζονται στην HDL.

Ας σημειωθεί πως το προφίλ των miRs που είναι συνδεδεμένα στην HDL διαφέρει πολύ (P<0,0001) από το αντίστοιχο που παρατηρείται στα μικροκυστίδια των ίδιων ατόμων. Τα κυριότερα miRs που βρέθηκαν στην HDL των υγιών ατόμων ήταν τα: miR-135* , miR-188-5p και miR-877. Αντίστοιχα, στην HDL των ασθενών με FH αφθονούν τα miR-223, miR-105 και miR-106a. Επίσης, τα miR-223, miR-24 και miR-342-5p είναι σημαντικά αυξημένα στην HDL των ασθενών με FH σε σχέση με τα αντίστοιχα της HDL των υγιών ατόμων. Στον αντίποδα, σημαντική μείωση στα επίπεδά τους εμφανίζουν τα miR-625*, miR-526b* και miR-520c-3p στην HDL ασθενών με FH σε σχέση με τα επίπεδά τους στην HDL φυσιολογικών ατόμων. Ο αριθμός των miRs που υπάρχουν στην HDL των ασθενών είναι μεγαλύτερος σε σχέση με τον αριθμό των miRs που υπάρχουν στην HDL των υγιών (99 miRs σε FH έναντι 74 στους υγιείς) ενώ 55 miRs εκφράζονται στην HDL και των δύο πληθυσμών. Συνεπώς, υφίστανται σημαντικές διαφορές στο προφίλ έκφρασης των miRs που συνδέονται στην HDL ανάμεσα σε φυσιολογικά άτομα και σε ασθενείς με FH πιθανολογώντας έναν επιπρόσθετο παθοφυσιολογικό ρόλο της HDL (διαμέσου των miRs) στον μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών, στην αθηροσκλήρυνση και γενικά στα καρδιαγγειακά νοσήματα.[21]

2.3.3. LDL-εξαρτώμενα miRNAs. Είναι γνωστό ότι η χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (LDL) διαφέρει από την HDL σε μέγεθος, πρωτεϊνική και λιπιδιακή σύσταση και μεταβολισμό. Βρέθηκε πως υψηλής καθαρότητας κλάσματα της LDL περιέχουν miRs χωρίς όμως να έχει περιγραφεί μέχρι τώρα η δράση τους. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το εύρημα ότι τα miRs που προσδένονται στην LDL είναι περισσότερο κοινά με εκείνα που υπάρχουν στα μικροκυστίδια του πλάσματος παρά με εκείνα που βρίσκονται στην HDL.[21] Αυτή η διαφορά μπορεί να συμβάλει στον διαφορετικό παθοφυσιολογικό ρόλο της LDL σε σχέση με την HDL ως προς την αθηροσκλήρυνση.

3. Τα miRNAs ως βιοδείκτες στην καρδιαγγειακή νόσο

Παρότι είμαστε ακόμη στην αρχή της ανάλυσης του φυσιολογικού ρόλου των miRs, η ιδιότητά τους ως βιοδείκτες στο αίμα έχει μελετηθεί όσον αφορά στον καρκίνο,[32] ενώ δυνητικά θα μπορούσαν να αποτελέσουν αξιόπιστους προγνωστικούς ή διαγνωστικούς βιοδείκτες στην αθηροθρόμβωση και στην καρδιαγγειακή νόσο εξαιτίας των παρακάτω ιδιαίτερων χαρακτηριστικών τους.

α. Τα miRs έχουν αυξημένη διάρκεια ζωής σε σύγκριση με άλλα ριβονουκλεοτιδικά μόρια.

β. Εμφανίζουν αυξημένη ανθεκτικότητα και προστασία από τις ενδογενείς ριβονουκλεάσες.

γ. Είναι κατά το πλείστον ειδικά ως προς τον ιστό που παράγονται και έχουν συγκεκριμένη χρονική έκφραση ανάλογα με το στάδιο και την πορεία μίας νόσου ή φυσιολογικής διαδικασίας (π.χ. στάδια αιμοποίησης).

δ. Είναι σταθερά ως κλινικά δείγματα πλάσματος ως προς την απόψυξη και την ψύξη.

Βέβαια, η έλλειψη μέχρι σήμερα σταθερού εύρους φυσιολογικών τιμών, καθυστερεί προς το παρόν την άμεση εφαρμογή των miRs στην κλινική πράξη ως αξιόπιστων βιοδεικτών διαφόρων νοσημάτων συμπεριλαμβανομένης και της καρδιαγγειακής νόσου.

4. Συμπεράσματα

Ο ανθρώπινος οργανισμός διαθέτει εγγενείς μεταφορείς των miRs στο πλάσμα, όπως τα μικροκυστίδια, τα μικροσωματίδια, και τις λιποπρωτεΐνες, αλλά και προστατευτικά πρωτεϊνικά μόρια που επιτρέπουν την ασφαλή μεταφορά και πρόσληψη των miRs από τα κύτταρα όπου δρουν ως ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης. Η έρευνα στον τομέα της HDL ως προς τη θετική της επίδραση στην καρδιαγγειακή νόσο, παίρνει νέες διαστάσεις μετά από τη συσχέτισή της με το νέο επιστημονικό πεδίο των miRs. Η ανάπτυξη των αναστολέων των miRs (anti-miRs) ή των μιμητών (mimic-miRs) ως θεραπευτικά μόρια θα συμβάλλει στη βαθύτερη γνώση των ποικίλων παθοφυσιολογικών μηχανισμών στους οποίους εμπλέκονται τα miRs. Προς το παρόν, υπάρχουν κλινικές μελέτες σε εξέλιξη οι οποίες αξιολογούν τις ιδιότητες κάποιων αναστολέων των miRs ως ασφαλή για τον άνθρωπο μόρια τα οποία παρέχουν τη δυνατότητα καταστολής της δραστηριότητας κάποιων miRs που ενέχονται στην παθογένεια διαφόρων νοσημάτων.[33–37] Καταληκτικά, η ταχέως εξελισσόμενη βασική έρευνα στον τομέα της βιολογίας των miRs θα αποτελέσει τον θεμέλιο λίθο πάνω στον οποίο σύντομα θα βασιστεί ο έλεγχος της λειτουργίας των κυττάρων που εμπλέκονται στην ομοιόσταση του αγγειακού τοιχώματος και στη φλεγμονή με απώτερο σκοπό τη θεραπεία των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Στις προοπτικές που ανοίγονται, κεντρική θέση φαίνεται να κατέχει η αλληλεπίδραση της HDL με τα miRs και ο ρόλος τους στην καρδιαγγειακή νόσο, ο οποίος πλέον αποκτά νέες διαστάσεις.

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

Βιβλιογραφία

1. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 2004, 431: 350–355
2. Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism and function. *Cell* 2004, 116:281–297
3. Bentwich I, Avniel A, Karov Y et al. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. *Nat Genet* 2005, 37:766–770
4. Friedman RC, Farh KK, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mrnas are conserved targets of microRNAs. *Genome Res* 2009, 19: 92–105
5. Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW et al. Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell* 2003, 115:787–798
6. Zhang R, Su B. Small but influential: The role of microRNAs on gene regulatory network and 3'utr evolution. *J Genet Genomics* 2009, 36:1–6
7. van Rooij E, Olson EN. MicroRNAs: Powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets. *J Clin Invest* 2007, 117:2369–2376
8. Lee Y, Kim M, Han J et al. MicroRNA genes are transcribed by rna polymerase ii. *EMBO J* 2004, 23:4051–4060
9. Gregory RI, Chendrimada TP, Shiekhattar R. MicroRNA biogenesis: Isolation and characterization of the microprocessor complex. *Methods Mol Biol* 2006, 342:33–47
10. Murchison EP, Hannon GJ. MiRNAs on the move: MiRNA biogenesis and the rnai machinery. *Curr Opin Cell Biol* 2004, 16:223–229
11. Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004, 303:95–98
12. Lund E, Dahlberg JE. Substrate selectivity of exportin 5 and dicer in the biogenesis of microRNAs. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2006, 71:59–66
13. Rana TM. Illuminating the silence: Understanding the structure and function of small RNAs. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007, 8:23–36
14. Schwarz DS, Hutvagner G, Du T, Xu Z, Aronin N, Zamore PD. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. *Cell* 2003, 115:199–208
15. Lim LP, Lau NC, Garrett-Engele P et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature* 2005, 433:769–773
16. Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y et al. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells. *J Biol Chem* 2010, 285:17442–17452
17. Zhu H, Fan GC. Extracellular/circulating microRNAs and their potential role in cardiovascular disease. *Am J Cardiovasc Dis* 2011, 1:138–149
18. Hunter MP, Ismail N, Zhang X et al. Detection of microRNA expression in human peripheral blood microvesicles. *PLoS One* 2008, 3:3694
19. Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A et al. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucl Acids Res* 2011, 39:7223–7233
20. Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM et al. Argonaute 2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011, 108:5003–5008
21. Vickers KC, Palmisano BT, Shoucri BM et al. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. *Nat Cell Biol* 2011, 13:423–433
22. Valadi H, Ekstrom K, Bossios A et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* 2007, 9:654–659
23. Horstman LL, Ahn YS. Platelet microparticles: A wide-angle perspective. *Crit Rev Oncol Hematol* 1999, 30:111–142
24. VanWijk MJ, VanBavel E, Sturk A et al. Microparticles in cardiovascular diseases. *Cardiovasc Res* 2003, 59:277–287
25. Janowska-Wieczorek A, Wysoczynski M, Kijowski J et al. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. *Int J Cancer* 2005, 113:752–760
26. Janas T, Janas T, Yarus M. Specific RNA binding to ordered phospholipid bilayers. *Nucl Acids Res* 2006, 34:2128–2136
27. Kim SI, Shin D, Choi TH, et al. Systemic and specific delivery of small interfering RNAs to the liver mediated by apolipoprotein A-I. *Mol Ther* 2007, 15:1145–1152
28. Toth PP. Cardiology patient page. The "good cholesterol": High-density lipoprotein. *Circulation* 2005, 111:89–91
29. Acton S, Rigotti A, Landschulz KT et al. Identification of scavenger receptor sr-bi as a high density lipoprotein receptor. *Science* 1996, 271:518–520
30. Bultel-Brienne S, Lestavel S, Pilon A et al. Lipid free apolipoprotein e binds to the class b type i scavenger receptor i (sr-bi) and enhances cholesteryl ester uptake from lipoproteins. *J Biol Chem* 2002, 277:36092–36099
31. Bellanger N, Orsoni A, Julia Z et al. Atheroprotective reverse cholesterol transport pathway is defective in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011, 31:1675–1681
32. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008, 105:10513–10518
33. Fabani MM, Abreu-Goodger C, Williams D et al. Efficient inhibition of mir-155 function *in vivo* by peptide nucleic acids. *Nucleic Acids Res* 2010 38:4466–4475
34. Torres AG, Fabani MM, Vigorito E et al. Chemical structure requirements and cellular targeting of microRNA-122 by peptide nucleic acids anti-MIRs. *Nucleic Acids Res* 2011
35. Elmen J, Lindow M, Schutz S et al. LNA-mediated microRNA silencing in non-human primates. *Nature* 2008, 452:896–899
36. Elmen J, Lindow M, Silahtaroglu A et al. Antagonism of microrna-122 in mice by systemically administered lna-antimir leads to up-regulation of a large set of predicted target mRNAs in the liver. *Nucleic Acids Res* 2008, 36:1153–1162
37. Lennox KA, Behlke MA. A direct comparison of anti-microRNA oligonucleotide potency. *Pharm Res* 2010, 27:1788–1799

Ημερομηνία Υποβολής 15/10/2012
Ημερομηνία Έγκρισης 13/12/2012

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

Ελληνική Επιθεώρηση Αθηροσκλήρωσης 4(1):51–55

Η γλυκαγόνη και η ρύθμιση του μεταβολισμού της γλυκόζης

Αθ.Κ. Παπαζαφειροπούλου, Ιφ. Παπαγεωργίου, Δ.Φ. Σφαντού, Στ.Ι. Παππάς

Γ΄ Παθολογικό Τμήμα & Διαβητολογικό Κέντρο, ΓΝ Νίκαιας «Άγιος Παντελεήμων», Πειραιάς

ΠΕΡΙΛΗΨΗ: Η γλυκαγόνη εκκρίνεται από τα α-κύτταρα των νησιδίων του παγκρέατος και ρυθμίζει την ομοιόσταση της γλυκόζης επιδρώντας στην ηπατική παραγωγή της. Η μείωση της δραστηριότητας του γονιδίου που κωδικοποιεί τον υποδοχέα της γλυκαγόνης αποτελεί έναν δυνητικό στόχο της θεραπείας του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, καθώς τα υψηλά επίπεδα γλυκαγόνης πλάσματος συμμετέχουν στην παθοφυσιολογία της υπεργλυκαιμίας στα διαβητικά άτομα. Στην παρούσα ανασκόπηση, συνοψίζουμε τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με τον ρόλο της γλυκαγόνης και του υποδοχέα της στην παθογένεια καθώς και τη θεραπευτική αντιμετώπιση του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.

Λέξεις ευρετηρίου: Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, γλυκαγόνη, υποδοχέας της γλυκαγόνης.

Hellenic Journal of Atherosclerosis 4(1):51–55

Glucagon and regulation of glucose metabolism

Ath.K. Papazafiropoulou, If. Papageorgiou, D.F. Sfadou, St.I. Pappas

3rd Department of Internal Medicine & Center of Diabetes, General Hospital of Nikaia "Ag. Panteleimon", Piraeus, Greece

ABSTRACT: Glucagon is secreted from the α-cells of the pancreatic islets and regulates glucose homeostasis through modulation of hepatic glucose production. As elevated glucagon levels contribute to the pathophysiology of hyperglycemia in subjects with type 2 diabetes, reduction of glucagon receptor gene activity represents a potential target for the treatment of type 2 diabetes. Herein, we review literature data of glucagon in the pathogenesis of type 2 diabetes and evaluate its therapeutic potential mechanisms of action for the treatment of type 2 diabetes.

Key words: Type 2 diabetes, glucagon, glucagon receptor.

1. Εισαγωγή

Όπως είναι γνωστό η ινσουλίνη και η γλυκαγόνη είναι οι κύριες ρυθμιστικές ορμόνες της ομοιόστασης της γλυκόζης. Επίσης, σύμφωνα με τα αποτελέσματα μελετών, η γλυκαγόνη κατέχει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ). Τα επίπεδα γλυκαγόνης, και κυρίως ο λόγος γλυκαγόνης προς ινσουλίνη πλάσματος, εξαρτώνται από τη διατροφική κατάσταση του οργανισμού με τον λόγο γλυκαγόνη προς ινσουλίνη πλάσματος να είναι αυξημένος στον ΣΔ.[1–3] Επιπλέον, ο ΣΔ συσχετίζεται με το γλυκαγόνωμα, έναν όγκο που προέρχεται από τα α-κύτταρα των παγκρεατικών νησιδίων και εκκρίνει γλυκαγόνη.[4] Επίσης, τα αυξημένα επίπεδα γλυκαγόνης πλάσματος συσχετίζονται με την αυξημένη ηπατική παραγωγή

Αθανασία Κ. Παπαζαφειροπούλου, MD, PhD
Γ΄ Παθολογικό Τμήμα & Διαβητολογικό Κέντρο, ΓΝ, Νίκαιας «Άγιος Παντελεήμων», Δ. Μαντούβαλου 3, 184 54 Νίκαια, Πειραιάς
Τηλ.: 213-20 77 662, Fax.: 213-20 76 404
e-mail: pathan@ath.forthnet.gr

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

Athanasia K. Papazafiropoulou, MD, PhD
3rd Department of Internal Medicine & Center of Diabetes, General Hospital of Nikaia "Ag. Panteleimon", 3 D. Mantouvalou street, GR-184 54 Nikaia, Piraeus, Greece
Tel.: (+30) 213-20 77 662, Fax.: (+30) 213-20 76 404
e-mail: pathan@ath.forthnet.gr

γλυκόζης και την υπεργλυκαιμία που παρατηρείται στον ΣΔ τύπου 2.[5]

Στον άνθρωπο τα επίπεδα της ινσουλίνης πλάσματος αυξάνονται μετά από κάθε γεύμα, ενώ τα επίπεδα της γλυκαγόνης μειώνονται. Αντίθετα, στα άτομα με ΣΔ τύπου 2, η έκκριση της ινσουλίνης μετά από κάθε γεύμα καθυστερεί ή/και είναι μειωμένη, ενώ η έκκριση της γλυκαγόνης δεν καταστέλλεται ή είναι αυξημένη.[6–9] Η ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ υπεργλυκαγοναιμίας και υπεργλυκαιμίας φάνηκε σε μελέτες στις οποίες η μεταγευματική καταστολή της υπεργλυκαγοναιμίας διόρθωσε τη μεταγευματική υπεργλυκαιμία σε άτομα με ΣΔ τύπου 2.[10] Η απουσία καταστολής της υπεργλυκαγοναιμίας φαίνεται επίσης να συμμετέχει και στη μεταγευματική υπεργλυκαιμία στον ΣΔ τύπου 1.[11]

Επιπρόσθετα, ο πολυμορφισμός του γονιδίου του υποδοχέα της γλυκαγόνης αναφέρεται ότι σχετίζεται με τον ΣΔ τύπου 2. Μία μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη Γαλλία έδειξε ότι η σημειακή μετάλλαξη στο γονίδιο του υποδοχέα της γλυκαγόνης, με την οποία η γλυκίνη αντικαθίσταται από σερίνη (Gly40Ser), έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με την εμφάνιση ΣΔ τύπου 2. Ο υποδοχέας, του οποίου το γονίδιο έχει υποστεί μετάλλαξη, παρουσιάζει μειωμένη συγγένεια δέσμευσης με τη γλυκαγόνη με τελικό αποτέλεσμα τη μειωμένη παραγωγή cAMP.[12] Ωστόσο, η σημασία της μετάλλαξης αυτής στον ΣΔ είναι περιορισμένη καθώς δεν επαληθεύθηκε η συσχέτισή της με την εμφάνιση ΣΔ σε άλλες μελέτες σε διαφορετικούς πληθυσμούς.[13,14]

Στην παρούσα ανασκόπηση, συνοψίζουμε τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με τον ρόλο της γλυκαγόνης και του υποδοχέα της στην παθογένεια καθώς και τη θεραπευτική αντιμετώπιση του ΣΔ τύπου 2.

2. Σύνθεση και έκκριση της γλυκαγόνης

Η γλυκαγόνη είναι μια πεπτιδική ορμόνη αποτελούμενη από 29 αμινοξέα η οποία παράγεται μαζί με μια πρόδρομη ουσία την προγλυκαγόνη, η οποία περιέχει αλληλουχίες αμινοξέων για τα προσομοιάζοντα στη γλυκαγόνη (glucagon-like peptide) πεπτίδια GLP-1, GLP-2 και την οξυντομοντουλίνη. Με τη μεσολάβηση μίας κονβερτάσης στα α-κύτταρα του παγκρέατος γίνεται η διάσπαση της προγλυκαγόνης σε γλυκαγόνη. Αντίθετα, στα L-κύτταρα του εντέρου και τα κύτταρα του εγκεφάλου από τη διάσπαση της προγλυκαγόνης ελευθερώνονται τα GLP-1, GLP-2 και η οξυμοντουλίνη.[15]

Η έκκριση της γλυκαγόνης από τα α-κύτταρα του παγκρέατος ρυθμίζεται από πολλούς παράγοντες εκ των οποίων οι πιο σημαντικοί είναι η γλυκόζη και η ινσουλίνη.[16] Τα χαμηλά επίπεδα γλυκόζης πλάσματος ενεργοποιούν τους K^+–ATP διαύλους στα α-κύτταρα του παγκρέατος οδηγώντας στην έκκριση της γλυκαγόνης. Ωστόσο, παραμένει αδιευκρίνιστο εάν η ρυθμιστική επίδραση της γλυκόζης στην έκκριση της γλυκαγόνης είναι άμεση ή έμμεση. Μελέτες οι οποίες έγιναν σε α-κύτταρα από το πάγκρεας αρουραίων και ανθρώπων, έδειξαν ότι η γλυκόζη αναστέλλει άμεσα την έκκριση γλυκαγόνης. Αντίθετα, άλλες μελέτες, πάλι σε α-κύτταρα από το πάγκρεας αρουραίων, έδειξαν ότι η γλυκόζη ρυθμίζει την έκκριση της γλυκαγόνης με παρακρινή τρόπο.[17]

Η ινσουλίνη, το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (gamma-aminobutyric acid, GABA) και ο ψευδάργυρος, επίσης, αναστέλλουν την έκκριση γλυκαγόνης.[18] Οι υπεύθυνοι μηχανισμοί για τη μεσολαβούμενη από την ινσουλίνη αναστολή της έκκρισης γλυκαγόνης από τα α-κύτταρα του παγκρέατος πιθανόν περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση των υποδοχέων του GABA.[19] Όμοια, η έκκριση ψευδαργύρου από τα β-κύτταρα του παγκρέατος φαίνεται να συμμετέχει στην καταστολή της έκκρισης γλυκαγόνης, ενώ αντίθετα, η μειωμένη έκκριση ψευδαργύρου προάγει την έκκρισή της όπως συμβαίνει στην υπογλυκαιμία.[20] Παρόλ' αυτά, ερευνητές χρησιμοποιώντας νησίδια προερχόμενα από αρουραίους και ανθρώπους έδειξαν ότι η διαμεσολαβούμενη από τη γλυκόζη καταστολή της έκκρισης γλυκαγόνης πιθανόν να συμβαίνει ανεξάρτητα από τα επίπεδα του GABA και του ψευδαργύρου και απαιτεί μόνο λειτουργικούς K^+–ATP διαύλους.[21] Επίσης, η σωματοστατίνη αναστέλλει την έκκριση γλυκαγόνης μέσω αναστολής της παραγωγής του cAMP.[22] Όμοια, το GLP-1 αναστέλλει την έκκριση της γλυκαγόνης κατά τρόπο γλυκοζοεξαρτώμενο μέσω μηχανισμών στους οποίους συμπεριλαμβάνεται ο υποδοχέας της σωματοστατίνης.[23]

3. Η δράση της γλυκαγόνης και ο υποδοχέας της

Η βιολογική δράση της γλυκαγόνης είναι η διατήρηση γλυκαιμίας κατά τη διάρκεια νηστείας μέσω επαγωγής της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης. Η γλυκαγόνη ασκεί τη δράση της στους ιστούς στόχους μέσω ενεργοποίησης του υποδοχέα της, ο οποίος είναι συζευγμένος με μία G-πρωτεΐνη.[24] Η ενεργοποίηση του υποδοχέα της γλυκαγόνης οδηγεί στη μεταγωγή του σήματος από τις G-πρωτεΐνες, στην ενεργοποίηση της αδενυλικής κυκλάσης, στην παραγωγή cAMP με αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της πρωτεϊνικής κινάσης Α.

Στο ήπαρ, η ενεργοποίηση του υποδοχέα της γλυκαγόνης έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ηπατικής

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

παραγωγής γλυκόζης μέσω επαγωγής της γλυκογονόλυσης και της γλυκονεογένεσης και αναστολής της γλυκονεογένεσης.[25] Η επίδραση της γλυκαγόνης στην αύξηση της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης είναι ταχύτατη και αντανακλά μεταβολές στη δραστηριότητα των ενζύμων που ρυθμίζουν τη γλυκονεογένεση και τη γλυκογονόλυση.[26]

Ο υποδοχέας της γλυκαγόνης εκφράζεται επίσης σε εξωηπατικούς ιστούς συμπεριλαμβανομένων της καρδιάς, των λείων μυϊκών ινών του εντέρου, των νεφρών, του εγκεφάλου και του λιπώδους ιστού.[27] Ωστόσο, πολύ λίγα είναι γνωστά σχετικά με τη δράση της γλυκαγόνης σε αυτούς τους ιστούς.

4. Γλυκαγόνη και καρδιαγγειακό σύστημα

Έχει βρεθεί ότι στο μυοκάρδιο φαρμακολογικές δόσεις της γλυκαγόνης ενεργοποιούν την αδενυλική κυκλάση κατά τρόπο ανεξάρτητο από τους β-αδρενεργικούς υποδοχείς, οδηγώντας σε παραγωγή cAMP με θετική ινότροπο και χρονότροπο δράση. Για τον λόγο αυτόν η γλυκαγόνη χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της δηλητηρίασης από φάρμακα, όπως οι β-αδρενεργικοί ανταγωνιστές και οι ανταγωνιστές των διαύλων ασβεστίου.[28] Εδώ, πρέπει να σημειωθεί ότι η θετική ινότροπη δράση που ασκεί η γλυκαγόνη στο καρδιαγγειακό σύστημα εντοπίζεται εκλεκτικά στο μυοκάρδιο των κοιλιών.[29]

Έχει βρεθεί ότι η έγχυση γλυκαγόνης σε καρδιές αρουραίων οδηγεί σε επαγωγή της γλυκόλυσης και της οξείδωσης της γλυκόζης, δράσεις παρόμοιες με τις αντίστοιχες της ινσουλίνης στην καρδιά.[30] Ως εκ τούτου, σε αντίθεση με τις επιδράσεις της γλυκαγόνης στο ήπαρ, στην καρδιά η δράση της γλυκαγόνης και της ινσουλίνης αλληλεπικαλύπτεται.

4. Γλυκαγόνη, νεφροί και γαστρεντερική οδός

Παρόλο που ο ρόλος της γλυκαγόνης στον έλεγχο της παραγωγής γλυκόζης στους νεφρούς παραμένει αδιευκρίνιστος, έχει βρεθεί ότι η γλυκαγόνη καθορίζει τον ρυθμό της νεφρικής διήθησης, την έκκριση της ουρίας και την επαναρρόφηση του ύδατος από τους νεφρούς.[31,32] Παραδόξως, η μακροχρόνια χορήγηση γλυκαγόνης σε αρουραίους οδήγησε σε νεφρική βλάβη μέσω εμφάνισης υπέρτασης, υπερτροφίας και υπερπλασίας των μεσαγγειακών κυττάρων.[33]

Ο υποδοχέας της γλυκαγόνης εκφράζεται επίσης και στο έντερο όπου ρυθμίζει την κινητικότητα,[34,35] ωστόσο, ελάχιστα είναι γνωστά σχετικά με τον ρόλο της γλυκαγόνης στη γαστρεντερική οδό.

5. Η δράση της γλυκαγόνης στον εγκέφαλο και τον λιπώδη ιστό

Είναι γνωστό ότι προγλυκαγόνη παράγεται στο εγκεφαλικό στέλεχος και σε μικρότερο βαθμό στον υποθάλαμο.[36,37] Επίσης, η χορήγηση γλυκαγόνης εντός των εγκεφαλικών ημισφαιρίων σε δόσεις ικανές να παράγουν φαρμακολογικά επίπεδα γλυκαγόνης στον εγκέφαλο προκαλεί δοσοεξαρτώμενη υπεργλυκαιμία σε αρουραίους.[38] Η έγχυση γλυκαγόνης στο κεντρικό νευρικό σύστημα αναστέλλει την πρόσληψη τροφής, μέσω της συμμετοχής του πνευμονογαστρικού νεύρου.[39,40] Επιπλέον, η εξουδετέρωση της ενδογενούς παραγόμενης γλυκαγόνης με τη χορήγηση αντισωμάτων μέσω της πυλαίας φλέβας αυξάνει το μέγεθος του γεύματος σε αρουραίους, επίδραση η οποία δεν παρατηρείται σε αρουραίους με εκλεκτική βαγοτομή.[41] Η επίδραση της γλυκαγόνης στον κορεσμό πιθανόν να περιλαμβάνει την καταστολή της έκκρισης γκρελίνης, ενός πεπτιδίου που ρυθμίζει τη διατροφική συμπεριφορά.[42]

Παρόλο που έχει βρεθεί έκφραση του υποδοχέα της γλυκαγόνης στον λιπώδη ιστό, ο ρόλος του στη λιπόλυση είναι αμφιλεγόμενος. Αν και η γλυκαγόνη αυξάνει τη λιπόλυση σε λιποκύτταρα αρουραίων και ανθρώπων, η υποδόρια χορήγηση γλυκαγόνης σε υγιείς άνδρες δεν είχε καμία επίδραση στη λιπόλυση.[43,44] Συνεπώς, ο ακριβής ρόλος της γλυκαγόνης στον έλεγχο της λιπόλυσης παραμένει υπό διερεύνηση.

6. Η γλυκαγόνη και ο υποδοχέας της ως θεραπευτικοί στόχοι στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2

Η γλυκαγόνη και ο υποδοχέας της αποτελούν δυνητικούς στόχους για τη θεραπεία του ΣΔ.[45] Τις δύο τελευταίες δεκαετίες έχουν συντελεστεί ενθαρρυντικά βήματα στην προσπάθεια επίτευξης ευγλυκαιμίας με τη χρήση αντισωμάτων έναντι της γλυκαγόνης, πεπτιδίων-ανάλογων της γλυκαγόνης και ανταγωνιστών του υποδοχέα της γλυκαγόνης.

- *Αντισώματα έναντι της γλυκαγόνης*. Μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν ότι τα υψηλής συγγένειας αντισώματα έναντι της γλυκαγόνης προκαλούν σημαντική μείωση της γλυκαγόνης πλάσματος και βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου.[46–48]
- *Πεπτιδικά ανάλογα γλυκαγόνης*. Δεδομένα από *in vivo* πειράματα σε αρουραίους με ΣΔ έδειξαν ότι η χρήση ενός αναλόγου της γλυκαγόνης μείωσε σημαντικά την υπεργλυκαιμία.[49] Ανάλογα ήταν τα αποτελέσματα από τη χρήση ενός άλλου αναλόγου της γλυκαγόνης που βρέθηκε ότι εμποδίζει την εμφάνιση υπεργλυκαι-

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

μίας μετά από εξωγενή χορήγηση γλυκαγόνης σε μη διαβητικά κουνέλια.[50]

- *Ανταγωνιστές του υποδοχέα της γλυκαγόνης*. Μελέτες σε πειραματόζωα *in vivo* έδειξαν ότι οι ανταγωνιστές του υποδοχέα της γλυκαγόνης φαίνεται ότι μειώνουν τη γλυκόζη πλάσματος νηστείας και εμποδίζουν την αύξησή της που προκαλείται από την εξωγενή χορήγηση γλυκαγόνης.[51,52] Μια μελέτη έδειξε ότι η χρήση ενός ισχυρού ανταγωνιστή του υποδοχέα της γλυκαγόνης, που απορροφάται από το στόμα, εμποδίζει την αύξηση της γλυκόζης πλάσματος που επάγεται από τη γλυκαγόνη στους ανθρώπους.[53]

Συμπερασματικά, τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα ενισχύουν τον ρόλο της γλυκαγόνης στην παθογένεια του ΣΔ τύπου 2 και ιδίως του υποδοχέα της που ενδέχεται να αποτελέσει μελλοντικό θεραπευτικό στόχο.

Βιβλιογραφία

1. Burcelin R, Katz EB, Charron MJ. Molecular and cellular aspects of the glucagon receptor: role in diabetes and metabolism. *Diabet Metab* 1996, 22:373–396
2. Unger RH. Glucagon physiology and pathophysiology in the light of new advances. *Diabetologia* 1985, 28:574–578
3. Unger RH. Role of glucagon in the pathogenesis of diabetes: the status of the controversy. *Metabolism* 1978, 27:1691–709
4. Chastain MA. The glucagonoma syndrome: a review of its features and discussion of new perspectives. *Am J Med Sci* 2001, 321:306–320
5. Consoli A. Role of liver in pathophysiology of NIDDM. *Diabet Care* 1992, 15:430–441
6. Butler PC, Rizza RA. Contribution to postprandial hyperglycemia and effect on initial splanchnic glucose clearance of hepatic glucose cycling in glucose intolerant or NIDDM patients. *Diabetes* 1991, 40:73–81
7. Basu A, Alzaid A, Dinneen S et al. Effects of a change in the pattern of insulin delivery on carbohydrate tolerance in diabetic and nondiabetic humans in the presence of differing degrees of insulin resistance. *J Clin Invest* 1996, 97:2351–2361
8. Larsson H, Ahren B. Islet dysfunction in insulin resistance involves impaired insulin secretion and increased glucagon secretion in postmenopausal women with impaired glucose tolerance. *Diabet Care* 2000, 23:650–657
9. Mitrakou A, Kelley D, Veneman T et al. Contribution of abnormal muscle and liver glucose metabolism to postprandial hyperglycemia in NIDDM. *Diabetes* 1990, 39:1381–1390
10. Shah P, Vella A, Basu A et al. Lack of suppression of glucagon contributes to postprandial hyperglycemia in subjects with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2000, 85:4053–9
11. Dinneen S, Alzaid A, Turk D et al. Failure of glucagon suppression contributes to postprandial hyperglycaemia in IDDM. *Diabetologia* 1995, 38:337–343
12. Hansen LH, Abrahamsen N, Hager J et al. The Gly40Ser mutation in the human glucagon receptor gene associated with NIDDM results in a receptor with reduced sensitivity to glucagon. *Diabetes* 1996, 45:725–730
13. Huang CN, Lee KC, Wu HP et al. Screening for the Gly40Ser mutation in the glucagon receptor gene among patients with type 2 diabetes or essential hypertension in Taiwan. *Pancreas* 1999, 18:151–155
14. Shiota D, Kasamatsu T, Dib SA et al. Role of the Gly40Ser mutation in the glucagon receptor gene in Brazilian patients with type 2 diabetes mellitus. *Pancreas* 2002, 24:86–390
15. Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 2007, 132:2131–2157
16. Dunning BE, Gerich JE. The role of alpha-cell dysregulation in fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes and therapeutic implications. *Endocr Rev* 2007, 28:253–283
17. Quesada I, Tuduri E, Ripoll C et al. Physiology of the pancreatic alpha-cell and glucagon secretion: role in glucose homeostasis and diabetes. *J Endocrinol* 2008, 199:5–19
18. Bansal P, Wang Q. Insulin as a physiological modulator of glucagon secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008, 295:E751–E761
19. Xu E, Kumar M, Zhang Y et al. Intra-islet insulin suppresses glucagon release via GABA-GABA(A) receptor system. *Cell Metab* 2006, 3:47–58
20. Zhou H, Zhang T, Harmon JS et al. Zinc, not insulin, regulates the rat alpha-cell response to hypoglycemia *in vivo*. *Diabetes* 2007, 56:1107–1112
21. MacDonald PE, De Marinis YZ, Ramracheya R et al. A K ATP channel dependent pathway within alpha cells regulates glucagon release from both rodent and human islets of Langerhans. *PLoS Biol* 2007, 5:143
22. Singh V, Grotzinger C, Nowak KW et al. Somatostatin receptor subtype-2-deficient mice with diet-induced obesity have hyperglycemia, nonfasting hyperglucagonemia, and decreased hepatic glycogen deposition. *Endocrinology* 2007, 148:3887–3899
23. de Heer J, Rasmussen C, Coy DH et al. Glucagon-like peptide-1, but not glucose-dependent insulinotropic peptide, inhibits glucagon secretion via somatostatin (receptor subtype 2) in the perfused rat pancreas. *Diabetologia* 2008, 51:2263–70
24. Jelinek LJ, Lok S, Rosenberg GB et al. Expression cloning and signaling properties of the rat glucagon receptor. *Science* 1993, 259:1614–1616
25. Jiang G, Zhang BB. Glucagon and regulation of glucose metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003, 284:E671–E678
26. Liu Y, Dentin R, Chen D et al. A fasting inducible switch modulates gluconeogenesis via activator/coactivator exchange. *Nature* 2008, 456:269–273
27. Hansen LH, Abrahamsen N, Nishimura E. Glucagon receptor mRNA distribution in rat tissues. *Peptides* 1995, 16:1163–1166
28. White CM. A review of potential cardiovascular uses of intravenous glucagon administration. *J Clin Pharmacol* 1999, 39:442–447
29. Gonzalez-Munoz C, Nieto-Ceron S, Cabezas-Herrera J et al. Glucagon increases contractility in ventricle but not in atrium of the rat heart. *Eur J Pharmacol* 2008, 587:243–247
30. Harney JA, Rodgers RL. Insulin-like stimulation of cardiac fuel metabolism by physiological levels of glucagon: involvement of PI3K but notcAMP. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008, 295:155–161
31. Bankir L, Ahloulay M, Devreotes PN et al. Extracellular cAMP inhibits proximal reabsorption: are plasma membrane cAMP receptors involved? *Am J Physiol Renal Physiol* 2002, 282:376–392

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

32. Gustavson SM, Chu CA, Nishizawa M et al. Effects of hyperglycemia, glucagon and epinephrine on renal glucose release in the conscious dog. *Metabolism* 2004, 53:933–941
33. Li XC, Liao TD, Zhuo JL. Long-term hyperglucagonaemia induces early metabolic and renal phenotypes of type 2 diabetes in mice. *Clin Sci* (Lond) 2008, 114:591–601
34. Patel GK, Whalen GE, Soergel KH et al. Glucagon effects on the human small intestine. *Dig Dis Sci* 1979, 24:501–508
35. Taylor I, Duthie HL, Cumberland DC, Smallwood R. Glucagon and the colon. *Gut* 1975, 16:973–978
36. Drucker DJ, Asa S. Glucagon gene expression in vertebrate brain. *J Biol Chem* 1988, 263:13475–13478
37. Jin SL, Han VK, Simmons JG et al. Distribution of glucagonlike peptide I (GLP-I), glucagon, and glicentin in the rat brain: an immunocytochemical study. *J Comp Neurol* 1988, 271:519–532
38. Marubashi S, Tominaga M, Katagiri T et al. Hyperglycemic effect of glucagon administered intracerebroventricularly in the rat. *Acta Endocinol* (Copenh) 1985, 108:6–10
39. Inokuchi A, Oomura Y, Nishimura H. Effect of intracerebroventricularly infused glucagon on feeding behavior. *Physiol Behav* 1984, 33:397–400
40. Weatherford SC, Ritter S. Lesion of vagal afferent terminals impairs glucagon-induced suppression of food intake. *Physiol Behav* 1988, 43:645–650
41. Geary N, Le Sauter J, Noh U. Glucagon acts in the liver to control spontaneous meal size in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1993, 264:116–122
42. Arafat AM, Perschel FH, Otto B et al. Glucagon suppression of ghrelin secretion is exerted at hypothalamus-pituitary level. *J Clin Endocrinol Metab* 2006, 91:3528–3533
43. Gravholt CH, Moller N, Jensen MD et al. Physiological levels of glucagon do not influence lipolysis in abdominal adipose tissue as assessed by microdialysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86:2085–2089
44. Heckemeyer CM, Barker J, Duckworth WC et al. Studies of the biological effect and degradation of glucagon in the rat perifused isolated adipose cell. *Endocrinology* 1983, 113:270–276
45. Zhang BB, Moller DE. New approaches in the treatment of type 2 diabetes. *Curr Opin Chem Biol* 2000, 4:461–467
46. Brand CL, Jorgensen PN, Knigge U et al. Role of glucagon in maintenance of euglycemia in fed and fasted rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1995, 269:469–477
47. Brand CL, Jorgensen PN, Svendsen I et al. Evidence for a major role for glucagon in regulation of plasma glucose in conscious, nondiabetic, and alloxan-induced diabetic rabbits. *Diabetes* 1996, 45:1076–1083
48. Brand CL, Rolin B, Jorgensen PN et al. Immunoneutralization of endogenous glucagon with monoclonal glucagon antibody normalizes hyperglycaemia in moderately streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 1994, 37:985–993
49. Johnson DG, Goebel CU, Hruby VJ et al. Hyperglycemia of diabetic rats decreased by a glucagon receptor antagonist. *Science* 1982, 215:1115–1116
50. Unson CG, Gurzenda EM, Merrifield RB. Biological activities of des-His1[Glu9]glucagon amide, a glucagon antagonist. *Peptides* 1989, 10:1171–1177
51. Ling A, Hong Y, Gonzalez J et al. Identification of alkylidene hydrazides as glucagon receptor antagonists. *J Med Chem* 2001, 44:3141–3149
52. Ling A, Plewe M, Gonzalez J et al. Human glucagon receptor antagonists based on alkylidene hydrazides. *Bioorg Med Chem* 2002, 12:663–666
53. Petersen KF, Sullivan JT. Effects of a novel glucagon receptor antagonist (Bay 27–9955) on glucagon-stimulated glucose production in humans. *Diabetologia* 2001, 44:2018–2024

Ημερομηνία Υποβολής 05/09/2012
Ημερομηνία Έγκρισης 24/10/2012

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

ORIGINAL PAPER

Hellenic Journal of Atherosclerosis 4(1):56–58

The effect of simvastatin or its combination with ezetimibe on mean platelet volume in patients with primary dyslipidemia

E. Moutzouri, A. Kei, M. Elisaf
Department of Internal Medicine, School of Medicine, University of Ioannina, Ioannina, Greece

INTRODUCTION: A growing body of evidence points towards mean platelet volume as an independent risk factor for cardiovascular disease. Statins are the cornerstone of lipid lowering treatment and are associated with improved outcomes either in primary or secondary prevention of cardiovascular disease. This benefit has been attributed not only to their lipid-lowering effects, but also to various pleiotropic properties. Ezetimibe is a newer hypolipidemic treatment, which effectively reduces low density lipoprotein cholesterol (LDL-C). Treatment with ezetimibe plus a low statin-dose is common in everyday clinical practice and induces similar or even greater reductions in LDL-C compared with a higher statin dose.

MATERIAL-METHODS: To compare the effects of simvastatin 40 mg or simvastatin/ezetimibe 10/10 mg, daily on mean platelet volume levels in dyslipidemic patients. This was a prospective, randomized, open-label, blinded endpoint (PROBE) study. After a 3-month period of lifestyle changes patients (n=100) with LDL-C levels above those recommended by the NCEP ATP III based on each patient risk factors, were randomly al-

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ελληνική Επιθεώρηση Αθηροσκλήρωσης 4(1):56–58

Η επίδραση της σιμβαστατίνης ή του συνδυασμού σιμβαστατίνης με εζετιμίμπη στον μέσο όγκο αιμοπεταλίων σε ασθενείς με πρωτοπαθή δυσλιπιδαιμία

Ε. Μουτζούρη, Α. Κεή, Μ. Ελισάφ
Β' Παθολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, Ελλάδα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Σύγχρονα δεδομένα δείχνουν ότι ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων πιθανόν αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου. Η θεραπεία με στατίνες αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο της υπολιπιδαιμικής αγωγής ενώ σχετίζεται με ευνοϊκά αποτελέσματα τόσο στην πρωτογενή όσο και στη δευτερογενή πρόληψη της καρδιαγγειακής νόσου. Οι ωφέλιμες δράσεις των στατινών δεν οφείλονται μόνο στις υπολιπιδαικές τους δράσεις αλλά και στις αποκαλούμενες «πλειοτροπικές δράσεις». Η θεραπεία με τον συνδυασμό εζετιμίμπης και χαμηλής δόσης μίας στατίνης είναι συνήθης στην κλινική πράξη και επιτυγχάνει ίση ή και μεγαλύτερη μείωση της LDL-χοληστερόλης σε σύγκριση με μονοθεραπεία με στατίνη σε υψηλότερη δοσολογία.

ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ: Η σύγκριση της επίδρασης της σιμβαστατίνης 40 mg ή του συνδυασμού σιμβαστατίνης με εζετιμίμπη 10/10 mg ημερησίως, στον μέσο όγκο αιμοπεταλίων σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία. Η μελέτη σχεδιάστηκε ως δοκιμή PROBE (προοπτική, τυχαιοποιημένη, ανοιχτή με τυφλή αξιολόγηση τελικού στόχου). Υπερχοληστερολαιμικοί ασθενείς (N=100), που δεν

Moses Elisaf
2nd Department of Internal Medicine, School of Medicine, University of Ioannina, GR-451 10 Ioannina, Greece
Tel.: (+30) 2651-007 509, Fax: (+30) 2651-007 516
e-mail: egepi@cc.uoi.gr

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

Μωυσής Ελισάφ
Β΄ Παθολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 451 10 Ιωάννινα
Τηλ.: 2651-007 509, Fax: 2651-007 516
e-mail: egepi@cc.uoi.gr

located to open-label simvastatin 40 mg (N=50) or simvastatin/ezetimibe 10/10 mg (N=50) daily. Both groups were similar with regard to demographics, risk factors, medications and baseline lipid values. Mean platelet volume was blindly assessed at baseline and 3 months post-treatment in both groups.
RESULTS: Both simvastatin 40 mg and simvastatin 10 mg with ezetimibe 10 mg daily for 12 weeks did not affect mean platelet volume (from 10.9±0.6 fl to 10.9±0.6 fl and from 11.1±0.9 fl to 11.2±0.9 fl, respectively, P=NS versus baseline, P=NS between groups).
CONCLUSIONS: Neither simvastatin nor its combination with ezetimibe changes mean platelet volume in patients with primary hypercholesterolemia

πέτυχαν τον στόχο της LDL-χοληστερόλης μετά από 3 μήνες υγιεινοδιαιτητικής αγωγής, τυχαιοποιήθηκαν σε θεραπεία με σιμβαστατίνη 40 mg (N=50) ή συνδυασμό σιμβαστατίνης 10 mg με εζετιμίμπη 10 mg (N=50). Οι δύο ομάδες δεν διέφεραν ως προς τα δημογραφικά στοιχεία, τους παράγοντες κινδύνου, τη φαρμακευτική αγωγή και τα επίπεδα λιπιδίων, πριν την έναρξη της θεραπείας. Ο μέσος όγκος αιμοπεταλίων μετρήθηκε και στις 2 ομάδες πριν και μετά από 3 μήνες θεραπείας.
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Τόσο η σιμβαστατίνη 40 mg όσο και ο συνδυασμός σιμβαστατίνης 10 mg με εζετιμίμπη.
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Ούτε η σιμβαστατίνη ούτε ο συνδυασμός της σιμβαστατίνης με εζετιμίμπη επηρεάζουν το μέσο όγκο αιμοπεταλίων σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία.

Key words: Simvastatin, ezetimibe, mean platelet volume, platelets.

Λέξεις ευρετηρίου: Σιμβαστατίνη, εζετιμίμπη, μέσος όγκος αιμοπεταλίων, αιμοπετάλια.

1. Introduction

A growing body of evidence is pointing towards platelet indices as independent risk factors for cardiovascular disease. Increased mean platelet volume (MPV) has been associated with higher rate of myocardial infarction, stroke and vascular mortality.[1–3]

Statins are the cornerstone of both primary and secondary cardiovascular disease (CVD) prevention. Experimental and clinical studies have demonstrated that statins are associated with antiplatelet and antithrombotic effects via several mechanisms not yet completely elucidated.[4–7] Whether ezetimibe exhibit non-lipid lowering related actions remains a controversy.[8]

We have previously described the effects of simvastatin 40 mg and simvastatin/ezetimibe 10/10 mg, on small dense low-density lipoprotein cholesterol (sdLDL-C) concentration in subjects with primary hypercholesterolemia.[9] We now report on a pre-specified analysis regarding the effect of these treatment modalities on platelet indexes.

2. Patients and methods

Study population and protocol have been previously described.[9] In brief, consecutive patients with primary hypercholesterolemia (N=100) participated in the present study. After 12 weeks of dietary intervention, patients who continued to meet the inclusion criteria were randomly allocated to receive open-label simvastatin 40 mg or simvastatin/ezetimibe 10/10 mg for 12 weeks.

3. Results/Discussion

Neither simvastatin 40 mg nor the combination of simvastatin 10 mg with ezetimibe 10 mg significantly affected MPV (from 10.9±0.6 fl to 10.9±0.6 fl and from 11.1±0.9 fl to 11.2±0.9 fl, respectively, P=NS versus baseline, P=NS between groups).

In general, platelet size, expressed as MPV, reflects platelet activity as larger platelets represent immature, hyperactive platelets which release more prothrombotic mediators, thereby promoting atherothrombotic processes.[10,11] MPV is an emerging risk factor for overall vascular mortality and ischemic heart disease.[12,13] Experimental and clinical studies have demonstrated that statins are associated with antiplatelet and antithrombotic effects via several mechanisms not yet completely elucidated.[4–7] It is not known whether this combination therapy has the same pleiotropic effects as a statin monotherapy.

Ali et al showed that statins *in vitro* may inhibit platelet function, by activating peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in platelets.[6] In a study in patients with stable coronary artery disease and type 2 diabetes or impaired glucose tolerance, high dose simvastatin or low dose simvastatin plus ezetimibe did not affect basal or adenosine diphos-

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

phate (ADP), or thrombin-induced platelet P-selectin expression, or fibrinogen binding, platelet-leukocyte aggregation or ADP-induced platelet aggregation.[14] In another study in 56 patients with coronary artery disease, atorvastatin 40 mg significantly reduced platelet activation markers (P-selectin) after ADP-induced stimulation, while its combination with ezetimibe did not significantly affected platelet activation.[15]

Data regarding the effects of drugs on MPV are few. Treatment with rosuvastatin (10 mg/day for 12 weeks) was associated with MPV reduction (from 8.4±1.2 fl to 8.1±1.3 fl, P<0.001) in dyslipidemic patients, in a lipid independent manner.[7,16]

In our study, we found that neither simvastatin nor its combination with ezetimibe affects MPV in hypercholesterolemic subjects. This difference as compared to rosuvastatin may be partly abscribed to the lipophilic nature of simvastatin compared with the hydrophilic nature of rosuvastatin.

References

1. Slavka G, Perkmann T, Haslacher H et al. Mean platelet volume may represent a predictive parameter for overall vascular mortality and ischemic heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011, 31:1215–1218
2. Jindal S, Gupta S, Gupta R et al. Platelet indices in diabetes mellitus: indicators of diabetic microvascular complications. *Hematology* 2011, 16:86–89
3. Pikija S, Cvetko D, Hajduk M et al. Higher mean platelet volume determined shortly after the symptom onset in acute ischemic stroke patients is associated with a larger infarct volume on CT brain scans and with worse clinical outcome. *Clin Neurol Neurosurg* 2009, 111:568–573
4. Mitsios JV, Papathanasiou AI, Goudevenos JA et al. The antiplatelet and antithrombotic actions of statins. *Curr Pharm Des* 2010, 16:3808–3814
5. Matetzky S, Fefer P, Shenkman B et al. Statins have an early antiplatelet effect in patients with acute myocardial infarction. *Platelets* 2011, 22:103–110
6. Ali FY, Armstrong PC, Dhanji AR et al. Antiplatelet actions of statins and fibrates are mediated by PPARs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009, 29:706–711
7. Coban E, Afacan B. The effect of rosuvastatin treatment on the mean platelet volume in patients with uncontrolled primary dyslipidemia with hypolipidemic diet treatment. *Platelets* 2008, 19:111–114
8. Kalogirou M, Tsimihodimos V, Elisaf M. Pleiotropic effects of ezetimibe: do they really exist? *Eur J Pharmacol* 2010, 633:62–70
9. Florentin M, Liberopoulos EN, Moutzouri E et al. The effect of simvastatin alone versus simvastatin plus ezetimibe on the concentration of small dense low-density lipoprotein cholesterol in subjects with primary hypercholesterolemia. *Curr Med Res Opin* 2011, 27:685–692
10. Thompson CB, Jakubowski JA, Quinn PG et al. Platelet size and age determine platelet function independently. *Blood* 1984, 63:1372–1375
11. Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007, 357:2482–2494
12. Wang RT, Li Y, Zhu XY et al. Increased mean platelet volume is associated with arterial stiffness. *Platelets* 2011
13. Lippi G, Filippozzi L, Salvagno GL et al. Increased mean platelet volume in patients with acute coronary syndromes. *Arch Pathol Lab Med* 2009, 133:1441–1443
14. Malmstrom RE, Settergren M, Bohm F et al. No effect of lipid lowering on platelet activity in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes or impaired glucose tolerance. *Thromb Haemost* 2009, 101:157–164
15. Piorkowski M, Fischer S, Stellbaum C et al. Treatment with ezetimibe plus low-dose atorvastatin compared with higher-dose atorvastatin alone: is sufficient cholesterol-lowering enough to inhibit platelets? *J Am Coll Cardiol* 2007, 49:1035–1042
16. Jagroop IA, Tsiara S, Mikhailidis DP. Mean platelet volume as an indicator of platelet activation: methodological issues. *Platelets* 2003, 14:335–336

Ημερομηνία Υποβολής 01/12/2011
Ημερομηνία Έγκρισης 28/03/2012

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

Ελληνική Επιθεώρηση Αθηροσκλήρωσης 4(1):59–65

Συσχέτιση ινσουλινοαντίστασης και διαβητικής νευροπάθειας του αυτόνομου νευρικού συστήματος στα άτομα με Σακχαρώδη Διαβήτη

Μ.Π. Κουκούλη,[1] Α. Μελιδώνης,[1] Ε. Μπιλιανού,[2] Ι. Σκουλαρίγκης,[3] Η. Ζιντζαράς,[4] Φ. Τρυποσκιάδης[3]

[1]Διαβητολογικό Κέντρο, ΓΝΠ «Τζάνειο», [2]Καρδιολογική Κλινική, ΓΝΠ «Τζάνειο», Πειραιάς [3]Πανεπιστημιακή Καρδιολογική Κλινική Θεσσαλίας, [4]Τομέας Κοινωνικών και Ιατρικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

ΣΚΟΠΟΣ: Η Διαβητική Νευροπάθεια του Αυτόνομου Νευρικού Συστήματος (ΔΝΑΝΣ) είναι μια σοβαρή επιπλοκή του διαβήτη, συνέπεια της υπεργλυκαιμίας αλλά και άλλων παραγόντων. Δεν είναι μέχρι στιγμής βιβλιογραφικά σαφής η συμβολή της ινσουλινοαντίστασης στην ανάπτυξη ΔΝΑΝΣ. Η παρούσα μελέτη στοχεύει στη διερεύνηση της συσχέτισης των δύο αυτών επιπλοκών.

ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ: Συμμετείχαν στη μελέτη 55 ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 (26 γυναίκες και 29 άνδρες) που παρακολουθούνται στο Διαβητολογικό κέντρο. Συλλέχθηκαν πληροφορίες σχετικά με σωματομετρικά χαρακτηριστικά, ιατρικό ιστορικό, πραγματοποιήθηκε αιματολογικός και βιοχημικός έλεγχος. Η ινσουλινοαντίσταση εκτιμήθηκε με τον δείκτη HOMA (Homeostasis Model Assessment). Η εκτίμηση της ΔΝΑΝΣ έγινε μέσω 4 δοκιμασιών: μεταβλητότητα καρδιακής συχνότητας κατά τη διάρκεια βαθιάς εκπνοής/

Μαρία-Πελαγία Κουκούλη
Πατρών 7, 166 74 Γλυφάδα, Αθήνα
Τηλ.: 6979-672 401
e-mail: koukoulimp@yahoo.com

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

Hellenic Journal of Atherosclerosis 4(1):59–65

The association between insulin resistance and diabetic autonomic neuropathy in Diabetic patients

M.P. Koukouli,[1] A. Melidonis,[1] E. Bilianou,[2] I. Skoularigis,[3] H. Zintzaras,[4] F. Triposkiadis[3]

[1]Diabetes Center, "Tzanio" Piraeus General Hospital, [2]Cardiology Department, "Tzanio" Piraeus General Hospital, Piraeus [3]Cardiology Department, University Hospital of Thessaly, [4]Biomathematics-Biometry, University of Thessaly, Larissa, Greece

AIM: Diabetic Autonomic Neuropathy (DAN) consists a serious complication of diabetes, commonly occurring as a result of hyperglycemia and other factors. The evidence already published in the literature has not clarified the contribution of insulin resistance in DAN. The current study aims to explore the association between those two implications.

MATERIAL-METHODS: Fifty five patients diagnosed with diabetes type 2 (26 women and 29 men), who attended the Diabetes Center, participated to the study. Information on physical characteristics and medical history was collected and laboratory tests were performed. Insulin resistance was assessed by HOMA (Homeostasis Model Assessment). DAN was evaluated according to four specialized tests: heart-rate variation during deep breathing, heart-rate variation from lying to standing, Valsalva and blood pressure variation from lying to standing. Those who were found pathological

Maria-Pelagia Koukouli
7 Patron street, GR-166 74 Glyfada, Athens, Greece
Tel.: (+30) 6979-672 401
e-mail: koukoulimp@yahoo.com

εισπνοής, μεταβλητότητα καρδιακής συχνότητας από ύπτια σε όρθια θέση, Valsalva και μεταβολή αρτηριακής πίεσης από ύπτια σε όρθια θέση. Όσοι ασθενείς παρουσίαζαν παθολογικές δύο ή περισσότερες από τις παραπάνω δοκιμασίες, θεωρήθηκε ότι έπασχαν από ΔΝΑΝΣ. Τα δεδομένα αναλύθηκαν αρχικά με απλή και στη συνέχεια με πολλαπλή λογαριθμιστική παλινδρόμηση, μετά από προσαρμογή για πιθανούς παράγοντες κινδύνου, όπως το φύλο, την ηλικία, τον Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ), την αναλογία μέσης-ισχίων, τη διάρκεια διαβήτη και τη μικρολευκωματινουρία. Η ανεξάρτητη μεταβλητή HOMA εισήχθη στα στατιστικά μοντέλα ως συνεχής αλλά και ως κατηγορική μεταβλητή (ανά τεταρτημόρια).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Η μέση ηλικία του δείγματος ήταν 58,56±9,87 έτη, η μέση διάρκεια διαβήτη 7,94±7,06 έτη, ο μέσος ΔΜΣ 30,05±5,37 kg/m^2, η μέση αναλογία μέσης-ισχίων 0,93±0,08 cm και τα μέσα επίπεδα HOMA 82,70±64,92 mU/L*mg/dL. Τριάντα ένας (56,4%) συμμετέχοντες έπασχαν από ΔΝΑΝΣ. Αφού ελήφθησαν υπ' όψιν πιθανοί παράγοντες κινδύνου, δεν βρέθηκε ένδειξη για συσχέτιση της HOMA με τη ΔΝΑΝΣ, είτε η HOMA παρουσιάστηκε σε συνεχή (Σχετικός κίνδυνος, ΣΚ=1,00, P=0,31), είτε σε κατηγορική μορφή (ΣΚ=0,88, P=0,69). Περαιτέρω μελέτη των επιμέρους δοκιμασιών της ΔΝΑΝΣ με τη HOMA δεν ανέδειξε κάποια πιθανή συσχέτιση.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, δεν τεκμηριώνεται η ύπαρξη πιθανής συσχέτισης μεταξύ ινσουλινοαντίστασης και ΔΝΑΝΣ σε διαβητικούς ασθενείς.

Λέξεις ευρετηρίου: Ινσουλινοαντίσταση, διαβητική νευροπάθεια του αυτόνομου νευρικού συστήματος, σακχαρώδης διαβήτης, HOMA.

to two or more of the above mentioned tests, were considered to suffer from DAN. Data were analyzed with univariate and multivariate logistic regression, after adjustment for possible risk factors, such as gender, age, Body Mass Index (BMI), waist-to-hip ratio, microalbuminuria and diabetes duration. The independent variable HOMA was introduced in statistical models both as a continuous and as a categorical variable (by quartiles).

RESULTS: The mean age was 58.56±9.87 years, mean diabetes duration 7.94±7.06 years, mean BMI 30.05± 5.37 kg/m^2, mean waist-to-hip ratio 0.93±0.08 cm and the average levels of HOMA 82.70±64.92 mU/L*mg/dL. Thirty one (56.4%) participants suffered from DAN. After adjusting for potential risk factors, we found no evidence for a possible association between HOMA and DAN, either HOMA presented in continuous (odds ratio, OR=1.00, P=0.31) or in categorical form (OR=0.88, P=0.69). Further evaluation of individual specialized tests of DAN did not reveal any possible correlation.

CONCLUSIONS: According to the findings of the current study, there was no evidence for a possible association between insulin resistance and DAN in diabetic patients.

Key words: Insulin resistance, diabetic autonomic neuropathy, diabetes mellitus, HOMA.

1. Εισαγωγή

Η Διαβητική Νευροπάθεια του Αυτόνομου Νευρικού Συστήματος (ΔΝΑΝΣ), μια ετερογενής διαταραχή της οποίας η παθογένεια δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί, εμφανίζεται συχνά ως πρώιμη επιπλοκή του σακχαρώδους διαβήτη. Ο επιβαρυντικός ρόλος του διαβήτη στο νευρικό σύστημα εμφανίζεται σπάνια στην παιδική ή εφηβική ηλικία, είναι όμως η πιο συχνή χρόνια επιπλοκή σε ηλικιωμένους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη. Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, η επίπτωση της νόσου παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις, γεγονός που οφείλεται πιθανότατα στη χρήση διαφορετικών πληθυσμιακών ομάδων, διαγνωστικών μεθόδων αλλά και κριτηρίων για τον καθορισμό της νόσου. Οι Ziegler et al εκτίμησαν ότι η επίπτωση της νόσου ανέρχεται σε 34,3% σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔτ2) και σε 25,3% σε σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 (ΣΔτ1),[1] ενώ σε μια άλλη μελέτη, όπου οι συγγραφείς έκαναν χρήση πιο αυστηρών κριτηρίων για τον καθορισμό της ΔΝΑΝΣ, η επίπτωση υπολογίστηκε στο 16,6% των διαβητικών ασθενών.[2] Τα ποσοστά θνησιμότητας των διαβητικών ασθενών που πάσχουν από ΔΝΑΝΣ ποικίλλουν και κυμαίνονται από 9% όπως αναφέρουν οι Orchard et al[3] έως 53% σύμφωνα με τους Ewing et al.[4] Στην DIAD, μελέτη σε ασυμπτωματικούς διαβητι-

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

κούς, αυτοί που παρουσίαζαν ΔΝΑΝΣ είχαν πενταπλάσια πιθανότητα εμφάνισης σιωπηλής ισχαιμίας.[5] Οι βασικότερες αιτίες αυξημένου καρδιαγγειακού θανάτου στη ΔΝΑΝΣ είναι οι εξής: ασυμπτωματική ισχαιμία, έμφραγμα, θανατηφόρες αρρυθμίες, παράταση QT διαστήματος, αυξημένος τόνος συμπαθητικού, κακοήθεις κοιλιακές αρρυθμίες, επεισόδια άπνοιας κατά τον ύπνο, καρδιοαναπνευστική ανακοπή και άλλες επιπλοκές (π.χ. νεφροπάθεια).[6]

Η ινσουλινοαντίσταση είναι μια βιολογική διαδικασία κατά την οποία παρατηρείται υπολειτουργία της δράσης της ινσουλίνης στους ιστούς, με αποτέλεσμα η φυσιολογική συγκέντρωση ινσουλίνης να μην επαρκεί για να προκαλέσει την αντίστοιχη αντίδραση από τα κύτταρα του λιπώδους, του μυϊκού και του ηπατικού ιστού. Η εν λόγω υπολειτουργία αφορά κυρίως στην ιστική πρόσληψη γλυκόζης. Στα περισσότερα άτομα με ινσουλινοαντίσταση παρατηρούνται αυξημένες τιμές γλυκόζης και αυξημένες τιμές ινσουλίνης στο αίμα. Πρόκειται δηλαδή για μια μεταβολική κατάσταση που χαρακτηρίζει ιδιαίτερα τον σακχαρώδη διαβήτη. Στην αντίσταση στην ινσουλίνη υπάρχει αυξημένη καρδιακή παροχή ως αποτέλεσμα αυξημένου όγκου παλμού και αυξημένης καρδιακής συχνότητας, παρουσία αυξημένων περιφερικών αντιστάσεων.[7] Είναι σχεδόν πάντα μεταϋποδοχειακή και αφορά στην οδό της PI 3-κινάσης. Η ινσουλινοαντίσταση δεν είναι νόσος, είναι όμως κεντρική μεταβολική διαταραχή, ένα σύνδρομο που μπορεί να αποτελέσει πρόδρομη κατάσταση για αθηρωμάτωση και καρδιαγγειακή νόσο. Στις ΗΠΑ το 24% των ενηλίκων εμφανίζει αντίσταση στην ινσουλίνη, ενώ στις ηλικίες άνω των 60 ετών το ποσοστό αυτό ανέρχεται σε 40%.[8]

Στις σύγχρονες κοινωνίες, η επιστημονική ιατρική έρευνα έχει ως κύριο σκοπό τη βελτίωση της ποιότητας ζωής και την αντιμετώπιση των οξέων και χρόνιων νοσημάτων. Σε αυτό το πλαίσιο κρίνεται ιδιαιτέρως σημαντικός ο εντοπισμός ατόμων που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο για μελλοντικές καρδιαγγειακές επιπλοκές. Δεδομένου ότι δεν έχει μέχρι στιγμής διαλευκανθεί η συμβολή της ινσουλινοαντίστασης στην ανάπτυξη της ΔΝΑΝΣ, θελήσαμε να διερευνήσουμε τη σχέση αυτών των δύο επιπλοκών.

2. Υλικό και μέθοδος

2.1. Πληθυσμός της μελέτης

Η μελέτη βασίστηκε σε δεδομένα 55 ασθενών με ΣΔτ2 που προσήλθαν στο Διαβητολογικό Κέντρο στο ΓΝΠ «Τζάνειο» κατά το χρονικό διάστημα 6 μηνών, από 15/12/2007 έως 15/06/2008. Κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη αποτέλεσαν η στεφανιαία νόσος, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, η περιφερική αγγειοπάθεια, η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και οι νεοπλασίες. Επίσης από την ανάλυση προβλέπονταν να εξαιρεθούν όσοι ασθενείς εντοπίζονταν με θετικό SPECT.

2.2. Υπολογισμός δεικτών και εργαστηριακών μετρήσεων

Στο σύνολο του δείγματος έγινε καταγραφή μέσω κωδικοποιημένου ερωτηματολογίου δημογραφικών (φύλο, ηλικία) και σωματομετρικών μεταβλητών (ύψος, βάρος, περιφέρεια μέσης, περιφέρεια ισχίων), ατομικού ιστορικού αρτηριακής υπέρτασης και δυσλιπιδαιμίας καθώς και οικογενειακού ιστορικού στεφανιαίας νόσου. Υπολογίστηκε η χρονική διάρκεια του διαβήτη, ενώ επίσης πραγματοποιήθηκαν όλες οι απαραίτητες αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις που σχετίζονται πιθανότατα με παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και συγκεκριμένα οι εξής: γενική αίματος, ΤΚΕ, γλυκόζη, ουρία, κρεατινίνη, χοληστερόλη, HDL, LDL, TG, ουρικό οξύ, ολική χολερυθρίνη ορού, άμεση χολερυθρίνη, SGOT, SGPT, γGT, LDH, CPK, ALP, ολικά λευκώματα, λευκωματίνη, αμυλάση ορού, κάλιο, νάτριο, ασβέστιο, PT, αPTT, INR, ινωδογόνο, φερριτίνη. Επίσης, οι ασθενείς, πριν την ένταξη τους στη μελέτη, υποβλήθηκαν σε σπινθηρογράφημα αιματώσεως του μυοκαρδίου σε κόπωση και ηρεμία (SPECT) και σε έλεγχο ΔΝΑΝΣ. Η εκτίμηση της ΔΝΑΝΣ έγινε μέσω τεσσάρων δοκιμασιών: (i) μεταβλητότητα καρδιακής συχνότητας κατά τη διάρκεια βαθιάς εκπνοής/εισπνοής, (ii) μεταβλητότητα καρδιακής συχνότητας από ύπτια σε όρθια θέση, (iii) Valsalva και (iv) μεταβολή αρτηριακής πίεσης από ύπτια σε όρθια θέση. Όσοι παρουσίαζαν παθολογικές δύο ή περισσότερες από τις παραπάνω δοκιμασίες, θεωρήθηκε ότι έπασχαν από ΔΝΑΝΣ. Για τη μέτρηση της μικρολευκωματινουρίας χρησιμοποιήθηκε ο λόγος αλβουμίνη/κρεατινίνη (<16 mg/L και ≥16 mg/L). Η ινσουλινοαντίσταση προσδιορίστηκε με το μοντέλο εκτίμησης ομοιόστασης (homeostasis model assessment, HOMA), το οποίο υπολογίστηκε σύμφωνα με τον τύπο: (ινσουλίνη νηστείας x γλυκόζη αίματος)÷22,5, όπου η ινσουλίνη εκφράστηκε σε μU/mL και η γλυκόζη σε mmol/L.

2.3. Στατιστική μεθοδολογία

Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέση τιμή±τυπική απόκλιση, ενώ οι κατηγορικές μεταβλητές ως απόλυτη και σχετική συχνότητα. Αρχικά έγινε χρήση των κριτηρίων χι-τετράγωνο και Student's t test προκειμένου να ελεγχθούν πιθανές διαφορές μεταξύ των διαβητικών που έπασχαν και των διαβητικών που δεν

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

έπασχαν από ΔΝΑΝΣ. Στη συνέχεια τα δεδομένα αναλύθηκαν με λογαριθμιστική παλινδρόμηση, όπου υπολογίστηκαν οι σχετικοί κίνδυνοι και τα αντίστοιχα 95% όρια αξιοπιστίας προκειμένου να διερευνηθούν πιθανές μονοπαραγοντικές και πολυπαραγοντικές συσχετίσεις. Το στατιστικό πακέτο SAS (SAS Institute Inc, Cary, NC, version 9.1) χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των δεδομένων. Όλες οι τιμές P βασίστηκαν σε δίπλευρους ελέγχους και συγκρίθηκαν με επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ίσο με το 5%.

3. Αποτελέσματα

Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε δείγμα 55 διαβητικών ασθενών με ΣΔτ2, εκ των οποίων 26 ήταν γυναίκες και 29 άντρες. Η μέση ηλικία του δείγματος ήταν 58,56±9,87 έτη, η μέση διάρκεια διαβήτη 7,94±7,06 έτη, ο μέσος ΔΜΣ (Δείκτης Μάζας Σώματος) 30,05±5,37 kg/m^2, η μέση αναλογία μέσης-ισχίων 0,93±0,08 cm και τα μέσα επίπεδα HOMA 82,70±64,92 mU/L*mg/dL. Από τους συμμετέχοντες 31 (56,4%) έπασχαν από ΔΝΑΝΣ.

Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται οι μεταβλητές της μελέτης ανάλογα με το αν οι συμμετέχοντες έπασχαν από ΔΝΑΝΣ. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων ως προς την κατανομή του φύλου (P=0,20), του ατομικού ιστορικού υπέρτασης (P=0,26), του ατομικού ιστορικού δυσλιπιδαιμίας (P=0,13), του οικογενειακού ιστορικού στεφανιαίας νόσου (P=0,68) και της μικρολευκωματινουρίας (P=0,24). Οι μέσες τιμές της ηλικίας, του ΔΜΣ, της αναλογίας μέσης-ισχύων, της διάρκειας του διαβήτη και της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των διαβητικών ασθενών που έπασχαν από ΔΝΑΝΣ και των διαβητικών ασθενών που δεν έπασχαν από την εν λόγω νόσο. Επίσης συγκρίθηκαν όλες οι αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις μεταξύ των δύο ομάδων, χωρίς όμως να παρατηρηθούν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Τα μέσα επίπεδα της HOMA ανέρχονταν σε 72,01±54,06 mU/L*mg/dL για όσους έπασχαν από ΔΝΑΝΣ και σε 96,50±75,69 mU/L*mg/dL για όσους δεν έπασχαν από ΔΝΑΝΣ, διαφορά η οποία δεν ήταν στατιστικά σημαντική (P=0,17).

Πίνακας 1. Κατανομή και μέσες τιμές των μεταβλητών της μελέτης ανάλογα με το αν οι συμμετέχοντες έπασχαν από ΔΝΑΝΣ.

Μεταβλητές	Νευροπάθεια του αυτόνομου νευρικού συστήματος		P-value
	Ναι	Όχι	
Φύλο			0,20
Θήλυ	17 (54,84)	9 (37,50)	
Άρρεν	14 (45,16)	15 (62,50)	
Ηλικία (έτη)	60,45±7,62	56,13±11,91	0,11
ΔΜΣ (kg/m^2)	30,54±5,13	29,41±5,71	0,44
Αναλογία μέσης-ισχίων (cm)	0,92±0,08	0,93±0,08	0,56
Διάρκεια διαβήτη (έτη)	7,73±7,33	8,21±6,84	0,80
Γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη HbA_{1c} (%)	6,92±1,25	6,79±1,22	0,70
Μικρολευκωματινουρία (mg/L)			0,24
A/C<16	20 (64,52)	19 (79,17)	
A/C≥16	11 (35,48)	5 (20,83)	
Ατομικό ιστορικό υπέρτασης			0,26
Όχι	16 (51,61)	16 (66,67)	
Ναι	15 (48,39)	8 (33,33)	
Ατομικό ιστορικό δυσλιπιδαιμίας			0,13
Όχι	13 (41,94)	15 (62,50)	
Ναι	18 (58,06)	9 (37,50)	
Οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου			0,68
Όχι	19 (65,52)	17 (70,83)	
Ναι	10 (34,48)	7 (29,17)	

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως N (%) ή ως μέση τιμή±τυπική απόκλιση

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

Στη συνέχεια έγινε χρήση λογαριθμιστικής παλινδρόμησης με εξαρτημένη δίτιμη μεταβλητή τη ΔΝΑΝΣ (ναι/όχι) και ανεξάρτητη τη HOMA, με δύο εναλλακτικούς τρόπους, ως συνεχή και ως κατηγορική (ανά τεταρτημόρια). Δεν βρέθηκε ένδειξη για πιθανή συσχέτιση της HOMA με τη ΔΝΑΝΣ σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πίνακα 2. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε πολυπαραγοντική ανάλυση με προσαρμογή για ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, αναλογία μέσης-ισχίων, διάρκεια διαβήτη και μικρολευκωματινουρία. Μετά την προσαρμογή, οι συσχετίσεις μεταξύ HOMA και ΔΝΑΝΣ παρέμειναν σχεδόν αμετάβλητες (πίνακας 3). Εναλλακτικά διερευνήσαμε το ενδεχόμενο συσχέτισης της HOMA μεμονωμένα με τις τέσσερεις επιμέρους δοκιμασίες της ΔΝΑΝΣ (μεταβλητότητα καρδιακής συχνότητας κατά τη διάρκεια βαθιάς εκπνοής/εισπνοής, μεταβλητότητα καρδιακής συχνότητας από ύπτια σε όρθια θέση, Valsalva και μεταβολή αρτηριακής πίεσης από ύπτια σε όρθια θέση) αλλά και σε αυτή την περίπτωση η στατιστική ανάλυση δεν ανέδειξε κάποια πιθανή συσχέτιση.

Πίνακας 2. Προτυπωμένος σχετικός κίνδυνος (ΣΚ) για νευροπάθεια του αυτόνομου νευρικού συστήματος και τα αντίστοιχα P-values που προέκυψαν από μοντέλα απλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης κατόπιν μεταβολής των τιμών της HOMA.

Μεταβλητές	Κατηγορία ή αύξηση	ΣΚ	P-value
Διαβητικοί			
HOMA*	1 επίπεδο επιπλέον	0,99	0,17
HOMA**	1 επίπεδο επιπλέον	0,77	0,29

*Η HOMA σε συνεχή μορφή, **Η HOMA σε κατηγορική μορφή (ανά τεταρτημόρια)

Πίνακας 3. Προτυπωμένος σχετικός κίνδυνος (ΣΚ) για νευροπάθεια του αυτόνομου νευρικού συστήματος και τα αντίστοιχα P-values που προέκυψαν από μοντέλα πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης κατόπιν μεταβολής των τιμών της HOMA και έπειτα από προσαρμογή για ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, αναλογία μέσης-ισχίων, διάρκεια διαβήτη και μικρολευκωματινουρία.

Μεταβλητές	Κατηγορία ή αύξηση	ΣΚ	P-value
Διαβητικοί			
HOMA*	1 επίπεδο επιπλέον	1,00	0,31
HOMA**	1 επίπεδο επιπλέον	0,88	0,69

*Η HOMA σε συνεχή μορφή, **Η HOMA σε κατηγορική μορφή (ανά τεταρτημόρια)

4. Συζήτηση

Υπολογίζεται ότι μεταξύ των ασθενών με ΣΔτ2, το 85–90% μπορεί να υποφέρει από κάποιας μορφής αντίσταση στην ινσουλίνη και το 70–75% από διαταραχή της έκκρισης ινσουλίνης.[7] Ινσουλινοαντίσταση και σακχαρώδης διαβήτης θεωρούνται ως αλληλένδετες διαταραχές χωρίς ωστόσο τα αποτελέσματα της διεθνούς βιβλιογραφίας να συνηγορούν μέχρι πρότινος ως προς το ποια διαταραχή προηγείται χρονικά έναντι της άλλης.[9–13] Από τους πιθανολογούμενους μηχανισμούς αντίστασης φαίνεται ότι μεγαλύτερη σημασία έχουν οι διαταραχές στους μεταφορείς γλυκόζης (GLUT 4), στη φωσφορυλίωση της γλυκόζης και τη σύνθεση γλυκογόνου, τα παράγωγα του λιπώδους ιστού και τα ελεύθερα λιπαρά οξέα. Φάρμακα όπως οι γλιταζόνες αυξάνουν την ευαισθησία των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης και συμβάλλουν στη μείωση των επιπέδων γλυκόζης σε διαβητικούς ασθενείς. Επίσης, η πιογλιταζόνη έχει βρεθεί ότι βελτιώνει τη ΔΝΑΝΣ και ελαττώνει τον νευροπαθητικό πόνο.[14] Τέλος, τα άτομα με ινσουλινοαντίσταση παρουσιάζουν συχνά φαινόμενα υποκλινικής συστηματικής φλεγμονής, όπως φανερώνουν τα αυξημένα επίπεδα της CRP και του ινωδογόνου.[15,16] Από την άλλη πλευρά, όσον αφορά στη ΔΝΑΝΣ, θεωρείται σήμερα ως μια πρώιμη επιπλοκή στην πορεία του σακχαρώδους διαβήτη, η οποία οδηγεί σε αυξημένα ποσοστά θνησιμότητας των διαβητικών ασθενών.[17,18]

Βάσει των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης δεν προέκυψαν επαρκείς ενδείξεις για στατιστικά σημαντική συσχέτιση της ινσουλινοαντίστασης με τη ΔΝΑΝΣ. Ωστόσο αρκετές μελέτες στο παρελθόν έχουν εντοπίσει παθογενετικούς μηχανισμούς μεταξύ των δύο αυτών επιπλοκών σε ομάδες διαβητικών ασθενών. Οι Gonzalez-Clemente σε μελέτη 120 ασθενών με ΣΔτ1 κάνουν λόγο για θετική συσχέτιση της ινσουλινοαντίστασης με τη ΔΝΑΝΣ, μέσω της διαμεσολάβησης της κυτοκίνης TNF-a,[19] τα αυξημένα επίπεδα της οποίας έχει τεκμηριωθεί ότι προκαλούν συχνά ινσουλινοαντίσταση. Οι Lee et al μελέτησαν τον ρόλο της ινσουλινοαντίστασης στην ανάπτυξη ΔΝΑΝΣ σε 86 ασθενείς με ΣΔτ2 και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ινσουλινοαντίσταση, όπως επίσης η υπεργλυκαιμία και η χοληστερόλη HDL, σχετίζονται με τη ΔΝΑΝΣ.[20] Στην πρόσφατη κορεατική μελέτη των Jung et al που πραγματοποιήθηκε σε δείγμα 142 ασθενών με ΣΔτ2, βρέθηκε ότι τα υψηλά επίπεδα HOMA αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης ΔΝΑΝΣ.[21] Για θετική συσχέτιση ινσουλινοαντίστασης και ΔΝΑΝΣ κάνουν επίσης λόγο οι Liao et al,[22] οι Frontoni et al[23] και οι Bondar et al.[24]

Η μελέτη αυτή ανέδειξε το ήδη τεκμηριωμένο προφίλ κινδύνου ΔΝΑΝΣ σε διαβητικούς ασθενείς. Σύμφωνα με

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

τα αποτελέσματά μας, η επίπτωση της ΔΝΑΝΣ ανέρχεται σε 56,4% στην ομάδα των 55 ασθενών με ΣΔτ2, ποσοστό αρκετά υψηλό συγκριτικά με τις υπάρχουσες βιβλιογραφικές ενδείξεις. Οι Jung et al χρησιμοποιώντας δείγμα 142 ασθενών με ΣΔτ2, υπολόγισαν την επίπτωση της ΔΝΑΝΣ σε 32,4%.[21] Σύμφωνα με μια άλλη πρόσφατη κορεατική μελέτη 118 ασθενών με ΣΔτ2, η επίπτωση της νόσου εκτιμάται στο 26,3%, αν και οι συγγραφείς επισημαίνουν ότι το ποσοστό αυτό αυξάνεται στο 65,3% για ασθενείς που έχουν πρώιμες ενδείξεις ΔΝΑΝΣ.[25] Οι Ziegler et al χρησιμοποιώντας αυστηρά κριτήρια για τον καθορισμό της ΔΝΑΝΣ, κάνουν λόγο για επίπτωση της νόσου της τάξης του 46,6%, ενώ, με χρήση πιο ελαστικών κριτηρίων των Ewing και Clarke, το αντίστοιχο ποσοστό εκτιμήθηκε σε 38,8%.[26]

Στη μελέτη μας δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση των δημογραφικών χαρακτηριστικών (φύλο και ηλικία) με τη ΔΝΑΝΣ. Ωστόσο συχνά αναφέρεται ότι αύξηση της ηλικίας σχετίζεται με μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ΔΝΑΝΣ.[27,28] Αναφορικά με τον ρόλο του φύλου, τα ευρήματα των μελετών είναι συχνά αντιφατικά, με τους Aaberg et al να αναφέρουν ότι οι άντρες, συγκριτικά με τις γυναίκες, αναπτύσσουν ΔΝΑΝΣ σε μεγαλύτερο ποσοστό και μάλιστα τα συμπτώματα εμφανίζονται νωρίτερα και είναι πιο βαριάς μορφής,[29] ενώ από την άλλη πλευρά οι Jung et al επισημαίνουν υψηλότερη επίπτωση της νόσου στις γυναίκες.[21]

Σύμφωνα με όσα προαναφέρθηκαν, παρατηρούμε σημαντικές αποκλίσεις των ευρημάτων διαφόρων μελετών που διερευνούν την επίπτωση της ΔΝΑΝΣ αλλά και τη σχέση ΔΝΑΝΣ και ινσουλινοαντίστασης. Μια πιθανή εξήγηση αυτού του φαινομένου είναι πιθανότατα το γεγονός ότι, μέχρι σήμερα, δεν υπάρχει κάποια ενιαία μέθοδος που να χρησιμοποιείται διεθνώς για τον καθορισμό της ΔΝΑΝΣ. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη χρήση πληθώρας μεθόδων και διαγνωστικών εργαλείων, καθιστώντας με τον τρόπο αυτόν προβληματικές τις διακρατικές και διαχρονικές συγκρίσεις των δεδομένων. Επιπρόσθετα, σύμφωνα με τις υπάρχουσες βιβλιογραφικές ενδείξεις, δεν μπορεί κανείς να αποφανθεί με βεβαιότητα εάν τα αυξημένα επίπεδα της ινσουλινοαντίστασης διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση ΔΝΑΝΣ. Αρκετές μελέτες που αναφέρουν θετική συσχέτιση ΔΝΑΝΣ και ινσουλινοαντίστασης δεν φαίνεται να λαμβάνουν υπ' όψιν τους, κατά τη στατιστική επεξεργασία, διάφορους πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες, οι οποίοι ενδεχομένως να τροποποιούν τη σχέση των δύο υπό διερεύνηση επιπλοκών. Από την άλλη πλευρά, το σχετικά μικρό δείγμα των 55 διαβητικών ασθενών που συμπεριλάβαμε ίσως να αποτελεί έναν από τους περιορισμούς της παρούσας έρευνας, αν και σε γενικές γραμμές καμία από τις μελέτες που διερευνούν το θέμα ΔΝΑΝΣ και ινσουλινοαντίστασης δεν έχουν ιδιαιτέρως μεγάλο δείγμα. Ωστόσο παρά το σχετικά περιορισμένο μέγεθος δείγματος της παρούσας μελέτης, θα πρέπει να αποκλειστεί το ενδεχόμενο μεροληψίας κατά την επιλογή του δείγματος και τη συλλογή των δεδομένων, μιας και όλοι οι συμμετέχοντες επιλέχθησαν από την ίδια νοσοκομειακή βάση, δεν υπήρξαν αρνήσεις και τέλος όλες οι συνεντεύξεις και οι απαραίτητες μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν από τον ίδιο ιατρό.

Δεδομένου ότι, μέχρι στιγμής, στη διεθνή βιβλιογραφία, τα αποτελέσματα διαφόρων μελετών ως προς τη σχέση και τη συμβολή της ινσουλινοαντίστασης στην ανάπτυξη της ΔΝΑΝΣ είναι συχνά αντικρουόμενα, θελήσαμε να εξετάσουμε το ενδεχόμενο συσχέτισης των δύο αυτών παραμέτρων σε δείγμα διαβητικών ασθενών στην Ελλάδα. Σύμφωνα με τα ευρήματα της μελέτης μας, δεν τεκμηριώνεται η ύπαρξη πιθανής συσχέτισης μεταξύ ινσουλινοαντίστασης και ΔΝΑΝΣ σε διαβητικούς ασθενείς. Ας μην ξεχνούμε άλλωστε ότι στην παθογένεια της ινσουλινοαντίστασης καθοριστικό ρόλο διαδραματίζουν ορισμένοι περιβαλλοντικοί παράγοντες που μπορούμε να επηρεάσουμε, όπως π.χ. το σωματικό βάρος (ειδικότερα η κοιλιακή παχυσαρκία), τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας, η διατροφή και το κάπνισμα, αν και ως έναν βαθμό εικάζεται ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη οφείλεται εν μέρει και σε γενετικούς παράγοντες. Ο άριστος μεταβολικός έλεγχος του σακχαρώδους διαβήτη μπορεί να προλάβει την εμφάνιση και να βελτιώσει ή και να αναστείλει την εξέλιξη της ΔΝΑΝΣ.

Βιβλιογραφία

1. Ziegler D, Gries FA, Spuler M et al. The epidemiology of diabetic neuropathy. Diabetic Cardiovascular Autonomic Neuropathy Multicenter Study Group. *J Diabet Complic* 1992, 6:49–57
2. O'Brien IA, O'Hare JP, Lewin IG et al. The prevalence of autonomic neuropathy in insulin-dependent diabetes mellitus: a controlled study based on heart rate variability. *Q J Med* 1986, 61:957–967
3. Orchard TJ, CE LL, Maser RE et al. Why does diabetic autonomic neuropathy predict IDDM mortality? An analysis from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabet Res Clin Pract* 1996, 34(Suppl):165–171
4. Ewing DJ, Campbell IW, Clarke BF. The natural history of diabetic autonomic neuropathy. *Q J Med* 1980, 49(193):95–108
5. Wackers FJ, Young LH, Inzucchi SE, Chyun DA, Davey JA, Barrett EJ et al. Detection of silent myocardial ischemia in asymptomatic diabetic subjects: the DIAD study. *Diabet Care* 2004, 27:1954–1961
6. Διδάγγελος ΤΠ. Διαβητική νευροπάθεια του αυτόνομου νευρικού συστήματος και καρδιαγγειακό σύστημα. *Ιατρική* 2008, 94:377–397
7. Αλεξανδρίδης Θ. Αντίσταση στην ινσουλίνη: μοριακοί μηχανισμοί, σακχαρώδης διαβήτης, μεταβολικό σύνδρομο, αθηροσκλή-

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

ρυνση. Στο: *Καρδιομεταβολικός Κίνδυνος*. Γ. Παρισιάνος, Αθήνα, 2007:759–793
8. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988, 37:1595–1607
9. Ferrannini E. Insulin resistance versus insulin deficiency in non-insulin-dependent diabetes mellitus: problems and prospects. *Endocr Rev* 1998, 19:477–490
10. Kahn SE. The importance of the beta-cell in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Am J Med* 2000, 108(Suppl 6a):2–8
11. DeFronzo RA. Lilly lecture 1987. The triumvirate: beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 1988, 37:667–687
12. Warram JH, Martin BC, Krolewski AS et al. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents. *Ann Intern Med* 1990, 113:909–915
13. Weyer C, Bogardus C, Mott DM et al. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1999, 104:787–794
14. Papanas N, Katsiki N, Hatzitolios AI et al. Pioglitazone: a valuable component of combination therapy for type 2 diabetes mellitus. *Expert Opin Pharmacother* 2011, 12:1457–1461
15. Haffner SM. Insulin resistance, inflammation and the prediabetic state. *Am J Cardiol* 2003, 92:18–26
16. Frohlich M, Imhof A, Berg G et al. Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome: a population-based study. *Diabet Care* 2000, 23:1835–1839
17. Ewing DJ, Clarke BF. Autonomic neuropathy: its diagnosis and prognosis. *Clin Endocrinol Metab* 1986, 15:855–888
18. Bruna J, Navarro X. Autonomic neuropathy in diabetes mellitus. *Rev Neurol* 2005, 40:102–110
19. Gonzalez-Clemente JM, Mauricio D, Richart C et al. Diabetic neuropathy is associated with activation of the TNF-alpha system in subjects with type 1 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol* (Oxf) 2005, 63:525–529
20. Lee KO, Nam JS, Ahn CW et al. Insulin resistance is independently associated with peripheral and autonomic neuropathy in Korean type 2 diabetic patients. *Acta Diabetol* 2012, 49:97–103
21. Jung CH, Kim BY, Kim CH et al. Association of serum adipocytokine levels with cardiac autonomic neuropathy in type 2 diabetic patients. *Cardiovasc Diabetol* 2012, 11:24
22. Liao D, Cai J, Brancati FL et al. Association of vagal tone with serum insulin, glucose, and diabetes mellitus. The ARIC Study. *Diabet Res Clin Pract* 1995, 30:211–221
23. Frontoni S, Bracaglia D, Gigli F. Relationship between autonomic dysfunction, insulin resistance and hypertension, in diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005, 15:441–449
24. Bondar IA, Shabel'nikova O. Clinical and metabolic risk factors for cardiovascular autonomic neuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Ter Arkh* 2010, 82:15–19
25. Moon SS, Choi YK, Seo HA et al. Relationship between cardiovascular autonomic neuropathy and coronary artery calcification in patients with type 2 diabetes. *Endocr J* 2010, 57:445–454
26. Ziegler D, Dannehl K, Muhlen H et al. Prevalence of cardiovascular autonomic dysfunction assessed by spectral analysis, vector analysis, and standard tests of heart rate variation and blood pressure responses at various stages of diabetic neuropathy. *Diabet Med* 1992, 9:806–814
27. Masaoka S, Lev-Ran A, Hill LR et al. Heart rate variability in diabetes: relationship to age and duration of the disease. *Diabet Care* 1985, 8:64–68
28. Tentolouris N, Liatis S, Moyssakis I et al. Aortic distensibility is reduced in subjects with type 2 diabetes and cardiac autonomic neuropathy. *Eur J Clin Invest* 2003, 33:1075–1083
29. Aaberg ML, Burch DM, Hud ZR et al. Gender differences in the onset of diabetic neuropathy. *J Diabet Complic* 2008, 22:83–87

Ημερομηνία Υποβολής 30/11/2012
Ημερομηνία Έγκρισης 28/01/2013

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

Ελληνική Επιθεώρηση Αθηροσκλήρωσης 4(1):66 **Hellenic Journal of Atherosclerosis** 4(1):66

«Η Ιστορία της Ισλαμικής Ιατρικής»

Ταξιδεύοντας στις χώρες και τις εποχές της Χρυσής Περιόδου του Ισλάμ.

Σχορετσανίτης Γεώργιος, Δεκέμβριος 2011, ΒΗΤΑ Ιατρικές Εκδόσεις, 25 Ευρώ.

Δρ. Ανδρέας Μανιός, Πλαστικός Χειρουργός
Διευθυντής ΕΣΥ, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου

Διάβασα προσεκτικά το βιβλίο «Ισλαμική ιατρική» που εξέδωσε ο εκδοτικός οίκος ΒΗΤΑ Ιατρικές Εκδόσεις το 2011.

Το βιβλίο είναι γραμμένο με μεγάλη συγγραφική δεξιοτεχνία, παρόλο που όπως λέγει ο δημιουργός του δεν διεκδικεί τον τίτλο του συγγραφέα. Ο κ. Γεώργιος Σχορετσανίτης γνωστός και ικανότατος χειρουργός, είναι διευθυντής του ΕΣΥ στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου. Ο κ. Σχορετσανίτης στο βιβλίο αυτό με απλά λόγια κάνει μύηση του αναγνώστη στην ισλαμική ιατρική που αναπτύχθηκε μετά την κατάρρευση του οικοδομήματος της αρχαίας ελληνικής και βυζαντινής ιατρικής.

Ο συγγραφέας χωρίς να έχει κάποια ιδιαίτερη σχέση με το Ισλάμ, πέρα από τα πολλαπλά και επανειλημμένα ταξίδια του σε τόπους που ήταν κέντρα ανάπτυξης της ισλαμικής ιατρικής, προβάλλει την ουσία, το πνεύμα αλλά και τους ανθρώπους μιας περιόδου της ιατρικής που είναι σχετικά άγνωστη στη Δύση όχι μόνο στο ευρύ κοινό αλλά και στον ιατρικό κόσμο.

Τα κεφάλαια που συνιστούν το βιβλίο είναι οργανωμένα με τέτοιο τρόπο που βοηθούν σημαντικά την αναγνωσιμότητα του βιβλίου, ενώ είναι διανθισμένα με πολυπληθείς εικόνες, οι περισσότερες των οποίων προέρχονται από τη φωτογραφική μηχανή του συγγραφέα και λήφθηκαν κατά την επίσκεψή του στις πόλεις και τα μουσεία που ήταν σταθμοί της ισλαμικής ιατρικής.

Οι ιατροί του Ισλάμ βασίστηκαν κυρίως στις γνώσεις των Ελλήνων, των Περσών, των Ινδών κ.ά. και ανέπτυξαν δικές τους θεωρίες, με αποτέλεσμα ένα λαμπρό σύστημα ιατρικής. Η μεγάλη πρόοδος της ιατρικής έγινε στο Ισλάμ στη λεγόμενη Χρυσή Περίοδο που αφορά στο διάστημα από τον 7ο έως τον 14ο αιώνα.

Στο πρώτο μέρος του βιβλίου παρουσιάζονται θέματα όπως, ο ρόλος του ιεροδιδασκαλείου και των τζαμιών στην ιατρική εκπαίδευση, τα Νοσοκομεία, τα Πανεπιστήμια και οι Ιατρικές Σχολές.

Στο δεύτερο μέρος προβάλλονται με πολύ κατατοπιστικό τρόπο, η συμβολή του Ισλάμ στους διάφορους κλάδους της Ιατρικής ενώ οι μουσουλμάνοι ιατροί και τα επιτεύγματα τους στο τρίτο μέρος του βιβλίου .

Θα πρέπει να ακούμε και να βλέπουμε προσεκτικά οποιονδήποτε προσφέρει νέα τεκμηριωμένη γνώση για περιόδους της Ιστορίας της Ιατρικής που δεν έχουν φωτισθεί επαρκώς, όπως η περίοδος άνθησης της Ισλαμικής Ιατρικής.

Με το βιβλίο του, ο κ. Σχορετσανίτης προσφέρει πληροφορίες και γνώσεις που συμβάλλουν στην κάλυψη ενός μεγάλου χάσματος πληροφόρησης, όχι μόνο για τον ελληνικό, αλλά και για τον διεθνή ιατρικό κόσμο.

Το βιβλίο αυτό στις μέχρι τώρα βιβλιοκρισίες έχει αποσπάσει πολύ ευνοϊκά σχόλια, και μάλιστα η έκδοσή του έχει προβληθεί όχι μόνο από τα ελληνικά αλλά και από τα διεθνή ισλαμικά μέσα ενημέρωσης όπως το Al Jazeera.

Πιστεύω ότι οφείλουμε να συγχαρούμε τον κ. Γ. Σχορετσανίτη για το βιβλίο του, που αποτελεί μια σπουδαία γέφυρα επικοινωνίας των ιατρών με το σχετικά άγνωστο οικοδόμημα της ισλαμικής ιατρικής. Επίσης, μπορεί να προκαλέσει ερέθισμα για τους νέους ιατρούς να διδαχθούν ένα μέρος από την ιστορία της ιατρικής, που όπως λέγει γι' αυτή ο Henry Sigerist είναι η ίδια η ιατρική.

Δρ. Ανδρέας Μανιός
Πλαστικός Χειρουργός, Διευθυντής ΕΣΥ
Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

ΟΔΗΓΙΕΣ ΠΡΟΣ ΤΟΥΣ ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ

Η «ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΠΙΘΕΩΡΗΣΗ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ», έκδοση της Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης, έχει ως στόχο τη συνεχή επιμόρφωση επιστημόνων διαφόρων ειδικοτήτων όπως Ιατρών, Βιολόγων, Βιοχημικών, Διαιτολόγων, κ.λπ. σε θέματα που αφορούν στην παθογένεια, στη διάγνωση και στη θεραπεία της αθηρωματικής νόσου. Για την πραγμάτωση αυτού του σκοπού δημοσιεύονται στο περιοδικό:

1. Άρθρα Σύνταξης. Σύντομα άρθρα ανασκόπησης σε επίκαιρα ή και αμφιλεγόμενα θέματα σχετικά με την αθηροσκλήρωση και την καρδιαγγειακή νόσο, χωρίς περίληψη (με έως και τρεις λέξεις κλειδιά), τα οποία γράφονται με προτροπή της Συντακτικής Επιτροπής.

2. Ανασκοπήσεις. Ολοκληρωμένες αναλύσεις επίκαιρων θεμάτων σχετικών με την αθηροσκλήρωση και την καρδιαγγειακή νόσο.

3. Ερευνητικές εργασίες. Κλινικές δοκιμές, πειραματικές και επιδημιολογικές μελέτες προοπτικού ή αναδρομικού χαρακτήρα σχετικές με την αθηροσκλήρωση, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν με βάση ερευνητικό πρωτόκολλο, το οποίο θα περιγράφεται αναλυτικά στη μεθοδολογία. Οι εργασίες αυτές θα πρέπει να περιέχουν πρωτότυπα αποτελέσματα (εξαιρούνται τα αποτελέσματα που έχουν δημοσιευθεί με τη μορφή περιλήψεων σε επιστημονικά). Οι κλινικές και οι επιδημιολογικές μελέτες που αφορούν σε Ελληνικό πληθυσμό και έχουν γενικότερο ενδιαφέρον δημοσιεύονται κατά προτεραιότητα. Κατ' εξαίρεση και μετά από απόφαση της Συντακτικής Επιτροπής δύνανται να δημοσιευθούν αυτούσιες ερευνητικές εργασίες Ελλήνων επιστημόνων, οι οποίες δημοσιεύθηκαν σε έγκριτα διεθνή περιοδικά και των οποίων τα αποτελέσματα αφορούν άμεσα στον ελληνικό χώρο. Οι εργασίες αυτές μεταφράζονται με τη φροντίδα των συγγραφέων οι οποίοι και μεριμνούν για την εξασφάλιση γραπτής άδειας από τους έχοντες τα πνευματικά δικαιώματα.

4. Κλινικές απόψεις. Διαγνωστική, θεραπευτική και επιδημιολογική προσέγγιση διαφόρων κλινικών εκδηλώσεων της αθηρωματικής νόσου, με δεδομένα τα οποία παρουσιάζονται κατά προτίμηση με τη μορφή αλγορίθμου.

5. Ενδιαφέροντα περιστατικά. Γίνονται δεκτά άρθρα (μέχρι 6 συγγραφείς), τα οποία αφορούν σε νέες ή σε πολύ σπάνιες κλινικές εκδηλώσεις της αθηρωματικής νόσου, στις οποίες εφαρμόστηκαν νέα διαγνωστικά κριτήρια και για τα οποία ακολουθήθηκε νέα θεραπευτική προσέγγιση.

6. Συνέδρια, σεμινάρια, στρογγυλά τραπέζια. Περιλήψεις ή σύντομα κείμενα ομιλιών σε συνέδρια, σεμινάρια ή στρογγυλά τραπέζια σχετικά με την αθηροσκλήρωση που διοργανώνει ή θέτει υπό την αιγίδα της η Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης ή περιλήψεις που ανακοινώθηκαν με τη μορφή αναρτημένων ανακοινώσεων (posters) σε συνέδρια της Ελληνικής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης.

7. Βιβλιοπαρουσιάσεις. Αναφέρονται ο τίτλος του βιβλίου, οι συγγραφείς, η χρονολογία και ο τόπος έκδοσης, ο εκδοτικός οίκος και η τιμή πώλησης.

8. Γράμματα προς τη Σύνταξη. Περιέχουν κρίσεις για δημοσιευμένα άρθρα, πρόδρομα αποτελέσματα εργασιών, παρατηρήσεις για ανεπιθύμητες ενέργειες, κρίσεις για το περιοδικό κ.λπ. Δημοσιεύονται ενυπόγραφα.

Προηγούμενη ή ταυτόχρονη δημοσίευση. Τα άρθρα, που υποβάλλονται στην ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΠΙΘΕΩΡΗΣΗ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ, θα θεωρούνται για δημοσίευση με την προϋπόθεση ότι τα αποτελέσματα ή το ίδιο κείμενο δεν έχουν δημοσιευθεί και δεν έχουν υποβληθεί για δημοσίευση σε άλλο περιοδικό. Ο υπεύθυνος για την αλληλογραφία συγγραφέας πρέπει οπωσδήποτε να αναφέρει στη συνοδευτική επιστολή, ότι η εργασία δεν έχει υποβληθεί για δημοσίευση σε άλλο περιοδικό. Μπορούν όμως να δημοσιευθούν οριστικά αποτελέσματα εργασιών που έχουν δημοσιευθεί υπό τη μορφή πρόδρομης ανακοίνωσης. Αν έχουν κατά οποιονδήποτε τρόπο δημοσιευθεί πρόδρομα αποτελέσματα, θα πρέπει να συνυποβάλονται αντίγραφα των δημοσιεύσεων αυτών σε μορφή PDF.

Υποβολή εργασιών. Γίνονται δεκτές εργασίες στην ελληνική ή αγγλική γλώσσα. Τα προς δημοσίευση άρθρα υποβάλλονται ηλεκτρονικά σε μορφή PDF στον υπεύθυνο γραμματείας σύνταξης **Δρ Τέλλη Κωνσταντίνο (Εργαστήριο Βιοχημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 45 110 Ιωάννινα, Τηλ.: 26510-08326, Fax: 26510-08785, E-mail: hjathero@cc.uoi.gr).** Το άρθρο πρέπει να συνοδεύεται από επιστολή, που υπογράφεται από τον υπεύθυνο για την αλληλογραφία συγγραφέα και υποβάλλεται επίσης ηλεκτρονικά σε μορφή PDF. Η συνοδευτική επιστολή πρέπει να περιλαμβάνει δήλωση ότι η εργασία έχει εγκριθεί από όλους τους συγγραφείς. Επίσης ο υπεύθυνος για την αλληλογραφία συγγραφέας πρέπει να υποβάλει ηλεκτρονικά σε μορφή PDF το ειδικό έντυπο της ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΠΙΘΕΩΡΗΣΗΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ, υπογεγραμμένο από όλους τους συγγραφείς με το οποίο τα πνευματικά δικαιώματα μεταβιβάζονται στο περιοδικό. Σε περίπτωση υποβολής ερευνητικής εργασίας δημοσιευμένης σε περιοδικό του εξωτερικού για αναδημοσίευση, θα τονίζεται ρητά ότι οι συγγραφείς έχουν εξασφαλίσει την έγγραφη άδεια των εχόντων τα πνευματικά δικαιώματα, η οποία και θα επισυνάπτεται. Όταν η εργασία γίνει αποδεκτή, το τελικό διορθωμένο κείμενο υποβάλλεται ηλεκτρονικά σε μορφή WORD και PDF. Ό,τι δημοσιεύεται στην ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΠΙΘΕΩΡΗΣΗ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ, δεν επιτρέπεται να αναδημοσιευθεί χωρίς γραπτή έγκριση του Διευθυντή Σύνταξης.

Έκταση άρθρων. Τα άρθρα σύνταξης δεν πρέπει να υπερβαίνουν τις 1000 λέξεις. Οι ανασκοπήσεις δεν πρέπει να υπερβαίνουν τις 5000 λέξεις συμπεριλαμβανομένων των πινάκων, των τίτλων των εικόνων και της βιβλιογραφίας και μπορούν να περιέχουν έως 3 εικόνες. Η Σύνταξη διατηρεί το δικαίωμα δημοσίευσης ανασκοπήσεων με μεγαλύτερη έκταση. Οι ερευνητικές εργασίες πρέπει να είναι συντομότερες και γενικά να μην υπερβαίνουν τις 4000 λέξεις συμπεριλαμβανομένων των πινάκων, των τίτλων των εικόνων και της βιβλιογραφίας, και μπορούν να περιέχουν έως 6 εικόνες. Οι κλινικές απόψεις δεν πρέπει να υπερβαίνουν τις 1500 λέξεις, τα ενδιαφέροντα περιστατικά τις 1000 λέξεις και τα γράμματα προς τη Σύνταξη τις 500 λέξεις.

Δομή του κειμένου. Η ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΠΙΘΕΩΡΗΣΗ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ έχει αποδεχθεί τις ομοιόμορφες απαιτήσεις για τα Βιοϊατρικά Περιοδικά (σύστημα Vancouver) και οι οδηγίες της προς τους συγγραφείς είναι σύμφωνες με τις απαιτήσεις αυτές. Τα κείμενα πρέπει να δακτυλογραφούνται σε διπλό διάστημα συνηθισμένων διαστάσεων (ISO A4 210×297 mm), με περιθώρια τουλάχιστον 3,5 cm. Πρέπει να χρησιμοποιούνται ξεχωριστές σελίδες για τον τίτλο, την περίληψη και τις λέξεις-κλειδιά, το κυρίως κείμενο, τις ευχαριστίες, τη βιβλιογραφία, τους πίνακες και τους τίτλους των εικόνων.

Σελίδα τίτλου. Περιλαμβάνει (α) τον τίτλο του άρθρου (μέχρι 12 λέξεις), (β) βραχύ τίτλο (όχι μεγαλύτερο των 50 χαρακτήρων), (γ) ονόματα συγγραφέων (στην ονομαστική) και τίτλο, (δ) το νοσοκομείο (ή νοσοκομεία), την κλινική (ή κλινικές), το εργαστήριο (ή εργαστήρια) όπου πραγματοποιήθηκε ή εργασία, (ε) πλήρη ταχυδρομική διεύθυνση, αριθμό τηλεφώνου και FAX καθώς και διεύθυνση e-mail του υπεύθυνου για επικοινωνία συγγραφέα. Σε περίπτωση αναδημοσίευσης ερευνητικής εργασίας θα αναγράφεται επιπλέον ο πρωτότυπος τίτλος, το περιοδικό στο οποίο δημοσιεύθηκε καθώς και το έτος, ο τόμος και οι σελίδες του περιοδικού.

Περίληψη και λέξεις ευρετηρίου. Οι περιλήψεις των ανασκοπήσεων και των ερευνητικών εργασιών πρέπει να αποτελούνται το πολύ από 250 λέξεις, ενώ αυτές των επίκαιρων θεμάτων και των περιγραφών περιπτώσεων ασθενών, το πολύ από 150 λέξεις. Για τις ανασκοπήσεις πρέπει να εφαρμόζονται οι περιγραφικές περιλήψεις (descriptive), οι οποίες αναφέρουν συνοπτικά όλα τα κεφάλαια που περιέχει το άρθρο και σημαντικά συμπεράσματα. Οι περιλήψεις των ερευνητικών εργασιών πρέπει να χωρίζονται σε τέσσερεις παραγράφους, οι οποίες φέρουν κατά σειρά την ακόλουθη επικεφαλίδα: Σκοπός, Υλικό-Μέθοδος, Αποτελέσματα, Συμπεράσματα. Μετά την περίληψη παρατίθενται 3–10 λέξεις κλειδιά. Οι λέξεις αυτές πρέπει να αντιστοιχούν στους διεθνείς όρους που χρησιμοποιεί το Index Medicus-MESH Ελλάς, Έκδοση ΕΙΣ, ΙΑΤΡΟΤΕΚ.

Κείμενο. Οι ερευνητικές εργασίες αποτελούνται συνήθως από τα κεφάλαια: Εισαγωγή, Υλικό ή ασθενείς και μέθοδος, Αποτελέσματα, Συζήτη-

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

ση. Η εισαγωγή περιλαμβάνει τις απαραίτητες βιβλιογραφικές παραπομπές και αναφέρει τον λόγο για τον οποίο πραγματοποιήθηκε η εργασία. Στη μεθοδολογία περιγράφεται το πρωτόκολλο, με βάση το οποίο εξελίχθηκε η έρευνα. Αναφέρονται λεπτομερώς ο τρόπος επιλογής ασθενών ή οποιουδήποτε υλικού, καθώς και η μέθοδος η οποία εφαρμόστηκε, ώστε η ίδια έρευνα να μπορεί να αναπαραχθεί από μελλοντικούς ερευνητές. Στην περίπτωση ερευνών που αφορούν σε ανθρώπους, πρέπει να τονίζεται ότι η έρευνα πραγματοποιήθηκε με βάση τη Διακήρυξη του Ελσίνκι (1975). Οι φαρμακευτικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη πρέπει να αναφέρονται με την κοινόχρηστη ονομασία τους. Περιγράφεται το υλικό που αξιολογήθηκε κατά τη διάρκεια της μελέτης και το κεφάλαιο ολοκληρώνεται με τα στατιστικά κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν. Στο επόμενο κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ολοκληρωμένα, αλλά σύντομα. Όσα αναφέρονται σε πίνακες, δεν επαναλαμβάνονται στο κείμενο. Στη συζήτηση μπορεί να γίνει σύγκριση με τα αποτελέσματα άλλων ομοειδών εργασιών και περιγράφονται οι προοπτικές που διανοίγονται με τα αποτελέσματα της μελέτης, καθώς και τα τελικά συμπεράσματα. Δεν επαναλαμβάνονται όσα έχουν αναφερθεί στα αποτελέσματα, τα οποία πρέπει να συνδέονται με τους στόχους της μελέτης. Πρέπει να αποφεύγονται αυθαίρετα συμπεράσματα, τα οποία δεν τεκμηριώνονται με τα αποτελέσματα της εργασίας. Στα ενδιαφέροντα περιστατικά προηγείται η εισαγωγή και ακολουθούν η περιγραφή του περιστατικού και η συζήτηση. Στα υπόλοιπα είδη άρθρων, το κείμενο διαμορφώνεται ανάλογα με τις απαιτήσεις και τους στόχους του συγγραφέα.

Ευχαριστίες. Απευθύνονται μόνο προς τα άτομα τα οποία έχουν βοηθήσει ουσιαστικά.

Βιβλιογραφικές παραπομπές. Οι βιβλιογραφικές παραπομπές στο κείμενο αριθμούνται με αύξοντα αριθμό, ανάλογα με τη σειρά που εμφανίζονται. Σε περίπτωση αναφοράς σε ονόματα συγγραφέων στο κείμενο, εφόσον είναι ξένοι, μετά το επώνυμο του πρώτου συγγραφέα ακολουθεί η συντομογραφία et al, ενώ στους Έλληνες συγγραφείς «και συν». Εφόσον οι συγγραφείς είναι δύο, μεταξύ των επωνύμων τοποθετείται η λέξη «και». Όλες οι βιβλιογραφικές παραπομπές του κειμένου –και μόνον αυτές– πρέπει να υπάρχουν στο βιβλιογραφικό κατάλογο. Ο αριθμός των βιβλιογραφικών παραπομπών πρέπει να περιορίζεται στον τελείως απαραίτητο. Στις ανασκοπήσεις, οι βιβλιογραφικές παραπομπές δεν πρέπει να είναι περισσότερες από 100. Στα άρθρα επικαιρότητας (κλινικές απόψεις, ενδιαφέροντα περιστατικά) πρέπει να αναφέρονται μέχρι 10 άρθρα ή μονογραφίες, για τα οποία ο συγγραφέας πιστεύει ότι είναι απαραίτητα για την ολοκληρωμένη πληροφόρηση του αναγνώστη για το θέμα. Τα γράμματα προς τη Σύνταξη δεν πρέπει να έχουν περισσότερες από 5 βιβλιογραφικές παραπομπές.

Η σύνταξη του βιβλιογραφικού καταλόγου γίνεται αριθμητικά, με βάση τον αύξοντα αριθμό και τη σειρά των βιβλιογραφικών παραπομπών στο κείμενο. Αναφέρονται τα επώνυμα και τα αρχικά των ονομάτων όλων των συγγραφέων μέχρι 3 (όταν είναι περισσότεροι ακολουθεί η ένδειξη et al), ο τίτλος της εργασίας, η συντομογραφία του τίτλου του περιοδικού, το έτος, ο τόμος, η πρώτη και η τελευταία σελίδα της δημοσίευσης· π.χ. *You CH, Lee KY, Chey WY et al. The role of oxidative stress in atherosclerosis. Circulation 1980, 79:311–314.* Σε περίπτωση που δεν αναφέρεται όνομα συγγραφέως, σημειώνεται η λέξη Ανώνυμος (για ελληνική δημοσίευση) ή *Anonymous. Π.χ. Anonymous. Coffee drinking and atherosclerosis (Editorial). Br Med J 1981, 283:628.* Παραπομπές οι οποίες αναφέρονται σε εργασίες που δημοσιεύονται σε συμπληρώματα (supplements) εκδόσεων, πρέπει να συνοδεύονται με τον αριθμό του συμπληρώματος, που σημειώνεται σε παρένθεση μετά τον τόμο. π.χ. *Eur Heart Journal 1996, 54(Suppl 1):26.* Οι συντμήσεις των τίτλων των περιοδικών πρέπει να γίνονται με βάση το Index Medicus. Δεν τοποθετούνται τελείες στα ακρώνυμα των συγγραφέων και στις συντμήσεις των περιοδικών. Για την καταχώρηση συγγραμμάτων ή μονογραφιών στο βιβλιογραφικό κατάλογο, αναφέρονται στη σειρά τα επώνυμα και τα αρχικά των συγγραφέων, ο τίτλος, ο αριθμός έκδοσης, ο εκδότης, η πόλη έκδοσης, το έτος και οι σελίδες της αναφοράς. Η αναφορά σε κεφάλαιο βιβλίου πρέπει να γίνεται με τον ακόλουθο τρόπο: *Παπαθανασίου ΙΒ. Πλειοτροπικές δράσεις των στατινών. Στο: Υπολιπιδαιμική αγωγή στην αθηρωματική νόσο. ΒΗΤΑ, Αθήνα, 1983:67–113.* Αν η βιβλιογραφική παραπομπή αποτελεί κεφάλαιο συγγράμματος το οποίο έχει γραφεί από άλλο συγγραφέα, η αναφορά γίνεται ως εξής: *Kuhn L, Swartz MN. Toll-like receptors. In: (Στο): Lee WA (ed) (ή eds ή Συντ.) Inflammation and Atherosclerosis. Saunders, Philadelphia, 1987:457–472.*

Μη δημοσιευμένες εργασίες καθώς και «προσωπικές επικοινωνίες» δε χρησιμοποιούνται ως βιβλιογραφικές παραπομπές. Άρθρα, τα οποία έχουν γίνει δεκτά για δημοσίευση, μπορούν να περιληφθούν στη βιβλιογραφία. Στην τελευταία περίπτωση, μετά τη συντομογραφία του περιοδικού σημειώνεται η ένδειξη «υπό δημοσίευση». Η αναφορά της ελληνικής βιβλιογραφίας είναι υποχρεωτική και είναι δυνατό να αναζητηθεί από την Ελληνική Βάση Ιατρικής Βιβλιογραφίας (ΙΑΤΡΟΤΕΚ), www.iatrotek.org.

Αγγλική περίληψη. Περιλαμβάνει τα ονόματα των συγγραφέων και την ιδιότητά τους, τον τίτλο της εργασίας και το ίδρυμα ή το εργαστήριο από το οποίο προέρχεται η εργασία. Η περίληψη δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 250 λέξεις, ενώ για τα επίκαιρα θέματα και τις περιγραφές περιπτώσεων ασθενών τις 150 λέξεις. Η δομή, η έκταση, το περιεχόμενο και οι λέξεις κλειδιά της Αγγλικής περίληψης πρέπει να είναι αντίστοιχα αυτών της Ελληνικής περίληψης. Η ποιότητα των αγγλικών περιλήψεων πρέπει να είναι αρκετά ικανοποιητική, επειδή αποτελεί σημαντικό κριτήριο αποδοχής του περιοδικού στους διεθνείς καταλόγους βιοϊατρικών περιοδικών.

Αρίθμηση κεφαλαίων σε ανασκοπήσεις. Όλα τα κεφάλαια αριθμούνται με αραβικούς αριθμούς: 1, 2, 3 κ.λπ. Τα υποκεφάλαια φέρουν τον αριθμό του αρχικού κεφαλαίου, τελεία και ακολουθεί ο αριθμός του υποκεφαλαίου: 1.1., 1.2. ή 1.1.1., 1.2.1. κ.ο.κ.

Πίνακες. Δακτυλογραφούνται με διπλό διάστημα, σε χωριστή σελίδα. Αριθμούνται με τη σειρά που εμφανίζονται στο κείμενο, με αραβικούς αριθμούς. Πρέπει να φέρουν περιεκτική σύντομη επεξήγηση, ώστε για την κατανόησή τους να μην είναι απαραίτητο να καταφύγει ο αναγνώστης στο κείμενο. Κάθε στήλη φέρει επεξηγηματική σύντομη επικεφαλίδα. Οι επεξηγήσεις των συντομογραφιών, καθώς και οι λοιπές διευκρινίσεις, γίνονται στο τέλος του πίνακα.

Εικόνες. Τα σχήματα, σχεδιασμένα σε υπολογιστή, και οι φωτογραφίες πρέπει να στέλνονται στο πρωτότυπο, ώστε να είναι κατάλληλα για άμεση αναπαραγωγή και εκτύπωση. Οι τίτλοι των εικόνων πρέπει να αναγράφονται με τον αριθμό που αντιστοιχεί στην εικόνα, σε χωριστή σελίδα. Επεξηγήσεις σχετικές με τις εικόνες μπορούν να αναφερθούν στον τίτλο. Για το μέγεθος των εικόνων, συμβουλευθείτε το σχήμα του περιοδικού. Εφόσον χρησιμοποιούνται φωτογραφίες ασθενών, το πρόσωπο δεν πρέπει να φαίνεται. Στην αντίθετη περίπτωση, επιβάλλεται έγγραφη συγκατάθεση του ασθενούς για τη δημοσίευση της φωτογραφίας. Όλες οι εικόνες αναφέρονται στο κείμενο και αριθμούνται με αραβικούς αριθμούς.

Ονοματολογία και μονάδες μέτρησης. Προκειμένου για την επιλογή των όρων και των ονομάτων (ουσιών, οντοτήτων, οργανισμών, νοσημάτων κ.λπ.), κρίνεται σκόπιμο οι συγγραφείς να συμβουλεύονται το Λεξιλόγιο σύγχρονων Ελληνοαγγλικών λεξικών Βιοϊατρικής Ορολογίας. Οι συγγραφείς πρέπει να χρησιμοποιούν τους παγκοσμίως παραδεκτούς τίτλους και τις μονάδες μετρήσεων του SI.

Διόρθωση τυπογραφικών δοκιμίων. Πραγματοποιείται μία φορά από τους συγγραφείς. Εκτεταμένες μεταβολές δε γίνονται δεκτές.

Ανάτυπα. Απαγορεύεται η φωτοτυπική αναπαραγωγή των δημοσιευμένων εργασιών. Η προμήθεια από τους συγγραφείς ανατύπων γίνεται αποκλειστικά από την εκδοτική εταιρία ΒΗΤΑ.

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

The journal HELLENIC JOURNAL OF ATHEROSCLEROSIS, edited by the Hellenic Society of Atherosclerosis, aims at the continuous education of scientists of various disciplines including Medical doctors, Biologists, Biochemists, Dieticians, etc in various topics related to the pathogenesis, diagnosis and treatment of atherosclerosis. To this purpose it is looking to promote scientific papers on the following sections:

1. Editorials. Brief review articles on current and/or ambiguous topics related to Atherosclerosis and cardiovascular disease without abstract, written after invitation of the Editorial Board. Three key-words should be listed.

2. Reviews. Detailed surveys of medical subjects with the emphasis on current points of view related to atherosclerosis and cardiovascular disease.

3. Original papers. Reports on clinical trials or experimental work and epidemiological prospective or retrospective research in topics related to atherosclerosis, based on a research protocol described in detail in the methodology section. The results of the study should not have been previously published (except in abstract form). Clinical and epidemiological studies with particular interest to Greek healthcare workers will be given priority. Quite exceptionally original papers published in distinguished foreign journals by Greek scientists especially when their results are relevant for the Greek medical community can be republished in HELLENIC JOURNAL OF ATHEROSCLEROSIS after been approved by the Editorial Board. These papers must be translated by the authors, who also have to obtain written permission by the copyright owners.

4. Clinical points of view. A diagnostic, therapeutic or epidemiological approach to several clinical syndromes of the atherosclerotic disease; the data for and against should be in algorithmic form.

5. Case reports. Reports on new or very rare clinical cases of atherosclerotic disease, new diagnostic criteria or new therapeutic methods with proven results.

6. Conferences, seminars, round tables. Abstracts or short texts of speakers participated in conferences, seminars or round tables related to atherosclerosis organized by, or been under, the auspices of the Hellenic Atherosclerosis Society or abstracts presented as posters in conferences organized by the Hellenic Atherosclerosis Society.

7. Book presentations. They should refer to the title of the book, the authors' name(s), the number of pages, the name of the publisher, the date and the place of publication and the price.

8. Correspondence. Letters containing comments on papers published in the journal, preliminary results, remarks about untoward effects of drugs, judgments concerning the journal etc. They must be signed.

Previous or duplicate publication. Papers submitted to HELLENIC JOURNAL OF ATHEROSCLEROSIS are judged for publication on the condition that the results or the paper itself have not been previously published or submitted for publication in another journal. The corresponding author should report in the cover letter that the research work has not been published or submitted for publication in an other journal. An exception to this rule is the final research results that have been published as preliminary results or as an abstract form. In this case, the author(s) should also submit electronically these previous publications in a PDF form.

Submission of papers. Papers submitted to the journal should written in Greek or English. All manuscripts should be submitted electronically in a PDF form to the responsible of the editorial secretariat **Dr Tellis Constantinos (Laboratory of Biochemistry, Department of Chemistry, University of Ioannina, 45 110 Ioannina, Greece, Tel.: +30 26510-08326, Fax: +30 26510-08785, E-mail: hjathero@cc.uoi.gr).** All manuscripts must be accompanied by a letter, in PDF form, signed by the author responsible for correspondence. The cover letter should include a statement, indicating that the manuscript has been approved by all authors. The corresponding author should also submit to the journal the copywrite transfer agreement form signed by all authors. In case of submission of an original paper been already published in a foreign journal, it must be clearly stated that the authors have obtained the written permission of the copyright owners, a copy of which must be attached. The final revised text will be resubmitted electronically in WORD and PDF form. All papers published in HELLENIC JOURNAL OF ATHEROSCLEROSIS are owned by the journal and are not allowed to be republished without the written consent of the Editor in chief.

Length of the articles. Editorials not exceed the 1000 words. Review articles should not exceed 5000 words including tables, legends to the figures and references and could include up to three figures. However, the Editorial Board may allow the publication of longer reviews upon judgement. Original papers should be shorter, generally not exceeding 4000 words including tables, legends to the figures and references and could include up to six figures. Clinical points of view should not exceed 1500 words, case reports 1000 words and letters to the Editor 500 words.

Assembling a manuscript. HELLENIC JOURNAL OF ATHEROSCLEROSIS has agreed to conform to the Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals (Vancouver System) and its guidelines for authors are in accordance to the above requirements. Papers must be typed double-space of the usual dimensions (ISO A4 210x297 mm), with margins of at least 3.5 cm. A separate page must be used for the title, the abstract and keywords, the main text, the acknowledgements, the references, the tables, the figures and the figure legends.

Title page. It contains (a) the title of the article, which must be brief (up to 12 words), (b) running title up to 50 characters, (c) name and position of the authors(s), (d) institutional affiliation of each author, (e) name, address, telephone number, fax number of the author responsible for correspondence.

Abstract and key words. Abstracts are limited to 250 words with the exception of clinical points of view and case reports whose length is limited to 150 words. The abstracts of the reviews must be descriptive, mentioning all chapters contained and the main conclusions. Abstracts of the original papers, should be structured into four paragraphs, under the following captions: Aim, Material or Patients and Methods, Results, Conclusions. In the same page, 3–10 key-words should be listed, chosen from the MeSH terms of Index Medicus.

Text. Original papers usually contain the following chapters: Introduction, Material or Patients and Methods, Results, Discussion. The introduction contains the background and the necessary references and cites the objective of the study. The study protocol must be thoroughly described in the methodology section. Details such as the mode of patient or material selection, as well as the methodology applied must be fully disclosed in order that the research may be reproduced by future investigators. In the case of research related to human beings it must be stated that the research was performed according to the principles of the Declaration of Helsinki (1975). The pharmaceutical substances used must be mentioned

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

by their generic names. In the same chapter the data evaluated must be described and the chapter should be completed by an analysis of the statistical criteria used. In the next chapter the results should be presented fully but briefly. Results shown in tables should not be repeated in the text. In the Discussion, the perspectives opened up by the results of the study as well as the final conclusions are discussed. The results must not be repeated in this section. A comparison with the results of other similar studies may be done. The results may also be related to the objectives of the study but it is advisable to avoid arbitrary conclusions, not emerging from the results themselves.

Acknowledgements. They are addressed only to persons who have contributed substantially.

References. They are numbered in the order in which they are first cited in the text. If author names are cited in the text, first author's surname is followed by et al. If there are only two authors, place an "and" between the two surnames. All references cited in the text –and those only– must be shown in the reference section. The number of references must be limited to those absolutely necessary. Reviews must have no more than 100 references, current issues and editorials up to 10 articles or monographs considered by the author to be necessary for complete information on the subject, and letters to the Editor up to 5 references. The reference section is organized numerically based on the consecutive numbers and order of references in the text. Cite the surnames and initials of all authors up to three (if more, add et al after the third), the title of the article, the abbreviation of journal title, the year, volume, first and last page of the publication; e.g. Y*ou CH, Lee KY, Chey WY et al. The role of oxidative stress in atherosclerosis. Circulation 1980, 79:311–314.* In case that no author name is given, cite Anonymous; e.g. Anonymous. Coffee drinking and atherosclerosis (Editorial). Br Med J 1981, 283:628. References of papers published in supplements, must also note the number of supplement in parenthesis after the volume, e.g. Eur Heart Journal 1996, 54(Suppl 1):26. The abbreviations of journal titles must be compatible to Index Medicus. No full stops are placed after author acronyms and journal abbreviations. For books or monographs, list the surnames and initials of the authors, the title, and the number of edition, the editor, and the town of edition, the year and the pages cited. For chapter in a book, the reference must be written as follows: *Papathanasiou IB. Pleiotropic actions of statins. In: Hypolipidemic drugs in atherosclerosis. BETA, Athens, 1983:67–113.* If the reference consists of chapter in a book written by another author, it must be written as follows: Kuhn L, Swartz MN. Toll-like receptors. In: *Lee WA (ed) Inflammation and Atherosclerosis. Saunders, Philadelphia, 1987:457–472.*

Unpublished material as well as personal communications should not be used as references, whereas articles accepted for publication but not yet published may be included. In this last case after the journal title abbreviation there should be an indication "to be published". Citation of Greek references is mandatory. Greek literature can be sought at the Data Base of the Greek Medical Literature (IATROTEK), www.iatrotek.org.

Abstract in English. It must include the title, the names of the authors and the institutional affiliation of each author. The abstract in English is limited to 250 words with the exception of current issues and case reports whose length is limited to 150 words. Otherwise it has to be constructed in the same way as the Greek one. It is important that the quality of the English abstract should be excellent, because it is a major criterion for the acceptance of the journal in the international lists of Biomedical journals.

Chapter numbering in reviews and current issues. All chapters must be numbered with Arabic numbers 1, 2, 3 etc. Subchapters should have the number of the initial chapter, point and the number of the subchapter, e.g. 1.1., 1.2. or 1.1.1., 1.2.1. etc.

Tables. They are typed double-space, in a separate page. They are numbered by the order they appear in the text, with Arabic numbers. They should have a brief, comprehensive explanation so that the reader need not turn to the text. Each column must have a brief explanatory heading. Explanations of the abbreviations should be made at the bottom of the table.

Figures. The figures professionally drawn in china ink or prepared using a computer and high resolution printer and the photographs, must be the original ones, to facilitate immediate photographic reproduction and printing. Indicate by pencil on the back the number of the figure, its top (with an arrow) and running title of paper. They must be placed in an envelope between two sheets of cardboard to prevent wrinkling. Legends for figures must be written in a separate page and have the number of the corresponding figure. Explanations concerning the figures may be cited in the legend. Consult the format of the journal for the size of the figures. If photographs of patients are used, make sure that their face is not shown. In the opposite case, a written consent of the patient allowing the photograph to be published should accompany the figure. All figures must be mentioned in the text and be numbered with Arabic numbers.

Terms and units of measurement. The authors must use the universally accepted terms and the SI units of measurement. For the choice of terms and names (of substances, entities, organizations, diseases etc.) please consult the MeSH of Index Medicus.

Review of proofs. It is done once by the authors. Major alterations are not accepted.

Reprints. Photocopy reproduction of published papers is not allowed. Authors can order reprints directly to the publishing company BETA.

© 2013 Ελληνική Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης