



Σχολή Θετικών Επιστημών και Τεχνολογίας Χημική και Βιομοριακή Ανάλυση

Διπλωματική Εργασία

«Μοριακοί Μηχανισμοί της Αθηροσκλήρωσης, Πρόληψη και
Θεραπευτικές Εφαρμογές»

Σταυριέλα Σκοινιώτη

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Κωνσταντίνα Τσουμάνη

Πάτρα, Ιούνιος 2026

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία του φοιτητή/της φοιτήτριας («συγγραφέας/δημιουργός») που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο/η συγγραφέας/δημιουργός εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίασης στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του/της συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του/της συγγραφέα/δημιουργού. Ο/Η συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων.



«Μοριακοί Μηχανισμοί της Αθηροσκλήρωσης, Πρόληψη και Θεραπευτικές Εφαρμογές»

Σταυριέλα Σκοινιώτη

Επιτροπή Επίβλεψης Πτυχιακής / Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπων Καθηγητής/Επιβλέπουσα
Καθηγήτρια:

Κωνσταντίνα Τσουμάνη

Βιοχημικός - Βιοτεχνολόγος, PhD

Διδάσκουσα Μέλος ΣΕΠ, ΕΘΕ ΧΒΑ54, Σχολή
Θετικών Επιστημών, Εργαστήριο Βιολογίας,
Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο (ΕΑΠ)

Συν-Επιβλέπων Καθηγητής :

Κωνσταντίνος Σταθόπουλος

Καθηγητής Βιοχημείας, Διευθυντής
Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Τμήμα
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Πάτρα, Ιούνιος 2026

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια της ολοκλήρωσης των μεταπτυχιακών σπουδών στη Σχολή Θετικών Σπουδών και Τεχνολογίας του μεταπτυχιακού προγράμματος «Χημική και Βιομοριακή Ανάλυση».

Θα ήθελα να αποδώσω θερμές ευχαριστίες στην καθηγήτριά μου κ. Κωνσταντίνα Τσουμάνη για την πολύτιμη καθοδήγησή της κατά τη διάρκεια των σπουδών και της διπλωματικής εργασίας μου. Εκτιμώ την άμεση ανταπόκριση και υποστήριξη, καθώς και την ευγένεια και τον επαγγελματισμό της που συνέλαβαν στην επιτυχή ολοκλήρωση της προσπάθειάς μου. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον συν-επιβλέποντα καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Σταθόπουλο.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου και τον σύντροφό μου για την διαρκή υποστήριξη και δύναμη που μου παρείχαν καθ' όλη την εκπαιδευτική πορεία μου.

Σταυριέλα Σκοινιώτη

Περίληψη

Η αθηροσκλήρωση αποτελεί μια χρόνια φλεγμονώδη καρδιαγγειακή νόσο και μια από τις βασικότερες αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας παγκοσμίως. Χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση λιπιδίων στο αγγειακό τοίχωμα και την ενεργοποίηση φλεγμονωδών μηχανισμών που οδηγούν τον σχηματισμό και την εξέλιξη αθηροσκληρωτικών πλακών. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, το οξειδωτικό στρες, η συσσώρευση οξειδωμένης LDL χοληστερόλης και η αυξημένη παραγωγή κυτταροκινών και χημειοκινών διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη της νόσου. Στην παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση παρουσιάζονται οι κυριότεροι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της αθηροσκλήρωσης, με έμφαση στις πρόσφατες ερευνητικές εξελίξεις. Ειδικότερα, αναλύεται η εξέλιξη των αθηροσκληρωτικών βλαβών από τα πρώιμα μέχρι τα προχωρημένα στάδια, ενώ παράλληλα εξετάζονται οι σημαντικότεροι βιοδείκτες που σχετίζονται με τη διάγνωση, την πρόγνωση και την εξέλιξη της νόσου. Επιπλέον, παρουσιάζονται οι καθιερωμένες και οι νεότερες θεραπευτικές προσεγγίσεις που στοχεύουν τους συγκεκριμένους βιοδείκτες με στόχο τη βελτίωση της κλινικής αντιμετώπισης των ασθενών. Τα νεότερα ερευνητικά δεδομένα αναδεικνύουν τη σημασία της ταυτοποίησης των αξιόπιστων βιοδεικτών και θεραπευτικών στόχων για την έγκαιρη διάγνωση, την ακριβέστερη εκτίμηση του καρδιαγγειακού κινδύνου και την εφαρμογή εξατομικευμένων θεραπευτικών στρατηγικών. Τέλος, συζητούνται η κλινική σημασία των πρόσφατων ευρημάτων και οι προοπτικές μελλοντικής έρευνας στον τομέα της αθηροσκλήρωσης.

Λέξεις – Κλειδιά

Αθηροσκλήρωση, Βιοδείκτες, Παθοφυσιολογία, Αθηροσκληρωτική πλάκα, Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία

«Molecular Mechanisms of Atherosclerosis, Prevention and Therapeutic Applications»

Stavriela Skoinioti

Abstract

Atherosclerosis is a chronic inflammatory cardiovascular disease and one of the leading causes of morbidity and mortality worldwide. It is characterized by the accumulation of lipids within the arterial wall and the activation of inflammatory mechanisms that promote the formation and progression of atherosclerotic plaques. Endothelial dysfunction, oxidative stress, the accumulation of oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) cholesterol, and the increased production of cytokines and chemokines play a pivotal role in the initiation and progression of the disease. The present literature review outlines the principal pathophysiological mechanisms underlying atherosclerosis, with particular emphasis on recent research advances. Specifically, it discusses the progression of atherosclerotic lesions from the early to the advanced stages, while also examining the most important biomarkers associated with the diagnosis, prognosis, and progression of the disease. Furthermore, both established and emerging therapeutic approaches targeting these specific biomarkers are presented, with the aim of improving the clinical management of patients. Recent research findings highlight the importance of identifying reliable biomarkers and therapeutic targets for the early diagnosis of atherosclerosis, more accurate cardiovascular risk assessment, and the implementation of personalized therapeutic strategies. Finally, the clinical significance of these recent findings and the future perspectives for research in the field of atherosclerosis are discussed.

Keywords

Atherosclerosis, Biomarkers, Pathophysiology, Atherosclerotic plaque, Endothelial dysfunction

Περιεχόμενα

Περίληψη	5
Abstract.....	6
Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων	9
Κατάλογος Πινάκων	10
1. Εισαγωγή	13
1.1 Ορισμός και Γενικά στοιχεία	13
1.2 Δυσλειτουργία του ενδοθηλίου	14
Ο ρόλος του μονοξειδίου του αζώτου NO στο ενδοθήλιο	16
1.3 Καρδιαγγειακοί παράγοντες κινδύνου	17
Υπερχοληστερολαιμία	17
Υπερλιπιδαιμία.....	18
Υπέρταση	19
Κάπνισμα	19
Σακχαρώδης διαβήτης.....	19
1.4 Σκοπός και μεθοδολογία.....	20
2. Παθοφυσιολογία αθηροσκλήρωσης	21
2.1 Διαταραχή ενδοθηλίου και έναρξη αθηροσκλήρωσης.....	21
Απολιποπρωτεΐνες.....	21
Απολιποπρωτεΐνη apoB	21
Κατακράτηση λιποπρωτεϊνών	22
Οξειδωτικό Στρες	23
Αλυσίδα Μεταφοράς Ηλεκτρονίων των Μιτοχονδρίων.....	24
Οξειδάση NADPH.....	26
Ξανθινοξειδάση	26
Αποσύζευξη της eNOS (eNOS uncoupling)	27
Φλεγμονή	27
Μονοκύτταρα	30
Αφρώδη Κύτταρα	35
3. Βιοδείκτες	37
3.1 Ορισμός Βιοδεικτών	37
Διαγνωστικοί Βιοδείκτες.....	37
Προβλεπτικοί Βιοδείκτες	37
Προγνωστικοί Βιοδείκτες.....	38
Δείκτες Παρακολούθησης	38
Μοριακοί Βιοδείκτες	38
3.2 ICAM-1 ΚΑΙ VCAM-1.....	38
3.3 LDL - Χοληστερόλη (LDL-C).....	40
3.4 Απολιποπρωτεΐνη ApoB	42
3.5 C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP).....	42
3.6 IL-1β.....	44
3.7 PCSK9.....	45
3.8 Κλινική αποτελεσματικότητα και μεταφραστική αξία	46
Ερευνητικοί δείκτες ενδοθηλιακής ενεργοποίησης	47

Καθιερωμένοι κλινικοί δείκτες.....	48
Θεραπευτικοί στόχοι.....	50
4 Μοριακές μέθοδοι ανίχνευσης βιοδεικτών και εφαρμογή τους στην αθηροσκλήρωση.....	54
4.1 Τεχνικές μεθόδων qRT-PCR, Western blot και ELISA.....	54
qRT-PCR	54
Western blot	57
ELISA.....	58
5.1 Παρεμβάσεις τρόπου ζωής	61
Διατροφή.....	61
Σωματική άσκηση.....	61
Κάπνισμα	62
5.2 Στατίνες.....	62
5.3 Υπολλειπόμενος Φλεγμονώδης Κίνδυνος (RIR)	63
6 Θεραπευτικές εφαρμογές.....	65
6.1 Καθιερωμένες υπολιπιδαιμικές θεραπείες.....	65
Στατίνες.....	65
6.2 Καινοτόμες στοχευμένες υπολιπιδαιμικές θεραπείες.....	67
Evolocumab	67
Alirocumab	68
6.3 Νεότερες αντιφλεγμονώδεις θεραπευτικές προσεγγίσεις	68
Canakinumab	68
Colchicine.....	72
6.4 Θεραπείες βασισμένες σε RNA	74
Μοριακός μηχανισμός του siRNA	74
Inclisiran	76
Μοριακός μηχανισμός του miRNA	78
6.5 Πλεονεκτήματα των θεραπειών βασισμένων σε RNA.....	82
6.6 Μελλοντικές προκλήσεις	83
Προοπτικές βασισμένες στην νανοτεχνολογία	83
Εναλλακτικές μελλοντικές προσεγγίσεις	85
7 Συζήτηση	86
Επίλογος.....	90
Βιβλιογραφικές αναφορές	91
Παραρτήματα	112
Πίνακας Α: Επισκόπηση βασικών siRNAs φαρμάκων.....	112
Πίνακας Β. Θεραπευτικές στρατηγικές βασισμένες στα miRNAs για την αντιμετώπιση της αθηροσκλήρωσης	113

Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων

ΕΙΚΟΝΑ 1: ΣΤΕΝΩΣΗ ΤΩΝ ΤΟΙΧΩΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΑΡΤΗΡΙΑΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΝΑΠΟΘΕΣΗ ΛΙΠΙΔΙΩΝ	13
ΕΙΚΟΝΑ 2 : ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΟΔΕΥΤΙΚΗΣ ΣΤΕΝΩΣΗΣ ΚΑΙ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ ΤΩΝ ΑΓΓΕΙΩΝ, ΛΟΓΩ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΚΑΙ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ ΠΛΑΚΑΣ.	15
ΕΙΚΟΝΑ 3 : ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΕΞΕΛΙΞΗΣ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΑΦΡΩΔΗ ΚΥΤΤΑΡΑ	31
ΕΙΚΟΝΑ 4 : ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΗΣ ΧΗΜΟΚΙΝΗΣ MCP-1 ΣΤΗ ΣΤΡΑΤΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗ.	33
ΕΙΚΟΝΑ 5 : Η ΠΟΡΕΙΑ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΑΠΟ ΤΑ ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ	35
ΕΙΚΟΝΑ 6 : ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΗΣ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΦΡΟΥ	36
ΕΙΚΟΝΑ 7 : ΣΧΕΣΗ ΤΗΣ ΣΩΡΕΥΤΙΚΗΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΤΗΝ LDL-C ΜΕ ΤΟΝ ΚΙΝΔΥΝΟ ΜΑCE.....	41
ΕΙΚΟΝΑ 8 : ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ PCSK9 ΣΤΑ ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ, ΤΑ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΗΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ.	46
ΕΙΚΟΝΑ 9 : ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΗΣ ΑΛΥΣΙΑΩΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ, PCR.....	56
ΕΙΚΟΝΑ 10 : ΚΑΜΠΥΛΕΣ ΕΝΙΣΧΥΣΗΣ ΤΡΙΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ QPCR, ΜΕ ΤΗΝ ΑΡΧΙΚΗ ΠΟΣΟΤΗΤΑ DNA ΝΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΖΕΤΑΙ ΒΑΣΕΙ ΤΩΝ ΤΙΜΩΝ CT.	57
ΕΙΚΟΝΑ 11 : ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ SANDWICH ELISA ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ-ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ	60
ΕΙΚΟΝΑ 12 : ΧΗΜΙΚΈΣ ΔΟΜΕΣ ΣΤΑΤΙΝΗΣ	65
ΕΙΚΟΝΑ 13 :ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΟΥ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ EVOLOCUMAB ΣΤΗΝ PCSK9	67
ΕΙΚΟΝΑ 14 : ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΟΥ FcγC ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ (ΤΜΗΜΑ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ), ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΒΑΡΙΑ ΚΑΙ ΕΛΑΦΡΙΑ ΑΛΥΣΙΔΑ ΚΑΙ ΕΙΝΑΙ ΥΠΕΥΘΥΝΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΟΥ ΣΤΟΧΟΥ	70
ΕΙΚΟΝΑ 15 : ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΥΨΗΛΗΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ C-ΑΝΤΙΔΡΩΣΑΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ (HSCRP) ΚΑΙ ΤΗΣ LDL-ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ 48 ΜΗΝΩΝ, ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΟΜΑΔΑ PLACEBO.	71
ΕΙΚΟΝΑ 16 : ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΗΣ ΚΟΛΧΙΚΙΝΗΣ	72
ΕΙΚΟΝΑ 17 : ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ SIRTAS ΚΑΙ ΤΗΣ RNAI-ΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΟΥΜΕΝΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΑΠΟΣΙΩΠΗΣΗΣ (RNA INTERFERENCE, RNAI)	76
ΕΙΚΟΝΑ 18 : ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ SIRTAS ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΥΠΟΔΟΡΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ	78
ΕΙΚΟΝΑ 19 : ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΗΣ ΒΙΟΓΕΝΕΣΗΣ ΤΩΝ MIRTAS ΑΠΟ ΤΟ ΠΡΟΔΡΟΜΟ ΜΟΡΙΟ PRI-MIRNA ΕΩΣ ΤΟΝ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ ΤΟΥ ΩΡΙΜΟΥ MIRTAS.....	80

Κατάλογος Πινάκων

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: ΚΥΡΙΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑ ΣΤΟΧΟΙ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ	52
---	----

Συντομογραφίες & Ακρωνύμια

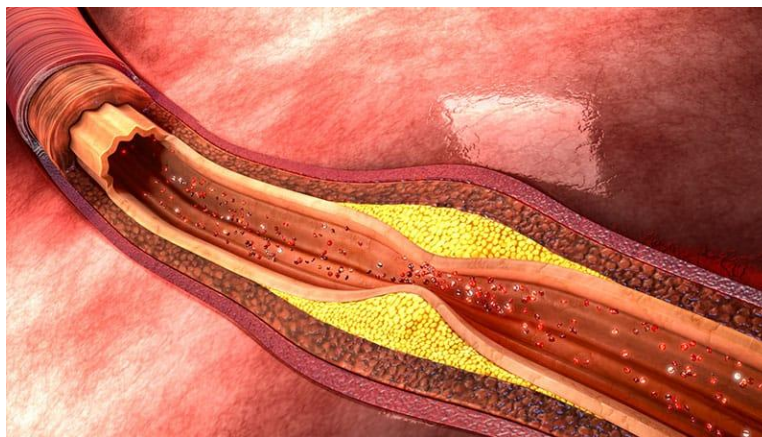
SMC	Smooth Muscle Cells	Λεία Μυϊκά Κύτταρα
VSMC	Vascular Smooth Muscle Cells	Αγγειακά Λεία Μυϊκά Κύτταρα
ECM	Extracellular Matrix	Εξωκυτταρική Μήτρα
WSS	Wall Shear Stress	Διατμητική Τάση Τοιχώματος
EDRF	Endothelium-Derived Relaxing Factor	Χαλαρωτικός Παράγοντας Προερχόμενος από το Ενδοθήλιο
ROS	Reactive Oxygen Species	Δραστικές Μορφές Οξυγόνου
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule-1	Μόριο Προσκόλλησης Αγγειακών Κυττάρων-1
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule-1	Διακυτταρικό Μόριο Προσκόλλησης-1
TNF- α	Tumor Necrosis Factor - alpha	Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων - άλφα
IL-1	Interleukin-1	Ιντερλευκίνη -1
IL-6	Interleukin-6	Ιντερλευκίνη -6
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1	Πρωτεΐνη χημειοταξίας μονοκυττάρων-1
NF- κ B	Nuclear Factor kappa B	Πυρηνικός παράγοντας κ -B
LDL	Low Density Lipoprotein	Λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας
VLDL	Very Low-Density Lipoprotein	Λιποπρωτεΐνη πολύ χαμηλής πυκνότητας
HDL	High-Density Lipoprotein	Λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας
ApoB	Apolipoprotein B	Απολιποπρωτεΐνη B
GPx	Glutathione Peroxidase	Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης
XO	Xanthine Oxidase	Οξειδάση της ξανθίνης

MHC	Major Histocompatibility Complex	Μείζον Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας
LPC	Lysophosphatidylcholine	Λυσοφωσφατιδυλοχολίνη
MMPs	Matrix Metalloproteinases	Μεταλλοπρωτεϊνάσες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας
CRP	C-Reactive Protein	C-αντιδρώσα πρωτεΐνη
PCSK9	Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9	Προπρωτεϊνική κονβερτάση σουμπτιλισίνης/κεξίνης τύπου 9
NAC	N-Acetylcysteine	N-Ακετυλοκυστεΐνη
IL1RAP	Interleukin-1 Receptor Accessory Protein	Βοηθητική πρωτεΐνη υποδοχέα ιντερλευκίνης- 1
PAGE	Polyacrylamide Gel Electrophoresis	Ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμιδίου
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl- Coenzyme A	3-Υδροξυ-3-μεθυλογλουταρυλο-συνένζυμο Α
TXA ₂	Thromboxane A ₂	Θρομβοξάνη Α ₂
COX-2	Cyclooxygenase-2	Κυκλοοξυγενάση-2
CD40	Cluster of Differentiation 40	Υποδοχέας διαφοροποίησης CD40
LDLR	Low-Density Lipoprotein Receptor	Υποδοχέας LDL
FDA	Food and Drug Administration	Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ
RISC	RNA-Induced Silencing Complex	Σύμπλοκο επαγόμενης αποσίωπησης RNA
ASGPR	Asialoglycoprotein Receptor	Υποδοχέας ασιαλογλυκοπρωτεϊνών
GalNAc	N-Acetylgalactosamine	N-Ακετυλογαλακτοζαμίνη
RBP	RNA-Binding Proteins	Πρωτεΐνες δέσμησης RNA
NDDS	Nanoparticle Drug Delivery Systems	Συστήματα χορήγησης φαρμάκων με νανοσωματίδια

1. Εισαγωγή

1.1 Ορισμός και Γενικά στοιχεία

Η Αθηροσκλήρωση είναι μία χρόνια φλεγμονώδης καρδιαγγειακή νόσος που χαρακτηρίζεται από την δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. Πρόκειται για ελληνικό όρο που αποτελείται από τα συνθετικά «αθήρωση» και «σκλήρυνση», περιγράφοντας αντίστοιχα την εναπόθεση λίπους στο τοίχωμα των αρτηριών και τον σχηματισμό ινώδους ιστού και παχύτερου αγγειακού τοιχώματος με την δραστική συμμετοχή των λείων μυϊκών κυττάρων (Smooth Muscle Cells, SMC), συνδετικού ιστού και λευκοκυττάρων. Συγκεκριμένα η νόσος εκδηλώνεται με την ανάπτυξη αθηρωματικών πλακών στον έσω χιτώνα (intima) των αρτηριών και στην επιφάνεια των λείων μυϊκών κυττάρων, οι οποίες σχηματίζονται από συσσώρευση λιπιδίων εναποθέσεων και ιδιαίτερα κρυστάλλων χοληστερόλης (Εικόνα 1). Η ιστολογική αυτή βλάβη οδηγεί σε περαιτέρω πάχυνση και σκλήρυνση του αγγειακού τοιχώματος με τον σχηματισμό του ινώδους ιστού (ινώδη κάψα) ως την σκληρή επένδυση του πυρήνα της λιπιδικής πλάκας. Συνεπώς, η πλέον άκαμπτη και μη λεία επιφάνεια του αρτηριακού τοιχώματος ευνοούν τη θρόμβωση και κατ' επέκταση την απόφραξη της ροής του αίματος (Berenji et al.,2020; Tavafi et al.,2013).



Εικόνα 1: Στένωση των τοιχωμάτων της αρτηρίας μετά την εναπόθεση λιπιδίων

(<https://tinyurl.com/mnkf6j2u>)

Αξίζει να αναφερθεί πως η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία δρα ενεργά στην εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας, αλλά και στην ρήξη της, καθώς θεωρείται ο πρωιμότερος δείκτης της αθηρογένεσης. Συνοπτικά, τα ενδοθηλιακά κύτταρα δεν είναι πια ικανά να διατηρούν την ομοιοστάσή τους, τα τοιχώματα των αγγείων τείνουν να συσπώνται, παρατηρείται η διείσδυση λιπιδίων, η προσκόλληση λευκοκυττάρων, η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και το οξειδωτικό στρες. Αυτή η αλληλουχία φαινομένων, προκαλεί μια φλεγμονώδη αντίδραση που συνιστά το αρχικό στάδιο για τον σχηματισμό της πλάκας το οποίο είναι ένα λιπώδες έφημα (fatty streak) (Jebari-Benslaiman et al., 2022).

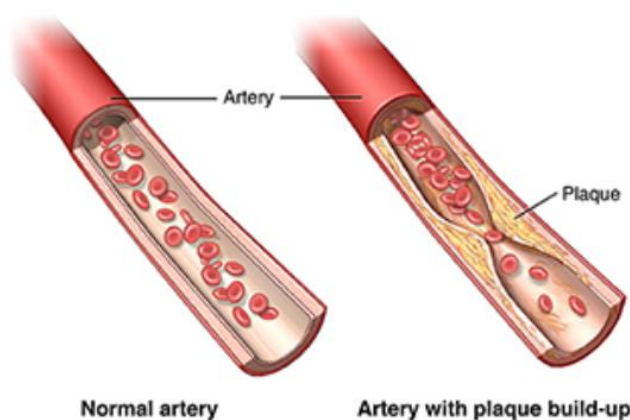
1.2 Δυσλειτουργία του ενδοθηλίου

Το αγγειακό ενδοθήλιο αποτελείται από ένα στρώμα ενδοθηλιακών κυττάρων που επενδύει τον εσωτερικό χιτώνα των αιμοφόρων αγγείων (intima) που έρχεται σε άμεση επαφή με το αίμα. Συγκεκριμένα, στα μεγάλα αγγεία ο εσωτερικός χιτώνας σχηματίζεται από το ενδοθήλιο και τις ίνες ελαστικής και κολλαγόνου. Ο μέσος χιτώνας αποτελείται από τα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα (Vascular Smooth Muscle Cells, VSMC) και από την εξωκυτταρική μήτρα (Extracellular Matrix, ECM), ενώ ο εξωτερικός χιτώνας συγκροτείται από κυρίως τον ινοελαστικό συνδετικό ιστό. Από την άλλη πλευρά, σε μικρότερα αγγεία, όπως αρτηρίδια και φλεβίδια, εντοπίζονται οι ίδιοι χιτώνες σε πιο λεπτή δομή, ενώ στα μετατριχοειδικά φλεβίδια υπάρχει μόνο το ενδοθήλιο και η βασική μεμβράνη (Rhodin, 1968).

Το ενδοθήλιο βρίσκεται ανάμεσα στο αίμα και τους ιστούς και χαρακτηρίζεται ως το πρώτο φράγμα στη διήθηση κυκλοφορούντων μορίων, κυττάρων και παθογόνων μικροοργανισμών, μέσω του αγγειακού τοιχώματος. Λειτουργεί ως ρυθμιστής αγγειακής ομοιοστάσης έναντι των αλλαγών στο αίμα, όπως η συγκέντρωση μεταβολικών ουσιών και οι μηχανικές δυνάμεις, δηλαδή η διατμητική τάση του αγγειακού τοιχώματος (Wall Shear Stress, WSS) και εν τέλει συμβάλλει στη μεταγωγή σημάτων στον έσω χιτώνα του τοιχώματος (Jebari-Benslaiman et al., 2022).

Από τις πιο σημαντικές του ενδοθηλίου είναι ότι μεσολαβεί στην ισορροπία μεταξύ αγγειοδιαστολής και αγγειοσυστολής, στη διατήρηση αντιθρομβωτικής ικανότητας, καθώς και στη συμμετοχή του σε ανοσολογικές και φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Κατά κύριο λόγο οι αθηροπροστατευτικές λειτουργίες του ενδοθηλίου οφείλονται στο μονοξείδιο του αζώτου (Nitric Oxide, NO). Ωστόσο, όταν επέρχεται διαταραχή αυτής της ισορροπίας τότε προκαλείται η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, άρα και η βλάβη του τοιχώματος των αρτηριών.

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία έχει χαρακτηριστεί ως ένας πρώιμος δείκτης αθηροσκλήρωσης, ο οποίος προηγείται της ιστολογικής απεικόνισης της αθηρωματικής πλάκας (Εικόνα 2). Όταν εμφανίζονται μεταβολές της WSS, επηρεάζονται άμεσα η μορφολογία και η λειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου και διεγείρεται η μετανάστευση και ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός των VSMCs. Οι αθηρωματικές πλάκες δημιουργούνται σε διακλαδώσεις και διχασμούς αρτηριών, όπου αναπτύσσεται χαμηλή διατμητική τάση και μη ομαλή ροή αίματος, όπως στροβιλισμοί. Πιο συγκεκριμένα, ενεργοποιείται η φλεγμονώδης απόκριση και εμφανίζονται οι λιπώδεις ραβδώσεις (fatty streaks), που συνιστούν το αρχικό στάδιο δημιουργίας της αθηρωματικής πλάκας. Στη συνέχεια αυτές οι λιπώδεις ραβδώσεις εξελίσσονται και η πλάκα οδηγείται σε ρήξη, δημιουργώντας τις συνθήκες για θρομβογένεση και αγγειακή απόφραξη (Esper et al., 2006; Jebari-Benslaiman, 2022). Πιο ειδικά, στη μελέτη των Lubmer et al. (1986) χρησιμοποιήθηκε η ακετυλοχολίνη ως διαγνωστική δοκιμασία που ανέδειξε την ύπαρξη αγγειοσυστολής όταν υπήρχε αθηροσκλήρωση. Η συγκεκριμένη ανταπόκριση αποτέλεσε κύρια απόδειξη της πρώιμης ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας σε ασθενείς με πιθανότητες κινδύνου για στεφανιαία νόσο, επιβεβαιώνοντας σημαντικό ρόλο του προκλινικού αυτού σταδίου στην εξέλιξη της νόσου (Ludmer et al, 1986).



Εικόνα 2 : Σχηματική αναπαράσταση της προοδευτικής στένωσης και σκλήρυνσης των αγγείων, λόγω φλεγμονής και συσσώρευσης πλάκας.

(Johns Hopkins Medicine, 2021)

Ο ρόλος του μονοξειδίου του αζώτου NO στο ενδοθήλιο

Η διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ της αγγειοδιαστολής και της αγγειοσυστολής επιτυγχάνεται μέσω της ενδογενούς παραγωγής αγγειοδιασταλτικών και αγγειοσυσταλτικών ουσιών. Η κυριότερη αγγειοδιασταλτική ουσία που απελευθερώνεται είναι το μονοξείδιο του αζώτου (NO). Αρχικά, το NO ταυτοποιήθηκε ως ένας ενδοθηλιακός παράγοντας χαλάρωσης (Endothelium-Derived Relaxing Factor, EDRF) που στις πρώιμες ενδείξεις αθηροσκλήρωσης μειώνεται η παραγωγή και η δράση του.

Το NO συντίθεται από το αμινοξύ L-αργινίνη στα ενδοθηλιακά κύτταρα, μέσω μιας αντίδρασης που καταλύεται από το ένζυμο ενδοθηλιακή συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου (Endothelial Nitric Oxide Synthase, eNOS) που διαχέεται στο αρτηριακό τοίχωμα προκαλώντας την χαλάρωση των λείων μυϊκών ινών. Ο ρόλος του είναι πολύπλευρος καθώς συμμετέχει στη μείωση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, του οξειδωτικού στρες, της φλεγμονής και στην αναστολή της ενεργοποίησης ανοσοκυττάρων. Επιπλέον, επιδρά θετικά στην μεταβολική ομοιόσταση καθώς μειώνει τα τριγλυκερίδια και αυξάνει τη σύνθεση της ινσουλίνης συνεισφέροντας έτσι στην μείωση της γλυκόζης στο αίμα και στην ενίσχυση της λειτουργίας των μιτοχονδρίων (Sukhovshin et al.,2015; Carlstrom, 2021; Jebari-Benslaïman et al.,2022).

Ωστόσο, η παραγωγή του NO μειώνεται ως συνέπεια του οξειδωτικού στρες που συνδέεται με κλασσικούς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου, όπως είναι η υπέρταση, υπερχοληστερολαιμία, το κάπνισμα, ο διαβήτης, η υπερλιπιδαιμία και η κληρονομικότητα. Συγκεκριμένα, δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) αντιδρούν με το NO και σχηματίζουν υπεροξυνιτρώδες (peroxynitrite, ONOO-), έναν τοξικό μεταβολίτη του NO. Το υπεροξυνιτρώδες έχει συνδεθεί με την έναρξη της υπεροξείδωσης των λιπιδίων και θεωρείται καθοριστικό για την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών. Παράλληλα, φαίνεται πως το οξειδωτικό στρες ενισχύει την σύνθεση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών (TNF- α , ιντερλευκινών IL-1 & IL-6), μορίων προσκόλλησης (Vascular Cell Adhesion Molecule-1, VCAM-1 & Intercellular Adhesion Molecule-1, ICAM-1) και χημοκινών (Monocyte Chemoattractant Protein-1, MCP-1), με την παράλληλη ενεργοποίηση σηματοδοτικού μονοπατιού του πυρηνικού παράγοντα Nuclear Factor kappa B (NF- κ B). Ως εκ τούτου αναστέλλεται η λειτουργία του eNOS και τελικά η παραγωγή του NO (Gimbrone & García,2016; Mügge et al.,1989; Chiplunkar et al., 2013).

Nuclear Factor Kappa B

Το σηματοδοτικό μονοπάτι του πυρηνικού παράγοντα Nuclear Factor Kappa B (NF-κβ) θεωρείται βασικός ρυθμιστής της φλεγμονώδους απόκρισης του οργανισμού. Ο ρόλος των NF-κβ και των μονοπατιών σηματοδότησής του είναι κομβικός, καθώς ρυθμίζει τη λεπτή ισορροπία ανάμεσα στις φυσιολογικές ανοσολογικές αποκρίσεις και στις παθοφυσιολογικές φλεγμονώδεις δραστηριότητες. Το NF-κβ συγκροτείται από τον αναστολέα Inhibitor of Nuclear Factor kappa B (IκB) που είναι δεσμευμένος σε δύο πρωτεΐνες, τις p50 και p65. Όταν δεν υπάρχει διέγερση ο IκB εμποδίζει τη μετακίνηση του συμπλόκου p50-p65 στον πυρήνα. Όμως η ενεργοποίηση του NF-κβ από ιούς ή κυτταροκίνες ή οξειδωτικό στρες ακολουθείται από φωσφορυλίωση σε δύο βασικές σερίνες του N-τελικού άκρου από τις κινάσες της IκB, IKKs και στη συνέχεια από πρωτεασωματική αποικοδόμηση της υπομονάδας IκB, αφού πρώτα το σύμπλοκο E3 ουβικιτινικής λιγάσης της IκB, β-TrCP-SCF, την πολυουβικιτινυλιώσει, γεγονός που απενεργοποιεί την παρεμποδιστική της δράση πάνω στο σύμπλοκο p50-p65. Επομένως, δίνεται η δυνατότητα στο ενεργό σύμπλοκο p50-p65 να μετατοπιστεί στον πυρήνα και να ενεργοποιήσει την έκφραση περισσότερων από 150 γονιδίων-στόχων, όπως αυτών που κωδικοποιούν κυτταροκίνες, χημοκίνες και μόρια προσκόλλησης.

Λαμβάνοντας λοιπόν υπόψιν πως το NF-κβ κατέχει κρίσιμο ρόλο στα διάφορα στάδια της φλεγμονής, γίνεται αντιληπτό γιατί έχει συνδεθεί με αρκετές σημαντικές χρόνιες ασθένειες, όπως είναι η αθηροσκλήρωση, η καρδιακή ανεπάρκεια, η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η νόσος Alzheimer. Συγκεκριμένα, το NF-κβ εισερχόμενο στον πυρήνα των κυττάρων, αυξάνει την παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών, χημοκινών και μορίων προσκόλλησης και η συνέχεια αποτελεί κρίσιμο στάδιο για την αποσταθεροποίηση της αθηροσκλήρωσης και τελικά την ρήξη της (Killeen et al., 2014; Moynagh, 2005).

1.3 Καρδιαγγειακοί παράγοντες κινδύνου

Υπερχοληστερολαιμία

Η υπερχοληστερολαιμία είναι μία διαταραχή που χαρακτηρίζεται από υπερβολικά αυξημένα επίπεδα της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (Low Density Lipoprotein, LDL) στην κυκλοφορία του αίματος. Συνδέεται άμεσα με καρδιακά και εγκεφαλικά επεισόδια και η θεραπευτική της διαχείριση περιλαμβάνει είτε την τροποποίηση του τρόπου ζωής μέσω

καθημερινής άσκησης, είτε την κατάλληλη φαρμακευτική αγωγή για την μείωση της LDL (Cleveland Clinic, 2022).

Η υπερχοληστερολαιμία είναι επίσης ένας από τους βασικότερους παράγοντες πρόκλησης και ανάπτυξης της αθηροσκλήρωσης, της στεφανιαίας νόσου, της περιφερικής αγγειακής νόσου και του εγκεφαλικού επεισοδίου. Σε μοριακό επίπεδο εμπλέκεται στον σχηματισμό αθηρογόνων βιομορίων, όπως τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS), τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (ιντερλευκίνες IL-1, IL-2, IL-6 και IL-8), του παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων (Granulocyte Colony-Stimulating Factor G-CSF), της E-σελεκτίνης, της μονοκυτταρο-χημειοστακτικής πρωτεΐνης-1 (MCP-1), του παράγοντα ανάπτυξης προερχόμενου από αιμοπετάλια (Platelet-Derived Growth Factor, PDGF), των μετατρεπτικών αυξητικών παραγόντων-β (Transforming Growth Factor-beta, TGF-β) και του ινσουλινοειδή αυξητικού παράγοντα-1 (Insulin-Like Growth Factor 1, IGF-1). Επιπλέον, μέσω αυτής ενεργοποιείται η έκφραση μορίων προσκόλλησης (ICAM-1 και VCAM-1) και ο πυρηνικός παράγοντας NF-Kβ (Prasad & Mishra, 2022).

Υπερλιπιδαιμία

Η υπερλιπιδαιμία είναι μια διαταραχή του μεταβολισμού των λιπιδίων που χαρακτηρίζεται από αυξημένες συγκεντρώσεις λιπιδίων και αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών στο αίμα, όπως της ολικής χοληστερόλης, της LDL χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων, των λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας (Very Low-Density Lipoprotein, VLDL) και των χυλομικρών, ενώ μπορεί να συνοδεύεται και από αυξημένα επίπεδα απολιποπρωτεϊνών, όπως της απολιποπρωτεΐνης B (ApoB). Αποτελεί έναν από τους πιο επικίνδυνους παράγοντες ανάπτυξης της αθηροσκλήρωσης, με την υπερχοληστερολαιμία να συνιστά ειδικότερη μορφή της. Συχνά ο συνδυασμός γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων μπορεί να προκαλέσει την εμφάνιση υπερλιπιδαιμίας και κατά συνέπεια της αθηροσκλήρωσης, με κυριότερα παραδείγματα την ψωρίαση, τη νόσο του Crohn, την κατάθλιψη, την παχυσαρκία και την πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών. Επιπλέον, χαρακτηρίζεται σε πρωτογενή και δευτερογενή υπερλιπιδαιμία, με την πρώτη να εκδηλώνεται λόγω κληρονομικών διαταραχών και τη δεύτερη να οφείλεται σε ανθυγιεινή διατροφή, σε υποθυρεοειδισμό, στον σακχαρώδη διαβήτη ή στη λήψη συγκεκριμένων φαρμάκων, όπως τα γλυκοκορτικοειδή. Επιδημιολογικά, το πλήθος των ατόμων με διαγνωσμένη υπερλιπιδαιμία τείνει να αυξάνεται ραγδαία στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής και στην Ευρώπη όπου σύμφωνα με πρόσφατες αναφορές ο πληθυσμός αυτός ξεπερνά τα τρία εκατομμύρια στην Ελλάδα (Hill & Bordoni, 2023).

Υπέρταση

Η υπέρταση είναι μία παθολογική κατάσταση που χαρακτηρίζεται από έντονα αυξημένη αρτηριακή πίεση και προσδιορίζεται από τις τιμές της συστολικής και της διαστολικής πίεσης. Η εμφάνιση της αρτηριακής υπέρτασης σχετίζεται στενά με την αλληλεπίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων και γενετικής προδιάθεσης, η οποία αποδίδεται στην παρουσία συγκεκριμένων αλληλόμορφων γονιδίων. Συγκεκριμένα, η αυξημένη πρόσληψη νατρίου (Na^+), η κακή ποιότητα ζωής, ύπνου, η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ και το χρόνιο ψυχολογικό στρες αυξάνουν τις πιθανότητες ανάπτυξης της πρωτοπαθούς υπέρτασης, η οποία συμβάλλει στην σταδιακή σκλήρυνση των αρτηριακών αγγείων και συνεπώς στην εμφάνιση και εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. (Opail et al., 2018).

Κάπνισμα

Οι καπνιστές εμφανίζουν μεγαλύτερη συχνότητα οξείας θρόμβωσης σε σχέση με τους αντικαπνιστές. Η θρόμβωση του αίματος συσχετίζεται με την υψηλή συσσώρευση αιμοπεταλίων, η οποία συχνά ενεργοποιείται λόγω του οξειδωτικού στρες (Ishida M. et al, 2024). Πιο συγκεκριμένα, ο καπνός του τσιγάρου περιέχει βλαβερές χημικές ουσίες (νικοτίνη, μονοξειδίο του άνθρακα, ακρολεΐνη) που προκαλούν κίνδυνο στο ενδοθήλιο και επάγουν την εμφάνιση του οξειδωτικού στρες. Η έκθεση στον καπνό και επομένως σε δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου συμβάλλουν στην δημιουργία αθηρωματικής πλάκας, στην ενίσχυση φλεγμονωδών διεργασιών και διαταραχή αντιπηκτικών και ινωδολυτικών μηχανισμών (Csordas & Bernhard, 2013).

Σακχαρώδης διαβήτης

Ο διαβήτης συσχετίζεται με καρδιαγγειακά επεισόδια, όπως είναι το έμφραγμα του μυοκαρδίου, το εγκεφαλικό επεισόδιο και σαφώς η αθηροσκλήρωση. Ο διαβήτης συμμετέχει σε μηχανισμούς όπως η διαταραχή της λειτουργίας του ενδοθηλίου, η διήθηση των μονοκυττάρων, η διαφοροποίηση των μακροφάγων και τελικά ο σχηματισμός των αφρωδών κυττάρων, καθώς και στον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών αγγειακών κυττάρων. Όπως στις προηγούμενες περιπτώσεις, το οξειδωτικό στρες ενισχύει την εμφάνιση της αθηροσκλήρωσης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, το οξειδωτικό στρες προκαλεί αντίσταση στην ινσουλίνη σε ασθενείς που πάσχουν από Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 2 και προάγει την οξείδωση της LDL. Επομένως, ο συνδυασμός των υψηλών τιμών γλυκόζης στο αίμα και του οξειδωτικού στρες παράγει προχωρημένα προϊόντα γλυκοζυλίωσης (Advanced Glycation End Products, AGEs). Τα μόρια αυτά μέσω της σύνδεσής τους με τους ειδικούς υποδοχείς τους

(Receptor for Advanced Glycation End Products, RAGEs) προκαλούν σοβαρές αλλοιώσεις στα αρτηριακά αγγεία, ενεργοποιώντας φλεγμονώδη μονοπάτια που οδηγούν σε παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου και στην απόπτωση των κυττάρων. Ωστόσο, η φαρμακευτική αγωγή για την μείωση λιπιδίων, τα αντιοξειδωτικά και αντιφλεγμονώδη σε συνδυασμό με τον έλεγχο της γλυκόζης στο αίμα έχουν δείξει αποδοτικότητα κατά της εξέλιξης της διαβητικής αθηροσκλήρωσης (Karakasis et al.,2025; Ye et al.,2022).

1.4 Σκοπός και μεθοδολογία

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποσκοπεί στην βιβλιογραφική ανασκόπηση των παθοφυσιολογικών διεργασιών της αθηροσκλήρωσης μέσω της αναζήτησης και αξιολόγησης της διεθνούς επιστημονικής βιβλιογραφίας από τις βάσεις δεδομένων “PubMed” και “Google Scholar”. Για την αναζήτηση της σχετικής βιβλιογραφίας χρησιμοποιήθηκαν λέξεις-κλειδιά όπως «αθηροσκλήρωση», «θρόμβωση», «ενδοθηλιακή δυσλειτουργία», «βιοδείκτες», «LDL-χοληστερόλη», «οξείδωση», «πρόληψη» και «θεραπεία». Τα δεδομένα οργανώθηκαν θεματικά και αναλύθηκαν με βάση τα διαδοχικά στάδια της παθογένεσης και εξέλιξης της νόσου. Συγκεκριμένα μελετάται η αθηροσκλήρωση ως μία χρόνια φλεγμονώδης νόσος και αναλύονται κρίσιμα ζητήματα που αφορούν τον ρόλο της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, του οξειδωτικού στρες, κατά το οποίο η LDL-χοληστερόλη υφίσταται οξείδωση, καθώς και στη συμβολή των αφρωδών κυττάρων στην παραγωγή προφλεγμονωδών μεσολαβητών οι οποίοι προάγουν την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Επιπλέον, αναδεικνύεται η χρησιμότητα και η κλινική σημασία των βιοδεικτών στην κατανόηση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών της αθηροσκλήρωσης, στην πρόληψη της νόσου καθώς και στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας τόσο των συμβατικών όσο και των σύγχρονων θεραπευτικών παρεμβάσεων. Τέλος, παρουσιάζονται οι κυριότερες τεχνικές ανίχνευσης των βιοδεικτών, οι οποίες αποτελούν βασικά εργαλεία της σύγχρονης ερευνητικής και κλινικής πρακτικής.

2. Παθοφυσιολογία αθηροσκλήρωσης

2.1 Διαταραχή ενδοθηλίου και έναρξη αθηροσκλήρωσης

Η έναρξη της αθηροσκλήρωσης πυροδοτείται από τη διήθηση λιποπρωτεϊνικών σωματιδίων πλούσιων σε απολιποπρωτεΐνη Β (apolipoprotein B, apoB) στον υποενδοθηλιακό χιτώνα του αγγειακού τοιχώματος. Στη συνέχεια οι ενζυμικές τροποποιήσεις και το οξειδωτικό στρες που υφίστανται τα σωματίδια αυτά, επάγουν την ενεργοποίηση του ενδοθηλίου, με αποτέλεσμα την παραγωγή εξειδικευμένων χημειοκινών (όπως η MCP-1) , οι οποίες προσελκύουν τα μονοκύτταρα της κυκλοφορίας. Συνεπώς, τα αυξημένα επίπεδα της LDL και της apoB-100 προάγουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και κατά συνέπεια την έναρξη της αθηροσκλήρωσης (Tsimikas&Miller, 2011; Rehman & Tudrej, 2024).

Απολιποπρωτεΐνες

Οι απολιποπρωτεΐνες έχουν καθοριστικό ρόλο στη φυσιολογική λειτουργία του αγγειακού συστήματος. Οι λιποπρωτεΐνες αποτελούνται από έναν υδρόφοβο πυρήνα ουδέτερων μη υδατοδιαλυτών λιπιδίων, ο οποίος περιβάλλεται από πολικά λιπίδια και απολιποπρωτεΐνες, καθιστώντας τα υδρόφοβα λιπίδια ικανά να μεταφέρονται από τον έναν ιστό τον άλλον. Μέσω αυτής της δομής καθίσταται δυνατή η μεταφορά λιπιδίων από τον έναν ιστό στον άλλον. Εκτενέστερα, οι απολιποπρωτεΐνες apoB-100 και apoB-48 διατηρούν τη δομή των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών, η πρώτη λειτουργεί ως μόριο αναγνώρισης για τους αντίστοιχους υποδοχείς, ενώ και οι δύο συμβάλλουν στη διασπορά των υδρόφοβων λιπιδίων στο πλάσμα. Ωστόσο, οι υδατοδιαλυτές απολιποπρωτεΐνες ρυθμίζουν τον μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών, επηρεάζοντας τη δράση σημαντικών ενζύμων και αλληλεπιδρώντας με ειδικούς υποδοχείς λιποπρωτεϊνών (Dominiczak & Caslake, 2011; Mehta & Shapiro, 2022).

Απολιποπρωτεΐνη apoB

Η απολιποπρωτεΐνη apoB υπάρχει σε δύο ισομορφές, τις apoB-100 και apoB-48. Συγκεκριμένα για την apoB-100, πρόκειται για την κυριότερη δομική πρωτεΐνη πλήρους μήκους της LDL, η οποία αποτελείται από 4.536 αμινοξέα και υφίσταται σε αναλογία ενός μορίου ανά σωματίδιο LDL. Η apoB-100 σχηματίζεται στο ήπαρ και ο ρόλος της είναι απαραίτητος για την σύνθεση και παραγωγή λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL), οι οποίες χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε τριγλυκερίδια. Στην κυκλοφορία του αίματος οι VLDL μετατρέπονται σε ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (Intermediate-Density Lipoprotein, IDL) και εν τέλει σε μόρια LDL, με υψηλά επίπεδα

εστέρων χοληστερόλης, μέσω της υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων από τη λιποπρωτεϊνική λιπάση και την ηπατική λιπάση (Fazio & Linton, 2009). Ωστόσο, η απολιποπρωτεΐνη apoB-48 σχηματίζεται στο έντερο από το σύμπλεγμα των ενζύμων APOBEC-1 μέσω της διαδικασίας τροποποίησης του RNA (RNA editing). Η apo-B48 αντιπροσωπεύει το αμινοτελικό άκρο (48%) της apoB-100, αποτελούμενη από 2.177 αμινοξέα και διατηρώντας ουσιαστικά την αμινοτελική (N-terminal) δομή της. Ο ρόλος της είναι σημαντικός για τη σύνθεση και παραγωγή των χυλομικρών με υψηλή περιεκτικότητα σε τριγλυκερίδια, τα οποία με τη σειρά τους συμμετέχουν ενεργά στην εντερική απορρόφηση των διαιτητικών λιπών και λιποδιαλυτών βιταμινών (Anant & Davidson, 2002; Linton et al., 2019).

Κατακράτηση λιποπρωτεϊνών

Η συσσώρευση λιποπρωτεϊνών που φέρουν χοληστερόλη και απολιποπρωτεΐνη apoB-100 στον έσω χιτώνα (intima) των αρτηριών είναι ένα από τα καθοριστικά βήματα για την έναρξη της αθηροσκλήρωσης. Σε μελέτες που διεξήχθησαν από τον Mogen Faber (1949) προτάθηκε ότι η χοληστερόλη που μεσολαβεί στις αθηροσκληρωτικές αλλοιώσεις οφείλεται στις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος και ότι οι εναποθέσεις στον έσω και έξω χιτώνα σχετίζονταν άμεσα με τους θειωμένους πολυσακχαρίτες στον εξωκυττάριο χώρο. Σε αντίστοιχες έρευνες του Per-Henrik Iverius (1972) διαπιστώθηκε και τελικά επιβεβαιώθηκε από τον Srinivasan και άλλους ερευνητές, πως οι θειωμένοι πολυσακχαρίτες, δηλαδή οι γλυκοζαμινογλυκάνες (GAGs) των πρωτεογλυκανών (PGs) συμμετέχουν στη δέσμευση και κατακράτηση των λιποπρωτεϊνών LDL στο αγγειακό τοίχωμα. (Faber, 1949; Iverius, 1972; Srinivasan et al., 1975). Ουσιαστικά, η κατακράτηση των λιποπρωτεϊνών αφορά στην παγίδευση των απολιπρωτεϊνών apoB-100 του πλάσματος του έσω χιτώνα από τις πρωτεογλυκάνες του εξωκυττάριου χώρου. Μετά επέρχεται το βήμα της συσσώρευσης των λιποπρωτεϊνών όπου τροποποιούνται μέσω ενζυμικών και οξειδωτικών οδών και συνεπώς οδηγούν σε φλεγμονώδη δράση. Το τελικό στάδιο αφορά στην ενεργοποίηση των μακροφάγων, των λείων μυϊκών ινών και άλλων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος πυροδοτώντας τον σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας.

Η κατακράτηση των λιποπρωτεϊνών στον έσω χιτώνα πέρα από ένα παθητικό φαινόμενο συσσώρευσης, εισάγει περαιτέρω παθολογικές τροποποιήσεις. Η παρατεταμένη παραμονή των LDL στο εξωκυττάριο περιβάλλον του αγγειακού τοιχώματος τις εκθέτει σε αυξημένο οξειδωτικό στρες, το οποίο παράγεται είτε από ενδοθηλιακά κύτταρα είτε λείες μυϊκές ίνες και διηθούντα φλεγμονώδη κύτταρα. Υπό αυτές τις συνθήκες, οι κατακρατημένες LDL

υφίστανται οξειδωτική τροποποίηση, οδηγώντας στον σχηματισμό οξειδωμένων LDL (Oxidized Low-Density Lipoprotein, oxLDL), οι οποίες αποκτούν έντονα προφλεγμονώδεις και αθηρογόνες ιδιότητες (Ference et al., 2017; Williams & Tabas, 1995; Gustafsson & Borén, 2004).

Οξειδωτικό Στρες

Το οξειδωτικό στρες αναφέρεται στην αυξημένη παραγωγή οξειδωτικών παραγόντων, όπως ελεύθερες ρίζες και ιόντα, δηλαδή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου ROS που δεν δύναται να αντισταθμιστεί πλέον από τα ενδογενή αντιοξειδωτικά ώστε να τους εξουδετερώσουν. Η υπερπαραγωγή των ROS μπορεί να είναι συντριπτική καθώς αντιδρούν με λιπίδια, πρωτεΐνες και μόρια DNA που μέσω ενεργοποίησης σηματοδοτικών μονοπατιών να οδηγήσουν σε παθολογικές καταστάσεις (Chatterjee, 2016).

Οι ROS χαρακτηρίζονται για τις αντιδραστικές τους ιδιότητες και παράγονται με την αναγωγή του οξυγόνου. Περιλαμβάνουν ελεύθερες ρίζες, όπως το υπεροξείδιο ($O_2^{\cdot-}$) και τα υδροξυλικά είδη ($HO^{\cdot}$), καθώς και μη ελεύθερες ρίζες, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Στη συνέχεια οι ίδιες παράγουν πολύπλοκες ενώσεις, όπως το υπεροξείνιτρώδες ($ONOO^-$), το υποχλωριώδες οξύ ($HOCl$) και τις λιπιδικές υπεροξυρίζες. Ο ρόλος των φυσιολογικών επιπέδων ROS είναι καθοριστικός για τη διατήρηση των σηματοδοτικών μονοπατιών που ελέγχουν κυτταρικές διαδικασίες, όπως η φλεγμονή και η απόπτωση και την έκφραση γονιδίων μέσω των μεταγραφικών παραγόντων. Ωστόσο, η υπερπαραγωγή ROS μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή αυτών των μονοπατιών, γεγονός που μπορεί να προάγει ασθένειες που σχετίζονται με ROS, όπως ο διαβήτης τύπου II (Type II Diabetes, T2D), ο καρκίνος, ο καταρράκτης και η αθηροσκλήρωση. Επιπλέον η αυξημένη παραγωγή ROS αποτελεί κίνδυνο για περαιτέρω παραγωγή ROS, γεγονός το οποίο οδηγεί στην περαιτέρω εξέλιξη της νόσου (Zorov et al., 2014). Ακόμα, είναι γνωστό πως η αθηροσκλήρωση συνδέεται με το μιτοχονδριακό οξειδωτικό στρες, γεγονός που οφείλεται στην υπερπαραγωγή ROS ή στην βλάβη των αντιοξειδωτικών μηχανισμών (Wang & Tabas, 2014).

Οξειδωτικό Στρες και Αθηροσκλήρωση

Το οξειδωτικό στρες και συγκεκριμένα η υπερπαραγωγή ROS στα αγγειακά τοιχώματα μεσολαβεί ενεργά στην διαδικασία της αθηροσκλήρωσης και μπορεί να προκύψει παράλληλα με την παραγωγή κυτταροκινών και χημοκινών (Peluso et al., 2012; Förstermann et al., 2017). Μετά την ενδοθηλιακή διαταραχή, πυροδοτείται μια τοπική φλεγμονώδης αντίδραση καθώς αυξάνεται η διαπερατότητα του ενδοθηλίου, με αποτέλεσμα φλεγμονώδη κύτταρα να

διηθούνται στα αγγειακά τοιχώματα και να επάγονται φλεγμονώδεις ουσίες, όπως οι κυτταροκίνες (Interleukin-1 beta, IL-1 β , Interferon-gamma, IFN- γ) μέσω της NADPH οξειδάσης, TNF- α (Perrotta & Aquilla, 2015; Yang et al., 2007).

Η λιποπρωτεΐνη LDL ως κύρια πηγή συγκέντρωσης λιπιδίων στον έσω χιτώνα του ενδοθηλίου για να προσδιοριστεί ως αθηρογόνος περνά από χημική τροποποίηση, όπως αποσιαλίωση και οξείδωση (Sukhorukon et al., 2016). Στην αποσιαλίωση (desialylation) η παρατεταμένη παρουσία των αποσιαλιωμένων LDL στο ενδοθηλιακό περιβάλλον τα καθιστά ευαίσθητα στην οξείδωση, με αποτέλεσμα σε άτομα που πάσχουν από αθηροσκλήρωση να παράγεται διαρκώς και πολλαπλά τροποποιημένη η LDL. Όσον αφορά στα οξειδωμένα σωματίδια της LDL λοιπόν, αυτά συμβάλλουν στην έκφραση των μορίων κυτταρικής προσκόλλησης, VCAM-1, των σελεκτινών P και E σε αυξημένα επίπεδα και στη συνέχεια επέρχεται η ενεργοποίηση του μονοπατιού του πυρινικού μεταγραφικού παράγοντα NF- κ B (Bellido et al., 2006). Επιπλέον η αυξημένη έκφραση των VCAM-1 και των σελεκτινών προάγει την διήθηση των λευκοκυττάρων στο ενδοθηλιακό περιβάλλον και τα μονοκύτταρα διαφοροποιούνται σε μακροφάγα, όπου τα τελευταία συνδέονται στις οξειδωμένες LDL (oxLDL) και παράγουν τα αφρώδη κύτταρα (foam cells) (Chistiakov et al., 2017).

Αλυσίδα Μεταφοράς Ηλεκτρονίων των Μιτοχονδρίων

Τα μιτοχόνδρια είναι κυτταρικά οργάνδια που βρίσκονται σε όλα τα πυρηνούχα ανθρώπινα κύτταρα και αποτελούνται από την εξωτερική λιπιδική μεμβράνη, τον διαμεμβρανικό χώρο, την εσωτερική μεμβράνη και την εσωτερική μήτρα. Διαδραματίζουν πολλαπλούς ρόλους με τον κύριο να είναι η παραγωγή ATP μέσω της οξειδωτικής φωσφορύλωσης (Oxidative Phosphorylation, OXPHOS). Ακόμα, πρόκειται για μία από τις κύριες πηγές κυτταρικής ενέργειας, ελέγχουν την ομοιόσταση του ασβεστίου και σιδήρου καθώς και την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου, ROS (Mitochondrial Reactive Oxygen Species, mtROS), ως παραπροϊόντα της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (Electron Transport Chain, ETC). Κατά την τελευταία διαδικασία οδηγούμαστε σε μερική αναγωγή του O₂ σε ανιόν υπεροξειδίου (Superoxide anion, O₂⁻), το οποίο μετατρέπεται σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (Hydrogen Peroxide, H₂O₂) μέσω της υπεροξειδικής δισμουτάσης μαγγανίου (Manganese Superoxide Dismutase, MnSOD/SOD2) ή χαλκού-ψευδραργύρου (Copper/Zinc Superoxide Dismutase, CuZnSOD/SOD1). Τελικά, το H₂O₂ ανάγεται σε νερό μέσω της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (Glutathione Peroxidase, GPX). Το σύστημα αυτό λειτουργεί αντιοξειδωτικά και προστατεύει περαιτέρω το μιτοχονδριακό DNA και τις πρωτεΐνες από οξείδωση καθώς

και τα λιπίδια από υπεροξειδωση (Batty et al., 2022). Ωστόσο, έχει βρεθεί σε πειραματικά ποντίκια με πλήρη έλλειψη της απολιποπρωτεΐνης ApoE πως το αντιοξειδωτικό σύστημα των μιτοχονδρίων αποδυναμώνεται και συσχετίζεται με την αθηροσκλήρωση, καθώς μειώνονται τα επίπεδα της GPX και των SOD1 και SOD2 με αποτέλεσμα τα mtROS να αυξάνονται και να διαταράσσουν την ενδοθηλιακή λειτουργία. Όταν η νόσος της αθηροσκλήρωσης φτάσει σε προχωρημένο στάδιο σε συνδυασμό με άλλες παθήσεις και συνήθειες, όπως σακχαρώδη διαβήτης και κάπνισμα, αντίστοιχα, παρατηρούνται πολύ υψηλά επίπεδα mtROS (Wang & Tabas, 2014).

Για να διατηρηθεί σε φυσιολογικά επίπεδα η λειτουργία των μιτοχονδρίων, σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η μιτοφαγία. Ο ρόλος της βασίζεται στην απομάκρυνση των δυσλειτουργικών μιτοχονδρίων που έχουν την τάση να συσσωρεύονται, με σκοπό την προστασία του κυττάρου και την αποτροπή της απόπτωσης. Επομένως, ο μηχανισμός αυτός αποτρέπει και την συγκέντρωση ριζών ελευθέρων ριζών, όπως το υπεροξινιτρώδες (peroxynitrite, OONO-) και η ρίζα υδροξυλίου (Hydroxyl radical, ·OH) στα μιτοχόνδρια αυτά, γεγονός που συμβάλλει στην αποτροπή της ανάπτυξης της αθηροσκλήρωσης. Ωστόσο, μια ελαττωματική μιτοφαγία οδηγεί το κύτταρο σε νέκρωση, κυτταρικό στρες και συσσώρευση των ROS, συμβάλλοντας στη δημιουργία του νεκρωτικού πυρήνα και την αποσταθεροποίηση της αθηροσκληρωτικής πλάκας (Grootaert et al., 2018; Madamanchi & Runge, 2007).

Η υπερπαραγωγή των ριζών οξυγόνου κατά την δυσλειτουργία του μιτοχονδρίου οδηγεί σε βλάβες του μιτοχονδριακού DNA, όπως στη διαταραχή της πρωτεϊνσύνθεσης στο mtDNA και στην ελάττωση της παραγόμενης τριφωσφορικής αδενοσίνης (Adenosine Triphosphate, ATP) στα λεϊα μυϊκά κύτταρα του ενδοθηλίου, γεγονός το οποίο συμβάλλει στην περαιτέρω εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης και της αποσταθεροποίησης της αθηρωματικής πλάκας, η οποία με τη σειρά της σχετίζεται με τη μεθυλίωση του μιτοχονδριακού DNA (Mitochondrial DNA, mtDNA), την αύξηση αντιγράφων του και την εμφάνιση διαφόρων μεταλλάξεων. Από την άλλη μεριά, έχει αναφερθεί πως οι προαναφερόμενες βλάβες του mtDNA αποτελούν την κύρια και πρωτογενή πηγή υπερπαραγωγής ROS και μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας, καθώς ανιχνεύθηκαν πριν την παρουσία περιοχών αθηροσκλήρωσης σε αγγειακά κύτταρα. Μάλιστα το δυσλειτουργικό mtDNA συντελεί στην πρόκληση της φλεγμονώδους απόκρισης. Συγκεκριμένα, τα mtROS σχετίζονται με την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος (NLR Family Pyrin Domain Containing 3, NLRP3) και φλεγμονωδών μονοπατιών, όπως του NF-Κβ και του υποδοχέα τύπου Toll 9 (Toll-Like Receptor 9, TLR9). Ο τελευταίος συνδέεται με

τον πολλαπλασιασμό των μακροφάγων στις αθηρωματικές βλάβες, γεγονός που καθιστά το mtDNA έναν προφλεγμονώδη μηχανισμό κατά τη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης (Shemiakova et al., 2021).

Οξειδάση NADPH

Οι NADPH οξειδάσες είναι μία οικογένεια ενζυμικών συμπλόκων, που έχουν ταυτοποιηθεί στην μεμβράνη των φαγοκυττάρων και άλλων κυττάρων, όπου ο κύριος ρόλος τους είναι η παραγωγή ROS με την χρήση του NADPH ως δότη ηλεκτρονίων στο μοριακό οξυγόνο, οδηγώντας στην παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου, O_2^- . Αρχικά, ο κύριος σκοπός τους στα φαγοκύτταρα ήταν η εξουδετέρωση παθογόνων μικροοργανισμών στο ανοσοποιητικό σύστημα. Οι οξειδάσες αυτές αποτελούνται κυρίως από δύο υπομονάδες, την p22phox και την Nox, με τους τύπους Nox1, Nox2, Nox4 και Nox5 να εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα στο ενδοθηλιακό περιβάλλον, στα VSMC κύτταρα και στους ινοβλάστες, υποδηλώνοντας πως συσχετίζονται με την αθηρογένεση (Drummond et al., 2011; Fulton & Barman, 2016). Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί πως η γενετική διαγραφή του τύπου Nox1 ή του συστατικού p47phox σε πειραματικά ποντίκια προκάλεσε μείωση του κινδύνου της αθηροσκλήρωσης, ενώ έχει προταθεί ότι ορισμένες μορφές των Nox2 και Nox4 είναι μη αθηροσκληρωτικοί και ο Nox5 συμβάλλει στις αθηροσκληρωτικές βλάβες (Gray et al., 2013; Gray et al., 2016; Guzik et al., 2008).

Ξανθινοξειδάση

Η ξανθινοξειδάση (Xanthine Oxidase, XO) είναι ένζυμο που καταλύει την οξείδωση της υποξανθίνης σε ξανθίνη και στη συνέχεια τη μετατρέπει σε ουρικό οξύ με παραπροϊόντα το O_2^- και το H_2O_2 . Υποστηρίζεται πως το επίπεδο έκφρασης της XO είναι αρκετά αυξημένο στο στάδιο των μακροφάγων των αθηρωματικών πλακών. Φαίνεται πως αυτή η αύξηση προκύπτει από τη διακύμανση της διατμητικής τάσης, η οποία ουσιαστικά αυξάνει τον λόγο ξανθινοξειδάσης (XO)/ ξανθινοδεϋδρογονάσης στα ενδοθηλιακά κύτταρα και άρα την παραγωγή του H_2O_2 . Ακόμα, παρ' όλο που δεν έχει αποδειχθεί, φαίνεται πως η αύξηση του ουρικού οξέος στον ορό σχετίζεται με την αθηροσκλήρωση μέσω της πρόκλησης μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας και επομένως της υπερπαραγωγής των ROS. Σύμφωνα με προκλινικά στοιχεία η αλλοπουρινόλη (allopurinol) αναστέλλει την XO και έτσι μειώνεται η παραγωγή αφρωδών κυττάρων από τα μακροφάγα. Μάλιστα, έχει βρεθεί πως σε πειραματικά ποντίκια με πλήρη έλλειψη της απολιποπρωτεΐνης ApoE (ApoE^{-/-}), η χορήγηση της

αλλοπουρινόλης αποτρέπει την δημιουργία αθηροσκληρωτικής πλάκας, κάτι που σε ανθρώπους δεν έχει επιβεβαιωθεί (Batty et al., 2022).

Αποσύζευξη της eNOS (eNOS uncoupling)

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στην εισαγωγή του κεφαλαίου, η ενδοθηλιακή συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) είναι το ένζυμο που καταλύει τη μετατροπή της L-αργινίνης σε μονοξείδιο του αζώτου (NO). Το NO αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους αγγειοπροστατευτικούς παράγοντες του ενδοθηλίου, καθώς προκαλεί αγγειοδιαστολή, αναστέλλει την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο, περιορίζει τον πολλαπλασιασμό των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων (VSMCs) και αναστέλλει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Ωστόσο, κατά το οξειδωτικό στρες η eNOS μπορεί να υποστεί αποσύζευξη (eNOS uncoupling). Ειδικότερα, η οξειδωμένη LDL (oxLDL) ενεργοποιεί τη NADPH οξειδάση (NOX), με αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή ανιόντος υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet-}$). Το υπεροξείδιο αντιδρά ταχύτατα με το NO σχηματίζοντας υπεροξυνιτρώδες ($ONOO^-$), το οποίο οξειδώνει τον απαραίτητο συμπαράγοντα της eNOS, την τετραϋδροβιοπτερίνη (tetrahydrobiopterin, BH_4). Η οξείδωση και η επακόλουθη έλλειψη της BH_4 οδηγούν σε αποσύζευξη της eNOS, με αποτέλεσμα τα ηλεκτρόνια να μεταφέρονται πλέον απευθείας στο μοριακό οξυγόνο αντί στην L-αργινίνη. Έτσι, η αποσυζευγμένη eNOS παράγει ανιόν υπεροξειδίου αντί μονοξειδίου του αζώτου, γεγονός που μειώνει τη βιοδιαθεσιμότητα του NO και ενισχύει περαιτέρω το οξειδωτικό στρες, δημιουργώντας έναν φαύλο κύκλο ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (Hong et al., 2019; Li & Förstermann, 2013).

Φλεγμονή

Η φλεγμονή χαρακτηρίζεται από μία βιολογική άμυνα του οργανισμού σε εξωτερικά επιβλαβή ερεθίσματα, όπως είναι οι παθογόνοι μικροοργανισμοί. Χωρίζεται σε οξεία και χρόνια φλεγμονή, όπου η πρώτη προορίζεται για την επούλωση και αποκατάσταση των κυττάρων, ενώ η χρόνια μπορεί να οδηγήσει σε αυτοάνοσα και καρδιαγγειακά νοσήματα. Όταν τα κύτταρα υφίστανται βλάβη, εκκρίνονται προφλεγμονώδεις παράγοντες και υποδοχείς (Chemokine Receptor type 2, CCR2 και C-X3-C Motif Chemokine Receptor 1, CX3CR1 και $IFN-\gamma$, $IL-1\beta$, $IL-6$, και $TNF-\alpha$) (Chavda et al., 2024).

Όπως έχει προαναφερθεί ένα από τα πιο σημαντικά βήματα έναρξης της αθηροσκλήρωσης είναι η κατακράτηση της απολιποπρωτεΐνης ApoB και της LDL στα αγγειακά τοιχώματα. Μετά από ενζυμικές και μη ενζυμικές τροποποιήσεις των τελευταίων, δημιουργούνται μόρια σχετικά με την κυτταρική βλάβη, τα λεγόμενα μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με βλάβη

(damage associated molecular patterns, DAMPs), τα οποία προκαλούν την φλεγμονώδη απόκριση (Borén et al., 2020). Επιπροσθέτως, τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια μέσω των υποδοχέων (Toll-Like Receptors, TLR) οδηγούν από μόνα τους σε προφλεγμονώδη απόκριση (Curtiss & Tobias, 2009). Τα φυσιολογικά σωματίδια LDL προσλαμβάνονται από τα μακροφάγα μέσω της μικροπινοκυττάρωσης (micropinocytosis), ενώ σε μορφή κρυστάλλων χοληστερόλης προσλαμβάνονται μέσω της φαγοκυττάρωσης. Ωστόσο, η υπερβολική συσσώρευση χοληστερόλης πυροδοτεί την έκκριση κυτταροκινών όπως IL-6, IL-1 β η οποία ενισχύει την έκφραση της C αντιδραστικής πρωτεΐνης (C-Reactive Protein, CRP), καθώς και την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος NLRP3. Το NLRP3 πρόκειται για ένα σύμπλεγμα μορίων της ομάδας γονιδίων του κυτταροπλασματικού τομέα σύνδεσης νουκλεοτιδίων και επαναλήψεων λευκίνης. Επιπλέον, είναι σημαντικό να ειπωθεί ότι τα μυελοειδή κύτταρα και τα λεμφοκύτταρα συνδέονται με την εμφάνιση θρόμβων, λόγω των υπερβολικών διηθήσεων των κυττάρων στο ενδοθηλιακό περιβάλλον και της λεπτής ινώδους κάψας που σχηματίζεται στην πορεία (Wolf & Ley, 2019). Ασθενείς λοιπόν με αυξημένα επίπεδα CRP, IL-6, IL-1 β σε φλεγμονώδη κατάσταση έχουν πολύ μεγάλες πιθανότητες να εμφανίσουν καρδιαγγειακό επεισόδιο και μάλιστα όσο η έμφυτη (innate), τόσο και η επίκτητη (adaptive) ανοσία συμβάλλουν αρνητικά στον κύκλο εμφάνισης της αθηροσκλήρωσης (Deroissart et al., 2022).

Έμφυτη Ανοσία

Κατά την αθηρωματική βλάβη τα μακροφάγα ενεργοποιούνται από τα οξειδωμένα σωματίδια oxLDL και ο πυρηνικός παράγοντας NF- κ B μετατοπίζεται από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα των κυττάρων και ενεργοποιούνται τα γονίδια φλεγμονής. Οι υποδοχείς TLRs των μακροφάγων που βρίσκονται στην επιφάνειά τους, ανιχνεύουν μοριακά πρότυπα συνδεδεμένα με παθογόνα και μοριακά πρότυπα συνδεδεμένα με βλάβη (Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMPs και DAMPs αντίστοιχα), δηλαδή έχουν ρόλο ανίχνευσης κινδύνου. Συγκεκριμένα, η πρωτεΐνη προσαρμογέα (Myeloid Differentiation Primary Response 88, MYD88) λειτουργεί σαν μόριο σηματοδότησης των TLRs και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο για την μετάδοση προ-αθηροσκληρωτικού σήματος από τις προ-αθηρωματικές κυτταροκίνες IL-1 β και IL-18. Ακόμα, η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη (Lysophosphatidylcholine, LPC) που είναι παράγωγο της οξειδωμένης LDL και τα οξειδωμένα μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα είναι προφλεγμονώδη μόρια που ενεργοποιούν μαζί με τις κυτταροκίνες την έμφυτη ανοσία. Έχουν υπάρξει προσπάθειες και τρόποι πρόληψης της συγκεκριμένης ενεργοποίησης, όπως η αναστολή του ενζύμου Λιποπρωτεϊνική-σχετιζόμενη φωσφολιπάση A2 (Lipoprotein-

associated Phospholipase A2, Lp-PLA2) που βοηθά στον σχηματισμό της LPC για να μειωθούν τα καρδιαγγειακά προβλήματα, αλλά σε διάφορους πληθυσμούς ασθενών κάτι τέτοιο δεν επετεύχθη (Edfeldt et al., 2002; Lundberg & Hansson, 2010; Gisterå & Hansson, 2017).

Επίκτητη Ανοσία

Ένας από τους βασικούς τύπους συμπλέγματος μείζονος ιστοσυμβατότητας (Major Histocompatibility Complex, MHC) κατηγορίας II μορίων του ανοσοποιητικού συστήματος που είναι η HLA-DR δεσμεύει πεπτίδια αντιγόνα και τα παρουσιάζει στα CD4+T κύτταρα με σκοπό την ανοσολογική απόκριση, την δεδομένη προσαρμοσμένη ανοσία. Ο ρόλος των δενδριτικών κυττάρων είναι να διασπών αυτά τα αντιγόνα σε πεπτίδια και μεταφέρονται στους λεμφαδένες παρουσιάζοντάς τα σε ανοσοανώριμα T κύτταρα (naïve), τα οποία ενεργοποιούνται και παράγουν κυτταροκίνες. Ένα παράδειγμα για ανοσολογική απόκριση αποτελούν οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ (Heat Shock Proteins 60 & 65, HSP60/65) όπου παράγονται σε περιπτώσεις στρες από τα βακτήρια έως τα ανθρώπινα κύτταρα και οδηγούν σε αυτοάνοση απόκριση και τελικά στην έναρξη της διαδικασίας της αθηροσκλήρωσης. Συγκεκριμένα, τα αντισώματα κατά των κυττάρων HSP60/65 προκαλούν κυτταροτοξικότητα στο ενδοθήλιο και οδηγούν σε λιπώδεις γραμμώσεις (fatty streaks). Άλλα παραδείγματα ανοσογόνων συσχετιζόμενα με την αθηροσκλήρωση αποτελούν η απολιποπρωτεΐνη ApoH και οι τροποποιημένες πρωτεΐνες του εξωκυττάριου χώρου (Jonasson et al., 1985; Wick et al., 2014; Gisterå & Hansson, 2017).

Κυτταρική Ανοσία

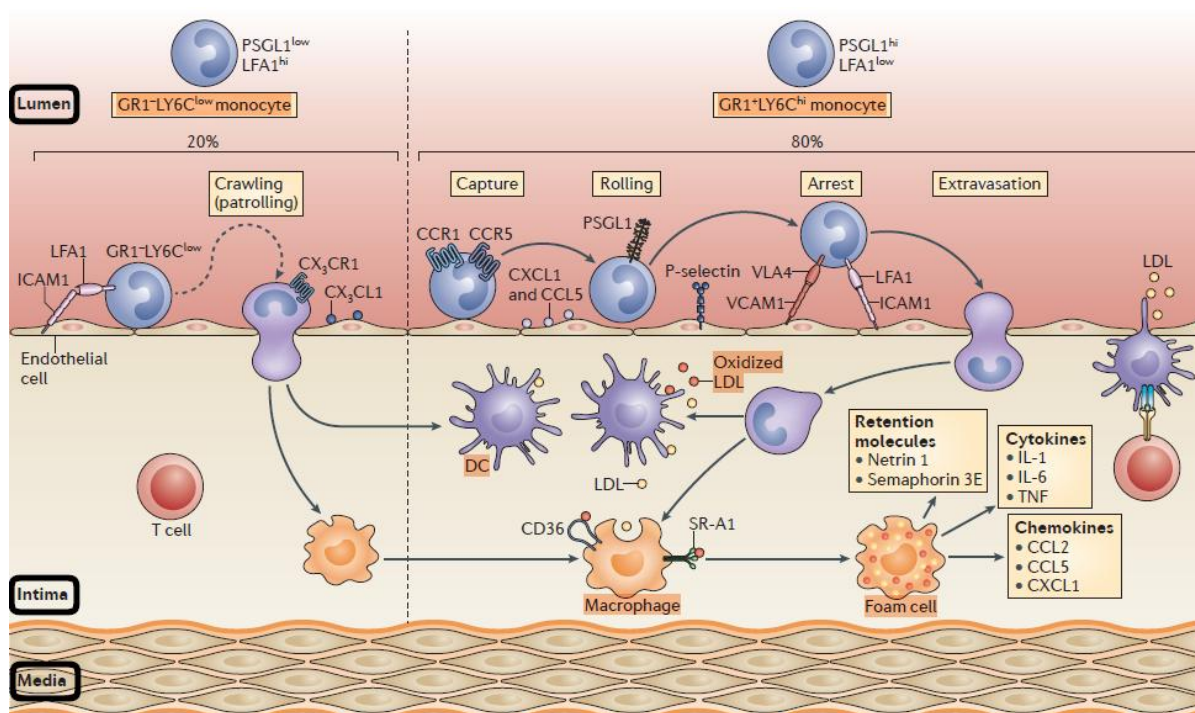
Τα ενεργοποιημένα T κύτταρα που οδηγούν σε ανοσολογική απόκριση διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη των αθηρωματικών πλακών. Για παράδειγμα, διαπιστώθηκε ότι σε πειραματικά ποντίκια που στερούνται T- και B- κύτταρα, η πιθανότητα έναρξης της αθηροσκλήρωσης είναι χαμηλότερη σε σχέση με ποντίκια που διαθέτουν αυτά τα λεμφοκύτταρα. Ακόμα, παρατηρήθηκε ότι όταν μεταφέρθηκαν CD4+ T-κύτταρα στα ίδια πειραματικά ποντίκια η αθηροσκλήρωση ενισχύθηκε (Zhou et al., 2006). Αξίζει να σημειωθεί πως η οξειδωμένη και η φυσιολογική λιποπρωτεΐνη LDL περιέχουν μικρές περιοχές πεπτιδίων (επιτόπους) στις απολιποπρωτεΐνες ApoB-100 που αναγνωρίζονται από τα T-κύτταρα. Σε πρώτη φάση τα κύτταρα παρουσίασης αντιγόνου (Antigen-Presenting Cells, APCs) συνδέονται μέσω των υποδοχέων τους σε οξειδωμένη LDL και στη συνέχεια την παρουσιάζουν στα κύτταρα CD4+ T, από όπου ξεκινά η ανοσολογική απόκριση. Ωστόσο, η

υπερβολική αύξηση των επιπέδων της οξειδωμένης LDL μπορεί να οδηγήσει σε αντίθετα αποτελέσματα, καθώς ενδέχεται να αλλάξει η χημική δομή των επιτόπων. Ως αποτέλεσμα, οι υποδοχείς των T-κυττάρων δεν τους αναγνωρίζουν, με συνέπεια τα T-κύτταρα να ενεργοποιούνται σε μικρότερο βαθμό ή τελικά να καταστέλλεται η δράση τους (Hermansson et al., 2010; Gisterå & Hansson, 2017).

Μονοκύτταρα

Τα μονοκύτταρα είναι ένας τύπος λευκών αιμοσφαιρίων που συμμετέχουν στην άμυνα του ανοσοποιητικού συστήματος και μία επικείμενη αύξησή τους στο αίμα αυξάνει τον κίνδυνο για έναρξη παθήσεων, όπως αυτή της αθηροσκλήρωσης. Πρόκειται για μονοπυρηνικά κύτταρα που εκφράζουν πολλαπλούς επιφανειακούς υποδοχείς οι οποίοι συμμετέχουν στην πορεία της αθηροσκλήρωσης. Σε πρώτη φάση το ενδοθήλιο υπερεκφράζει την χημοκίνη MCP-1, την πρωτεΐνη προσκόλλησης VCAM-1 και την πρωτεΐνη προσκόλλησης ICAM-1 με σκοπό την προσέλκυση των μονοκυττάρων στην επιφάνεια του ενδοθηλίου και τελικά την διήθηση των λευκοκυττάρων. Κατά συνέπεια, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός οδηγεί σε σχηματισμό μακροφάγων με τη βοήθεια του παράγοντα διέγερσης αποικιών μακροφάγων (Macrophage Colony-Stimulating Factor, MCSF). Τα μακροφάγα προσλαμβάνουν την οξειδωμένη LDL μέσω των υποδοχέων CD36 και SRA-1 και έτσι δημιουργούνται τα αφρώδη κύτταρα (foam cells), τα οποία οδηγούνται σε απόπτωση με την επερχόμενη παραγωγή νέων μακροφάγων (Εικόνα 3) (Apollo Hospitals, 2026; Hilgendorf et al., 2015).

Σε δεύτερη φάση, τα μονοκύτταρα παίζουν καθοριστικό ρόλο στην διαδικασία οξείας φλεγμονής, η οποία συνδέεται με το έμφραγμα του μυοκαρδίου και η αθηρωματική πλάκα χάνει τη σταθερότητά της οδηγώντας σε θρόμβους και στη ρήξη της. Μάλιστα, τα μονοκύτταρα προσκολλώνται στον εξωκυτταρικό ιστό επάγοντας τις μεταλλοπρωτεϊνάσες της μήτρας καθώς διεισδύουν στον τραυματισμένο ιστό και προκαλούν την έκφραση των φλεγμονωδών κυτταροκινών TNF, IL-6 και IL-1. Επιπλέον, τα μονοκύτταρα συμβάλλουν σε ισχαιμικές βλάβες λόγω υποξίας μέσω των μιτοχονδριακών ROS. Τελικά, κατά τη διάρκεια της επούλωσης τα μονοκύτταρα στην περίοδο της υποξίας κατακρατούνται στον καρδιακό ιστό προάγοντας ινοβλάστες και επουλώνοντας το μυοκάρδιο (Moore et al., 2013; Luz et al., 2018).



Εικόνα 3 : Αναπαράσταση της εξέλιξης των μονοκυττάρων σε αφρώδη κύτταρα

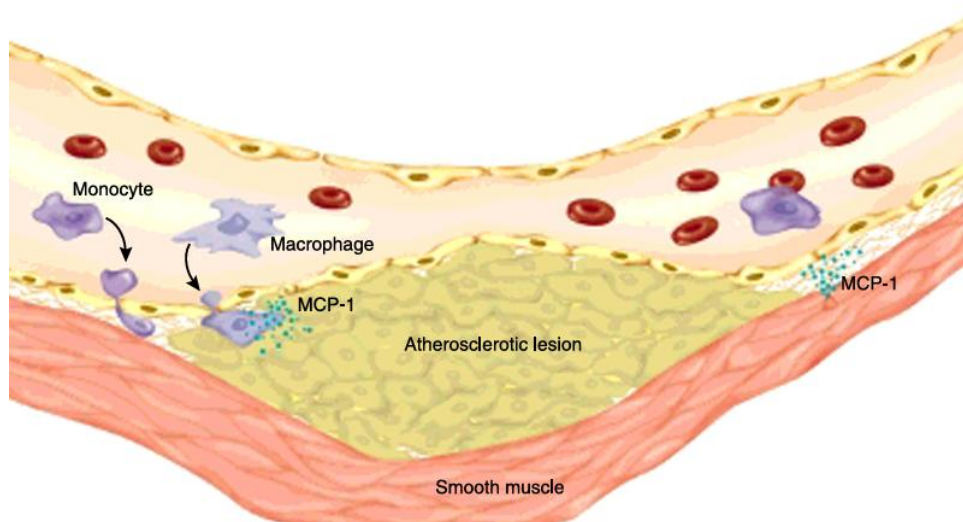
Η υπερλιπιδαιμία αυξάνει την κυκλοφορία των GR1⁺LY6C^{hi} μονοκυττάρων, τα οποία προσκολλώνται στο ενδοθήλιο μέσω σελεκτινών, ICAM-1 και VCAM-1 και μεταναστεύουν στον έσω χιτώνα (intima).

Εκεί διαφοροποιούνται σε μακροφάγα και δένδριτικά κύτταρα. Τα μακροφάγα προσλαμβάνουν οξειδωμένες LDL (oxLDL) μέσω των scavenger υποδοχέων SR-A1 και CD36, σχηματίζοντας τα αφρώδη κύτταρα (foam cells), τα οποία εκκρίνουν κυτταροκίνες και χημοκίνες, ενισχύοντας τη φλεγμονή και την εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας. (Moore et al. 2013).

MCP-1

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως οι χημοκίνες παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης προάγοντας την μετανάστευση φλεγμονωδών κυττάρων, όπως των μονοκυττάρων. Η μονοκυτταρική χημειοελκτική πρωτεΐνη-1 (Monocyte/1e Chemoattractant Protein-1, MCP-1), μια χημοκίνη της υπο-οικογένειας CC της ευρύτερης οικογένειας των χημειοκινών, έχει ανιχνευθεί σε αθηροσκληρωτικές βλάβες με χρήση αντισωμάτων έναντι της MCP-1. Η έκφραση γονιδίου της MCP-1 έχει παρατηρηθεί σε ενδοθηλιακά κύτταρα, μακροφάγα και σε λεία μυϊκά κύτταρα ασθενών. Η MCP-1 μέσω της ενεργοποίησης ενός ενδοκυττάριου σηματοδοτικού καταρράκτη στα μονοκύτταρα, προάγει τη διενδοθηλιακή τους μετανάστευση και την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης στο αγγειακό τοίχωμα. Εν αντιθέσει, σε μελέτη των Gu et al. (1998) ποντίκια με έλλειψη της LDL και ανεπαρκή έκφραση της MCP-

1 υποβλήθηκαν σε δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε χοληστερόλη εμφανίζοντας σημαντικά μικρότερη εναπόθεση λιπιδίων και μειωμένη συσσώρευση μακροφάγων στα τοιχώματα των αγγείων (Harrington, 2000; Gu et al., 1998). Σε μια παρόμοια μελέτη, οι Boring et al. (1998) παρατήρησαν μείωση του μεγέθους των αθηροσκληρωτικών βλαβών σε ποντίκια με έλλειψη του υποδοχέα CCR2, ο οποίος διαμεσολαβεί στη σηματοδότηση της MCP-1 στα μονοκύτταρα. Ανιχνεύθηκαν πολύ λιγότερα μονοκύτταρα και μακροφάγα στα αρτηριακά τοιχώματα των ποντικών με έλλειψη CCR2 και τα συνολικά επίπεδα χοληστερόλης στο πλάσμα δεν επαρκούσαν από μόνα τους για να επάγουν τον σχηματισμό αθηρωματικής πλάκας. Συνεπώς, τα δεδομένα αυτών των μελετών υπογραμμίζουν τη σημασία της MCP-1 στην ανάπτυξη των αθηροσκληρωτικών πλακών μέσω ενός μηχανισμού που εμφανίζεται ανεξάρτητος από τα επίπεδα της ίδιας της χοληστερόλης (Εικόνα 4). Συμπερασματικά, η MCP-1 διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην έναρξη της αθηροσκλήρωσης στρατολογώντας τα μονοκύτταρα του πλάσματος στο τοίχωμα των αγγείων (Boring et al., 1998).



Εικόνα 4 : Σχηματική αναπαράσταση του ρόλου της χημοκίνης MCP-1 στη στρατολόγηση των μονοκυττάρων κατά την αθηρογένεση.

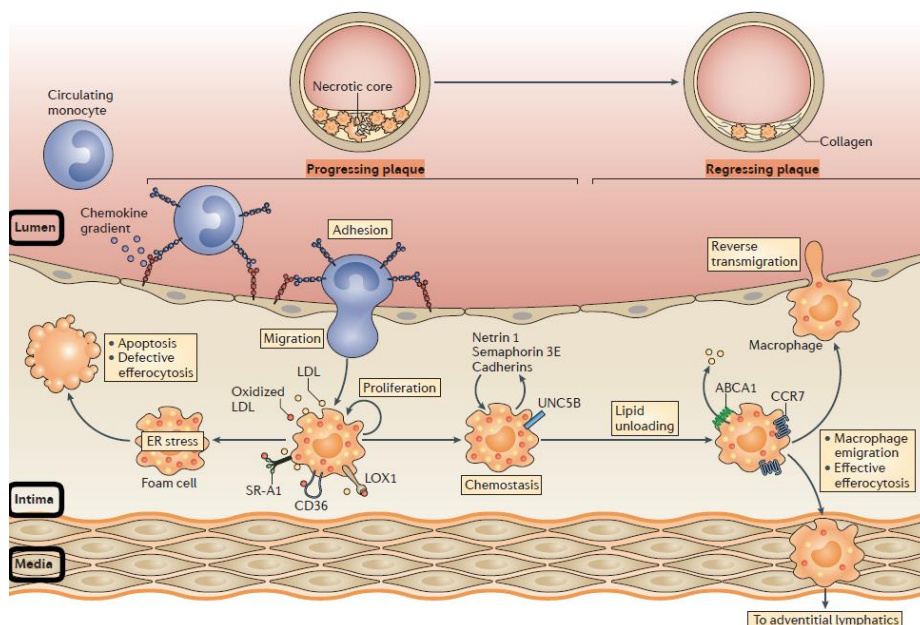
Τα ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά του αγγειακού τοιχώματος εκκρίνουν την πρωτεΐνη MCP-1, η οποία με τη σειρά της λειτουργεί ως χημειοελκτικός παράγοντας για τη στρατολόγηση των μονοκυττάρων του αίματος. Η αλληλεπίδραση της MCP-1 με τους ειδικούς υποδοχείς CCR2 των μονοκυττάρων επάγει τη διαενδοθηλιακή μετανάστευσή τους στα τοιχώματα των αγγείων. Στη συνέχεια, τα κύτταρα αυτά διαφοροποιούνται σε μακροφάγα, τα οποία συσσωρεύουν λιπίδια συμβάλλοντας καθοριστικά στον σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας (Harrington, 2000).

Μακροφάγα

Τα μακροφάγα είναι είδη λευκοκυττάρων που προέρχονται από τα μονοκύτταρα, όπως προαναφέρθηκε, με κύρια λειτουργία την φαγοκυττάρωση νεκρών κυττάρων και παθογόνων μικροοργανισμών με σκοπό την ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, τα μακροφάγα διαχωρίζονται σε προφλεγμονώδη, M1 και αντιφλεγμονώδη, M2, όπου ρυθμίζουν τη φλεγμονώδη απόκριση και την εξέλιξη της αθηροσκληρωτικής πλάκας. Σε περιβάλλον πλούσιο σε oxLDL τα μακροφάγα μπορούν να μετατραπούν σε αφρώδη κύτταρα (foam cells) (Luz et al., 2018). Στην αθηρωματική πλάκα, υπάρχουν διάφορες μορφές υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων, (Pattern Recognition Receptors, PRRs), όπως ο SR-A1, SR-B1, DC36, LOX1, οι οποίοι βρίσκονται στην επιφάνεια των μακροφάγων και προσλαμβάνουν τις οξειδωμένες μορφές των LDL. Βέβαια οι υποδοχείς αυτοί έχουν και άλλους ρόλους, όπως δηλαδή φαίνεται ο SR-A1 συνδέεται με τον πολλαπλασιασμό των μακροφάγων και ο CD36 με την απόπτωση των μακροφάγων, η οποία

εάν είναι υπερβολική τότε συσσωρεύονται τα νεκρά κύτταρα, δημιουργώντας νεκρωτικό πυρήνα της αθηροσκληρωτικής πλάκας (Poznyak et al.,2024).

Η διαφοροποίηση των μονοκυττάρων σε μακροφάγα και η πολλαπλασιαστική ικανότητά τους οφείλονται κυρίως στη δράση της κυτταροκίνης M-CSF. Τα M1 μακροφάγα προέρχονται από τα LY6C^{high} μονοκύτταρα και παράγουν τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, IL-6, IL-12, TNF- α , ενώ τα LY6C^{low} μονοκύτταρα δίνουν τα M2 μακροφάγα και αυτά συνεπώς παράγουν αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως IL-10 και TGF- β , οι οποίες συμμετέχουν στην επούλωση της φλεγμονής. Όταν στη συνέχεια σχηματιστούν τα αφρώδη κύτταρα είτε από τα μακροφάγα είτε από τα λεϊα μυϊκά κύτταρα (VSMCs), εκείνα προσελκύουν περισσότερα μονοκύτταρα και μακροφάγα ενισχύοντας τη φλεγμονώδη διεργασία. Παράλληλα, ενεργοποιούνται μηχανισμοί εκροής της χοληστερόλης μέσω των μεταφορέων ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1), οι οποίοι προάγουν την απομάκρυνση της περίσσειας χοληστερόλης συμβάλλοντας στην διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα μακροφάγα απομακρύνουν μέσω efferocytosis τα αποπτωτικά κύτταρα της πλάκας, συμβάλλοντας στην επίλυση της φλεγμονής και στη σταθεροποίηση της αθηρωματικής βλάβης. Όταν όμως η efferocytosis είναι ανεπαρκής, τα αποπτωτικά κύτταρα δεν απομακρύνονται αποτελεσματικά, υφίστανται δευτερογενή νέκρωση και συσσωρεύονται σχηματίζοντας τον νεκρωτικό πυρήνα της αθηρωματικής πλάκας, γεγονός που αυξάνει την αστάθειά της και τον κίνδυνο ρήξης και θρόμβωσης. (Εικόνα 5) (Chinetti et al.,2015; Randolph,2008; Luz et al.,2018).



Εικόνα 5 : Η πορεία της φλεγμονής από τα μακροφάγα

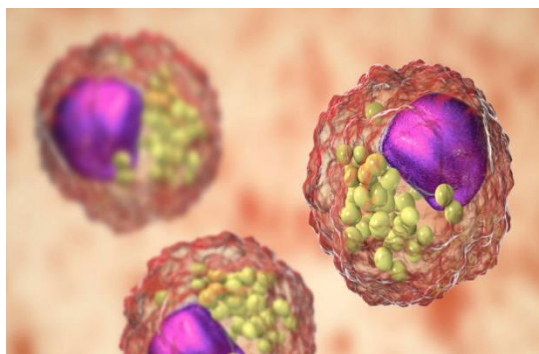
Κατά τη δημιουργία της αθηρωματικής πλάκας τα μακροφάγα αλληλεπιδρούν με λιπίδια εκφράζοντας μόρια κατακράτησης, την Netrin 1 με τον υποδοχέα της UNC5B, την semaphorin 3E και τις cadherins, οι οποίες εν συνεχεία προκαλούν την χημειόσταση των μακροφάγων, δηλαδή την ακινητοποίησή τους. Αυτό προκαλεί στρες του ER, το οποίο οδηγεί σε απόπτωση των κυττάρων, όπου η συσσώρευσή τους δημιουργεί τον νεκρωτικό πυρήνα και η φλεγμονή παρατείνεται. Ωστόσο, μηχανισμοί όπως η υπερέκφραση του ABCA1 και του CCR7 υποδοχέα χημοκινών εμποδίζουν τη συσσώρευση των αφρωδών κυττάρων, καθώς βοηθούν να απομακρυνθούν τα λιπίδια από τα μακροφάγα και έτσι η πλάκα υποχωρεί. Πλέον η υποστροφή της πλάκας (regressing plaque) χαρακτηρίζεται από μετανάστευση των μακροφάγων είτε προς τον έξω χιτώνα (adventitia) μέσω λεμφικών αγγείων, είτε προς τον αυλό των αγγείων (Moore et al., 2013).

Αφρώδη Κύτταρα

Όπως προαναφέρθηκε τα μονοκύτταρα μετατρέπονται σε μακροφάγα κατά την είσοδό τους στον εσω χιτώνα του ενδοθηλίου. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα κύτταρα αυτά προσλαμβάνουν λιπίδια και τροποποιημένη LDL, τα επεξεργάζονται και στη συνέχεια τα ωθούν προς τα έξω και απελευθερώνονται. Ωστόσο, η ισορροπία διαταράσσεται όταν υπάρχει υπερβολική συσσώρευση λιπιδίων στο αγγειακό τοίχωμα και ιδιαίτερα των οξειδωμένων σωματιδίων oxLDL με αποτέλεσμα τα λιπίδια να συσσωρεύονται ανεξέλεγκτα μέσα στο κύτταρο (Moore et al., 2013). Μάλιστα, η συσσώρευση της ελεύθερης χοληστερόλης ενισχύει τη δημιουργία κρυστάλλων χοληστερόλης, η οποία παίζει ενεργό ρόλο στην έναρξη σχηματισμού των αθηρωματικών πλακών, όσο και στα προχωρημένα στάδια τους. Υφίσταται

εστεροποίηση χοληστερόλης η οποία συσσωρεύεται με τη μορφή λιπιδικών σταγονιδίων, διαδικασία που ενισχύει τη δημιουργία αφρώδων κυττάρων. Τα αφρώδη κύτταρα μπορούν να προέρχονται από τα μονοκύτταρα και τον λείο μυϊκό ιστό (SMCs), αλλά και από δένδριτικά, ενδοθηλιακά και βλαστικά κύτταρα. Παρά το γεγονός ότι δεν έχει κατανοηθεί πλήρως η ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος NLRP3 από τους κρυστάλλους χοληστερόλης, εκείνο ενεργοποιεί την κασπάση-1, η οποία μετατρέπει τις ανενεργές προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες IL-1 β και IL-18 στις ενεργές μορφές τους, οι οποίες συμβάλλουν στην φλεγμονώδη απόκριση (Jebari et al.,2022; Jiao et al.,2025).

Όπως είναι γνωστό, όταν τα λιπίδια προσληφθούν από τα μακροφάγα σε φυσιολογικές συνθήκες διασπώνται στα συστατικά τους και απομακρύνονται. Ωστόσο, σε συνθήκες υπερβολικής πρόσληψης λιπιδίων οι πιθανότητες απομάκρυνσης μειώνονται, όπως μπορεί να συμβεί στην δυσλιπιδαιμία, με αποτέλεσμα να σχηματίζονται τα αφρώδη κύτταρα. Σε μια τέτοια περίπτωση η ανοσολογική άμυνα μειώνεται και προωθείται ο σχηματισμός των λιπιδών ραβδώσεων (fatty streaks). Τελικά, τα κύτταρα αυτά υφίστανται απόπτωση συμβάλλοντας στη δημιουργία νεκρωτικού πυρήνα (Εικόνα 6) (Afonso & Spickett, 2019; Poznyak et al., 2024).



**Εικόνα 6 : Απεικόνιση της δημιουργίας
κυττάρων αφρού**

Λόγω υπερβολικής συσσώρευσης των λιπιδικών σταγονιδίων δημιουργείται ένας λιπιδικός πυρήνας, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση τους και την αναμενόμενη νέκρωση, που σχετίζεται με την ρήξη της πλάκας (Drysdale et al., 2023; Kateryna, 2019).

3. Βιοδείκτες

3.1 Ορισμός Βιοδεικτών

- Ορισμός Βιοδεικτών : «Ένα χαρακτηριστικό που μετράται και αξιολογείται αντικειμενικά ως ένδειξη φυσιολογικών βιολογικών διεργασιών, παθολογικών διεργασιών ή φαρμακολογικών αποκρίσεων σε μια θεραπευτική παρέμβαση» (Biomarkers Definitions Working Group, 2001)

Οι βιοδείκτες είναι αξιόπιστοι για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και ασφάλειας θεραπευτικών παρεμβάσεων, καθώς χρησιμοποιούνται *in vitro*, σε προκλινικές μελέτες σε ζωικά μοντέλα (*in vivo*) και σε κλινικές δοκιμές. Επίσης παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών στην ανίχνευση παθολογικών καταστάσεων και στην παρακολούθηση της κλινικής πορείας του οργανισμού. Οι βιοδείκτες χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικό εργαλείο με σκοπό την ανίχνευση και ταυτοποίηση μιας παθολογικής κατάστασης (π.χ. σημαντικά αυξημένα επίπεδα γλυκόζης σηματοδοτούν σακχαρώδη διαβήτη). Επιπλέον, αξιοποιούνται για την εκτίμηση της παρουσίας, της εξέλιξης ή της υποτροπής μιας νόσου (π.χ. η τιμή του αντιγόνου PSA στο αίμα συνδέεται με την πιθανή ανάπτυξη του καρκίνου του προστάτη). Τέλος, οι βιοδείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρόγνωση, πρόβλεψη και παρακολούθηση της πορείας μιας νόσου (Biomarkers Definitions Working Group, 2001).

Διαγνωστικοί Βιοδείκτες

Είναι οι βιοδείκτες που εφαρμόζονται στην ανίχνευση και επιβεβαίωση της παρουσίας μίας νόσου και συμβάλλουν στη λήψη κλινικών αποφάσεων σχετικά με τη διαχείριση του ασθενούς. Σαφώς για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της διάγνωσης πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν τα χαρακτηριστικά των ανθρώπων και ο τρόπος της διαγνωστικής δοκιμασίας που εφαρμόζεται (FDA-NIH Biomarker Working Group, 2020)

Προβλεπτικοί Βιοδείκτες

Είναι οι βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται για την πρόβλεψη της πιθανότητας ανταπόκρισης ή μη ανταπόκρισης ενός ασθενούς σε μια συγκεκριμένη θεραπευτική παρέμβαση. Επιπλέον, χρησιμοποιούνται και για την λήψη αποφάσεων για θεραπεία καθώς εκτιμάται η πιθανότητα ωφέλειας για τον ασθενή ή να επιλεγθεί η καταλληλότερη θεραπεία

ανάμεσα σε πολλές διαθέσιμες θεραπευτικές προσεγγίσεις (FDA-NIH Biomarker Working Group,2020).

Προγνωστικοί Βιοδείκτες

Είναι οι βιοδείκτες που εφαρμόζονται για την εκτίμηση της πιθανότητας εξέλιξης μιας νόσου, καθώς και της υποτροπής της νόσου σε ασθενείς που πάσχουν από μια συγκεκριμένη νόσο. Εκτιμάται η πιθανότητα για μελλοντική κλινική έκβαση της νόσου και προσδιορίζονται σε προκαθορισμένη χρονική στιγμή (FDA-NIH Biomarker Working Group, 2016).

Δείκτες Παρακολούθησης

Είναι οι βιοδείκτες που μετρώνται περιοδικά αποσκοπώντας στην παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου ή για την αξιολόγηση της επίδρασης σε συγκεκριμένη φαρμακευτική χορήγηση ή κάποιον περιβαλλοντικό παράγοντα. Στην παρακολούθηση της νόσου περιλαμβάνεται η επιδείνωση και η μεταβολή των παθολογικών χαρακτηριστικών της νόσου (FDA-NIH Biomarker Working Group,2020).

Μοριακοί Βιοδείκτες

Οι μοριακοί βιοδείκτες χρησιμοποιούνται ευρέως στη διάγνωση, την πρόγνωση, την πρόληψη και τη κλινική διαχείριση των ασθενών. Παραδείγματα μοριακών δεικτών είναι τα γονίδια, τα νουκλεϊκά οξέα (DNA και RNA), οι πρωτεΐνες και οι μεταβολίτες, των οποίων η έκφραση βασίζεται στις διαφορές μεταξύ μιας παθολογικής κατάστασης και μιας φυσιολογικής κατάστασης. Για να θεωρηθεί ένας μοριακός βιοδείκτης αξιόπιστος, πρέπει αυτές οι διαφορές να αποτελούν σημαντικές μεταβολές σε μια συγκεκριμένη ασθένεια, ώστε να διακρίνει την παθολογική από τη φυσιολογική κατάσταση (Tang et al.,2022). Οι μοριακοί βιοδείκτες αποτελούν κατηγορία βιοδεικτών που ανιχνεύονται και ποσοτικοποιούνται σε βιολογικά δείγματα, όπως αίμα, πλάσμα, ορός, ούρα και εγκεφαλονωτιαίο υγρό, μέσω μοριακών και βιοχημικών τεχνικών (Laterza et al.,2007).

3.2 ICAM-1 ΚΑΙ VCAM-1

Το μόριο διακυτταρικής προσκόλλησης (Intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1) και το μόριο αγγειακής κυτταρικής προσκόλλησης (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1), ανήκουν στην οικογένεια των ανοσοσφαιρινών. Κύρια λειτουργία τους είναι η ρύθμιση της προσκόλλησης των λευκοκυττάρων στην επιφάνεια του ενδοθηλίου, ενώ η έκφρασή τους επάγεται σημαντικά σε καταστάσεις φλεγμονωδών νοσημάτων (Sans et al., 1999).

Συγκεκριμένα, το ICAM-1 είναι μία διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που μπορεί να ανιχνευθεί και σε διαλυτή μορφή μετά από πρωτεολυτική τροποποίηση (Anbarasan et al., 2015). Εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα του ΚΝΣ, στη φαιά ουσία του προσθίου εγκεφάλου του ανθρώπου, καθώς και στα μικρογλοιακά κύτταρα. Η έκφραση του ICAM-1 επάγεται κυρίως από προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως οι TNF- α , IL-1 β και IFN- γ , καθώς και από ιογενείς λοιμώξεις και κυτταρικό στρες, οδηγώντας σε αυξημένη έκφραση του μορίου (Singh et al., 2021). Κατά συνέπεια, είναι σαφές ότι τα μόρια προσκόλλησης ICAM-1 διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στη στρατολόγηση και τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων κατά την ανάπτυξη φλεγμονωδών νοσημάτων, όπως η αθηροσκλήρωση και το έμφραγμα του μυοκαρδίου (Sans et al., 1999). Η έκφραση του ICAM-1 αυξάνεται κατά τη διάρκεια της φλεγμονώδους απόκρισης και μέσω της αλληλεπίδρασής του με ιντεγκρίνες που εκφράζονται στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων, διευκολύνει την προσκόλληση και τη διαμετανάστευσή τους προς την περιοχή της φλεγμονής. Επιπλέον, αυξημένη έκφραση του ICAM-1 έχει συσχετιστεί με διάφορες παθολογικές καταστάσεις, όπως η διπολική διαταραχή, η μείζων καταθλιπτική διαταραχή, καθώς και η ογκογένεση και η εξέλιξη διαφόρων μορφών καρκίνου. (Singh et al., 2023).

Όσον αφορά στο VCAM-1, το οποίο εντοπίζεται και αυτό σε περιοχές φλεγμονής, περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1989 ως γλυκοπρωτεΐνη της ενδοθηλιακής επιφάνειας και λειτουργεί ως ρυθμιστής της αγγειακής προσκόλλησης και της ενδοθηλιακής μετανάστευσης των λευκοκυττάρων, όπως είναι τα μακροφάγα. Η έκφρασή του επάγεται από προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως ο TNF- α , από τη ωξειδωμένη LDL (oxLDL), το οξειδωτικό στρες και από μεταβολές της διατμητικής τάσης (Kong et al., 2018). Για την έναρξη της κυτταρικής σηματοδότησης προς τα λευκοκύτταρα, η VCAM-1 εκφράζεται στην επιφάνεια των ενδοθηλίων και αλληλεπιδρά με τις ιντεγκρίνες των λευκοκυττάρων, διευκολύνοντας τη μεταφορά των λευκοκυττάρων προς τις θέσεις φλεγμονής (Zhong et al., 2018). Οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες των λευκοκυττάρων, όπως ο TNF- α και η IL-1 β , επάγουν την έκφραση του VCAM-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα, η οποία στη συνέχεια ενεργοποιεί μόρια όπως η NADPH οξειδάση, οδηγώντας στην παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) (Singh et al., 2023).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το πρώτο στάδιο της αθηροσκλήρωσης είναι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Ήδη από τα πρώιμα στάδια της αθηροσκλήρωσης, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία συνοδεύεται από αυξημένη έκφραση VCAM-1, ICAM-1 και σελεκτινών,

καθώς και από παραγωγή χημοκινών που προσελκύουν μονοκύτταρα και Τ-λεμφοκύτταρα στο αγγειακό τοίχωμα. Ειδικότερα, το μόριο VCAM-1 διαδραματίζει καθοριστικότερο ρόλο στην έναρξη και την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης, καθώς η αντίχνευσή του είναι δυνατή ήδη από τα πρώιμα στάδια της νόσου. Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιείται σύνδεση του μορίου VCAM-1 με την ιντεγκρίνη $\alpha 4 \beta 1$ των λευκοκυττάρων η οποία συμβάλλει στη σταθερή προσκόλληση των κυττάρων στο ενδοθήλιο και τη διαμετανάστευσή τους προς τον υποενδοθηλιακό χώρο. Η αλληλεπίδραση αυτή οδηγεί σε εισροή ιόντων ασβεστίου και ενεργοποίηση της πρωτεΐνης Rac-1, προκαλώντας αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού της ακτίνης και ενεργοποίηση είτε ενδοκυττάρων μορίων σηματοδότησης είτε των μεταλλοπρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας (Matrix Metalloproteinases, MMPs) μέσω των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). Επιπλέον, η έκφραση του VCAM-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα επάγεται ως απόκριση σε φλεγμονώδη ερεθίσματα (Singh et al., 2023).

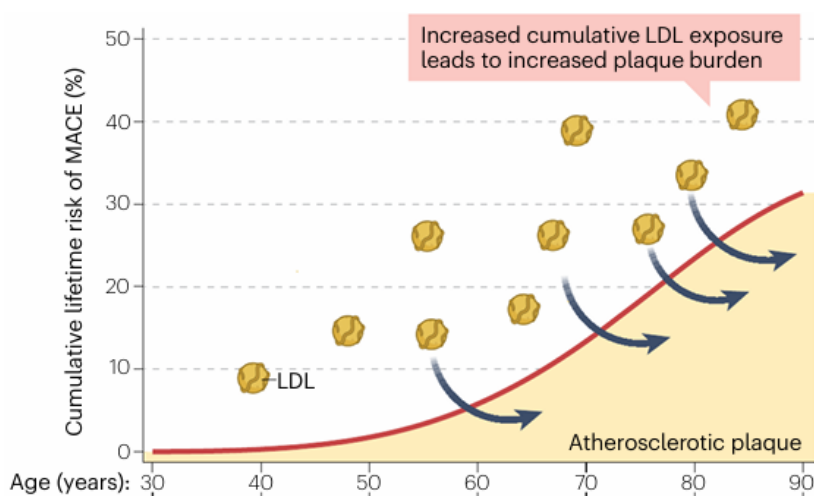
3.3 LDL - Χοληστερόλη (LDL-C)

Η σύνθεση της χοληστερόλης πραγματοποιείται κυρίως στο ήπαρ του ανθρώπινου οργανισμού. Συγκεκριμένα, μόρια acetyl-CoA μετατρέπονται σε 3-υδροξυ-3-μεθυλογλουταρυλ-συνένζυμο Α (HMG-CoA) το οποίο μετατρέπεται σε μεβαλονικό οξύ (mevalonate) υπό το ενζύμο HMG-CoA αναγωγάση (HMG-CoA reductase). Το μεβαλονικό οξύ μετατρέπεται σε φαρνεσυλο-πυροφωσφορικό (farnesyl pyrophosphate) και αυτό σε σκουαλένιο (squalene) και τέλος σε λανοστερόλη (lanosterol). Μέσω μιας σειράς 19 αντιδράσεων παράγεται η χοληστερόλη (Patel & Kashfi, 2021).

Στους περιφερικούς ιστούς, τα τριγλυκερίδια που μεταφέρονται από τα σωματίδια VLDL υδρολύονται από τη λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL), με αποτέλεσμα την απελευθέρωση λιπαρών οξέων. Η απομάκρυνση των τριγλυκεριδίων από τα VLDL οδηγεί στον σχηματισμό υπολειμματικών σωματιδίων VLDL ή λιποπρωτεϊνών ενδιάμεσης πυκνότητας (IDL), τα οποία είναι εμπλουτισμένα σε εστέρες χοληστερόλης. Ένα μέρος των IDL απομακρύνεται από την κυκλοφορία μέσω πρόσληψης από το ήπαρ, ενώ το υπόλοιπο υφίσταται περαιτέρω υδρόλυση των υπολειπόμενων τριγλυκεριδίων από την ηπατική λιπάση. Η διαδικασία αυτή οδηγεί στον σχηματισμό σωματιδίων LDL, τα οποία αποτελούνται κυρίως από εστέρες χοληστερόλης και την απολιποπρωτεΐνη B-100. Επομένως, ο μεταβολισμός των VLDL καταλήγει στη δημιουργία των LDL (Feingold, 2022). Η LDL είναι η κύρια λιποπρωτεΐνη

μεταφοράς χοληστερόλης προς τους περιφερικούς ιστούς, όπου η χοληστερόλη χρησιμοποιείται για τη σύνθεση μεμβρανών, στεροειδών ορμονών και άλλων βιολογικών μορίων (Patel & Kashfi, 2021).

Η αθηροσκλήρωση ξεκινά από την κατακράτηση σωματιδίων που περιέχουν απολιποπρωτεΐνη Β (apoB), κυρίως LDL αλλά και υπολειμματικών λιποπρωτεϊνών, στον έσω χιτώνα των αρτηριών. Με την πάροδο του χρόνου ο κίνδυνος εμφάνισης της αθηροσκλήρωσης αυξάνεται καθώς περισσότερα σωματίδια LDL παγιδεύονται στο αγγειακό τοίχωμα. Η αθηροσκλήρωση εξελίσσεται για πολλά χρόνια χωρίς να προκαλεί συμπτώματα, κυρίως κατά τη νεαρή και μέση ενήλικη ζωή, κατά την οποία τα κυκλοφορούντα σωματίδια LDL παγιδεύονται στο αγγειακό τοίχωμα των αρτηριών και η αθηρωματική πλάκα αναπτύσσεται αργά. Η διαδικασία αυτή οδηγεί στη βαθμιαία συσσώρευση αθηρωματικού υλικού και στη σταδιακή αύξηση του μεγέθους των αθηρωματικών πλακών (Εικόνα 7). Ωστόσο, καθώς η έκθεση στην LDL συσσωρεύεται με την πάροδο του χρόνου, ολοένα και περισσότερες αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες κατακρατούνται στο αρτηριακό τοίχωμα, με αποτέλεσμα τη σημαντική αύξηση του αθηρωματικού φορτίου και του σωρευτικού κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακού νοσήματος. Σε αυτό το στάδιο η αθηρωματική πλάκα μπορεί να υποστεί ρήξη και ένας τοπικός θρόμβος ενδέχεται να προκαλέσει μερική ή πλήρη απόφραξη του αγγείου και να προκαλέσει ένα οξύ αθηροσκληρωτικό καρδιαγγειακό επεισόδιο (Ference et al., 2024)



Εικόνα 7 : Σχέση της σωρευτικής έκθεσης στην LDL-C με τον κίνδυνο MACE

Απεικονίζεται ο κίνδυνος εμφάνισης ενός μείζονος καρδιαγγειακού συμβάματος (MACE) σε οποιαδήποτε ηλικία, για άτομα με υψηλά επίπεδα LDL-C στο πλάσμα (Ference et al., 2024).

3.4 Απολιποπρωτεΐνη ΑpoB

Οι λιποπρωτεΐνες είναι υπεύθυνες για τη μεταφορά των λιπιδίων στην κυκλοφορία. Τα χυλομικρά μεταφέρουν τα εξωγενή τριγλυκερίδια στους περιφερικούς ιστούς και, μετά την απομάκρυνση του μεγαλύτερου μέρους του λιπιδικού τους περιεχομένου, τα υπολείμματά τους προσλαμβάνονται από το ήπαρ. Στο ήπαρ, τα λιπίδια αποκτούν την αρχική τους μορφή και δεσμεύονται στην απολιποπρωτεΐνη B-100 (apo B-100) σχηματίζοντας τις VLDL πλούσιες σε τριγλυκερίδια. Στη συνέχεια η λιποπρωτεϊνική λιπάση απομακρύνει τα τριγλυκερίδια από τις VLDL, παράγοντας τις λιποπρωτεΐνες ενδιάμεσης πυκνότητας (IDL) και στη συνέχεια τις λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL). Κάθε VLDL περιέχει ένα μόριο apo B, το οποίο διατηρείται καθώς η VLDL μεταφέρει τριγλυκερίδια στα κύτταρα και μετατρέπεται στην πλούσια σε χοληστερόλη LDL. Οι υποδοχείς αναγνωρίζουν την apo B και μεσολαβούν στην πρόσληψη της χοληστερόλης από τα κύτταρα. Η αύξηση των επιπέδων LDL μπορεί να προκαλέσει εναποθέσεις λίπους στα τοιχώματα των αρτηριών, προκαλώντας φλεγμονή, σχηματισμό αθηρωματικών πλακών και προοδευτική στένωση των αρτηριών, σε στεφανιαία νόσο και καρωτιδική νόσο (Singh et al., 2024). Επειδή κάθε αθηρογόνο λιποπρωτεϊνικό σωματίδιο (VLDL, IDL, LDL και λιποπρωτεΐνη(a)) περιέχει ένα μόριο apoB, η συγκέντρωση της apoB στο πλάσμα αποτελεί άμεσο δείκτη του συνολικού αριθμού αθηρογόνων σωματιδίων. Για τον λόγο αυτό θεωρείται ένας από τους πλέον αξιόπιστους βιοδείκτες εκτίμησης του αθηροσκληρωτικού καρδιαγγειακού κινδύνου.

3.5 C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)

Η αντιδρώσα C πρωτεΐνη (C-reactive protein, CRP) είναι μια πενταξίνη που ανήκει στην οικογένεια ασβεστιο-εξαρτώμενων πρωτεϊνών του πλάσματος, που δεσμεύουν συνδέτες και εντοπίζεται κυρίως ως πενταμερές στην κυκλοφορία και συντίθεται στο ήπαρ (Pepys & Hirschfield, 2003). Η κυκλοφορούσα μορφή της CRP είναι ένας δίσκος αποτελούμενος από πέντε παρόμοιες υπομονάδες που συνδέονται μη ομοιοπολικά γύρω από ένα κεντρικό πόρο (Thompson et al., 1999). Όταν η, πενταμερής C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (Pentameric C-reactive protein, pCRP) συνδέεται με κάποιον από τους συνδέτες της, όπως στοιχεία του συστήματος

του συμπληρώματος, υφίσταται διαχωρισμό και προκύπτουν μονομερή (Monomeric C-Reactive Protein, mCRP). Η mCRP αλληλεπιδρά με κυτταρικούς υποδοχείς και αποπτωτικά κύτταρα προάγοντας τη φλεγμονή και συμβάλλοντας έτσι στην εξέλιξη των καρδιαγγειακών προβλημάτων (Badimon et al., 2018).

Στο πλαίσιο της αθηροσκλήρωσης, η CRP φαίνεται να προάγει μηχανισμούς που σχετίζονται με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, όπως η μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του μονοξειδίου του αζώτου (NO), γεγονός που διαταράσσει την αγγειοδιαστολή και ενδέχεται να συμβάλλει στην αύξηση της αρτηριακής πίεσης (Hein et al., 2009). Επιπλέον, έχει συσχετιστεί με την ενεργοποίηση των αγγειακών κυττάρων, τη στρατολόγηση λευκοκυττάρων, τη συσσώρευση λιπιδίων και την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, διεργασίες που ευνοούν την εξέλιξη της αθηρωματικής βλάβης και την εμφάνιση θρομβωτικών επεισοδίων. Η μορφή της mCRP εντοπίζεται κυρίως στα αγγειακά τοιχώματα και σχετίζεται με παθολογικές καταστάσεις, ενώ η pCRP θεωρείται η φυσιολογική μορφή της πρωτεΐνης (Daigo et al., 2016; Eisenhardt et al., 2009). Στην αθηροσκλήρωση, η mCRP μπορεί να ενεργοποιεί τα ενδοθηλιακά κύτταρα επάγοντας την παραγωγή προφλεγμονωδών παραγόντων, όπως οι MCP-1, IL-8 και IL-6, οι οποίοι ενισχύουν τη φλεγμονώδη απάντηση στο αγγειακό τοίχωμα. Η ενεργοποίηση αυτή διαμεσολαβείται από τα μονοπάτια ενδοκυττάριας μεταγωγής σήματος PLC, p38 MAPK και NF-κB που ρυθμιστικός μηχανισμός ανάσχεσης μέσα στο κύτταρο, οδηγώντας τελικά σε ενίσχυση της φλεγμονώδους αντίδρασης στα αγγεία (Li et al., 2014). Μάλιστα, παρά τη φυσιολογική της μορφή, η pCRP συμμετέχει στην αποσταθεροποίηση της αθηρωματικής πλάκας μέσω ενεργοποίησης του μονοπατιού NF-κB οδηγώντας σε αυξημένη έκφραση μορίων προσκόλλησης, όπως το VCAM-1, η E-selectin και η MCP-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα (Kawanami et al., 2006). Ακόμα, η mCRP επάγει κύλιση (rolling), προσκόλληση και διαμετανάστευση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο, καθώς και παραγωγή ROS. Οι ROS έχουν την ικανότητα να τροποποιούν τη δομή και τη λειτουργία αναγνώρισης συνδετών της CRP, όπως είναι η οξειδωμένη LDL (oxLDL). Συνεπώς, η φλεγμονώδης απόκριση στα σημεία αγγειακής βλάβης ενισχύεται, συμβάλλοντας την αποσταθεροποίηση της αθηρωματικής πλάκας (Singh et al., 2017).

3.6 IL-1β

Αρχικά, με παρουσία φλεγμονώδους ερεθίσματος, όπως οι κρυστάλλοι χοληστερόλης ή η oxLDL που έχουν συσσωρευτεί στα τοιχώματα των αρτηριών, ενεργοποιούνται οι υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (Pattern Recognition Receptors, PRRs). Η ενεργοποίηση αυτή οδηγεί στη σύνθεση της πρόδρομης μορφής της IL-1β, καθώς και του φλεγμονοσωμάτιου NLRP3. Στη συνέχεια, το NLRP3 ενεργοποιείται από παράγοντες όπως οι κρυστάλλοι χοληστερόλης που φαγοκυτταρώνονται από μακροφάγα και η τροποποιημένη LDL. Το ενεργοποιημένο NLRP3 στρατολογεί την πρωτεΐνη-προσαρμογέα ASC (Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD), η οποία διαμεσολαβεί στη σύνδεση του NLRP3 με την προκασπάση-1, οδηγώντας στην πρωτεολυτική ενεργοποίηση της τελευταίας σε δραστική κασπάση-1. Στη συνέχεια, η κασπάση-1 επάγει την επεξεργασία της προ-IL-1β σε ώριμη IL-1β (Mai & Liao, 2020).

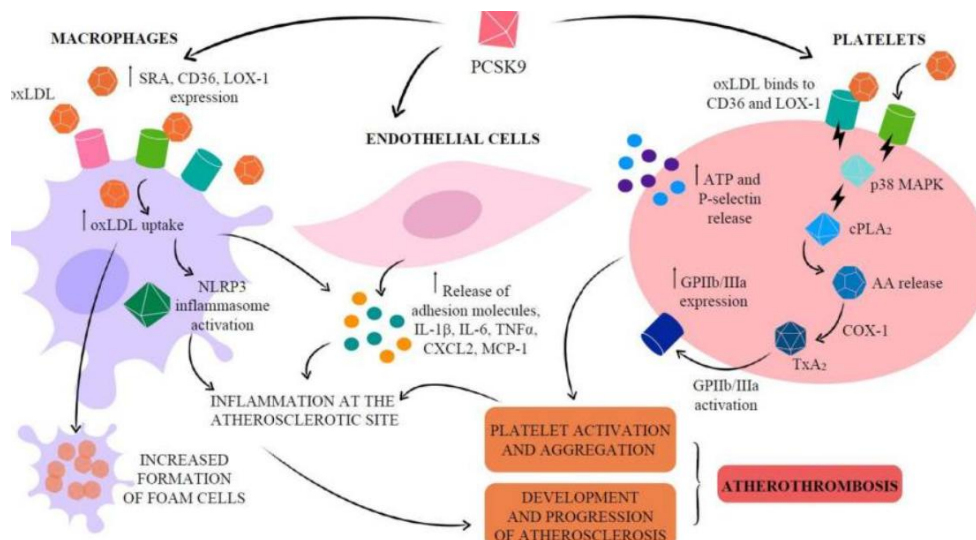
Αναφορικά με την ώριμη IL-1β στην αθηροσκλήρωση επάγει μια έντονη φλεγμονώδη απόκριση στο αγγειακό ενδοθήλιο, όπως καταδεικνύεται από την αυξημένη έκφραση των μορίων προσκόλλησης και χημοκινών. Παράλληλα ενισχύει τη στρατολόγηση και διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων στον έσω χιτώνα (intima) των αγγείων, κάτι που αποτελεί πρώιμο στάδιο της αθηροσκλήρωσης (Bevilacqua et al., 1985). Επιπλέον, η IL-1 διεγείρει τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των λείων μυϊκών κυττάρων των αγγείων (VSMCs), καθώς και την ενεργοποίηση των μονοκυττάρων και κατ' επέκταση των μακροφάγων. Παράλληλα, επάγεται η κυκλοοξυγενάση-2 (COX-2) οδηγώντας στην παραγωγή προσταγλανδινών, ενώ διεγείρεται και η έκκριση της IL-6 και των μεταλλοπρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας (MMP) οι οποίες με τη σειρά τους μεσολαβούν στη ρήξη της ινώδους κάψας των αθηρωματικών πλακών (Mai & Liao, 2020). Έχει αποδειχθεί ότι η αναστολή της IL-1β μετατοπίζει τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα προς έναν λιγότερο φλεγμονώδη φαινότυπο, μειώνοντας το μέγεθος των σχηματισμένων αθηροσκληρωτικών πλακών, ενώ παράλληλα αυξάνονται τα επίπεδα της IL-10 στο πλάσμα, η οποία δρα προστατευτικά ενισχύοντας τη σταθερότητα της πλάκας, χωρίς να περιορίζει την αντιρροπιστική εξωτερική αναδιαμόρφωση του αγγείου ώστε να αντισταθμίζεται η στένωση του αυλού (αντιρροπιστική διαστολή) (Vromman et al., 2019).

3.7 PCSK9

Η PCSK9 (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, προπρωτεϊνική μετατρεπάση σουμπτιλισίνης/κεξίνης τύπου 9) αποτελεί μέλος της οικογένειας των προ-πρωτεϊνικών μετατρεπασών (pro-protein convertases), μιας οικογένειας σερινοπρωτεασών που συμμετέχουν στην πρωτεολυτική ενεργοποίηση, τροποποίηση και διάσπαση πρωτεϊνών (Hummelgaard et al.,2023). Συγκεκριμένα, η PCSK9 προάγει την αποικοδόμηση του υποδοχέα των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDLR) περιορίζοντας την επαναπρόσληψη της LDL-χοληστερόλης από τα ηπατικά κύτταρα. Η διαδικασία αυτή οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα LDL-χοληστερόλης στο πλάσμα, ενισχύοντας σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η αναστολή της PCSK9 αυξάνει την έκφραση του LDLR, μειώνοντας κατ' αυτόν τον τρόπο τα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών στο πλάσμα και τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου, όπως η αθηροθρόμβωση και αθηροσκλήρωση. Μάλιστα, η μείωση της PCSK9 συσχετίζεται με αυξημένη έκφραση των μορίων του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης I (MHC I) στην επιφάνεια καρκινικών κυττάρων ενισχύοντας πιθανώς την ανοσολογική αναγνώριση και περιορίζοντας την πιθανή εμφάνιση κακοηθών όγκων. Επομένως, η PCSK9 φαίνεται να εμπλέκεται σε δύο από τις κυριότερες αιτίες θνησιμότητας παγκοσμίως, όπως ο καρκίνος και τα καρδιαγγειακά νοσήματα (Xia et al.,2021).

Η PCSK9 αν και παράγεται κυρίως στο ήπαρ, στους νεφρούς και στο λεπτό έντερο, εκφράζεται επίσης και στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων (VSMC) και στα ενδοθηλιακά κύτταρα (Seidah et al.,2003; Ding et al.,2016). Επιπλέον, η PCSK9 που εκκρίνεται από τα VSMC έχει παρακρινή δράση, δηλαδή επηρεάζει τα γειτονικά κύτταρα και στην προκειμένη περίπτωση τα μακροφάγα, μειώνοντας την έκφραση των LDLR στην επιφάνειά των μακροφάγων. γεγονός που μειώνει την πρόσληψη LDL μέσω του LDLR μονοπατιού (Ferri et al.,2012). Ωστόσο, η συνολική επίδραση της PCSK9 στα μακροφάγα θεωρείται προαθηρογόνος, καθώς παράλληλα ενισχύει την έκφραση των υποδοχέων “scavenger”, σε αυξημένη πρόσληψη και ενδοκυττάρια συσσώρευση oxLDL. Αντίθετα, η πρόσληψη των λιποπρωτεϊνών μειώνεται κατακόρυφα εάν τα επίπεδα αυτών των υποδοχέων επανέρχονται σε φυσιολογικά επίπεδα, γεγονός που υποδεικνύει τον καθοριστικό τους ρόλο στον σχηματισμό αφρωδών κυττάρων. Παράλληλα, η μείωση των επιπέδων της PCSK9 οδηγεί σε μειωμένη έκφραση του υποδοχέα CD36 και, κατά συνέπεια, με περιορισμένη ενδοκυττάρια συσσώρευση χοληστερόλης (Ding et al.,2018). Η δράση αυτή φαίνεται να είναι εν μέρει

ανεξάρτητη από τη ρύθμιση της LDL-C, γεγονός που υποδηλώνει ότι η PCSK9 συμμετέχει άμεσα στη φλεγμονώδη διεργασία της αθηροσκλήρωσης. (Εικόνα 8).



Εικόνα 8 : Σχηματική αναπαράσταση της επίδρασης της PCSK9 στα μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα αιμοπετάλια κατά την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης.

Η PCSK9 διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη της αθηροσκληρωτικής βλάβης μέσω πολλαπλών μηχανισμών. Στα μακροφάγα, η επαγόμενη υπερέκφραση των scavengers ενισχύει την πρόσληψη των oxLDL οδηγώντας στον σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων και τη συσσώρευση της χοληστερόλης που ενεργοποιεί το φλεγμονόσωμα NLRP3, πυροδοτώντας την παραγωγή κυτταροκινών.

Στο αγγειακό ενδοθήλιο, η PCSK9 προάγει την αυξημένη έκφραση μορίων προσκόλλησης και χημειοκινών διευκολύνοντας έτσι τη διήθηση των μονοκυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα. Η δράση αυτή επηρεάζει αρνητικά την σταθερότητα της πλάκας και ενισχύει τη φλεγμονώδη δραστηριότητα και τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου επιδεινώνοντας το φλεγμονώδες περιβάλλον. Όσον αφορά τα αιμοπετάλια, η PCSK9 επάγει την ενεργοποίησή τους μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού p38 MAPK, που οδηγεί στην απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέος (AA) και της θρομβοξάνης A2 (TXA2) αυξάνοντας την ενεργοποίηση της γλυκοπρωτεΐνης GPIIb/IIIa και τη θρομβωτική δραστηριότητα των αιμοπεταλίων (Barale et al., 2021).

3.8 Κλινική αποτελεσματικότητα και μεταφραστική αξία

Η κατανόηση των μοριακών μηχανισμών των βιοδεικτών έχει οδηγήσει στην προσπάθεια αξιοποίησής τους ως εργαλείων πρόγνωσης, παρακολούθησης και θεραπευτικής στόχευσης. Οι βιοδείκτες της αθηροσκλήρωσης διαφέρουν σημαντικά ως προς το στάδιο μεταφραστικής

τους αξιοπιστίας. Ορισμένοι έχουν ενσωματωθεί στην κλινική πρακτική, ενώ άλλοι παραμένουν κυρίως εργαλεία διερεύνησης των μοριακών μηχανισμών της νόσου.

Ερευνητικοί δείκτες ενδοθηλιακής ενεργοποίησης

VCAM-1

Το βασικό πλεονέκτημα του μορίου αυτού είναι η έκφρασή του στα πρώιμα στάδια της αθηροσκλήρωσης και συγκεκριμένα στην ενεργοποίηση του ενδοθηλίου πριν τον σχηματισμό αθηροσκληρωτικών βλαβών. Ανιχνεύεται σε μεγαλύτερη ποσότητα στα πρώιμα στάδια της νόσου σε σχέση με τα μόρια E-Σελεκτίνη και ICAM-1 γεγονός που το καθιστά ιδιαίτερα ελκυστικό στόχο για την έγκαιρη ανίχνευση και αξιολόγηση των αθηρωματικών βλαβών. Σύμφωνα με το άρθρο των Thayse et al. (2020), δεν παρουσιάζονται κλινικά αποτελέσματα σε ανθρώπους με έμφραγμα του μυοκαρδίου ή άλλα καρδιαγγειακά νοσήματα, καθώς η κλινική εφαρμογή απεικονιστικών μεθόδων, όπως MPIO, USPIO-enhanced MRI και νανοσωματίδια, είναι περιορισμένη σε ζωικά μοντέλα. Από την άλλη μεριά η εφαρμογή της απεικόνισης «USPIO-enhanced MRI» έφερε θετικά αποτελέσματα όσον αφορά στην ανίχνευση αθηροσκληρωτικών βλαβών σε ανθρώπους και σύμφωνα με τη μελέτη ATHEROMA η απεικόνιση έδειξε πως με τη χορήγηση υψηλής δόσης ατορβαστατίνης μειώθηκε η φλεγμονή της πλάκας, γεγονός που ενισχύει το συμπέρασμα πως η μέθοδος «USPIO-enhanced MRI» μπορεί να χαρακτηριστεί ως δείκτης παρακολούθησης στην θεραπευτική προσέγγιση της νόσου. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή έδειξε πως η ένταση του σήματος δεν συσχετίστηκε με τον βαθμό στένωσης των αγγειακών αρτηριών, γεγονός που δεν προβλέπει την έκβαση του ασθενούς. Συνολικά, η κλινική χρησιμότητα των VCAM-1, καθώς και η ασφάλειά δεν είναι επαρκώς τεκμηριωμένες, αλλά ενθαρρύνεται η διαγνωστική αξία τους στον άνθρωπο μελλοντικά σε εφαρμοσμένη κλινική ρουτίνα (Thayse et al., 2020).

ICAM-1

Η προσκόλληση των μονοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα και η διαμετανάστευσή τους προς τον υπενδοθηλιακό χώρο αποτελούν πρώιμα στάδια της αθηρογένεσης, αναδεικνύοντας τον σημαντικό ρόλο του ICAM-1 στην παθογένεση της αθηροσκλήρωσης. Σύμφωνα με το άρθρο των Haydinger et al. (2023) τα αυξημένα επίπεδα του κυκλοφορούντος διαλυτού ICAM-1 αναδεικνύουν το μόριο ως δυνητικό προγνωστικό παράγοντα για την εμφάνιση αθηροσκλήρωσης σε παθήσεις όπως η νόσος των καρωτίδων και στεφανιαία καρδιακή

νόσος. Επιπλέον πειραματικά δεδομένα από μελέτες σε τρωκτικά έδειξαν ότι τα επίπεδα του ICAM-1 σχετίζονται με την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Συνεπώς, τα αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούντος sICAM-1 ενδέχεται να αποτελούν δείκτη πρόωμης αθηροσκλήρωσης, η οποία μπορεί να προηγείται της κλινικής εκδήλωσης καρδιαγγειακής νόσου (Haydinger et al., 2023). Παράλληλα, σύμφωνα με το άρθρο των Hoke et al. (2015) το κυκλοφορούν διαλυτό μόριο ICAM-1 έχει προταθεί ως προβλεπτικός δείκτης καρδιαγγειακών νοσημάτων σε ασθενείς με σταθερή καρωτιδική αθηροσκλήρωση. Ωστόσο, η προγνωστική σημασία του παραμένει αμφιλεγόμενη, καθώς τα αυξημένα επίπεδα του διαλυτού μορίου άλλοτε συσχετίστηκαν με υψηλό αριθμό καρδιαγγειακών νοσημάτων και άλλοτε όχι. Επομένως, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την αποσαφήνιση της κλινικής χρησιμότητας του sICAM-1 ως βιοδείκτη καρδιαγγειακού κινδύνου (Hoke et al., 2015).

Καθιερωμένοι κλινικοί δείκτες

LDL - C

Η καθιερωμένη συσχέτιση μεταξύ αυξημένων επιπέδων LDL-C και αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου έχει οδηγήσει στην αναγνώριση της LDL-C ως κύριου θεραπευτικού στόχου στην πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Ο αιτιολογικός ρόλος της LDL στην αθηροσκλήρωση και την καρδιαγγειακή νόσο τεκμηριώνεται από πληθώρα γενετικών, βιοχημικών και επιδημιολογικών μελετών, ενώ η κλινική της σημασία επιβεβαιώνεται από δεδομένα που δείχνουν ότι η μείωση της LDL-C μειώνει αποτελεσματικά τον κίνδυνο καρδιαγγειακών νοσημάτων (Catapano et al., 2019). Παράλληλα, η παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων οξειδωμένης LDL (ox-LDL) στα αγγειακά τοιχώματα έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ρήξης της αθηρωματικής πλάκας. Ως εκ τούτου, η LDL-χοληστερόλη LDL-C αποτελεί όχι μόνο σημαντικό βιοδείκτη του καρδιαγγειακού κινδύνου, αλλά και βασικό θεραπευτικό στόχο στην αντιμετώπιση της αθηροσκλήρωσης (Gasecka et al., 2021). Πιο ειδικά, σύμφωνα με μελέτες Μενδελιανής τυχαιοποίησης (Mendelian randomization) νεαρά σε ηλικία άτομα με με γενετικά καθορισμένα χαμηλότερα επίπεδα LDL-χοληστερόλης έχουν λιγότερη πιθανότητα να εμφανίσουν καρδιαγγειακά επεισόδια σε σχέση με άτομα μεγαλύτερης ηλικίας (περίπου 65 ετών). Στην κλινική πράξη, η συγκέντρωση των LDL σωματιδίων στην κυκλοφορία εκτιμάται είτε με άμεσες μεθόδους μέτρησης είτε έμμεσα μέσω της LDL-C του πλάσματος, η οποία χρησιμοποιείται ως δείκτης της συνολικής χοληστερόλης. Οργανισμοί όπως η «World Heart Federation» και η «World Health Organization» δημοσιεύοντας τον

«Cholesterol Roadmap» το 2022, υποστηρίζουν την μακροχρόνια μείωση της έκθεσης στην LDL-χοληστερόλη αθηροσκλήρωσης από νεαρή ηλικία ως αποτελεσματική στρατηγική πρόληψης της. Αντίστοιχες κατευθύνσεις έχουν υιοθετηθεί από πολλές χώρες της Ευρώπης και της Μέσης Ανατολής ακολουθούν τις ίδιες πολιτικές υγείας (Ference et al.,2024).

CRP - πρωτεΐνη

Συγκεκριμένα C-αντιδρώσα πρωτεΐνη υψηλής ευαισθησίας (high sensitivity CRP, hs-CRP) είναι από τους πιο σημαντικούς βιοδείκτες στο πλαίσιο των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Ο υπολειπόμενος φλεγμονώδης κίνδυνος (Residual Inflammatory Risk, RIR), δηλαδή ο κίνδυνος που παραμένει ακόμη και μετά από επιτυχή μείωση της LDL-χοληστερόλης, προσδιορίζεται μέσω των επιπέδων της hs-CRP, καθιστά την τελευταία προγνωστικό δείκτη με σπουδαία σημασία για μελλοντικά καρδιαγγειακά επεισόδια (Kim et al., 2024). Η hs-CRP χρησιμοποιείται ευρέως στην κλινική πράξη ως βιοδείκτης φλεγμονής και έχει ήδη αποδειχθεί ότι προβλέπει καρδιαγγειακά επεισόδια (Katkenov et al.,2024).

Ο παθολογικός ρόλος της CRP αποτελεί αμφιλεγόμενο ζήτημα καθώς βασιζόμενοι στην έρευνα του 2007 των Chwedler και συνεργατών του σε ποντίκα χωρίς απολιποπρωτεΐνη E (apolipoprotein E^{-/-} mice) παρατηρήθηκε ενδοθηλιακή δυσλειτουργία με την χορήγηση CRP σε διάρκεια 8 εβδομάδων (Chwedler et al.,2007). Επιπλέον, η χρήση αδενοσυσχετιζόμενου ιού σε αρουραίους επέφερε υψηλό ποσοστό της CRP και οδήγησε σε ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και υπέρταση (Guan et al.,2009). Ωστόσο, η μείωση της έκφρασης της CRP με ανασταλτικούς παράγοντες, όπως οι γλυκοσίδες, δεν απέδωσαν ασφαλή συμπεράσματα για τον παθολογικό ρόλο της CRP. Αντίθετα, η χρήση αντινοσηματικών ολιγονουκλεοτιδίων (ASOs) σε αρουραίους φάνηκε να μείωσε τη σύνθεση της CRP, η οποία συσχετίστηκε με μείωση της αθηροσκληρωτικής πλάκας. Παρ' όλα αυτά οι τεχνολογίες αυτές δεν έχουν εφαρμοστεί σε ανθρώπους (Kim et al.,2024). Συνολικά, τα διαθέσιμα δεδομένα υποστηρίζουν με μεγαλύτερη βεβαιότητα τη χρήση της CRP ως βιοδείκτη φλεγμονής και καρδιαγγειακού κινδύνου παρά ως άμεσου θεραπευτικού στόχου.

Αpo B

Η απολιποπρωτεΐνη B χρησιμοποιείται κλινικά και έρευνες την χαρακτηρίζουν ως προγνωστικό δείκτη της αθηροσκλήρωσης και θεωρείται καλύτερος από την LDL-C. Ένας από τους λόγους είναι πως κάθε σωματίδιο LDL μεταφέρει διαφορετική ποσότητα

χοληστερόλης οι οποίες συμβάλλουν διαφορετικά στην αθηροσκληρωτική δράση. Παραδείγματος χάριν, ένας μεγάλος αριθμός σωματιδίων LDL με υψηλή τιμή της apo B μπορεί να φαίνεται να μεταφέρουν μικρή ποσότητα χοληστερόλης σε αποτελέσματα ιατρικών εξετάσεων ενώ στην ουσία διατρέχεται υψηλός κίνδυνος για αθηροσκληρωτική νόσο. Επιπλέον, η LDL-C δεν λαμβάνει υπόψη τα σωματίδια VLDL και IDL, τα οποία επίσης συμβάλλουν στην αθηροσκλήρωση. Επομένως, δύο άτομα με ίδια τιμή LDL-C μπορεί να έχουν διαφορετικό συνολικό αριθμό αθηρογόνων σωματιδίων στο αίμα τους και, άρα, διαφορετικό πραγματικό κίνδυνο, κάτι που αναδεικνύει τη σημασία της apoB ως συνολικού δείκτη. Ένας ακόμη σημαντικός παράγοντας είναι ότι η μέτρηση της LDL-C συχνά δεν γίνεται άμεσα, γεγονός που αναδεικνύει την κλινική χρησιμότητα της apo B. Πιο ειδικά, μετράται μέσω εξισώσεων, όπως η “Friedewald”, που βασίζονται στη συνολική χοληστερόλη, την HDL και τα τριγλυκερίδια, με βασικούς περιορισμούς, όπως όταν τα τριγλυκερίδια είναι αυξημένα ή η LDL-C είναι χαμηλή. Άρα η ακρίβεια των υπολογισμών δεν είναι υψηλή. Αξίζει να αναφερθεί πως η apoB μετριέται τυποποιημένα, με αξιοπιστία αποτελεσμάτων και με χαμηλό κόστος. Οι βιοχημικές εργαστηριακές μέθοδοι που εφαρμόζονται είναι ευρέως διαθέσιμες και παρουσιάζουν μικρότερη μεταβλητότητα αποτελεσμάτων μεταξύ εργαστηρίων. Για τον λόγο αυτό, θεωρείται πιο πρακτικός και σταθερός δείκτης στην καθημερινή κλινική χρήση. Ωστόσο, για περαιτέρω ενίσχυση της τυποποίησης, βρίσκονται σε εξέλιξη προσπάθειες ανάπτυξης ενός νέου Συστήματος Αναφοράς Μέτρησης μέσω άμεσης μέτρησης της apoB με φασματομετρία μάζας (De Oliveira-Gomes et al.,2024).

Θεραπευτικοί στόχοι

IL-1β

Τα αυξημένα επίπεδα της IL-1β έχουν συσχετιστεί με αρνητική κατάληξη σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο και καρδιακή ανεπάρκεια, γεγονός που υποδηλώνει τον σημαντικό ρόλο της στη παθογένεση και εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Η κυτταροκίνη IL-1β επηρεάζει την πρόωμη προσκόλληση και ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων στα αγγειακά τοιχώματα, την ανάπτυξη και εξέλιξη των αθηροσκληρωτικών πλακών (Katkenov et al.,2024). Οι κυτταροκίνες IL-1β συμμετέχουν στην αθηρογένεση και επάγοντας την παραγωγή της IL-6, η οποία διεγείρει τη σύνθεση της CRP από τα ηπατοκύτταρα. Λόγω του κεντρικού της ρόλου στη φλεγμονώδη διεργασία, η IL-1β αποτελεί σημαντικό θεραπευτικό στόχο για την

αντιμετώπιση της αθηροσκλήρωσης. Γενετικές μελέτες έχουν δείξει ότι η αυξημένη δραστηριότητα της IL-6 πιθανόν συμβάλλει αιτιολογικά στην ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης και θρομβώσεων, γι' αυτό η συγκεκριμένη φλεγμονώδης οδός αποτελεί θεραπευτικό στόχο. Το canakinumab είναι ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα που δεσμεύεται στην IL-1β και έτσι εμποδίζει την αλληλεπίδραση της IL-1β με τον υποδοχέα IL-1 (IL-1R), γεγονός που αποτρέπει τα επαγόμενα προφλεγμονώδη σηματοδοτικά μονοπάτια (Grebe et al.,2018; Ridker et al.,2017). Διεξαγόμενες έρευνες σε ποντίκια, κατέδειξαν ότι η μείωση της IL-1β οδήγησε σε μείωση της έκτασης και της φλεγμονώδους δραστηριότητας των αθηροσκληρωτικών βλαβών, ενώ σε χοίρους παρατηρήθηκε πάχυνση του έσω και μέσου χιτώνα των αρτηριών έπειτα από εξωγενή χορήγηση της IL-1β με υψηλή LDL-χοληστερόλη. Η IL-1β έχει αναδειχθεί κυρίως ως θεραπευτικός στόχος της φλεγμονώδους αθηροσκλήρωσης, καθώς η φαρμακολογική αναστολή της IL-1 οδού (canakinumab ή anakinra) έχει συσχετιστεί με βελτίωση των καρδιαγγειακών εκβάσεων, υποδεικνύοντας τον κεντρικό της ρόλο στη φλεγμονώδη παθογένεση της στεφανιαίας νόσου (Silvain et al.,2020). Η IL-1β αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα βιολογικού στόχου με υψηλή μεταφραστική αξία.

PCSK9

Πειραματικά και κλινικά αποτελέσματα υποστηρίζουν την σημασία του ρόλου της PCSK9 στην αθηροσκλήρωση καθώς συσχετίζεται με την εξέλιξη και την αστάθεια της αθηρωματικής πλάκας. Βέβαια παρά την σπουδαιότητα του ρόλου της PCSK9 στη συμμετοχή της χρόνιας φλεγμονώδους κατάστασης της αθηροσκλήρωσης, αρκετοί μοριακοί μηχανισμοί έχουν ήδη περιγραφεί, ωστόσο εξακολουθούν να διερευνώνται οι LDLR-ανεξάρτητες δράσεις της PCSK9 στην αθηροσκλήρωση. Ωστόσο, έχει αναδειχθεί ως ένας επαναστατικός θεραπευτικός στόχος για τα καρδιαγγειακά νοσήματα και για την υπερχοληστερολαιμία. Στον τομέα της αθηροσκλήρωσης, η αναστολή της έχει αποτελέσει σημαντική πρόοδο στην αποτελεσματικότητά της βασισμένη σε μονοκλωνικά αντισώματα, όπως Evolocumab και Alirocumab, οι οποίες είναι κλινικά εγκεκριμένες θεραπείες για τη μείωση καρδιαγγειακού κινδύνου (Bao et al.,2024; Punch et al.,2022).

Συγκεντρωτικά, όλοι οι παραπάνω βιοδείκτες παρουσιάζουν σημαντική βιολογική και ερευνητική αξία, ωστόσο διαφέρουν σημαντικά ως προς τον βαθμό κλινικής επικύρωσης και εφαρμογής τους. Στον Πίνακα 1 συνοψίζονται οι κύριοι βιοδείκτες και τα μόρια στόχοι που μεσολαβούν στην ανάπτυξη και εξέλιξη της αθηροσκληρωτικής νόσου, η μοριακή τους δράση

στο στάδιο της νόσου που εμπλέκονται, καθώς και η κλινική και μεταφραστική τους αξία. Η σύγχρονη προσέγγιση της αθηροσκλήρωσης μετατοπίζεται από την αξιολόγηση μεμονωμένων δεικτών προς ένα πολυπαραγοντικό μοντέλο στο οποίο συνδυάζονται λιπιδαιμικοί, φλεγμονώδεις και μοριακοί δείκτες.

Πίνακας 1: Κύριοι Βιοδείκτες και μόρια στόχοι στην παθογένεια της αθηροσκλήρωσης

Βιοδείκτης	Βιολογικός ρόλος	Στάδιο Αθηροσκλήρωσης	Κλινική και Μεταφραστική αξία	Βαθμός κλινικής εφαρμογής Βιοδεικτών
VCAM-1	Προσκόλληση των λευκοκυττάρων και ενδοθηλιακή μετανάστευση	Έναρξη και εξέλιξη της νόσου	Διαγνωστικός δείκτης και δείκτης παρακολούθησης	Ερευνητικό στάδιο
ICAM-1	Διευκολύνει την προσκόλληση και την μεταφορά των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο	Πρώιμα στάδια της ανάπτυξης των πλακών	Προβλεπτικός και προγνωστικός δείκτης	Ερευνητικό στάδιο
Apo-B	Δομικό συστατικό των λιποπρωτεϊνών, μεταφορά της χοληστερόλης, κατακράτηση λιποπρωτεϊνών στον έσω χιτώνα των αρτηριών	Έναρξη αθηροσκλήρωσης	Προγνωστικός δείκτης	Κλινική εφαρμογή
LDL-C	Μεταφορά χοληστερόλης σε περιφερειακούς ιστούς, η οξειδωμένη της μορφή πυροδοτεί φλεγμονή	Βασικό μόριο έναρξης και εξέλιξης της αθηροσκλήρωσης	Κυρίως θεραπευτικός στόχος (π.χ. στατίνες)	Κλινική εφαρμογή

CRP- Πρωτεΐνη	Προκαλεί την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, τη φλεγμονώδη συσσώρευση των λευκοκυττάρων και τη θρομβογένεση.	Πρώιμα και προχωρημένα στάδια της νόσου	Προγνωστικός δείκτης, δείκτης υπολειπόμενου φλεγμονώδους κινδύνου (RIR)	Κλινική εφαρμογή
IL-1β	Προάγει τη φλεγμονή, συσσώρευση λευκοκυττάρων, ανάπτυξη αθηροσκληρωτικής πλάκας	Έναρξη και εξέλιξη της παθογένειας της αθηροσκλήρωσης	Κλινικά εφαρμόσιμος θεραπευτικός στόχος (πχ. canakinumab)	Θεραπευτικός στόχος και ερευνητική στόχος
PCSK9	Ρυθμίζει την αποικοδόμηση των LDLR, αυξάνει τα επίπεδα LDL-C και συμμετέχει σε φλεγμονώδεις και προαθηρογόνους μηχανισμούς του αγγειακού τοιχώματος.	Πρώιμα και προχωρημένα στάδια της νόσου	Κλινικά εφαρμόσιμος θεραπευτικός στόχος (π.χ. evolocumab)	Θεραπευτικός στόχος

4 Μοριακές μέθοδοι ανίχνευσης βιοδεικτών και εφαρμογή τους στην αθηροσκλήρωση

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η αθηροσκλήρωση αποτελεί μια χρόνια φλεγμονώδη νόσο των αρτηριών, η οποία χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση λιπιδίων, φλεγμονωδών ουσιών και ινώδους ιστού στα τοιχώματα των αρτηριών. Η ανάπτυξη της νόσου συνδέεται με μοριακές και κυτταρικές μεταβολές που οδηγούν στην δημιουργία αθηρωματικών πλακών και τελικά σε καρδιαγγειακά επεισόδια, όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου και το εγκεφαλικό επεισόδιο (Lu et al.,2022). Για τον λόγο αυτό, η ταυτοποίηση αξιόπιστων βιοδεικτών συμβάλλει σημαντικά τόσο στην έγκαιρη διάγνωση όσο και στην παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου (Adam et al.,2022; MacNamara et al.,2015). Οι μοριακές προσεγγίσεις που εφαρμόζονται στη μελέτη της αθηροσκλήρωσης φαίνονται να εμπλέκονται σε φλεγμονώδεις δραστηριότητες, οξειδωτικό στρες, δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και διαταραχές του λιπιδικού μεταβολισμού. Στο πλαίσιο αυτό, κυτταροκίνες, microRNAs και πρωτεΐνες έχουν προταθεί ως πιθανοί βιοδείκτες της νόσου. Μεταξύ των σημαντικότερων εργαστηριακών τεχνικών που χρησιμοποιούνται για τη διερεύνηση των βιοδεικτών της αθηροσκλήρωσης περιλαμβάνονται η ποσοτική PCR πραγματικού χρόνου (qReal-Time PCR), η Western Blot και η ELISA. Οι μέθοδοι αυτές χαρακτηρίζονται από υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα συμβάλλοντας στην καλύτερη κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται στην παθογένεση της νόσου και στην ανάπτυξη νέων διαγνωστικών και θεραπευτικών στρατηγικών.

4.1 Τεχνικές μεθόδων qRT-PCR, Western blot και ELISA

qRT-PCR

Η qRT-PCR αποτελεί μία από τις πλέον ευαίσθητες και αξιόπιστες τεχνικές για την ποσοτικοποίηση της γονιδιακής έκφρασης, καθώς επιτρέπει την ανίχνευση και ακριβή μέτρηση πολύ μικρών ποσοτήτων RNA σε ευρύ δυναμικό εύρος. Για τη διασφάλιση της αξιοπιστίας και της αναπαραγωγιμότητας των αποτελεσμάτων, οι Bustin και οι συνεργάτες του (2009) πρότειναν τις κατευθυντήριες οδηγίες MIQE, οι οποίες καθορίζουν τις ελάχιστες προϋποθέσεις για τον σωστό σχεδιασμό, την εκτέλεση και την αναφορά των πειραμάτων qRT-PCR. Πέρα από την ανίχνευση mRNA, η qRT-PCR χρησιμοποιείται ευρέως και για την ποσοτικοποίηση μικρών μη κωδικών RNA, όπως τα microRNAs (miRNAs). Ενδεικτικά, οι Fichtlscherer και οι συνεργάτες του (2010) εφάρμοσαν τη μέθοδο για την ανίχνευση και

ποσοτικοποίηση κυκλοφορούντων miRNAs σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο, καταδεικνύοντας ότι τα επίπεδα συγκεκριμένων miRNAs διαφοροποιούνται σημαντικά σε σχέση με υγιή άτομα. Ειδικότερα, τα miR-126, miR-17, miR-92a, miR-145 και miR-155 βρέθηκαν μειωμένα, ενώ το miR-133a παρουσίασε αυξημένα επίπεδα στους ασθενείς. Τα ευρήματα αυτά αναδεικνύουν την qRT-PCR ως τη βασική εργαστηριακή τεχνική για την αξιόπιστη ποσοτικοποίηση τόσο της γονιδιακής έκφρασης όσο και των κυκλοφορούντων miRNAs που μελετώνται ως υποψήφιοι μοριακοί βιοδείκτες.

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) αναπτύχθηκε το 1983 από τον Kary Mullis και επέτρεψε την εκθετική ενίσχυση συγκεκριμένων αλληλουχιών DNA *in vitro*. Η Παρασκευή αντιγράφων προϋποθέτει την χρήση DNA πολυμεράσης, μείγμα δεοξυριβονουκλεοτιδίων (dNTPs), ένα ζευγάρι εκκινητές με παρόμοιες θερμοκρασίες τήξης (T_m) (Εικόνα 9). Η αντίδραση λαμβάνει μέρος σε αυτόματους θερμικούς κυκλοποιητές και παρότι τα πρωτόκολλα εφαρμογής της ενδέχεται να διαφέρουν, η συμβατική ακολουθία των επιμέρους βημάτων είναι η εξής (Σκορίλας, 2020):

1) Αρχική αποδιάταξη δείγματος DNA

Το διάλυμα θερμαίνεται στους 95 °C για 15 λεπτά με σκοπό την αποδιάταξη του DNA από δίκλωνο σε μονόκλωνο μόριο (Εικόνα 9).

Ακολουθούν επαναλαμβανόμενοι κύκλοι εναλλαγής θερμοκρασιών συγκεκριμένης διάρκειας, κατά τους οποίους πραγματοποιούνται τα επιμέρους στάδια της PCR:

2) Αποδιάταξη προϊόντων

Η θερμοκρασία αυξάνεται στους 94 °C για 30-60 δευτερόλεπτα ώστε τα νεοσυντεθέντα δίκλιωνα μόρια DNA να αποδιαταχθούν σε μονόκλιωνα μόρια.

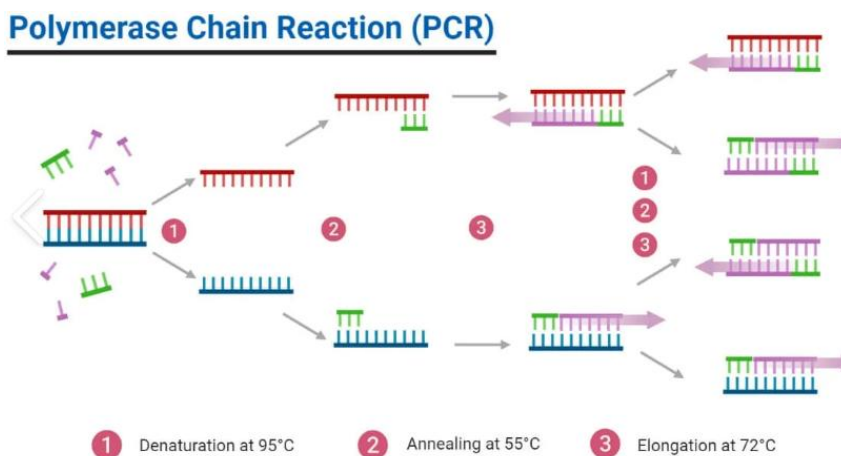
3) Υβριδοποίηση

Η θερμοκρασία ελαττώνεται στους 64 °C (50 έως 71 °C) και πραγματοποιείται ο υβριδισμός των συμπληρωματικών αλληλουχιών του εκμαγείου DNA με τους εκκινητές στο 3' άκρο τους.

4) Επιμήκυνση

Η θερμοκρασία αυξάνεται τους 72 °C που είναι και η βέλτιστη θερμοκρασία για την DNA πολυμεράση. Το ένζυμο καταλύει τη σύνθεση της νέας συμπληρωματικής αλυσίδας DNA χρησιμοποιώντας ως δομικά στοιχεία τα δεοξυριβονουκλεοτίδια, dNTPs, για 30 δευτερόλεπτα.

Μετά την ολοκλήρωση της επιμήκυνσης, ο κύκλος επαναλαμβάνεται με νέο στάδιο αποδιάταξης ώστε να συνεχιστεί η εκθετική ενίσχυση.

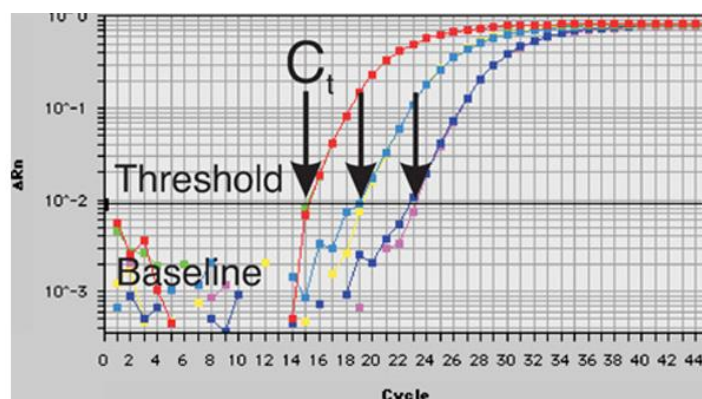


Εικόνα 9 : Απεικόνιση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης, PCR

(<https://tinyurl.com/yd5fed2z>)

Συγκεκριμένα όμως, η ποσοτική PCR σε πραγματικό χρόνο (Quantitative Real Time PCR, qRT-PCR) αποτελεί μία πολύ ευαίσθητη τεχνική που βασίζεται στην παρακολούθηση της αύξησης του φθορισμού κατά τη διάρκεια κάθε κύκλου της αντίδρασης. Η σπουδαιότητα της τεχνικής αυτής είναι πολύ μεγάλη σε σχέση με άλλες μεθόδους της PCR καθώς είναι γρηγορότερη και δίνονται πληροφορίες κατά την εκθετική φάση της αντίδρασης (Σκορίλας, 2020). Μια από τις συχνότερα χρησιμοποιούμενες χρωστικές είναι η “SYBR Green I”. Κατά τη διάρκεια της PCR, η ποσότητα της “SYBR Green I” που προσδένεται στο παραγόμενο δίκλωνο DNA αυξάνεται, με αποτέλεσμα την αντίστοιχη αύξηση του σήματος φθορισμού σε πραγματικό χρόνο καθώς προχωρά η διαδικασία του πολυμερισμού (Bustin & Mueller, 2005). Από τις διαδοχικές μετρήσεις φθορισμού προκύπτει η καμπύλη ενίσχυσης, η οποία περιλαμβάνει διαφορετικές φάσεις: στην πρώτη φάση της έναρξης ο φθορισμός δεν διαφοροποιείται από την βασική γραμμή, στη συνέχεια ακολουθεί η εκθετική φάση, όπου το DNA πολλαπλασιάζεται με εκθετικό ρυθμό και παρατηρείται σημαντική αύξηση του φθορισμού και τέλος η αντίδραση εισέρχεται στη φάση plateau όπου η αύξηση του σήματος περιορίζεται λόγω εξάντλησης των διαθέσιμων συστατικών της αντίδρασης (Εικόνα 10). Επιπλέον, καθορίζεται και η γραμμή κατωφλίου “threshold” ενώ ο κύκλος κατωφλίου (Ct,

cycle threshold) αντιστοιχεί στον κύκλο κατά τον οποίο το σήμα φθορισμού υπερβαίνει το προκαθορισμένο επίπεδο ανίχνευσης. Η τιμή C_t είναι αντιστρόφως ανάλογη της αρχικής ποσότητας του εκμαγείου DNA, καθώς χαμηλότερες τιμές C_t υποδηλώνουν μεγαλύτερη αρχική ποσότητα DNA (Εικόνα 10).



Εικόνα 10 : Καμπύλες ενίσχυσης τριών δειγμάτων κατά την qPCR, με την αρχική ποσότητα DNA να προσδιορίζεται βάσει των τιμών C_t .

Η σκούρα μπλε καμπύλη παρουσιάζει υψηλότερη τιμή C_t σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα, γεγονός που υποδηλώνει μικρότερη αρχική ποσότητα εκμαγείου DNA. Αντίστοιχα, η γαλάζια καμπύλη εμφανίζει μεγαλύτερη τιμή C_t από την κόκκινη, υποδεικνύοντας μικρότερο αριθμό αρχικών αντιγράφων DNA (Bustin & Mueller, 2005).

Western blot

Η τεχνική Western blot εισήχθη από τον Burnette το 1981 και ακολούθησε τις τεχνικές Southern blot για το DNA και του Northern blot για το RNA το 1977. Η Western blot αποτελεί μία ισχυρή και ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική, η οποία χρησιμοποιείται για την ανίχνευση και την ημιποσοτική εκτίμηση μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης σε πολύπλοκα μίγματα πρωτεϊνών που προέρχονται από εκχυλίσματα κυττάρων ή ιστών. Πραγματοποιείται διαχωρισμός πρωτεϊνών με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου (Polyacrylamide Gel Electrophoresis, PAGE) και στη συνέχεια οι πρωτεΐνες καθιλώνονται σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης ή νάιλον με τη χρήση ηλεκτρικού ρεύματος, το οποίο τις οδηγεί προς τη μεμβράνη. Η ανίχνευση των πρωτεϊνών-στόχων γίνεται με τη χρήση ειδικών αντισωμάτων, τα οποία είναι σημασμένα είτε με ραδιενεργά ισότοπα είτε, πιο συχνά, με ένζυμα. Με αυτόν τον τρόπο η ευαισθησία της ανίχνευσης αυξάνεται με όρια ανίχνευσης που αγγίζουν μέχρι και 100 φορές χαμηλότερα από εκείνα της άμεσης ανοσοκατακρήμνισης ή τεχνικών χρώσης

πρωτεϊνών. Από την πυκνομετρική ανάλυση της έντασης των ζωνών πραγματοποιείται η ποσοτική σύγκριση των πρωτεϊνών μεταξύ διαφορετικών πειραμάτων. Η Western blot παραμένει ένας από τους πυλώνες της βιοϊατρικής με στόχο την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση πρωτεϊνών (Zubair & Launico, 2025; Sule et al., 2023).

Εκτός από την ανίχνευση και την ημιποσοτική εκτίμηση πρωτεϊνών, η Western blot επιτρέπει την ανίχνευση μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων (post-translational modifications, PTMs), όπως η φωσφορυλίωση και η γλυκοζυλίωση, με την χρήση εξειδικευμένων αντισωμάτων. Με τον τρόπο αυτό παρέχει πληροφορίες όχι μόνο για την παρουσία μιας πρωτεΐνης αλλά και για την λειτουργική της κατάσταση. Ακόμα, η δυνατότητα προσδιορισμού της μοριακής μάζας των πρωτεϊνών επιτρέπει τη διάκριση διαφορετικών ισομορφών ή τροποποιημένων μορφών τους, που είναι σημαντικό πλεονέκτημα έναντι άλλων ανοσολογικών τεχνικών, όπως η ELISA (Bass et al., 2017).

ELISA

Η τεχνική της ELISA αποτελεί ετερογενή ανοσοδοκιμασία και χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό και την ποσοτικοποίηση ενός συμπλόκου αντιγόνου-αντισώματος σε ένα δείγμα. Η ELISA αποτελεί μία από τις σημαντικότερες ανοσοενζυμικές τεχνικές στην κλινική διάγνωση και την εργαστηριακή έρευνα, καθώς χαρακτηρίζεται από υψηλή ακρίβεια, αξιοπιστία και ευαισθησία. Επιτρέπει την αξιόπιστη και ευαίσθητη ποσοτικοποίηση πρωτεϊνών, πεπτιδίων, αντιγόνων και αντισωμάτων σε βιολογικά υγρά, όπως ο ορός και το πλάσμα. Η ELISA χρησιμοποιείται ευρέως σε διαγνωστικά περιβάλλοντα για την ανίχνευση νοσημάτων, την αξιολόγηση της βαρύτητας της νόσου, την παρακολούθηση της πορείας της θεραπείας, καθώς και σε ερευνητικές και διαγνωστικές εφαρμογές (Aydin et al., 2025).

Το αντίσωμα (ή αντιγόνο) προσροφάται σε μία μικροπλάκα από πλαστικό, πολυστυρένιο κ.α. Στη συνέχεια προστίθεται το αντιγόνο προς ανίχνευση και δημιουργεί σύμπλοκο με το αντίσωμα. Μετά κάθε βήμα επώασης, η μικροπλάκα εκπλένεται με κατάλληλο ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης (washing buffer), το οποίο περιέχει συνήθως μη ιονικά απορρυπαντικά, για την απομάκρυνση των μη δεσμευμένων ή μη ειδικά προσδεσμένων συστατικών. Επιπλέον, πριν από την προσθήκη των αντιδραστηρίων εφαρμόζεται στάδιο αποκλεισμού (blocking), κατά το οποίο χρησιμοποιούνται διαλύματα που περιέχουν πρωτεΐνες, ώστε να καλυφθούν οι ελεύθερες θέσεις της επιφάνειας της μικροπλάκας και να περιοριστεί η μη ειδική δέσμευση. Ανάλογα με τη μεθοδολογία που εφαρμόζεται, η ELISA διακρίνεται σε άμεση, έμμεση, sandwich (μη συναγωνιστική) και συναγωνιστική (Shah & Maghsoudlou, 2016).

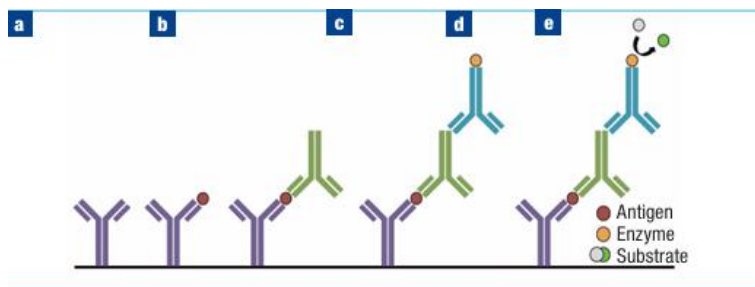
Συναγωνιστική

Στην ανταγωνιστική ELISA, το ειδικό αντίσωμα είναι προσροφημένο στη στερεά επιφάνεια της μικροπλάκας και επωάζεται με ένα μίγμα που περιέχει το προς ανίχνευση αντιγόνο και ένα σημασμένο με ένζυμο αντιγόνο. Τα δύο αντιγόνα ανταγωνίζονται για την πρόσδεση στο αντίσωμα. Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση του αντιγόνου στο δείγμα, τόσο περισσότερες θέσεις πρόσδεσης καταλαμβάνονται από το μη σημασμένο αντιγόνο και, επομένως, μικρότερη ποσότητα του ενζυμικά σημασμένου αντιγόνου δεσμεύεται. Ακολουθεί έκπλυση και μετά από την προσθήκη υποστρώματος του ενζύμου παράγεται φως ή έγχρωμο προϊόν και το τελικό σήμα είναι ασθενέστερο. Η ένταση του τελικού σήματος είναι αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης του αντιγόνου στο δείγμα. Επομένως, υψηλότερη ποσότητα αντιγόνου οδηγεί σε ασθενέστερο σήμα, ενώ χαμηλότερη ποσότητα αντιγόνου οδηγεί σε ισχυρότερο σήμα.

Μη συναγωνιστική

Η μη συναγωνιστική ELISA βασίζεται σε παρόμοια αρχή με τη συναγωνιστική με βασική διαφορά ότι μαζί με το προς ανίχνευση αντιγόνο χρησιμοποιείται και ένα δεύτερο αντίσωμα σημασμένο με ένζυμο (περίσσεια αντισώματος). Όσο περισσότερο αντιγόνο δεσμευτεί στο αντίσωμα, τόσο περισσότερο φως εκπέμπεται. Επομένως το σήμα φθορισμού που εκπέμπεται μετά την προσθήκη υποστρώματος του ενζύμου είναι ανάλογο της ποσότητας αντιγόνου που υπάρχει στο δείγμα.

Μία ειδική μορφή μη συναγωνιστικής ELISA αποτελεί η Sandwich ELISA, η οποία χρησιμοποιείται για την ανίχνευση αντιγόνων που διαθέτουν τουλάχιστον δύο διαφορετικούς επιτόπους. Αρχικά, ένα ειδικό αντίσωμα σύλληψης (capture antibody) ακινητοποιείται στην επιφάνεια της μικροπλάκας και δεσμεύει το αντιγόνο του δείγματος. Μετά από έκπλυση για την απομάκρυνση των μη δεσμευμένων συστατικών, προστίθεται ένα δεύτερο αντίσωμα ανίχνευσης (detection antibody), το οποίο αναγνωρίζει διαφορετικό επίτοπο του ίδιου αντιγόνου, σχηματίζοντας το χαρακτηριστικό σύμπλοκο "sandwich". Εφόσον το αντίσωμα ανίχνευσης είναι ενζυμικά σημασμένο ή ανιχνεύεται μέσω ενζυμικά σημασμένου δευτερογενούς αντισώματος, η προσθήκη του κατάλληλου υποστρώματος οδηγεί στην ανάπτυξη χρωματικού σήματος, η ένταση του οποίου είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του αντιγόνου στο δείγμα (Εικόνα 11).



Εικόνα 11 : Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου Sandwich ELISA και του σχηματισμού συμπλόκου αντιγόνου–αντισώματος (Shah & Maghsoudlou,2016)

Άμεση ELISA

Στην άμεση ELISA το προς ανίχνευση αντιγόνο προσροφάται στην επιφάνεια μικροπλάκας 96 βοθρίων και ακολούθως προστίθεται ένα ρυθμιστικό διάλυμα αποκλεισμού, ώστε να καλυφθούν όλες οι μη δεσμευμένες θέσεις. Στη συνέχεια ακολουθεί η προσθήκη ενός ειδικού αντισώματος συζευγμένου με ένζυμο, το οποίο προσδένεται στο αντιγόνο. Μετά την προσθήκη του κατάλληλου υποστρώματος του ενζύμου παράγεται ανιχνεύσιμο σήμα (χρωματομετρικό, φθορισμού ή φωταύγειας, ανάλογα με το σύστημα ανίχνευσης), το οποίο επιβεβαιώνει την παρουσία του αντιγόνου. Η άμεση ELISA χρησιμοποιείται στην ποιοτική και ποσοτική ανίχνευση αντιγόνων σε βιολογικά δείγματα, σε εφαρμογές ελέγχου αντισωμάτων και για χαρτογράφηση επιτόπων. Καθώς απαιτεί μόνο ένα αντίσωμα, η δοκιμασία είναι ταχύτερη σε σύγκριση με άλλες μεθόδους ELISA (Lin, 2015).

Έμμεση ELISA

Στην έμμεση ELISA το προς ανίχνευση αντιγόνο προσροφάται σε επιφάνεια μικροπλάκας 96 βοθρίων από πολυστυρένιο ή πολυπροπυλένιο κ.α. Επιπρόσθετα, όπως και στην άμεση ELISA εισάγεται ένα ρυθμιστικό διάλυμα αποκλεισμού ώστε να καλυφθούν όλες οι μη ειδικές θέσεις πρόσδεσης και ακολουθεί επώαση με ένα πρωτογενές αντίσωμα. Έπειτα προστίθεται ένα δευτερογενές αντίσωμα συζευγμένο με ένζυμο, το οποίο αναγνωρίζει και συνδέεται με το πρωτογενές. Συνήθως, το δευτερογενές αντίσωμα είναι συζευγμένο με υπεροξειδάση του αγριοράπανου (Horseradish Peroxidase, HRP). και η ενίσχυση του σήματος πραγματοποιείται με την προσθήκη κατάλληλου υποστρώματος, προκαλείται ενζυμική αντίδραση και παραγωγή μετρήσιμου σήματος, η ένταση του οποίου είναι ανάλογη της ποσότητας του αντιγόνου στο δείγμα (Lin,2015).

5 Πρόληψη

Η υψηλή θνησιμότητα που σχετίζεται με τα καρδιαγγειακά νοσήματα παγκοσμίως έχει ενισχύσει το ενδιαφέρον για την πρόληψη και την έγκαιρη αντιμετώπιση της αθηροσκλήρωσης. Ωστόσο, η αναγνώριση του κινδύνου εμφάνισης της νόσου παραμένει δύσκολη, ακόμα και παρουσία παραγόντων κινδύνου, όπως η παχυσαρκία, το κάπνισμα, η διατροφή, η αρτηριακή υπέρταση και γενικότερα ο τρόπος ζωής (Crea, 2021). Αν και η ηλικία αποτελεί τον σημαντικότερο μη τροποποιήσιμο παράγοντα κινδύνου, ο υγιεινός τρόπος ζωής μπορεί να λειτουργήσει προστατευτικά έναντι της ανάπτυξης καρδιαγγειακών νοσημάτων ήδη από νεαρή ηλικία (Morton et al., 2022).

5.1 Παρεμβάσεις τρόπου ζωής

Διατροφή

Μία σωστή και ισορροπημένη διατροφή έχει τη δυνατότητα πρόληψης των καρδιαγγειακών επεισοδίων και νοσημάτων. Συνίσταται πλούσιο περιεχόμενο διατροφής σε φρούτα, λαχανικά, ξηρούς καρπούς, όσπρια και δημητριακά ολικής αλέσεως. Σύμφωνα με την μελέτη PREDIMED η Μεσογειακή διατροφή αποτελεί σημαντικό διατροφικό πρότυπο και έχει οφέλη για την καρδιαγγειακή υγεία, καθώς μειώνει τον κίνδυνο ισχαιμικών εγκεφαλικών επεισοδίων και στεφανιαίας νόσου. Αυτά που θα πρέπει να αποφεύγονται είναι τα ζαχαρούχα ποτά και η αυξημένη κατανάλωση αλατιού, με τη συνολική ημερήσια πρόσληψη να μην υπερβαίνει τα 5 g ημερησίως. Επιπλέον, συνίσταται η χαμηλή κατανάλωση του κόκκινου κρέατος, καθώς σύμφωνα με το άρθρο των Koeth και λοιπών συνεργατών (2013) η L-καρνιτίνη είναι μια ουσία που βρίσκεται σε άφθονες ποσότητες στο κόκκινο κρέας και μετατρέπεται σε τριμεθυλαμίνη-N-οξείδιο (TMAO). Αυξημένα επίπεδα TMAO έχουν συσχετιστεί με διαταραχή του μεταβολισμού της χοληστερόλης, ενίσχυση της φλεγμονής και αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης αθηροσκλήρωσης (Soehnlein et Libby, 2021 ; Koeth et al., 2013).

Σωματική άσκηση

Η άσκηση ενδείκνυται για τη μείωση εμφάνισης καρδιαγγειακού κινδύνου. Η αύξηση της σωματικής δραστηριότητας και η μείωση του καθιστικού τρόπου ζωής έχουν χαρακτηριστεί ωφέλιμοι για μείζονα αγγειακά συμβάματα. Σε προστατευτικό πλαίσιο συνδέεται με τη βελτίωση της αρτηριακής πίεσης, της δραστηριότητας των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος, της ευαισθησίας στην ινσουλίνη και της ψυχολογικής διάθεσης (Chen et al., 2022).

Επιπροσθέτως, βοηθά στη βελτίωση της ρύθμισης της γλυκόζης στο αίμα και στη μείωση των λιπιδίων στο πλάσμα. Με την τακτική σωματική διαστηριότητα μειώνεται η παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών και βελτιώνεται η μιτοχονδριακή λειτουργία και ο κυτταρικός μεταβολισμός. Παράλληλα, έχει βρεθεί πως μειώνεται ο αριθμός των λευκοκυττάρων που κυκλοφορούν στο αίμα σε ανθρώπους και ποντίκια (Soehnlein et Libby, 2021).

Κάπνισμα

Ευρήματα διαφόρων ερευνών έχουν συσχετίσει το κάπνισμα με την εξασθένηση της αγγειοδιασταλτικής δράσης του μονοξειδίου του αζώτου (NO). Στον ορό του αίματος των καπνιστών έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα των προφλεγμονωδών κυτταροκινών TNF-α και IL-1β, καθώς και μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και έκφρασης κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2) στο ενδοθήλιο (Kotlyarov, 2023). Μάλιστα σε μελέτη των Barbieri et al. (2011), διαπιστώθηκε ότι αναστέλλοντας ταυτόχρονα τις σηματοδοτικές οδούς των IL-1β και του TNF-α αποτράπηκε η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία λόγω καπνίσματος, υπογραμμίζοντας τον σημαντικό ρόλο των συγκεκριμένων κυτταροκινών στην παθογένεση της νόσου (Barbieri et al., 2011). Ακόμα, σε μελέτη των Ding et al. (2019) παρατηρήθηκε μείωση του κινδύνου εμφάνισης αθηροσκληρωτικών βλαβών μετά την διακοπή καπνίσματος μέσα σε διάστημα πέντε ετών. Τα ευρήματα αυτά καταδεικνύουν ότι η αποχή από το κάπνισμα συμβάλλει σημαντικά στη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου, ενώ όσο μεγαλύτερη είναι η διάρκεια της αποχής τόσο μεγαλύτερο είναι το προστατευτικό όφελος έναντι της ανάπτυξης αθηροσκληρωτικής νόσου (Ding et al., 2019).

5.2 Στατίνες

Οι στατίνες είναι αναστολείς του ενζύμου HMG-CoA αναγωγάση (3-υδροξυ-3-μεθυλ-γλουταρυλο-CoA), το οποίο μεσολαβεί στην βιοσυνθετική οδό της χοληστερόλης και στο παρελθόν αποτέλεσε μεγάλο κέντρο προσοχής που στόχο είχε και ακόμα έχει την μείωση των συγκεντρώσεων της χοληστερόλης στην κυκλοφορία του αίματος. Η έρευνα ξεκίνησε την δεκαετία του 1970, όπου ο Akira Endo αντιλήφθηκε ότι η αναστολή του ρυθμοκαθοριστικού σταδίου της βιοσύνθεσης της χοληστερόλης θα μπορούσε να αποτελέσει αποτελεσματική στρατηγική για τη μείωση των επιπέδων των λιπιδίων στο αίμα. Ωστόσο, κάτι τέτοιο δεν αποδείχθηκε αλλά η περίπτωση του ρυθμιστικού ρόλου της στην βιοσύνθεση

της χοληστερόλης φάνηκε αρκετά υποσχόμενη (Hajar, 2011). Μετά την ανακάλυψη των στατινών από τον Akira Endo τη δεκαετία του 1970 η αντιμετώπιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων άλλαξε σημαντικά. Έχει τεκμηριωθεί πως οι στατίνες είναι αποτελεσματικές τόσο στην πρωτογενή όσο και στη δευτερογενή πρόληψη της καρδιοπάθειας. Συγκεκριμένα, οι στατίνες μειώνουν τα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP), ενώ παράλληλα μειώνουν την έκφραση και παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως ο TNF-α και η IL-1β. Αυτές οι αντιφλεγμονώδεις δράσεις συμβάλλουν καθοριστικά στον περιορισμό της εξέλιξης της αθηρωματικής πλάκας (Almeida & Budoff, 2019). Αξίζει να σημειωθεί πως οι στατίνες μειώνουν τη σύνθεση της χοληστερόλης στο ήπαρ και κατ' επέκταση τα επίπεδα της LDL-χοληστερόλης στην κυκλοφορία συμβάλλοντας στην μείωση της πιθανότητας εμφάνισης της αθηροσκλήρωσης. Πιο ειδικά, λόγω της μειωμένης ενδοκυττάριας παραγωγής χοληστερόλης, επάγεται η αυξημένη έκφραση των υποδοχέων LDL (LDL-R) στην επιφάνεια των ηπατικών κυττάρων, γεγονός σημαντικό για την απομάκρυνση της LDL χοληστερόλης από την κυκλοφορία του αίματος. Επιπλέον, οι στατίνες παρουσιάζουν μικρή αυξητική επίδραση στα επίπεδα της χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας (High Density Lipoprotein, HDL) και παράλληλα μειώνουν τα τριγλυκερίδια του ορού (Khatiwada & Hong, 2024).

5.3 Υπολλειπόμενος Φλεγμονώδης Κίνδυνος (RIR)

Η χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας (LDL-C) αποτελεί τον κύριο θεραπευτικό στόχο για τη μείωση του αθηροσκληρωτικού καρδιαγγειακού κινδύνου, καθώς η μείωση των λιπιδίων συνδέεται άμεσα με την πρόληψη των καρδιαγγειακών επεισοδίων. Οι στατίνες, η εξετιμίμπη και οι αναστολείς της PCSK9 αποτελούν καθιερωμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις για τη μείωση των επιπέδων της LDL-C. Από την άλλη μεριά, η αγγειακή φλεγμονή αναγνωρίζεται πλέον ως ένας επιπλέον και ανεξάρτητος θεραπευτικός στόχος στην αθηροσκλήρωση (Paul, 2023). Πλέον, η φλεγμονή αποτελεί βασικό παράγοντα στην εξέλιξη της αθηροσκληρωτικής νόσου. Βιοδείκτες φλεγμονής, όπως η υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (hsCRP) και η ιντερλευκίνη-6 (IL-6), έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών νόσων, ανεξάρτητα από τα επίπεδα χοληστερόλης. Επιπλέον, σημαντικός αριθμός ασθενών εξακολουθεί να εμφανίζει αυξημένο υπολειπόμενο υπολειπόμενο φλεγμονώδη κίνδυνο (Residual Inflammatory Risk, RIR), η οποία αντανακλάται από αυξημένα επίπεδα hsCRP, παρά τη σημαντική μείωση των επιπέδων της LDL-C (Aaron & Paul, 2019).

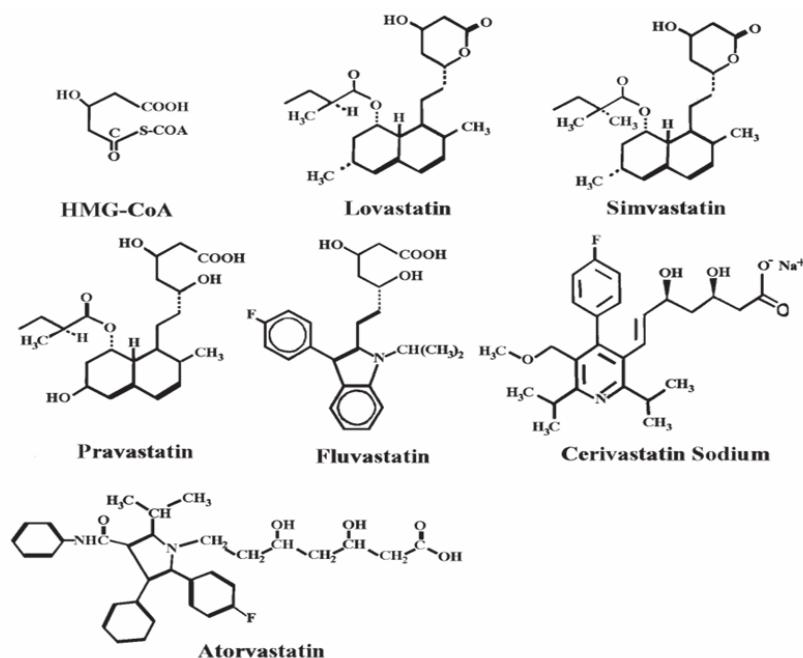
Η θεραπεία με στατίνη μπορεί να συνδυαστεί με χαμηλή δόση κολχικίνης σε άτομα που πάσχουν από αθηροσκλήρωση. Το γεγονός που περιορίζει την χορήγηση της κολχικίνης σε αυτά τα άτομα είναι η ενδεχόμενη ύπαρξη σημαντικής νεφρικής νόσου, όπου σύμφωνα με την έρευνα Ziltivekimab Cardiovascular Outcomes Study (ZEUS), διερευνάται η εναλλακτική προσέγγιση της αναστολής της IL-6, καθώς μπορεί να μειώσει τα καρδιαγγειακά επεισόδια σε αυτή την ομάδα ανθρώπων. Επιπλέον, πολλαπλές μελέτες βρίσκονται σε εξέλιξη σχετικά με την αναστολή της IL-6 σε ασθένειες, όπως η οξεία στεφανιαία ισχαιμία. Αντιφλεγμονώδεις θεραπείες εξετάζονται σχετικά με την αναστολή του NLRP3 στην αθηροσκλήρωση, καθώς και άλλες αντιφλεγμονώδεις θεραπείες σε άτομα που παρουσιάζουν ανεύρυσμα αορτής ή αντίσταση στην ινσουλίνη ή μεταβολικό σύνδρομο. Συνεπώς, ο υπολειπόμενος φλεγμονώδης κίνδυνος (residual inflammatory risk, RIR) αποτελεί στόχο στο πλαίσιο της αθηροσκληρωτικής νόσου για την πρόληψη και θεραπεία (Paul, 2023).

6 Θεραπευτικές εφαρμογές

6.1 Καθιερωμένες υπολιπιδαιμικές θεραπείες

Στατίνες

Η πρώτη στατίνη που ανακαλύφθηκε είναι η λοβαστατίνη (lovastatin) της οποίας η επίδραση εξετάστηκε το 1982 από την Merck σε εθελοντές με ετερόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία και παρατηρήθηκαν σημαντικά επίπεδα μείωσης της LDL-χοληστερόλης (Εικόνα 12). Πιο ειδικά, η lovastatin συνταγογραφήθηκε με δόση των 80 mg την μέρα, όπου για εκείνη την εποχή η μείωση της LDL στο αίμα κατά 40% ήταν μεγάλη επιτυχία (Hajar,2011).



Εικόνα 12 : Χημικές δομές στατίνης

(Stancu & Sima,2001)

Οι στατίνες ασκούν την δράση τους μέσω του μηχανισμού μιας πολύπλοκης αλληλουχίας, με σημαντικό βήμα την υψηλής συγγένειας και αναστρέψιμη αναστολή της HMG-CoA αναγωγής. Αυτό το NADPH-εξαρτώμενο οξειδοαναγωγικό ένζυμο αποτελεί το καθοριστικό στάδιο της βιοσύνθεσης του μεβαλονικού οξέος, που ξεκινά από την αναγωγή της HMG-CoA. Βέβαια, οι στατίνες αναστέλλουν αυτό το κρίσιμο στάδιο, μειώνοντας έτσι τα ενδοκυττάρια επίπεδα χοληστερόλης, ενεργοποιώντας την αυξημένη έκφραση των ηπατικών υποδοχέων LDL και οδηγώντας στην ενδοκυττάρωση των κυκλοφορούντων

σωματιδίων LDL(Khan et al.,2025). Επιπλέον, έχει τεκμηριωθεί ότι οι στατίνες συμβάλλουν σημαντικά στην πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων και συμβαμάτων, μειώνοντας τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης (LDL-C) και της ολικής χοληστερόλης, ενώ παράλληλα εμφανίζουν αξιοσημείωτες αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Η ελάττωση των επιπέδων της LDL-C συνοδεύεται από αντίστοιχη μείωση των επιπέδων της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (hs-CRP) (Cicero et al., 2021; Kandelouei et al.,2022).

Σε εξειδικευμένες μελέτες, η διακοπή της φυσιολογικής δράσης της HMG-CoA αναγωγάσης οδήγησε σε αυξημένη δραστηριότητα της ενδοθηλιακής συνθάσης του NO (eNOS), με αποτέλεσμα αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα του NO, έτσι συνεχίζει να διατηρείται η ισορροπία μεταξύ της αγγειακής διαστολής και συστολής (Laufs et al.,1998). Οι στατίνες μειώνουν την παραγωγή αντιδραστικών ριζών οξυγόνου ROS και ελαττώνουν την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως είναι οι ιντερλευκίνες και του TNF-α. Αυτό με τη σειρά του μειώνει τη συσσώρευση μονοκυττάρων και εμποδίζει την περαιτέρω ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας. Γεγονός που αυξάνει την δραστηριότητα της eNOS, άρα και τα επίπεδα NO (Libby, 2002). Το NO ελέγχει τις αντι-αθηροσκληρωτικές λειτουργίες του ενδοθηλίου, όπως τη μη προσκόλληση λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων, καθώς και η ανάπτυξη και διατήρηση μιας αντιθρομβωτικής διεπιφάνειας μεταξύ της κυκλοφορίας του αίματος και του αγγειακού τοιχώματος της αρτηρίας. Αυξημένα επίπεδα της oxLDL μπορεί να εμποδίσουν άμεσα τις λειτουργίες του NO μέσω υπερπαραγωγής ελευθέρων ριζών. Παρ'όλα αυτά, οι στατίνες οδηγούν τα μακροφάγα να διαχειρίζονται και προσλαμβάνουν την LDL διαφορετικά. Για παράδειγμα, η λοβαστατίνη αναστέλλει την οξειδωση της LDL και μειώνει την συγγένεια των μακροφάγων με την οξειδωμένη LDL (Vaughan et al.,1999). Επιπροσθέτως, η αύξηση της έκφρασης της eNOS πραγματοποιείται μέσω διέγερσης του μονοπατιού PI3-Akt από τις στατίνες ή μέσω της αύξησης της πρωτεΐνης συνοδού Hsp90 από τις στατίνες. Και οι δύο επιλογές φωσφορυλιώνουν την πρωτεΐνη eNOS με αποτέλεσμα να αυξάνει τη δραστηριότητά της. Από την άλλη μεριά, γνωρίζοντας πως η καβεολίνη-1 ρυθμίζει την υποκυτταρική εντόπιση της eNOS και την αδρανοποιεί, ο ρόλος των στατινών είναι να εμποδίζουν την έκφρασή της και έτσι η δραστηριότητα της eNOS ενισχύεται (Antonopoulos et al.,2012).

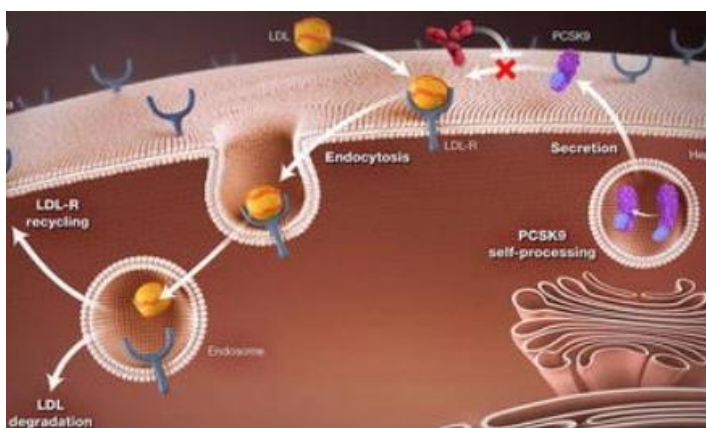
Σύμφωνα με μελέτες, επέρχεται μείωση της αντιδραστικότητας των αιμοπεταλίων με τη θεραπεία των στατινών. Μια πιθανή υπόθεση προτείνει τη μειωμένη παραγωγή θρομβοξάνης A₂,TXA₂ από τα αιμοπετάλια. Αξίζει να αναφερθεί επίσης πως η χοληστερόλη της μεμβράνης

των ερυθροκυττάρων και των αιμοπεταλίων μειώνεται σε ασθενείς που λαμβάνουν πραβαστατίνη δείχνοντας ότι κάποιες από τις ιδιότητες αυτών των μεμβρανών αλλάζουν έτσι ώστε να μειώνει τον αθηροθρομβωτικό κίνδυνο (Vaughan et al., 1999). Επιπλέον, η αλληλεπίδραση ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων με την ατορβαστατίνη οδηγεί σε μείωση της επαγόμενης από τα αιμοπετάλια έκφρασης της κυκλοοξυγενάσης-2, COX-2 σε ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω μείωσης της έκφρασης του CD40 προσδέτη, ο οποίος με τη σειρά του δεν ενισχύει την αθηροσκλήρωση μέσω της σηματοδότησης της φλεγμονής (Antonopoulos et al., 2012).

6.2 Καινοτόμες στοχευμένες υπολιπιδαιμικές θεραπείες

Evolocumab

Το evolocumab είναι ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα τύπου ανοσοσφαιρίνης IgG2, το οποίο αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη PCSK9, διακόπτοντας τη δέσμευσή της στον υποδοχέα LDLR. Συγκεκριμένα, το evolocumab αυξάνει τον αριθμό των διαθέσιμων LDLR υποδοχέων απομακρύνοντας την LDL-χοληστερόλη (Fala, 2016). Με άλλα λόγια, το μονοκλωνικό αντίσωμα, όπως είναι το evolocumab μειώνει την LDL εφόσον η επαφή του με την PCSK9 μπλοκάρει την αλληλεπίδραση της PCSK9 με τον υποδοχέα LDLR στην κυτταρική επιφάνεια. Ο LDLR μπορεί να ανακυκλωθεί κυτταρική μεμβράνη αντί να αποδομηθεί στα λυσοσώματα (Εικόνα 13). Αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα υψηλότερο ρυθμό απομάκρυνσης LDL από τα ηπατοκύτταρα και συνολικά μείωση των επιπέδων LDL στην κυκλοφορία του αίματος (Kasichayanula et al., 2018).



Εικόνα 13 :Μηχανισμός δράσης του μονοκλωνικού
αντισώματος evolocumab στην PCSK9

(Kasichayanula et al., 2018)

Το enolocumab εγκρίθηκε από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (Food and Drug Administration, FDA), στις 27 Αυγούστου 2015 ως παράλληλη θεραπεία στη δίαιτα και στη θεραπεία με στατίνες σε ενήλικες ασθενείς με ετερόζυγη ή ομόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία και σε άτομα που πάσχουν από αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσο, για τη μείωση του κινδύνου εμφράγματος του μυοκαρδίου και εγκεφαλικό επεισόδιο (FDA, 2015).

Το enolocumab χορηγείται με υποδόρια ένεση είτε στην κοιλιακή χώρα ή στον μηρό ή στο άνω μέρος του βραχίονα. Σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία σε συνδυασμό με αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσο ή ετερόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία, η συνιστώμενη δόση είναι 140 mg ανά 2 εβδομάδες ή 420 mg μία φορά τον μήνα. Όμως οι ασθενείς με ομόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία μπορούν να λάβουν δόση 420 mg, η οποία χορηγείται σε 3 διαδοχικές ενέσεις μέσα σε 30 λεπτά ή μέσω μίας ενιαίας αυτοματοποιημένης έγχυσης (FDA, 2015).

Alirocumab

Η αλιροκουμάμπη είναι ένα επίσης ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα που η ανάπτυξή της έλαβε χώρα από τις εταιρείες Regeneron Pharmaceuticals και Sanofi. Εγκρίθηκε επίσημα στις 24 Ιουλίου 2015 από τον FDA. Εφαρμόστηκε σαν συμπληρωματική θεραπεία στη χορήγηση της στατίνης για τη θεραπεία ενηλίκων με ετερόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία ή αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσο, λόγω ικανότητάς της για μείωση της χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (Low-Density Lipoprotein Cholesterol, LDL-C). Η αλιροκουμάμπη δοσολογείται με 75 mg κάθε δύο εβδομάδες, η οποία μπορεί να δοθεί και σε περιεκτικότητα των 150 mg εάν χρειάζεται (Kühnast et al., 2014).

6.3 Νεότερες αντιφλεγμονώδεις θεραπευτικές προσεγγίσεις

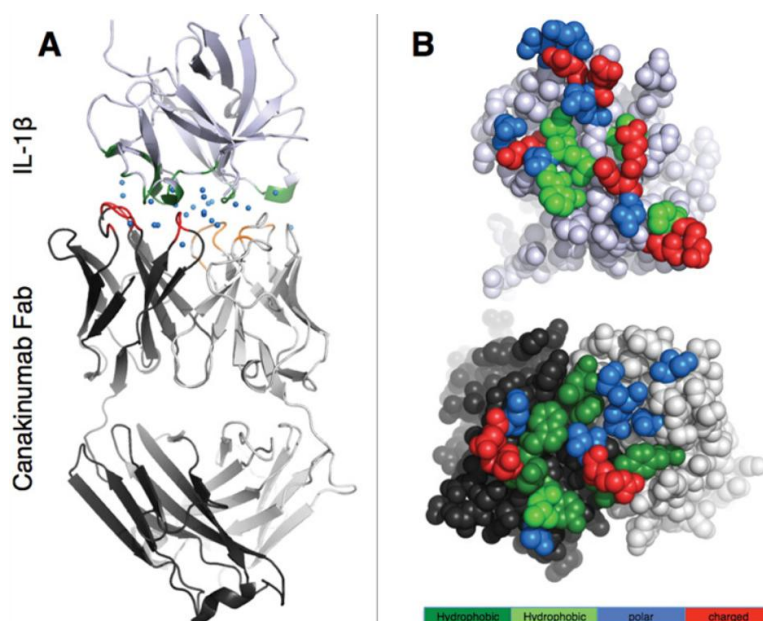
Canakinumab

Η φλεγμονή θεωρείται βασικός παράγοντας που συμβάλλει στην αυξημένη θνησιμότητα. Μέλη της οικογένειας των ιντερλευκινών όπως IL-1, έχουν γίνει ερευνητικός στόχος για μελέτες, με την Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes Study (CANTOS), να είναι αντικείμενο συζήτησης για αυτή την εργασία. Ειδικότερα εξετάστηκε ο πιθανός ρόλος της αναστολής της IL-1β στην καταστολή της εξέλιξης της αθηροσκλήρωσης. Συγκεκριμένα, η κανακινουμάμπη είναι ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα που δεσμεύει εκλεκτικά την IL-1β. Συνήθως χορηγείται με σύριγγα υποδορίως και αποβάλλεται μέσω ενδοκυτταρικού

καταβολισμού. Παρουσιάζει μεγάλο χρόνο ημιζώης, καθώς παραμένει στο σώμα και δρα για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ωστόσο, εμπεριστατωμένες μελέτες υποστηρίζουν ότι η IL-1β μεσολαβεί στην αθηροσκλήρωση με σπουδαίο τρόπο, αλλά τα αποτελέσματα πειραματικών μοντέλων μερικές φορές παρουσιάζουν διφορούμενα στοιχεία καθώς την μία φαίνεται να την εξελίσσει σαν νόσο και την άλλη να έχει προστατευτικό ρόλο στη σταθερότητα του ινώδους κελύφους της πλάκας (Dhorepatil et al.,2019).

Στην Ευρώπη, η κανακινουμάμπη έχει εγκριθεί για τη θεραπεία σπάνιων εμπύρετων συνδρόμων, της νεανικής ρευματοειδούς αρθρίτιδας και της οξείας ουρικής αρθρίτιδας. Από την άλλη στις Ηνωμένες Πολιτείες, ο FDA ενέκρινε τη χρήση της για περιοδικά εμπύρετα σύνδρομα και για την νεανική ρευματοειδή αρθρίτιδα, αλλά δεν επέτρεψε την εφαρμογή της στην ουρική αρθρίτιδα, καθώς τα δεδομένα δεν ήταν αρκετά και υπήρξαν ενστάσεις για πιθανό κίνδυνο λοίμωξης. Έχει φανεί σε μελέτες πως η κανακινουμάμπη μπορεί να μειώνει τους φλεγμονώδεις δείκτες αλλά χωρίς να μειώνει παράλληλα τα επίπεδα των λιπιδίων ή να επηρεάζει την συμπεριφορά των αιμοπεταλίων. Γι'αυτό και η χρήση της ως αντιφλεγμονώδους θεραπείας σε ασθενείς με αθηροσκλήρωση ακόμα βρίσκεται υπό διερεύνηση και δεν έχει λάβει ευρεία έγκριση για καρδιαγγειακή ένδειξη λόγω κόστους και παρενεργειών (Thompson et al.,2018).

Η κανακινουμάμπη αποτελείται από δύο βαριές αλυσίδες και δύο ελαφριές αλυσίδες αμινοξέων με τις βαριές να περιέχουν αλυσίδες ολιγοσακχάρων συνδεδεμένες με το αμινοξύ ασπαράγινη να βρίσκεται στη θέση 298. Αναγνωρίζει την IL-1β μέσω ενός καταλοίπου γλουταμινικού οξέος, Glu 64 (Εικόνα 14). Αυτό που συμβαίνει είναι ότι η κανακινουμάμπη εξουδετερώνει την IL-1β επειδή συνδέεται απευθείας πάνω της και σχηματίζει ένα σύμπλοκο, μη αφήνοντας τον υποδοχέα της IL-1β να αναγνωρίσει τη δομή της, με αποτέλεσμα να αναστείλει την φλεγμονώδη απόκριση (Capodanno& Angiolillo, 2018).

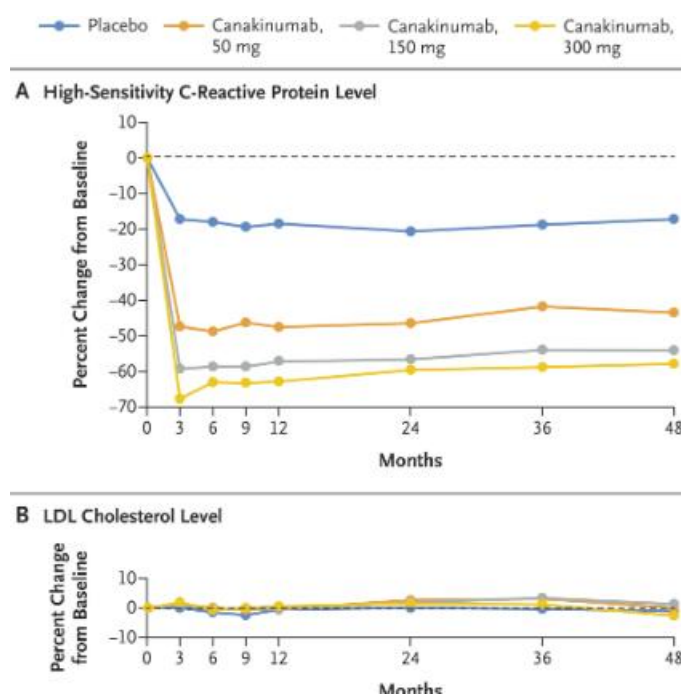


Εικόνα 14 : Απεικόνιση του Fab τμήματος του αντισώματος (τμήμα δέσμευσης αντιγόνου), το οποίο αποτελείται από βαριά και ελαφριά αλυσίδα και είναι υπεύθυνο για την αναγνώριση του στόχου

A) Το Fab της κανακινουμάμπης προσδένεται στην IL-1β σχηματίζοντας σύμπλοκο αντισώματος–αντιγόνου. Οι βαριές και ελαφριές αλυσίδες του Fab απεικονίζονται σε αποχρώσεις του γκρι, ενώ τα σημεία επαφής του αντισώματος επισημαίνονται με κόκκινο και πορτοκαλί. Τα αντίστοιχα αμινοξέα της IL-1β που αναγνωρίζονται από το αντίσωμα εμφανίζονται με πράσινο χρώμα. Μπλε σφαίρες αντιστοιχούν σε μόρια νερού που συμβάλλουν στη σταθεροποίηση της αλληλεπίδρασης στο σημείο επαφής. **B)** Χρωματική απεικόνιση των αμινοξέων του σημείου επαφής ανάλογα με τη χημική τους φύση, σκούρο πράσινο: μεγάλα υδρόφοβα/αρωματικά αμινοξέα, ανοιχτό πράσινο: μικρά υδρόφοβα, μπλε: πολικά (υδρόφιλα), κόκκινο: φορτισμένα αμινοξέα (Rondeau et al.,2015).

Η μελέτη Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes Study προορίστηκε να εξετάσει την υπόθεση ότι η φλεγμονή συμβάλλει στην αθηροθρόμβωση. Η έρευνα περιορίστηκε σε ασθενείς με ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου και η κανακινουμάμπη έδειξε μειωμένα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, CRP και της ιντερλευκίνης-6, IL-6, ανεξάρτητα όμως από τα επίπεδα των λιπιδίων (Εικόνα 15). Συγκεκριμένα, η επίδραση της κανακινουμάμπης στην καρδιαγγειακή μείωση συγκρίθηκε με τους αναστολείς PCSK9, αν και οι τελευταίοι συνδέονται με την μείωση της LDL-χοληστερόλης. Εν αντιθέσει, η θεραπεία με κανακινουμάμπη συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο θανατηφόρων λοιμώξεων και σήψης, καθώς και μείωση των αιμοπεταλίων χωρίς βέβαια την πρόκληση αιμορραγίας. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μείωση της θνησιμότητας από καρκίνο στατιστικά, γεγονός που ενισχύει τον ρόλο της IL-1 στην ανάπτυξη όγκων, όπως του καρκίνου του πνεύμονα. Εν ολίγοις, η μελέτη

CANTOS έδειξε ότι η κανακινουμάμπη μείωσε τη φλεγμονή και τα καρδιαγγειακά επεισόδια σε ασθενείς υψηλού κινδύνου χωρίς να επηρεάζει τη χοληστερόλη, επιβεβαιώνοντας ότι η φλεγμονή αποτελεί ανεξάρτητη διαδικασία στην αθηροσκληρωτική νόσο. Ουσιαστικά, όταν χορηγήθηκε η δόση των 50 mg, δεν παρατηρήθηκε κάποια αλλαγή σε σχέση με τα καρδιαγγειακά επεισόδια σε σύγκριση με το placebo. Αντιθέτως όταν αυξήθηκε η ποσότητα δόσης σε 150 mg, οι ασθενείς είχαν λιγότερα καρδιαγγειακά επεισόδια: περίπου κατά 15% μείωση στον κίνδυνο για έμφραγμα, εγκεφαλικό και καρδιαγγειακό θάνατο και κατά 17% μείωση για τα δευτερεύοντα περιστατικά. Από την άλλη μεριά κατά την χορήγηση της υψηλότερης δόσης των 300 mg δεν υπήρξε κάποια σημαντική διαφορά με την δόση των 150 mg, επομένως δεν μπορεί να θεωρηθεί ξεκάθαρα αποδοτική. Παρ' όλα αυτά, σε γενικό πλαίσιο φάνηκε μια συνολική εικόνα ότι η κανακινουμάμπη μπορεί να προσφέρει καρδιοπροστασία (Ridker et al.,2017).

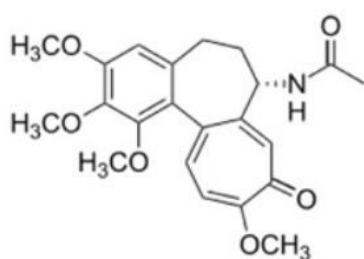


Εικόνα 15 : Μεταβολή των επιπέδων της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (hsCRP) και της LDL-χοληστερόλης κατά τη διάρκεια παρακολούθησης 48 μηνών, σε σύγκριση με την ομάδα placebo.

Για την δόση των 300 mg παρατηρείται πως η διαφορά είναι παρόμοια με αυτή των 150 mg, καθώς φαίνεται πως ανεξάρτητα της ποσότητας χορήγησης του canakinumab η LDL παραμένει σταθερή (Ridker et al., 2017).

Colchicine

Η κολχικίνη προέρχεται από τους βολβόμορφους κορμούς του φυτού *Colchicum autumnale*, ή αλλιώς φθινοπωρινού κρόκου (Εικόνα 16). Η ιστορία του και η χρήση του ως φυτικό φάρμακο φαίνεται να ξεκινά από την εποχή των Αιγυπτίων για τους πόνους των αρθρώσεων, καθώς αναφέρθηκε για πρώτη φορά στον πάπυρο Έμπερς, ένα αιγυπτιακό ιατρικό χειρόγραφο του 1500 π.Χ. Οι Γάλλοι χημικοί Πιερ-Ζοζέφ Πελετιέ και Ζοζέφ Μπιεναιμέ Καβεντού απομόνωσαν την δραστική ουσία κολχικίνη και χρησιμοποιείται μέχρι σήμερα ως καθαρό φυσικό φάρμακο (Imazio&Nidorf, 2021).



Colchicine



Colchicum autumnale

Εικόνα 16 : Απεικόνιση της κολχικίνης

Η κολχικίνη προέρχεται από τους βολβόμορφους κορμούς του φυτού
Colchicum autumnale

(Imazio&Nidorf, 2021)

Η κολχικίνη έγινε αντικείμενο θεραπείας για τον καρδιολογικό τομέα πριν από περίπου 40 χρόνια για την θεραπεία και πρόγνωση της υποτροπιάζουσας περικαρδίτιδας, καθώς και τα τελευταία 20 χρόνια χρησιμοποιείται για την δευτερογενή στεφανιαία αθηροσκλήρωση, αλλά και για την πρόληψη της κολπικής μαρμαρυγής υπό συγκεκριμένες προϋποθέσεις και της καρδιακής ανεπάρκειας (Imazio et al.,2020; Andreis et al.,2021). Η χορήγηση χαμηλής δόσης κολχικίνης με 0,5 mg μια φορά την ημέρα έχει εγκριθεί από τον FDA και προορίζεται για τη δευτερογενή πρόληψη εμφράγματος του μυοκαρδίου, εγκεφαλικού επεισοδίου και καρδιαγγειακού θανάτου σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Οι μελέτες LoDoCo2 και COLCOT απέδειξαν πως η μακροχρόνια χορήγηση χαμηλής δόσης κολχικίνης μείωσε με ασφάλεια τα καρδιαγγειακά επεισόδια κατά ποσοστό 31% σε ασθενείς με κλινικά σταθερή

αθηροσκλήρωση και κατά 23% αμέσως μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου (Nidorf et al.,2024).

Αξιζει να γίνει μία σύντομη αναφορά στους μικροσωληνίσκους (microtubules) που προκύπτουν από τον πολυμερισμό των ετεροδιμερών της τουμπουλίνης (tubulin), τα οποία αποτελούνται από τις υπομονάδες α και β τουμπουλίνης. Οι μικροσωληνίσκοι αποτελούν βασικά συστατικά του κυτταροσκελετού των ευκαρυωτικών κυττάρων, τα οποία αλληλεπιδρούν με την ακτίνη και τα ενδιάμεσα ινίδια. Οι μικροσωληνίσκοι βρίσκονται σε αφθονία στον καρδιακό ιστό, γεγονός που υποδηλώνει τον σημαντικό ρόλο τους στη φυσιολογία και την παθοφυσιολογία του καρδιαγγειακού συστήματος (D'Odorico et al.,2024). Η κολχικίνη είναι ένα λιπόφιλο μόριο, που αποτελείται από τρεις δακτύλιους: τον δακτύλιο A (τριμεθοξυφαινυλική ομάδα), τον δακτύλιο B και τον δακτύλιο C (μεθοξυτροπώνη). Οι δακτύλιοι A και C συμμετέχουν στη σύνδεση με την τουμπουλίνη ενώ ο δακτύλιος B σταθεροποιεί την δομή της και, κατ' επέκταση, την φυσιολογική της δράση (Gracheva et al.,2020). Η κύρια φαρμακολογική δράση της κολχικίνης είναι η παρεμπόδιση του πολυμερισμού της τουμπουλίνης, γεγονός που αποσταθεροποιεί τον κυτταρικό κυτταροσκελετό και επηρεάζει βασικές κυτταρικές λειτουργίες, όπως είναι η μίτωση και η φαγοκυττάρωση (Taylor, 1965).

Όσον αφορά τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές της, η κολχικίνη, ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις αλλάζει την κατανομή της E-σελεκτίνης και της L-σελεκτίνης στο ενδοθήλιο, με αποτέλεσμα την μείωση κινητικότητας των ουδετερόφιλων (λευκοκυττάρων) στις περιοχές φλεγμονής. Η δράση αυτή σχετίζεται με τη διαταραχή της αλληλεπίδρασης μεταξύ μικροσωληναρίων και ακτίνης, η οποία επηρεάζει τις μηχανικές ιδιότητες του κυτταροπλάσματος και οδηγεί σε αποπολυμερισμό των μικροσωληναρίων.. Επιπλέον, μία άλλη επίδραση της κολχικίνης είναι η απενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος NLRP3, γεγονός που μειώνει τα επίπεδα κασπάσης-1 και επομένως της ώριμης IL-1 β . Παράλληλα, η κολχικίνη δρα προστατευτικά στα ενδοθηλιακά κύτταρα καθώς φαίνεται να περιορίζει την έκφραση και τη δραστηριότητα του TF, συμβάλλοντας στη μείωση της θρομβογένεσης και του αγγειακού οξειδωτικού στρες. Τέλος, η κολχικίνη αναστέλλει τη σηματοδότηση μέσω του μονοπατιού NF- κ B, οδηγώντας σε μειωμένη παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL-6, TNF- α (Giubilato et al.,2025).

6.4 Θεραπείες βασισμένες σε RNA

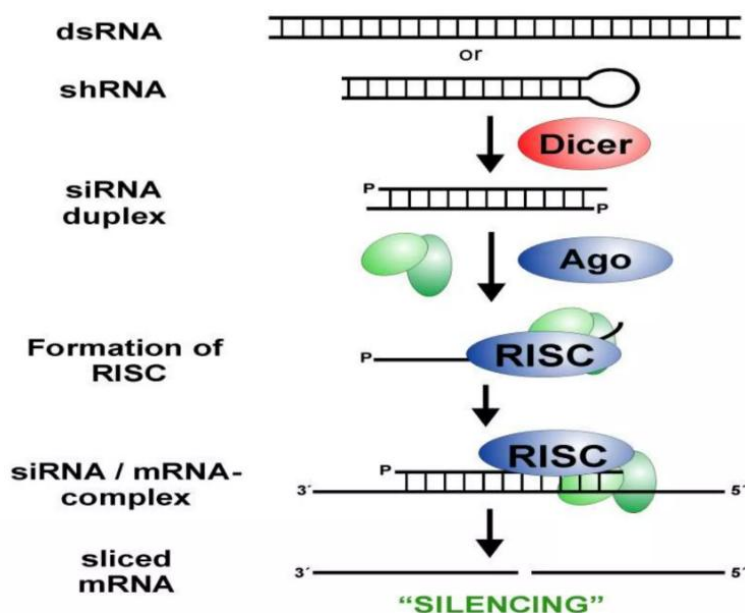
Οι θεραπείες που είναι βασισμένες σε RNA μόρια υπερτερούν σε σχέση με φαρμακευτικές προσεγγίσεις, όπως τα μικρομόρια και τα αντισώματα, λόγω της δυνατότητάς τους να στοχεύουν άμεσα αλληλουχίες DNA, RNA ή την έκφραση πρωτεϊνών με υψηλή εξειδίκευση, επιτρέποντας ταχεία σχεδίαση και παραγωγή, επιταχύνοντας τη μετάβαση από τη βασική έρευνα στην κλινική εφαρμογή (Chia et al.,2024).

Μιλώντας συγκεκριμένα για τα μη κωδικά RNA (non-coding RNAs, ncRNAs), παρουσιάζονται σε φυσιολογικές διεργασίες, όπως είναι ο μεταβολισμός και η ανοσία, και έχουν εφαρμοστεί σε θεραπεία και πρόληψη διαφόρων νοσημάτων, όπως σε ασθενείς με κληρονομική αμυλοείδωση που συνδέεται με την τρανσθυρετίνη και την ομόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία. Επιπροσθέτως, πρόσφατα έχουν δημιουργηθεί εμβόλια που είναι βασισμένα σε νουκλεϊκά οξέα κατά του καρκίνου και του ιού Zika, αλλά και εμβόλια νουκλεϊκών οξέων κατά της νόσου COVID-19 που έχουν νόμιμη κλινική εφαρμογή. Φυσικά αξίζει να αναφερθεί πως η ανάπτυξη και η εξέλιξη των καρδιαγγειακών νοσημάτων συνδέονται με τα ncRNAs, με σημαντικότερη πληροφορία για την δεδομένη εργασία να είναι η μεσολάβηση τους στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Τα ncRNAs κατηγοριοποιούνται σε μακρά ή κωδικοποιητικά RNA (lncRNAs), μήκους άνω των 200 νουκλεοτιδίων, και σε μικρά μη κωδικοποιητικά RNA (small ncRNAs), τα οποία περιλαμβάνουν τα miRNAs, siRNAs και άλλες υποκατηγορίες (Li et al.,2022).

Μοριακός μηχανισμός του siRNA

Τα μικρά παρεμβαλλόμενα RNA (siRNA) είναι μη κωδικοποιητικά μόρια RNA, με μήκος περίπου 20–25, που μεσολαβούν σημαντικά στην μετα-μεταγραφική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Το φαινόμενο της παρεμβολής RNA (RNA interference, RNAi) περιγράφηκε αρχικά στον νηματώδη *Caenorhabditis elegans* από τους Fire και Mello το 1998 και αργότερα τεκμηριώθηκε σε πολλούς ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Αυτή η σπουδαία ανακάλυψη συνέβαλε καθοριστικά στην κατανόηση της ρύθμισης των γονιδίων, ανοίγοντας δρόμους σε νέες έρευνες (CD Genomics, 2026). Ειδικότερα, τα siRNAs προκύπτουν από την επεξεργασία και διάσπαση μακρύτερων μορίων δίκλωνου RNA, με τη δράση του ενζύμου Dicer, μιας ενδονουκλεάσης της οικογένειας RNase III. Στα παραγόμενα siRNAs τα 5' άκρα είναι φωσφορυλιωμένα και τα 3' άκρα υδροξυλιωμένα, ενώ φέρουν και χαρακτηριστικές προεξοχές δύο νουκλεοτιδίων στο 3' άκρο κάθε κλώνου (Ranasinghe et al.,2023). Στη συνέχεια το siRNA συνδέεται με ένα πολυπρωτεϊνικό σύμπλοκο αποσιώπησης επαγόμενης από RNA (RNA-

induced silencing complex, RISC), μέσα στο οποίο οι δύο κλώνοι του siRNA διαχωρίζονται. Η επιλογή του λειτουργικού κλώνου εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοδυναμική σταθερότητα των άκρων του δίκλωνου siRNA. Συγκεκριμένα, ο κλώνος που έχει το λιγότερο σταθερό 5' άκρο είναι πιο πιθανό να επιλεγεί ως ο οδηγός κλώνος (guide strand), καθώς η μικρότερη θερμοδυναμική σταθερότητα στο 5' άκρο του ευνοεί την έναρξη της αποδιάταξης του δίκλωνου siRNA από το σημείο αυτό και την ενσωμάτωσή του στο RISC ως οδηγός κλώνος. Αυτή η θερμοδυναμική ασυμμετρία εξασφαλίζει ότι μόνο ένας κλώνος συμμετέχει ενεργά στη σίγαση γονιδίων, αποτρέποντας ανεπιθύμητες αλληλεπιδράσεις από τον επιβατικό κλώνο (passenger strand) (Kanastry et al., 2012). Συγκεκριμένα, ο οδηγός κλώνος συνδέεται με μια συγκεκριμένη αλληλουχία στόχο στο mRNA, οδηγώντας στην αποικοδόμησή του ή στην αναστολή της μετάφρασής του και κατά συνέπεια στη μείωση της σύνθεσης της αντίστοιχης πρωτεΐνης (Εικόνα 17). Ο άλλος κλώνος (νοηματικός, sense) αποικοδομείται κατά τη διάρκεια ή μετά την δημιουργία του RISC. Για τη βελτίωση της στοχευμένης μεταφοράς τους στο ήπαρ, πολλά θεραπευτικά siRNAs συνδέονται ομοιοπολικά με την N-ακετυλογαλακτοζαμίνη (N-acetylgalactosamine, GalNAc). Η GalNAc προσδένεται με υψηλή συγγένεια στον ηπατικό υποδοχέα ασιαλο-γλυκοπρωτεΐνης (Asialoglycoprotein Receptor, ASGPR). Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται ταχεία και εκλεκτική πρόσληψη των siRNA από το ήπαρ μέσω της κυκλοφορίας του αίματος ενώ τα επίπεδά τους στο πλάσμα μειώνονται σημαντικά εντός περίπου 48 ωρών από τη χορήγηση. Το φορτωμένο σύμπλοκο RISC παραμένει λειτουργικό για μεγάλο χρονικό διάστημα, επιτρέποντας παρατεταμένη φαρμακολογική δράση (Ranasinghe et al., 2023; Sarzani et al., 2023).



Εικόνα 17 : Σχηματική απεικόνιση του μοριακού μηχανισμού δράσης των siRNAs και της RNAi-διαμεσολαβούμενης γονιδιακής αποσιώπησης (RNA interference, RNAi)

Το siRNA παράγεται μέσω επεξεργασίας του δίκλωνου RNA από το ένζυμο Dicer και ενσωματώνεται στο σύμπλοκο RISC. Ο αντινοσηματικός κλώνος (antisense) κατευθύνει το RISC σε συμπληρωματικό mRNA-στόχο, οδηγώντας στην αποικοδόμησή του ή στην αναστολή της μετάφρασής του, ενώ ο νοσηματικός κλώνος (sense) αποικοδομείται (Ranasinghe et al.,2023 ;<https://tinyurl.com/52ev3868>)

Inclisiran

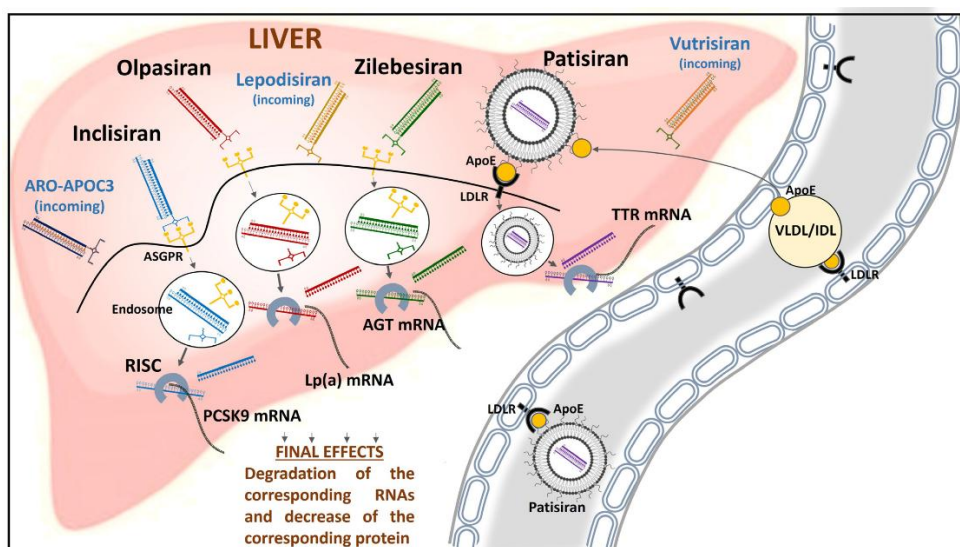
Η inclisiran είναι συνθετικό siRNA φάρμακο εγκεκριμένο από τον FDA και τον EMA για τη μείωση των επιπέδων της LDL-χοληστερόλης σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία και εφαρμόζεται κλινικά για να μειώσει τη σύνθεση της πρωτεΐνης PCSK9 μέσω στοχευμένης αποικοδόμησης του αντίστοιχου mRNA στα ηπατοκύτταρα (Novartis,2025). Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η πρωτεάση PCSK9 αυτή ρυθμίζει τον μεταβολισμό του υποδοχέα LDL (LDLR), προκαλώντας αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας LDL στην κυκλοφορία του αίματος, τα οποία σχετίζονται με την ανάπτυξη αθηροσκληρωτικής καρδιαγγειακής νόσου. Ειδικότερα, οι δύο κλώνοι του τροποποιημένου siRNA είναι συνδεδεμένοι ομοιοπολικά με την Ν-ακετυλογαλακτοζαμίνη (N-acetylgalactosamine, GalNAc), δίνοντας την δυνατότητα στην inclisiran να απορροφάται σύντομα από τον ηπατικό υποδοχέα ASGPR μετά από υποδόρια ένεση (Εικόνα 18) . Αφού εισέλθει ενδοσωμικά στα ηπατοκύτταρα, η inclisiran συνδέεται με το σύμπλοκο RISC και

οδηγεί σε αποικοδόμηση του mRNA της PCSK9, αναστέλλοντας έτσι τη σύνθεση και την έκκρισή της (Lamb, 2021). Ως αποτέλεσμα, τα επίπεδα της κυκλοφορούσας PCSK9 μειώνονται κατά μέσο όρο κατά περίπου 70% μετά τη χορήγηση του φαρμάκου (Fitzgerald et al., 2014).

Σε μελέτη των Fitzgerald et al. (2016) αξιολογήθηκαν η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της inclisiran μετά από υποδόρια χορήγηση διαφορετικών δόσεων του φαρμάκου σε υγιείς εθελοντές. χορηγήθηκαν διαφορετικές ποσότητες inclisiran με υποδόρια ένεση και placebo σε ομάδες 4-8 ατόμων, σε αναλογία 3 προς 1. Κάποιες ομάδες έλαβαν εφάπαξ δόσεις, 25, 100, 300, 500 ή 800 mg αντίστοιχα και κάποιες άλλες έλαβαν πολλαπλές δόσεις σύμφωνα με τα ακόλουθα σχήματα::

- 125 mg εβδομαδιαίως για 4 φορές
- 250 mg ανά δύο εβδομάδες για 2 φορές
- 300 ή 500 mg μηνιαίως για 2 φορές

Οι ανεπιθύμητες παρενέργειες, όπως βήχας, ρινοφαρυγγίτιδα και διάρροια, ήταν ήπιες χωρίς να επηρεάζουν τα αποτελέσματα. Στις ομάδες που έλαβαν εφάπαξ δόσεις ≥ 300 mg, η PCSK9 μειώθηκε κατά 74,5% μετά από τρεις μήνες περίπου, ενώ με 100mg και άνω η LDL μειώθηκε κατά 50,6%. Ενώ, για τις πολλαπλές δόσεις η μείωση των PCSK9 και της LDL ήταν έως 83.8% και 59.7% αντίστοιχα (Fitzgerald et al., 2017). Αξίζει να αναφερθεί πως τα επιπλέον φάρμακα της Εικόνας 22 βρίσκονται ακόμα σε προχωρημένες κλινικές δοκιμές χωρίς να είναι ακόμα εγκεκριμένα από δημόσιους οργανισμούς υγείας για ευρεία χρήση (βλ. Παράρτημα Α) (Sarzani et al., 2024).



Εικόνα 18 : Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού δράσης των θεραπευτικών siRNA μετά από υποδόρια χορήγηση

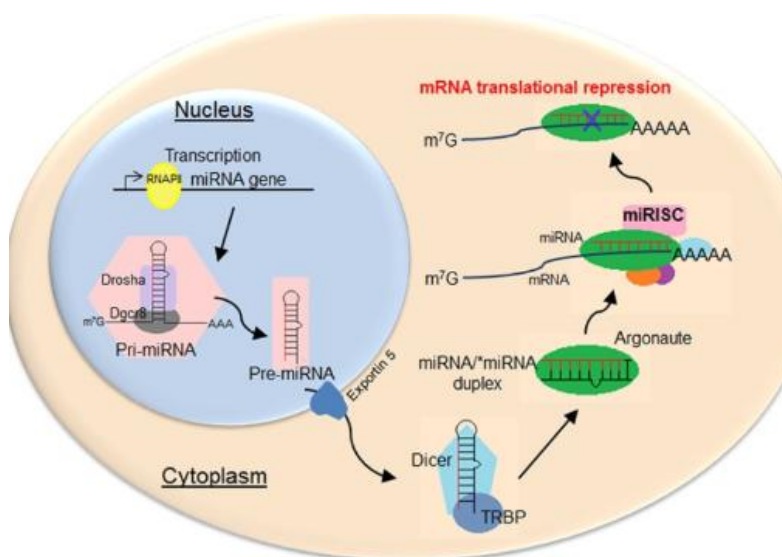
Η inclisiran, η olpasiran, η lepodisiran και η zilebesiran χορηγούνται με υποδόρια ένεση και είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένες με έναν σε μορφή τρίαυνας φορέα της GalNAc που συνδέεται με υψηλή συγγένεια στον υποδοχέα ASGPR. Μόλις εισέλθουν στο κύτταρο, τα siRNA συνδέονται με ένα εξειδικευμένο πρωτεϊνικό σύμπλοκο και σχηματίζουν το σύμπλεγμα RISC. Αναγνωρίζουν συγκεκριμένες αλληλουχίες mRNA και εμποδίζουν την μετάφραση και τη σύνθεση της αντίστοιχης πρωτεΐνης. Βέβαια, η patisiran χορηγείται με ενδοφλέβια ένεση και είναι διαμορφωμένη ως λιπιδικό νανοσωματίδιο το οποίο αποτελείται από έναν υδρόφοβο πυρήνα με ανεστραμμένα μικκύλια λιπιδίων και εξωτερική επικάλυψη από λιπίδια PEG και χοληστερόλη. Κατά την κυκλοφορία, το νανοσωματίδιο προσλαμβάνει απολιποπρωτεΐνη E (ApoE) από τις VLDL και LDL. Το σύμπλοκο patisiran–ApoE συνδέεται με τον υποδοχέα LDLR στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων και ακολουθεί η ενδοκυττάρωση όπως και με τα υπόλοιπα siRNA (Sarzani et al., 2024) .

Μοριακός μηχανισμός του miRNA

Τα miRNA είναι μια ευρεία κατηγορία μονόκλωνων και μη κωδικοποιητικών RNA, με μήκος περίπου 22 νουκλεοτιδίων. Ελέγχουν την έκφραση των γονιδίων σε μετα-μεταγραφικό πλαίσιο, είτε με αναστολή της μετάφρασης της πρωτεΐνης από το αγγελιαφόρο mRNA, είτε οδηγώντας στην αποικοδόμησή του. Η λειτουργία τους βασίζεται στην άμεση σύζευξη βάσεων με την μη μεταφραζόμενη περιοχή στο 3' άκρο (3' UTR) των αλληλουχιών-στόχων mRNA. Ο κυριότερος ρόλος τους είναι ρυθμιστικός με πολλές λειτουργίες τους, όπως την κυτταρική ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό, την γήρανση, την απόπτωση και την αγγειογένεση.

Ωστόσο, η δυσλειτουργία των miRNA σχετίζεται στενά με διάφορες ανθρώπινες ασθένειες, όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης, η παχυσαρκία, η αθηροσκλήρωση και τα καρδιαγγειακά νοσήματα, γι' αυτό και θεωρούνται σπουδαίοι βιοδείκτες. Όμως σε αυτή την εργασία θα γίνει εστίαση στον θεραπευτικό τους ρόλο (Churon et al., 2019).

Αρχικά, πραγματοποιείται η μεταγραφή του προδρόμου pri-miRNA, με τη βοήθεια της RNA πολυμεράσης II. Το προκύπτον μόριο έχει δομή τύπου «φουρκέτας» (hairpin), και περιέχει έναν βρόχο στο ένα άκρο. Το πρώτο ένζυμο που δρα ονομάζεται Drosha και μετατρέπει το pri-miRNA του πυρήνα σε μια μικρότερη φουρκέτα μήκους περίπου 70 νουκλεοτιδίων, δηλαδή το πρόδρομο pre-miRNA. Στη συνέχεια, το τελευταίο μεταναστεύει στο κυτταρόπλασμα χάρη στην Exportin-5, όπου το σύμπλοκο Ago2/Dicer κόβει το πρόδρομο σε βραχέα δίκλινα μόρια miRNA. Στη συνέχεια, ο ένας από τους δύο κλώνους, ο οδηγός (guide strand), συνδέεται στο σύμπλοκο αποσιώπησης RISC, ενώ ο άλλος κλώνος (passenger strand), αποικοδομείται ή υφίσταται ως λειτουργικός σε κάποιες περιπτώσεις (Εικόνα 19). Στις περισσότερες περιπτώσεις, ο κλώνος που διαθέτει λιγότερο σταθερό θερμοδυναμικά 5' άκρο πιθανότατα επιλέγεται ως οδηγός κλώνος (Condrat et al., 2020). Στη συνέχεια, ο οδηγός κλώνος φορτώνεται στην πρωτεΐνη Argonaute (AGO), η οποία αποτελεί το καταλυτικό συστατικό του συμπλόκου RISC. Η αλληλουχία seed, μια περιοχή 6–8 νουκλεοτιδίων στο 5' άκρο του miRNA, είναι υπεύθυνη για την αναγνώριση και τη σύνδεση με το συμπληρωματικό mRNA-στόχο. Αυτό το σύμπλοκο χρειάζεται πρωτεΐνες βοηθούς όπως η GW182. Οι δομικές περιοχές της GW182 συνδέονται στο AGO και σταθεροποιούν το mRNA όπου στρατολογούνται και άλλα ένζυμα. Η σύνδεση με το mRNA οδηγεί σε καταστολή της παραγωγής πρωτεΐνης. Μετά, οι τύποι των πρωτεϊνών που δεσμεύουν RNA (RBPs) στρατολογούνται στο σύμπλοκο RISC και αποικοδομούν το mRNA (Nalbant et al., 2024).



Εικόνα 19 : Σχηματική απεικόνιση της βιογένεσης των miRNAs από το πρόδρομο μόριο pri-miRNA έως τον σχηματισμό του ώριμου miRNA

(<https://tinyurl.com/bdfnspwc>)

Τα miRNA προτάθηκαν ως νέα θεραπευτική στρατηγική για την αθηροσκληρωτική νόσο. Πρόκειται για αποτελεσματική αντιμετώπιση της δυσλειτουργικής γονιδιακής έκφρασης και αγγειακής λειτουργίας με κυρίως τα αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια (anti-miRs), τα μιμητικά και οι αναστολείς των miRNAs, να είναι οι δυνητικοί υποψήφιοι για την μείωση του κινδύνου της αθηροσκλήρωσης (Churon et al.,2019).

Πρέπει να αναφερθεί πως δεν έχουν ακόμη εγκριθεί φάρμακα βασισμένα σε microRNA θεραπεία της αθηροσκλήρωσης, παρ'όλα αυτά όμως αρκετά βρίσκονται σε στάδιο κλινικής ανάπτυξης και κλινικών δοκιμών. Όπως είναι τα εξής :

miR-33

Το miR-33 διακόπτει ένα σύμπλεγμα γονιδίων που ρυθμίζουν τον κυτταρικό μεταβολισμό και την παραγωγή χοληστερόλης από τα μακροφάγα. Το miR-33 αποτελείται από τις ισομορφές miR-33a και miR-33b. Ο ρόλος του στον μεταβολισμό των στερολών ήταν ρυθμιστικός για την έκφραση των μεταφορέων χοληστερόλης (ABCA1 και ABCG1) σε μακροφάγα και κύτταρα του ήπατος σε ποντίκια (Karunakaran et al.,2015). Διαπιστώθηκε πως η

υπερέκφραση του miR-33 διακόπτει την έκφραση των γονιδίων ABCA1 και ABCG1 στο ήπαρ και μειώνει την υψηλή πυκνότητα λιποπρωτεΐνης HDL στο αίμα των ποντικών. Ωστόσο, παρατηρήθηκε πως η μείωση της έκφρασης του miR-33 με τη χρήση αντινοσηματικών ολιγονουκλεοτιδίων (ASO-33) αύξησε την έκφραση των γονιδίων ABCA1 και ABCG1 καθώς και των επιπέδων HDL στην κυκλοφορία. Η χρήση ουσιών που μπλοκάρουν το miR-33 βοηθά τα κύτταρα, ιδιαίτερα τα μακροφάγα να απομακρύνουν πιο αποδοτικά τη χοληστερόλη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μειώνεται η εναπόθεση λίπους στα αγγεία και να περιορίζεται η εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Έτσι, το miR-33 αποτελεί έναν πιθανό θεραπευτικό στόχο για την αντιμετώπιση καρδιαγγειακών νοσημάτων (Rayner et al., 2010).

MiR-148a και miR-128-1

Το miR-148a αναδεικνύεται ως ένας σημαντικός πιθανός θεραπευτικός στόχος, καθώς συμμετέχει ενεργά στη ρύθμιση του μεταβολισμού των λιποπρωτεϊνών στο αίμα. Δρα επηρεάζοντας άμεσα την 3' UTR των γονιδίων που σχετίζονται με τον υποδοχέα LDLR και το ABCA1, ενώ παράλληλα φαίνεται να συντονίζει ένα ευρύτερο δίκτυο παραγόντων που εμπλέκονται στον λιπιδικό μεταβολισμό (Goedeke et al., 2015). Η καταστολή της δράσης του έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει την έκφραση του LDLR στο ήπαρ, οδηγώντας σε μείωση των επιπέδων της LDL-χοληστερόλης στο πλάσμα σε πειραματικά μοντέλα. Από την άλλη πλευρά, το miR-128-1 διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη διατήρηση της ισορροπίας της χοληστερόλης, της ενεργειακής ομοιόστασης και του μεταβολισμού των λιπιδίων, ενώ συνδέεται και με μηχανισμούς απόπτωσης. Η υπερέκφραση του miR-128-1 έχει ως αποτέλεσμα τον περιορισμό της εκροής χοληστερόλης, μέσω αναστολής βασικών γονιδίων όπως τα ABCA1 και ABCG1. Επιπλέον, η αναστολή των miR-148a και miR-128-1 φαίνεται να έχει ευεργετικές μεταβολικές επιδράσεις, καθώς ενισχύει την απομάκρυνση της γλυκόζης και αυξάνει την ευαισθησία του ήπατος στην ινσουλίνη. Ιδιαίτερα για το miR-128-1, έχει φανεί ότι συμβάλλει και στη ρύθμιση της έκφρασης του ABCA1 στα μακροφάγα, διευκολύνοντας έτσι την απομάκρυνση της χοληστερόλης από αυτά τα κύτταρα (Skuratovskaia et al., 2019). Συνοψίζοντας, η στοχευμένη αναστολή των miR-148a και miR-128-1 προβάλλει ως μια υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση για την αντιμετώπιση διαταραχών όπως η δυσλιπιδαιμία, η αθηροσκλήρωση, η παχυσαρκία και τα καρδιαγγειακά νοσήματα.

Συνεχίζοντας, πιθανά microRNA που ερευνώνται είναι τα αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια (anti-miRs), τα μιμητικά (microRNA mimics) και οι αναστολείς microRNA (miRNA

sponges/inhibitors) (βλ. Παράρτημα Β). Συγκεκριμένα, τα anti-miRs είναι συμπληρωματικές ελληλουχίες προς την αντίστροφη αλληλουχία των ώριμων microRNAs και τα αναστέλλουν μέσω στερεοχημικής παρεμπόδισης, όπως τα miR-494, miR-33, miR-712 και miR-114. Από την άλλη, τα microRNA mimics είναι συνθετικά μόρια που μιμούνται τη δράση ενδογενών miRNAs, αποκαθιστώντας τη λειτουργία τους όταν αυτή έχει μειωθεί ή χαθεί καταστέλλοντας τη μετάφραση των γονιδίων-στόχων τους, όπως τα miR-210, miR-125a-5p, miR-29a-3p, miR-115 και miR-181a-3/5p. Τέλος, οι αναστολείς miRNA περιέχουν την αντίστροφη συμπληρωματική αλυσίδα του miRNA στόχου, επηρεάζοντας τη φυσιολογική λειτουργία των αναστολέων αυτών μέσω δέσμευσης, όπως τα miR-29 και miR-24-3p (Li et al.,2023).

6.5 Πλεονεκτήματα των θεραπειών βασισμένων σε RNA

- *Στόχευση μη προσεγγίσιμων θεραπευτικών στόχων*

Ένα από τα σπουδαιότερα πλεονεκτήματα των θεραπειών που βασίζονται στο RNA είναι η ικανότητα των φαρμάκων αυτής της κατηγορίας να στοχεύουν σε σχεδόν κάθε γενετικό στοιχείο του κυττάρου. Μάλιστα, οι πρωτεΐνες που βρίσκονται στη μεμβράνη είναι πιο δύσκολο να έρθουν σε επαφή με τα κλασικά μικρά μόρια και αντισώματα, λόγω της ανέφικτης εισαγωγής τους στο κυτταρόπλασμα. Αντίθετα, οι RNA-βασιζόμενες προσεγγίσεις είναι πιο ιδανικές καταστολή ενδοκυττάρων μορίων, καθώς παρεμποδίζουν εκ των προτέρων τη μετάφραση του mRNA, προτού παραχθεί η λειτουργική πρωτεΐνη, ενισχύοντας έτσι τη θεραπευτική αποδοτικότητα.

- *Γρήγορη Παραγωγή*

Η συμβατική διαδικασία για την ανακάλυψη και παραγωγή νέων φαρμάκων που βασίζονται σε μικρά μόρια ή αντισώματα είναι εξαιρετικά χρονοβόρα και μπορεί να διαρκέσει αρκετά χρόνια. Ωστόσο, όταν η χημική δομή του RNA και το σύστημα χορήγησής του στον οργανισμό έχουν βελτιστοποιηθεί, τα RNA-βασιζόμενα φάρμακα μπορούν να αναπτυχθούν σε σύντομο χρονικό διάστημα για κλινικές δοκιμές. Η στρατηγική αυτή αναδείχθηκε κατά την πανδημία της COVID-19, η οποία περιορίστηκε σημαντικά λόγω της ταχείας ανάπτυξης των εμβολίων mRNA (BioNTech/Pfizer και η Moderna) τα οποία εφαρμόστηκαν πειραματικά σε ζώα και σε κλινικές δοκιμές σε σύντομο χρονικό διάστημα από την αρχική ταυτοποίηση της αλληλουχίας του ιού.

- **Παρατεταμένη Διάρκεια Δράσης**

Τα θεραπευτικά μόρια RNA προστατεύονται από την ενδογενή αποικοδόμηση των νουκλεασών όταν ενσωματώνονται σε ειδικούς φορείς χορήγησης όπως τα λιπιδικά λιπιδικά νανοσωματίδια, γεγονός που παρατείνει σημαντικά τον χρόνο ημιζωής τους στον οργανισμό. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το inclisiran, ένα συνθετικό siRNA που στοχεύει το mRNA της πρωτεΐνης PCSK9. Αξιοσημείωτο είναι ότι η βιολογική δράση του inclisiran διατηρείται πάνω από έξι μήνες μετά από μία μόνο χορήγηση, γεγονός που οδηγεί σε μειωμένη συχνότητα της κατά μεσοδιαστήματα χορήγησης, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την τοξικότητα σε σύγκριση με φάρμακα μικρών μορίων, των οποίων η αποτελεσματικότητα μειώνεται κατά το ήμισυ μέσα σε λίγες ημέρες (Kim, 2022).

6.6 Μελλοντικές προκλήσεις

Προοπτικές βασισμένες στην νανοτεχνολογία

Η αθηροσκλήρωση εξακολουθεί να αποτελεί μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας παγκοσμίως, το οποίο ευθύνεται για τον θάνατο εκατομμυρίων ανθρώπων ετησίως. Παρόλο που οι καθιερωμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις, όπως είναι αλλαγές στον τρόπο ζωής, της χορήγησης φαρμάκου αλλά και χειρουργικών παρεμβάσεων, παρουσιάζουν σημαντική αποτελεσματικότητα, συχνά αδυνατούν να αντιμετωπίσουν πλήρως τα απρόβλεπτα αίτια και την περίπλοκη παθοφυσιολογία της νόσου. Στην εποχή μας, τα συστήματα χορήγησης φαρμάκων βασισμένα στη νανοτεχνολογία (Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems, NDDS) αναδεικνύονται ως μια καινοτόμος θεραπευτική προσέγγιση, με προοπτική να αλλάξουν ουσιαστικά τη διαχείριση της αθηροσκλήρωσης, επιτρέποντας ακριβέστερη στόχευση, αυξημένη θεραπευτική αποτελεσματικότητα και εξατομικευμένη χορήγηση φαρμάκων.

Οι επιστημονικές έρευνες έχουν οδηγήσει στην ανάπτυξη ποικίλων προσεγγίσεων για τον σχεδιασμό και την εφαρμογή των NDDS. Μία από τις κυριότερες προσεγγίσεις βασίζεται στη στόχευση συγκεκριμένων βιοδεικτών που εκφράζονται επιλεκτικά από κύτταρα που συμμετέχουν ενεργά στην αθηροσκλήρωση, όπως τα μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα (VSMCs). Με αυτόν τον τρόπο καθίσταται δυνατή η πιο εκλεκτική και αποτελεσματική στόχευση θεραπευτικών παραγόντων στις περιοχές της βλάβης. Παράλληλα, τα νανοσωματίδια μπορούν επίσης να σχεδιαστούν έτσι ώστε να ανταποκρίνονται στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του μικροπεριβάλλοντος της

αθηροσκληρωτικής πλάκας, όπως η αυξημένη παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου, ROS και το χαμηλό pH, διευκολύνοντας τη στοχευμένη απελευθέρωση του φαρμάκου στην πλάκα. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται μεγαλύτερη θεραπευτική ακρίβεια και ελαχιστοποιούνται οι ανεπιθύμητες επιδράσεις (πχ. τοξικότητα) σε υγιείς ιστούς. Επιπλέον, εφαρμόζονται συχνά επιφανειακές τροποποιήσεις των νανοσωματιδίων με φυσικά πολυμερή, όπως το υαλουρονικό οξύ και η αλβουμίνη, καθώς και με πολυαιθυλενογλυκόλη (Polyethylene Glycol, PEG), με σκοπό την αύξηση της σταθερότητάς τους και την επιμήκυνση του χρόνου κυκλοφορίας τους στο αίμα μέχρι να φτάνουν την επιλεκτική τους μεταφορά στις αθηροσκληρωτικές βλάβες (Zhang et al.,2025).

Πρόσφατες έρευνες έχουν σηματοδοτήσει την ικανότητα της νανοϊατρικής να παρεμβαίνει ταυτόχρονα σε πολλαπλά παθολογικά μονοπάτια στην αθηροσκλήρωση. Για παράδειγμα, έχει προταθεί η χρήση των σεληνοπεπτιδίων τα οποία παρεμποδίζουν την προσκόλληση μονοκυττάρων, όπως VCAM-1, και ελαττώνουν τη φλεγμονή που προκαλείται από τα μακροφάγα μέσω της απομάκρυνσης ROS και της στοχευμένης πρόσληψης αντιφλεγμονωδών ουσιών. Με αυτόν τον τρόπο, επιδείχθηκε υψηλή αποτελεσματικότητα στην αναστολή της εξέλιξης της αθηρωματικής πλάκας με τη χορήγηση της σιμβαστατίνης σε πειράματα ποντικών (Luo et al.,2024). Επιπρόσθετα, έχει αναπτυχθεί ένα σύστημα νανοσωματιδίων διοξειδίου του μαγγανίου, MnO_2 , ενισχυμένο με μεταλλο-οργανικά κλουβιά (Metal Organic Cages, MOC), το οποίο διευκολύνει τη μεταφορά του υδρόθειου και οξυγόνου στις αθηρωματικές πλάκες, γεγονός που δεν επιτρέπει την εμφάνιση της τοπικής φλεγμονής, αποτρέπει τον σχηματισμό αφρωδών κυττάρων και προάγει τη σταθερότητα της πλάκας (Li et al.,2024).

Παρά τις σημαντικές προοπτικές της νανοτεχνολογίας, η επιτυχής μετάβαση στην κλινική πράξη προϋποθέτει την αντιμετώπιση κρίσιμων προκλήσεων. Απαιτείται η περαιτέρω βελτίωση της ακρίβειας στόχευσης και η διασφάλιση μακροχρόνιας βιολογικής συμβατότητας και ασφάλειας των νανοσωματιδίων, καθώς και η αποφυγή της πρόωρης απομάκρυνσής τους από τον οργανισμό, ενώ σημαντική κρίνεται και η δυνατότητα παραγωγής τους σε μεγάλη κλίμακα χωρίς την αλλοίωση των χαρακτηριστικών τους. Τα διαφορετικά είδη νανοσωματιδίων, όπως πολυμερικών νανοσωματιδίων, βιομιμητικών φορέων και λιποσωμάτων αναμένεται να προσφέρει στο μέλλον εξαιρετικά στοχευμένες και εξατομικευμένες θεραπευτικές επιλογές για κάθε ασθενή (Karakasis et al., 2025).

Εναλλακτικές μελλοντικές προσεγγίσεις

Πολλά αντιφλεγμονώδη φάρμακα, όπως οι στατίνες και τα αντιθρομβωτικά, χρησιμοποιούνται ευρέως στην κλινική πράξη. Ωστόσο είναι αναγκαία η ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων που να στοχεύουν άμεσα στον υπολειπόμενο φλεγμονώδη κίνδυνο (residual inflammatory risk) καθώς οι υφιστάμενες θεραπείες περιορίζονται στο να επιβραδύνουν την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Σύμφωνα με την μελέτη CANTOS αναδεικνύονται εναλλακτικές θεραπευτικές προσεγγίσεις που στοχεύουν στην αντιμετώπιση της φλεγμονής, οι οποίες θεωρούνται ιδιαίτερα υποσχόμενες για μελλοντική έρευνα. Παράδειγμα αποτελεί η άμεση αναστολή της λειτουργίας του φλεγμονοσώματος NLRP3 ή ακόμη και η τροποποίηση του καταρράκτη σηματοδότησης της IL-6. Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί ότι η αργλαβίνη (arglabin), μια φυσική ένωση με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες παρεμποδίζει την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης σε ποντίκια υψηλού αθηροσκληρωτικού κινδύνου, αναστέλλοντας την ενεργοποίηση του φλεγμονοσώματος NLRP3 στα μακροφάγα. Επιπλέον, φάρμακα όπως η κολχικίνη και η ατορβαστατίνη στοχεύουν το NLRP3 και έχουν χαρακτηριστεί ως πιθανές θεραπευτικές λύσεις για τον περιορισμό της αθηροσκλήρωσης (Minelli et al., 2020).

7 Συζήτηση

Η αθηροσκλήρωση αποτελεί έναν σημαντικό αιτιολογικό παράγοντα νοσηρότητας και θνησιμότητας σε παγκόσμιο επίπεδο. Παρά τη σημαντική πρόοδο που έχει σημειωθεί τόσο στην πρόληψη όσο και στη θεραπευτική αντιμετώπιση της νόσου, εξακολουθεί να αποτελεί σημαντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας. Τα ευρήματα της παρούσας ανασκόπησης υπογραμμίζουν τη σημαντική συμβολή των βιοδεικτών στην κατανόηση και διαχείριση της αθηροσκλήρωσης, ενώ παράλληλα αναδεικνύουν τις προοπτικές που διαμορφώνουν οι RNA-βασιζόμενες θεραπείες και άλλες καινοτόμες θεραπευτικές στρατηγικές για την αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση της νόσου. Στην αθηροσκλήρωση η VCAM χαρακτηρίζεται κυρίως ως ένας διαγνωστικός μοριακός δείκτης και στόχος απεικόνισης της αγγειακής φλεγμονής και της πρώιμης αθηροσκλήρωσης. Παρουσιάζει δυνατότητες ως δείκτης παρακολούθησης της ανταπόκρισης στη θεραπεία, καθώς διαφορές στην έκφρασή του μπορούν να ανιχνευτούν μετά από φαρμακευτική παρέμβαση. Αντίθετα, η προγνωστική και προβλεπτική της αξία δεν έχει ακόμη επιβεβαιωθεί κλινικά (Thayse et al., 2020). Το ICAM-1 αποτελεί έναν δυνητικά προβλεπτικό και προγνωστικό βιοδείκτη της αθηροσκλήρωσης, καθώς τα αυξημένα επίπεδα της διαλυτής μορφής του σχετίζονται με την παρουσία και την εξέλιξη της νόσου. Παράλληλα, λόγω της συμμετοχής του στους μηχανισμούς φλεγμονής διερευνάται ως πιθανός θεραπευτικός στόχος. Παρ' όλα αυτά, η χρήση του παραμένει κυρίως σε ερευνητικό επίπεδο, καθώς δεν έχει ακόμη εφαρμοστεί ως εξέταση ρουτίνας σε κλινικό επίπεδο και ούτε έχει καθιερωθεί ως εγκεκριμένος θεραπευτικός στόχος στην αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσο (Hoke et al., 2015). Από την άλλη, η LDL-C είναι ο σπουδαιότερος βιοδείκτης καρδιαγγειακού κινδύνου που εφαρμόζεται κλινικά. Τα αυξημένα επίπεδά της εμπλέκονται στην ανάπτυξη και παθογένεια των αθηροσκληρωτικών πλακών, γεγονός που την καθιστά θεμελιώδη θεραπευτικό στόχο στην πρόληψη και μείωση του αθηροσκληρωτικού καρδιαγγειακού κινδύνου. Παρ' όλα αυτά η apoB και η non-HDL χοληστερόλη θεωρούνται από πολλούς ερευνητές πληρέστεροι δείκτες του συνολικού αριθμού αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών. Ένας ακόμη καθιερωμένος και σημαντικός βιοδείκτης είναι η CRP, και ειδικότερα η υψηλής ευαισθησίας CRP (hs-CRP) που χρησιμοποιούνται ευρέως στην κλινική πράξη ως δείκτης φλεγμονής και καρδιαγγειακού κινδύνου με αποδεδειγμένη προγνωστική αξία στην αθηροσκλήρωση. Ωστόσο, οι θεραπευτικές προσεγγίσεις που στοχεύουν άμεσα τη CRP, όπως τα αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια (ASOs), παραμένουν κυρίως σε προκλινικό στάδιο (Kim et al., 2024).

Μάλιστα, όπως προαναφέρθηκε, η CRP έχει δείχθει ότι μπορεί να προάγει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία μέσω αναστολής της έκφρασης και της δραστηριότητας της ενδοθηλιακής συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου (eNOS) (Hein et al., 2009). Από την άλλη μεριά, η έννοια του υπολειπόμενου φλεγμονώδους κινδύνου, RIR αποτελεί μία από τις σημαντικότερες σύγχρονες εξελίξεις στην καρδιαγγειακή πρόληψη. Η hs-CRP χρησιμοποιείται ως ο κυριότερος βιοδείκτης για την εκτίμησή του, επιτρέποντας την αναγνώριση ασθενών που εξακολουθούν να διατρέχουν αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο παρά την αποτελεσματική μείωση της LDL-χοληστερόλης. Σαφώς, εξακολουθεί να διερευνάται εάν η CRP αποτελεί άμεσο αιτιολογικό παράγοντα ή κυρίως δείκτη της υποκείμενης φλεγμονώδους διεργασίας. Αναφορικά με την IL-1β, πειραματικά δεδομένα ανέδειξαν τον καθοριστικό της ρόλο στην αθηροσκλήρωση, ενώ γενετικές και κλινικές μελέτες τεκμηρίωσαν τον ρόλο της στην παθογένεια της αθηροθρόμβωσης. Η ανάπτυξη της κανακινουμάμπης και τα αποτελέσματα της μελέτης CANTOS απέδειξαν ότι η αναστολή της IL-1β έχει συσχετιστεί με τη μείωση του υπολειπόμενου φλεγμονώδους κινδύνου και βελτίωση των καρδιαγγειακών επεισοδίων, αναδεικνύοντας τη σημασία της ως θεραπευτικού στόχου στην αθηροσκλήρωση (Silvain et al., 2020). Επιπλέον, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η υψηλή προγνωστική αξία που παρουσιάζει η απολιποπρωτεΐνη apoB και η συσχέτισή της με την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης. Η κλινική της σημασία επιβεβαιώνει την χρησιμότητά της ως ανώτερο βιοδείκτη εκτίμησης του αθηρογόνου κινδύνου σε σχέση με την LDL-C. Τέλος, η PCSK9 έχει αναδειχθεί ως σπουδαίος ρυθμιστής μεταβολισμού της LDL – χοληστερόλης. Παρά την υφιστάμενη ασάφεια του ρόλου της στην παθογένεια, η κλινική αποτελεσματικότητα των αναστολέων της PCSK9 επιβεβαιώνει την ανάδειξή της σε επιτυχημένο θεραπευτικό στόχο στην αντιμετώπιση της αθηροσκληρωτικής νόσου.

Η πρόληψη της αθηροσκληρωτικής καρδιαγγειακής νόσου αποτελεί πρωταρχικό πυλώνα προστασίας και η αλλαγή του τρόπου ζωής αποτελεί πρόκληση για τους ανθρώπους που έχουν προδιάθεση να πάσχουν από αυτή τη νόσο. Φαίνεται πως η σωματική δραστηριότητα, η σωστή διατροφή, όπως η Μεσογειακή και η διακοπή του καπνίσματος συμβάλλουν καθοριστικά στην επιβράδυνση της αθηρογόνου διαδικασίας, προτού ακόμη εκδηλωθούν οι πρώτες κλινικές ενδείξεις κινδύνου. Μάλιστα, ο συνδυασμός αυτών παρεμβάσεων με τη χορήγηση στατινών επιδεικνύει εξαιρετική αποτελεσματικότητα τόσο στην πρωτογενή όσο και στη δευτερογενή πρόληψη της καρδιοπάθειας. Ωστόσο, η θεραπεία με στατίνες δεν επαρκεί πάντοτε για την επίτευξη των απαιτούμενων χαμηλών επιπέδων LDL-

C και επομένως καθίσταται αναγκαία η επιστράτευση επιπλέον θεραπευτικών επιλογών. Συνεπώς, θα ήταν απαραίτητο να εξεταστεί η εφαρμογή σύγχρονων, εξατομικευμένων προληπτικών μεθόδων μείωσης LDL-C, με σκοπό την αποτελεσματική μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου και την αποτροπή των ισχαιμικών επεισοδίων (Zeng et al., 2025).

Όσον αφορά στα μονοκλωνικά αντισώματα, είναι γνωστό παρέχουν σημαντικά κλινικά οφέλη, λειτουργώντας ως εξαιρετικά αποτελεσματικοί αναστολείς της PCSK9 και μειώνοντας τα επίπεδα της LDL-C σε ιδανικά θεραπευτικά όρια. Η χρήση τους είναι ιδιαίτερα πολύτιμη για ασθενείς με μικρή ανοχή στις στατίνες ή και σε ασθενείς που πάσχουν από οικογενή υπερχοληστερολαιμία, καθώς βελτιώνουν το προσδόκιμο ζωής εάν χρησιμοποιηθούν σε ένα κατάλληλα σχεδιασμένο θεραπευτικό σχήμα. Ωστόσο, παρά τα αποδεδειγμένα πλεονεκτήματά τους, απαιτείται περαιτέρω εμβάθυνση στην κατανόηση των μακροπρόθεσμων επιδράσεών τους, στην αντιμετώπιση του υψηλού κόστους τους και βελτίωση της ασφάλειάς τους (Abduljabbar, 2024; En-Nasery et al., 2025).

Η συνεχής ανάλυση των μοριακών μηχανισμών που μεσολαβούν στην ανάπτυξη και εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης αποτελεί πρωτεύοντα στόχο για την ευρύτερη και πιο στοχευμένη κατανόησή της. Ιδιαίτερη έμφαση απαιτείται να δοθεί στα κωδικοποιητικά και μη κωδικοποιητικά μόρια RNA για την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών στρατηγικών, καθώς καθώς παραμένει αναγκαία η πλήρης διασφάλιση και βελτιστοποίηση της σταθερότητας, της ασφάλειας και της ειδικότητας της δράσης τους. Παρ' όλα αυτά, τα μικρά παρεμβαλλόμενα RNA (siRNA) έχουν υψηλή προστιθέμενη αξία σε σχέση με τις θεραπείες μονοκλωνικών αντισωμάτων, καθώς πλεονεκτούν ως προς το κόστος σύνθεσης και παραγωγής, της μειωμένης συχνότητας χορήγησης φαρμακευτικών σκευασμάτων, αλλά και για την ευκολία χορήγησης από τον ίδιο τον ασθενή. Μία αξιοσημείωτη διαφορά είναι πως η δράση των siRNA επιτυγχάνεται μέσω σύνδεσής τους με μόρια-στόχους mRNA βάσει της συμπληρωματικότητας των βάσεων κατά Watson-Crick, σε αντίθεση με τα μονοκλωνικά αντισώματα που απαιτούν πιο σύνθετο σχεδιασμό, καθώς η δράση τους βασίζεται στην αναγνώριση των πολύπλοκων τρισδιάστατων δομών των πρωτεϊνών-στόχων. Το inclisiran είναι ίσως το σημαντικότερο RNA-βασιζόμενο θεραπευτικό μόριο στην αντιμετώπιση της αθηροσκλήρωσης καθώς αποτελεί τη μοναδική εγκεκριμένη RNA-θεραπεία σύμφωνα με τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) που χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη για τη μείωση της LDL-χοληστερόλης σε ασθενείς με αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή

νόσο ή με ετερόζυγη οικογενή υπερχοληστερολαιμία. Το συγκεκριμένο μόριο στοχεύει το γονίδιο PCSK9 και κλινικές μελέτες έχουν αποσαφηνίσει τον δραστικό ρόλο του στην μείωση των επιπέδων LDL-χοληστερόλης (LDL-C) έως και κατά 52% (Sopić et al., 2025).

Επίλογος

Τα τελευταία χρόνια έχει σημειωθεί σημαντική επιστημονική πρόοδος στον τομέα της αθηροσκληρωτικής νόσου. Η ενδελεχής μελέτη των μοριακών μηχανισμών της αθηροσκλήρωσης έχει συμβάλει στην καλύτερη κατανόηση της παθοφυσιολογίας της προσφέροντας σημαντικές γνώσεις σχετικά με την δημιουργία των αθηροσκληρωτικών πλακών και την εκδήλωση καρδιαγγειακών επεισοδίων. Αξιοσημείωτη είναι η εξέλιξη των RNA-θεραπειών με έμφαση στα miRNAs και siRNAs στην αντιμετώπιση της νόσου, οι οποίες υπογραμμίζονται ως πολλά υποσχόμενες για την στοχευμένη ρύθμιση των μοριακών μηχανισμών της αθηρογένεσης και την ανάπτυξη καινοτόμων θεραπειών σε σύγκριση με τις καθιερωμένες αντιφλεγμονώδεις και υπολιπιδαιμικές προσεγγίσεις. Ωστόσο, παρά την αξιοσημείωτη πρόοδο, εξακολουθεί να υφίσταται επιτακτική ανάγκη για περαιτέρω αποσαφήνιση της παθογένειας της νόσου. Συγκεκριμένα, απαιτείται μελλοντική διερεύνηση του ακριβή μηχανισμού συσσώρευσης λιπιδίων που πυροδοτεί την φλεγμονή, καθώς και η ανακάλυψη πιο ειδικών βιοδεικτών ικανών να ανιχνεύουν έγκαιρα την ευάλωτη αθηρωματική πλάκα πριν από την εκδήλωση ενός οξέος ισχαιμικού επεισοδίου. Παράλληλα, ζητούμενο παραμένει η ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων βασισμένων στα ιδιαίτερα κλινικά χαρακτηριστικά κάθε ασθενούς. Συμπερασματικά, η αθηροσκλήρωση παραμένει μια χρόνια φλεγμονώδης νόσος του αρτηριακού τοιχώματος με υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, γεγονός που καθιστά αναγκαία τη συνεχή έρευνα και βελτίωση τόσο στον τομέα της πρόληψης όσο και της θεραπευτικής αντιμετώπισης.

Βιβλιογραφικές αναφορές

- 1) <https://tinyurl.com/mnkf6j2u>
- 2) Berenji Ardestani, S., Eftedal, I., Pedersen, M., Jeppesen, P. B., Nørregaard, R., & Matchkov, V. V. (2020). Endothelial dysfunction in small arteries and early signs of atherosclerosis in ApoE knockout rats. *Scientific reports*, 10(1), 15296
- 3) Tavafi M. (2013). Complexity of diabetic nephropathy pathogenesis and design of investigations. *Journal of renal injury prevention*, 2(2), 59–62
- 4) Jebari-Benslaïman, S., Galicia-García, U., Larrea-Sebal, A., Olaetxea, J. R., Alloza, I., Vandenbroeck, K., Benito-Vicente, A., & Martín, C. (2022). Pathophysiology of Atherosclerosis. *International journal of molecular sciences*, 23(6), 3346
- 5) Rhodin J. A. (1968). Ultrastructure of mammalian venous capillaries, venules, and small collecting veins. *Journal of ultrastructure research*, 25(5), 452–500
- 6) Esper, R. J., Nordaby, R. A., Vilariño, J. O., Paragano, A., Cacharrón, J. L., & Machado, R. A. (2006). Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. *Cardiovascular diabetology*, 5, 4
- 7) Ludmer, P. L., Selwyn, A. P., Shook, T. L., Wayne, R. R., Mudge, G. H., Alexander, R. W., & Ganz, P. (1986). Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *The New England journal of medicine*, 315(17), 1046–1051.
- 8) Johns Hopkins Medicine. (n.d.). Atherosclerosis. Retrieved November 4, 2021, from <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/atherosclerosis>
- 9) Sukhovshin, R. A., Yepuri, G., & Ghebremariam, Y. T. (2015). Endothelium-Derived Nitric Oxide as an Antiatherogenic Mechanism: Implications for Therapy. *Methodist DeBakey cardiovascular journal*, 11(3), 166–171.
- 10) Carlström M. (2021). Nitric oxide signalling in kidney regulation and cardiometabolic health. *Nature reviews. Nephrology*, 17(9), 575–590
- 11) Gimbrone, M. A., Jr, & García-Cardena, G. (2016). Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circulation research*, 118(4), 620–636
- 12) Mügge, A., Förstermann, U., & Lichtlen, P. R. (1989). Endotheliale Funktionen bei kardiovaskulären Erkrankungen [Endothelial functions in cardiovascular diseases]. *Zeitschrift für Kardiologie*, 78(3), 147–160

- 13) 12) Chiplunkar, A. R., Curtis, B. C., Eades, G. L., Kane, M. S., Fox, S. J., Haar, J. L., & Lloyd, J. A. (2013). The Kruppel-like factor 2 and Kruppel-like factor 4 genes interact to maintain endothelial integrity in mouse embryonic vasculogenesis. *BMC Developmental Biology*, 13, 40
- 14) Killeen, M. J., Linder, M., Pontoniere, P., & Crea, R. (2014). NF-κB signaling and chronic inflammatory diseases: Exploring the potential of natural products to drive new therapeutic opportunities. *Drug Discovery Today*, 19(4), 373–378
- 15) Moynagh, P. N. (2005). The NF-κB pathway. *Journal of Cell Science*, 118(20), 4589–4592
- 16) Cleveland Clinic. (2022, August 1). Hypercholesterolemia: Causes, symptoms & treatment.
- 17) Prasad, K., & Mishra, M. (2022). Mechanism of Hypercholesterolemia-Induced Atherosclerosis. *Reviews in cardiovascular medicine*, 23(6), 212
- 18) Hill, M. F., & Bordonni, B. (2023). Hyperlipidemia. In *StatPearls*. StatPearls Publishing
- 19) Oparil, S., Acelajado, M. C., Bakris, G. L., Berlowitz, D. R., Cífková, R., Dominiczak, A. F., Grassi, G., Jordan, J., Poulter, N. R., Rodgers, A., & Whelton, P. K. (2018).
- 20) Ishida, M., Sakai, C., Kobayashi, Y., & Ishida, T. (2024). Cigarette Smoking and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, 31(3), 189–200
- 21) Csordas, A., & Bernhard, D. (2013). The biology behind the atherothrombotic effects of cigarette smoke. *Nature reviews. Cardiology*, 10(4), 219–230
- 22) Karakasis, P., Theofilis, P., Patoulas, D., Vlachakis, P. K., Antoniadis, A. P., & Fragakis, N. (2025). Diabetes-Driven Atherosclerosis: Updated Mechanistic Insights and Novel Therapeutic Strategies. *International journal of molecular sciences*, 26(5), 2196
- 23) Ye, J., Li, L., Wang, M., Ma, Q., Tian, Y., Zhang, Q., Liu, J., Li, B., Zhang, B., Liu, H., & Sun, G. (2022). Diabetes mellitus promotes the development of atherosclerosis: The role of NLRP3. *Frontiers in Immunology*, 13, 900254
- 24) Tsimikas, S., & Miller, Y. I. (2011). Oxidative modification of lipoproteins: mechanisms, role in inflammation and potential clinical applications in cardiovascular disease. *Current pharmaceutical design*, 17(1), 27–37

- 25) Rehman, M. B., & Tudrej, B. V. (2024). Lipoprotein(a) and risk-weighted apolipoprotein B: a novel metric for atherogenic risk. *Lipids in health and disease*, 23(1), 316
- 26) Dominiczak, M. H., & Caslake, M. J. (2011). Apolipoproteins: metabolic role and clinical biochemistry applications. *Annals of clinical biochemistry*, 48(Pt 6), 498–515
- 27) Mehta, A., & Shapiro, M. D. (2022). Apolipoproteins in vascular biology and atherosclerotic disease. *Nature Reviews Cardiology*, 19(3), 168–179
- 28) Fazio, S., & Linton, M. F. (2009). Regulation and Clearance of Apolipoprotein B-Containing Lipoproteins. In *Clinical Lipidology: A Companion to Braunwald's Heart Disease* (pp. 11-25). Elsevier Inc.
- 29) Anant, S., & Davidson, N. O. (2002). Identification and regulation of protein components of the apolipoprotein B mRNA editing enzyme. A complex event. *Trends in cardiovascular medicine*, 12(7), 311–317
- 30) Linton, M. R. F., Yancey, P. G., Davies, S. S., Jerome, W. G., Linton, E. F., Song, W. L., Doran, A. C., & Vickers, K. C. (2019, January 3). The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. In K. R. Feingold, B. Anawalt, A. Boyce, et al. (Eds.), *Endotext* [Internet]. MDText.com, Inc
- 31) Faber, M. (1949). The human aorta: Sulfate-containing polyuronides and the deposition of cholesterol. *Archives of Pathology*, 48(4), 342–350.
- 32) Iverius P. H. (1972). The interaction between human plasma lipoproteins and connective tissue glycosaminoglycans. *The Journal of biological chemistry*, 247(8), 2607–2613
- 33) Srinivasan, S. R., Dolan, P., Radhakrishnamurthy, B., Pargogaonkar, P. S., & Berenson, G. S. (1975). Lipoprotein–acid mucopolysaccharide complexes of human atherosclerotic lesions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 388, 58–70
- 34) Ference, B. A., Ginsberg, H. N., Graham, I., Ray, K. K., Packard, C. J., Bruckert, E., Hegele, R. A., Krauss, R. M., Raal, F. J., Schunkert, H., Watts, G. F., Borén, J., Fazio, S., Horton, J. D., Masana, L., Nicholls, S. J., Nordestgaard, B. G., van de Sluis, B., Taskinen, M. R., Tokgözoğlu, L., ... Catapano, A. L. (2017). Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *European heart journal*, 38(32), 2459–2472

- 35) Williams, K. J., & Tabas, I. (1995). The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 15(5), 551–561
- 36) Gustafsson, M., & Borén, J. (2004). Mechanism of lipoprotein retention by the extracellular matrix. *Current opinion in lipidology*, 15(5), 505–514
- 37) Chatterjee, S. (2016). Oxidative stress, inflammation, and disease. In T. A. Dziubla & D. A. Butterfield (Eds.), *Oxidative stress and biomaterials* (pp. 35–58). Elsevier.
- 38) Zorov, D. B., Juhaszova, M., & Sollott, S. J. (2014). Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiological reviews*, 94(3), 909–950
- 39) Wang, Y., Wang, G. Z., Rabinovitch, P. S., & Tabas, I. (2014). Macrophage mitochondrial oxidative stress promotes atherosclerosis and nuclear factor- κ B-mediated inflammation in macrophages. *Circulation research*, 114(3), 421–433
- 40) Peluso, I., Morabito, G., Urban, L., Ioannone, F., & Serafini, M. (2012). Oxidative stress in atherosclerosis development: the central role of LDL and oxidative burst. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*, 12(4), 351–360
- 41) Förstermann, U., Xia, N., & Li, H. (2017). Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circulation research*, 120(4), 713–735
- 42) Perrotta, I., & Aquila, S. (2015). The role of oxidative stress and autophagy in atherosclerosis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015, 130315
- 43) Yang, D., Elner, S. G., Bian, Z. M., Till, G. O., Petty, H. R., & Elner, V. M. (2007). Pro-inflammatory cytokines increase reactive oxygen species through mitochondria and NADPH oxidase in cultured RPE cells. *Experimental eye research*, 85(4), 462–472
- 44) Sukhorukov, V. N., Karagodin, V. P., & Orekhov, A. N. (2016). Aterogennye modifikatsii lipoproteinov nizkoï plotnosti [Atherogenic modification of low-density lipoproteins]. *Biomeditsinskaia khimiia*, 62(4), 391–402
- 45) Bellido, C., López-Miranda, J., Pérez-Martínez, P., Paz, E., Marín, C., Gómez, P., Moreno, J. A., Moreno, R., & Pérez-Jiménez, F. (2006). The Mediterranean and CHO diets decrease VCAM-1 and E-selectin expression induced by modified low-density lipoprotein in HUVECs. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*, 16(8), 524–530

- 46) Chistiakov, D. A., Melnichenko, A. A., Myasoedova, V. A., Grechko, A. V., & Orekhov, A. N. (2017). Mechanisms of foam cell formation in atherosclerosis. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*, 95(11), 1153–1165
- 47) Batty, M., Bennett, M. R., & Yu, E. (2022). The Role of Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Cells*, 11(23), 3843
- 48) Wang, Y., & Tabas, I. (2014). Emerging roles of mitochondria ROS in atherosclerotic lesions: causation or association? *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, 21(5), 381–390
- 49) Grootaert, M. O. J., Roth, L., Schrijvers, D. M., De Meyer, G. R. Y., & Martinet, W. (2018). Defective Autophagy in Atherosclerosis: To Die or to Senesce?. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018, 7687083
- 50) Madamanchi, N. R., & Runge, M. S. (2007). Mitochondrial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation research*, 100(4), 460–473
- 51) Shemiakova, T., Ivanova, E., Wu, W. K., Kirichenko, T. V., Starodubova, A. V., & Orekhov, A. N. (2021). Atherosclerosis as Mitochondriopathy: Repositioning the Disease to Help Finding New Therapies. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 8, 660473
- 52) Drummond, G. R., Selemidis, S., Griendling, K. K., & Sobey, C. G. (2011). Combating oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets. *Nature reviews. Drug discovery*, 10(6), 453–471
- 53) Fulton, D. J., & Barman, S. A. (2016). Clarity on the Isoform-Specific Roles of NADPH Oxidases and NADPH Oxidase-4 in Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 36(4), 579–581
- 54) Gray, S. P., Di Marco, E., Okabe, J., Szyndralewicz, C., Heitz, F., Montezano, A. C., de Haan, J. B., Koulis, C., El-Osta, A., Andrews, K. L., Chin-Dusting, J. P., Touyz, R. M., Wingler, K., Cooper, M. E., Schmidt, H. H., & Jandeleit-Dahm, K. A. (2013). NADPH oxidase 1 plays a key role in diabetes mellitus-accelerated atherosclerosis. *Circulation*, 127(18), 1888–1902
- 55) Gray, S. P., Di Marco, E., Kennedy, K., Chew, P., Okabe, J., El-Osta, A., Calkin, A. C., Biessen, E. A., Touyz, R. M., Cooper, M. E., Schmidt, H. H., & Jandeleit-Dahm, K. A. (2016). Reactive Oxygen Species Can Provide Atheroprotection via NOX4-Dependent Inhibition of Inflammation and Vascular Remodeling. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 36(2), 295–307

- 56) Guzik, T. J., Chen, W., Gongora, M. C., Guzik, B., Lob, H. E., Mangalat, D., Hoch, N., Dikalov, S., Rudzinski, P., Kapelak, B., Sadowski, J., & Harrison, D. G. (2008). Calcium-dependent NOX5 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase contributes to vascular oxidative stress in human coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 52(22), 1803–1809
- 57) Hong, F. F., Liang, X. Y., Liu, W., Lv, S., He, S. J., Kuang, H. B., & Yang, S. L. (2019). Roles of eNOS in atherosclerosis treatment. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society ... [et al.]*, 68(6), 429–441
- 58) Li, H., & Förstermann, U. (2013). Uncoupling of endothelial NO synthase in atherosclerosis and vascular disease. *Current opinion in pharmacology*, 13(2), 161–167
- 59) Chavda, V. P., Feehan, J., & Apostolopoulos, V. (2024). Inflammation: The Cause of All Diseases. *Cells*, 13(22), 1906
- 60) Borén, J., Chapman, M. J., Krauss, R. M., Packard, C. J., Bentzon, J. F., Binder, C. J., Daemen, M. J., Demer, L. L., Hegele, R. A., Nicholls, S. J., Nordestgaard, B. G., Watts, G. F., Bruckert, E., Fazio, S., Ference, B. A., Graham, I., Horton, J. D., Landmesser, U., Laufs, U., Masana, L., ... Ginsberg, H. N. (2020). Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *European heart journal*, 41(24), 2313–2330
- 61) Curtiss, L. K., & Tobias, P. S. (2009). Emerging role of Toll-like receptors in atherosclerosis. *Journal of lipid research*, 50 Suppl(Suppl), S340–S345
- 62) Wolf, D., & Ley, K. (2019). Immunity and Inflammation in Atherosclerosis. *Circulation research*, 124(2), 315–327
- 63) Deroissart, J., Porsch, F., Koller, T., & Binder, C. J. (2022). Anti-inflammatory and Immunomodulatory Therapies in Atherosclerosis. *Handbook of experimental pharmacology*, 270, 359–404
- 64) Edfeldt, K., Swedenborg, J., Hansson, G. K., & Yan, Z. Q. (2002). Expression of toll-like receptors in human atherosclerotic lesions: a possible pathway for plaque activation. *Circulation*, 105(10), 1158–1161
- 65) Lundberg, A. M., & Hansson, G. K. (2010). Innate immune signals in atherosclerosis. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 134(1), 5–24

- 66) Gisterå, A., & Hansson, G. K. (2017). The immunology of atherosclerosis. *Nature reviews. Nephrology*, 13(6), 368–380
- 67) Jonasson, L., Holm, J., Skalli, O., Gabbiani, G., & Hansson, G. K. (1985). Expression of class II transplantation antigen on vascular smooth muscle cells in human atherosclerosis. *The Journal of clinical investigation*, 76(1), 125–131
- 68) Wick, G., Jakic, B., Buszko, M., Wick, M. C., & Grundtman, C. (2014). The role of heat shock proteins in atherosclerosis. *Nature Reviews Cardiology*, 11(9), 516–529
- 69) Zhou, X., Robertson, A. K., Hjerpe, C., & Hansson, G. K. (2006). Adoptive transfer of CD4⁺ T cells reactive to modified low-density lipoprotein aggravates atherosclerosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 26(4), 864–870
- 70) Hermansson, A., Ketelhuth, D. F., Strodthoff, D., Wurm, M., Hansson, E. M., Nicoletti, A., Paulsson-Berne, G., & Hansson, G. K. (2010). Inhibition of T cell response to native low-density lipoprotein reduces atherosclerosis. *The Journal of experimental medicine*, 207(5), 1081–1093
- 71) Apollo Hospitals. (n.d.). Monocytosis: Causes, symptoms, diagnosis and treatment. Retrieved March 21, 2026, <https://tinyurl.com/2p9mkjb3>
- 72) Hilgendorf, I., Swirski, F. K., & Robbins, C. S. (2015). Monocyte fate in atherosclerosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 35(2), 272–279
- 73) Moore, K. J., Sheedy, F. J., & Fisher, E. A. (2013). Macrophages in atherosclerosis: A dynamic balance. *Nature Reviews Immunology*, 13(10), 709–721
- 74) Luz, P. L., Chagas, A. C. P., Dourado, P. M. M., & Laurindo, F. R. M. (2018). Endothelium in atherosclerosis: Plaque formation and its complications. In F. R. M. Laurindo, P. L. Luz, & R. P. Chagas (Eds.), *Endothelium and cardiovascular diseases: Vascular biology and clinical syndromes* (pp. 493–512). Elsevier
- 75) Harrington J. R. (2000). The role of MCP-1 in atherosclerosis. *Stem cells* (Dayton, Ohio), 18(1), 65–66
- 76) Gu, L., Okada, Y., Clinton, S. K., et al. (1998). Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor–deficient mice. *Molecular Cell*, 2(2), 275–281
- 77) Boring, L., Gosling, J., Chensue, S. W., Kunkel, S. L., Farese, R. V., Broxmeyer, H. E., & Charo, I. F. (1998). Decreased lesion formation in CCR2^{–/–} mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. *Nature*, 394(6696), 894–897

- 78) Poznyak, A. V., Orekhova, V. A., Sukhorukov, V. N., Melnichenko, A. A., Popov, M. A., & Orekhov, A. N. (2024). Overview of atherosclerotic plaque: From formation to complication. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 24(3), 382–394
- 79) Chinetti-Gbaguidi, G., Colin, S., & Staels, B. (2015). Macrophage subsets in atherosclerosis. *Nature reviews. Cardiology*, 12(1), 10–17
- 80) Randolph G. J. (2008). Emigration of monocyte-derived cells to lymph nodes during resolution of inflammation and its failure in atherosclerosis. *Current opinion in lipidology*, 19(5), 462–468
- 81) Jiao, X., Guo, D., Li, W., Li, S., Shao, G., Shen, T., & Yu, X. (2025). Foam cells: Tracing the diverse cellular origins and their linked signaling pathways. *Journal of Translational Medicine*, 23, 1382
- 82) Afonso, C. B., & Spickett, C. M. (2019). Lipoproteins as targets and markers of lipoxidation. *Redox biology*, 23, 101066
- 83) Drysdale, A., Unsworth, A. J., White, S. J., & Jones, S. (2023). The Contribution of Vascular Proteoglycans to Atherothrombosis: Clinical Implications. *International journal of molecular sciences*, 24(14), 11854
- 84) Kateryna Kon. (2019, November 5). <https://tinyurl.com/54vrtwvb>
- 85) Biomarkers Definitions Working Group. (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 69(3), 89–95
- 86) FDA-NIH Biomarker Working Group. (2020, November 16). Diagnostic biomarker. In BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource. Food and Drug Administration (US) & National Institutes of Health (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK402285/>
- 87) FDA-NIH Biomarker Working Group. (2016, December 22). Prognostic biomarker. In BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource. National Center for Biotechnology Information <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK402289/>
- 88) Tang, S., Yuan, K., & Chen, L. (2022). Molecular biomarkers, network biomarkers, and dynamic network biomarkers for diagnosis and prediction of rare diseases. *Fundamental research*, 2(6), 894–902
- 89) Laterza, O. F., Hendrickson, R. C., & Wagner, J. A. (2007). Molecular biomarkers. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*, 41(5), 573–585

- 90) Sans, M., Panés, J., Ardite, E., Elizalde, J. I., Arce, Y., Elena, M., Palacín, A., Fernández-Checa, J. C., Anderson, D. C., Lobb, R., & Piqué, J. M. (1999). VCAM-1 and ICAM-1 mediate leukocyte-endothelial cell adhesion in rat experimental colitis. *Gastroenterology*, 116(4), 874–883
- 91) Anbarasan, C., Bavanilatha, M., Latchumanadhas, K., & Mullasari, S. A. (2015). ICAM-1 molecular mechanism and genome wide SNP's association studies. *Indian Heart Journal*, 67(3), 282–287
- 92) Singh, M., Thakur, M., Mishra, M., Yadav, M., Vibhuti, R., Menon, A. M., Nagda, G., Dwivedi, V. P., Dakal, T. C., & Yadav, V. (2021). Gene regulation of intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1): A molecule with multiple functions. *Immunology letters*, 240, 123–136
- 93) Singh, V., Kaur, R., Kumari, P., Pasricha, C., & Singh, R. (2023). ICAM-1 and VCAM-1: Gatekeepers in various inflammatory and cardiovascular disorders. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 548, 117487
- 94) Kong, D. H., Kim, Y. K., Kim, M. R., Jang, J. H., & Lee, S. (2018). Emerging Roles of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) in Immunological Disorders and Cancer. *International journal of molecular sciences*, 19(4), 1057
- 95) Zhong, L., Simard, M. J., & Huot, J. (2018). Endothelial microRNAs regulating the NF-κB pathway and cell adhesion molecules during inflammation. *The FASEB Journal*, 32(8), 4070–4084
- 96) Patel, K. K., & Kashfi, K. (2021). Lipoproteins and cancer: The role of HDL-C, LDL-C, and cholesterol-lowering drugs. *Biochemical Pharmacology*, 196, 114654
- 97) Feingold, K. R. (2022). Lipid and lipoprotein metabolism. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 51(3), 437–458
- 98) Ference, B. A., Braunwald, E., & Catapano, A. L. (2024). The LDL cumulative exposure hypothesis: Evidence and practical applications. *Nature Reviews Cardiology*, 21(10), 701–716
- 99) Singh, K., & Prabhakaran, D. (2024). Apolipoprotein B—An ideal biomarker for atherosclerosis? *Indian Heart Journal*, 76(Suppl. 1), S121–S129
- 100) Pepys, M. B., & Hirschfield, G. M. (2003). C-reactive protein: a critical update. *The Journal of clinical investigation*, 111(12), 1805–1812

- 101) Thompson, D., Pepys, M. B., & Wood, S. P. (1999). The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure*, 7(2), 169–177
- 102) Badimon, L., Peña, E., Arderiu, G., Padró, T., Slevin, M., Vilahur, G., & Chiva-Blanch, G. (2018). C-reactive protein in atherothrombosis and angiogenesis. *Frontiers in Immunology*, 9, 430
- 103) Hein, T. W., Singh, U., Vasquez-Vivar, J., Devaraj, S., Kuo, L., & Jialal, I. (2009). Human C-reactive protein induces endothelial dysfunction and uncoupling of eNOS in vivo. *Atherosclerosis*, 206(1), 61–68
- 104) Daigo, K., Inforzato, A., Barajon, I., Garlanda, C., Bottazzi, B., Meri, S., & Mantovani, A. (2016). Pentraxins in the activation and regulation of innate immunity. *Immunological reviews*, 274(1), 202–217
- 105) Eisenhardt, S. U., Habersberger, J., Murphy, A., Chen, Y. C., Woollard, K. J., Bassler, N., Qian, H., von Zur Muhlen, C., Hagemeyer, C. E., Ahrens, I., Chin-Dusting, J., Bobik, A., & Peter, K. (2009). Dissociation of pentameric to monomeric C-reactive protein on activated platelets localizes inflammation to atherosclerotic plaques. *Circulation research*, 105(2), 128–137
- 106) Li, H.-Y., Wang, J., Wu, Y.-X., Zhang, L., Liu, Z.-P., Filep, J. G., et al. (2014). Topological localization of monomeric C-reactive protein determines proinflammatory endothelial cell responses. *Journal of Biological Chemistry*, 289(20), 14283–14290
- 107) Kawanami, D., Maemura, K., Takeda, N., Harada, T., Nojiri, T., Saito, T., Manabe, I., Imai, Y., & Nagai, R. (2006). C-reactive protein induces VCAM-1 gene expression through NF-kappaB activation in vascular endothelial cells. *Atherosclerosis*, 185(1), 39–46
- 108) Singh, S. K., Thirumalai, A., Pathak, A., Ngwa, D. N., & Agrawal, A. (2017). Functional Transformation of C-reactive Protein by Hydrogen Peroxide. *The Journal of biological chemistry*, 292(8), 3129–31360
- 109) Mai, W., & Liao, Y. (2020). Targeting IL-1 β in the Treatment of Atherosclerosis. *Frontiers in immunology*, 11, 589654
- 110) Bevilacqua, M. P., Pober, J. S., Wheeler, M. E., Cotran, R. S., & Gimbrone, M. A. (1985). Interleukin-1 activation of vascular endothelium: Effects on

- procoagulant activity and leukocyte adhesion. *American Journal of Pathology*, 121, 394–403
- 111) Vromman, A., Ruvkun, V., Shvartz, E., Wojtkiewicz, G., Santos, M. G., Tesmenitsky, Y., et al. (2019). Stage-dependent differential effects of interleukin-1 isoforms on experimental atherosclerosis. *European Heart Journal*, 40(24), 2482–2491
 - 112) Hummelgaard, S., Vilstrup, J. P., Gustafsen, C., Glerup, S., & Weyer, K. (2023). Targeting PCSK9 to tackle cardiovascular disease. *Pharmacology & Therapeutics*, 247, 108480
 - 113) Xia, X. D., Peng, Z. S., Gu, H. M., Wang, M., Wang, G. Q., & Zhang, D. W. (2021). Regulation of PCSK9 Expression and Function: Mechanisms and Therapeutic Implications. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 8, 764038
 - 114) Seidah, N. G., Benjannet, S., Wickham, L., Marcinkiewicz, J., Jasmin, S. B., Stifani, S., Basak, A., Prat, A., & Chrétien, M. (2003). The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): Liver regeneration and neuronal differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(3), 928–933
 - 115) Ding Z., Liu, S., Wang, X., Mathur, P., Dai, Y., Theus, S., Deng, X., Fan, Y., & Mehta, J. L. (2016). Cross-talk between PCSK9 and damaged mtDNA in vascular smooth muscle cells: Role in apoptosis. *Antioxidants & Redox Signaling*, 25(18), 997–1008
 - 116) Ferri, N., Tibolla, G., Pirillo, A., Cipollone, F., Mezzetti, A., Pacia, S., Corsini, A., & Catapano, A. L. (2012). Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) secreted by cultured smooth muscle cells reduces macrophage LDLR levels. *Atherosclerosis*, 220(2), 381–386
 - 117) Ding Z., Liu S., Wang X., Theus S., Deng X., Fan Y., Zhou S., Mehta J.L. PCSK9 Regulates Expression of Scavenger Receptors and Ox-LDL Uptake in Macrophages. *Cardiovasc. Res.* 2018;114:1145–1153. doi: 10.1093/cvr/cvy079
 - 118) Barale, C., Melchionda, E., Morotti, A., & Russo, I. (2021). PCSK9 Biology and Its Role in Atherothrombosis. *International journal of molecular sciences*, 22(11), 5880

- 119) Thayse, K., Kindt, N., Laurent, S., Carlier, S. G., & Gallez, B. (2020). VCAM-1 target in non-invasive imaging for the detection of atherosclerotic plaques. *Biology*, 9(11), 368
- 120) Haydinger, C. D., Ashander, L. M., Tan, A. C. R., & Smith, J. R. (2023). Intercellular Adhesion Molecule 1: More than a Leukocyte Adhesion Molecule. *Biology*, 12(5), 743
- 121) Hoke, M., Winter, M. P., Wagner, O., Exner, M., Schillinger, M., Arnold, Z., Mlekusch, W., Maurer, G., Koppensteiner, R., Minar, E., et al. (2015). The impact of selectins on mortality in stable carotid atherosclerosis. *Thrombosis and Haemostasis*, 114(3), 632–638
- 122) Catapano, A. L., Tokgözoğlu, L., Mello e Silva, A., & Bruckert, E. (2019). Atherogenic markers in predicting cardiovascular risk and targeting residual cardiovascular risk. *Atherosclerosis: X*, 1, Article 100001
- 123) Gąsecka, A., Rogula, S., Szarpak, Ł., & Filipiak, K. J. (2021). LDL-Cholesterol and Platelets: Insights into Their Interactions in Atherosclerosis. *Life*, 11(1), 39
- 124) Kim, Sungseek, S., & Jang, Youngwoo, Y. (2024). Inflammation in atherosclerotic cardiovascular diseases: Biomarkers to therapeutics in clinical settings. *Journal of Cardiovascular Intervention*, 3(4), 199–215
- 125) De Oliveira-Gomes, D., Joshi, P. H., Peterson, E. D., Rohatgi, A., Khera, A., & Navar, A. M. (2024). Apolipoprotein B: Bridging the gap between evidence and clinical practice. *Circulation*
- 126) Katkenov, N., Mukhatayev, Z., Kozhakhmetov, S., Sailybayeva, A., Bekbossynova, M., & Kushugulova, A. (2024). Systematic Review on the Role of IL-6 and IL-1β in Cardiovascular Diseases. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, 11(7), 206. <https://doi.org/10.3390/jcdd11070206>
- 127) Chwedler, S. B., Kuhlencordt, P. J., Ponnuswamy, P. P., Hatiboglu, G., Quaschnig, T., Widder, J., et al. (2007). Native C-reactive protein induces endothelial dysfunction in ApoE^{-/-} mice: Implications for iNOS and reactive oxygen species. *Atherosclerosis*, 195(2), e76–e84
- 128) Guan, Hongwei, H., Wang, Peng, P., Hui, Rong, R., Edin, Marilyn L., M. L., Zeldin, Darryl C., D. C., & Wang, Da-Wei, D.-W. (2009). Adeno-associated virus-

- mediated human C-reactive protein gene delivery causes endothelial dysfunction and hypertension in rats. *Clinical Chemistry*, 55(2), 274–284
- 129) Grebe, A., Hoss, F., & Latz, E. (2018). NLRP3 inflammasome and the IL-1 pathway in atherosclerosis. *Circulation Research*, 122(12), 1664–1678
 - 130) Ridker, P. M., Everett, B. M., Thuren, T., MacFadyen, J. G., Chang, W. H., Ballantyne, C., Fonseca, F., et al. (2017). Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *New England Journal of Medicine*, 377(12), 1119–1131
 - 131) Silvain, J., Kerneis, M., Zeitouni, M., Lattuca, B., Galier, S., Brugier, D., Mertens, E., Procopi, N., Suc, G., Salloum, T., Frisdal, E., Le Goff, W., Collet, J. P., Vicaut, E., Lesnik, P., Montalescot, G., & Guerin, M. (2020). Interleukin-1 β and Risk of Premature Death in Patients With Myocardial Infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 76(15), 1763–1773
 - 132) Imazio, M., & Nidorf, M. (2021). Colchicine and the heart. *European Heart Journal*, 42(28), 2745–2760
 - 133) D'Odorico, P., Dell'Angelo, J., & Rulli, M. C. (2024). Appropriation pathways of water grabbing. *World Development*, 181, Article 106650
 - 134) Bao, X., Liang, Y., Chang, H., Cai, T., Feng, B., Gordon, K., Zhu, Y., Shi, H., He, Y., & Xie, L. (2024). Targeting proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): From bench to bedside. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9, Article 13
 - 135) Punch, E., Klein, J., Diaba-Nuhoho, P., Morawietz, H., & Garelnabi, M. (2022). Effects of PCSK9 targeting: Alleviating oxidation, inflammation, and atherosclerosis. *Journal of the American Heart Association*, 11(3), e023328
 - 136) Lu, Y., Cui, X., Zhang, L., Wang, X., Xu, Y., Qin, Z., Liu, G., Wang, Q., Tian, K., Lim, K. S., Charles, C. J., Zhang, J., & Tang, J. (2022). The Functional Role of Lipoproteins in Atherosclerosis: Novel Directions for Diagnosis and Targeting Therapy. *Aging and disease*, 13(2), 491–520
 - 137) Adam, C. A., Șalaru, D. L., Prisacariu, C., Marcu, D. T. M., Sascău, R. A., & Stătescu, C. (2022). Novel Biomarkers of Atherosclerotic Vascular Disease—Latest Insights in the Research Field. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 4998

- 138) MacNamara, J., Eapen, D. J., Quyyumi, A., & Sperling, L. (2015). Novel biomarkers for cardiovascular risk assessment: Current status and future directions. *Future Cardiology*, 11(5), 597–613
- 139) Habas, K., & Shang, L. (2018). Alterations in intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) in human endothelial cells. *Tissue and Cell*, 54, 139–143
- 140) Lindkvist, M., Göthlin Eremo, A., Varghese Paramel, G., Anisul Haque, S., Rydberg Millrud, C., Rattik, S., Grönberg, C., Liberg, D., Sirsjö, A., & Fransén, K. (2025). IL1RAP expression in human atherosclerosis: A target of novel antibodies to reduce vascular inflammation and adhesion. *Journal of the American Heart Association*, 14(10), e039557
- 141) Σκορίλας, Α. (2020). Κλινική βιοχημεία και μοριακή διαγνωστική: Βασικές αρχές και σύγχρονες προσεγγίσεις (σελ. 97–111). Broken Hill Publishers Ltd.<https://tinyurl.com/yd5fed2z>
- 142) Ltd.<https://tinyurl.com/yd5fed2z>
- 143) Bustin, S. A., & Mueller, R. (2005). Real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR) and its potential use in clinical diagnosis. *Clinical Science*, 109(4), 365–379
- 144) Zubair, M., & Launico, M. V. (2025). Western blot: Principles, procedures, and clinical applications. In StatPearls. StatPearls Publishing
- 145) Sule, R., Rivera, G., & Gomes, A. V. (2023). Western blotting (immunoblotting): History, theory, uses, protocol and problems. *Biotechniques*, 75(2), 99–114
- 146) Bass, J. J., Wilkinson, D. J., Rankin, D., Phillips, B. E., Szewczyk, N. J., Smith, K., & Atherton, P. J. (2017). An overview of technical considerations for Western blotting applications to physiological research. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 27(1), 4–25
- 147) Aydin, S., Emre, E., Ugur, K., Aydin, M. A., Sahin, İ., Cinar, V., & Akbulut, T. (2025). An overview of ELISA: A review and update on best laboratory practices for quantifying peptides and proteins in biological fluids. *Journal of International Medical Research*
- 148) Shah, K., & Maghsoudlou, P. (2016). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): The basics. *British Journal of Hospital Medicine*, 77(7), C98–C101

- 149) Lin, A. V. (2015). Direct ELISA. In R. Hnasko (Ed.), ELISA (Vol. 1318, pp. 61–67). Humana Press
- 150) Lin, A. V. (2015). Indirect ELISA. In R. Hnasko (Ed.), ELISA (Vol. 1318, pp. 51–59). Humana Press
- 151) Crea, F. (2021). The ESC Guidelines on cardiovascular prevention and a focus on old and new risk factors. *European Heart Journal*, 42(34), 3209–3213
- 152) Soehnlein, O., & Libby, P. (2021). Targeting inflammation in atherosclerosis - from experimental insights to the clinic. *Nature reviews. Drug discovery*, 20(8), 589–610
- 153) Morton, K., Heindl, B., Clarkson, S., & Bittner, V. (2022). Primordial prevention of atherosclerotic cardiovascular disease: A review of the literature. *Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation and Prevention*, 42(6), 389–396
- 154) Koeth, R. A., Wang, Z., Levison, B. S., Buffa, J. A., Org, E., Sheehy, B. T., Britt, E. B., Fu, X., Wu, Y., Li, L., Smith, J. D., DiDonato, J. A., Chen, J., Li, H., Wu, G. D., Lewis, J. D., Warrier, M., Brown, J. M., Krauss, R. M., Tang, W. H., ... Hazen, S. L. (2013). Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nature medicine*, 19(5), 576–585
- 155) Chen, L., Bi, Y., Su, J., et al. (2022). Physical activity and carotid atherosclerosis risk reduction in population with high risk for cardiovascular diseases: A cross-sectional study. *BMC Public Health*, 22, 250
- 156) Kotlyarov, S. (2023). The role of smoking in the mechanisms of development of chronic obstructive pulmonary disease and atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(10), 8725
- 157) Barbieri, S. S., Zacchi, E., Amadio, P., Gianellini, S., Mussoni, L., Weksler, B. B., & Tremoli, E. (2011). Cytokines present in smokers' serum interact with smoke components to enhance endothelial dysfunction. *Cardiovascular Research*, 90(3), 475–483
- 158) Ding, N., Sang, Y., Chen, J., Ballew, S. H., Kalbaugh, C. A., Salameh, M. J., Blaha, M. J., Allison, M., Heiss, G., Selvin, E., Coresh, J., & Matsushita, K. (2019). Cigarette Smoking, Smoking Cessation, and Long-Term Risk of 3 Major Atherosclerotic Diseases. *Journal of the American College of Cardiology*, 74(4), 498–507
- 159) Hajar, R. (2011). Statins: Past and present. *Heart Views*, 12(3), 121–127

- 160) Almeida, S. O., & Budoff, M. (2019). Effect of statins on atherosclerotic plaque. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 29(8), 451–455
- 161) Khatiwada, N., & Hong, Z. (2024). Potential Benefits and Risks Associated with the Use of Statins. *Pharmaceutics*, 16(2), 214
- 162) Paul M. Ridker (2023). Targeting residual inflammatory risk: The next frontier for atherosclerosis treatment and prevention. *Vascular Pharmacology*, 151, 107238
- 163) Aaron W. Aday, & Paul M. Ridker (2019). Targeting residual inflammatory risk: A shifting paradigm for atherosclerotic disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 6, Article 16
- 164) Stancu, C., & Sima, A. (2001). Statins: Mechanism of action and effects. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 5(4), 378–387
- 165) Khan, S., Huda, B., Bhurka, F., Patnaik, R., & Banerjee, Y. (2025). Molecular and Immunomodulatory Mechanisms of Statins in Inflammation and Cancer Therapeutics with Emphasis on the NF-κB, NLRP3 Inflammasome, and Cytokine Regulatory Axes. *International journal of molecular sciences*, 26(17), 8429
- 166) Cicero, A. F. G., Fogacci, F., & Zambon, A. (2021). Red yeast rice for hypercholesterolemia. *Journal of the American College of Cardiology*, 77(5), 620–628
- 167) Kandelouei, T., Abbasifard, M., Imani, D., Aslani, S., Razi, B., Fasihi, M., Shafiekhani, S., Mohammadi, K., Jamialahmadi, T., Reiner, Ž., & Sahebkar, A. (2022). Effect of statins on serum level of hs-CRP and CRP in patients with cardiovascular diseases: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Mediators of Inflammation*, 2022, Article 8732360
- 168) Laufs, U., La Fata, V., Plutzky, J., & Liao, J. K. (1998). Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation*, 97(12), 1129–1135
- 169) Libby, P. (2002) Inflammation in Atherosclerosis. *Nature*, 420, 868-874
- 170) Vaughan, C. J., Gotto, A. M., Jr., & Basson, C. T. (1999). The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 35(1)
- 171) Antonopoulos, A. S., Margaritis, M., Lee, R., Channon, K., & Antoniadou, C. (2012). Statins as anti-inflammatory agents in atherogenesis: molecular mechanisms

- and lessons from the recent clinical trials. *Current pharmaceutical design*, 18(11), 1519–1530
- 172) Fala L. (2016). Repatha (Evolocumab): Second PCSK9 Inhibitor Approved by the FDA for Patients with Familial Hypercholesterolemia. *American health & drug benefits*, 9(Spec Feature), 136–139
- 173) Kasichayanula, S., Grover, A., Emery, M. G., et al. (2018). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of evolocumab, a PCSK9 inhibitor. *Clinical Pharmacokinetics*, 57, 769–779
- 174) U.S. Food and Drug Administration. (2015, August 27). FDA approves Repatha to treat certain patients with high cholesterol. <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm460082.htm>
- 175) U.S. Food and Drug Administration. (2015). Repatha (evolocumab) injection, for subcutaneous use: Prescribing information
- 176) Kühnast, S., van der Hoorn, J. W., Pieterman, E. J., van den Hoek, A. M., Sasiela, W. J., Gusarova, V., Peyman, A., Schäfer, H. L., Schwahn, U., Jukema, J. W., & Princen, H. M. (2014). Alirocumab inhibits atherosclerosis, improves the plaque morphology, and enhances the effects of a statin. *Journal of lipid research*, 55(10), 2103–2112
- 177) Dhorepatil, A., Ball, S., Ghosh, R. K., Kondapaneni, M., & Lavie, C. J. (2019). Canakinumab: Promises and future in cardiometabolic diseases and malignancy. *American Journal of Medicine*, 132(3), 312–324
- 178) Thompson, P. L., & Nidorf, S. M. (2018). Anti-inflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease: lessons from the CANTOS trial. *Journal of thoracic disease*, 10(2), 695–698
- 179) Capodanno, D., & Angiolillo, D. J. (2018). Canakinumab for secondary prevention of atherosclerotic disease. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 18(2), 215–220
- 180) Rondeau, J. M., Ramage, P., Zurini, M., & Gram, H. (2015). The molecular mode of action and species specificity of canakinumab, a human monoclonal antibody neutralizing IL-1 β . *mAbs*, 7(6), 1151–1160
- 181) Imazio, M., Andreis, A., Brucato, A., Adler, Y., & De Ferrari, G. M. (2020). Colchicine for acute and chronic coronary syndromes. *Heart*, 106(20), 1555–1560

- 182) Andreis, A., Imazio, M., & De Ferrari, G. M. (2021). Colchicine for the treatment of cardiovascular diseases: Old drug, new targets. *Journal of Cardiovascular Medicine*, 22(1), 1–8
- 183) Nidorf, S. M., Ben-Chetrit, E., & Ridker, P. M. (2024). Low-dose colchicine for atherosclerosis: Long-term safety. *European Heart Journal*, 45(18), 1596–1601
- 184) Gracheva, I. A., Shchegravina, E. S., Schmalz, H.-G., Beletskaya, I. P., & Fedorov, A. Y. (2020). Colchicine alkaloids and synthetic analogues: Current progress and perspectives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63, 10618–10651
- 185) Taylor, E. W. (1965). The mechanism of colchicine inhibition of mitosis: I. Kinetics of inhibition and the binding of H3-colchicine. *Journal of Cell Biology*, 25, 145–160
- 186) Giubilato, S., Ciliberti, G., Scicchitano, P., Di Monaco, A., Fortuni, F., Zilio, F., Ciampi, C. M., Cangemi, S., Spinelli, A., Gatto, L., Franchin, L., Cornara, S., Magnesa, M., Sorini Dini, C., Vitale, E., Gasparetto, N., Geraci, G., Rossini, R., Della Bona, R., ... Imazio, M. (2025). Colchicine and Atherosclerotic Coronary Artery Disease: An Updated Review. *Journal of Clinical Medicine*, 14(18), 6396.
- 187) Chia, S. P. S., Pang, J. K. S., & Soh, B. S. (2024). Current RNA strategies in treating cardiovascular diseases. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy*, 32(3), 580–608
- 188) Li, X. X., Qi, H. Z., Cui, W. G., Wang, Z. B., Fu, X. X., Li, T. X., Ma, H., Yang, Y., & Yu, T. (2022). Recent advances in targeted delivery of non-coding RNA-based therapeutics for atherosclerosis. *Molecular Therapy*, 30, 3118–3132
- 189) CD Genomics. (n.d.). What is siRNA and siRNA-seq? Retrieved April 29, 2026
- 190) Kanasty, R. L., Whitehead, K. A., Vegas, A. J., & Anderson, D. G. (2012). Action and reaction: the biological response to siRNA and its delivery vehicles. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy*, 20(3), 513–524
- Ranasinghe, P., Addison, M. L., Dear, J. W., & Webb, D. J. (2023). Small interfering RNA: Discovery, pharmacology and clinical development—An introductory review. *British Journal of Pharmacology*, 180(20), 2697–2720
- 191) Sarzani, R., Spannella, F., Di Pentima, C., Giulietti, F., Landolfo, M., & Allevi, M. (2024). Molecular Therapies in Cardiovascular Diseases: Small Interfering

- RNA in Atherosclerosis, Heart Failure, and Hypertension. International Journal of Molecular Sciences, 25(1), 328
- 192) <https://tinyurl.com/52ev3868>
- 193) Novartis. (2025, July 31). Novartis twice-yearly Leqvio® (inclisiran) receives FDA approval for new indication enabling first-line use.
<https://www.novartis.com/us-en/news/media-releases/novartis-twice-yearly-leqvio-inclisiran-receives-fda-approval-new-indication-enabling-first-line-use>
- 194) Lamb Y. N. (2021). Inclisiran: First Approval. Drugs, 81(3), 389–395
- 195) Fitzgerald, K., Frank-Kamenetsky, M., Shulga-Morskaya, S., Liebow, A., Bettencourt, B. R., Sutherland, J. E., Hutabarat, R. M., Clausen, V. A., Karsten, V., Cehelsky, J., Nochur, S. V., Kotlianski, V., Horton, J., Mant, T., Chiesa, J., Ritter, J., Munisamy, M., Vaishnav, A. K., Gollob, J. A., & Simon, A. (2014). Effect of an RNA interference drug on the synthesis of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) and the concentration of serum LDL cholesterol in healthy volunteers: A randomised, single-blind, placebo-controlled, phase 1 trial. The Lancet, 383(9911), 60–68
- 196) Fitzgerald, K., White, S., Borodovsky, A., Bettencourt, B. R., Strahs, A., Clausen, V., Wijngaard, P., Horton, J. D., Taubel, J., Brooks, A., & others. (2017). A highly durable RNAi therapeutic inhibitor of PCSK9. New England Journal of Medicine, 376(1), 41–51
- 197) Churov, A., Summerhill, V., Grechko, A., Orekhova, V., & Orekhov, A. (2019). MicroRNAs as Potential Biomarkers in Atherosclerosis. International journal of molecular sciences, 20(22), 5547
- 198) Condrat, C. E., Thompson, D. C., Barbu, M. G., Bugnar, O. L., Boboc, A., Cretoiu, D., Suci, N., Cretoiu, S. M., & Voinea, S. C. (2020). miRNAs as Biomarkers in Disease: Latest Findings Regarding Their Role in Diagnosis and Prognosis. Cells, 9(2), 276
- 199) Nalbant, E., & Akkaya-Ulum, Y. Z. (2024). Exploring regulatory mechanisms on miRNAs and their implications in inflammation-related diseases. Clinical and experimental medicine, 24(1), 142
- 200) <https://tinyurl.com/bdfnspwc>

- 201) Churov, A., Summerhill, V., Grechko, A., Orekhova, V., & Orekhov, A. (2019). MicroRNAs as Potential Biomarkers in Atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(22), 5547
- 202) Karunakaran, D., Thrush, A. B., Nguyen, M. A., Richards, L., Geoffrion, M., Singaravelu, R., Ramphos, E., Shangari, P., Ouimet, M., Pezacki, J. P., Moore, K. J., Perisic, L., Maegdefessel, L., Hedin, U., Harper, M. E., & Rayner, K. J. (2015). Macrophage Mitochondrial Energy Status Regulates Cholesterol Efflux and Is Enhanced by Anti-miR33 in Atherosclerosis. *Circulation research*, 117(3), 266–278
- 203) Rayner, K. J., Suárez, Y., Dávalos, A., Parathath, S., Fitzgerald, M. L., Tamehiro, N., Fisher, E. A., Moore, K. J., & Fernández-Hernando, C. (2010). MiR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis. *Science (New York, N.Y.)*, 328(5985), 1570–1573
- 204) Goedeke, L., Rotllan, N., Canfrán-Duque, A., Aranda, J. F., Ramírez, C. M., Araldi, E., Lin, C. S., Anderson, N. N., Wagschal, A., de Cabo, R., Horton, J. D., Lasunción, M. A., Näär, A. M., Suárez, Y., & Fernández-Hernando, C. (2015). MicroRNA-148a regulates LDL receptor and ABCA1 expression to control circulating lipoprotein levels. *Nature medicine*, 21(11), 1280–1289
- 205) Skuratovskaia, D., Vulf, M., Komar, A., Kirienkova, E., & Litvinova, L. (2019). Promising Directions in Atherosclerosis Treatment Based on Epigenetic Regulation Using MicroRNAs and Long Noncoding RNAs. *Biomolecules*, 9(6), 226
- 206) Li, Z., Zhao, Y., Suguro, S., & Suguro, R. (2023). MicroRNAs Regulate Function in Atherosclerosis and Clinical Implications. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2023, 2561509
- 207) Kim, Y.-K. (2022). RNA therapy: rich history, various applications and unlimited future prospects. *Experimental & Molecular Medicine*, 54(4), 455–465
- 208) Zhang, Y., Li, F., Liu, L., An, Z., Luo, H., Zhang, H., Ma, R., Zhang, R., Dai, Q., Zhang, M., Tian, J., Liu, C., Song, X., & Lu, Y. (2025). Nanoparticle Drug Delivery Systems for Atherosclerosis: Precision Targeting, Inflammatory Modulation, and Plaque Stabilization. *Advanced science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)*, 12(36), e04990
- 209) Luo, Z., Jiang, Y., Liu, Z., Guo, L., Zhang, L., Rong, H., Duan, Z., Liang, H., Zhang, A., Wang, L., et al. (2024). Selenopeptide nanomedicine ameliorates

- atherosclerosis by reducing monocyte adhesions and inflammations. *Nano Research*, 17, 6332–6341
- 210) Li, D., Chen, J., Lu, Y., Yan, X., Yang, X., Zhang, F., Tang, Y., Cao, M., Wang, J., Pan, M., et al. (2024). Codelivery of dual gases with metal-organic supramolecular cage-based microenvironment-responsive nanomedicine for atherosclerosis therapy. *Small*, 20, e2402673
- 211) Karakasis, P., Theofilis, P., Vlachakis, P. K., Grigoriou, K., Patoulas, D., Antoniadis, A. P., & Fragakis, N. (2025). Reprogramming Atherosclerosis: Precision Drug Delivery, Nanomedicine, and Immune-Targeted Therapies for Cardiovascular Risk Reduction. *Pharmaceutics*, 17(8), 1028
- 212) Minelli, S., Minelli, P., & Montinari, M. R. (2020). Reflections on atherosclerosis: Lesson from the past and future research directions. *Journal of Multidisciplinary Healthcare*, 13, 621–633
- 213) Zeng, W., Deng, H., Luo, Y., Zhong, S., Huang, M., & Tomlinson, B. (2025). Advances in statin adverse reactions and the potential mechanisms: A systematic review. *Journal of advanced research*, 76, 781–797
- 214) Abduljabbar, M. H. (2024). PCSK9 inhibitors: Focus on evolocumab and its impact on atherosclerosis progression. *Pharmaceutics*, 17(12), 1581
- 215) En-Nasery, A., Bouziane, M., Haboub, M., & Habbal, R. (2025). The role of inflammation in atherosclerosis: Pathophysiology and therapeutic approaches. *South Asian Research Journal of Applied Medical Sciences*, 7(3), 81–86
- 216) Sopić, M., Vladimirov, S., Munjas, J., Mitić, T., Hall, I. F., Jusic, A., Ruzic, D., Devaux, Y., & AtheroNET COST Action CA21153. (2025). Targeting noncoding RNAs to treat atherosclerosis. *British Journal of Pharmacology*, 182(2), 220–245

Παραρτήματα

Πίνακας Α: Επισκόπηση βασικών siRNAs φαρμάκων

Παρατίθεται η επισκόπηση των siRNA φαρμάκων που βρίσκονται σε στάδιο κλινικών δοκιμών, η δράση τους και πιθανές θεραπευτικές τους εφαρμογές (Sarzani et al.,2024)

siRNA	Μοριακός μηχανισμός δράσης	Πιθανές θεραπευτικές εφαρμογές
Olpasiran, Lepodisiran	Αποικοδόμηση του mRNA της Lp(a) στο ήπαρ και αναστολή της παραγωγής της Lp(a)	- Σημαντική μείωση της Lp(a) - Πιθανή μείωση του κινδύνου της ASCVD - Μείωση των επιπέδων apoB, που σχετίζεται με την ASCVD. - Άριστη ανταπόκριση με δύο ή τρεις ενέσεις τον χρόνο.
ARO-APOC3	Αποικοδόμηση του mRNA της APOC3 του ήπατος και αναστολή της απολιποπρωτεΐνης C-III, οδηγώντας σε αυξημένη εκκαθάριση των τριγλυκεριδίων	- Σημαντική μείωση των τριγλυκεριδίων σε ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαμία και χυλομικροναμία. - Πιθανή μείωση του κινδύνου της ASCVD και παγκρεατίτιδας σε ασθενείς με υπερτριγλυκεριδαμία και χυλομικροναμία
Patisiran, Vutrisiran	Αποικοδόμηση του mRNA της TTR στο ήπαρ και μη επιτρεπόμενη παραγωγή της τρανσθυρετίνης, αποτρέποντας έτσι την συγκέντρωση στην αμυλοείδωση	-Σημαντική μείωση της TTR σε ασθενείς με αμυλοείδωση τρανσθυρετίνης (ATTR). - Βελτίωση των καρδιακών παραμέτρων και συμπτωμάτων σε ασθενείς με ATTR-καρδιομυοπάθεια. -Αύξηση της επιβίωσης - Πιθανή μείωση της θνησιμότητας - Άριστη ανταπόκριση, με τέσσερις ενέσεις τον χρόνο (vutrisiran).
Zilebesiran	Αποικοδόμηση του mRNA της AGT του ήπατος και μη επιτρεπόμενη παραγωγή του αγγειοτενσινογόνου,	-Σημαντική μείωση της συστολικής και διαστολικής αρτηριακής πίεσης σε ασθενείς με μη ελεγχόμενη υπέρταση.

	αγγειοτενσινικών πεπτιδίων και λειτουργίας του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης- αλδοστερόνης	-Μείωση του κινδύνου καρδιαγγειακών νοσημάτων -Άριστη ανταπόκριση με δύο ή τέσσερις ενέσεις τον χρόνο
--	---	--

Πίνακας Β. Θεραπευτικές στρατηγικές βασισμένες στα miRNAs για την αντιμετώπιση της αθηροσκλήρωσης

Επισκόπηση θεραπευτικών προσεγγίσεων που βασίζονται σε miRNAs, των επιδράσεών τους στην αθηροσκλήρωση και του αντίστοιχου σταδίου κλινικής ανάπτυξης (Li et al.,2023)

Θεραπευτική Προσέγγιση	miRNA	Επιδράσεις στην Αθηροσκλήρωση	Κλινικό στάδιο
Antisense oligonucleotide (anti-miRs)	-miR-494	-Σταθεροποίηση πλάκας	-Προκλινικό
	-miR-33	-Μειωμένη λιπιδική συσσώρευση	-Προκλινικό
	-miR-712	-Μειωμένη φλεγμονή ενδοθηλίου	-Προκλινικό
	-miR-144	-Ελεγχόμενος μεταβολισμός χοληστερόλης και ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας	-Προκλινικό
miRNA mimics	-miR-210	-Μειωμένη λιπιδική συσσώρευση	- Συμμετοχή εθελοντών για δοκιμές
	-miR-125a-5p	-Μειωμένη αγγειακή δυσλειτουργία	-Προκλινικό
	-miR-29a-3p	-Μειωμένη ox-LDL	-Προκλινικό
	-miR-155	-Μειωμένη φλεγμονή	-Προκλινικό
miRNA Inhibitors	-miR-29	- Λειτουργικό ενδοθηλιακό περιβάλλον	- Προκλινικό
	-miR-24-3p	- Περιορισμός πολλαπλασιασμού λείων κυττάρων VSMCs	-Προκλινικό

Υπεύθυνη Δήλωση Συγγραφέα:

Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν.1599/1986, η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής μου εργασίας, δεν προσβάλλει κάθε μορφής δικαιώματα διανοητικής ιδιοκτησίας, προσωπικότητας και προσωπικών δεδομένων τρίτων, δεν περιέχει έργα/εισφορές τρίτων για τα οποία απαιτείται άδεια των δημιουργών/δικαιούχων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και μόνον και πληρούν τους κανόνες της επιστημονικής παράθεσης.