



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ, ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΕΙΑΣ & ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**«Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ ΣΕ ΥΓΙΕΙΣ
ΚΑΠΝΙΣΤΕΣ»**

Λάζαρος Κ. Παρασκευόπουλος

Τριμελής επιτροπή

Καλιώρα Ανδριάννα, Λέκτορας Χαροκοπείου Πανεπιστημίου (επιβλέπουσα)

Καλογερόπουλος Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής Χαροκοπείου Πανεπιστημίου

Τέντα Ρωξάνη, Επίκουρη Καθηγήτρια Χαροκοπείου Πανεπιστημίου

Αθήνα, 2013

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**«Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ ΣΕ ΥΓΙΕΙΣ
ΚΑΠΝΙΣΤΕΣ»**

Λάζαρος Κ. Παρασκευόπουλος

Τριμελής επιτροπή

Καλιώρα Ανδριάννα, Λέκτορας Χαροκοπείου Πανεπιστημίου (επιβλέπουσα)

Καλογερόπουλος Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής Χαροκοπείου Πανεπιστημίου

Τέντα Ρωξάνη, Επίκουρη Καθηγήτρια Χαροκοπείου Πανεπιστημίου

Αθήνα, 2013

Στη μνήμη της γιαγιάς μου, Μαρίας

Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη με τίτλο «Επίδραση της κατανάλωσης σταφίδας σε υγιείς καπνιστές» πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών, στα πλαίσια του προπτυχιακού προγράμματος για την απόκτηση του πτυχίου στην Επιστήμη Διαιτολογίας- Διατροφής.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω εκ βαθέων την επιβλέπουσά μου κ. Ανδριάννα Καλιώρα για το αμείωτο ενδιαφέρον που έδειξε αυτό το διάστημα απέναντί μου και για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση που μου προσέφερε.

Επίσης θα ήθελα να εκφράσω θερμές ευχαριστίες στον υπονήφιο διδάκτορα κ. Παναγιώτη Κανέλλο, χωρίς τη συμβολή του οποίου δε θα ήταν δυνατή η αποπεράτωση της παρούσας πτυχιακής μελέτης, για την άψογη συνεργασία μας κατά τη διεξαγωγή του πειραματικού μέρους, αλλά και για τη βοήθειά του στο τελικό γραπτό κείμενο.

Ακόμη, ευχαριστίες για όλα τα μέλη του εργαστηρίου που ήταν πρόθυμα να βοηθήσουν σε ό,τι χρειαζόμουν.

Τέλος, ευχαριστώ από τα βάθη της ψυχής μου τους γονείς μου, Κώστα και Κατερίνα, και τον αδερφό μου Γιώργο που, ως αφανείς ήρωες, είναι δίπλα μου όλα αυτά τα χρόνια και με στηρίζουν.

Περίληψη

Η υψηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών έχει συσχετισθεί με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης χρόνιων εκφυλιστικών νόσων μέσω της επίδρασής τους στη μείωση του οξειδωτικού στρες. Τα τελευταία χρόνια τα παραδοσιακά αποξηραμένα φρούτα αποτελούν όμοια αντικείμενο έρευνας λόγω της πλούσιας διατροφικής τους αξίας (σύνθετοι υδατάνθρακες, φυτικές ίνες, φυτοχημικά συστατικά κτλ.).

Σκοπός: Να προσδιορισθούν τα επίπεδα δεικτών οξειδωτικού στρες και φλεγμονής καθώς και η λειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου και οι μεταβολές στην αρτηριακή σκληρία μετά από παρέμβαση με Κορινθιακή σταφίδα σε φαινομενικά υγιείς βαρείς καπνιστές με χαμηλή συμμόρφωση στις συστάσεις για την υιοθέτηση του Μεσογειακού διατροφικού προτύπου, ειδικότερα αναφορικά με την κατανάλωση φρούτων-λαχανικών.

Μεθοδολογία: Παρέμβαση διάρκειας 1 μήνα με κατανάλωση σταφίδας σε υγιείς βαρείς καπνιστές. Τόσο πριν (προκαταρκτικό στάδιο), όσο και μετά (επανελέγχος) την παρέμβαση πραγματοποιήθηκε μια σειρά από κλινικο-εργαστηριακές μετρήσεις. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε μέτρηση των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών και της συστολικής και διαστολικής αρτηριακής πίεσης. Επίσης διεξήχθησαν βιοχημικές εξετάσεις (γλυκόζη, λιπίδια, ολικές πρωτεΐνες, ηπατικά ένζυμα) καθώς και μέτρηση των δεικτών φλεγμονής και οξειδωτικού στρες. Τέλος, αξιολογήθηκαν και οι δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας (ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή-FMD) και αρτηριακής σκληρίας (ταχύτητα σφυγμικού κύματος-PWV).

Αποτελέσματα: Παρατηρήθηκε μείωση της προσλαμβανόμενης ενέργειας και ρύθμιση του σωματικού βάρους των εθελοντών στο τέλος της παρέμβασης. Ακόμη στο τέλος της παρέμβασης επήλθε ρύθμιση της διαστολικής αρτηριακής πίεσης και της CRP, ενώ μειώθηκαν τα επίπεδα λεπτίνης ορού. Επίσης, παρατηρήθηκε αύξηση του FMD. Τέλος, παρατηρήθηκε αύξηση στην τιμή της oxLDL ορού χωρίς αυτή να συνοδεύεται από ταυτόχρονη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας πλάσματος.

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματα αυτής της πιλοτικής μελέτης αποτελούν ενδείξεις της ευεργετικής επίδρασης της διαιτητικής τροποποίησης με την υιοθέτηση της κατανάλωσης αποξηραμένων φρούτων και αξίζει περαιτέρω διερεύνησης.

Abstract

High consumption of fruits and vegetables has been associated with decreased risk of chronic degenerative diseases, through their effects on oxidative stress. In recent years, research on traditional dried fruits is also growing, because of their rich nutritional value (complex carbohydrates, fiber, phytochemical compounds, etc.).

Objective: To determine the oxidative stress, the inflammatory markers and function of the vascular endothelium. Also, to determine changes in arterial stiffness after intervention with currants in apparently healthy heavy smokers with low MedDiet score, specifically with low fruit and vegetable consumption.

Design: We conducted a pilot study in apparently healthy heavy smokers with low MedDiet score supplemented with currants (5 servings) for a total of 1 month. Currants substituted any “snacking” defined as food or drink eaten between main meals. Both before (baseline) and after (endpoint) intervention several clinical parameters were measured. Specifically, we examined anthropometric parameters and both diastolic and systolic blood pressure. Also, we conducted biochemical tests (plasma glucose, lipids, total protein and liver enzymes levels). Markers of inflammation and oxidative stress were tested as well. Furthermore, we evaluated endothelial function (flow mediated dilatation, FMD) and arterial stiffness (pulse wave velocity, PWV).

Results: We noted a decrease in energy intake and body weight regulation. Also we reported decrease in diastolic blood pressure and CRP, and decrease in leptin levels. There was an increase of FMD as well. Strangely enough, we noted an increase in oxLDL (without concomitant reduction in plasma antioxidant capacity) and in liver enzymes (within normal limits).

Conclusions: The results of this pilot study are evidence of the beneficial effect of dietary change with the adoption of consumption of dried fruits and deserves further investigation.

Πίνακας περιεχομένων

Ευχαριστίες	4
Περίληψη	5
Abstract	6
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΑ ΦΡΟΥΤΑ	9
1.1 Εισαγωγή.....	9
1.2 Παραδοσιακά αποξηραμένα φρούτα	12
1.3 Κορινθιακή σταφίδα.....	13
1.3.1 Γενικά.....	13
1.3.2 Κατεργασία Κορινθιακής σταφίδας.....	15
1.3.3 Συστατικά της σταφίδας	17
1.3.4 Ανασκόπηση μελετών σχετικών με τη σταφίδα.....	18
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	21
2.1 Ορισμός & Επιδημιολογία καρδιαγγειακών νοσημάτων	21
2.2 Παθοφυσιολογία καρδιαγγειακών νοσημάτων	23
2.2.1 Αρτηριοσκλήρωση	23
2.2.2 Στάδια αθηροσκληρωτικής διεργασίας.....	24
2.2.3 Ρόλος του οξειδωτικού στρες στην αθηροσκλήρωση	27
2.3 Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων	28
2.3.1 Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου	28
2.3.2 Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου.....	34
2.4 Ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (FMD) σε μελέτες παρέμβασης	34
2.5 Ταχύτητα σφυγμικού κύματος και αρτηριακή σκληρία.....	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	37
3.1 Σκοπός και σχεδιασμός της μελέτης.....	37
3.2 Στάδια της μελέτης.....	37
3.2.1 Προκαταρτικό στάδιο	37
3.2.2 Στάδιο παρέμβασης	42
3.2.3 Στάδιο επανεξέτασης.....	42
3.3 Εργαστηριακές αναλύσεις	43
3.4 Μετρήσεις δεικτών οξειδωτικού στρες και φλεγμονής.....	43
3.4.1 Μέτρηση της λεπτίνης ορού	43
3.4.2 Μέτρηση της οξειδωμένης LDL (oxLDL) ορού.....	44
3.4.3 Μέτρηση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (hs-CRP) ορού	45
3.4.4 Μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (AOP) πλάσματος.....	46

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	48
4.1 Χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή της μελέτης	48
4.2 Ανάλυση των διατροφικών προσλήψεων	49
4.3 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά.....	50
4.4 Συστολική αρτηριακή πίεση, διαστολική αρτηριακή πίεση και σφίξεις	51
4.5 Βιοχημικές αναλύσεις.....	51
4.6 Αξιολόγηση ενδοθηλιακής λειτουργίας.....	52
4.7 Δείκτες φλεγμονής και οξειδωτικού στρες	53
4.8 Συζήτηση επί των αποτελεσμάτων	53
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	55
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	61

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΑ ΦΡΟΥΤΑ

1.1 Εισαγωγή

Η επίδραση της διατροφής στην υγεία έχει αναγνωριστεί από τους αρχαίους χρόνους. Γνωστές είναι άλλωστε και οι αναφορές του Ιπποκράτη για τη σχέση διατροφής-υγείας. Κατά την τελευταία τριακονταετία όμως, η επιστήμη της διατροφής και των τροφίμων έχει εστιαστεί στο ρόλο ορισμένων τροφίμων και διατροφικών σχημάτων στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης εκφυλιστικών και χρόνιων ασθενειών. Επιπροσθέτως, η επιστήμη της διατροφής άρχισε να εστιάζει στη διερεύνηση της βέλτιστης διατροφής, δηλαδή της διατροφής που όχι μόνο παρέχει επαρκή θρεπτικά συστατικά για τη διατήρηση της ανάπτυξης και της αναπαραγωγής, αλλά προάγει την υγεία και τη μακροζωία μειώνοντας ταυτόχρονα τον κίνδυνο ασθενειών.

Πρόσφατες έρευνες δείχνουν ότι δίαιτες που βασίζονται σε μεγάλο βαθμό σε φυτικά τρόφιμα, όπως είναι η Μεσογειακή Διατροφή, μπορεί να είναι το ιδανικότερο διατροφικό σχήμα προς μίμηση. Αυτό διότι, επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει μια σταθερή, αντίστροφη σχέση μεταξύ μιας διατροφής πλούσιας σε φρούτα και λαχανικά και της μείωσης του κινδύνου για πολλές χρόνιες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένων του καρκίνου (Block et al., 1992, WHO, 2008, Steinmetz et al., 1996), των καρδιαγγειακών νοσημάτων (Hung et al., 2004, Hu et al., 2003) και των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων (Ness et al., 1997). Επιπλέον, πολλές έρευνες εστιάζουν στη μελέτη του ευεργετικού ρόλου των φυτικών τροφίμων σε φλεγμονώδεις νόσους (Edwards, 2005) όπως η αρθρίτιδα, στη μείωση της επίπτωσης της παχυσαρκίας και στον έλεγχο του Σακχαρώδη Διαβήτη (Schroeder, 2007, Feldeisen et al., 2007). Τα φρούτα και τα λαχανικά, επίσης, φαίνεται ότι μπορούν να δράσουν προστατευτικά έναντι της οστεοπόρωσης (Laham-New., 2006) και να ενισχύσουν το ανοσοποιητικό σύστημα. Ακόμη έρευνες έχουν δείξει ότι υψηλότερη πρόσληψη φρούτων και λαχανικών κατά την παιδική ηλικία σχετίζεται με μικρότερη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου και αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων κατά την ενήλικη ζωή (Maynard et al., 2003, Ness et al., 2005).

Στις Ηνωμένες Πολιτείες, οι διατροφικές κατευθυντήριες οδηγίες που εκδίδονταν από τους οργανισμούς υγείας έως το 1977 είχαν έντονα προωθήσει την αύξηση καθημερινής κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών (Bal et al., 1991). Η πιο πρόσφατη Διαιτητική Οδηγία για τους Αμερικανούς που δημοσιεύθηκε από το Αμερικανικό Υπουργείο Γεωργίας (USDA) το 2005, συστήνει ότι οι ενήλικες πρέπει να καταναλώνουν 7 έως 13 μερίδες φρούτων και

λαχανικών ημερησίως, σύμφωνα με τις θερμιδικές δαπάνες τους, και τα παιδιά 4 έως 10 αντίστοιχα, ανάλογα με την ηλικία τους (USDA, 2005).

Τα φρούτα και τα λαχανικά δεν είναι μόνο σημαντικές πηγές φυτικών ινών, βιταμινών και μετάλλων, αλλά παρέχουν επίσης μια σειρά βιοδραστικών συστατικών ή φυτοχημικών. Αυτές οι φυτικές ενώσεις δεν είναι απαραίτητες για τη διατήρηση της ζωής, αλλά παίζουν ζωτικό ρόλο στην υγεία και τη μακροζωία και έχουν συσχετισθεί με μείωση του κινδύνου εμφάνισης χρόνιων παθήσεων. Υπολογίζεται ότι περισσότερα από 5.000 φυτοχημικά έχουν εντοπιστεί με ένα, παρόλα αυτά, μεγάλο ποσοστό να εξακολουθεί να παραμένει άγνωστο. Στοιχεία δείχνουν ότι τα οφέλη των φυτοχημικών που βρίσκονται στα φρούτα και τα λαχανικά μπορεί να είναι ακόμη μεγαλύτερα, δεδομένου ότι επηρεάζουν μεταβολικές πορείες και κυτταρικές αντιδράσεις συμμετέχοντας στην αιτιολογία εμφάνισης χρόνιων ασθενειών (Hooper et al., 2008).

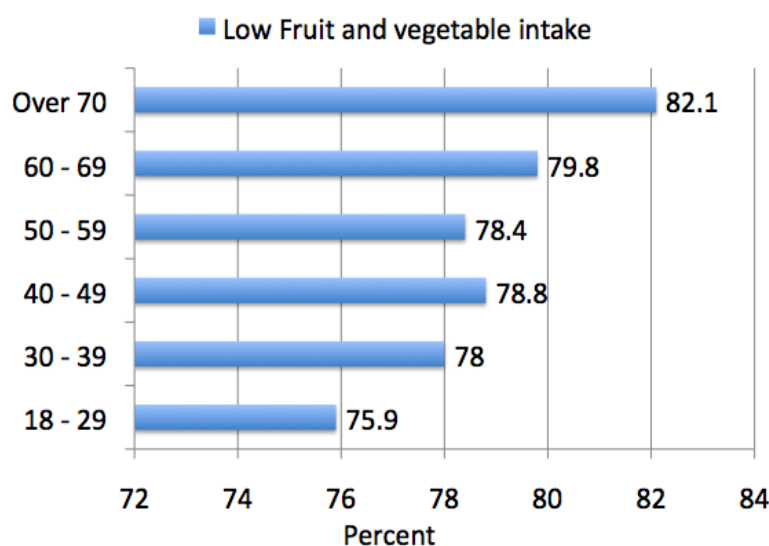
Για όλους τους προαναφερόμενους λόγους, η επιστημονική κοινότητα προωθεί τις συστάσεις για τους πληθυσμούς να καταναλώνουν περισσότερα φρούτα και λαχανικά για τους εξής τρεις λόγους:

- i. η υψηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο πολλών χρόνιων ασθενειών
- ii. τα περισσότερα φρούτα και λαχανικά παρέχουν πληθώρα απαραίτητων θρεπτικών συστατικών, συμπεριλαμβανομένων των φυτικών ινών, του καλίου, του ασβεστίου, του μαγνησίου και των βιταμινών A, C και K (Gibney, et al., 2007)
- iii. τα περισσότερα φρούτα και λαχανικά έχουν πολύ χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο, αποδίδουν σχετικά λίγες θερμίδες και ο λόγος φυτικών ινών/σακχάρων είναι υψηλός

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) εκτιμά ότι το 2000 περίπου 2,7 εκατομμύρια θάνατοι (4,9%) και 26,7 εκατομμύρια χαμένα έτη ζωής λόγω ανικανότητας (DALYs) μπορούν να αποδοθούν στη χαμηλή κατανάλωση φυτικών τροφίμων σε παγκόσμιο επίπεδο (Lock et al., 2005). Επιπροσθέτως, το 31% των συμβαμάτων ισχαιμικής καρδιοπάθειας, το 20% του καρκίνου του οισοφάγου, το 19% των ασθενών με ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, το 19% του καρκίνου του στομάχου και το 12% του καρκίνου των πνευμόνων παγκοσμίως θα μπορούσαν να προληφθούν αυξάνοντας την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών στην ελάχιστη επαρκή συνιστώμενη πρόσληψη (AI) που θεσπίστηκε από τον WHO (5 μερίδες φρούτων και λαχανικών ημερησίως, των 80g η καθεμία) (WHO, 2003). Αντίστοιχα στην Ευρώπη, ο εκτιμώμενος

αριθμός των θανάτων που θα μπορούσαν να αποφευχθούν κυμαίνεται από 44.000 (αν η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών ήταν η ελάχιστη επαρκής συνιστώμενη) έως και 121.000 (αν η κατανάλωση έφτανε τα 600g ανά ημέρα – δηλαδή περίπου 7,5 μερίδες) (Pomerleau et al, 2005). Συνεπώς, παρόλη την πολυπαραγοντικότητα όσον αφορά τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων και καρκίνου, η επίδραση των φρούτων και λαχανικών είναι καθοριστική. Ευρήματα από τον WHO δείχνουν ότι το 28% των περιστατικών ισχαιμικής καρδιακής νόσου στις ανεπτυγμένες περιοχές του κόσμου θα μπορούσε να αποδοθεί στην έλλειψη φρούτων και λαχανικών από τη διατροφή (WHO, 2002).

Μια πρόσφατη ανάλυση των δεδομένων από 52 χώρες που έλαβαν μέρος στην World Health Survey (2002-2003) έδειξε ότι το 78% των ερωτηθέντων κατανάλωναν μικρότερες από τις ελάχιστες συνιστώμενες πέντε μερίδες φρούτων και λαχανικών την ημέρα (Hall et al, 2009). Το υψηλό ποσοστό της μικρής κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών διαπιστώθηκε ανάμεσα στους πλούσιους και τους φτωχούς (73,4% και 81,6% για τα υψηλότερα και χαμηλότερα πεμπτημόρια εισοδήματος), μεταξύ των νέων και των ηλικιωμένων (Σχήμα 1.1), μεταξύ αστικών και αγροτικών περιοχών αλλά και μεταξύ των δύο φύλων.



Σχήμα 1.1 Κατανάλωση φρούτων και λαχανικών στους άνδρες και τις γυναίκες ανάλογα με την ηλικία τους (δείγμα από 52 χώρες)

Αντίστοιχα δεδομένα εμφανίζονται και στην Αυστραλία (Australian Bureau of Statistics, 2006), τη Νότια Αφρική, την Αγγλία και τις Ηνωμένες Πολιτείες (Guenther, 2006). Επιπλέον, εξετάζοντας μόνο την κατανάλωση φρούτων στις ΗΠΑ η πρόσληψη είναι χαμηλή μεταξύ όλων των ηλικιακών ομάδων, ενώ περισσότερο από το 75% των ενήλικων ανδρών και γυναικών δεν

καταναλώνουν την ελάχιστη συνιστώμενη ποσότητα φρούτων την ημέρα (Report of the Dietary Guidelines for Americans Committee on the Dietary).

1.2 Παραδοσιακά αποξηραμένα φρούτα

Παραδοσιακά, καλούνται εκείνα τα τρόφιμα τα οποία είναι άμεσα συνδεδεμένα με τη διατροφική κουλτούρα μίας μικρής κοινωνίας ή και χώρας. Διασώζονται μέχρι σήμερα μεταδιδόμενα στις επόμενες γενιές, διατηρώντας αναλλοίωτο τον παραδοσιακό χαρακτήρα που αφορά στον τρόπο παραγωγής τους. Παρά τις τεχνολογικές εξελίξεις, δεν αποτελούν βιομηχανοποιημένα προϊόντα και αυτό διαφαίνεται τόσο στη σχετικά μικρή κλίμακα παραγωγής τους αλλά και στις χρησιμοποιούμενες πρώτες ύλες (π.χ. φρούτα από εντόπιες ποικιλίες). Όπως αναφέρεται και παρακάτω, δεν γίνεται χρήση τεχνητών συντηρητικών, αλλά τα τελευταία υποκαθίστανται από φυσικές μεθόδους συντήρησης (π.χ. ξύδι, υποκαπνισμός, φυσική ξήρανση).

Στην κατηγορία των παραδοσιακών αποξηραμένων φρούτων εμπεριέχονται εκείνα τα φρούτα στα οποία έχει γίνει απομάκρυνση ενός μεγάλου μέρους του αρχικού περιεχομένου τους σε νερό, είτε με φυσικό τρόπο μέσω ξήρανσης (π.χ. σταφίδες και σύκα) είτε μέσω της χρήσης εξειδικευμένων στεγνωτηρίων ή αφυγραντήρων (π.χ. αποξηραμένα δαμάσκηνα). Περιλαμβάνει τα αποξηραμένα ροδάκινα και βερίκοκα και τα άλλα αποξηραμένα φρούτα τα οποία επεξεργάζονται με διοξείδιο του θείου πριν την ξήρανση για να ανασταλεί η αμαύρωση (μη ενζυμική αμαύρωση-αντίδραση Maillard). Περιλαμβάνονται επίσης οι χουρμάδες, οι οποίοι θεωρούνται ως αποξηραμένα φρούτα, ακόμη και αν οι περισσότερες ποικιλίες δεν είναι ξηρά, αλλά "φρέσκα" φρούτα με φυσικά χαμηλή περιεκτικότητα σε υγρασία. Στα παραδοσιακά αποξηραμένα φρούτα δεν περιλαμβάνονται ξηρά φρούτα στα οποία προστίθενται διαλύματα ζάχαρης ή χυμοί φρούτων, ή ζαχαρωμένα αποξηραμένα φρούτα (π.χ. αποξηραμένος ανανάς) ή αφυδατωμένα φρούτα με πολύ χαμηλή περιεκτικότητα σε υγρασία. Επιπλέον, τα παραδοσιακά αποξηραμένα φρούτα, διατηρούν το μεγαλύτερο κομμάτι της διατροφικής αξίας των αντίστοιχων νωπών ομολόγων φρούτων.

Αξίζει να σημειωθεί ότι εδώ και χρόνια, τα αποξηραμένα φρούτα θεωρούνται ως «ολόκληρα τρόφιμα» διατροφικά ισοδύναμα με τα φρέσκα φρούτα στις Ηνωμένες Πολιτείες. Αυτό αποτυπώνεται ακόμη και στην αγορά, τοποθετώντας τα αποξηραμένα φρούτα μαζί με τα νωπά. Τα αποξηραμένα φρούτα επίσης έχουν συμπεριληφθεί ως ισοδύναμα των νωπών φρούτων στις τρέχουσες διατροφικές συστάσεις στην Αργεντινή, Αυστραλία, Καναδά, αλλά και σε χώρες της ΕΕ (FAO, 2011).

Τέλος, τα αποξηραμένα φρούτα θα πρέπει να συμπεριλαμβάνονται στις νέες συστάσεις στο πλευρό των νωπών φρούτων παγκοσμίως, διότι λαμβάνοντας υπόψη τις αναλογίες των φρούτων κατά την ξήρανση (νωπά: αποξηραμένα), μία μερίδα αποξηραμένων φρούτων θα μπορούσε να συμβάλλει σημαντικά στην εκπλήρωση του ημερήσιου στόχου για τη συνιστώμενη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών.

Μερικά από τα πλεονεκτήματα των αποξηραμένων φρούτων είναι:

- i. εύκολα στην αποθήκευση και διανομή
- ii. διαθέσιμα όλο το χρόνο
- iii. εύκολη ενσωμάτωση σε συνταγές
- iv. υγιεινή εναλλακτική λύση των σνακ
- v. σχετικά χαμηλό κόστος

1.3 Κορινθιακή σταφίδα

1.3.1 Γενικά

Το σταφύλι είναι μετρίου μεγέθους, κυλινδρικό, με μέσο βάρος να κυμαίνεται περί των 200g (Κριμπά, 1943). Η ωρίμανση του φυτού ξεκινάει στις αρχές Αυγούστου στις πεδινές και φτάνει μέχρι τα τέλη Σεπτεμβρίου σε ορεινές καλλιέργειες. Η Κορινθιακή σταφίδα ευδοκimeί και παρουσιάζει μεγάλη απόδοση σε εδάφη ελαφρά, καλώς στραγγιζόμενα, έστω και χαλκώδη. Πρέπει να τονισθεί ότι παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία στα παθογόνα (ευδεμίδα, ίσκα, περονόσπορο και ωίδιο) και για αυτό το λόγο χρήζει ιδιαίτερης φροντίδας (Νταβίδης, 1982, Σταύρακας, 1993).

Η σταφιδάμπελος, προϋπήρχε στην Πελοπόννησο. Πρώτη σχετική μαρτυρία συναντάμε στον Αριστοτέλη, ο οποίος μιλά για ατελή σταφύλια με μικρές ρόγες, τα οποία στερούνται πυρήνα ή διαθέτουν ένα πολύ μικρό σε μέγεθος πυρήνα. Πολύ αργότερα, στις αρχές του 14^{ου} αιώνα, η ύπαρξή της επικυρώνεται από γραπτές μαρτυρίες, καθώς περιοχές της Πελοποννήσου χαρακτηρίζονται ως οι εξαγωγικοί λιμένες της Κορινθιακής σταφίδας (Σάββα, 2006).

Οι καρποί που προορίζονται για σταφιδοποίηση αποκαλούνται: Κορινθιακή σταφίδα (ελλην.), Raisin de Corinthe (γαλλ.), Currant (αγγλ.), Passolina, Passerina (ιταλ.), Kuru uzum (τουρκ.). Από τις τρεις υπάρχουσες υποποικιλίες (μαύρη, λευκή, ερυθρά) σε μεγαλύτερη έκταση καλλιεργείται η μαύρη Κορινθιακή, η οποία είναι και η πιο παραγωγική. Η λευκή υποποικιλία

συναντάται κατά κύριο λόγο στους αμπελώνες της Ζακύνθου, ενώ η μικρότερης παραγωγικότητας κόκκινη παράγεται στην περιοχή της Κεφαλονιάς.

Όσον αφορά στις περιοχές στις οποίες ευδοκίμει και καλλιεργείται η Κορινθιακή σταφίδα σήμερα, αναφέρονται οι νομοί Αχαΐας, Ζακύνθου, Ηλείας, Κεφαλληνίας, Κορινθίας και Μεσσηνίας.

Η Κορινθιακή σταφίδα σήμερα χαρακτηρίζεται από περιοχή προέλευσης (Προϊόν ονομασίας προέλευσης, ΠΟΠ), λόγω διαφοράς στην ποιότητα του προϊόντος και μπορεί να ταξινομηθεί σε 2 κατηγορίες:

- i. Η σταφίδα που κατατάσσεται στην κατηγορία υψηλότερης ποιότητας παράγεται στη βόρεια Πελοπόννησο και μπορεί να ταξινομηθεί σε δύο υποκατηγορίες
 - Vostizza, προϊόν ονομασίας προέλευσης που παράγεται στο Αίγιο
 - Gulf, παράγεται στις περιοχές Κορινθία, Νεμέα και Κιάτο
- ii. Η σταφίδα Provincial ανήκει στη δεύτερη κατηγορία και παράγεται στην νότια Πελοπόννησο, όπως επίσης και σε Κεφαλονιά και Ζάκυνθο (Zante).

Η παραπάνω κατηγοριοποίηση, βάσει ποιότητας, γίνεται με γνώμονα τα χαρακτηριστικά των προϊόντων, αλλά και των γεωργικών πρακτικών που ακολουθούνται (Chiou et al., 2007).

Σήμερα οι εξαγωγές σταφίδας αποτελούν το 2%-3% της αξίας των συνολικών εξαγωγών, καθιστώντας την ως ένα από τα βασικότερα εξαγωγικά προϊόντα. Κατά τα τέλη του 19^{ου} αιώνα η καλλιέργεια και το εμπόριο αυτού του προϊόντος αποτέλεσε εφελκυστήρα ανάπτυξης για την περιοχή (οικονομική, ανάπτυξη υποδομών-π.χ. διώρυγα Κορίνθου) λόγω της μεγάλης εξαγωγικής «δύναμης» (70% των εξαγωγών).

Σήμερα η Κορινθιακή σταφίδα καλλιεργείται και εκτός των ελληνικών συνόρων, σε μικρότερη βέβαια κλίμακα. Το εμπόριο Κορινθιακής σταφίδας απολαμβάνει μεγαλύτερα κέρδη σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη, λόγω μικρότερης παραγωγής (παράγεται σε ορισμένα μέρη της Ελλάδας), της εξαιρετικής γεύσης-χρώματος καθώς και της επεξεργασίας που υφίσταται (Karathanos, 1999). Βέβαια, η καλλιέργεια της Κορινθιακής σταφίδας δεν ευνοείται σε άλλες χώρες λόγω διαφορών σε κλίμα και έδαφος και μάλιστα υπάρχουν χαρακτηριστικά (σκούρο χρώμα, στυφή γεύση, ανάπτυξη καρπού) που την καθιστούν μοναδική (συγκριτικά με άλλες χώρες).

Τέλος, η περεταίρω ανάπτυξη αυτού του προϊόντος (παραγωγή, εμπόριο) θα μπορούσε να επιτευχθεί μέσω της προβολής των ευεργετικών για την υγεία επιδράσεων και καθιστώντας την ως ένα προϊόν αποκλειστικώς ελληνικής προέλευσης.

1.3.2 Κατεργασία Κορινθιακής σταφίδας

Ξήρανση σταφίδας

Η ξήρανση της σταφίδας λαμβάνει χώρα είτε στον ήλιο είτε στη σκιά με διάφορες μεθόδους. Πιο διαδεδομένη θεωρείται η πρώτη μέθοδος που πραγματοποιείται σε ακάλυπτα χωμάτινα ξηραντήρια (αλώνια) επάνω σε σταφιδόχαρτο, σε ξηραντήρια από σκυρόδεμα και σε τζιβιέρες (σιδερένια ή ξύλινα πλαίσια με συρμάτινη επιφάνεια). Ακόμη ένας τρόπος ξήρανσής της πραγματοποιείται σε ειδικά ξηραντήρια με κάλυψη. Ο χρόνος της ξήρανσης στα ακάλυπτα ξηραντήρια κυμαίνεται από 7-12 ημέρες και εξαρτάται από τις υπάρχουσες καιρικές συνθήκες.

Η διαδικασία ξήρανσης στη σκιά δίνει σταφίδες ανώτερης ποιότητας. Βάσει της συγκεκριμένης μεθόδου, πραγματοποιείται ανάρτηση των σταφυλιών σε σύρματα σε μόνιμο ξηραντήριο - στέγαστρο ή ξήρανσή τους υπό τη σκιά του φυλλώματος του πρεμνού, διαδικασία που διαρκεί περίπου 20 μέρες. Εν συνεχεία οι σχεδόν αποξηραμένες σταφίδες εκτίθενται στον ήλιο για 2 επιπλέον ημέρες για να επιτευχθεί πλήρης ξήρανση. Λόγω του μεγάλου χρόνου που απαιτείται, η διαδικασία αυτή δε χρησιμοποιείται εκτεταμένα (Χαλουλάκος, 1993).

Επεξεργασία σταφίδας

Μετά την ξήρανση ακολουθεί το «τρίψιμο» ούτως ώστε να επιτευχθεί η απομάκρυνση των βοστρύχων. Εν συνεχεία έρχεται το «λίχνισμα» και το «κοσκίνισμα» κατά το οποίο γίνεται η ρήψη της σταφίδας από ένα ορισμένο ύψος για να απαλλαγεί από ξένες ύλες (φυσικοί κίνδυνοι για το προϊόν). Ακολούθως επιλέγεται το τελικό προϊόν που έχει χρώμα ελαφρώς καστανό έως σκούρο, και ακολουθεί επεξεργασία αυτού.

Στα σταφιδο-εργαστήρια η διαδικασία της επεξεργασίας δομείται σε τρία στάδια:

1) Πρόπλυση - Στράγγισμα

Κατά το πρώτο στάδιο της επεξεργασίας, από τη σταφίδα απομακρύνονται ξένες ύλες, κούφιας ράγες, διασπώνται σβόλοι σταφίδων και καθαρίζεται η επιφάνειά αυτών από τα σάκχαρα, που προέρχονται από τους τραυματισμούς των ραγών. Το «πλύσιμο» διαρκεί περίπου για ένα λεπτό ώστε να μην απορροφηθεί νερό. Τέλος, το στράγγισμα επιτυγχάνεται με ταλαντευόμενα κόσκινα ενώ παράλληλα απομακρύνεται ένα ποσοστό μίσχων και λοιπών ξένων υλών.

2) Απομίσχυση - Στίλπνωση

Για την απομίσχυση χρησιμοποιούνται συνήθως μηχανήματα που περιέχουν διάτρητα κόσκινα μέσα στα οποία περιστρέφονται πτερύγια. Κατά τη διαδικασία της απομίσχυσης η σταφίδα υφίσταται αρκετές ζημιές. Οπότε για την ελαχιστοποίηση αυτών χρησιμοποιούνται ελαιώδεις ουσίες, οι οποίες τονώνουν το χρώμα και αποδίδουν στιλπνότητα στο προϊόν. Τα έλαια που χρησιμοποιούνται είναι τα εξής:

- i. ελαιόλαδο ραφινέ σε πυρηνέλαιο χαμηλής οξύτητας σε ποσοστό έως 0,3%
- ii. παραφινέλαιο σε αναλογία 0,3 - 0,5% του ξηρού βάρους της σταφίδας
- iii. εμπορικά σκευάσματα όπως το Sultanol, το Migryol, το Myraget κ.ά. (η χρήση αυτών απαιτείται να γίνεται με προσοχή, καθώς μπορούν να προκαλέσουν εμφάνιση επικίνδυνων οσμών)

3) Τυποποίηση - Συσκευασία

Η τυποποίηση της σταφίδας γίνεται ανάλογα με το μέγεθος και επιτυγχάνεται με το πέρασμα των σταφίδων από σειρά κόσκινων με τρύπες ανάλογες με τους επιζητούμενους ποιοτικούς τύπους. Βάσει μεγέθους και ποιότητας η Κορινθιακή σταφίδα κατατάσσεται ως εξής:

- i. Με βάση το μέγεθος κατατάσσεται σε Bold, Medium, Small, Siltings και Ungraded. Βέβαια στον εμπορικό κλάδο έχουν καθιερωθεί τα τοπωνυμικά σήματα όπως Vostizza, Gulf, Zante κ.ά.
- ii. Με βάση το χρώμα, την περιεχόμενη υγρασία, τις εμπεριεχόμενες ξένες ύλες και το ποσοστό ισχνών, κόκκινων τραυματισμένων, πολύ χονδρών ή πολύ ψιλών και αναπομίσχυτων ρογών κατατάσσεται σε μία από τις παρακάτω ποιοτικές κατηγορίες: 1.Extra Choicest, 2.Choicest και 3.Choice.

Η συσκευασία γίνεται με χάρτινα κιβώτια, μέσα σε πλαστικά σακουλάκια, ή σε μικροσυσκευασίες πλαστικών ή σελοφάν.

Αποθήκευση σταφίδας

Η σταφίδα διατηρείται μέχρι την τελική της επεξεργασία σε αποθήκες για εξισορρόπηση της υγρασίας της. Οι αποθήκες πρέπει να είναι πληρούν κάποιες συγκεκριμένες προδιαγραφές, με ευνοϊκές συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας, αερισμού και φωτισμού για την αποτροπή αλλοιώσεων. Οι κυριότερες αλλοιώσεις είναι:

- ✓ το κρυστάλλωμα (ζαχάρωμα)
- ✓ το σβόλιασμα
- ✓ η αλλοίωση του χρώματος και

✓ η προσβολή από έντομα και μύκητες

Σημαντικό ρόλο στην διατήρηση των σταφίδων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης παίζει η μέθοδος αποξήρανσης των σταφυλιών και η περιεκτικότητά τους σε υγρασία. Η επιθυμούμενη υγρασία κυμαίνεται από 13% έως 15%.

1.3.3 Συστατικά της σταφίδας

Όσον αφορά τη διατροφική της σύσταση, η σταφίδα – που καταναλώνεται ευρέως στη δυτική Ευρώπη – λόγω της γλυκιάς της γεύσης μπορεί να αποτελέσει ένα ιδανικό εναλλακτικό γλυκαντικό, που είναι πλούσιο σε φυτικές ίνες, σύνθετους υδατάνθρακες, βιταμίνες και μέταλλα, φυτοχημικά συστατικά, ενώ παράλληλα δεν περιέχει λίπος και χοληστερόλη. Η διατροφική αξία της σταφίδας παρουσιάζεται στον Πίνακα 1.1.

Πίνακας 1.1 Διατροφική αξία Κορινθιακής σταφίδας

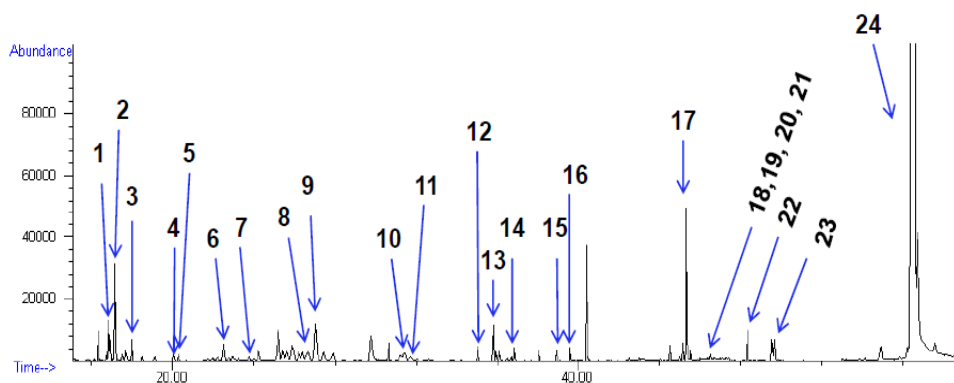
Διατροφική αξία Κορινθιακής σταφίδας (ανά ισοδύναμο)	
Ισοδύναμο (γρ.)	18
Ενέργεια (kcal)	58,5
Σάκχαρα (γρ.)	12,5
Πρωτεΐνες (γρ.)	0,5
Λίπη (γρ.)	0
Φυτικές ίνες (γρ.)	1,25
Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (mg GAE)	34

GAE: Gallic acid equivalents (Ισοδύναμα γαλλικού οξέος)

Έχει βρεθεί ότι περίπου 3-4kg σταφυλιών αποδίδουν 1kg οποιασδήποτε ποικιλίας σταφίδας. Οι σταφίδες είναι πλούσιες τόσο σε σύνθετους υδατάνθρακες όσο και σε απλά σάκχαρα όπως φρουκτόζη και γλυκόζη, τα οποία αποτελούν την αμεσότερη πηγή ενέργειας για τον ανθρώπινο οργανισμό. Αξίζει να επισημανθεί ότι κάποια κύτταρα του οργανισμού (π.χ. ερυθροκύτταρα) χρησιμοποιούν αποκλειστικά απλούς υδατάνθρακες για τις ενεργειακές τους ανάγκες.

Οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι τώρα έχουν δείξει ότι η σταφίδα έχει επίσης πλούσιο περιεχόμενο σε φαινολικά στοιχεία (Kanellos, et al., 2013). Πληθώρα μελετών δείχνει ότι οι σταφίδες όχι μόνο περιέχουν πολλές πολυφαινόλες, αλλά αυτές απορροφώνται σε σημαντικό βαθμό και είναι βιοδιαθέσιμες στον ανθρώπινο οργανισμό (Williamson et al., 2010,

Kanellos et al., 2013). Πιο συγκεκριμένα, σε σημαντικές ποσότητες ανιχνεύθηκαν βανιλλικό οξύ, καφεϊκό οξύ, γαλλικό οξύ, συριγγικό οξύ, *p*-κουμαρικό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ, *p*-υδροξύ- φαινυλοξικό οξύ, *p*- υδροξύ- βενζοϊκό οξύ, φερουλικό οξύ και κερκετίνη, ενώ σε υψηλή συγκέντρωση ανιχνεύτηκε το τερπενικό ολεανολικό οξύ (Chiou et al., 2007, Kanellos et al., 2013) (Σχήμα 1.2).



Σχήμα 1.2 Τυπικό χρωματογράφημα GC-MS σε εκχύλισμα Κορινθιακής σταφίδας (Kanellos et al., 2013). Στο χρωματογράφημα εντοπίζονται οι κάτωθι φυτοχημικές ενώσεις: 1:Βανιλίνη, 2:Κινναμμικό οξύ, 3:Τυροσόλη, 4:*p*-Υδροξύ-βενζοϊκό οξύ, 5:*p*-Υδροξύ-φαινυλοξικό οξύ, 6:IS, 7:Ομοβανιλλική αλκοόλη, 8:Φλωρετικό οξύ, 9:Βανιλλικό οξύ, 10:Πρωτοκατεχικό οξύ, 3,4-Δι-Υδροξύ-φαινυλοξικό οξύ, 12:Συριγγικό οξύ, 13:*p*-Κουμαρικό οξύ, 14: Γαλλικό οξύ, 15:Φερουλικό οξύ, 16:Καφεϊκό οξύ, 17:Ρεσβερατρόλη, 18:Χρυσίνη, 19:Ναριγκενίνη, 20:Επικατεχίνη, 21:Κατεχίνη, 22:Καμφερόλη, 23:Κερκετίνη, 24:Ολεανολικό οξύ

1.3.4 Ανασκόπηση μελετών σχετικών με τη σταφίδα

1.3.4.1 *In vitro* μελέτες

Μελέτη που έχει διεξαχθεί στο Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυτικοχημείας Τροφίμων του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου σε εκχυλίσματα Κορινθιακής σταφίδας, έδειξε την ικανότητά τους να δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH, αναστέλλοντας έτσι τη χημικά επαγόμενη κυτταροτοξικότητα των μονοπύρηνων κυττάρων περιφερικού αίματος. Ακόμη μία αντιοξειδωτική δράση τους είναι η αναστολή του αποπτωτικού θανάτου των παραπάνω κυττάρων που επάγεται από το tBHP. Η αντιοξειδωτική αυτή δράση συσχετίστηκε θετικά με το περιεχόμενό τους σε φαινολικά στοιχεία (Kaliora et al., 2009).

Θετική υπήρξε επίσης η επίδραση εκχυλίσματος Κορινθιακής σταφίδας στην ανάπτυξη γαστρικού καρκίνου *in vitro*, αναστέλλοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό επάγοντας την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων. Ακόμη, υπήρξε μείωση στο mRNA και στα πρωτεϊνικά επίπεδα του ICAM-1 (Kaliora et al., 2008). Αντίστοιχα, εκχυλίσματα σταφίδας κατέστειλαν τον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών καρκινικών κυττάρων (HT29) παχέος εντέρου, μέσω δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH με δοσο-εξαρτώμενο τρόπο. Επιπροσθέτως, παρατηρήθηκε μείωση στους δείκτες φλεγμονής. Τόσο η αντιφλεγμονώδης, όσο και η αντιοξειδωτική δράση εμφάνισαν συσχέτιση με τη χρονική διάρκεια έκθεσης στο εν λόγω εκχύλισμα (Kountouri et al., 2013).

1.3.4.2 Μελέτες παρέμβασης

Πέραν των *in vitro* μελετών, έχουν επίσης πραγματοποιηθεί και αρκετές *in vivo* μελέτες. Μελέτη του 2008 έδειξε ότι η κατανάλωση σταφίδας επιδρά στη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου μέσω μείωσης της συστολικής πίεσης, της ολικής και LDL χοληστερόλης όπως επίσης και μέσω μείωσης δεικτών φλεγμονής (Puglisi et al., 2008). Επιπλέον, η προστατευτική αυτή δράση ασκείται και μέσω μείωσης της οξειδωμένης LDL (oxLDL). Ακόμη, η υψηλή κατανάλωση γενικά αποξηραμένων φρούτων σε σύγκριση με χαμηλή κατανάλωση, έχει συσχετισθεί με μείωση τόσο της διαστολικής, όσο και της συστολικής αρτηριακής πίεσης (James et al., 2013).

Μέρος έρευνας με πεδίο μελέτης τους αντιμικροβιακούς παράγοντες που προέρχονται από φυτά, κατέληξε ότι ενώσεις που περιέχονταν σε εκχυλίσματα σταφίδας (ολεανολικό οξύ, ολεανολική αλδεΐδη και 5-ύδροξυ-2-μέθυλο-φουρφουράλη) ανέστειλαν την ανάπτυξη βακτηρίων (*Streptococcus mutans* και *Porphyromonas gingivalis*) που επάγουν την τερηδόνα και την περιοδοντική ασθένεια. Ιδιαίτερα σημαντική υπήρξε η δράση του ολεανολικού οξέος και των παραγώγων του (Rivero-Cruz et al., 2008).

Στο εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου έχουν επίσης διεξαχθεί μελέτες *in vivo*. Σε μια πρόσφατη μελέτη εξετάστηκε η επίδραση της κατανάλωσης Κορινθιακής σταφίδας στην αντιοξειδωτική ικανότητα 15 υγιών εθελοντών καθώς και η βιοδιαθεσιμότητα των φυτοχημικών που είναι παρόντα στο υπό εξέταση τρόφιμο. Μία ώρα μετά την κατανάλωση σταφίδας παρατηρήθηκε η μέγιστη συγκέντρωση του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου καθώς και η μέγιστη αντίσταση του ορού στην οξείδωση ($p < 0,05$) κάτι που πιθανά οφείλεται στα βιοδιατιθέμενα φυτοχημικά συστατικά (Kanellou et al., 2013).

Έρευνες δείχνουν ότι η σταφίδα έχει μέτριο έως χαμηλό γλυκαιμικό και ινσουλιναιμικό δείκτη (James et al., 2013). Σε πρόσφατη μελέτη όπου εξετάστηκε η γλυκαιμική και ινσουλιναιμική απόκριση μετά από κατανάλωση Κορινθιακής σταφίδας σε σύγκριση με την κατανάλωση γλυκόζης ως τροφίμου αναφοράς παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στη μέγιστη συγκέντρωση γλυκόζης και ινσουλίνης ορού μεταξύ του υπό εξέταση τροφίμου και του τροφίμου αναφοράς, τόσο σε υγιείς αλλά και σε ασθενείς με Σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Επίσης, έγινε μία πρώτη εκτίμηση του γλυκαιμικού δείκτη της Κορινθιακής σταφίδας στο $66,3 \pm 3,4$ (Kanellos et al., 2013).

Τέλος, σε μια ακόμα πρόσφατη μελέτη εξετάστηκε η επίδραση της κατανάλωσης 2 ισοδυνάμων Κορινθιακής σταφίδας ημερησίως για διάστημα 24 εβδομάδων σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κατανάλωση 2 ισοδυνάμων Κορινθιακής σταφίδας ημερησίως μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της διαστολικής αρτηριακής πίεσης, ενώ παράλληλα να αυξήσει την ολική αντιοξειδωτική ικανότητά πλάσματος (Kanellos et al., 2013).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

2.1 Ορισμός & Επιδημιολογία καρδιαγγειακών νοσημάτων

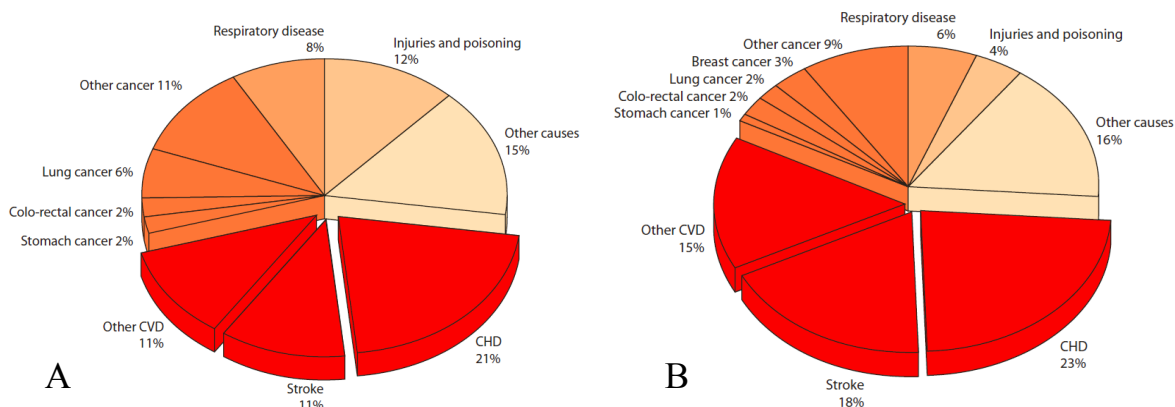
Στην ομάδα των καρδιαγγειακών νοσημάτων (CVDs, Cardio Vascular diseases) ανήκουν οι διαταραχές της καρδιάς και των αγγείων, και περιλαμβάνονται τα εξής:

- στεφανιαία καρδιακή νόσος (καρδιακή προσβολή)
- αγγειακή εγκεφαλική νόσος (εγκεφαλικό επεισόδιο)
- περιφερική αγγειακή νόσος
- καρδιακή ανεπάρκεια
- ρευματική καρδιακή νόσος
- συγγενή καρδιοπάθεια
- μυοκαρδιοπάθειες

Σύμφωνα με τα στατιστικά στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO) τα CVDs αποτελούν την κύρια αιτία θανάτου παγκοσμίως. Δηλαδή, περισσότεροι άνθρωποι πεθαίνουν κάθε χρόνο από τα καρδιαγγειακά νοσήματα από ότι από οποιαδήποτε άλλη αιτία. Οι αναπτυσσόμενες χώρες πλήττονται δυσανάλογα: πάνω από το 80% των καρδιαγγειακών θανάτων συμβαίνουν σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος. Επιπροσθέτως, υπολογίζεται ότι μέχρι το 2030 περισσότερα από 23 εκατομμύρια άνθρωποι θα πεθαίνουν κάθε χρόνο από καρδιαγγειακά νοσήματα (WHO, 2007). Ο WHO το 2008, εκτιμούσε ότι 17,3 εκατομμύρια πέθαναν από καρδιαγγειακά νοσήματα, αντιπροσωπεύοντας το 30% των συνολικών θανάτων παγκοσμίως. Από αυτούς, περίπου τα 7,3 εκατομμύρια θάνατοι προέρχονταν από στεφανιαία νόσο και 6,2 εκατομμύρια από εγκεφαλικό επεισόδιο.

Κάθε χρόνο τα καρδιαγγειακά νοσήματα ευθύνονται για περισσότερους από 4 εκατομμύρια θανάτους στην Ευρώπη και 1,9 εκατομμύρια θανάτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ), γεγονός που αντιστοιχεί στο 47% και 40% των συνολικών θανάτων, αντίστοιχα. Η θνησιμότητα από νοσήματα του καρδιαγγειακού συστήματος είναι γενικά υψηλότερη στην Κεντρική και Ανατολική Ευρώπη συγκριτικά με τη Βόρεια, Νότια και Δυτική Ευρώπη (European Cardiovascular Disease Statistics 2012). Αντιπροσωπεύουν το 40% περίπου των θανάτων και στα δύο φύλα (Σχήμα 2.1). Πιο αναλυτικά, αυτό σημαίνει ότι προκαλούν 46 φορές τον αριθμό των θανάτων και 11 φορές το βάρος ασθένειας που προκαλούνται από φυματίωση, ελονοσία και AIDS μαζί (WHO, Regional Office for Europe 2013). Παραμένουν η κύρια αιτία πρόωρου θανάτου παρόλο που η θνησιμότητα των καρδιαγγειακών νοσημάτων έχει μειωθεί

σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες σε πολλές ευρωπαϊκές χώρες. Υπολογίζεται ότι αυτή τη στιγμή πάνω από το 80% των θανάτων από καρδιαγγειακά συμβαίνουν στις αναπτυσσόμενες χώρες (Perk et al., 2012).



Σχήμα 2.1 Θάνατοι από κάθε αιτία (Α) για τους άνδρες και (Β) τις γυναίκες στην Ευρώπη

Πρόσφατα στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας για την Ελλάδα αναδεικνύουν ότι τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν την πρωταρχική αιτία θανάτου προκαλώντας το 49% των συνολικών θανάτων (WHO, Highlights on health in Greece 2004).

Αν και οι επιδημιολογικές μελέτες που εξετάζουν τον επιπολασμό των καρδιαγγειακών νοσημάτων στην Ελλάδα δεν είναι αρκετές, τα δεδομένα που έχουμε σήμερα προέρχονται από τη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ, στην οποία εξετάστηκαν άνδρες και γυναίκες της Αττικής για τα χρόνια 2001-2006 και προέκυψε ότι η ετήσια συχνότητα ήταν 220 ανά 10.000 άνδρες και 120 ανά 10.000 γυναίκες, πράγμα που σημαίνει ότι περίπου 550.000 άνθρωποι ανέπτυξαν καρδιαγγειακή νόσο στη διάρκεια των χρόνων αυτών (Panagiotakos et al., 2009).

Οι καρδιακές παθήσεις και τα εγκεφαλικά επεισόδια παραμένουν μακράν οι πιο συχνές αιτίες θανάτου στις δυτικού τύπου κοινωνίες και νέα φάρμακα που αναστέλλουν την ασθένεια στο τοίχωμα του αγγείου θα είναι εξαιρετικά χρήσιμα (Demopoulos et al., 2003).

2.2 Παθοφυσιολογία καρδιαγγειακών νοσημάτων

2.2.1 Αρτηριοσκλήρωση

Η αρτηριοσκλήρωση (αρτηριοσκληρωτική αγγειοπάθεια) περιλαμβάνει ομάδα διαταραχών οι οποίες έχουν ως κοινό γνώρισμα την πάχυνση και την απώλεια της ελαστικότητας του αρτηριακού τοιχώματος. Στον όρο περιλαμβάνονται τρεις οντότητες που διαφέρουν μορφολογικά και είναι:

- η αθηροσκλήρωση, που χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό του αθηρώματος στον έσω χιτώνα της αρτηρίας.
- η αγγειίτιδα τύπου Monckeberg, που χαρακτηρίζεται από την επασβέστωση του μέσου χιτώνα των αρτηριών
- η αρτηριοσκλήρωση, που διακρίνεται από την εναπόθεση υαλίνης και την πάχυνση του τοιχώματος των μικρών αρτηριών και των αρτηριολίων.

Επειδή η πλέον κοινή και με τη μεγαλύτερη κλινική σημασία μορφή της αρτηριοσκλήρωσης είναι η αθηροσκλήρωση, οι δύο όροι χρησιμοποιούνται χωρίς διάκριση. Η αθηροσκλήρωση, αποτελεί την κύρια αιτία της πλειοψηφίας των καρδιαγγειακών νοσημάτων (Vucevicić et al., 2012), είναι εξελισσόμενη νόσος η οποία αρχίζει νωρίς από την παιδική ηλικία, αλλά οι κλινικές εκδηλώσεις παρουσιάζονται συνήθως κατά τη μέση ηλικία ή αργότερα. Βασική μορφολογική αλλοίωση είναι η αθηρωματική πλάκα ή αθήρωμα. Σχηματίζεται στον έσω χιτώνα της αρτηρίας κι αναπτύσσεται αργά κι αθόρυβα, χωρίς κλινικά συμπτώματα επί σειρά ετών. Πρόκειται για ένα περιγεγραμμένο μόρφωμα όπου διακρίνεται ένας πυρήνας λιπιδίων, κυρίως χοληστερόλης, συνήθως σε συμπλέγματα με πρωτεΐνες κι εστέρες χοληστερόλης, ο οποίος καλύπτεται από ινώδη μανδύα. Μεγαλώνοντας σε μέγεθος προοδευτικά παρεισδύει στον αυλό του αγγείου, αλλά και στον υποκείμενο μέσο χιτώνα. Κατά συνέπεια, ο αυλός του αγγείου σμικρύνεται και το τοίχωμα εξασθενίζει. Ως επιλοκές της στοιχειώδους βλάβης μπορεί να θεωρηθούν η επασβέστωση, η εξέλκωση, και τελικά ο σχηματισμός θρόμβου ή ανευρύσματος.

Πλήθος παραγόντων συνεργάζονται κι αλληλεπιδρούν επί σειρά ετών για την ανάπτυξη, την πρόοδο και την εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας. Μεταξύ των παραγόντων πρωτεύοντα ρόλο έχουν τα κυτταρικά στοιχεία, ενδοθηλιακά, λεία μυϊκά, μονοκύτταρα/μακροφάγα κι αιμοπετάλια, οι λιποπρωτεΐνες και χημικοί μεσολαβητές, όπως κυτταροκίνες, αναπτυξιακοί, χημειοτακτικοί και θρομβογόνοι παράγοντες. Γενετικοί παράγοντες, η διατροφή, ο τρόπος ζωής και οι προσωπικές συνήθειες έχουν σημασία για την παθογένεια και την εξέλιξη της νόσου. Οι κλινικές εκδηλώσεις παρουσιάζονται όταν:

- i. η στένωση του αυλού του αγγείου είναι σε θέση να δημιουργήσει ισχαιμική ατροφία.
- ii. η στένωση του αυλού της αρτηρίας δημιουργεί εμπόδια στη ροή του αίματος κι αυξάνει την πιθανότητα σχηματισμού θρόμβου σε περίπτωση στρες ή υπό την επίδραση ερεθίσματος. Ο σχηματισμός του θρόμβου οδηγεί σε αιφνίδια απόφραξη του αυλού κι έμφραγμα.
- iii. σχηματισθεί θρόμβος ο οποίος θα οδηγήσει σε εμβολή.
- iv. η εξασθένιση του τοιχώματος του αγγείου είναι σε θέση να οδηγήσει σε ρήξη ή ανεύρυσμα.

Θεωρητικά κάθε ιστός ή όργανο μπορεί να προσβληθεί από τη νόσο, αλλά τα συμπτώματα συνήθως εντοπίζονται στην καρδιά, τον εγκέφαλο, τους νεφρούς και τα κάτω άκρα (γάγγραινα) (Rubbin, 2002).

2.2.2 Στάδια αθηροσκληρωτικής διεργασίας

Η αθηροσκληρωτική διαδικασία περιλαμβάνει τρία στάδια:

1. Οι λιποειδείς ραβδώσεις

Μελέτες υποστηρίζουν ότι η αθηροσκληρωτική διεργασία ξεκινά από τον τοκετό ακολουθώντας όλα τα στάδια της ζωής (Wong et al., 2012). Οι λιποειδείς ραβδώσεις λοιπόν, παρουσιάζονται από την παιδική ηλικία μετά το πρώτο έτος ζωής κι αποτελούν πρόδρομο μορφή αθηρωματικής πλάκας. Παρουσιάζονται με τη μορφή πολλαπλών υποκίτρινων επίπεδων κηλίδων, που αναπτύσσονται προς επιμήκεις ραβδώσεις. Αποτελούνται από ποικίλα κύτταρα, μακροφάγα και λεία μυϊκά τα οποία έχουν εξελιχθεί προς αφρώδη γεμάτα με χοληστερόλη, κι εστέρες χοληστερόλης, Τ-λεμφοκύτταρα, καθώς και πρωτεογλυκάνες, ίνες κολλαγόνου κι ελαστίνης.

2. Η ινώδης πλάκα

Θεωρείται η βασική μορφολογική αλλοίωση, δηλαδή το αθήρωμα ή αθηρωματική πλάκα, και προέρχεται από την εξέλιξη των ραβδώσεων, αν και όλες οι λιποειδείς ραβδώσεις δεν εξελίσσονται απαραίτητα σε αθήρωμα. Είναι μόρφωμα περιγεγραμμένο που προεξέχει από τον αυλό του αγγείου και καλύπτεται από ινώδη μανδύα ο οποίος αποτελείται από εναλλασσόμενες στιβάδες τροποποιημένων λείων μυϊκών κυττάρων και συστατικών βασικής μεμβράνης. Κάτω από τον ινώδη μανδύα υπάρχουν αφρώδη κύτταρα, λευκοκύτταρα και συστατικά του συνδετικού ιστού τα οποία με τη σειρά τους καλύπτουν έναν πυρήνα κρυστάλλων χοληστερόλης,

νεκρωτικών υπολειμμάτων και επασβεστωμένων αλλοιώσεων. Η ινώδης πλάκα δεν παραμένει στατική, αλλά παρουσιάζει μία δυναμική, αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης παραγόντων που επηρεάζουν την ανάπτυξη ή την υποστροφή της.

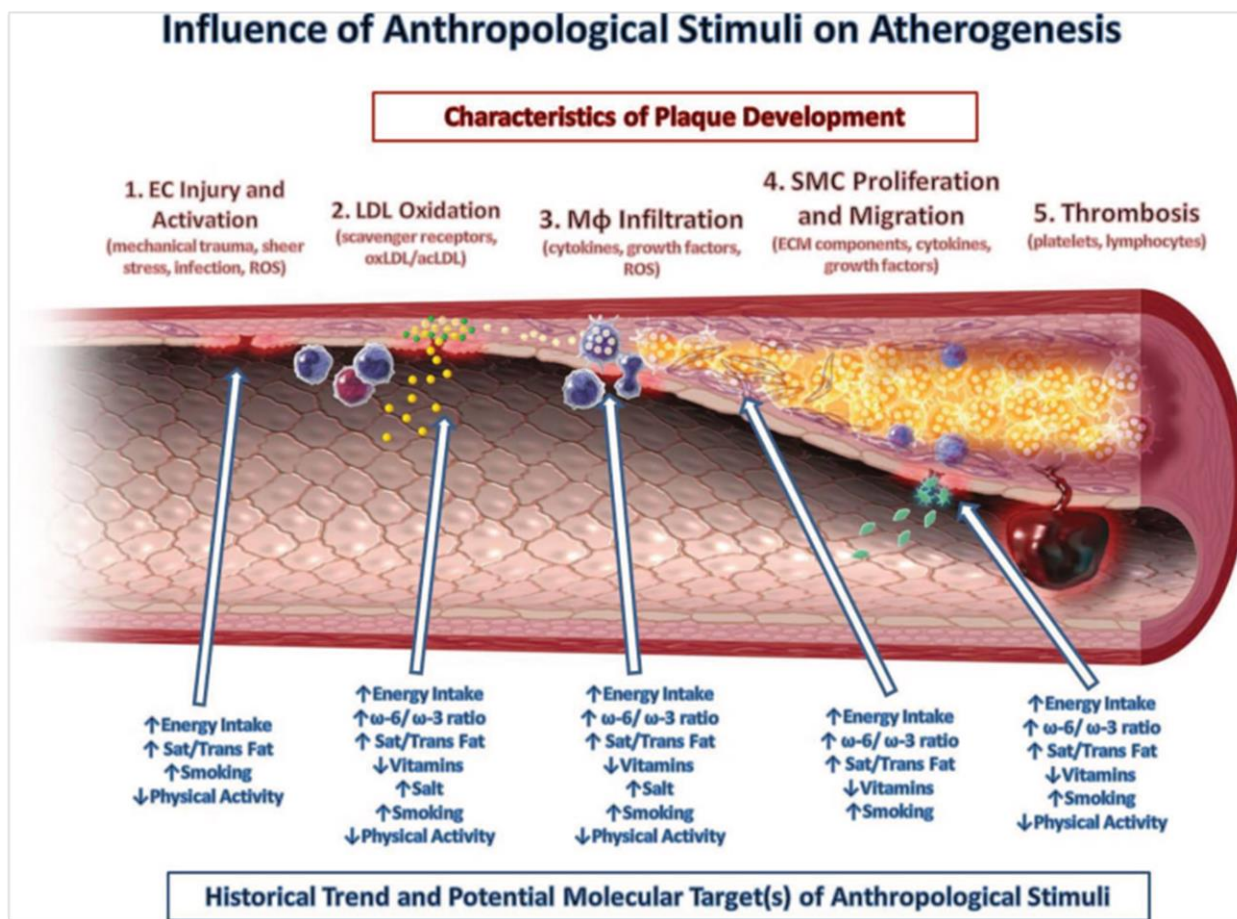
3. Προχωρημένη ή επιπλεγμένη βλάβη

Στο στάδιο αυτό εμφανίζονται επασβέστωση, έλκη, αιμορραγίες, θρομβώσεις. Θεωρείται το στάδιο που δίνει τα κλινικά συμπτώματα. Συνήθως η ρήξη ή εξέλκωση της πλάκας θα οδηγήσουν στην κλινική εμφάνιση της νόσου.

4. Η αθηρωματική πλάκα

Οι μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για τη γένεση, την ανάπτυξη και την εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας είναι πολύπλοκοι και δεν έχουν ακόμη διαλευκανθεί πλήρως. Η αθηρογένεση μπορεί να θεωρηθεί ως χρόνια φλεγμονή του αρτηριακού τοιχώματος η οποία χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενους κύκλους βλάβης-επούλωσης που διεξάγονται σε περιβάλλον υπερλιπιδαιμίας ή δυσλιποπρωτεϊναιμίας με τη σύγχρονη συμμετοχή πλήθους χημικών μεσολαβητών, γενετικών παραγόντων και αιμοδυναμικών μηχανισμών. Στα αθηροσκληρωτικά αγγεία η παρουσία των T λεμφοκυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα δηλώνει την ύπαρξη φλεγμονής από τη μία και ανοσολογικής αντίδρασης από την άλλη που συνδέεται με την ύπαρξη ειδικών αντιγόνων. Η συνεχιζόμενη ανάπτυξη βλαβών έχει ως αποτέλεσμα την προσβολή και των άλλων χιτώνων του αρτηριακού τοιχώματος, τη στένωση του αυλού και τέλος την προοδευτική απόφραξη των αιμοφόρων αγγείων (Rubin, 2002, Wong et al., 2012).

Δύο είναι οι θεωρίες αναφορικά με την ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας. Η θεωρία η οποία βασίζεται στο ότι η όλη διεργασία αποτελεί απάντηση σε προκαλούμενη στο ενδοθήλιο βλάβη όπου η υπερλιπιδαιμία έχει σημαντικό ρόλο. Διάφοροι παράγοντες όπως μηχανικοί ή αιμοδυναμικοί, χημικοί, όπως LDL-χοληστερόλη, ιδιαίτερα οι oxLDLs, προϊόντα καπνίσματος, ανοσολογικοί, λοιμώδεις, ενδοτοξίνες, ιοί, μόνοι ή σε συνεργασία, μπορεί να προκαλέσουν τραυματισμό ή βλάβη του ενδοθηλίου, με αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία του και τη διαταραχή των ομοιοστατικών του μηχανισμών. Η διαταραχή της ομοιόστασης οδηγεί σε πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων, μετανάστευση μονοκυττάρων κι αύξηση της διαπερατότητας για τις λιποπρωτεΐνες (Rubin et al., 2002).



Σχήμα 2.2 Διαδικασία της αθηρωμάτωσης

Παρωχημένες απόψεις που υποστήριζαν ότι η αθηροσκλήρωση είναι μια διαταραχή που σχετίζεται αποκλειστικά με τα λιπίδια έχουν παρέλθει λόγω της πολυπαραγοντικής φύσης αυτής της νόσου. Έρευνες καταδεικνύουν τη φλεγμονή ως τον κρίσιμο παράγοντα για την αθηροσκλήρωση (Lamon et al., 2008). Η φλεγμονή αποτελεί αρχική ένδειξη της ανίχνευσης και της προσπάθειας του σώματος να απομακρύνει τις τοξίνες και τους παθογόνους μικροοργανισμούς που το προσβάλλουν.

Η χρόνια φλεγμονή έχει πρόσφατα αναγνωριστεί ότι συμβάλλει καθοριστικά στην εμφάνιση πολλών χρόνιων ασθενειών μεταξύ των οποίων και τα καρδιαγγειακά νοσήματα (Wong et al., 2012).

Η φλεγμονή εντός των αγγείων προκαλεί μια σειρά από διαδικασίες, που ξεκινούν με την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων και έχουν ως αποτέλεσμα την προσκόλληση μορίων στην κυτταρική επιφάνεια, την παραγωγή και απελευθέρωση κυτοκινών, χυμοκινών (παράγοντας νέκρωσης όγκου, TNF-α), ιντερφερονών (IFNs) και άλλων προφλεγμονωδών

μορίων που προωθούν τη νόσο της αθηροσκλήρωσης (Wong et al., 2012). Για το λόγο αυτό, η έρευνα έχει προσδιορίσει τα μοριακά δίκτυα που επάγονται από τα παραπάνω μόρια και προωθούν τη βλάβη του ενδοθηλίου, τη διήθηση των μακροφάγων, την οξείδωση των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL), τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τέλος τη θρόμβωση (Lamon et al., 2008).

2.2.3 Ρόλος του οξειδωτικού στρες στην αθηροσκλήρωση

Ως οξειδωτικό στρες ορίζεται η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των προ-οξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών συστημάτων του κυττάρου και οφείλεται είτε σε αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου, είτε σε ανεπάρκεια των κυτταρικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Οι ελεύθερες ρίζες που αποτελούν προϊόντα του φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού έχουν δύο δράσεις: άλλοτε είναι ευεργετικές για τα κύτταρα και τους οργανισμούς και άλλοτε βλαπτικές. Έτσι, η περίσσεια των δραστικών ριζών προκαλεί βλάβες στα κυτταρικά λιπίδια, τις πρωτεΐνες ή το DNA, με αντίκτυπο στη λειτουργία αυτών. Για το λόγο αυτό, το οξειδωτικό στρες ενοχοποιείται στην παθοφυσιολογία πολλών νοσημάτων (Yiannakopoulou, 2009). Επί παραδείγματος, στην υπέρταση οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS) προκαλούν πολλαπλασιασμό των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων και *in vitro* και *in vivo* (Wattanapitayakul et al., 2001, Griendling et al., 1998).

Το οξειδωτικό στρες (μη ρυθμισμένη κυτταρική οξειδωτική κατάσταση) διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην παθογένεια της αθηροσκλήρωσης και κυρίως στη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. Στην καρδιαγγειακή νόσο υπάρχουν πολλές πηγές ριζών οξυγόνου/αζώτου. Οι ROS σχηματίζονται ενδοκυτταρικά κατά τη διάρκεια της μιτοχονδριακής αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων και ελέγχονται από την αντιοξειδωτική άμυνα και έχουν επιζήμιες συνέπειες στην αγγειακή λειτουργία μέσω διαφόρων μηχανισμών:

- i. ROS, και ιδίως οι ρίζες υδροξυλίου, τραυματίζουν άμεσα τις κυτταρικές μεμβράνες και τους πυρήνες,
- ii. αλληλεπιδρούν με ενδογενείς αγγειοδραστικούς μεσολαβητές και συμβάλλουν στην εξέλιξη της νόσου και
- iii. ευθύνονται για το σχηματισμό οξειδωμένων oxLDL, που είναι ένας από τους βασικούς διαμεσολαβητές της αθηροσκλήρωσης (Bonomini et al., 2008)

Το NO είναι ένας κύριος καθοριστικός παράγοντας της φυσιολογικής ενδοθηλιακής και αγγειακής λειτουργίας. Σε καταστάσεις φλεγμονής, η παραγωγή NO από το αγγειακό σύστημα αυξάνει σημαντικά και σε συνδυασμό με άλλες ROS, συμβάλλει στο οξειδωτικό στρες (Lubos et

al., 2008). Τα κύτταρα, προκειμένου να προστατευτούν, έχουν αναπτύξει αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς (Madamanchi et al., 2004).

2.3 Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων

Η πρώτη μεγάλη επιδημιολογική μελέτη που εξέτασε συγκεκριμένους «παράγοντες κινδύνου» που σχετίζονται με τα καρδιαγγειακά νοσήματα ήταν η μελέτη Framingham. Τα αποτελέσματα έδειξαν συσχέτιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων με το κάπνισμα, την υπέρταση, τη διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης, την κολπική μαρμαρυγή, την παχυσαρκία (Aoki et al., 2011). Οι συνέπειες μίας «δυτικού τύπου» διατροφής και της έλλειψης σωματικής άσκησης μπορεί να εμφανιστούν στα άτομα ως αυξημένη αρτηριακή πίεση, αυξημένα επίπεδα γλυκόζης αίματος, αυξημένα λιπίδια πλάσματος, υπερβάλλον σωματικό βάρος και παχυσαρκία. Αυτοί οι παράγοντες κινδύνου υποδηλώνουν αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων (WHO 2013).

Υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός αναγνωρισμένων παραγόντων κινδύνου για τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Υπάρχουν οι καθιερωμένοι παράγοντες κινδύνου όπως η υπέρταση, ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2 και η δυσλιπιδαιμία (Aoki et al., 2011). Μια άλλη ταξινόμηση των παραγόντων κινδύνου περιλαμβάνει την κατάταξή τους σε δύο κατηγορίες: αυτούς που μπορούν να τροποποιηθούν, όπως η κατανάλωση αλκοόλ, το κάπνισμα, η διατροφή, η άσκηση και η παχυσαρκία καθώς και εκείνους που δεν μπορούν να τροποποιηθούν, όπως το φύλο, η ηλικία και τα γονίδια. Παρόλο που αμφότερες οι δύο κατηγορίες είναι σημαντικές, οι ερευνητές στοχεύουν στους τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου (Belski et al., 2012).

2.3.1 Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

Δυσλιπιδαιμία

Η διάγνωσή της προκύπτει όταν τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στο αίμα υπερβαίνουν τα $\geq 1,7$ mmol/L (150 mg/dL), όταν τα επίπεδα χοληστερόλης HDL είναι χαμηλά ($<0,9$ mmol/L στους άνδρες και $<1,29$ mmol / L στις γυναίκες), ή όταν το άτομο είναι ήδη σε θεραπεία για την παλαιότερα διαγνωσμένη υπερτριγλυκεριδαιμία ή/και μείωση της χοληστερόλης HDL (Belski et al., 2012).

Η δυσλιπιδαιμία και κυρίως η υπερχοληστερολαιμία έχουν συσχετισθεί με την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων σε σειρά μελετών. Στο πλάσμα του αίματος, λιπίδια όπως η χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια προσδένονται σε διάφορες πρωτεΐνες και σχηματίζουν τις

λιποπρωτεΐνες (HDL, LDL, VLDL, χυλομικρά). Οι υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (HDL) δεν προκαλούν την αθηροσκλήρωση, αντιθέτως υψηλά επίπεδα των HDL είναι καρδιοπροστατευτικά. Αντίθετα, οι ιδιαίτερα μικρές και συμπακνωμένες χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL) άγουν την αθηρογένεση. Τέλος, τα χυλομικρά και οι πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (VLDL) δεν είναι αθηρογόνες (Perk et al., 2012).

Φυσιολογικά, η μεταφορά της χοληστερόλης στο πλάσμα γίνεται με τις χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL) με αποτέλεσμα σε υψηλές συγκεντρώσεις ολικής χοληστερόλης να υπάρχει στενή συσχέτιση μεταξύ αυτής και της LDL χοληστερόλης με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Η υπερτριγλυκεριδαιμία αποτελεί έναν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα αλλά η συσχέτιση συγκριτικά με την υπερχοληστερολαιμία είναι μικρότερη. Τέλος, χαμηλές συγκεντρώσεις της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (HDL) δρουν ανταγωνιστικά στην υπερχοληστερολαιμία (λόγω υψηλών συγκεντρώσεων LDL) και αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου.

Η δυσλιπιδαιμία προκαλείται από πολλές αιτίες, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που αποδίδονται στα γονίδια. Η κληρονομικότητα εμφανίζεται με τα παρακάτω:

- ✓ Χυλομικροναιμία (κληρονομική ή επίκτητη)
- ✓ Οικογενής υπερχοληστερολαιμία (Ομόζυγη ή Ετερόζυγη)
- ✓ Οικογενής μείωση της HDL
- ✓ Οικογενής μικτή υπερλιπιδαιμία

Επίσης, η δυσλιπιδαιμία καθορίζεται και από τον τρόπο ζωής. Θεραπεία ή αντιμετώπισή της συχνά εμπλέκουν αλλαγές στον τρόπο ζωής, όπως αλλαγές στη διατροφή και άσκηση, καθώς και φαρμακευτική αγωγή (Belski et al., 2012).

Υπέρταση

Η υπέρταση ορίζεται ως συστολική αρτηριακή πίεση ≥ 140 mmHg ή διαστολική αρτηριακή πίεση ≥ 90 mmHg. Αρτηριακή πίεση πάνω από αυτήν την τιμή μπορεί περαιτέρω να ταξινομηθεί ως Βαθμού 1 ($\geq 140/90$ mmHg), Βαθμού 2 ($\geq 160/100$ mmHg), ή υπέρταση Βαθμού 3 ($\geq 180/110$ mmHg). Αποτελεί έναν από τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου για στεφανιαία νόσο (Van Horn et al., 2008). Η υψηλή αρτηριακή πίεση συσχετίζεται θετικά με μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης καρδιακής ανεπάρκειας ή/και εμφράγματος του μυοκαρδίου (Belski et al., 2012). Σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες και λαμβάνοντας υπ' όψιν τους συγχυτικούς παράγοντες,

η υψηλή αρτηριακή πίεση είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την καρδιαγγειακή νόσο.

Αυξημένα επίπεδα αρτηριακής πίεσης αίματος «τραυματίζουν» το ενδοθήλιο, με αποτέλεσμα να εισέρχονται μεγάλα ποσά LDL χοληστερόλης στο εσωτερικό των αρτηριών. Επίσης, η αυξημένη αρτηριακή πίεση μειώνει την ελαστικότητα των αγγείων και αυξάνει τον κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου ή αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου (Van Horn et al., 2008). Σειρά μελετών έχουν επιβεβαιώσει ότι μέτρια απώλεια βάρους και αύξηση της φυσικής δραστηριότητας οδηγούν σε πτώση της αρτηριακής πίεσης και τη μείωση του κινδύνου εγκυμονεί (Van Horn et al., 2008).

Η επίδραση της διατροφής στην πίεση αίματος βασίζεται στο όφελος που προκύπτει από τη μείωση κατανάλωσης αλατιού (επιτραπέζιου ή και «κρυμμένου στα τρόφιμα») και την υιοθέτηση της δίαιτας DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension), που είναι πλούσια σε φρούτα, λαχανικά, περιέχει γαλακτοκομικά χαμηλά σε λιπαρά, χαμηλή σε διαιτητική χοληστερόλη όπως και σε κορεσμένο και ολικό λίπος (Aoki et al., 2011).

Τέλος, η βιβλιογραφία δείχνει ξεκάθαρα ότι η υιοθέτηση αλλαγών στον τρόπο ζωής ρυθμίζει τα επίπεδα αρτηριακής πίεσης. Επιπροσθέτως, (πέραν του προτύπου DASH) η Μεσογειακή διατροφή όντας πλούσια σε φρούτα, λαχανικά, χαμηλά σε λιπαρά γαλακτοκομικά προϊόντα και μειωμένη σε νάτριο και κορεσμένο λίπος θεωρείται εξίσου προστατευτικό πρότυπο διατροφής (Van Horn et al., 2008).

Υπέρβαρο και παχυσαρκία

Η παχυσαρκία προσδιορίζεται χρησιμοποιώντας το Δείκτη Μάζας Σώματος (Body Mass Index-BMI) που αποτελεί μια μέτρηση του σωματικού βάρους σε σύγκριση με το ύψος. Υπολογίζεται ως ο λόγος του βάρους (kg) προς το τετράγωνο του ύψους (m^2). Στους ενήλικες BMI μεταξύ του 18,5 και του 24,9 (kg/m^2) χαρακτηρίζεται ως φυσιολογικό, BMI μεταξύ 25,0 και 29,9 (kg/m^2) θεωρείται υπέρβαρο και BMI μεγαλύτερο του 30 (kg/m^2) ανήκει στην κατηγορία του παχύσαρκου. Η κατηγορία αυτή διαιρείται σε 2 υποκατηγορίες, δηλαδή νοσογόνος παχυσαρκία I και νοσογόνος παχυσαρκία II (Aoki et al., 2011).

Η παχυσαρκία, που ορίζεται ως $BMI \geq 30$, οδηγεί σε πολλούς παράγοντες κινδύνου των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Οι πιθανοί μηχανισμοί που συνδέουν την παχυσαρκία με τον

καρδιαγγειακό κίνδυνο σχετίζονται με την επίδρασή της σε παράγοντες κινδύνου όπως τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης στο αίμα, των τριγλυκεριδίων του πλάσματος, της HDL, την υπέρταση και την ινσουλινοαντίσταση (Van Horn et al., 2008). Αυτό μπορεί να αποδειχθεί με την αύξηση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου όταν αυξάνεται ο δείκτης μάζας σώματος (Belski et al., 2012).

Η εκτίμηση της παχυσαρκίας μπορεί να γίνει με διάφορες μετρήσεις. Ο δείκτης BMI συνδέεται στενά με τον αυξημένο κίνδυνο θνησιμότητας από στεφανιαία νόσο σε άτομα ηλικίας μικρότερης των 65 ετών. Για μεγαλύτερες ηλικίες η συσχέτιση αυτή φθίνει. Αξίζει πάντως να σημειωθεί ότι η κεντρική εναπόθεση λίπους φαίνεται να ευθύνεται περισσότερο στον καθορισμό του καρδιαγγειακού κινδύνου από ότι το σωματικό βάρος (Perk et al., 2012). Η κεντρική παχυσαρκία μπορεί να εκτιμηθεί τόσο με τη μέτρηση της περιφέρειας μέσης όσο και με τον υπολογισμό του λόγου μέσης προς ισχίο, ιδίως για άτομα κάτω των 65 ετών (Van Horn et al., 2008).

Μέσω διαφορετικών μηχανισμών (αύξηση συνολικού όγκου αίματος, αύξηση καρδιακής παροχής, υπερτροφία της αριστερής κοιλίας), η παχυσαρκία μπορεί να οδηγήσει σε καρδιακή ανεπάρκεια.

Αν αναλογιστούμε ότι εκτός από ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την καρδιαγγειακή νόσο, η παχυσαρκία επηρεάζει επίσης και άλλους κύριους παράγοντες κινδύνου, όπως η υπέρταση και η δυσλιπιδαιμία και, καθίσταται σαφές ότι θα πρέπει να αποτελεί σημαντικό σημείο προσοχής για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου (Belski et al., 2012).

Σακχαρώδης Διαβήτης

Η αντίσταση στην ινσουλίνη αποτελεί το πρώτο στάδιο κατά το οποίο το πάγκρεας παράγει υψηλότερα ποσά ινσουλίνης από τα φυσιολογικά (υπερινσουλιναίμία), για να ανταποκριθεί σε μία φυσιολογική ποσότητα γλυκόζης. Η αντίσταση στην ινσουλίνη συσχετίζεται τόσο με τον κίνδυνο εμφάνισης Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2, όσο και καρδιαγγειακών νοσημάτων.

Στους σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη της καρδιαγγειακής νόσου σε άτομα με διαβήτη εντάσσονται η αδυναμία γλυκαιμικού ελέγχου, η παχυσαρκία, η

δυσλιπιδαιμία και η υπέρταση. Η παχυσαρκία, και ιδίως η κεντρικού τύπου, συνδέεται με χαμηλού βαθμού φλεγμονή, η οποία επιδεινώνει τη ρύθμιση της γλυκόζης στο αίμα, Δηλαδή αμφότερες οι παθολογικές καταστάσεις αυτές, μπορούν να αυξήσουν τον κίνδυνο για εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων. Τέλος, η συνύπαρξη της υπέρτασης και του διαβήτη αυξάνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης μακροαγγειακών (έμφραγμα του μυοκαρδίου, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και περιφερική αποφρακτική αρτηριοπάθεια) και μικροαγγειακών επιπλοκών (νεφροπάθεια, νευροπάθεια και αμφιβληστροειδοπάθεια) (Matheus et al., 2013).

Το θεραπευτικό πρωτόκολλο για το Σακχαρώδη Διαβήτη περιλαμβάνει αρχικά τροποποιήσεις στον τρόπο ζωής (διατροφή, αύξηση σωματικής δραστηριότητας, διακοπή καπνίσματος, απώλεια βάρους), ενώ αν δεν επιτευχθεί κάποιο επιθυμητό αποτέλεσμα σειρά έχει η χορήγηση φαρμακευτική αγωγής (Belski et al., 2012).

Η επίδραση αυτού του παράγοντα κινδύνου έχει πρωτεύοντα ρόλο αν εξετασθεί ταυτόχρονα η εκτίμηση του μελλοντικού επιπολασμού ατόμων θα που νοσούν από αυτή την ασθένεια.

Κάπνισμα

Η έκθεση σε προϊόντα καπνού αποτελεί έναν παράγοντα κινδύνου που σχετίζεται με όλα τα καρδιαγγειακά νοσήματα (Aoki et al., 2011). Ο κίνδυνος αυξάνεται με αύξηση της ποσότητας και της διάρκειας καπνίσματος, ενώ όλα τα είδη καπνού είναι βλαπτικά. Ακόμα και το παθητικό κάπνισμα σχετίζεται με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο με αποτέλεσμα οι περιβαλλοντικές συνθήκες έκθεσης να παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο, περισσότερο μάλιστα από τον αναμενόμενο, ενώ και το τριτογενές κάπνισμα (επαφή με αντικείμενα, π.χ. ρούχα, που έχουν προηγουμένως εκτεθεί σε καπνό) είναι βλαπτικό (Perk et al., 2012).

Το κάπνισμα προκαλεί ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, υπερπηκτικότητα και φλεγμονή συμβάλλοντας στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης (Aoki et al., 2011). Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται αφορούν τις δραστικές μορφές οξυγόνου που εντοπίζονται στον καπνό, οι οποίες προκαλούν οξείδωση των LDL και τελικά συγκόλληση των μονοκυττάρων στο εσωτερικό τοίχωμα των αγγείων (Perk et al., 2012).

Τα οφέλη από τη διακοπή του καπνίσματος είναι άμεσα αλλά και μακροπρόθεσμα. Η άμεση διακοπή μειώνει γρήγορα τον κίνδυνο ενώ μετά από έξι μήνες μειώνεται και ο κίνδυνος

θνησιμότητας (Perk et al., 2012). Μετά από αρκετά χρόνια ο κίνδυνος για εγκεφαλικό επεισόδιο και για άλλα γεγονότα μειώνεται σημαντικά (Aoki et al., 2011). Συνεπώς, η άμεση διακοπή του τσιγάρου είναι επιβεβλημένη, καθώς τα οφέλη που προκύπτουν δεν έχουν όριο ηλικίας (Perk et al., 2012).

Χαμηλή φυσική δραστηριότητα

Η καθιστική ζωή αποτελεί ένα από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου. Αντίθετα, η τακτική φυσική δραστηριότητα και ιδίως η αερόβια άσκηση σχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο τόσο για υγιή άτομα, όσο και για άτομα που διατρέχουν κίνδυνο αλλά και για καρδιακούς ασθενείς (Perk et al., 2012).

Η τακτική αερόβια άσκηση προκαλεί βελτίωση στην αιμάτωση του μυοκαρδίου αυξάνοντας την εσωτερική διάμετρο των κυριότερων αρτηριών, αλλά και με αύξηση της μικροκυκλοφορίας και βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας (Perk et al., 2012). Επίσης η άσκηση τροποποιεί και άλλους παράγοντες κινδύνου των καρδιαγγειακών νοσημάτων όπως η υπέρταση μειώνοντας την πίεση αίματος, ενώ μειώνει και το σωματικό βάρος επιδρώντας στο ισοζύγιο ενέργειας (Aoki et al., 2011).

Οι συστάσεις για την άσκηση εξαρτώνται από το βαθμό κινδύνου που διατρέχει ένα άτομο. Ακόμα και τα άτομα που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο συμβουλεύονται να έχουν κάποιας μορφής ήπια σωματική δραστηριότητα (Perk et al., 2012). Οι συστάσεις καλούν σε εβδομαδιαία μέτριας έντασης άσκηση διάρκειας 150 λεπτών ή από 75 λεπτά έντονης εβδομαδιαίας άσκησης (Aoki et al., 2011).

Διατροφή

Ο έλεγχος του βάρους, η μειωμένη κατανάλωση αλατιού και η αυξημένη κατανάλωση καλίου προλαμβάνουν και επιδρούν στη ρύθμιση της υπέρτασης. Η υιοθέτηση της δίαιτας DASH οδηγεί σε βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ, μειώνοντας την LDL χοληστερόλη, αυξάνοντας την HDL και βελτιώνοντας την ινσουλινοευαισθησία. Τέλος, η προσκόλληση στην πλούσια σε φρούτα και λαχανικά Μεσογειακή διατροφή οδηγεί στη μείωση του κινδύνου εμφράγματος του μυοκαρδίου. Το σύνολο των παραπάνω δεδομένων επιβεβαιώνουν τη σημασία εφαρμογής αλλαγών στις διατροφικές συνήθειες (Aoki et al., 2011).

Οι διατροφικές συνήθειες είναι δεδομένο ότι επιδρούν στον καρδιαγγειακό κίνδυνο, με την υγιεινή διατροφή να τον μειώνει σημαντικά (Perk et al., 2012). Η Μελέτη των Επτά Χωρών (1970) ανέδειξε την επίδραση των μεμονωμένων θρεπτικών συστατικών στον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου, παρουσιάζοντας την ισχυρή συσχέτιση του λίπους με την επίπτωση της καρδιαγγειακής νόσου (Bhupathiraju et al., 2011).

Άλλοι τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

Τόσο η κατάχρηση αλκοολούχων ποτών, όσο και η χρήση απαγορευμένων ουσιών αυξάνουν την πιθανότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Επιπροσθέτως, και η εξατομικευμένη απόκριση στο στρες φαίνεται να αποτελεί παράγοντα κινδύνου. Σε αυτές τις περιπτώσεις, συνίσταται η μετριοπαθής κατανάλωσης αλκοόλ και η αποφυγή χρήσης ουσιών

2.3.2 Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου

Ηλικία

Με την αύξηση της ηλικίας αυξάνεται και ο κίνδυνος εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Πιο αναλυτικά, άνδρες ≥ 45 ετών και γυναίκες ≥ 55 ετών βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο (Elisaf et al., 2002).

Φύλο

Ο κίνδυνος εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων φαίνεται να είναι μικρότερος στις γυναίκες προεμμηνόπαυσιακής ηλικίας σε σχέση με τους άνδρες. Αυτό συμβαίνει λόγω της δράσης των οιστρογόνων, που υπάρχουν σε υψηλά επίπεδα στον γυναικείο αναπαραγωγικό κύκλο. Αυτή η «προστασία» εξαλείφεται μετά την εμμηνόπαυση και έχουμε εξίσωση του κινδύνου εμφάνισης μεταξύ των δύο φύλων (Altman et al., 2003).

2.4 Ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (FMD) σε μελέτες παρέμβασης

Η εκτίμηση της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (flow mediated dilatation, FMD) αποτελεί μία μη επεμβατική, εύκολη στην εφαρμογή, μέθοδο για την εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, ενώ έχει χαρακτηριστεί και ως ένας ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Ξεκίνησε να χρησιμοποιείται από τις αρχές της δεκαετίας του 1990 (Celermajer et al., 1994, Anderson et al., 2000, Kullo et al., 2007) και προοδευτικά καθιερώνεται ως μια αρκετά αξιόπιστη δοκιμασία της λειτουργικότητας του ενδοθηλίου σε εξειδικευμένα εργαστήρια. Βασίζεται στη μέτρηση (με υπερηχοτομογράφο) της διαμέτρου της βραχιονίου αρτηρίας τόσο πριν, όσο και μετά την πρόκληση υπεραιμίας

(προκαλείται αρχικά ισχαιμία με περίσφιξη περιχειρίδος σε συγκεκριμένο σημείο). Ουσιαστικά, το FMD μετράται ως η ποσοστιαία μεταβολή της διαμέτρου της αρτηρίας και είναι ένας δείκτης της ικανότητας της αρτηρίας να παράγει μονοξείδιο του άνθρακα (που προκαλεί διαστολή των αρτηριών). Οι μετρήσεις γίνονται μετά από 8ωρη νηστεία και χωρίς να έχει καπνίσει ο εξεταζόμενος (Karatzi et al., 2007).

Είναι γνωστό ότι η μακροχρόνια χρήση προϊόντων καπνού επιδρά επιβαρυντικά (μέσω του μονοξειδίου του αζώτου και αύξησης του οξειδωτικού στρες) στην ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (Karatzi et al., 2007). Η διακοπή καπνίσματος έχει συσχετισθεί με εμφάνιση βελτίωσης στη λειτουργία του ενδοθηλίου. Βέβαια, έχει πραγματοποιηθεί και μια σειρά μελετών που εξετάζει την επίδραση της κατανάλωσης τροφίμων με υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα στην ενδοθηλιακή λειτουργία σε βαρείς καπνιστές. Για παράδειγμα, έχει φανεί ότι το κόκκινο κρασί επιδρά ευεργετικά στα ενδοθηλιακά κύτταρα, όποτε και στη λειτουργία του ενδοθηλίου, μέσω επίδρασής του στο οξειδωτικό στρες που προκαλεί το κάπνισμα (Karatzi et al., 2007). Βέβαια, δεν έχει καταστεί σαφές αν θα πρέπει να ενθαρρύνεται η μέτρια κατανάλωση κρασιού σε μη πότες. Καθώς τα αποτελέσματα των υπαρχουσών μελετών δεν επαρκούν για την εξαγωγή ασφαλούς, η διενέργεια και άλλων αντίστοιχων ερευνών είναι επιβεβλημένη (Puddey et al., 2001).

Σε μια μελέτη όπου εξετάστηκε η επίδραση της οξείας κατανάλωσης ροφήματος κακάο ενισχυμένου με φλαβανόλες σε καπνιστές φάνηκε αύξηση του FMD και επομένως βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας (Heiss et al., 2005). Σε μια άλλη μελέτη του 2006 φάνηκε ότι η λήψη συμπληρωμάτων, από βαρείς καπνιστές, προκάλεσε βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας όπως επίσης και σημαντική μείωση των επιπέδων του ινωδογόνου (Young et al., 2006). Μία αντίστοιχη έρευνα εξέτασε την επίδραση της από του στόματος λήψης συμπληρωμάτων βιταμίνης E. Κατέληξε ότι η λήψη συμπληρωμάτων μπορεί να βελτιώσει παροδικά την ενδοθηλιακή λειτουργία μέσω της βελτίωσης της αντιοξειδωτικής κατάστασης του οργανισμού (Neunteufl et al., 2000).

2.5 Ταχύτητα σφυγμικού κύματος και αρτηριακή σκληρία

Η σκληρία στις ελαστικές αρτηρίες, όπως η αορτή, εγκυμονεί αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. Η μέτρηση της ταχύτητας σφυγμικού κύματος (m/s) αποτελεί μία, ολόένα και πιο σημαντική, μέθοδο εκτίμησης της σκληρίας των αρτηριών, άρα και του καρδιαγγειακού κινδύνου (Vlachopoulos et al., 2010).

Σε μια πρόσφατη μελέτη εξετάστηκε αν η υψηλότερη πρόσληψη τροφίμων πλούσιων σε ανθοκυανίνες θα επιδρούσε θετικά στην αρτηριακή σκληρία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ αυξημένης κατανάλωσης και αρτηριακής σκληρίας (Jennings et al., 2012). Ομοίως, μελετήθηκε η επίδραση της κατανάλωσης χυμού cranberry στην ενδοθηλιακή λειτουργία. Η χρόνια κατανάλωση του χυμού συσχετίστηκε με μείωση της ταχύτητας σφυγμικού κύματος μεταξύ καρωτίδας και μηριαίας αρτηρίας (Dohadwala, et al., 2011). Ακόμη ένα τρόφιμο που αποτελεί καθοριστικό ανεξάρτητο παράγοντα χαμηλής αρτηριακής σκληρίας είναι το κακάο, όπως φάνηκε από τα αποτελέσματα μελέτης σε 198 υγιή άτομα με συνήθη κατανάλωση του τροφίμου αυτού (Vlachopoulos et al., 2007). Βέβαια, δεν παρατηρήθηκε κάποια θετική επίδραση-βελτίωση σε άτομα που έχουν κάποιους παράγοντες κινδύνου (Recio-Rodríguez et al., 2012). Τέλος, σε άλλη παλαιότερη μελέτη φάνηκε ότι η χρόνια κατανάλωση καφέ επιδεινώνει την αρτηριακή σκληρία αυξάνοντας τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου (Vlachopoulos et al., 2005).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Σκοπός και σχεδιασμός της μελέτης

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη αποτελεί μέρος μεγαλύτερης μελέτης παρέμβασης που εξετάζει την επίδραση της κατανάλωσης Κορινθιακής σταφίδας σε φαινομενικά υγιείς καπνιστές. Αναλυτικότερα, ο σκοπός της παρούσας έρευνας είναι ο προσδιορισμός των επιπέδων δεικτών οξειδωτικού στρες και φλεγμονής καθώς και η λειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου και οι μεταβολές στην αρτηριακή σκληρία μετά από παρέμβαση με Κορινθιακή σταφίδα σε υγιείς βαρείς καπνιστές.

Η μελέτη διεξάγεται σε βαρείς καπνιστές διότι:

- ο κίνδυνος για την εμφάνιση σειράς νοσημάτων είναι αυξημένος και συσχετίζεται με το οξειδωτικό στρες που επάγει η έκθεση στον καπνό του καπνίσματος
- οι καπνιστές έχει αναφερθεί να έχουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών στο πλάσμα, ιδίως καροτενοειδών, σε σύγκριση με τους μη καπνιστές.
- έχουν αναφερθεί διαφορές στις διατροφικές συνήθειες μεταξύ καπνιστών και μη καπνιστών
- το κάπνισμα μπορεί να επηρεάσει άμεσα την αντιοξειδωτική κατάσταση
- οι ελεύθερες ρίζες στις οποίες εκτίθενται οι καπνιστές μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτική βλάβη στο DNA, τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια και μπορεί να εμπλέκονται στην ανάπτυξη χρόνιων νοσημάτων όπως η αρτηριοσκλήρωση και ο καρκίνος
- η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία είναι ένα πρώιμο συμβάν στην αθηρογένεση που οδηγεί σε φλεγμονή, αγγειοσυστολή, και θρόμβωση
- η ζημία που προκαλείται στο ενδοθήλιο από τον εισπνεόμενο καπνό του τσιγάρου συμβάλλει στον αγγειακό τραυματισμό, την αθηρογένεση και τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου

3.2 Στάδια της μελέτης

3.2.1 Προκαταρτικό στάδιο

Επιλογή δείγματος

Η πρόσκληση των εθελοντών για να συμμετάσχουν στην έρευνα έγινε μέσω ηλεκτρονικού ταχυδρομείου ή από τον κοινωνικό περίγυρο.

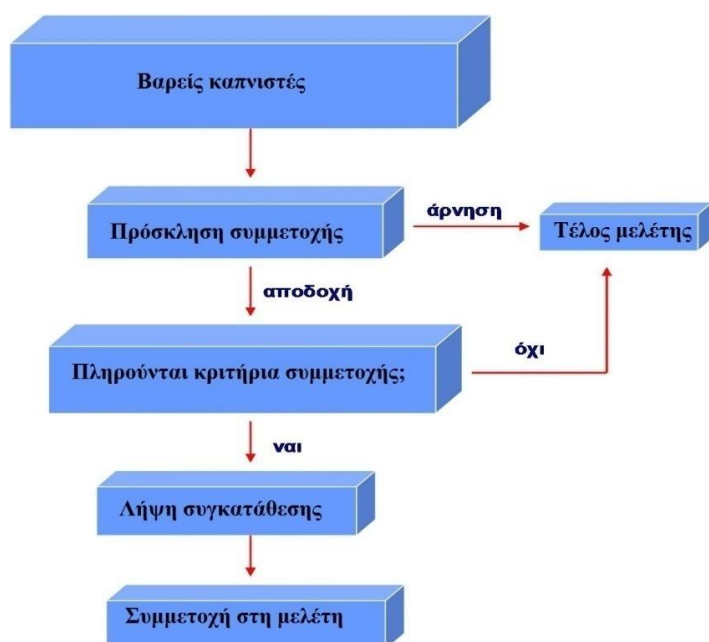
Τα κριτήρια επιλογής των φαινομενικά υγιών καπνιστών εθελοντών αποτελούν:

- Φαινομενικά υγιείς καπνιστές εθελοντές
- Ηλικία 20-60 έτη
- ΔΜΣ: 18,5-24,9 kg/m²
- >15 τσιγάρα/ημέρα για τουλάχιστον 2 χρόνια
- Σκορ υιοθέτησης Μεσογειακής Διατροφής (MedDietScore) ≤ 30

Αντίστοιχα, κριτήρια αποκλεισμού αποτελούν:

- νοητική νόσος
- κατάχρηση φαρμάκων ή αλκοόλης
- εγκυμοσύνη ή γαλουχία
- αλλεργίες
- χρόνια διάρροια
- αυτοάνοσα νοσήματα ή νοσήματα που καταστέλλουν το ανοσολογικό σύστημα ή λήψη ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων

Οι εθελοντές που ανταποκρίθηκαν στην πρόκληση ενημερώθηκαν για τη μελέτη και για όσους επιθυμούσαν να συμμετάσχουν ορίσθηκε συνεδρία για λεπτομερή ενημέρωση. Στην πρώτη επίσκεψη (baseline) των εθελοντών στο εργαστήριο πραγματοποιήθηκε λήψη πλήρους ιστορικού. Όσοι εθελοντές πληρούσαν τα κριτήρια επιλογής, ενημερώθηκαν αναλυτικά για τη μελέτη και παρέλαβαν το Πληροφοριακό Δελτίο. Μετά την υπογραφή του δελτίου συγκατάθεσης, οι εθελοντές ενσωματώθηκαν στη μελέτη με ένα κωδικό αναγνώρισης.



Σχήμα 3.1 Αλγόριθμος στρατολόγησης εθελοντών

Ερωτηματολόγιο έρευνας

Η αρχική συλλογή δεδομένων από τους εθελοντές πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο της Α΄ Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ (ΓΝΑ «Λαϊκό»).

Το πρώτο μέρος της πειραματικής διαδικασίας περιελάμβανε τη συμπλήρωση ενός ερωτηματολογίου που αποτελούνταν από 7 ενότητες (γενικά στοιχεία, ιστορικό καπνίσματος, ιατρικό ιστορικό, ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, ιατρικές μετρήσεις, φυσική δραστηριότητα και διατροφικές συνήθειες).

Η ενότητα των γενικών στοιχείων αποτελούνταν από στοιχεία επικοινωνίας με τον εθελοντή, την επαγγελματική και οικογενειακή του κατάσταση καθώς και την ηλικία.

Το ιστορικό καπνίσματος εξέταζε το σύνολο των ετών που καπνίζει ο εθελοντής καθώς και τη βαρύτητα αυτής της συνήθειας, δηλαδή τον αριθμό των τσιγάρων που καπνίζει ημερησίως.

Η λήψη ιατρικού ιστορικού πραγματοποιήθηκε για να εξακριβωθεί η απουσία κάποιας παθολογικής κατάστασης. Οπότε εξετάσθηκε η τυχόν λήψη οποιασδήποτε φαρμακευτικής αγωγής ή η λήψη αντιμικροβιακής θεραπείας για τους τελευταίους 3 μήνες. Επίσης οι εθελοντές διερωτήθηκαν για τη νεφρική λειτουργία, για το ιστορικό στεφανιαίας νόσου και εγχειακών εγκεφαλικών επεισοδίων, για την ύπαρξη χρόνιας διάρροιας ή αυτοάνοσων νοσημάτων.

Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά που συγκεντρώθηκαν περιελάμβαναν το ύψος, το βάρος, τις περιφέρειες μέσης και ισχίων όπως επίσης και το ποσοστό λιπώδους μάζας (τόσο το βάρος όσο και το ποσοστό λιπώδους μάζας πραγματοποιήθηκαν με τον ψηφιακό λιπομετρητή-ζυγό TANITA BODY COMPOSITION ANALYSER BC-418).

Τις ιατρικές εξετάσεις αποτέλεσαν η μέτρηση συστολικής και διαστολικής αρτηριακής πίεσης και μέτρηση των σφίξεων (η μέτρηση πραγματοποιήθηκε 3 φορές με ψηφιακό μανόμετρο OMRON και υπολογίσθηκε ο μέσος όρος). Επίσης μετρήθηκε η ταχύτητα σφυγμικού κύματος (pulse wave velocity, PWV) και η ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (flow mediated dilatation, FMD). Οι δύο τελευταίες μετρήσεις θα παρουσιαστούν παρακάτω αναλυτικότερα.

Η φυσική δραστηριότητα αξιολογήθηκε βάσει 3 πυλώνων: φυσική δραστηριότητα στην εργασία, στο σπίτι καθώς και για ψυχαγωγία, εξετάζοντας τις τελευταίες 7 ημέρες.

Τέλος, οι διατροφικές συνήθειες εξετάστηκαν με ανακλήσεις 24ωρου, με υπολογισμό του Μεσογειακού Διατροφικού Σκορ (MedDietScore) και με αξιολόγηση της κατανάλωσης των ειδών και της ποσότητας αλκοολούχων ποτών. Να επισημανθεί ότι οι ανακλήσεις 24ωρου (4 στο σύνολο) πραγματοποιούνταν αιφνίδια και κατά τη διάρκεια παρέμβασης μέσω τηλεφωνικής επικοινωνίας. Το ερωτηματολόγιο, στο σύνολό του, παρουσιάζεται στο Παράρτημα.

Αιμοληψία

Σε αμφοτέρες τις επισκέψεις, δηλαδή πριν και μετά την παρέμβαση, έγινε λήψη αίματος. Η αιμοληψία (40ml) γινόταν το πρωί μετά από 12ωρη νηστεία. Μετά τη λήψη αίματος ασκούσαν ελαφριά πίεση με στεγνό βαμβάκι μέχρι να βεβαιωθεί ότι δεν αιμορραγεί το σημείο φλεβοκέντησης.

Απομόνωση ορού και πλάσματος

Η απομόνωση του ορού από το ολικό αίμα γινόταν με την παραμονή του δείγματος σε vacutainer χωρίς αντιπηκτικό παράγοντα για 30min σε θερμοκρασία δωματίου, έπειτα φυγοκεντρούνταν (3000 rpm, 10 λεπτά, 4°C) και παραλαμβάνονταν το υπερκείμενο. Τα δείγματα ορού χρησιμοποιούνταν άμεσα για μέτρηση των απλών βιοχημικών παραμέτρων (γλυκόζη, λιπίδια, ηπατικά ένζυμα, ουρία, ουρικό οξύ, κρεατινίνη και ολικά λευκώματα), ενώ φυλάσσονταν και δείγματα ορού σε βαθιά κατάψυξη (-80°C) μέχρι την ανάλυση των δεικτών φλεγμονής. Η απομόνωση του πλάσματος γινόταν με τη χρήση vacutainer με αντιπηκτικό παράγοντα και φυγοκέντρωση στις 3000 rpm για 10 λεπτά στους 4°C. Τα δείγματα πλάσματος φυλάσσονταν σε βαθιά κατάψυξη (-80°C) μέχρι την ανάλυσή τους.

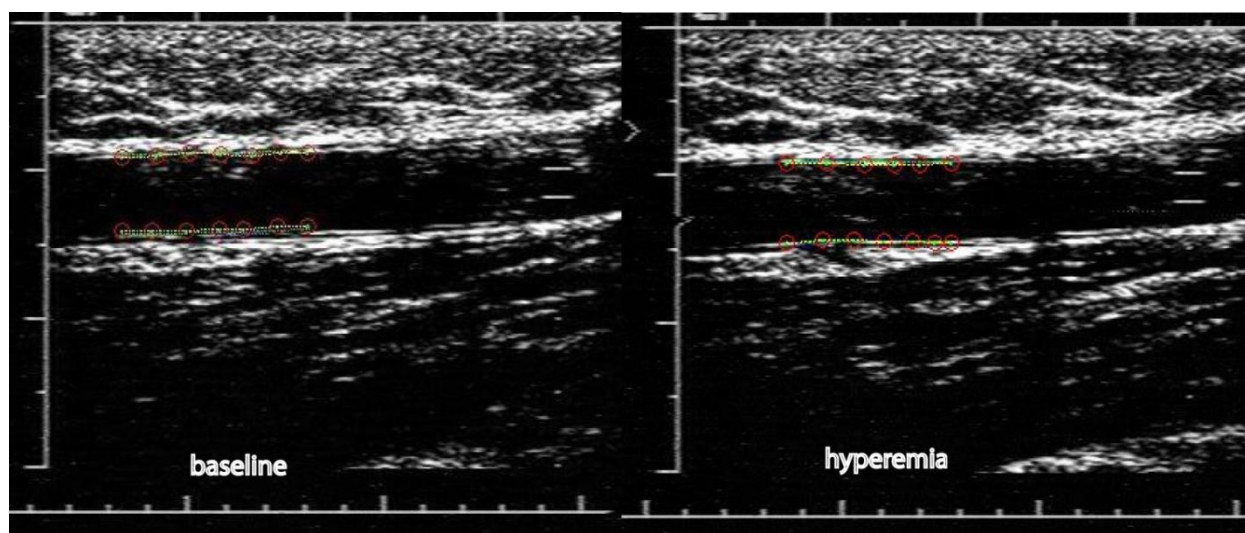
Οι μετρήσεις δεικτών οξειδωτικού στρες και φλεγμονής πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

Ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (flow mediated dilatation, FMD)

Με τη βοήθεια έγχρωμου υπερηχοτομογράφου υψηλής πιστότητας μπορεί να μετρηθεί η ταχύτητα ροής στη δεξιά βραχιόνιο αρτηρία καθώς και η διάμετρος αυτής σε κατάσταση ηρεμίας. Σε κατάσταση ηρεμίας πραγματοποιήθηκαν 3 μετρήσεις. Η ίδια διαδικασία μέτρησης της ταχύτητας ροής και της διαμέτρου της βραχιονίου επαναλήφθηκε μετά από ισχαιμία, που

εφαρμόστηκε για 5 λεπτά (3 μετρήσεις αμέσως μετά την ισχαιμία ανά 30 δευτερόλεπτα η κάθε μία). Η ισχαιμία επιτυγχάνεται με περίσφιξη του δεξιού αντιβραχίου, 15 εκατοστά άνωθεν της πηχεοκαρπικής αρτηρίας, με τη χρήση της περιχειρίδος του μανομέτρου σε πίεση 200 mmHg. Η μέτρηση του εύρους της βραχιονίου αρτηρίας τόσο κατά την ηρεμία, όσο και μετά την ισχαιμία, γίνεται πάντα στο δεξί χέρι και σε απόσταση 10 εκατοστών κεντρικότερα από τον αγκώνα και στο τέλος της καρδιακής διαστολής (η οποία αντιστοιχεί στην κορυφή του QRS επάρματος του ηλεκτροκαρδιογραφήματος). Να σημειωθεί ότι ταυτόχρονα με τη μέτρηση του FMD καταγράφεται ηλεκτροκαρδιογράφημα με τη βοήθεια ειδικού συστήματος που διαθέτει ο υπερηχοτομογράφος. Αφού ληφθούν οι εικόνες του αγγείου (πριν και μετά την ισχαιμία) από τον υπερηχοτομογράφο, ακολουθεί η επεξεργασία των αποτελεσμάτων και αφού υπολογισθούν οι μέσοι όροι των μετρήσεων υπολογίζεται η FMD με τον κάτωθι τύπο:

$$\text{FMD} = (\text{διάμετρος μετά ισχαιμίας} - \text{διάμετρος προ ισχαιμίας}) / \text{διάμετρος προ ισχαιμίας} \times 100$$

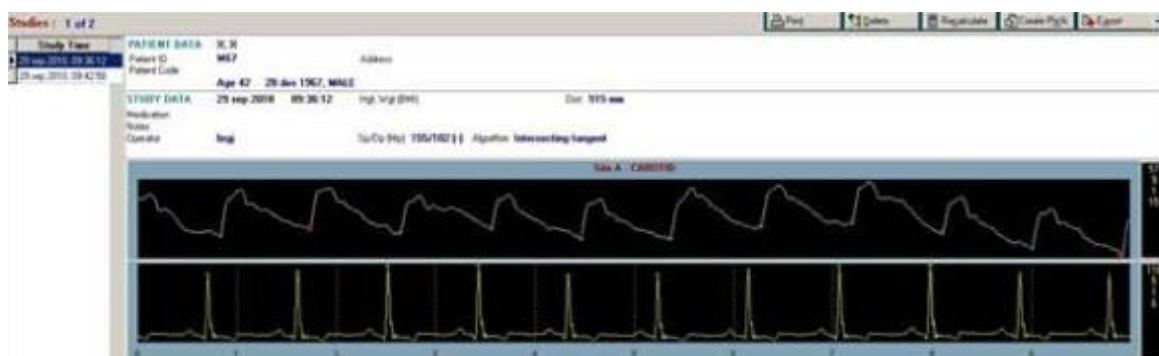


Εικόνα 3.1: Εικόνα υπερηχοτομογράφου κατά τις μετρήσεις

Ταχύτητα αγωγής του σφυγμικού κύματος (pulse wave velocity, PWV)

Η τονομέτρηση πραγματοποιείται με την ειδική συσκευή SphygmoCor με τον εθελοντή σε ύπτια θέση, στην κερκιδική αρτηρία, στην καρωτίδα και στη μηριαία αρτηρία. Η μέτρηση της ταχύτητας του σφυγμικού κύματος (PWV) αποτελεί μια αναγνωρισμένη, για την αξιοπιστία της, μέθοδο μέτρησης της ελαστικότητας των αρτηριών με επαναληψιμότητα. Το αρτηριακό σφυγμικό κύμα παράγεται με τη συστολή της αριστερής κοιλίας και την εξώθηση του αίματος στην αορτή. Το σφυγμικό κύμα μεταφέρεται σε ολόκληρο το αρτηριακό δίκτυο με μία συγκεκριμένη ταχύτητα. Με τη μέθοδο της τονομέτρησης μπορεί να μετρηθεί ο χρόνος μεταφοράς του σφυγμικού κύματος μεταξύ δύο σημείων στο αρτηριακό δίκτυο, συγκρίνοντας τη

χρονική καθυστέρηση του σφυγμικού κύματος στα δύο σημεία με ένα ταυτόχρονο μετρούμενο QRS έπαρμα (να επισημανθεί ότι και σε αυτή τη μέθοδο ταυτόχρονα με τη μέτρηση που διενεργούμε καταγράφεται ηλεκτροκαρδιογράφημα). Για να υπολογισθεί η ταχύτητα του σφυγμικού κύματος θα πρέπει αρχικά να μετρήσουμε, με μεζούρα, τις αποστάσεις μεταξύ καρωτίδας-κερκιδικής αρτηρίας και καρωτίδας-μηριαίας αρτηρίας. Η απόσταση μεταξύ καρωτίδας και κερκιδικής είναι η διαφορά των αποστάσεων μεταξύ σφαγιτιδικής εντομής του στέρνου και της κερκιδικής αρτηρίας και μεταξύ σφαγιτιδικής εντομής του στέρνου και της καρωτίδας. Παρόμοια, απόσταση μεταξύ καρωτίδας και μηριαίας αρτηρίας είναι η διαφορά των αποστάσεων μεταξύ σφαγιτιδικής εντομής του στέρνου και της μηριαίας αρτηρίας και μεταξύ σφαγιτιδικής εντομής του στέρνου και της καρωτίδας. Έτσι, η ταχύτητα ροής του σφυγμικού κύματος υπολογίζεται διαιρώντας την απόσταση των δύο σημείων στο αρτηριακό δίκτυο με το χρόνο μεταφοράς του σφυγμικού κύματος μεταξύ των σημείων αυτών.



Εικόνα 3.2: Εικόνα τονομέτρου κατά τις μετρήσεις

3.2.2 Στάδιο παρέμβασης

Κατά το στάδιο αυτό οι εθελοντές καλούνταν να καταναλώσουν 5 ισοδύναμα σταφίδας κάθε μέρα για διάστημα 1 μήνα. Κατά τη διάρκεια της παρέμβασης διατηρήθηκε επικοινωνία με τους εθελοντές για να ελεγχθεί η συμμόρφωση των εθελοντών στο πρωτόκολλο. Επίσης, σε αυτό το στάδιο πραγματοποιήθηκαν αιφνίδιες ανακλήσεις 24ωρου τηλεφωνικά.

3.2.3 Στάδιο επανεξέτασης

Κατά το στάδιο αυτό έγινε επανεξέταση των εθελοντών 1 μήνα μετά την ένταξή τους στη μελέτη. Επαναλήφθηκαν οι ιατρικές μετρήσεις και αυτές των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών. Επίσης, έγινε εκ νέου αιμοληψία για να γίνουν οι αντίστοιχες εργαστηριακές αναλύσεις.

3.3 Εργαστηριακές αναλύσεις

Μετά την αιμοληψία στο αιματολογικό τμήμα του νοσοκομείου πραγματοποιήθηκε γενική εξέταση αίματος (αιμοδιάγραμμα) για κάθε εθελοντή. Επίσης, αμέσως μετά την απομόνωση του ορού πραγματοποιήθηκαν βιοχημικές εξετάσεις (γλυκόζη, λιπίδια, ηπατικά ένζυμα, ουρία, ουρικό οξύ, ολικά λευκώματα και ταχύτητα καθίζησης ερυθρών αιμοσφαιρίων) στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ. Χρηστέας» της Ιατρικής σχολής του ΕΚΠΑ. Η μέτρηση των δεικτών οξειδωτικού στρες και φλεγμονής πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

3.4 Μετρήσεις δεικτών οξειδωτικού στρες και φλεγμονής

3.4.1 Μέτρηση της λεπτίνης ορού

Αντιδραστήρια-Όργανα

Εξειδικευμένο ELISA kit για τη μέτρηση της λεπτίνης

Απιονισμένο νερό

ELISA reader

Συσκευή Vortex

Πιπέτες (50-500μL)

Tips

Αρχή της μεθόδου

Η λεπτίνη προσδένεται αρχικά σε μονοκλωνικό αντίσωμα, ενώ στη συνέχεια για τον ανοσοπροσδιορισμό προστίθεται αντίσωμα-ανιχνευτής της προσδεμένης λεπτίνης στο μονοκλωνικό αντίσωμα. Μετά από πλύσιμο, προστίθεται υπόστρωμα και λαμβάνει χώρα χρωματομετρική αντίδραση. Το προϊόν της αντίδρασης απορροφά στα 450nm.

Αναλυτική πορεία

Τα επίπεδα της λεπτίνης στο πλάσμα μετρώνται σε ELISA φωτόμετρο με χρήση εξειδικευμένου sandwich kit και σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρείας. Αρχικά προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα στάνταρ σύμφωνα με τις οδηγίες του παρασκευαστή. Στα δείγματα γίνεται αραίωση 1:100. Στις αντίστοιχες θέσεις στο plate προστίθεται αρχικά 100μL διαλύτη (Assay Diluent RD1-19) και 100μL control, standard ή δείγματος. Επώαζουμε για 2 h σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί απομάκρυνση του υπερκείμενου και ξέπλυμα με το διάλυμα πλύσης 4 φορές. Μετά το τελευταίο ξέπλυμα

απομακρύνεται κάθε ίχνος υγρασίας και προστίθενται 200μL του πολυκλωνικού αντισώματος. Ακολουθεί επώαση για 1 h σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το τέλος της επώασης απομακρύνεται πάλι το υπερκείμενο και ξεπλένεται με διάλυμα πλύσης για 4 φορές. Απομακρύνεται κάθε ίχνος υγρασίας και προστίθενται 200μL από το υπόστρωμα. Επωάζονται για άλλα 30 min σε θερμοκρασία δωματίου και στο σκοτάδι. Στο τέλος προστίθενται 50μL διαλύματος τερματισμού της αντίδρασης και μετράται η απορρόφηση στα 450nm. Για την έκφραση των αποτελεσμάτων σε pg/mL, κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Για την καμπύλη αναφοράς γίνονται διαδοχικές αραιώσεις με ρυθμιστικό διάλυμα από μητρικό διάλυμα λεπτίνης (10000 pg/mL). Οι τελικές συγκεντρώσεις είναι 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,2 και 15,6 pg/mL. Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $y=f(x)$, όπου x η συγκέντρωση της λεπτίνης σε pg/mL και y η απορρόφηση στα 450nm.

3.4.2 Μέτρηση της οξειδωμένης LDL (oxLDL) ορού

Αντιδραστήρια-Όργανα

Εξειδικευμένο Elisa kit για τη μέτρηση της oxLDL

Απιονισμένο νερό

Elisa reader

Συσκευή Vortex

Αναδευτήρας πιάτου

Πιπέτες (25-1000μL)

Tips

Αρχή της μεθόδου

Η μέτρηση βασίζεται στην τεχνική συζευγμένη ανοσοενζυμική μέθοδο (τύπου “sandwich”) κατά την οποία δύο μονοκλωνικά αντισώματα κατευθύνονται κατά των ξεχωριστών αντιγονικών παραγόντων στο μόριο της οξειδωμένης απολιποπρωτεΐνης B (αναγνωρίζει την oxLDL). Κατά την επώαση η oxLDL αντιδρά με τα αντι-oxLDL αντισώματα. Τέλος, η ανίχνευση γίνεται με από την αντίδραση με TMB (3,3-5,5-τετραμεθυλο-βενζιδίνη).

Αναλυτική πορεία

Όλα τα αντιδραστήρια, όπως και τα δείγματα θα πρέπει να είναι σε θερμοκρασία δωματίου πριν τη χρήση. Αρχικά τοποθετούμε 100μL ρυθμιστικό διάλυμα (Assay Buffer), σε κάθε κελί του και ακολουθεί επώαση σε αναδευτήρα πιάτου για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί πλύση σε αυτόματο μηχάνημα πλύσης πιάτου. Στη συνέχεια, προστίθενται 100μL ενζύμου σε κάθε κελί και ακολουθεί ομοίως επώαση σε αναδευτήρα για 2 ώρες και πλύσιμο. Εν συνεχεία προστίθενται 200μL TMB και ακολουθεί επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά, χωρίς ανάδευση. Μετά την επώαση προστίθενται 50μL Stop Solution και αναδεύουμε για 5 δευτερόλεπτα. Ακολουθεί μέτρηση στον Elisa reader, αφού περάσουν 30 λεπτά μετά την προσθήκη του Stop solution.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Για την καμπύλη αναφοράς γίνονται αραιώσεις με προσθήκη 1000μL απιονισμένου νερού στα πρότυπα διαλύματα Calibrators 1-5. Ακολουθεί φωτομέτρηση στα 450nm. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $y=f(x)$, όπου x η συγκέντρωση του της oxLDL σε U/L και y η απορρόφηση στα 450nm.

3.4.3 Μέτρηση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (hs-CRP) ορού Αντιδραστήρια-Όργανα

Εξειδικευμένο Elisa kit για τη μέτρηση της hsCRP

Απιονισμένο νερό

Elisa reader

Συσκευή Vortex

Πιπέτες 10-1000μL

Tips

Αρχή της μεθόδου

Η αρχή της μεθόδου περιλαμβάνει την παθητική προσκόλληση αντισωμάτων σε στερεά κατάσταση. Τα αντισώματα δεσμεύουν τα προς μέτρηση αντιγόνα. Τα αντιγόνα διαλύονται σε ειδικό διαλύτη που αποτρέπει την μη ειδική σύνδεση ουσιών στα αντισώματα. Μετά από επώαση και ξέπλυμα, προκύπτει ένα σύμπλεγμα αντισώματος-αντιγόνου σε στερεά κατάσταση. Τα δεσμευμένα αντιγόνα προσδιορίζονται με την προσθήκη και επώαση με αντίσωμα, σημασμένο με ένζυμο. Το δεύτερο αντίσωμα μπορεί να είναι ίδιο με εκείνο που χρησιμοποιήθηκε για τη δέσμευση του αντιγόνου ή διαφορετικό, από άποψη προέλευσης. Μετά

από επώαση και ξέπλυμα, προστίθεται χρωμοφόρο υπόστρωμα και στη συνέχεια διακόπτεται η αντίδραση και το χρώμα ποσοτικοποιείται σε φασματοφωτόμετρο.

Αναλυτική πορεία

Όλα τα αντιδραστήρια όπως και τα δείγματα θα πρέπει να είναι σε θερμοκρασία δωματίου πριν τη χρήση. Ακολουθεί αραιώση 1:1000 των δειγμάτων ορού που θα μετρηθούν, και αφού γίνει ανάδευση τοποθετούνται στα κελιά (100μL). Εν συνεχεία, γίνεται επώαση για 30 λεπτά. Ακολουθεί ξέπλυμα και εν συνεχεία προσθήκη 100μL Conjugate solution. Στη συνέχεια έχουμε επώαση, ομοίως με πριν. Έπειτα, αφού ξεπλυθούν οι πλάκες, τοποθετούμε το αντιδραστήριο με τη χρωμοφόρα ένωση (100μL σε κάθε κελί). Ακολουθεί νέα επώαση για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και προσθέτουμε 50μL Stop solution. Τριάντα λεπτά μετά την προσθήκη του Stop solution φωτομετρούμε στα 450nm.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Για την καμπύλη αναφοράς αραιώνονται τα 10x πρότυπα διαλύματα 1:100, ακολουθείται η παραπάνω διαδικασία και ακολουθεί φωτομέτρηση στα 450nm. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $y=f(x)$, όπου x η συγκέντρωση της hsCRP σε $\mu\text{g/mL}$ και y η απορρόφηση στα 450nm.

3.4.4 Μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (AOP) πλάσματος

Αντιδραστήρια-Όργανα

Εξειδικευμένο φωτομετρικό kit για τη μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας

Απιονισμένο νερό

Φωτόμετρο

Συσκευή Vortex

Πιπέτες (50-500μL)

Tips

Αρχή της μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή του Cu^{++} προς Cu^{+} μέσω της δράσης όλων των αντιοξειδωτικών που περιέχει το δείγμα. Στη συνέχεια με τη προσθήκη του Bathocuproine (2,9-dimethyl-4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline), δημιουργούνται εκλεκτικά συμπλέγματα με τα ιόντα χαλκού Cu^{+} (2:1) που εμφανίζουν μέγιστη απορρόφηση στα 490nm.

Αναλυτική πορεία

Τα επίπεδα των ολικών αντιοξειδωτικών του πλάσματος μετρώνται σε φωτόμετρο με χρήση εξειδικευμένου kit και σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρείας. Πιο συγκεκριμένα, τα δείγματα και τα πρότυπα-standards αραιώνονται 1:40 με αντιδραστήριο R1 που περιέχει το Bathocuproine. Προσθέτουμε 200μL από τα αραιωμένα δείγματα στην αντίστοιχη θέση στο 96-well πιάτο και μετράμε την απορρόφηση στα 490nm. Προσθέτουμε 50μL από το αντιδραστήριο R2 που περιέχει τα ιόντα δισθενή χαλκού Cu^{+2} και αναμιγνύουμε καλά. Επωάζουμε για 3 min σε θερμοκρασία δωματίου και προσθέτουμε το αντιδραστήριο τερματισμού της αντίδρασης. Ακολουθεί ανάμιξη και μέτρηση της απορρόφησης στα 490nm. Για την έκφραση των αποτελεσμάτων (mM Trolox equivalents) κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Από το μητρικό διάλυμα Trolox (2mM) και με διαδοχικές αραιώσεις παρασκευάζονται διαλύματα συγκέντρωσης 1mM, 0,5mM, 0,25mM, 0,125mM και 0mM. Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $y=f(x)$, όπου x η συγκέντρωση των Trolox equivalents σε mM και y η απορρόφηση στα 490nm.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

4.1 Χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή της μελέτης

Αρχικά, ελέγχθηκε αν οι εθελοντές που εντάχθηκαν στη μελέτη πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης, ενώ παράλληλα αποκλείστηκαν από τη μελέτη αν είχαν κάποιο από τα κριτήρια αποκλεισμού. Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται τα χαρακτηριστικά των εθελοντών που προέκυψαν από τις αναλύσεις των δεδομένων της πρώτης επίσκεψης (baseline) πριν την ένταξή τους στη μελέτη.

Πίνακας 4.1 Χαρακτηριστικά των εθελοντών κατά την ένταξή τους στην παρέμβαση

	Αρχή παρέμβασης
Αριθμός εθελοντών	8
Άνδρες	4
Γυναίκες	4
Ηλικία (χρόνια)	39,8±12,1
Έτη καπνίσματος	18±10
Αριθμός τσιγάρων/ημέρα	20,5±6,7
MedDietScore	30,5±1,5
Ύψος (cm)	174,5±11,1
ΔΜΣ (kg/m ²)	23,4±2,7
Συστολική αρτηριακή πίεση (mmHg)	111,3±5,1
Διαστολική αρτηριακή πίεση (mmHg)	71±10,4
Γλυκόζη νηστείας (mg/dL)	87,5±15
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	146,3±18,8
HDL (mg/dL)	57±12,5
LDL (mg/dL)	72,3±11,4
TG (mg/dL)	85±20,8
Αλκαλική φωσφατάση (mg/dL)	48,3±15,6
SGOT (mg/dL)	16,5±4,8
SGPT (mg/dL)	14,3±4,9
γGT (mg/dL)	23,8±8,7
Κρεατινίνη (mg/dL)	0,85±0,12

Ουρία (mg/dL)	29,5±4,2
Ουρικό οξύ (mg/dL)	5,5±0,63

4.2 Ανάλυση των διατροφικών προσλήψεων

Τα δεδομένα για την κατανάλωση τροφίμων από τους εθελοντές προέκυψαν από 2 ανακλήσεις 24ωρου, μια στην αρχή και μια στο τέλος της παρέμβασης. Η ανάλυση των διατροφικών στοιχείων έγινε χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα Diet Analysis Plus 4. Παράλληλα, κατά τη διάρκεια της παρέμβασης έγιναν αιφνίδιες τηλεφωνικές ανακλήσεις 24ωρου ώστε να ελεγχθεί η συμμόρφωση των εθελοντών στο πρωτόκολλο της μελέτης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον κάτωθι πίνακα.

Πίνακας 4.2 Πρόσληψη ενέργειας και μακροθρεπτικών συστατικών στην αρχή (baseline) και στο τέλος της παρέμβασης

	Πριν την παρέμβαση	Μετά την παρέμβαση
Πρόσληψη ενέργειας (kcal)	1791±562	1707±511
Πρόσληψη υδατανθράκων (%)	59±14,4	63±8,6
Πρόσληψη πρωτεϊνών (%)	16±4,5	15,3±6
Πρόσληψη λιπών (%)	20,5±5,9	17,3±9,2
Πρόσληψη κορεσμένων (%)	7±2,4	4,5±1,9
Πρόσληψη μονοακόρεστων (%)	8,5±4,6	4,5±4,1
Πρόσληψη πολυακόρεστων (%)	2,8±0,95	1,8±0,95

Στον παραπάνω πίνακα παρατηρείται μείωση στις συνολικές προσλαμβανόμενες θερμίδες, κατά περίπου 85 θερμίδες ανά ημέρα. Αυτή η μείωση θα μπορούσε να αποδοθεί:

- στην αντικατάσταση των ενδιάμεσων σνακς με μία υγιεινή διατροφική επιλογή (σταφίδα). Δεδομένου ότι οι εθελοντές έχουν κακή συμμόρφωση στο πρότυπο της Μεσογειακής διατροφής, οι σταφίδες αντικατέστησαν σνακ πλούσια σε λιπαρά και νάτριο (έτοιμα παρασκευασμένα προϊόντα). Αυτή η παραδοχή συμβαδίζει και με έρευνες που υποστηρίζουν ότι άτομα που καταναλώνουν ικανοποιητικές ποσότητες φρούτων και λαχανικών, εμφανίζουν μεγαλύτερη προσκόλληση σε πιο υγιεινά πρότυπα διατροφής.
- στο αίσθημα κορεσμού-πλήρωσης, λόγω της παρουσίας των φυτικών ινών και των φαινολικών συστατικών

Αν και η μείωση πρόσληψης ενέργειας κατά 85 θερμίδες ημερησίως δε μοιάζει να είναι πολύ μεγάλη, παρόλα αυτά δύναται να οδηγήσει σε απώλεια βάρους (σε 1 μήνα) της τάξης των 0,4kg. Μία τέτοια απώλεια, μακροχρόνια μπορεί να μειώσει σημαντικά το σωματικό βάρος αποδίδοντας ταυτόχρονα πολλαπλά οφέλη για τον οργανισμό.

Η πρόσληψη υδατανθράκων και πρωτεϊνών δεν εμφανίζει κάποια σημαντική διαφορά, αλλά παραμένει σταθερή.

Αντίθετα η πρόσληψη λιπών (επί του συνόλου των προσλαμβανόμενων θερμίδων), όπως αποτυπώνεται στους μέσους όρους, παρουσιάζει μία σημαντική μείωση. Το σημαντικότερο βέβαια είναι ότι μειώθηκε αισθητά η πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών, κάτι που επιβεβαιώνει την αντικατάσταση έτοιμων παρασκευασμένων προϊόντων-σνακ (π.χ. προϊόντα φούρνου, γλυκίσματα, σφολιατοειδή τρόφιμα).

4.3 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

Όπως προαναφέρθηκε, τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά μετρήθηκαν τόσο κατά την πρώτη επίσκεψη των εθελοντών (baseline), όσο και μετά την παρέμβαση (1 μήνας) στον επανέλεγχο. Τα αποτελέσματα αποτυπώνονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 4.3 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά πριν (baseline) και στο τέλος της παρέμβασης

	Πριν την παρέμβαση	Μετά την παρέμβαση
Βάρος (kg)	71,6±13,1	71,1±12
ΔΜΣ (kg/m²)	23,4±2,7	23,2±2,4
Περιφέρεια μέσης (cm)	87,3±12	87±11,9
Περιφέρεια ισχίων (cm)	97,8±7,1	98±7,1

Στον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι υπάρχει μια μικρή μείωση στο μέσο όρο του βάρους της τάξης των 0,5kg. Η απώλεια βάρους μπορεί να είναι μικρή, αναλογιζόμενοι όμως τη χρονική διάρκεια της παρέμβασης συμπεραίνουμε ότι είναι σημαντική. Αυτή η διαφορά στους μέσους όρους του βάρους οφείλεται στην αντικατάσταση των ενδιάμεσων γευματιδίων (σνακ) με μία υγιεινή εναλλακτική λύση και τη συνακόλουθη ρύθμιση του ισοζυγίου ενέργειας.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η απώλεια σωματικού βάρους αποτυπώνεται και στον Δείκτη Μάζας Σώματος, ο οποίος μειώθηκε κατά 0,2kg/m².

Τέλος, στους μέσους όρους των περιφερειών δεν εμφανίζεται καμία διαφορά καθώς μία μεταβολή του βάρους κατά 0,4kg δεν είναι αρκετή ώστε να έχει αντίκτυπο στις περιφέρειες μέσης και ισχίων.

4.4 Συστολική αρτηριακή πίεση, διαστολική αρτηριακή πίεση και σφίξεις

Όπως παρατηρούμε και στον πίνακα 4.4, δεν υπάρχει διαφορά στα επίπεδα της συστολικής αρτηριακής πίεσης, πριν και μετά την παρέμβαση. Αντίστοιχα, οι σφίξεις δεν παρουσιάζουν κάποια διαφορά.

Πίνακας 4.4 Συστολική αρτηριακή πίεση, Διαστολική αρτηριακή πίεση, σφίξεις

	Πριν την παρέμβαση	Μετά την παρέμβαση
Συστολική αρτηριακή πίεση (mmHg)	111,3±5,1	110,8±11,7
Διαστολική αρτηριακή πίεση (mmHg)	71±10,4	68,8±4
Σφίξεις (min ⁻¹)	64±6	64±10

Οι μέσοι όροι της διαστολικής αρτηριακής πίεσης παρουσίασαν μια μικρή διαφορά (μείωση μετά την παρέμβαση), που συμβαδίζει με έρευνες που έδειξαν ότι η αυξημένη πρόσληψη πολυφαινόλων, σε άτομα με φλεγμονή και αυξημένο οξειδωτικό στρες, συνεπάγεται μείωση της διαστολικής αρτηριακής πίεσης. Σε προηγούμενη κλινική μελέτη σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 2, η παρέμβαση με σταφίδα μείωνε σημαντικά τη διαστολική αρτηριακή πίεση 24 εβδομάδες μετά από την παρέμβαση.

4.5 Βιοχημικές αναλύσεις

Αντίστοιχα με τις προηγούμενες μετρήσεις, έτσι και οι βιοχημικοί δείκτες αξιολογήθηκαν πριν και μετά από την παρέμβαση. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον πίνακα 4.5.

Πίνακας 4.5 Βιοχημικές παράμετροι στην αρχή (baseline) και στο τέλος της παρέμβασης

	Πριν την παρέμβαση	Μετά την παρέμβαση
Γλυκόζη νηστείας (mg/dL)	87,5±15	86±13,8
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	146,3±18,8	143,3±12,5
HDL (mg/dL)	57±12,5	56,5±12,3
LDL (mg/dL)	72,3±11,4	69,5±8,5

TG (mg/dL)	85±20,8	84,5±20,4
Αλκαλική φωσφατάση (mg/dL)	48,3±15,6	60,8±10,9
SGOT (mg/dL)	16,5±4,8	17,3±4,9
SGPT (mg/dL)	14,3±4,9	17,8±6,1
γGT (mg/dL)	23,8±8,7	28,3±4,5
Κρεατινίνη (mg/dL)	0,85±0,12	0,92±0,12
Ουρία (mg/dL)	29,5±4,2	35,8±2,9
Ουρικό οξύ (mg/dL)	5,5±0,63	5,9±0,47
Ολικές πρωτεΐνες (mg/dL)	7,2±0,29	7,1±0,55

Στις βιοχημικές παραμέτρους που μετρήθηκαν δεν παρατηρήσαμε κάποια σημαντική μεταβολή στους μέσους όρους της γλυκόζης νηστείας, στα λιπίδια ή στις ολικές πρωτεΐνες. Ωστόσο, στα ηπατικά ένζυμα σημειώθηκε αύξηση των τιμών, αλλά εντός των φυσιολογικών ορίων.

4.6 Αξιολόγηση ενδοθηλιακής λειτουργίας

Η ενδοθηλιακή λειτουργία καθώς και η σκληρία των αρτηριών των εθελοντών που συμμετείχαν στη μελέτη αξιολογήθηκε εκτιμώντας την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (FMD) και την ταχύτητα σφυγμικού κύματος (PWV), αντίστοιχα. Στο παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα αποτελέσματα των μετρήσεων πριν και μετά την παρέμβαση.

Πίνακας 4.6 Δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας στην αρχή (baseline) και στο τέλος της παρέμβασης

	Πριν την παρέμβαση	Μετά την παρέμβαση
Ταχύτητα σφυγμικού κύματος(m/s)		
καρωτίδας-κερκιδικής	5,9±0,7	5,9±0,7
καρωτίδας-μηριαίας	6,9±0,7	6,9±1
FMD (%)	2,9±1,9	3,6±3,1

Σε αντίθεση με αντίστοιχα βιβλιογραφικά δεδομένα η ταχύτητα σφυγμικού κύματος (PWV), που αντικατοπτρίζει την ελαστικότητα ή μη των αγγείων, δεν παρουσιάζει καμία απολύτως μεταβολή (Πίνακας 4.6). Αντίθετα η ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (FMD),

που μετράται ως η ποσοστιαία μεταβολή της διαμέτρου της αρτηρίας, εμφανίζει μία αύξηση της τάξης του 0,7%. Αυτό ουσιαστικά σημαίνει ότι υπήρξε βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας. Άλλωστε, προϋπάρχουσες έρευνες υποστηρίζουν ότι η κατανάλωση πλούσιων σε αντιοξειδωτικά τροφίμων, δρα ευεργετικά στη λειτουργία του ενδοθηλίου μέσω της επίδρασης που προκαλούν στο οξειδωτικό στρες.

4.7 Δείκτες φλεγμονής και οξειδωτικού στρες

Εκτός από τον βιοχημικό έλεγχο ρουτίνας πραγματοποιήθηκαν και μετρήσεις άλλων δεικτών φλεγμονής και οξειδωτικού στρες τόσο πριν όσο και μετά το τέλος της παρέμβασης με σταφίδες. Στον πίνακα 4.7 φαίνονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, της λεπτίνης και της οξειδωμένης LDL που μετρήθηκαν στον ορό των εθελοντών καθώς και της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πλάσματος πριν και μετά την παρέμβαση,

Πίνακας 4.7 Δείκτες φλεγμονής και οξειδωτικού στρες στην αρχή (baseline) και στο τέλος της παρέμβασης

	Πριν την παρέμβαση	Μετά την παρέμβαση
hs-CRP (μg/mL)	2,7±1,8	2,5±1,7
Οξειδωμένη LDL (U/L)	62,7±5,7	74,9±11,6
Αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος (mM Trolox eq.)	0,42±0,04	0,41±0,08
Λεπτίνη (ng/mL)	15,9±12,6	13,4±8,7

Από τα παραπάνω αποτελέσματα, φαίνεται πως επήλθε ρύθμιση στα επίπεδα της CRP και της λεπτίνης, δεικτών που αποτελούν παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο. Παράλληλα, παρατηρείται μια αύξηση στα επίπεδα της oxLDL, χωρίς όμως αυτή να συνοδεύεται από ταυτόχρονη μείωση στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος (AOP).

4.8 Συζήτηση επί των αποτελεσμάτων

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη αποτελεί πιλοτική δοκιμή μόνο μιας μεγαλύτερης μελέτης και η εξαγωγή ορισμένων και ασφαλών αποτελεσμάτων δε θα ήταν παρά επιπόλαιη. Έτσι, η μη αναμενόμενη αύξηση στα επίπεδα της oxLDL στην παρούσα μελέτη πιθανό σε μεγαλύτερο δείγμα να αναστραφεί. Αντίστοιχα, ενδέχεται να προκύψουν και άλλα δεδομένα που με το έως

τόρα δείγμα δεν είναι εμφανή. Παρόλα αυτά, τα παρόντα δεδομένα παρέχουν κάποιες αρχικές πολύ χρήσιμες ενδείξεις και πληροφορίες που μπορούν να συμβάλλουν σημαντικά στη δόμηση της μελέτης.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα των διατροφικών προσλήψεων, σε αυτά εμπεριέχεται κάποιο σφάλμα δεδομένου ότι οι ανακλήσεις 24ωρου αξιολογήθηκαν με πρόγραμμα-εργαλείο που απέχει αρκετά από την ελληνική πραγματικότητα (βάση δεδομένων USDA, συστατικά τροφίμων).

Συνολικά, η βελτίωση σε ανθρωπομετρικές παραμέτρους και σε δείκτες φλεγμονής, η ευεργετική επίδραση στην ενδοθηλιακή λειτουργία και στις διατροφικές συνήθειες όπως μαρτυρούν η μείωση της ημερήσιας πρόσληψης κορεσμένων λιπών, είναι ενδείξεις που ενισχύουν την περαιτέρω διερεύνηση προς την αποσαφήνιση του ρόλου της Κορινθιακής σταφίδας ως μίας ορθής επιλογής σνακ έναντι άλλων για τη διατήρηση της καλής υγείας και την πρόληψη νοσημάτων από πληθυσμούς με χαμηλή συμμόρφωση στο μεσογειακό τρόπο διατροφής.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Altman R. Risk factors in coronary atherosclerosis athero-inflammation: the meeting point. *Thromb J* 2003, 1(1):4.
- Anderson TJ, Elstein E, Haber H, Charbonneau F. Comparative study of ACE-inhibition, angiotensin II antagonism, and calcium channel blockade on flow-mediated vasodilation in patients with coronary disease (BANFF study). *J Am Coll Cardiol* 2000, 35(1):60-66.
- Aoki J, Uchino K. Treatment of risk factors to prevent stroke. *Neurotherapeutics* 2011, 8(3):463-474.
- Australian Bureau of Statistics (ABS) National health survey summary of results 2004-2005 ABS Catalogue No 4364.0 Canberra, Australia: ABS 2006.
- Bal DG, Forester SB. Changing the American diet. *Cancer* 1991, 67:2671-2680.
- Belski R. Fiber, protein, and lupin-enriched foods: role for improving cardiovascular health. *Adv Food Nutr Res* 2012, 66:147-215.
- Bhupathiraju SN, Tucker KL. Coronary heart disease prevention: nutrients, foods, and dietary patterns. *Clin Chim Acta* 2011, 412(17-18):1493-1514.
- Block G, Patterson B, Subar A. Fruit, vegetables and cancer prevention: A review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer* 1992, 18:1-9.
- Bonomini F, Tengattini S, Fabiano A, Bianchi R, Rezzani R. Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol Histopathol* 2008, 23(3):381-390.
- Raitakari OT, Celermajer DS, Celermajer. Flow-mediated dilatation. *Br J Clin Pharmacol* 2000, 50:397-404.
- Chiou A, Karathanos VT, Mylona A, Salta FN, Preventi F, Andrikopoulos NK. Currants (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolics and antioxidant activity. *Food Chem* 2007, 102:516–522.
- Demopoulos CA, Karantonisa HC, Antonopoulou S. Platelet activating factor - a molecular link between atherosclerosis theories. *Europ J Lip* 2009, 105:705–716.
- Edwards T. Inflammation, pain and chronic disease: An integrative approach to treatment and prevention. *Althern Ther Health Med* 2005, 11(6):20-27.
- Elisaf M. The treatment of coronary heart disease: An update. Part 1: An overview of the risk factors for cardiovascular disease. *Curr Med Res Opin* 2002, 17:18-26.
- European Heart Network, European Cardiovascular Disease Statistics 2012, CVD Statistics, Retrieved 4 April,2013 from <http://www.ehnheart.org/cvdstatistics.html>
- Feldeisen SE, Tucker KL. Nutritional strategies in the prevention and treatment of metabolic syndrome. *Appl Physiol Nutr Metab* 2007, 32(1):46-60.

- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food Based Dietary Guidelines.<http://www.fao.org/ag/humannutrition/nutritioneducation/fbdg/en/>accessed February 16, 2011.
- Gibney MJ, Vorster HH, Kok FC. Εισαγωγή στη διατροφή του ανθρώπου, εκδ. Παρισιάνου, Αθήνα 2007
- Griendling KK, Ushio-Fukai M. Redox control of vascular smooth muscle proliferation. *J Lab Clin Med* 1998, 132:9-15.
- Guenther PM, Dodd KW, Reedy J, Krebs-Smith SM. Most Americans eat much less than the recommended amount of fruits and vegetables. *Am J Diet Ass* 2006, 106(9):1371-1379.
- Hall HN, Moore S, Harper SB, Lynch JW. Global variability in fruit and vegetable consumption. *Am J Prev Med* 2009, 36(5):402-409.
- Heiss C, Kleinbongard P, Dejam A, Perré S, Schroeter H, Sies H, Kelm M. Acute consumption of flavanol-rich cocoa and the reversal of endothelial dysfunction in smokers. *J Am Coll Cardiol*. 2005,46(7):1276-1283.
- Hooper Lee, Kroon PA, Rimm EB, Cohn JS, Harvey I, Le Cornu KA, Ryder JJ, Hall WL, Cassidy A. Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2008, 88:38-50.
- Hu B. Vegetarian diets and risk of selected chronic diseases: Plant based foods and prevention of cardiovascular disease: An overview. *Am J Clin Nutr* 2003, 78:544-551.
- Hung H, Joshipura KJ, Jiang R, Hu FB, Hunter D, Smith-Warner SA, Colditz GA, Rosner B, Spiegelman D, Willett WC. Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *J Nat Cancer Inst*. 2004, 96(21):1577-1584.
- Anderson JW, Waters AR. Raisin Consumption by Humans: Effects on Glycemia and Insulinemia and Cardiovascular Risk Factors. *J Food Sci*. 2013, 78 Suppl 1:A11-17.
- Jennings A, Welch AA, Fairweather-Tait SJ, Kay C, Minihane A-M, Chowienczyk P, Jiang B, Cecelja M, Spector T, Macgregor A, Cassidy A. Higher anthocyanin intake is associated with lower arterial stiffness and central blood pressure in women. *Am J Clin Nutr* 2012, 96:781-788.
- Kaliora AC, Kountouri AM, Karathanos VT. Antioxidant properties of raisins. *J Med Food* 2009, 12(6):1302-1309.
- Kaliora AC, Kountouri AM, Karathanos VT. Effect of Greek Raisins (*Vitis Vinifera* L.) from different origins on gastric cancer cell growth. *Nutr Cancer* 2008, 60(6):792-799.
- Kanellos PT, Kaliora AC, Gioxari A, Christopoulou GO, Kalogeropoulos N, Karathanos VT. Absorption and bioavailability of antioxidant phytochemicals and increase of serum

- oxidation resistance in healthy subjects following supplementation with raisins. *Plant Foods Hum Nutr* DOI 10.1007/s11130-013-0389-2.
- Kanellos PT, Kaliora AC, Liaskos C, Tentolouris NK, Perrea D, Karathanos VT. A Study of Glycemic Response to Corinthian Raisins in Healthy Subjects and in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Plant Foods for Human Nutrition* 2013, 68:145-148.
- Kanellos PT, Kaliora AC, Tentolouris NK, Argiana V, Perrea D, Kalogeropoulos N, Kountouri AM, Karathanos VT. A pilot randomized controlled trial to examine the health outcomes of raisin consumption in diabetic subjects. *Nutrition* 2013, in press.
- Karathanos VT. Determination of water content of dried food by drying kinetics. *J Food Eng* 1999, 39:337-344.
- Karatzis K, Karatzis E, Papamichael C, Lekakis J, Zampelas A. Acute smoking induces endothelial dysfunction in healthy smokers. Is this reversible by red wine's antioxidant constituents? *J Am Coll Nutr* 2007, 26(1):10-15.
- Kountouri AM, Gioxari A, Karvela E, Kaliora AC, Karvelas M, Karathanos VT. Chemopreventive properties of raisins originating from Greece in colon cancer cells. *Food Funct* 2013, 4:366-372.
- Kullo IJ, Malik AR. Brachial artery diameter and vasodilator response to nitroglycerine, but not flow-mediated dilatation, are associated with the presence and quantity of coronary artery calcium in asymptomatic adults. *Clin Sci* 2007, 112(3):175-182.
- Laham-New SA. Fruits and vegetables: the unexpected natural answer to the question of osteoporosis. *Am J Clin Nutr* 2006, 83(6):1254-1255.
- Lamon BD, Hajjar DP. Inflammation at the molecular interface of atherogenesis: an anthropological journey. *Am J Pathol* 2008, 173(5):1253-1264.
- Lock K, Pormeleau J, Causer L, Altmann DR, McKee M (2005) Low fruit and vegetable consumption. In: Ezzati M, Lopez AD, Rogers A, Murray CJL (eds) *Comparative quantification of health risk: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors*. Geneva, Switzerland, WHO.
- Lubos E, Handy DE, Loscalzo J. Role of oxidative stress and nitric oxide in atherothrombosis. *Front Biosci* 2008, 13:5323-5344.
- Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, 25(1):29-38.
- Matheus AS, Tannus LR, Cobas RA, Palma CC, Negrato CA, Gomes Mde B. Impact of diabetes on cardiovascular disease: an update. *Int J Hypertens* 2013, 2013:653789.
- Maynard M, Cunnell D, Emmett P. Fruit, vegetables and antioxidants in childhood and risk of adult cancer. *J Epidemiol Comm Health* 2003, 57:218-225.

- Ness AR, Maynard M, Frankel S. Diet in childhood and adult cardiovascular and all cause mortality: The Boyd Orr cohort. *Heart* 2005, 91:894-898.
- Ness AR, Powles JW. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: A review. *Int J Epidemiol* 1997, 26(1):1-12.
- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysoschoou C, Skoumas I, Stefanadis C. Prevalence and five year incidence (2001-2006) of cardiovascular disease risk factors in a Greek sample: The ATTICA Study. *Hellenic J Cardiol* 2009, 50:388-395.
- Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren WM, Albus C, Benlian P, Boysen G, Cifkova R, Deaton C, Ebrahim S, Fisher M, Germano G, Hobbs R, Hoes A, Karadeniz S, Mezzani A, Prescott E, Ryden L, Scherer M, Syv  nne M, Op Reimer WJ, Vrints C, Wood D, Zamorano JL, Zannad F. European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012): the fifth joint task force of the European society of cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Int J Behav Med* 2012, 19(4):403-488.
- Pomerleau J, Lock K, McKee M. The burden of cardiovascular disease and cancer attributable to low fruit and vegetable intake in European Union: differences between the old and new Member Nations *Public health Nutr* 2005, 9(5):575-583.
- Puddey IB, Zilkens RR, Croft KD, Beilin LI. Alcohol and endothelial function: a brief review. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001, 28:1020-1024.
- Puglisi MJ, Vaishnav U, Shrestha S, Gonzalez MT, Wood RJ, Volek JS, Fernandez ML. Raisins and additional walking have distinct effects on plasma lipids and inflammatory cytokines. *Lipids Health Dis* 2008, 7:14.
- Recio-Rodríguez JI, G  mez-Marcos MA, Patino-Alonso MC, Agudo-Conde C, Rodríguez-Sánchez E, García-Ortiz L. Cocoa intake and arterial stiffness in subjects with cardiovascular risk factors. *Nutr J* 2012, 11:8.
- Report of the Dietary Guidelines Advisory Committee on Dietary Guidelines for Americans, <http://www.cnpp.usda.gov/dgas2010/dgacreport.htm>
- Rivero-Cruz JF, Zhu M, Kinghorn AD, Wua CD. Antimicrobial constituents of Thompson seedless raisins (*Vitis vinifera*) against selected oral pathogens. *Phytochem Lett* 2008, 1:151-154.
- Rubin Emanuel: Βασική Παθολογική Ανατομική, Ιατρικές εκδόσεις Πασχαλίδης, Αθήνα 2002.
- Schroeder H. Protective mechanisms of the Mediterranean diet in obesity and type 2 diabetes. *J Nutr Biochem* 2007, 18(3):149-160.

- Steinmetz KA and Potter JD. Vegetables, fruit and cancer prevention: A review. *J Am Diet Assoc* 1996, 10:1027-1039.
- United States Department of Agriculture, United States Department of Health and Human Services. Dietary Guidelines for Americans 2005.
- Van Horn L, McCoin M, Kris-Etherton PM, Burke F, Carson JA, Champagne CM, Karmally W, Sikand G. The evidence for dietary prevention and treatment of cardiovascular disease. *J Am Diet Assoc*. 2008, 108(2):287-331.
- Vlachopoulos C, Panagiotakos D, Ioakeimidis N, Dima I, Stefanadis C. Chronic coffee consumption has a detrimental effect on aortic stiffness and wave reflections. *Am J Clin Nutr* 2005, 81:1307-1312.
- Vlachopoulos CV, Alexopoulos NA, Aznaouridis KA, Ioakeimidis NC, Dima IA, Dage A, Vasiliadou C, Stefanadi EC, Stefanadis CI. Relation of Habitual Cocoa Consumption to Aortic Stiffness and Wave Reflections, and to Central Hemodynamics in Healthy Individuals. *Am J Cardiol* 2007, 99:1473-1475.
- Vlachopoulos C, Terentes-Printzios D, Stefanadis C. Arterial stiffness and carotid intima-media thickness: together they stand. *Hypertens Res* 2010, 33(4):291-292.
- Vucević D, Radak D, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Inflammatory process in atherogenesis: new facts about old flame. *Med Pregl* 2012; 65(9-10):388-395.
- Wattanapitayakul SK, Bauer JA. Oxidative pathways in cardiovascular disease: roles, mechanisms, and therapeutic implications. *Pharmacol Ther* 2001, 89:187-206.
- Williamson G, Carughi A. Polyphenol content and health benefits of raisins. *Nutrition Research* 2010, 30:511-519.
- Wong BW, Meredith A, Lin D, McManus BM. The biological role of inflammation in atherosclerosis. *Can J Cardiol* 2012, 28(6):631-641.
- World Health Organisation, Regional Office for Europe (2013). Highlights on health in Greece 2004.
- World Health Organisation, Regional Office for Europe (2013). Cardiovascular Diseases (CVDs)
- World Health Organisation: Prevention of Cardiovascular disease guidelines for assesement and management of cardiovascular risk, 2007.
- World Health Organization. Cancer preventive effects. In: *IARC Handbook of Cancer Prevention: Fruit and Vegetables*. IARC Press, Lyon, France. 2008, 8:53-62.
- World Health Organization. The World Health Report 2002; Reducing risk, promoting a healthy Life. Geneva, Switzerland 2002.

World Health Organization/FAO Diet, nutrition and the prevention of chronic disease. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Geneva, Switzerland: WHO, 2003.

Young JM, Shand BI, McGregor PM, Scott RS, Frampton CM. Comparative effects of enzenogenol and vitamin C supplementation versus vitamin C alone on endothelial function and biochemical markers of oxidative stress and inflammation in chronic smokers. Free Radic Res 2006, 40(1):85-94.

Κριμπά Β.Δ.: Ελληνική Αμπελογραφία, Αθήνα 1943

Νταβίδης Ξ.: Ελληνική Αμπελολογία, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο, Αθήνα 1982.

Σάββα Α. Επίδραση της επεξεργασίας στη διατήρηση των αντιοξειδωτικών λειτουργικών συστατικών της σταφίδας. Πτυχιική εργασία. Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Αθήνα 2006.

Σταύρακας Δ.: Σημειώσεις Αμπελογραφίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο, Αθήνα 1993.

Χαλουλάκος Τ. Μελέτη μεγεθών και διεργασιών που επηρεάζουν την αποθήκευση και τη διακίνηση της Σουλτανίνας. Πτυχιική εργασία. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Γεωργικών Βιομηχανιών, Αθήνα 1993.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Ημερομηνία:

Κωδικός εξεταζομένου: HS

Όνομα:

Περιοχή-Δήμος Κατοικίας:

Οδός:

Τηλέφωνο οικίας:

Ημερομηνία γέννησης:

Επάγγελμα:

Οικογενειακή κατάσταση: παντρεμένος

ανύπαντρος

διαζευγμένος

χήρος

Επώνυμο:

Τ.Κ.:

Αριθμός:

Κινητό:

Ηλικία:

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΚΑΠΝΙΣΜΑΤΟΣ		
Καπνίζετε;	NAI	OXI
Πόσα χρόνια είστε καπνιστής;		
Πόσα τσιγάρα ημερησίως;		
ΙΑΤΡΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ		
Λήψη φαρμακευτικής αγωγής	NAI	OXI
Φυσιολογική νεφρική λειτουργία	NAI	OXI
Ιστορικό στεφανιαίας νόσου	NAI	OXI
Ιστορικό ΑΕΕ	NAI	OXI
Περιφερική αγγειοπάθεια	NAI	OXI
Χρόνια διάρροια	NAI	OXI
Οξεία λοίμωξη/Λήψη αντιμικροβιακής θεραπείας τους τελευταίους 3 μήνες	NAI	OXI
Αυτοάνοσα νοσήματα/Ανοσοκαταστολή	NAI	OXI

ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	Πριν	Μετά
Ύψος (cm):		
Βάρος (Kg)		
Περιφέρεια μέσης (cm)		
Περιφέρεια ισχίων (cm)		
Ποσοστό λιπώδους μάζας (%)		
ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	Πριν	Μετά
Συστολική ΑΠ (mmHg)		
Διαστολική ΑΠ (mmHg)		
Σφίξεις (min ⁻¹)		
Έμμηνος ρύση (ημέρα)		
Ταχύτητα σφυγμικού κύματος (m/s) καρωτίδα-κερκιδική καρωτίδα-μηριαία		
FMD (%)		

ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ

Ακολουθείτε ειδική διατροφή; **ΝΑΙ** **ΟΧΙ**

Αν **ΝΑΙ**, τι είδους διατροφή είναι αυτή;

Χαμηλή σε αλάτι

Χαμηλή σε λίπος

Χαμηλή σε θερμίδες

Άλλη (διευκρινίστε)

Λαμβάνετε κάποιο διατροφικό συμπλήρωμα (π.χ. σκεύασμα βιταμινών, «φυσικό» εκχύλισμα, βότανο) τουλάχιστον
ημέρα παρά ημέρα; **ΝΑΙ**..... **ΟΧΙ**.....

Καταναλώνετε αλκοολούχα ποτά; **ΝΑΙ** **ΟΧΙ**

Είδος ποτού	Κάθε μέρα	1-2 φορές/ εβδ.	3-4 φορές/ εβδ.	4-6 φορές /εβδ.	1 φορά/ εβδ.	1 φορά/ 15ήμερες	1 φορά/ μήνα
Μπύρα							
Κόκκινο κρασί							
Λευκό κρασί							
Οινοπνευματώδη							
Ούζο							
Λικέρ							

Το Μεσογειακό Διατροφικό Σκορ MedDietScore						
Πόσο συχνά καταναλώνετε τα παρακάτω τρόφιμα;	Συχνότητα Κατανάλωσης (μερίδες/εβδομάδα)					
1. Δημητριακά ολικής αλέσεως (π.χ. ψωμί, ζυμαρικά, ρύζι, κλπ)	Ποτέ 0	1-6 1	7-12 2	13-18 3	19-31 4	>32 5
2. Πατάτες	Ποτέ 0	1-4 1	5-8 2	9-12 3	13-18 4	>18 5
3. Φρούτα και χυμούς	Ποτέ 0	1-4 1	5-8 2	9-15 3	16-21 4	>22 5
4. Λαχανικά και σαλάτες	Ποτέ 0	1-6 1	7-12 2	13-20 3	21-32 4	>33 5
5. Όσπρια	Ποτέ 0	<1 1	1-2 2	3-4 3	5-6 4	>6 5
6. Ψάρι και σουπες	Ποτέ 0	<1 1	1-2 2	3-4 3	5-6 4	>6 5
7. Κόκκινο κρέας και προϊόντα του	≤1 5	2-3 4	4-5 3	6-7 2	8-10 1	>10 0
8. Πουλερικά	≤3 5	4-5 4	5-6 3	7-8 2	9-10 1	>10 0
9. Γαλακτοκομικά πλήρη σε λιπαρά	≤10 5	11-15 4	16-20 3	21-28 2	29-30 1	>30 0
10. Ελαιόλαδο στην καθημερινή μαγειρική	Ποτέ 0	Σπάνια 1	<1 2	1-3 3	3-5 4	Καθημερινά 5
11. Αλκοολούχα ποτά (mL/ημέρα, 100 mL = 1 ποτήρι 12%)	<300 5	300 4	400 3	500 2	600 1	>700 ή 0 0
g αιθανόλης	<36	36	48	60	72	84
mL αιθανόλης	<45,63	45,63	60,84	76,05	91,26	106,46
	5	4	3	2	1	0

ΑΝΑΚΛΗΣΕΙΣ 24ΩΡΟΥ

ΓΕΥΜΑ	ΤΡΟΦΙΜΟ (...../...../.....)	ΤΡΟΦΙΜΟ (...../...../.....)
ΠΡΩΙΝΟ		
ΔΕΚΑΤΙΑΝΟ		
ΜΕΣΗΜΕΡΙΑΝΟ		
ΑΠΟΓΕΥΜΑΤΙΝΟ		
ΒΡΑΔΙΝΟ		
ΠΡΟ ΥΠΝΟΥ		

ΓΕΥΜΑ	ΤΡΟΦΙΜΟ (...../...../.....)	ΤΡΟΦΙΜΟ (...../...../.....)
ΠΡΩΙΝΟ		
ΔΕΚΑΤΙΑΝΟ		
ΜΕΣΗΜΕΡΙΑΝΟ		
ΑΠΟΓΕΥΜΑΤΙΝΟ		
ΒΡΑΔΙΝΟ		
ΠΡΟ ΥΠΝΟΥ		