



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ–ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

**Διερεύνηση της Κορινθιακής σταφίδας ως ενός “Λειτουργικού” τροφίμου της
Μεσογειακής διατροφής**

Διδακτορική Διατριβή

Παναγιώτης Κανέλλος
Διαιτολόγος-Διατροφολόγος, MSc

Αθήνα, 2016



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ–ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Η Διδακτορική Διατριβή εξετάστηκε από την κάτωθι Επταμελή Επιτροπή:

Βάιος Καραθάνος (Επιβλέπων)
Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο
Πανεπιστήμιο

Νικόλαος Τεντολούρης
Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ανδριάννα Καλιώρα
Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο
Πανεπιστήμιο

Δέσποινα Περρέα
Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Μόσχος Πολυσίου
Ομότιμος Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του
Ανθρώπου, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Νικόλαος Καλογερόπουλος
Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Αλέξανδρος Κόκκινος,
Επίκουρος Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο
Αθηνών

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου δεν υποδηλώνει και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα.

Η παρούσα Διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Προγράμματος «ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ ΑΡΙΣΤΕΙΑΣ Ι.Κ.Υ. ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ-ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ SIEMENS».

Ο Παναγιώτης Κανέλλος

δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.
- 2) Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα 087 αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Η παρούσα διατριβή υποστηρίζεται από τις παρακάτω δημοσιεύσεις σε έγκριτα διεθνή περιοδικά:

1. 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 for Human Nutrition* 2013, 68:411-415.
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 T2DM patients. *Plant Foods for Human Nutrition* 2013, 68:145-148.
3. 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 patients with diabetes. *Nutrition* 2014, 30:358-364.
4. Kaliora AC, Kanellos PT, Gioxari A, Karathanos VT. Regulation of GIP and ghrelin in healthy subjects fed on sun dried raisins; a pilot study with a cross-over trial design. *Journal of Medicinal Food* (accepted).

Η παρούσα διατριβή υποστηρίζεται από τις παρακάτω ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια:

1. Kanellos PT, Kountouri AM, Kaliora AC, Tentolouris NK, Karathanos VT. «The benefits of Greek currants in health of patients with type 2 Diabetes», 4th International Conference on Treatment of Hypertension, Dyslipidemia and Diabetes Mellitus, 1-4 December, Paris, France, 2011.
2. Kanellos PT, Kaliora AC, Gioxari A, Christopoulou GO, Kalogeropoulos N, Karathanos VT. «Phenolic compounds in plasma after supplementation with raisins -A bioavailability study», 8th World Congress on Polyphenols Applications, 5-6 June, Lisbon, Portugal, 2014.
3. Kanellos PT, Kaliora AC, Kalogeropoulos N, Tentolouris NK, Karathanos VT. «On the In Vivo Effects of Greek Raisins», IFT Annual Meeting & Food Expo, 21-24 June, New Orleans, LA USA, 2014.
4. Kanellos PT, Karathanos VT, Kaliora AC. «A study of the postprandial effect of raisin supplementation in ghrelin and apelin levels», 8th DIETS-EFAD Conference, 9-12 October, Athens, Greece, 2014.
5. Kanellos PT, Karathanos VT, Kaliora AC. «Anorexigenic gut hormones following supplementation with raisins; a postprandial crossover design in healthy subjects», 2014 Annual Conference & Exhibition, Functional Foods, Nutraceuticals, Natural, Health Products, and Dietary Supplements, 14-17 October, Istanbul, Turkey, 2014.
6. Kanellos PT, Karathanos VT, Kaliora AC. «Ghrelin, Obestatin and Ghrelin/Obestatin Ratio: A Postprandial Study in Healthy Subjects of Normal Weight», 17th International Conference on Food Security and Nutrition, 17-18 July, Oslo, Norway, 2015.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα Διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου σε συνεργασία με το Διαβητολογικό Εργαστήριο της Α΄ ΠΠΚ της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ και το Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ. Χρηστέας» της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή κ. Βάιου Καραθάνου.

Με το πέρας της διατριβής οφείλω να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα Καθηγητή κ. Βάιο Καραθάνο για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην ανάθεση της παρούσας διατριβής και στη δυνατότητα που μου προσέφερε να ασχοληθώ με ποικιλία ερευνητικών πρωτοκόλλων και τεχνικών για τη διεκπεραίωση ενός ολοκληρωμένου έργου.

Σημαντική συμβολή στην ολοκλήρωση της διδακτορικής μου διατριβής ήταν εκείνη της κας Ανδριάνας Καλιώρα, Επίκουρης Καθηγήτριας. Η εμπειρία της και οι επιστημονικές της γνώσεις συνέβαλαν καθοριστικά στον επιτυχή σχεδιασμό και τη διεκπεραίωση των δοκιμών-πειραμάτων, και την αντιμετώπιση των δυσκολιών που προέκυπταν καθ' όλη τη διάρκεια της διεξαγωγής τους.

Ευχαριστώ θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Νικόλαο Τεντολούρη και την Καθηγήτρια κα Δέσποινα Περρέα για την βοήθειά τους και για την παραχώρηση των εργαστηρίων τους για τη διεξαγωγή των κλινικών δοκιμών.

Ευχαριστώ, επίσης, τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Νικόλαο Καλογερόπουλο για την πολύτιμη βοήθεια του στη μελέτη βιοδιαθεσιμότητας των συστατικών της σταφίδας καθώς και για τη στήριξή του καθ' όλη τη διάρκεια της παρουσίας μου στο εργαστήριο.

Ακόμη, ευχαριστώ τον Ομότιμο Καθηγητή κ. Μόσχο Πολυσίου και τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Αλέξανδρο Κόκκινο για την καθοδήγησή τους και τις παρατηρήσεις τους επί του κειμένου, τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Αθανάσιο Πρωτογέρου και τον κ. Γεώργιο Κωνσταντώνη για τη συμβολή τους στη μελέτη επίδρασης της κατανάλωσης σταφίδας σε καπνιστές εθελοντές καθώς και τους κ. Νικόλαο και Παναγιώτη Τσακιρόπουλο για τη βοήθειά τους στις μετρήσεις σημαντικών δεικτών των πειραμάτων.

Δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω την κα Μαργαρίτα Χρηστέα για την συμβολή της σε αρκετά στάδια της μελέτης αλλά κυρίως για την ηθική και ψυχολογική υποστήριξη που μου παρείχε.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες στις κυρίες Β. Αργιανά, Α. Κουντούρη, Δ. Κογιάννου, Ε. Παναγοπούλου, Ε. Νικολιδάκη, Α. Γκιοζάρη και Α. Τσιαφίτσα καθώς και σε όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων του ΧΠ, του Διαβητολογικού Εργαστηρίου της Α΄ ΠΠΚ της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ και του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ. Χρηστέας» της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ για την τεχνική και ηθική υποστήριξή τους κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής.

Θερμές ευχαριστίες στη Συνεταιριστική Κορινθιακής Σταφίδας ΑΣΕ και στην Παναιγιάλειο Ένωση Συνεταιρισμών για την υποστήριξη της παρούσας διατριβής και για την πρόωθηση και διάχυση των αποτελεσμάτων της.

Και βέβαια, ευχαριστώ πολύ τους δικούς μου ανθρώπους, τη σύζυγό μου, τους γονείς μου, τα αδέρφια μου και τους φίλους μου. Χωρίς τη δική τους στήριξη, αγάπη και υπομονή δεν θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση αυτού του ταξιδιού.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	1
ABSTRACT.....	3
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	5
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....	7
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΙΑΤΡΟΦΗ & ΥΓΕΙΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ	9
1.1 Εισαγωγή.....	9
1.2 Φρούτα & λαχανικά έναντι χρόνιων νοσημάτων	9
1.3 Κατανάλωση φρούτων & λαχανικών παγκοσμίως.....	12
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΑ ΦΡΟΥΤΑ & ΔΙΑΤΡΟΦΗ	15
2.1 Παραδοσιακά τρόφιμα	15
2.2 Παραδοσιακά αποξηραμένα φρούτα.....	15
2.3 Συστατικά αποξηραμένων φρούτων	17
2.3.1 Μακροθρεπτικά συστατικά	17
2.3.2 Μικροθρεπτικά συστατικά	18
2.3.3 Φυτοχημικά συστατικά.....	18
2.4 Οφέλη των αποξηραμένων φρούτων στην υγεία	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Η ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ.....	22
3.1 Ποικιλίες & παραγωγή σταφίδας	22
3.2 Κορινθιακή σταφίδα	22
3.3 Συστατικά της σταφίδας	24
3.3.1 Θρεπτικά συστατικά	24
3.3.2 Φυτοχημικά συστατικά.....	27
3.4 Βιοδιαθεσιμότητα φυτοχημικών συστατικών	28
3.5 Δοκιμές δραστηριότητας των συστατικών της σταφίδας <i>in vitro</i>	29
3.6 Δοκιμές με σταφίδα <i>in vivo</i>	30
ΣΚΟΠΟΣ	34
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΒΙΟΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΗΣ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΑΠΟ ΥΓΙΕΙΣ ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ	36
4.1 Σκοπός.....	36
4.2 Δείγμα	36
4.3 Σχεδιασμός μελέτης.....	37

4.4 Προσδιορισμός της αντίστασης του ορού στην οξείδωση.....	37
4.5 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου στο πλάσμα	39
4.6 Προσδιορισμός ουρικού οξέος στον ορό	40
4.7 Προσδιορισμός επιμέρους φυτοχημικών συστατικών στο πλάσμα	41
4.7.1 Όξινη υδρόλυση δειγμάτων πλάσματος.....	42
4.7.2 Ενζυμική υδρόλυση & εκχύλιση στερεάς φάσης δειγμάτων πλάσματος	42
4.7.3 Παραγωγοποίηση των δειγμάτων	44
4.7.4 Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση φυτοχημικών συστατικών στα δείγματα και πρότυπα διαλύματα με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS).....	44
4.8 Στατιστική επεξεργασία	47
4.9 Αποτελέσματα	47
4.9.1 Φυτοχημικά συστατικά της Κορινθιακής σταφίδας.....	47
4.9.2 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο και αντίσταση του ορού στην οξείδωση	48
4.9.3 Ποσοτικός προσδιορισμός επιμέρους φυτοχημικών συστατικών στο πλάσμα	49
4.10 Συζήτηση	51
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΗ ΚΑΙ ΙΝΣΟΥΛΙΝΑΙΜΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ.....	54
5.1 Σκοπός.....	54
5.2 Δείγμα	54
5.3 Σχεδιασμός μελέτης.....	55
5.4 Προσδιορισμός επιπέδων γλυκόζης και ινσουλίνης ορού	56
5.5 Εκτίμηση Γλυκαιμικού Δείκτη, Γλυκαιμικού Φορτίου & Ινσουλιναιμικού Δείκτη	57
5.6 Στατιστική επεξεργασία	58
5.7 Αποτελέσματα	58
5.8 Συζήτηση	62
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗ ΜΕ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗ ΣΤΑΦΙΔΑ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2	64
6.1 Σκοπός.....	64
6.2 Δείγμα	64
6.3 Σχεδιασμός μελέτης.....	65
6.3.1 Προκαταρκτικό στάδιο.....	65
6.3.2 Στάδιο παρέμβασης.....	68
6.3.3 Στάδιο αξιολόγησης.....	68
6.4 Κλινικο-εργαστηριακές μετρήσεις.....	68
6.4.1 Μέτρηση βιοχημικών παραμέτρων	68

6.4.2 Μέτρηση δεικτών φλεγμονής.....	69
6.4.3 Μέτρηση δεικτών οξειδωτικού στρες	71
6.4.4 Προσδιορισμός επιμέρους φυτοχημικών συστατικών στο πλάσμα	72
6.5 Στατιστική επεξεργασία	72
6.6 Αποτελέσματα	72
6.7 Συζήτηση	79
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗ ΜΕ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗ ΣΤΑΦΙΔΑ ΣΕ ΥΓΙΕΙΣ ΚΑΠΝΙΣΤΕΣ	84
7.1 Σκοπός.....	84
7.2 Δείγμα	84
7.3 Σχεδιασμός μελέτης.....	85
7.3.1 Προκαταρκτικό στάδιο.....	86
7.3.2 Στάδιο παρέμβασης.....	88
7.3.3 Στάδιο αξιολόγησης.....	88
7.4 Κλινικο-εργαστηριακές μετρήσεις.....	88
7.4.1 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά.....	88
7.4.2 Μέτρηση αρτηριακής πίεσης.....	88
7.4.3 Μέτρηση βιοχημικών παραμέτρων.....	89
7.4.4 Μέτρηση δεικτών έκθεσης στο κάπνισμα.....	89
7.4.5 Μέτρηση δεικτών οξειδωτικού στρες και φλεγμονής.....	90
7.4.6 Μέτρηση δεικτών ενδοθηλιακής λειτουργίας.....	92
7.5 Στατιστική επεξεργασία	95
7.6 Αποτελέσματα	95
7.6.1 Χαρακτηριστικά του δείγματος	95
7.6.2 Επίπεδα των υπό μελέτη μεταβλητών πριν και μετά από την παρέμβαση.....	97
7.7 Συζήτηση	102
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ ΣΕ ΟΡΜΟΝΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΟΡΕΞΗ	105
8.1 Σκοπός.....	105
8.2 Δείγμα	105
8.3 Σχεδιασμός μελέτης.....	105
8.4 Εργαστηριακές μετρήσεις.....	106
8.5 Στατιστική επεξεργασία	107
8.6 Αποτελέσματα	107
8.7 Συζήτηση	110
ΣΥΝΟΨΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	115

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	122
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1: ΦΟΡΜΑ ΣΥΜΠΛΗΡΩΣΗΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2.....	140
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2: ΦΟΡΜΑ ΣΥΜΠΛΗΡΩΣΗΣ ΥΓΙΩΝ ΚΑΠΝΙΣΤΩΝ ΕΘΕΛΟΝΤΩΝ	145

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην προσπάθεια ανάδειξης φυσικών προϊόντων με βιοπροστατευτική δράση, αρκετές μελέτες έχουν γίνει σε φυσικά προϊόντα Ελληνικής προέλευσης. Οι σταφίδες περιέχουν πολύτιμα θρεπτικά συστατικά και μια ευχάριστα γλυκιά γεύση, ενώ είναι ένα φυσικά αποξηραμένο φρούτο που επιδεικνύει εν δυνάμει τις δράσεις του φρέσκου ομολόγου του, του σταφυλιού.

Σκοπός της παρούσας Διδακτορικής διατριβής ήταν να μελετηθεί η πιθανή ευεργετική επίδραση στην υγεία της ένταξης στη Δυτικού τύπου διατροφή του σύγχρονου καταναλωτή ενός παραδοσιακού τροφίμου, της Κορινθιακής σταφίδας.

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, μελετήθηκε η βιοδιαθεσιμότητα των φυτοχημικών συστατικών που περιέχονται στη σταφίδα και φάνηκε ότι 17 από τα 25 συστατικά που είχαν προσδιοριστεί στη σταφίδα ανιχνεύτηκαν στο πλάσμα 15 υγιών εθελοντών μετά από κατανάλωση σταφίδας. Παράλληλα, παρατηρήθηκε αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού αίματος 1 h μεταγευματικά, η οποία συσχετίστηκε με αύξηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου στο πλάσμα των εθελοντών και όχι με αύξηση του ουρικού οξέος στο αίμα τους.

Στη συνέχεια, σε μια μεταγευματική μελέτη με διασταυρούμενο σχεδιασμό εξετάστηκε η γλυκαιμική και ινσουλιναιμική απόκριση μετά από κατανάλωση σταφίδας σε 15 υγιείς εθελοντές και 15 ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, στους οποίους χορηγήθηκαν 74 g σταφίδων ή 50 g γλυκόζης ως διάλυμα αναφοράς. Παρατηρήθηκε βελτιωμένη γλυκαιμική και ινσουλιναιμική απόκριση μετά από την κατανάλωση σταφίδας σε σύγκριση με το διάλυμα αναφοράς, ενώ υπολογίστηκε ότι η Κορινθιακή σταφίδα αποτελεί τρόφιμο μέτριου γλυκαιμικού δείκτη ($GI=66$) και χαμηλού γλυκαιμικού φορτίου ($GF=8$).

Επιπλέον, εξετάστηκε η επίδραση της κατανάλωσης σταφίδας στα ανθρωπομετρικά και κλινικά χαρακτηριστικά καθώς και σε δείκτες οξειδωτικού στρες και φλεγμονής σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Στην κλινική αυτή δοκιμή στην οποία συμμετείχαν 22 ασθενείς στην ομάδα ελέγχου και 26 στην ομάδα παρέμβασης, φάνηκε μια στατιστικά σημαντική μείωση κατά 7% στη διαστολική αρτηριακή πίεση και μια στατιστικά σημαντική

αύξηση κατά 13% στην αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος των ασθενών που κατανάλωναν 2 ισοδύναμα σταφίδας καθημερινά για 6 μήνες.

Στη συνέχεια, μελετήθηκε η επίδραση της τροποποίησης της διατροφής μέσω της ένταξης της Κορινθιακής σταφίδας στο καθημερινό διαιτολόγιο υγιών καπνιστών οι οποίοι παρουσίαζαν χαμηλή συμμόρφωση ως προς την υιοθέτηση του Μεσογειακού προτύπου διατροφής για διάστημα ενός μήνα σε δείκτες οξειδωτικού στρες, φλεγμονής και ενδοθηλιακής λειτουργίας. Στη μελέτη συμμετείχαν 20 άτομα στην ομάδα παρέμβασης και 12 στην ομάδα ελέγχου. Δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή από την ένταξη του αποξηραμένου φρούτου στη διατροφή στο σύνολο των υγιών καπνιστών στο τέλος των 4 εβδομάδων. Αντίθετα, από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων ανά φύλο, παρατηρήθηκε μείωση της διαστολικής αρτηριακής πίεσης και των επιπέδων της ολικής και LDL χοληστερόλης στις γυναίκες (n=5) που συμμετείχαν στην ομάδα παρέμβασης.

Τέλος, εξετάστηκε η επίδραση της κατανάλωσης Κορινθιακής σταφίδας στα επίπεδα ορμονών που σχετίζονται με την όρεξη, όπως η γκρελίνη, το γαστρικό ανασταλτικό πολυπεπτίδιο (GIP), το γλυκαγονόμορφο πεπτίδιο-1, η απελίνη και η ομπεστατίνη. Η σταφίδα, ως ένα τρόφιμο που περιέχει ίση αναλογία φρουκτόζης και γλυκόζης, συγκρίθηκε με αντίστοιχη ποσότητα γλυκόζης σε 10 υγιείς εθελοντές και παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων γκρελίνης, GIP και του λόγου γκρελίνη/ομπεστατίνη μεταγευματικά, υποστηρίζοντας έναν πιθανό ρυθμιστικό μηχανισμό της σταφίδας στην όρεξη και τον κορεσμό.

Συμπερασματικά, από το σύνολο των μελετών φαίνεται πως η Κορινθιακή σταφίδα μπορεί να αναδειχθεί ως διατροφικός παράγοντας ο οποίος συμβάλλει στη διαμόρφωση ενός πιο υγιεινού μοντέλου διατροφής από καταναλωτές των οποίων η ημερήσια κατανάλωση φρούτων και λαχανικών απέχει από τις συστάσεις ή/και βρίσκονται σε κίνδυνο να αναπτύξουν μεταβολικό σύνδρομο ή καρδιαγγειακή νόσο.

Λέξεις κλειδιά: Σταφίδα, Βιοδιαθεσιμότητα, Σακχαρώδης διαβήτης, Γλυκαιμικός δείκτης, Όρεξη

ABSTRACT

In the effort to promote natural products with bioprotective effects, many studies have been conducted using natural products of Greek origin. Raisins contain valuable nutrients, a pleasant sweet taste and are naturally dried fruits displaying the potential actions of their fresh counterparts.

The aim of this PhD thesis was to study the possible beneficial effects of inclusion of Corinthian raisins in the Western diet.

Specifically, we studied the bioavailability of phytochemical components contained in raisins. Seventeen out of the 25 components identified in raisins were detected in plasma after raisin ingestion by 15 healthy volunteers. Furthermore, an increase in antioxidant capacity in serum was observed 1 h postprandially, which was associated with an increase in the total phenolic content in plasma.

Then, we examined the glycemic and insulineric response after raisin consumption in 15 healthy subjects and 15 patients with type 2 diabetes. Improved responses were observed after raisin ingestion compared with glucose, as a reference solution. A moderate glycemic index was calculated referred to Corinthian raisins (GI=66) and a low glycemic load (GL=8).

Moreover, we examined the effect of raisin consumption on anthropometric and clinical characteristics as well as markers of oxidative stress and inflammation in patients with type 2 diabetes mellitus. In this clinical trial, 22 patients in the control group and 26 in the intervention group participated. A statistically significant decrease by 7% in diastolic blood pressure and a significant increase by 13% in plasma antioxidant capacity in patients who consumed 2 fruit equivalents daily for 6 months were observed.

Further, we examined the effect of modification of the diet of healthy smokers by including Corinthian raisins on markers of oxidative stress, inflammation and endothelial function. No effect was indicated at the end of the four-week intervention. However, a decrease in diastolic blood pressure and levels of total and LDL cholesterol were reported in women (n=5) in the intervention group.

Finally, we examined the effect of raisin consumption in the levels of appetite-regulating hormones, such as ghrelin, gastric inhibitory polypeptide (GIP), glucagon-like

peptide-1, apelin and obestatin. Raisins, as a food containing fructose and glucose in equal amounts, were compared with equal amount of glucose in 10 healthy volunteers. Significant decreases in ghrelin levels, GIP and ghrelin/obestatin ratio were observed postprandially, supporting a possible regulatory mechanism of raisins in appetite and satiety.

In conclusion, all trials designed herein showed that Corinthian raisins is a dietary factor that may contribute to a healthier diet of people whose daily fruit and vegetable consumption is below the recommendations or who are at risk of developing metabolic syndrome and cardiovascular disease.

Keywords: Raisin, Bioavailability, Diabetes, Glycemic index, Appetite

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 2.1 Παγκόσμια παραγωγή αποξηραμένων φρούτων (σε τόνους)	16
Πίνακας 2.2 Διατροφική ανάλυση των μακροθρεπτικών συστατικών των πιο διαδεδομένων αποξηραμένων φρούτων (ανά 100 g τροφίμου).....	17
Πίνακας 3.1 Διατροφική αξία της σταφίδας τύπου Zante ανά 100 g.....	24
Πίνακας 3.2 Διατροφική αξία Κορινθιακής σταφίδας ανά 100 g τροφίμου.....	26
Πίνακας 4.1 Πρόγραμμα θερμοκρασίας φούρνου GC-MS	45
Πίνακας 4.2 Ιόντα παρακολούθησης (SIM) και χρόνος κατακράτησης (RT) των 17 φυτοχημικών συστατικών που εξετάστηκαν στο πλάσμα των εθελοντών μετά από την κατανάλωση σταφίδας.....	46
Πίνακας 4.3 Φυτοχημικά συστατικά που περιέχονται στην Κορινθιακή σταφίδα μετά από ανάλυση με GC-MS (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)	48
Πίνακας 4.4 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο πλάσματος, αντίσταση του ορού στην χαλκο-επαγόμενη οξείδωση και επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό των εθελοντών πριν και μετά από την κατανάλωση σταφίδων (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)	49
Πίνακας 4.5 Ποσοτικός προσδιορισμός φυτοχημικών συστατικών σε πλάσμα των εθελοντών (n=15) μετά από κατανάλωση Κορινθιακής σταφίδας (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)	50
Πίνακας 6.1 Χαρακτηριστικά των ασθενών με ΣΔ2 στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη (μέσοι όροι±τυπικές αποκλίσεις)	73
Πίνακας 6.2 Μεταβολές στην πρόσληψη ενέργειας και θρεπτικών συστατικών και την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών στους ασθενείς με ΣΔ2 (μέσοι όροι±τυπικές αποκλίσεις)	75
Πίνακας 6.3 Μεταβολές στα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, την αρτηριακή πίεση και τους βιοχημικούς δείκτες στους ασθενείς με ΣΔ2 που ανήκουν στην ομάδα παρέμβασης και την ομάδα ελέγχου (μέσοι όροι±τυπικές αποκλίσεις)	76
Πίνακας 6.4 Μεταβολές στους δείκτες φλεγμονής και οξειδωτικού στρες στους ασθενείς με ΣΔ2 που ανήκουν στην ομάδα παρέμβασης και την ομάδα ελέγχου (μέσοι όροι±τυπικές αποκλίσεις)	77
Πίνακας 6.5 Μεταβολές στα επίπεδα των κυκλοφορούντων φαινολικών συστατικών στους ασθενείς με ΣΔ2 που ανήκουν στην ομάδα παρέμβασης και την ομάδα ελέγχου (μέσοι όροι±τυπικές αποκλίσεις).	78
Πίνακας 7.1 Χαρακτηριστικά των εθελοντών στην έναρξη της μελέτης ανά ομάδα (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)	95
Πίνακας 7.2 Βιοχημικές παράμετροι, δείκτες οξειδωτικού στρες, φλεγμονής και ενδοθηλιακής λειτουργίας των συμμετεχόντων κατά την ένταξη στη μελέτη (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα).....	96
Πίνακας 7.3 Διαφορές στα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά ανάμεσα στις δύο ομάδες πριν και μετά από την παρέμβαση (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα).....	97
Πίνακας 7.4 Διαφορές στις βιοχημικές παραμέτρους ανάμεσα στις δύο ομάδες (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)	98

Πίνακας 7.5 Διαφορές στους δείκτες οξειδωτικού στρες και φλεγμονής ανάμεσα στις δύο ομάδες (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)	100
Πίνακας 7.6 Διαφορές στους δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας και αρτηριακής σκληρίας ανάμεσα στις δύο ομάδες (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)	101
Πίνακας 7.7 Διαφορές σε εξεταζόμενες μεταβλητές στην ομάδα παρέμβασης με σταφίδα μετά από κατηγοριοποίηση ανάλογα με το φύλο (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα).....	102

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.1 Πυραμίδα Μεσογειακής διατροφής	11
Σχήμα 1.2 Διαφοροποιήσεις στην κατανάλωση φρούτων και λαχανικών ανάλογα με την ηλικία	13
Σχήμα 1.3 Συνήθεις προσλήψεις διαφόρων ομάδων τροφίμων ως ποσοστό των συνιστώμενων προσλήψεων στις ΗΠΑ	13
Σχήμα 3.1 Τυπικό χρωματογράφημα GC-MS σε εκχύλισμα Κορινθιακής σταφίδας.....	27
Σχήμα 5.1 Γλυκόζη ορού (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα) μετά από κατανάλωση σταφίδας (Δ) και διαλύματος αναφοράς (□) σε υγιείς (α) και ασθενείς με ΣΔ2 (β).....	59
Σχήμα 5.2 Ινσουλίνη ορού (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα) μετά από κατανάλωση σταφίδας (Δ) και διαλύματος αναφοράς (□) σε υγιείς (α) και ασθενείς με ΣΔ2 (β).....	60
Σχήμα 5.3 Εμβαδόν κάτω από την καμπύλη για τη γλυκόζη (α) και την ινσουλίνη (β) μετά από κατανάλωση σταφίδας και διαλύματος αναφοράς σε υγιείς και ασθενείς με ΣΔ2 (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα).	61
Σχήμα 6.1 Διάγραμμα ροής της μελέτης.....	66
Σχήμα 7.1 Διάγραμμα ροής της μελέτης.....	87
Σχήμα 7.2 Σχηματισμός συμπλέγματος MDA-TBA.....	90
Σχήμα 8.1 Γαστρικό ανασταλτικό πολυπεπτίδιο (GIP) ορού (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα) μετά από κατανάλωση σταφίδας (ο) και διαλύματος γλυκόζης (□).	107
Σχήμα 8.2 Γλυκαγονόμορφο πεπτίδιο-1 (GLP-1) ορού (α) και απελίνη ορού (β) (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα) μετά από κατανάλωση σταφίδας (ο) και διαλύματος γλυκόζης (□).....	108
Σχήμα 8.3 Γκρελίνη πλάσματος (α), ομπεστατίνη ορού (β) και λόγος γκρελίνης/ομπεστατίνης (γ) (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα) μετά από κατανάλωση σταφίδας (ο) και διαλύματος γλυκόζης (□).	110

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΙΑΤΡΟΦΗ & ΥΓΕΙΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

1.1 Εισαγωγή

Η σχέση μεταξύ διατροφής και υγείας έχει αναγνωριστεί από τους αρχαίους χρόνους. Μέχρι τις αρχές του 20^{ου} αιώνα, οι γιατροί πρότειναν συγκεκριμένα τρόφιμα και πρότυπα διατροφής ως θεραπεία για ασθένειες αλλά και ως πρόληψη για διάφορες ασθένειες. Τα τελευταία 30 χρόνια η έρευνα για τα τρόφιμα και τη διατροφή έχει εστιαστεί στο ρόλο ορισμένων τροφίμων και διατροφικών προτύπων στη μείωση του κινδύνου εκφυλιστικών και χρόνιων νοσημάτων. Επιπλέον, οι επιστήμονες της διατροφής άρχισαν να ασχολούνται με τη 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 και μειώνει τον κίνδυνο διαφόρων νοσημάτων. Ωστόσο, αν και η σύνθεση της κατάλληλης διατροφής είναι ευρέως γνωστή, η σύνθεση της βέλτιστης είναι ακόμα υπό διερεύνηση.

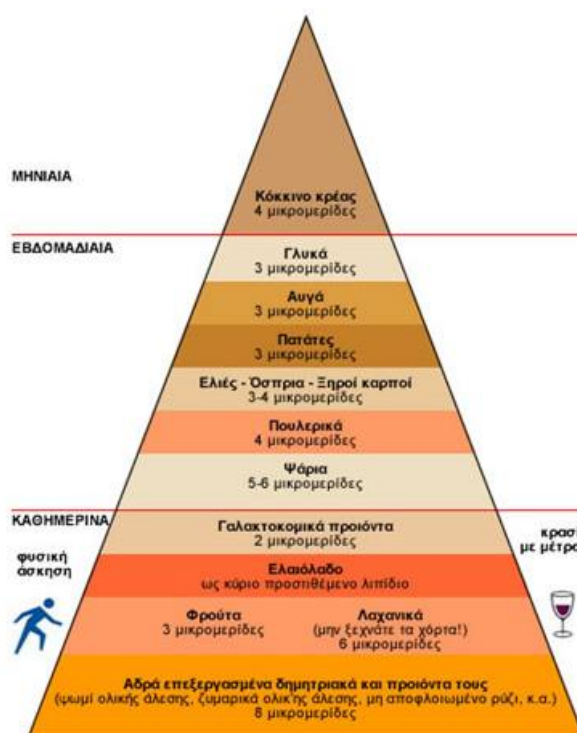
1.2 Φρούτα & λαχανικά έναντι χρόνιων νοσημάτων

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization-WHO) εκτιμά ότι το 2000 2,7 εκατομμύρια θάνατοι (4,9%) και 26,7 εκατομμύρια χαμένα έτη ζωής λόγω ανικανότητας (DALYs) μπορούν να αποδοθούν στη χαμηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών σε παγκόσμιο επίπεδο (Lock et al, 2005). Επιπλέον, το 31% των περιστατικών 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 του πνεύμονα παγκοσμίως θα μπορούσαν να προληφθούν με αύξηση της κατανάλωσης φρούτων (WHO, 2003). Μεταξύ των Ευρωπαϊκών χωρών (EE-15), ο εκτιμώμενος αριθμός των θανάτων που θα μπορούσαν να αποφευχθούν κυμαίνεται από 44.000 (αν η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών αυξηθεί στα 400 g ανά ημέρα) έως 121.000 (αν η κατανάλωση αυξηθεί στα 600 g ανά ημέρα) (Pomerleau et al, 2005). Αν και η χαμηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών είναι ένας μόνο από τους πολλούς παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων ή/και καρκίνου, η επίδρασή τους είναι σημαντική. Για παράδειγμα, ευρήματα από τη WHO Global Burden of Disease Study δείχνουν ότι το 28% των περιστατικών ισχαιμικής

καρδιακής νόσου στις αναπτυγμένες περιοχές του κόσμου (συμπεριλαμβανομένης της Ευρώπης, της Βόρειας Αμερικής, της Αυστραλίας και της Ιαπωνίας) θα μπορούσε να αποδοθεί στην έλλειψη φρούτων και λαχανικών από τη διατροφή (WHO, 2002). Το ποσοστό αυτό είναι αντίστοιχα 58% από την υπέρταση, 63% από την υψηλή χοληστερόλη, 33% από το υπερβάλλον σωματικό βάρος, 22% από την έλλειψη σωματικής άσκησης, 22% από το κάπνισμα και 0,2% από την κατανάλωση αλκοόλ.

Καθώς οι διατροφικές συνήθειες διαφέρουν πολύ ανά τον κόσμο, η επίδραση που ασκούν στην υγεία και συγκεκριμένα στην αρτηριακή πίεση, τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου και τη συνολική θνησιμότητα παρουσιάζει διαφορές. Επιπρόσθετα, ερευνητικά δεδομένα επιβεβαιώνουν ότι η υιοθέτηση ορισμένων διατροφικών προτύπων σχετίζεται με χαμηλότερο κίνδυνο σοβαρών χρόνιων ασθενειών. Παραδείγματα τέτοιων μοντέλων είναι η Μεσογειακού τύπου δίαιτες (**Σχήμα 1.1**), η δίαιτα DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) και οι φυτοφαγικές δίαιτες. Τα προαναφερθέντα διατροφικά πρότυπα χαρακτηρίζονται από αυξημένη κατανάλωση φρούτων, λαχανικών και άλλων φυτικής προέλευσης τροφίμων με αποτέλεσμα η υιοθέτησή τους να συνεπαγεται την υψηλή πρόσληψη φυτικών ινών και τη χαμηλή πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει μια σταθερή, αντίστροφη σχέση μεταξύ μιας διατροφής πλούσιας σε φρούτα και λαχανικά και της μείωσης του κινδύνου για πολλές χρόνιες νόσους, συμπεριλαμβανομένων του καρκίνου (Block et al., 1992, WHO, 2008, Turati et al., 2015), των καρδιαγγειακών παθήσεων (Hung et al., 2004, Hu et al., 2003) και των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων (Wang et al., 2014). Επιπλέον, πολλοί ερευνητές έχουν μελετήσει τον ευεργετικό ρόλο των φρούτων και των λαχανικών σε φλεγμονώδεις νόσους (Edwards, 2005) όπως η αρθρίτιδα, στη μείωση της επίπτωσης της παχυσαρκίας και στον έλεγχο του διαβήτη (Schroeder, 2007, Feldeisen et al., 2007) και σε νευρολογικά προβλήματα σχετιζόμενα με την ηλικία, όπως οι νόσοι Αλτσχάιμερ και Πάρκινσον (Joseph et al., 2007, Lau et al., 2005). Τα φρούτα και τα λαχανικά, επίσης, φαίνεται να παίζουν ρόλο στην πρόληψη του καταρράκτη και της εκφύλισης της ωχράς κηλίδας (Cho et al., 2004), μπορούν επίσης να δράσουν προστατευτικά έναντι της οστεοπόρωσης (Laham-New, 2006) και να ενισχύσουν το ανοσοποιητικό σύστημα. Η επαρκής κατανάλωση φρούτων και λαχανικών μπορεί να δράσει προστατευτικά για μεγάλο χρονικό διάστημα και συγκεκριμένα, υψηλότερη πρόσληψή τους 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). Επιπλέον, σε μια πρόσφατη πολυκεντρική μελέτη, τη μελέτη PREDIMED, όπου συμμετείχαν 7.500 άτομα από την Ισπανία καταγράφηκε ότι η κατανάλωση 9 και περισσότερων μερίδων φρούτων και λαχανικών ημερησίως σχετίζεται με σημαντικά μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου σε σύγκριση με κατανάλωση λιγότερων από 5 μερίδων την ημέρα (Buil-Cosiales et al., 2016).



Σχήμα 1.1 Πυραμίδα Μεσογειακής διατροφής

(Πηγή: Ανώτατο Ειδικό Επιστημονικό Συμβούλιο Υγείας, Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας)

Η συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών και της υγείας του ανθρώπου έχει οδηγήσει διάφορους οργανισμούς σε όλο τον κόσμο να συστήσουν την αύξηση της καθημερινής κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών. Συγκεκριμένα, η Εθνική Ακαδημία Επιστημών των ΗΠΑ, το 1982, δημοσίευσε έκθεση σχετικά με τη διατροφή και τον καρκίνο που υπογράμμιζε τη σημασία των φρούτων και των λαχανικών στη δίαιτα (National Academy of Science-National Research Council, 1982). Το 1989, δημοσιεύτηκε η έκθεση «Διατροφή και Υγεία» με στόχο την προώθηση κατανάλωσης τουλάχιστον 5 μερίδων φρούτων

και λαχανικών ημερησίως προκειμένου να μειωθεί ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου και καρδιαγγειακών νοσημάτων (National Academy of Science-National Research Council, 1989). 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, σύμφωνα με τις θερμιδικές δαπάνες τους, και τα παιδιά 4 έως 10 μερίδες, ανάλογα με την ηλικία τους (USDA, 2005).

Συμπερασματικά, οι συστάσεις της επιστημονικής κοινότητας για αύξηση της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών έχουν μεγάλη σημασία καθώς:

α) η υψηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών έχει φανεί να σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο πολλών χρόνιων νοσημάτων

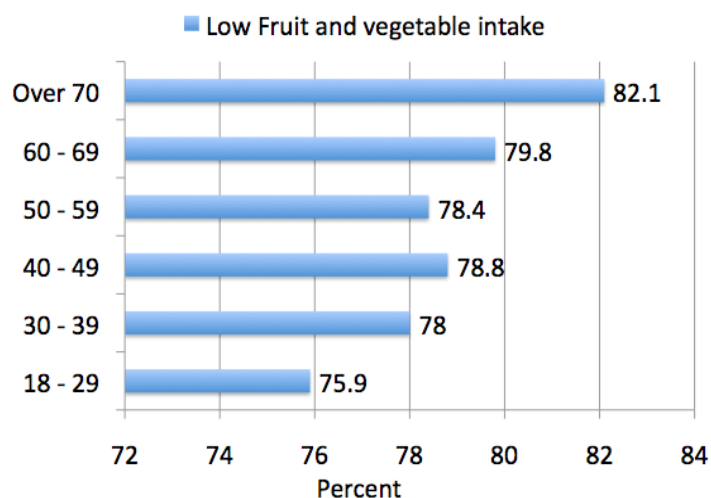
β) τα περισσότερα φρούτα και λαχανικά παρέχουν πολλά απαραίτητα θρεπτικά συστατικά, συμπεριλαμβανομένων του καλίου, των φυτικών ινών, του ασβεστίου, του μαγνησίου και των βιταμινών Α, C και Κ

γ) τα περισσότερα φρούτα και λαχανικά έχουν πολύ χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο, είναι σχετικά χαμηλά σε θερμίδες και η αναλογία φυτικών ινών/σάκχαρα είναι υψηλή

1.3 Κατανάλωση φρούτων & λαχανικών παγκοσμίως

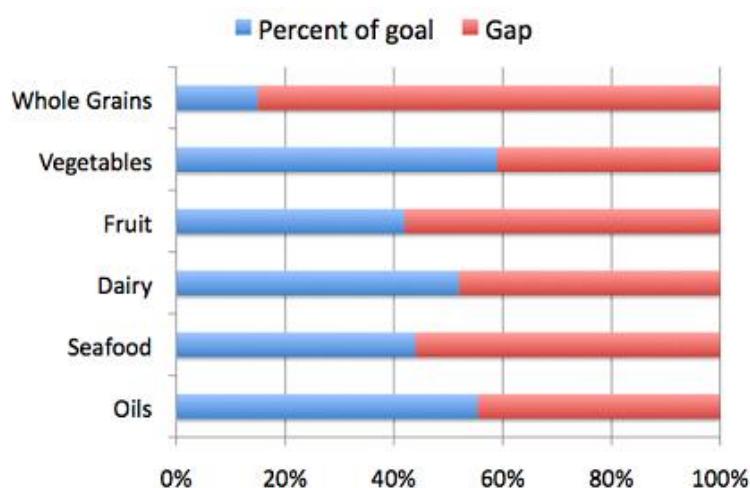
Όπως αναλύθηκε στην προηγούμενη ενότητα, πληθώρα μελετών έχει αναδείξει την ευεργετική δράση της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών στην υγεία του ανθρώπου. Παράλληλα, πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί με στόχο την αποτίμηση της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών παγκοσμίως. Σε μια ανάλυση δεδομένων από 52 χώρες που έλαβαν μέρος στην World Health Survey (2002-2003) φάνηκε ότι το 78% των συμμετεχόντων κατανάλωναν μικρότερες από τις ελάχιστες συνιστώμενες πέντε μερίδες φρούτων και λαχανικών την ημέρα (Hall et al, 2009). Μάλιστα, παρατηρήθηκε μια τάση μείωσης της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών αυξανόμενης της ηλικίας των συμμετεχόντων στη μελέτη (**Σχήμα 1.2**). Παρόμοια στοιχεία είναι διαθέσιμα και από άλλες χώρες, όπως την Αυστραλία (Australian Bureau of Statistics, 2006), τη Νότια Αφρική (Schneider et al, 2001), την Αγγλία (Blake et al, 2004) και τις ΗΠΑ (Guenther, 2006). Επικεντρώνοντας μόνο στην κατανάλωση φρούτων, στις ΗΠΑ περισσότερο από το 75% των ενήλικων ανδρών και γυναικών δεν καταναλώνουν την ελάχιστη συνιστώμενη ποσότητα φρούτων ανά ημέρα

και η χαμηλή πρόσληψη παρατηρείται σε όλες τις ηλικιακές ομάδες (Report of the Dietary Guidelines for Americans Committee on the Dietary).



Σχήμα 1.2 Διαφοροποιήσεις στην κατανάλωση φρούτων και λαχανικών ανάλογα με την ηλικία (Πηγή: Hall et al., 2009)

Σύμφωνα με τις πρόσφατα δημοσιευμένες Διαιτητικές Οδηγίες για τους Αμερικάνους, τα φρούτα παρουσιάζουν το δεύτερο μετά τα δημητριακά ολικής άλεσης μεγαλύτερο κενό μεταξύ της συνήθους και της συνιστώμενης πρόσληψης (Report of the Dietary Guidelines Advisory Committee on Dietary Guidelines for Americans, 2010) (**Σχήμα 1.3**).



Σχήμα 1.3 Συνήθεις προσλήψεις διαφόρων ομάδων τροφίμων ως ποσοστό των συνιστώμενων προσλήψεων στις ΗΠΑ

(Πηγή: Report of the Dietary Guidelines Advisory Committee on Dietary Guidelines for Americans, 2010)

Αναφορικά με την πρόσληψη φρούτων και λαχανικών στην Ευρώπη, σημαντικά δεδομένα μπορούν να αντληθούν από την Ευρωπαϊκή Έκθεση για τη Διατροφή και την Υγεία (European Nutrition and Health Report) που δημοσιεύθηκε το 2009 (Elmadfa, 2009) και περιλαμβάνει την ανάλυση αντιπροσωπευτικών μελετών από 19 Ευρωπαϊκές χώρες. Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι η Γερμανία, η Πολωνία, η Ιταλία και η Αυστρία είναι οι χώρες στις οποίες κατά μέσο όρο καταναλώνονται περισσότερα από 400 g (5 μερίδες) φρούτων και λαχανικών καθημερινά. Αναλυτικά, η κατανάλωση των λαχανικών βρέθηκε υψηλότερη στη Νότια Ευρώπη (Ελλάδα, Ιταλία, Πορτογαλία, Ισπανία, Κύπρος), καθώς και στην Κεντρική και Ανατολική Ευρώπη (Γερμανία, Αυστρία, Πολωνία, Ρουμανία, Σλοβενία, Τσεχία, Ουγγαρία) σε σχέση με τη Βόρεια Ευρώπη (Δανία, Εσθονία, Φινλανδία, Λετονία, Λιθουανία, Νορβηγία, Σουηδία). Αναφορικά με την πρόσληψη φρούτων, η υψηλότερη παρατηρήθηκε στην Κεντρική, Ανατολική και Νότια Ευρώπη σε σχέση με τη Βόρεια και Δυτική Ευρώπη, όπου η κατανάλωση φρούτων ήταν χαμηλότερη.

Αυτή η διαφορετική τάση μεταξύ Βόρειας και Νότιας Ευρώπης αναφορικά με την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών φάνηκε και στην ανάλυση των δεδομένων σε 35.955 άνδρες και γυναίκες από τη μελέτη EPIC σε 10 Ευρωπαϊκές χώρες (Agudo et al., 2002). Στους άνδρες, η υψηλότερη μέση πρόσληψη λαχανικών παρατηρήθηκε στην Ελλάδα (270 g/ημέρα) ενώ η χαμηλότερη (103 g/ημέρα) στη Σουηδία. Στις γυναίκες, η υψηλότερη μέση πρόσληψη λαχανικών παρατηρήθηκε στη νότια Γαλλία (261 g/ημέρα) ενώ η χαμηλότερη στη βόρεια Ισπανία (103 g/ημέρα). Η μέση πρόσληψη φρούτων στους άνδρες κυμαινόταν μεταξύ 454 g/ημέρα στην Ισπανία και 122 g/ημέρα στη Σουηδία, και στις γυναίκες μεταξύ 400 g/ημέρα στην Ιταλία και 151 g/ημέρα στη Σουηδία.

Όπως είναι εμφανές από τα προαναφερθέντα ευρήματα, παρά τη γνωστή ευεργετική δράση της κατανάλωσης των φρούτων και των λαχανικών στην υγεία και τις προσπάθειες διαφόρων οργανισμών παγκοσμίως να ενθαρρύνουν την αύξηση της κατανάλωσης τους, τα ποσοστά των ανθρώπων που καταναλώνουν επαρκείς ποσότητες παραμένουν απογοητευτικά. Απαιτείται μεγαλύτερη προσπάθεια προώθησης και ενημέρωσης από τους διάφορους φορείς καθώς και νέοι τρόποι ένταξης αυτών των τροφίμων στη διατροφή του σύγχρονου καταναλωτή.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΑ ΦΡΟΥΤΑ & ΔΙΑΤΡΟΦΗ

2.1 Παραδοσιακά τρόφιμα

Παραδοσιακά καλούνται τα τρόφιμα τα οποία είναι άμεσα συνδεδεμένα με τη διατροφική κουλτούρα μιας μικρής κοινωνίας ή και χώρας. Τα παραδοσιακά τρόφιμα 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 όσο και στις χρησιμοποιούμενες πρώτες ύλες (π.χ. φρούτα από εντόπιες ποικιλίες). Παράλληλα, δεν γίνεται χρήση τεχνητών συντηρητικών, αλλά τα τελευταία υποκαθίστανται από φυσικές μεθόδους συντήρησης (π.χ. ξύδι, υποκαπνισμός, φυσική ξήρανση).

2.2 Παραδοσιακά αποξηραμένα φρούτα

Στην κατηγορία των παραδοσιακών τροφίμων συγκαταλέγονται και τα παραδοσιακά αποξηραμένα φρούτα. Ως παραδοσιακά αποξηραμένα φρούτα θεωρούνται 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). Στον όρο αυτό περιλαμβάνονται τα αποξηραμένα ροδάκινα και βερίκοκα και τα άλλα αποξηραμένα φρούτα τα οποία επεξεργάζονται με διοξείδιο του θείου πριν από 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 (ωσμωτικά αποξηραμένα φρούτα), ζαχαρωμένα αποξηραμένα φρούτα (π.χ. αποξηραμένος ανανάς) ή αφυδατωμένα φρούτα με πολύ χαμηλή περιεκτικότητα σε υγρασία. Τέλος, βασικό χαρακτηριστικό των παραδοσιακών αποξηραμένων φρούτων είναι ότι διατηρούν το μεγαλύτερο μέρος της διατροφικής αξίας των αντίστοιχων νωπών ομολόγων τους.

Παράλληλα, τα τελευταία 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 ομολόγων τους στις τρέχουσες διατροφικές συστάσεις σε Αργεντινή, Αυστραλία, Καναδά, αλλά και σε χώρες της ΕΕ (FAO, 2011). Για τον λόγο αυτό, τα αποξηραμένα φρούτα θα πρέπει να συμπεριλαμβάνονται στις νέες συστάσεις στο πλευρό των νωπών φρούτων παγκοσμίως. Μάλιστα, λαμβάνοντας υπόψη τις αναλογίες των φρούτων κατά την ξήρανση (νωπά/αποξηραμένα), η κατανάλωση αποξηραμένων φρούτων θα μπορούσε να συμβάλλει σημαντικά στην εκπλήρωση του ημερήσιου στόχου βάσει των συστάσεων για την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών και να γεφυρώσει το χάσμα μεταξύ της συνήθους και της συνιστώμενης πρόσληψης φρούτων και λαχανικών.

Η σύσταση για κατανάλωση αποξηραμένων φρούτων παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα καθώς:

- Είναι εύκολα στην αποθήκευση και τη διανομή
- Είναι διαθέσιμα όλο τον χρόνο
- Ενσωματώνονται εύκολα σε συνταγές μαγειρικής και ζαχαροπλαστικής
- Αποτελούν μια υγιεινή εναλλακτική λύση των πλούσιων σε ζάχαρη και λίπος σνακ
- Έχουν σχετικά χαμηλό κόστος

Αναφορικά με την παραγωγή αποξηραμένων φρούτων, οι χουρμάδες βρίσκονται στην κορυφή, ακολουθούμενοι από τις σταφίδες, τα δαμάσκηνα, τα βερίκοκα και τα σύκα (**Πίνακας 2.1**).

Πίνακας 2.1 Παγκόσμια παραγωγή αποξηραμένων φρούτων (σε τόνους)

Φρούτο	2007	2008	2009	2010	2011
Βερίκοκα	137.100	146.950	164.350	159.100	198.917
Χουρμάδες	6.400.000	6.323.000	6.599.000	6.708.000	6.598.000
Σύκα	100.600	92.000	102.000	107.562	105.453
Δαμάσκηνα	199.204	229.942	253.851	245.630	236.500
Σταφίδες	1.053.500	1.042.450	1.061.600	1.083.547	1.170.999

(Πηγή: International Nut and Dried Fruit Council, 2012)

Σχετικά με την παραγωγή άλλων αποξηραμένων φρούτων, όπως τα acai berries, τα μήλα, τις μπανάνες, τα βατόμουρα, τα κεράσια, τα εσπεριδοειδή, τα goji berries, τα ακτινίδια, τα μάνγκο, τα νεκταρίνια, τα ροδάκινα, τα αχλάδια, τον ανανά και τις φράουλες, οι διαθέσιμες πληροφορίες είναι λίγες.

2.3 Συστατικά αποξηραμένων φρούτων

2.3.1 Μακροθρεπτικά συστατικά

Με τη διαδικασία της ξήρανσης αφαιρείται μέρος του νερού των φρέσκων φρούτων με αποτέλεσμα τα αποξηραμένα φρούτα να παρουσιάζουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φυσικά σάκχαρα. Ιδιαίτερα σημαντική είναι επίσης και η περιεκτικότητά τους σε φυτικές ίνες. Δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε φυτικές ίνες φαίνεται πως μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο ανάπτυξης διαφόρων νοσημάτων (Satija & Hu, 2012). Για τον λόγο αυτό, τόσο για τα παιδιά όσο και για τους ενήλικες συστήνεται η κατανάλωση 14 g φυτικών ινών ανά 1.000 θερμίδες την ημέρα. Επιπρόσθετα, όπως τα φρέσκα ομόλογά τους, τα αποξηραμένα φρούτα δεν περιέχουν λιπαρά, trans ή κορεσμένα λιπαρά και χοληστερόλη. Η διατροφική ανάλυση των πιο διαδεδομένων αποξηραμένων φρούτων αναφορικά με τα μακροθρεπτικά συστατικά που περιέχουν φαίνεται στον **Πίνακα 2.2**.

Πίνακας 2.2 Διατροφική ανάλυση των μακροθρεπτικών συστατικών των πιο διαδεδομένων αποξηραμένων φρούτων (ανά 100 g τροφίμου)

Θρεπτικά Συστατικά	Χουρμάδες (deglet noor)	Σύκα	Σταφίδες (zante)	Βερίκοκα	Δαμάσκηνα
Νερό (g)	20,5	30,1	19,2	30,9	30,9
Ενέργεια (kcal)	282	249	283	241	240
Υδατάνθρακες (g)	75,0	63,9	74,1	62,6	63,9
Σάκχαρα (g)	63,4	47,9	67,3	53,4	38,1
Φυτικές ίνες (g)	8	9,8	6,8	7,3	7,1
Πρωτεΐνη (g)	2,5	3,3	4,1	3,4	2,2
Ολικό λίπος (g)	0,4	0,9	0,3	0,5	0,4

(Πηγή: USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 28)

2.3.2 Μικροθρεπτικά συστατικά

Τα μικροθρεπτικά συστατικά, και κυρίως οι βιταμίνες και τα μέταλλα, που περιέχονται στα αποξηραμένα φρούτα ποικίλουν σημαντικά από φρούτο σε φρούτο. Παράλληλα, οι διαφορετικές ποικιλίες που υπάρχουν αλλά και οι διαφορετικές μέθοδοι ξήρανσης αποτελούν έναν ακόμα παράγοντα που διαφοροποιεί την περιεκτικότητα των αποξηραμένων φρούτων σε μικροθρεπτικά συστατικά. Για παράδειγμα, τα αποξηραμένα ροδάκινα και βερίκοκα αποτελούν σημαντική πηγή προβιταμίνης Α και καροτενοειδών, τα αποξηραμένα δαμάσκηνα έχουν ιδιαίτερα υψηλή περιεκτικότητα σε βιταμίνη Κ, ενώ τα ξηρά σύκα είναι πλούσια σε ασβέστιο και μαγγάνιο. Επιπλέον, αναλύσεις αποξηραμένων φρούτων από διάφορες περιοχές και ποικιλίες έχουν δείξει ότι περιέχουν σημαντικές ποσότητες πολλών μικροθρεπτικών συστατικών όπως ο σίδηρος, ο χαλκός, ο ψευδάργυρος, το σελήνιο και το φυλλικό οξύ.

Τα αποξηραμένα φρούτα αποτελούν μια ιδιαίτερα σημαντική πηγή καλίου. Η αύξηση της πρόσληψης καλίου μπορεί να οδηγήσει στη μείωση των επιπέδων της αρτηριακής πίεσης (Appel, 2003). Παράλληλα, τα αποξηραμένα φρούτα χαρακτηρίζονται από πολύ χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο. Ο συνδυασμός της υψηλής περιεκτικότητας των αποξηραμένων φρούτων σε κάλιο και της χαμηλής περιεκτικότητάς τους σε νάτριο φαίνεται ιδανικός σε άτομα που έχουν αυξημένα επίπεδα αρτηριακής πίεσης αλλά και για την πρόληψη της νόσου.

2.3.3 Φυτοχημικά συστατικά

Τα φυτά συνθέτουν ένα ευρύ φάσμα ενώσεων που παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία τους από φυτοφάγα ζώα και μικροβιακές μολύνσεις ενώ ελκύουν έντομα επικονιαστές και ζώα που διασπείρουν σπόρους. Τα φυτοχημικά περιλαμβάνουν μια ευρεία ομάδα συστατικών ποικίλης δομής των φυτών, τα οποία κατά κύριο λόγο βρίσκονται στο κυτταρικό τοίχωμα και είναι ευρέως διασκορπισμένα σε όλο το φυτικό βασίλειο. Αποτελούν δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών, δηλαδή ουσίες που στα φυτά έχουν ελάχιστο ή καθόλου ρόλο στη φωτοσύνθεση, στην αναπνοή και στην ανάπτυξη. Η φύση και η διανομή αυτών των ενώσεων μπορεί να ποικίλει ανάλογα με τον φυτικό ιστό, αλλά συντίθενται κυρίως από υδατάνθρακες μέσω του σικιμικού και του φαινυλο-προπανοειδικού μονοπατιού. Στα φυτά, συναντώνται κυρίως συζευγμένα με σάκχαρα και οργανικά οξέα και μπορούν να

ταξινομηθούν σε δύο ομάδες ανάλογα με τον αριθμό και τη διάταξη των ατόμων άνθρακα, τα φλαβονοειδή και τα μη φλαβονοειδή.

Τα φλαβονοειδή συναντώνται σε υψηλές συγκεντρώσεις στην επιδερμίδα των φύλλων και το δέρμα των καρπών, και έχουν σημαντικούς και ποικίλους ρόλους ως δευτερογενείς μεταβολίτες. Έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερες από 8.000 δομές φαινολικών ενώσεων, πολλά από τα οποία είναι υπεύθυνα για το χρώμα των φρούτων και των λουλουδιών. Οι κύριες υποκατηγορίες των φλαβονοειδών είναι οι φλαβόνες, οι φλαβονόλες, οι φλαβανόλες, οι ισοφλαβόνες, οι φλαβανόνες και οι ανθοκυανιδίνες. Στα μη φλαβονοειδή φυτοχημικά συστατικά περιλαμβάνονται τα φαινολικά οξέα, τα στυλβένια και οι λιγνάνες (Manach et al., 2004).

Τα διαθέσιμα στοιχεία δείχνουν ότι στα αποξηραμένα φρούτα περιέχεται ένα μοναδικό φάσμα φυτοχημικών συστατικών. Στα ξηρά δαμάσκηνα απαντώνται σε μεγάλες συγκεντρώσεις υδροξυ-κινναμμωμικά οξέα, κυρίως το χλωρογενικό οξύ και τα ισομερή του ενώ η ρουτίνη αποτελεί την κυρίαρχη φλαβονόλη. Τα αποξηραμένα δαμάσκηνα περιέχουν επίσης κυνικό οξύ που μεταβολίζεται σε ιππουρικό οξύ, το οποίο έχει φανεί από μελέτες ότι βοηθά στην πρόληψη λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος (Kagano et al., 2002). Επιπλέον, οι πληροφορίες σχετικά με τα φυτοχημικά συστατικά που περιέχονται στους χουρμάδες δεν είναι ξεκάθαρες, καθώς η σύνθεσή τους ποικίλλει σημαντικά ανάλογα με την ποικιλία και το στάδιο ωρίμανσης, ενώ για τα υπόλοιπα αποξηραμένα φρούτα δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα.

2.4 Οφέλη των αποξηραμένων φρούτων στην υγεία

Πληθώρα μελετών έχει αναδείξει πολυάριθμα οφέλη της κατανάλωσης αποξηραμένων φρούτων στην υγεία (Vayalil, 2012, Vinson et al., 2005, Tantamango et al., 2011). Τα οφέλη αυτά προέρχονται κυρίως από τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά και τα φυτοχημικά συστατικά (όπως ανθοκυανίνες, καροτενοειδή, φυτοοιστρογόνα, φλαβανόλες, φλαβόνες, φλαβονόλες, φαινολικά οξέα) που περιέχουν, καθώς από το αντιοξειδωτικό τους περιεχόμενο. Η πρόσληψη φλαβονοειδών έχει συσχετιστεί με χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης διαφόρων ασθενειών, όπως ο καρκίνος, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, οι καρδιαγγειακές παθήσεις και άλλα χρόνια νοσήματα (Jiang et al., 2015, Goetz et al., 2016, Lin et al., 2016). Οι θετικές

επιπτώσεις των φλαβονοειδών στην υγεία είναι πιθανόν να σχετίζονται με τις ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητές τους (Harasym & Oledzki, 2014). Υπάρχει σημαντική ερευνητική υποστήριξη του ρόλου των ξηρών φρούτων στην προώθηση της υγείας του πεπτικού συστήματος (Carughi, 2009, Attaluri et al., 2011, Mandalari et al., 2016), στην υποστήριξη της υγείας των οστών (ιδιαίτερα τα δαμάσκηνα) (Halloran et al., 2010, Hooshmand & Arjmandi, 2009) και των δοντιών και ούλων (Rivero-Cruz et al., 2008).

Τα αποξηραμένα φρούτα είναι επίσης σημαντικές πηγές καλίου και φυτικών ινών. Είναι γνωστό ότι η αύξηση της πρόσληψης καλίου μπορεί να μειώσει την αρτηριακή πίεση (Vinceti et al., 2016), ενώ δίαιτες υψηλές σε φυτικές ίνες συνιστώνται για τη μείωση του κινδύνου ανάπτυξης διαφόρων νοσημάτων όπως η δυσκοιλιότητα, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, η παχυσαρκία, η εκκολπωματίτιδα, ο καρκίνος του παχέος εντέρου και οι καρδιαγγειακές παθήσεις (Maćkowiak et al., 2016). Επιπλέον, σε μια ανάλυση από τα δεδομένα της μελέτης NHANES (1999-2004) φάνηκε ότι η πρόσληψη αποξηραμένων φρούτων συνδέεται με χαμηλότερο δείκτη μάζας σώματος, μειωμένη περίμετρο μέσης και μειωμένη κοιλιακή παχυσαρκία (Keast et al., 2009). Επιπλέον, δεδομένα υποδεικνύουν ότι τα αποξηραμένα φρούτα προωθούν τον κορεσμό επηρεάζοντας τα επίπεδα ορμονών που ρυθμίζουν την όρεξη (Puglisi et al., 2009).

Τα αποξηραμένα φρούτα, λόγω της γλυκύτητας τους, αναμένεται να έχουν υψηλό γλυκαιμικό (70 και άνω) και ινσουλιναιμικό δείκτη. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα αποξηραμένα φρούτα έχουν χαμηλό (55 και κάτω) έως μέτριο (56-69) γλυκαιμικό και ινσουλιναιμικό δείκτη καθώς και γλυκαιμική και ινσουλιναιμική απόκριση συγκρίσιμη με αυτή των φρέσκων ομολόγων τους (Miller et al., 2002), γεγονός που θα μπορούσε να οφείλεται στην παρουσία φυτικών ινών, πολυφαινολών και τανινών (Widanagamage et al., 2009, Bjorck et al., 2003). Παράλληλα, η υψηλή περιεκτικότητα των αποξηραμένων φρούτων σε φρουκτόζη, η οποία έχει χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη (Jenkins et al., 1981), θα μπορούσε επίσης να εξηγήσει την ήπια γλυκαιμική και ινσουλιναιμική απόκριση μετά από κατανάλωση αποξηραμένων φρούτων.

Σε μια μελέτη όπου συμμετείχαν 13.292 ενήλικα άτομα φάνηκε ότι η κατανάλωση αποξηραμένων φρούτων συνδέεται με χαμηλό βάρος σώματος, βελτιωμένα επίπεδα λιπώδους μάζας, υψηλότερη συνολική ποιότητα διατροφής και υψηλότερη πρόσληψη βιταμινών A, E, και K, φωσφόρου, μαγνησίου και καλίου. Αυτά τα οφέλη μπορούν να

αποδοθούν στην υψηλή τους περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες καθώς και τη μειωμένη πρόσληψη λιπαρών, αλκοόλ και πρόσθετων σακχάρων. Ωστόσο, μόνο το 7% των ατόμων στη μελέτη κατανάλωναν σημαντικές ποσότητες αποξηραμένων φρούτων στη διατροφή τους, εγείροντας ερωτήματα σχετικά με την αποτελεσματικότητα των εκστρατειών δημόσιας υγείας σε όλο τον κόσμο που ενθαρρύνουν την αύξηση της κατανάλωσης φρούτων (Keast et al., 2011).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Η ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ

3.1 Ποικιλίες & παραγωγή σταφίδας

Οι σταφίδες (raisins) είναι αποξηραμένο σταφύλι και το όνομά τους προέρχεται από τη λατινική λέξη *racemes*, που σημαίνει «ένα σύμπλεγμα σταφυλιών ή μούρων». Η αμπελοκαλλιέργεια (αμπελουργία) φαίνεται να άρχισε γύρω στα 6.000 π.Χ. στην περιοχή της Ανατολίας, στη βόρεια χερσόνησο της Δυτικής Ασίας. Κατά τον 9ο μ.Χ. αιώνα τουλάχιστον 78 ποικιλίες σταφυλιών είχαν αναπτυχθεί στην Εγγύς Ανατολή.

Σε παγκόσμιο επίπεδο, η πλειοψηφία της παραγωγής σταφίδας προέρχεται από αποξηραμένα σταφύλια της λευκής ποικιλίας «Thompson seedless», με την επιστημονική ονομασία *Vitis vinifera* L. Η ποικιλία αυτή ακολουθείται από τη «Fiesta» (3%) και τη «Zante currant» (1,5%). Το υπόλοιπο παράγεται από τις ποικιλίες «DOVine», «Μοσχάτο Αλεξανδρείας», «Σουλτάνα», «Monukka», «Ruby Seedless», «Flame Seedless» και «Perlette» (Christensen, 2000). Οι σταφίδες παράγονται σε πολλές γεωγραφικές περιοχές του κόσμου, και η κατανάλωσή της εμφανίζεται σε όλους τους πολιτισμούς και δημογραφικούς τομείς. Οι Ηνωμένες Πολιτείες και η Τουρκία είναι οι χώρες με τη μεγαλύτερη παραγωγή σταφίδας στον κόσμο. Με βάση τα στατιστικά στοιχεία για τη σοδειά 2015-2016, οι ΗΠΑ κατείχαν την πρώτη θέση στην παραγωγή (29%) και ακολούθησαν η Τουρκία (18%), η Κίνα (16%), το Ιράν (12%) και η Χιλή (6%). Άλλες χώρες που παράγουν σταφίδα είναι η Νότια Αφρική, το Αφγανιστάν, η Αργεντινή, το Ουζμπεκιστάν, η Αυστραλία και η Ελλάδα. Όπως είναι φυσικό η ετήσια παραγωγή σταφίδας εξαρτάται από τις κλιματολογικές συνθήκες και επομένως παρατηρούνται αρκετές διαφοροποιήσεις ανά έτος.

3.2 Κορινθιακή σταφίδα

Ο όρος «currant» χρησιμοποιείται για να περιγράψει το μικρό μέγεθος του σταφυλιού που μοιάζει με μούρο, αλλά αποτελεί μια πραγματική ποικιλία σταφυλιού. Το σταφύλι, από το οποίο προέρχεται η Κορινθιακή σταφίδα, είναι μετρίου μεγέθους, κυλινδρικό, με το μέσο βάρος να κυμαίνεται περί τα 200 g ανά τσαμπί. Η ωρίμανση του φυτού ξεκινάει στις αρχές Αυγούστου στις πεδινές και φτάνει μέχρι τα τέλη Σεπτεμβρίου στις ορεινές καλλιέργειες. Η Κορινθιακή σταφίδα (*Vitis vinifera* L., var. *Apyrena*) ευδοκίμει και παρουσιάζει μεγάλη

απόδοση σε εδάφη ελαφρά, καλώς στραγγιζόμενα, έστω και χαλικιώδη. Η Κορινθιακή σταφίδα αποτελεί ένα φυσικά αποξηραμένο φρούτο είτε στον ήλιο είτε στη σκιά και δεν υφίσταται καμία θερμική επεξεργασία ή προσθήκη ζάχαρης ή άλλων γλυκαντικών μέσων.

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 ευδοκیمی και καλλιεργείται η Κορινθιακή σταφίδα αναφέρονται οι νομοί Αχαΐας, Ζακύνθου, Ηλείας, Κεφαλληνίας, Κορινθίας και Μεσσηνίας.

Η ποιότητα της Κορινθιακής σταφίδας χαρακτηρίζεται από την περιοχή προέλευσης και μπορεί να ταξινομηθεί σε 2 βασικές κατηγορίες:

i. Η σταφίδα που κατατάσσεται στην κατηγορία υψηλότερης ποιότητας παράγεται στη βόρεια Πελοπόννησο και μπορεί να ταξινομηθεί σε δύο υποκατηγορίες

- Vostizza: προϊόν Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (ΠΟΠ) που παράγεται στην περιοχή της Αιγιάλειας
- Gulf: παράγεται στις περιοχές Κορινθίας, Νεμέας και Κιάτου

ii. Η σταφίδα Provincial ανήκει στη δεύτερη κατηγορία και παράγεται στην νότια και δυτική Πελοπόννησο, όπως επίσης και σε Κεφαλονιά και Ζάκυνθο. Η σταφίδα της Ζακύνθου πρόσφατα έγινε προϊόν ΠΟΠ, ενώ η σταφίδα από την περιοχή του Πύργου προϊόν Προστατευόμενης Γεωγραφικής Ένδειξης (ΠΓΕ).

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

Η Κορινθιακή σταφίδα καλλιεργείται σε πολύ μικρότερη κλίμακα και εκτός ελληνικών συνόρων καθώς η καλλιέργεια της δεν ευνοείται σε άλλες χώρες λόγω κλιματικών και εδαφολογικών διαφορών. Συγκεκριμένα, η Ελλάδα κατέχει το 80% της παραγωγής και ακολουθούν οι ΗΠΑ (10%), η Νότια Αφρική (5%) και η Αυστραλία (5%).

3.3 Συστατικά της σταφίδας

3.3.1 Θρεπτικά συστατικά

Οι σταφίδες είναι πλούσιες σε πολύτιμα θρεπτικά συστατικά ενώ έχουν μια ευχάριστα γλυκιά γεύση. Παρέχουν απαραίτητα θρεπτικά συστατικά, διαλυτές και αδιάλυτες φυτικές ίνες και βιοδραστικά συστατικά ή φυτοχημικά με προστατευτική δράση για την υγεία. Οι σταφίδες, όπως και άλλα φρούτα, στερούνται λιπαρών, κορεσμένων λιπαρών και χοληστερόλης. Επιπλέον, είναι πλούσιες σε κάλιο ενώ έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε νάτριο. Σε σύγκριση με άλλα φρούτα, έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε μαγνήσιο και σίδηρο. Στον **Πίνακα 3.1** παρουσιάζονται τα θρεπτικά συστατικά της σταφίδας (τύπου zante) ανά 100 g τροφίμου (USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 28).

Πίνακας 3.1 Διατροφική αξία της σταφίδας τύπου Zante ανά 100 g

Θρεπτικά Συστατικά	Διατροφική αξία/100 g
Νερό (g)	19,2
Ενέργεια (kcal)	282
Πρωτεΐνη (g)	4,1
Ολικό λίπος (g)	0,3
Τέφρα (g)	2,4
Υδατάνθρακες (g)	74,1
Διαιτητικές ίνες (g)	6,8
Σάκχαρα (g)	67,3
Ασβέστιο (mg)	86
Σίδηρος (mg)	3,3
Μαγνήσιο (mg)	41
Φώσφορος (mg)	125
Κάλιο (mg)	892
Νάτριο (mg)	8
Ψευδάργυρος (mg)	0,7
Χαλκός (mg)	0,5
Μαγγάνιο (mg)	0,5

Σελήνιο (mg)	0,7
Βιταμίνη C (mg)	4,7
Θειαμίνη (mg)	0,2
Ριβοφλαβίνη (mg)	0,1
Νιασίνη (mg)	1,6
Παντοθενικό οξύ (mg)	0,1
Βιταμίνη B6 (mg)	0,3
Φυλλικό οξύ (μg)	10
Βιταμίνη B12 (μg)	0
Βιταμίνη A, RAE (μg)	4
Ρετινόλη (μg)	0
β-Καροτένιο (μg)	43
α-Καροτένιο (μg)	1
β-Κρυπτοξανθίνη (μg)	1
Βιταμίνη A (IU)	73
Βιταμίνη E (α-toc) (mg)	0,1
Βιταμίνη K (μg)	3,3

(Πηγή: USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 28)

Η συνολική ποσότητα των διαιτητικών ινών της σταφίδας είναι 6,8 g/100 g τροφίμου, σύμφωνα με τη βάση δεδομένων του USDA (USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 28). Ωστόσο, άλλοι ερευνητές αναφέρουν διαφορετικά επίπεδα φυτικών ινών, για τις αποξηραμένες στον ήλιο και τις ξανθές σταφίδες (Camire et al., 2003). Οι διαλυτές φυτικές ίνες αντιπροσωπεύουν περίπου το 30% των συνολικών ινών, με τις ξανθές σταφίδες να έχουν ελαφρώς υψηλότερες τιμές. Η μαννόζη είναι το κυρίαρχο σάκχαρο στις διαλυτές ίνες. Οι αδιάλυτες φυτικές ίνες περιέχουν ελαφρώς περισσότερα υπολείμματα γλυκόζης παρά μαννόζης. Η πηκτίνη αντιπροσωπεύει πάνω από το 50% των συνολικών ινών, ενώ τα επίπεδα λιγνίνης είναι χαμηλά σε όλους τους τύπους σταφίδων.

Η σταφίδα περιέχει πάνω από 5 g φρουκτανών ανά 100 g. Οι φρουκτάνες, επίσης γνωστές ως φρουκτοολιγοσακχαρίτες (FOS), είναι φρουκτοζυλο μονάδες ενωμένες με β-2-1-γλυκοζιτικό δεσμό. Σχηματίζονται από τα σάκχαρα των σταφυλιών κατά τη διάρκεια της

διαδικασίας της ξήρανσης. Στα νωπά σταφύλια δεν ανιχνεύονται φρουκτάνες (Camire et al., 2003). Τόσο η Αμερικανική Ένωση Χημικών όσο και ο Οργανισμός Τροφίμων και Διατροφής περιλαμβάνουν τις φρουκτάνες ως συστατικά των διαιτητικών ινών. Επομένως, προσθέτοντας τις φρουκτάνες στη συνολική ποσότητα των φυτικών ινών των σταφίδων σχεδόν διπλασιάζεται το περιεχόμενό τους σε φυτικές ίνες.

Όσον αφορά τη διατροφική σύσταση της Κορινθιακής σταφίδας, υπάρχουν δεδομένα για την περιεκτικότητα του τροφίμου σε μακροθρεπτικά συστατικά ενώ η ανάλυση των βιταμινών που εμπεριέχει βρίσκεται ακόμα σε εξέλιξη. Πρόκειται για ένα φρούτο πλούσιο σε φυτικές ίνες καθώς και σε απλά σάκχαρα όπως φρουκτόζη και γλυκόζη, τα οποία αποτελούν την αμεσότερη πηγή ενέργειας για τον ανθρώπινο οργανισμό. Παράλληλα δεν περιέχει λίπος και χοληστερόλη. Σε μια πολύ πρόσφατη μελέτη (Nikolidaki et al., 2016) προσδιορίστηκε το περιεχόμενο σε σάκχαρα ανάλογα με το υψόμετρο των καλλιεργούμενων αμπελιών για 3 συνεχόμενες σοδειές. Η διατροφική αξία της Κορινθιακής σταφίδας παρουσιάζεται στον **Πίνακα 3.2**.

Πίνακας 3.2 Διατροφική αξία Κορινθιακής σταφίδας ανά 100 g τροφίμου

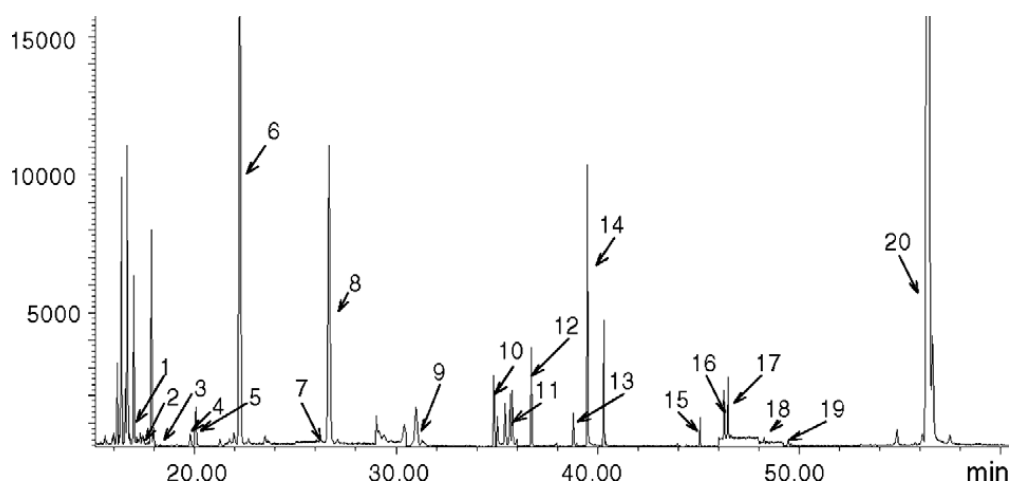
Θρεπτικά Συστατικά	Διατροφική αξία/100 g
Ενέργεια (kcal)	325
Υγρασία (g)	13,8
Ολικά Σάκχαρα (g)	66
Φρουκτόζη (g)	33
Γλυκόζη (g)	32,5
Σακχαρόζη (g)	0,4
Μαλτόζη (g)	0,7
Φυτικές ίνες (g)	6,9
Πρωτεΐνες (g)	2,2
Λίπη (g)	0,4

(Πηγή: Nikolidaki et al., 2016)

3.3.2 Φυτοχημικά συστατικά

Στις σταφίδες, όπως και στα υπόλοιπα αποξηραμένα φρούτα απαντάται μια ποικιλία φυτοχημικών συστατικών. Σε μελέτη των Williamson & Carughi (2010) φάνηκε ότι τα πιο άφθονα φυτοχημικά στη σταφίδα είναι οι φλαβονόλες, κερκετίνη και καμφερόλη, καθώς και τα φαινολικά οξέα, καυταρικό και κουταρικό οξύ.

Αναλύσεις που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα έχουν δείξει ότι η Κορινθιακή σταφίδα έχει επίσης πλούσιο περιεχόμενο σε φαινολικά στοιχεία. Πιο συγκεκριμένα, σε σημαντικές ποσότητες ανιχνεύθηκαν βανιλλικό οξύ, καφεϊκό οξύ, γαλλικό οξύ, συριγγικό οξύ, π-κουμαρικό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ, π-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ, π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ, φερουλικό οξύ και κερκετίνη (Chiou et al., 2007) (**Σχήμα 3.1**). Σε μια πρόσφατη μελέτη (Chiou et al., 2014) ανιχνεύθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν πέντε 3-O-γλυκοζίτες ανθοκυανιδινών με κυρίαρχους τους 3-O-γλυκοζίτη της μαλβιδίνης, 3-O-γλυκοζίτη της πεονιδίνης και 3-O-γλυκοζίτη της κυανιδίνης.



Σχήμα 3.1 Τυπικό χρωματογράφημα GC-MS σε εκχύλισμα Κορινθιακής σταφίδας

Στο χρωματογράφημα εντοπίζονται οι κάτωθι φυτοχημικές ενώσεις: 1:Βανιλίνη, 2:Κιναμμωμικό οξύ, 3:Τυροσόλη, 4:π-Υδροξυ-βενζοϊκό οξύ, 5:π-Υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ, 6:IS, 7:Φλωρετικό οξύ, 8:Βανιλλικό οξύ, 9:Πρωτοκατεχικό οξύ, 10:Συριγγικό οξύ, 11:π-Κουμαρικό οξύ, 12:Γαλλικό οξύ, 13:Φερουλικό οξύ, 14:Καφεϊκό οξύ, 15:Ρεσβερατρόλη, 16:Επικατεχίνη, 17:Κατεχίνη, 18:Καμφερόλη, 19:Κερκετίνη, 20:Ολεανολικό οξύ (Chiou et al., 2007).

3.4 Βιοδιαθεσιμότητα φυτοχημικών συστατικών

Πολλές μελέτες έχουν δείξει την ευεργετική δράση των φυτοχημικών συστατικών στον ανθρώπινο οργανισμό. Για τον λόγο αυτό είναι πολύ σημαντική η μελέτη της βιοδιαθεσιμότητας των συστατικών αυτών, προκειμένου να γίνουν πιο κατανοητές οι ευεργετικές επιδράσεις τους καθώς επίσης και ο τρόπος δράσης τους. Τα πιο ευρέως διαδεδομένα στην ανθρώπινη δίαιτα συστατικά δεν είναι απαραίτητα και εκείνα με τη μεγαλύτερη δραστικότητα στον ανθρώπινο οργανισμό. Η μειωμένη δραστικότητα τους μπορεί να οφείλεται στη μικρή διεισδυτική ικανότητα, στη χαμηλή εντερική απορρόφηση, στον μεταβολισμό ή στην ταχεία αποβολή τους από τον οργανισμό. Επίσης, είναι πολύ πιθανόν οι μεταβολίτες τους, που απαντούν στο αίμα ή σε διάφορους ιστούς-όργανα στόχους και είναι προϊόντα της πέψης ή του μεταβολισμού, και όχι τα ίδια τα συστατικά, να είναι σημαντικότεροι από βιολογικής άποψης.

Ο μεταβολισμός των πολυφαινόλων γίνεται μέσω ενός κοινού μονοπατιού. Το άγλυκον μπορεί να απορροφηθεί από το λεπτό έντερο. Ωστόσο, οι περισσότερες πολυφαινόλες είναι παρούσες στα τρόφιμα ως εστέρες, γλυκοζίτες ή πολυμερή που δε μπορούν να απορροφηθούν στην εγγενή μορφή τους. Οι ουσίες αυτές πρέπει πρώτα να υδρολυθούν από τα πεπτικά ένζυμα ή από τη μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου και στη συνέχεια να απορροφηθούν. Κατά την απορρόφηση, οι πολυφαινόλες εμφανίζονται συζευγμένες στο λεπτό έντερο και στη συνέχεια στο ήπαρ. Η διαδικασία περιλαμβάνει μεθυλίωση, θείωση και γλυκουρονιδίωση. Αυτή είναι μια μεταβολική διεργασία αποτοξίνωσης κοινή για πολλές ξενοβιοτικές ουσίες που περιορίζει πιθανές τοξικές επιδράσεις και αυξάνει την υδροφιλικότητα τους ώστε να διευκολύνεται η αποβολή τους στα ούρα και τη χολή.

Μεγάλα συζευγμένα μόρια πολυφαινόλων είναι πιο πιθανό να απεκκρίνονται μέσω της χολής, ενώ μικρότερα μόρια, όπως τα μονοσουλφίδια απεκκρίνονται μέσω των νεφρών. Η απέκκριση μέσω της χολής φαίνεται να είναι το κύριο μονοπάτι για τη γενιστεΐνη, τους γαλλικούς εστέρες της επιγαλλοκατεχίνης (EGCG) και την εριοδικτυόλη (Prasain et al., 2006, Mata-BilbaoMde et al., 2008). Πολυφαινόλες που εκκρίνονται από τη χολή πάλι μέσα στο έντερο μπορεί να δεχθούν την επίδραση της β-γλυκουρονιδάσης της μικροχλωρίδας του εντέρου και να δώσουν ελεύθερες πολυφαινόλες από τις δεσμευμένες που εκκρίνονται, λόγω της εντεροηπατικής επανακυκλοφορίας (Nielsen & Williamson, 2007). Η απέκκριση στα ούρα σχετίζεται στενά με τη συγκέντρωσή τους στο πλάσμα.

Ένας από τους βασικούς στόχους των μελετών βιοδιαθεσιμότητας είναι να προσδιορίσουν ανάμεσα στα εκατοντάδες συστατικά της δίαιτας, ποιά απορροφώνται καλύτερα και ποιά οδηγούν στη δημιουργία δραστικών μεταβολιτών (Manach et al., 2005). Πολλοί ερευνητές έχουν μελετήσει την κινητική των πολυφαινολών και τον βαθμό απορρόφησής τους προσδιορίζοντας τις συγκεντρώσεις των πολυφαινολών στο πλάσμα και την απέκκριση τους στα ούρα μετά από τη χορήγηση πολυφαινολών ή ως καθαρή ένωση, ή ως εκχύλισμα από ένα φυτό, ή ως τρόφιμο ή ποτό. Τα αποτελέσματα αυτών των ερευνών δείχνουν τη μεγάλη ποικιλομορφία που υπάρχει στη βιοδιαθεσιμότητα των διαφόρων πολυφαινολών (Manach et al., 2005).

Μέχρι σήμερα οι μελέτες βιοδιαθεσιμότητας *in vivo*, σε ανθρώπους ή ζωικά πρότυπα, ή *in vitro* ή *in situ*, σε κυτταρικό επίπεδο ή σε συστήματα που μιμούνται ολόκληρο ή τμήμα του γαστρεντερικού συστήματος, που έχουν πραγματοποιηθεί επικεντρώνονταν κυρίως στα φλαβονοειδή. Αφορούν κυρίως στον μεταβολισμό αυτών των ουσιών μέσα στον οργανισμό, ή σε διάφορα όργανα, στον τρόπο αποβολής τους, στην κινητική τους και στα επίπεδα που έφταναν τόσο στο αίμα όσο και σε άλλα βιολογικά υγρά και όργανα-ιστούς του σώματος. Τα *in situ* πειράματα βασίζονται στη διαπότιση ενός τμήματος του γαστρεντερικού σωλήνα με ένα διάλυμα της υπό εξέταση ουσίας και στον μετέπειτα υπολογισμό της ποσότητας εκείνης που έχει προσληφθεί από το επιθήλιο. Μπορεί να υπερτερούν από τα *in vitro* πειράματα καθώς προσομοιάζουν καλύτερα στις *in vivo* συνθήκες, ωστόσο μειονεκτούν στο γεγονός ότι δεν μπορεί να εκτιμηθεί η πιθανότητα βιομετατροπής της ουσίας.

Ο χρόνος (T_{max}) όπου εμφανίζεται η μέγιστη συγκέντρωση (C_{max}) ποικίλλει ανάλογα με το συστατικό και την πηγή από την οποία προέρχεται. Η πηγή επίσης φαίνεται να επηρεάζει και τη συγκέντρωση του στα βιολογικά δείγματα και το ποσοστό απορρόφησής του. Αναφορικά με την εκτίμηση της κατανομής των πολυφαινολών στους διάφορους ιστούς τα ευρήματα είναι πολύ λίγα ακόμα και σε ζωικά πρότυπα.

3.5 Δοκιμές δραστικότητας των συστατικών της σταφίδας *in vitro*

Στο Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου έχουν διεξαχθεί αρκετές *in vitro* μελέτες σε εκχυλίσματα Κορινθιακής σταφίδας. Μελέτη από τους Kaliora et al. (2009) έδειξε την ικανότητα εκχυλισμάτων

Κορινθιακής σταφίδας 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 συστατικά.

Θετική υπήρξε επίσης η επίδραση εκχυλίσματος Κορινθιακής σταφίδας στην ανάπτυξη γαστρικού καρκίνου *in vitro*, αναστέλλοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγοντας την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων. Ακόμη, παρατηρήθηκε μείωση στο mRNA και στα πρωτεϊνικά επίπεδα του ICAM-1 (Kalliora et al., 2008). Αντίστοιχα, εκχυλίσματα σταφίδας φάνηκε να καταστέλλουν 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).

Τέλος, 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) αναστέλλουν την ανάπτυξη βακτηρίων (*Streptococcus mutans* και *Porphyromonas gingivalis*) που επάγουν την τερηδόνα και την περιοδοντική νόσο (Rivero-Cruz et al., 2008).

3.6 Δοκιμές με σταφίδα *in vivo*

Πέραν των *in vitro* μελετών, έχουν επίσης πραγματοποιηθεί και αρκετές *in vivo* μελέτες. Στη μελέτη των Yanni et al. (2015) εξετάστηκε αν η χορήγηση Κορινθιακής σταφίδας συμπληρωματικά μπορεί να μειώσει την αθηροσκλήρωση και να επηρεάσει το φαινολικό περιεχόμενο πλάσματος κατά τη διάρκεια παρατεταμένης υπερχοληστερολαιμίας σε κουνέλια. Σε 30 κουνέλια δόθηκε μία από τις τέσσερις δίαιτες (κανονική, με 10% σταφίδες, με 0,5% χοληστερόλη και συνδυασμό 0,5% χοληστερόλη και 10% σταφίδες) για 8 εβδομάδες. Όπως ήταν αναμενόμενο, η δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε χοληστερόλη οδήγησε σε υπερχοληστερολαιμία και οξειδωτικό στρες, αυξημένη δραστηριότητα ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST) και σχηματισμό αορτικής και ηπατικής βλάβης. Τα κουνέλια που

κατανάλωναν σταφίδα εμφάνισαν μικρότερες αθηρωματικές βλάβες, διατήρηση της AST εντός του φυσιολογικού εύρους και μειωμένο οξειδωτικό στρες, χωρίς να επηρεαστούν οι συγκεντρώσεις γλυκόζης.

Σε παλαιότερη μελέτη (Jenkins et al., 1981) ο γλυκαιμικός δείκτης της σταφίδας έπειτα από κατανάλωση από 6 υγιείς εθελοντές βρέθηκε 64, κατατάσσοντας τη σταφίδα ως τρόφιμο μέτριου γλυκαιμικού δείκτη. Μια μεταγενέστερη μελέτη (Kim et al., 2008) ανέφερε χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη σε 10 υγιείς εθελοντές (49,4) και 10 προδιαβητικά άτομα (49,6) και μέτριο γλυκαιμικό δείκτη σε 11 αθλούμενα άτομα (62,3). Ωστόσο, σε μια άλλη μελέτη (Oettle et al., 1987) φάνηκε ότι η κατανάλωση σνακ που περιλαμβάνουν σταφίδες μπορεί να συνδέεται με χαμηλότερη ινσουλιναϊκή απόκριση σε σχέση με άλλα σνακ με παρόμοια γλυκαιμική απόκριση. Οι Rankin et al. (2008) ανέφεραν μια ευνοϊκή, αλλά μη στατιστικά σημαντική τάση μείωσης στα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης νηστείας μετά από κατανάλωση σταφίδων για 2 εβδομάδες σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Σε μια άλλη πρόσφατη μελέτη (Esfahani et al., 2014) προσδιορίστηκε ο γλυκαιμικός δείκτης, ο ινσουλιναϊκός δείκτης και η μεταγευματική απόκριση στη σταφίδα σε 10 υγιείς εθελοντές με άσπρο ψωμί ως τρόφιμο αναφοράς. Τα γεύματα με σταφίδες οδήγησαν σε σημαντικά μειωμένη μεταγευματική απόκριση γλυκόζης και ινσουλίνης σε σύγκριση με το λευκό ψωμί ενώ η σταφίδα χαρακτηρίστηκε ως τρόφιμο χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη, γλυκαιμικού φορτίου και ινσουλιναϊκού δείκτη.

Σε μια μεταγευματική διασταυρούμενη κλινική δοκιμή (Anderson et al., 2011a) εξετάστηκε η γλυκαιμική και ινσουλιναϊκή απόκριση μετά από κατανάλωση συνιστώμενων μερίδων σταφίδας, μπανάνας, σταφυλιού Thompson seedless και λευκού ψωμιού σε μαθητές κολλεγίου. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι αποξηραμένα φρούτα, όπως οι σταφίδες, δεν επηρεάζουν αρνητικά την ανοχή στη γλυκόζη σε υγιή άτομα. Σε μια άλλη διασταυρούμενη κλινική δοκιμή (Anderson et al., 2011b, Wilson et al., 2012) αξιολογήθηκε η κατανάλωση σταφίδας ως ένας τρόπος αύξησης της κατανάλωσης φρούτων από ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, καθώς αυτοί τείνουν να έχουν χαμηλή πρόσληψη φρούτων, πιθανώς λόγω ανησυχιών για τον γλυκαιμικό τους έλεγχο. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι σταφίδες μπορούν να ωφελήσουν στον έλεγχο του διαβήτη και να αποτελέσουν μια ελκυστική επιλογή για τη βελτίωση της κατανάλωσης φρούτων σε διαβητικούς ασθενείς. Μια πιο πρόσφατη διασταυρούμενη κλινική δοκιμή πραγματοποιήθηκε σε 15 ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, οι οποίοι κατανάλωσαν 15 g διαθέσιμων υδατανθράκων ή από χουρμάδες ή από

σταφίδες ή από ζάχαρη. Η κατανάλωση και των τριών δεν αύξησε τα επίπεδα γλυκόζης αίματος και δεν φάνηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των σνακ στα επίπεδα γλυκόζης αίματος σε οποιοδήποτε χρονικό σημείο μετά από την κατανάλωσή τους, καθώς επίσης και στην περιοχή κάτω από την καμπύλη των μεταβολών της γλυκόζης στο αίμα (Foshati et al., 2015).

Ορισμένες πρόσφατες καλά-ελεγχόμενες μακροπρόθεσμες κλινικές δοκιμές έχουν δείξει τις ευεργετικές επιδράσεις της σταφίδας σε σύγκριση με τα φρέσκα φρούτα και τα μεταποιημένα σνακ στη βελτίωση της γλυκαιμικής και ινσουλιναιμικής απάντησης, στα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης και στα επίπεδα λιπιδίων και δεικτών φλεγμονής σε υγιή άτομα αλλά και ασθενείς με παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Μελέτη των Puglisi et al. (2008) έδειξε ότι η κατανάλωση σταφίδας από υγιή μεσήλικα άτομα επιδρά στη μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου μέσω μείωσης της συστολικής αρτηριακής πίεσης, της ολικής και LDL χοληστερόλης, όπως επίσης και μέσω μείωσης δεικτών φλεγμονής. Επιπλέον, η προστατευτική αυτή δράση ασκείται και μέσω μείωσης της οξειδωμένης LDL (oxLDL). Σε μια πιο πρόσφατη τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή (Bays et al., 2012a, Anderson et al., 2014) συγκρίθηκε η επίδραση της κατανάλωσης της σταφίδας πριν από κάθε γεύμα (30 g, 3 φορές την ημέρα) σε σχέση με την πρόσληψη ισοθερμιδικών σνακ, όπως κράκερ ή μπισκότα σε 46 υπέρβαρα άτομα με υπεργλυκαιμία για 12 εβδομάδες. Σε σύγκριση με τις αρχικές τιμές, η κατανάλωση σταφίδας μείωσε σημαντικά τη μέση μεταγευματική γλυκόζη και HbA1c κατά 13 mg/dL ($p=0,003$) και 0,12% ($p=0,004$), αντίστοιχα, ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μετά από την κατανάλωση των σνακ. Η πρόσληψη σνακ δεν επηρέασε σημαντικά τη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, ενώ η πρόσληψη σταφίδας συσχετίστηκε με στατιστικά σημαντική μείωση της συστολικής αρτηριακής πίεσης από 6 έως 10,2 mmHg στις 4, 8 και 12 εβδομάδες ($p=0,015$ ως 0,001). Επίσης, η κατανάλωση σταφίδας συσχετίστηκε με σημαντικά μεγαλύτερες αλλαγές στη διαστολική αρτηριακή πίεση αίματος στις 4, 8, και 12 εβδομάδες συγκριτικά με την κατανάλωση των ισοθερμιδικών σνακ ($p<0,05$). Επιπρόσθετα, οι Bays et al. (2015) εξέτασαν την επίδραση της κατανάλωσης μαύρης σταφίδας έναντι εναλλακτικών επεξεργασμένων σνακ για 12 εβδομάδες σε 51 ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Σε σύγκριση με τα επεξεργασμένα σνακ, εκείνοι που κατανάλωναν σταφίδες είχαν στατιστικά σημαντική μείωση κατά 23% στα μεταγευματικά επίπεδα γλυκόζης ($p=0,024$) και σημαντική μείωση κατά 8,7 mmHg στη συστολική αρτηριακή πίεση ($p=0,035$), αλλά καμία σημαντική μείωση στη διαστολική αρτηριακή πίεση.

Σε μια πολύ πρόσφατη μελέτη (Kaliora et al., 2016), 55 ασθενείς με μη αλκοολική λιπώδη διήθηση ήπατος (NAFLD) με μη σημαντική ίνωση χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ισοθερμιδικές διαιτητικές θεραπείες για 24 εβδομάδες που περιελάμβαναν είτε διατροφικές συμβουλές είτε διατροφικές συμβουλές μαζί με κατανάλωση Κορινθιακής σταφίδας (δύο μερίδες φρούτου, 36 g/ημέρα). Στους ασθενείς που κατανάλωναν σταφίδα παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων γλυκόζης νηστείας και IL-6, καθώς και βελτίωση της υπερηχογραφικής απεικόνισης, προτείνοντας μια αποτελεσματική στρατηγική για τη θεραπεία ασθενών με NAFLD χωρίς σημαντική ίνωση.

Οι Puglisi et al. (2009) εξέτασαν την επίδραση της κατανάλωσης σταφίδας, της αύξησης στα βήματα, ή συνδυασμού αυτών των παρεμβάσεων στις ορμόνες που επηρεάζουν τον κορεσμό, δηλαδή της γκρελίνης και της λεπτίνης και παρατήρησαν μια σημαντική αύξηση και στις δύο ορμόνες και για τις δύο ομάδες που κατανάλωναν σταφίδες. Αυτά τα στοιχεία υποδηλώνουν ότι η κατανάλωση σταφίδας μπορεί να μειώσει την πείνα και να επηρεάσει τη διατροφική πρόσληψη, μεταβάλλοντας τις ορμόνες που επηρεάζουν τον κορεσμό. Επιπλέον, προκαταρκτικά αποτελέσματα από μελέτη εκτίμησης της όρεξης μετά από κατανάλωση σνακ με σταφίδες σε σύγκριση με άλλα σνακ, όπως τσιπς δείχνουν ότι οι σταφίδες συνδέονται με αύξηση του αισθήματος κορεσμού και μειωμένη κατανάλωση τροφής κατά τη διάρκεια μιας περιόδου 8 ωρών, με πιθανά οφέλη στη ρύθμιση του σωματικού βάρους (Patel et al., 2011).

Τέλος, με στόχο την αξιολόγηση της επίδρασης της κατανάλωσης σταφίδας στη μείωση του pH του στόματος, οι Utreja et al. (2009) πραγματοποίησαν μια τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη σε 20 παιδιά 7-11 ετών. Μετά από την κατανάλωση της σταφίδας ή δημητριακών με σταφίδες, το pH της οδοντικής πλάκας παρέμεινε πάνω από 6 και ως εκ τούτου ποτέ δεν έφτασε στο κρίσιμο σημείο 5,5, που πιστεύεται ότι είναι απαραίτητο για την απομεταλλοποίηση του σμάλτου. Επιπλέον, σημειώθηκε ότι οι σταφίδες βοήθησαν στον καθαρισμό των νιφάδων των δημητριακών από το στόμα, τρώσιμο το οποίο φάνηκε επιβαρυντικό για την υγεία του στόματος.

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας Διδακτορικής διατριβής ήταν η μελέτη των πιθανών ευεργετικών επιδράσεων της ένταξης στη Δυτικού τύπου διατροφή του σύγχρονου καταναλωτή ενός παραδοσιακού τροφίμου, της Κορινθιακής σταφίδας.

Για να επιτευχθεί ο ερευνητικός στόχος σχεδιάστηκαν και υλοποιήθηκαν πέντε μελέτες. Καθώς οι ευεργετικές δράσεις των φρούτων και των λαχανικών αποδίδονται εν μέρει στο περιεχομένό τους σε φυτοχημικά συστατικά, αρχικά, προσδιορίστηκε η βιοδιαθεσιμότητα των φυτοχημικών συστατικών της σταφίδας και εκτιμήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού ύστερα από πρόσληψη από υγιείς εθελοντές.

Σε επόμενο στάδιο, εκτιμήθηκε η γλυκαιμική και ινσουλιναμική απόκριση μετά από κατανάλωση σταφίδας σε υγιείς εθελοντές και σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και υπολογίστηκε ο γλυκαιμικός δείκτης και το γλυκαιμικό φορτίο του τροφίμου.

Επιπλέον, εξετάστηκε η επίδραση της κατανάλωσης σταφίδας στα ανθρωπομετρικά και κλινικά χαρακτηριστικά καθώς και σε δείκτες οξειδωτικού στρες και φλεγμονής σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.

Επίσης, μελετήθηκε η επίδραση της τροποποίησης της διατροφής με Κορινθιακή σταφίδα σε δείκτες οξειδωτικού στρες, φλεγμονής και ενδοθηλιακής λειτουργίας σε φαινομενικά υγιείς καπνιστές που παρουσίαζαν χαμηλή υιοθέτηση του Μεσογειακού προτύπου διατροφής.

Τέλος, εξετάστηκε η επίδραση της κατανάλωσης Κορινθιακής σταφίδας στα επίπεδα ορμονών που σχετίζονται με την όρεξη, όπως η γκρελίνη, το GIP, το GLP-1, η απελίνη και η ομπεστατίνη. Η σταφίδα, ως ένα τρόφιμο που περιέχει ίση αναλογία φρουκτόζης και γλυκόζης, συγκρίθηκε με αντίστοιχη ποσότητα γλυκόζης σε 10 υγιείς εθελοντές.

Τελικός στόχος ήταν η ανάδειξη του παραδοσιακού αυτού τροφίμου ως διατροφικού παράγοντα που μπορεί να συμβάλλει στη διαμόρφωση ενός πιο υγιεινού μοντέλου διατροφής από καταναλωτές των οποίων η ημερήσια κατανάλωση φρούτων και λαχανικών απέχει από τις συστάσεις ή/και βρίσκονται σε κίνδυνο να αναπτύξουν καρδιαγγειακή νόσο.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΒΙΟΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΗΣ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΑΠΟ ΥΓΙΕΙΣ ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ

4.1 Σκοπός

Στόχος της μελέτης ήταν η διερεύνηση της βιοδιαθεσιμότητας των επιμέρους φυτοχημικών συστατικών της Κορινθιακής σταφίδας στο αίμα υγιών εθελοντών καθώς και η εκτίμηση της μεταγευματικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού και η συσχέτισή της με το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο ή τα επιμέρους φαινολικά συστατικά μετά από την κατανάλωση Κορινθιακής σταφίδας.

4.2 Δείγμα

Δεκαπέντε φαινομενικά υγιή άτομα, ηλικίας μεταξύ 20 και 40 ετών αποτέλεσαν το δείγμα της μελέτης. Το δείγμα θεωρήθηκε ικανό να οδηγήσει στην εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων με βάση άλλες μελέτες βιοδιαθεσιμότητας.

Αρχικά, εκτιμήθηκε η κατάσταση της υγείας των εθελοντών μέσω της συμπλήρωσης ερωτηματολογίου ιατρικού ιστορικού, φυσικής εξέτασης και μετρήσεων βιοχημικών και αιματολογικών δεικτών, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί ότι όλα τα άτομα που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη ήταν υγιή.

Κριτήρια αποκλεισμού για τη συμμετοχή στη μελέτη ήταν:

- $\Delta\text{ΜΣ} > 25 \text{ kg/m}^2$
- κατάχρηση αλκοόλ ή χρήση ναρκωτικών ουσιών
- κατανάλωση οποιουδήποτε φαρμάκου ή συμπληρώματος διατροφής
- ειδική διατροφή (χορτοφαγική, μακροβιοτική) πριν από τη μελέτη
- ύπαρξη ή κλινικά στοιχεία ύπαρξης οποιασδήποτε γαστρεντερικής νόσου, όπως φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, γαστρικό έλκος και καρκίνος

Μετά από πλήρη ενημέρωση των εθελοντών σχετικά με το πρωτόκολλο ζητήθηκε η γραπτή τους συγκατάθεση.

4.3 Σχεδιασμός μελέτης

Ο σχεδιασμός της μελέτης και το ερευνητικό πρωτόκολλο εγκρίθηκαν από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Οι εθελοντές μετά από 12ωρη ολονύκτια νηστεία, προσήλθαν στο Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων και υποβλήθηκαν στην παρακάτω διαδικασία. Αρχικά, ελήφθη δείγμα αίματος πριν από την κατανάλωση του υπό εξέταση τροφίμου (χρόνος 0). Στη συνέχεια, ο κάθε εθελοντής κλήθηκε να καταναλώσει ποσότητα σταφίδων ίση με 8 ισοδύναμα φρούτου (144 g). Ακολούθησε συλλογή δειγμάτων αίματος σε χρόνους 1, 2, 3 και 4 h μετά από την κατανάλωση του τροφίμου. Αμέσως μετά από τη λήψη του αίματος, απομονώθηκε πλάσμα και ορός ύστερα από φυγοκέντρηση των δειγμάτων στις 3.000 rpm για 10 min στους 4°C. Όλα τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι την ανάλυσή τους. Κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας, οι συμμετέχοντες δεν επιτρεπόταν να καταναλώσουν οποιοδήποτε φαγητό ή ποτό εκτός από νερό.

4.4 Προσδιορισμός της αντίστασης του ορού στην οξειδωση

Αντιδραστήρια

Διάλυμα stock CuSO_4 20mM: Ζυγίζονται 0,0125 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (MW=249,68) και διαλύονται σε 2,5 mL απιονισμένου H_2O . Το διάλυμα φυλάσσεται σε σκουρόχρωμη φιάλη σε θερμοκρασία δωματίου.

Διάλυμα εργασίας CuSO_4 200μM: Αραιώνεται 1:100 το stock διάλυμα CuSO_4 με απιονισμένο H_2O . Δηλαδή λαμβάνονται 20 μL και αραιώνεται με απιονισμένο H_2O έως όγκο 1980 μL.

Διάλυμα PBS: Σε 1000 mL απιονισμένου H_2O διαλύονται 9 g NaCl, 0,9076 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,2408 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ και ρυθμίζεται το pH στο 7,4.

Αρχή μεθόδου

Η μέτρηση της *in vitro* οξείδωσης του ορού που προκαλείται από ιόντα Cu^{2+} , βασίζεται στη συνεχή καταγραφή της απορρόφησης στα 245 nm. Η απορρόφηση σε αυτό το μήκος κύματος οφείλεται κυρίως στα συζυγή διένια των υδροπεροξειδίων και κατά μικρότερο βαθμό σε άλλες ενώσεις όπως συζυγή διένια υδροξειδίων, που παράγονται κατά την οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων που απαντούν στις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος, όταν προστίθενται ιόντα Cu^{2+} .

Καταγράφοντας την απορρόφηση στα 245 nm παρέχεται η δυνατότητα να παρακολουθείται η κινητική της οξείδωσης που λαμβάνει χώρα στον ορό. Η κινητική αυτή είναι περίπλοκη καθώς οι λιποπρωτεΐνες του πλάσματος περιέχουν πληθώρα αντιοξειδωτικών τα οποία οξειδώνονται πρώτα εκδηλώνοντας την αντιοξειδωτική τους δράση. Στο διάστημα της οξείδωσης των αντιοξειδωτικών η απορρόφηση στα 245 nm αυξάνεται ελάχιστα. Ο χρόνος που απαιτείται για να οξειδωθούν τα αντιοξειδωτικά καλείται χρόνος λανθάνουσας φάσης και αποτελεί μέτρο της αντίστασης του ορού στην οξείδωση και το αποτέλεσμα εκφράζεται ως χρόνος αντίστασης του ορού στην οξείδωση (Lag time).

Αναλυτική πορεία

Στα δείγματα ορού που συλλέχθηκαν από την παραπάνω δοκιμασία προκλήθηκε οξείδωση με την προσθήκη θειικού χαλκού, όπως έχει περιγραφεί από τους Aurekkoetxea et al. (2010). Τα δείγματα ορού αραιώνονται σε αναλογία 1:12 με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (διάλυμα PBS) και τοποθετούνται σε πλάκα 96 πηγαδιών. Στον χρόνο μηδέν, στους αραιωμένους ορούς προστίθεται το διάλυμα εργασίας CuSO_4 παρέχοντας τελική συγκέντρωση Cu^{2+} 16μM. Η πλάκα τοποθετείται σε φωτόμετρο ELISA reader και η απορρόφηση μετράται κάθε 3 min επί 3,5 h στους 37°C. Η χαλκο-επαγόμενη οξείδωση των λιπιδίων οδηγεί στον σχηματισμό συζυγών διενίων που απορροφούν στα 245 nm και η αύξηση στην απορρόφηση εκφράζεται συναρτήσει του χρόνου.

4.5 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου στο πλάσμα

Αντιδραστήρια

Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (FC, 2N)

Κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 , 45% w/v)

Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας

Απιονισμένο νερό

Διάλυμα γαλλικού οξέος (GA) μητρικό: Ζυγίζονται 1 mg GA και διαλύονται σε 1 mL μεθανόλης

Μεταφωσφορικό οξύ (MPA) 2M: Ζυγίζονται 16 g MPA και διαλύονται σε 100 mL απιονισμένου νερού

Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) 2M: Ζυγίζονται 80 g NaOH και διαλύονται σε 75% μεθανόλη

Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος HCl 1M

Διάλυμα ακετόνης-νερού 1:1

Αρχή μεθόδου

Πρόκειται για φωτομετρική μέθοδο που βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ενώσεων από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Χρησιμοποιείται για την μέτρηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου χωρίς να γίνεται διάκριση μεταξύ μονομερών, διμερών ή μεγαλύτερων φαινολικών συστατικών. Το κύριο αντιδραστήριο της μεθόδου, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu, είναι διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που σχηματίζονται από φωσφο-μολυβδαινικά ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) και φωσφο-βολφραμικά ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) ετεροπολυμερή οξέα. Τα φαινολικά ιόντα οξειδώνονται με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων. Κατά την οξείδωση των φαινολών, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu ανάγεται προς μίγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου (W_8O_{23}) και του μολυβδαινίου (Mo_8O_{23}). Το σχηματιζόμενο κυανό χρώμα παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 725 nm και είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με διάλυμα Na_2CO_3 .

Αναλυτική πορεία

Σε δοκιμαστικό σωλήνα όγκου 10 mL προστίθενται 0,5 mL πλάσματος και 1 mL HCl 1M. Ακολουθεί ανάδευση για 1 min και επώαση στους 37°C για 30 min. Μετά το τέλος της επώασης προστίθεται 1 mL NaOH 2M και γίνεται ανάδευση για 3 min. Ακολουθεί επώαση για άλλη 0,5 h στους 37°C και προσθήκη 1 mL MPA 2M. Αφού γίνει ανάδευση για 3 min, ακολουθεί φυγοκέντρηση (10 min, 3.000 rpm) και το υπερκείμενο παραλαμβάνεται και φυλάσσεται σε πάγο και στο σκοτάδι. Στο υπόλειμμα προστίθεται 1 mL μίγματος ακετόνης/νερού, γίνεται ανάδευση και φυγοκέντρηση (10 min, 5.000 rpm). Το υπερκείμενο προστίθεται στον σωλήνα με το άλλο υπερκείμενο και ακολουθεί φυγοκέντρηση (6 min, 3.500 rpm). Ακολουθεί η μέτρηση των ολικών πολυφαινολών με το αντιδραστήριο FC.

Σε 200 μ L δείγματος ή νερού (τυφλό) προστίθενται 5 mL νερό και 0,5 mL αντιδραστήριου FC. Το δείγμα αναδεύεται και φυλάσσεται στο σκοτάδι για 3 min. Ακολουθεί η προσθήκη 1 mL κορεσμένου Na_2CO_3 και συμπλήρωση μέχρι όγκου 10 mL με απιονισμένο νερό. Ακολουθεί επώαση για 1 h στο σκοτάδι, τοποθέτηση των δειγμάτων και των προτύπων στην πλάκα και ακολούθως μετράται η απορρόφηση στα 725 nm.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Από το μητρικό διάλυμα γαλλικού οξέος (1 mg/mL) με αρραίωση παρασκευάζεται διάλυμα εργασίας 100 μ g/mL. Από το τελευταίο, όγκοι 0, 50, 100, 150 και 200 μ L, που περιέχουν αντίστοιχα 0, 5, 10, 15 και 20 μ g γαλλικού οξέος, μεταφέρονται σε δοκιμαστικούς σωλήνες όγκου 10 mL. Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $y=f(x)$, όπου x η ποσότητα του γαλλικού οξέος σε μ g και y η απορρόφηση στα 725 nm.

4.6 Προσδιορισμός ουρικού οξέος στον ορό

Η μέτρηση του ουρικού οξέος στον ορό πραγματοποιήθηκε φωτομετρικά χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο kit (Biosis, Athens, Greece) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Αρχή μεθόδου

Παρουσία του ενζύμου ουρικάση το ουρικό οξύ οξειδώνεται και παράγει H_2O_2 . Η αντίδραση του H_2O_2 με φαινολικό παράγωγο και 4-αμινοφαιναζόνη καταλύεται από το ενζύμο υπεροξειδάση (POD) και παράγει έγχρωμο προϊόν το οποίο απορροφά στα 510 nm. Η αύξηση της απορρόφησης είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του ουρικού οξέος στο δείγμα.

Αναλυτική πορεία

Προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα. Στις αντίστοιχες θέσεις στην πλάκα προστίθενται αρχικά 100 μ L διαλύματος εργασίας και 4 μ L αραιωμένου δείγματος ή προτύπου. Ακολουθεί επώαση για 5 min στους 37°C. Μετά από το τέλος της επώασης προστίθενται 100 μ L απιονισμένου νερού και μετράται η απορρόφηση στα 510 nm. Για την έκφραση των αποτελεσμάτων σε mg/dL χρησιμοποιείται ο τύπος $A_{\Delta}/A_{\pi \times 8}$.

4.7 Προσδιορισμός επιμέρους φυτοχημικών συστατικών στο πλάσμα

Αντιδραστήρια

Αιθανόλη αναλυτικής καθαρότητας 90%

Δις απεσταγμένο H_2O

Ένζυμο β-γλουκουρονιδάση

Διάλυμα HCL 1M

Ρυθμιστικό διάλυμα οξικού νατρίου pH 5, 0,1M και φωσφορικού καλίου pH 6,8, 1M

Δύο διαφορετικές μέθοδοι απομόνωσης εφαρμόστηκαν με σκοπό τον προσδιορισμό όσο δυνατόν περισσότερων από τα φυτοχημικά που περιέχονται στο υπό εξέταση τρόφιμο. Η πρώτη μέθοδος περιλαμβάνει την όξινη υδρόλυση των δειγμάτων του πλάσματος, ενώ η δεύτερη περιλαμβάνει την ενζυμική υδρόλυση των δειγμάτων ακολουθούμενη από εκχύλιση στερεάς φάσης.

4.7.1 Όξινη υδρόλυση δειγμάτων πλάσματος

Δείγματα πλάσματος (300 μL) αναμιγνύονται με ίσο όγκο HCl (1M) σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες με πώμα και υφίστανται υδρόλυση με θέρμανση στους 100°C για 30 min. Μετά από την υδρόλυση τα δείγματα αφού ψυχθούν σε θερμοκρασία δωματίου, εκχυλίζονται δύο φορές με τετραπλό όγκο οξικού αιθυλεστέρα και φυγοκεντρούνται (1.800g, 10 min) για να διαχωριστούν τα οργανικά κλάσματα. Η οργανική στιβάδα μεταφέρεται σε φιαλίδια GC, προστίθενται 50 μL εσωτερικού προτύπου (IS), εξατμίζονται μέχρι ξηρού και υποβάλλονται σε παραγωγοποίηση και GC-MS ανάλυση (ενότητα 4.7.3 και 4.7.4).

4.7.2 Ενζυμική υδρόλυση & εκχύλιση στερεάς φάσης δειγμάτων πλάσματος

4.7.2.1 Καθίζηση πρωτεϊνών

Σε 2 erpendorf tubes των 2 mL προστίθεται 0,5 mL πλάσματος στο καθένα. Στη συνέχεια προστίθεται 1,5 mL αιθανόλη και ακολουθεί ανάμειξη με vortex. Ακολουθεί φυγοκέντρηση (5 min, 17.500 rcf, 4°C) και παραλαβή του υπερκειμένου και από τα δύο erpendorf tubes με πιπέτες Paster σε δοκιμαστικό σωλήνα όγκου 10 mL με πώμα. Στη συνέχεια στα erpendorf tubes με το ίζημα των πρωτεϊνών προστίθεται 0,5 mL αιθανόλη, ακολουθεί ανάδευση με vortex και φυγοκέντρηση (5 min, 17.500 rcf, 4°C). Τα υπερκείμενα συλλέγονται στον ίδιο δοκιμαστικό σωλήνα και ακολουθεί εξάτμιση μέχρι ξηρού σε εξατμιστήρα κενού (speedvac) στους $38-40^{\circ}\text{C}$.

4.7.2.2 Ενζυμική υδρόλυση

Το ξηρό υπόλειμμα αναδιαλύεται σε 1 mL ρυθμιστικού διαλύματος 0,1M οξικού νατρίου pH 5 και αναμιγνύεται σε αναδευτήρα για 5 min. Ακολουθεί η προσθήκη ενζύμου β-γλουκουρονιδάσης (4000 units) και το δείγμα επώαζεται στους 37°C για 2 h. Μετά από το τέλος της επώασης προστίθενται 104 μL HCL 1N για να ρυθμιστεί το pH στο 3 και ακολουθεί εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction, SPE).

4.7.2.3 Εκχύλιση στερεάς φάσης

Αντιδραστήρια

Στήλες εκχύλισης στερεάς φάσης, Isolute C-8 (EC), 500 mg, 3 mL

Οξικός αιθυλεστέρας

Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας

Απιονισμένο νερό

Αρχή μεθόδου

Χρησιμοποιείται στερεό προσροφητικό υλικό (SiO_2) και ανάλογα με τις δραστικές ομάδες του προσροφητικού υλικού (χημικά συνδεδεμένες ομάδες) μπορούν να εκτελεσθούν διάφορα είδη εκχυλίσεων (πολικές, μη πολικές, ομοιοπολικές, κατιονανταλλακτικές, και ανιονανταλλακτικές).

Αναλυτική πορεία

Η στήλη C-8 τοποθετείται στη συσκευή SPE. Γίνεται καθαρισμός και ενεργοποίηση της στήλης με τη χρήση οργανικών διαλυτών (3 mL EtOAc και 3 mL MeOH). Ακολουθεί εξισορρόπηση της στήλης με απιονισμένο νερό (5 mL), αφού το δείγμα που θα χρησιμοποιηθεί είναι σε υδατικό διάλυμα. Η στήλη είναι έτοιμη για χρήση όταν το νερό φθάσει οριακά στο προσροφητικό υλικό.

Το δείγμα τοποθετείται στη στήλη πάνω από σωλήνα συλλογής. Αφήνεται να διέλθει εξ ολοκλήρου από τη στήλη. Εφαρμόζεται στη συσκευή κενό μέσω αντλίας ξήρανσης ώστε να στεγνώσει εντελώς η στήλη και να απομακρυνθούν όλα τα μη προσροφημένα συστατικά. Τοποθετείται νέος σωλήνας συλλογής και προστίθεται μεθανόλη (3 mL) προκειμένου να παραληφθούν τα φαινολικά συστατικά. Η διέλευση της μεθανόλης από τη στήλη γίνεται αρχικά με την επίδραση της βαρύτητας και στη συνέχεια με χρήση κενού (αντλία ξήρανσης). Ακολουθεί συμπύκνωση του διαλύτη σε speed vac, αναδιάλυση του ξηρού υπολείμματος σε 600 μL μεθανόλης και μεταφορά σε φιαλίδια GC. Στη συνέχεια προστίθενται 50 μL εσωτερικού προτύπου (IS), εξάτμιση μέχρι ξηρού σε εξατμιστήρα κενού (speed vac) και παραγωγοποίηση.

4.7.3 Παραγωγοποίηση των δειγμάτων

Αρχή μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στην αύξηση της πτητικότητας και σταθερότητας στην επίδραση υψηλής θερμοκρασίας μέσω της δημιουργίας τριμεθυλοσιλυλαιθέρων με BSTFA παρουσία καταλύτη TMCS

Αναλυτική πορεία

Τα παραπάνω δείγματα παραγωγοποιούνται με προσθήκη BSTFA-TMCS (250 μ L). Ανακινούνται με vortex και επωάζονται για 20 min στους 70°C. Μετά από το τέλος της επώασης τα δείγματα αφήνονται να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου και αναλύονται με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας.

4.7.4 Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση φυτοχημικών συστατικών στα δείγματα και πρότυπα διαλύματα με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS)

Αντιδραστήρια-Όργανα

Αέριος χρωματογράφος-Φασματογράφος μάζας (GC-MS)

Αέριο ήλιο

Τριχοειδής στήλη HP-5 MS (5% φαίνυλο- 95% μέθυλο-σιλοξάνιο, 30 m x 0,25 mm x 250 μ m).

Αρχή μεθόδου

Ο διαχωρισμός των διαφόρων συστατικών επιτυγχάνεται εξαιτίας των διαφόρων δυνάμεων συγκράτησης και έκλουσης ανάμεσα στα συστατικά του δείγματος, το υλικό πλήρωσης της στήλης ή το υλικό κάλυψης του εσωτερικού της στήλης και της ροής του φέροντος αερίου.

Αναλυτική πορεία

Ποσότητα παραγωγοποιημένου δείγματος ίση με 1 μL εγχύεται στον αέριο χρωματογράφο σε λόγο σχάσης 1:20. Το δείγμα διαχωρίζεται με τη χρήση τριχοειδούς στήλης HP-5 MS (5% φαίνυλο- 95% μέθυλο-σιλοξάνιο, 30 m x 0,25 mm x 250 μm). Ως φέρον αέριο χρησιμοποιείται το ήλιο με ρυθμό έκχυσης 0,6 mL/min. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα και της γραμμής μεταφοράς ρυθμίζεται στους 280°C και 300°C αντίστοιχα. Το πρόγραμμα της θερμοκρασίας του φούρνου περιγράφεται αναλυτικά στον **Πίνακα 4.1**.

Πίνακας 4.1 Πρόγραμμα θερμοκρασίας φούρνου GC-MS

Αρχική	70°C για 5 min
1η άνοδος	15°C/min μέχρι 130°C
2η άνοδος	4°C/min μέχρι 160°C 160°C για 15 min
3η άνοδος	10°C/min μέχρι 300°C
Τελική	300°C για 15 min

Για τον προσδιορισμό των φυτοχημικών χρησιμοποιείται η μέθοδος επιλεκτικής παρακολούθησης ιόντων (Selective Ion Monitorin-SIM). Ο προσδιορισμός των συστατικών βασίζεται στη παρουσία 2 ή 3 ιόντων για κάθε φαινολικό συστατικό σε χρόνο κατακράτησης $\pm 0,05$ του χρόνου κατακράτησης του αντίστοιχου προτύπου. Το ιόν, στο οποίο βασίζεται ο ποσοτικός προσδιορισμός, συμβολίζεται με T ενώ τα ιόντα που καταγράφονται για την επιβεβαίωση της παρουσίας κάθε πολικής φαινόλης στο δείγμα συμβολίζονται με Q1 και Q2. Τα ιόντα που παρακολουθούνται (T, Q1, Q2) για κάθε ένα από τα 17 φυτοχημικά συστατικά φαίνονται στον **Πίνακα 4.2**.

Πίνακας 4.2 Ιόντα παρακολούθησης (SIM) και χρόνος κατακράτησης (RT) των 17 φυτοχημικών συστατικών που εξετάστηκαν στο πλάσμα των εθελοντών μετά από την κατανάλωση σταφίδας

α/α	Φυτοχημικό συστατικό	RT (min)	T (m/z)	Q (m/z)
1	Βανιλίνη	17,52	194	209
2	Τυροσόλη	18,49	179	267, 282
3	Ομοβανιλική αλκοόλη	23,92	326	267, 311
4	π-Υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	20,28	267	223, 193
5	π-Υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	20,77	252	296, 281
6	Φλωρετικό οξύ	26,73	192	310
7	Βανιλικό οξύ	27,02	297	267, 312
8	Πρωτοκατεχικό οξύ	31,42	193	355, 370
9	3,4-δι-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	32,24	384	267
10	Συρινγγικό οξύ	35,04	327	342, 312
11	Γαλλικό οξύ	36,84	281	458, 443
12	Φερουλικό οξύ	38,91	338	323, 308
13	Καφεϊκό οξύ	39,61	396	219, 381
14	Χρυσίνη	45,53	383	384
15	Ναριγκενίνη	46,39	473	296
16	Καμφερόλη	48,32	559	
17	Κερκετίνη	49,66	647	559, 575
18	Ρεσβερατρόλη	45,14	444	445, 443
19	Κινναμωμικό οξύ	17,68	205	220
20	π-Κουμαρικό οξύ	35,92	308	293, 219
21	Σιναπικό οξύ	40,88	368	353, 338
22	Επικατεχίνη	46,46	368	355, 474
23	Κατεχίνη	46,52	368	355, 474
24	Γενιστεΐνη	46,91	473	
25	Ολεανολικό οξύ	56,49	203	320, 482

Η 3-(4-υδροξυ-φαινυλ)-1-προπανόλη χρησιμοποιείται ως εσωτερικό πρότυπο στο χαρακτηριστικό ιόν m/z 206 και τα προσδιοριστικά 191 και 179. Η ένωση αυτή δεν περιέχεται στα υπό ανάλυση δείγματα και η κορυφή της είναι ευδιάκριτη και ικανή να διαχωρίζεται από τα άλλα συστατικά. Η ποσοτικοποίηση του εσωτερικού προτύπου γίνεται με βάση μία σειρά 9 πρότυπων μιγμάτων των πολυφαινολικών αναλόγων, που περιέχουν την ίδια ποσότητα εσωτερικού προτύπου με τα δείγματα. Δύο πρότυπα ελέγχου (χαμηλό και υψηλό) αναλύονται ανά 10 δείγματα.

4.8 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο SPSS (SPSS for Windows, version 23.0, SPSSInc., Chicago, IL, USA). Αρχικά, εξετάστηκε η κανονικότητα όλων των μεταβλητών χρησιμοποιώντας το Kolmogorov-Smirnov test. Για τη σύγκριση των συγκεντρώσεων των επιμέρους φυτοχημικών, του ολικού φαινολικού περιεχομένου, του αντιοξειδωτικού περιεχομένου στον ορό και του ουρικού οξέος μεταξύ του χρόνου 0 και των χρονικών στιγμών μετά από την κατανάλωση σταφίδας χρησιμοποιήθηκε το repeated measures ANOVA. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ τυπικά σφάλματα. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο $p < 0,05$.

4.9 Αποτελέσματα

4.9.1 Φυτοχημικά συστατικά της Κορινθιακής σταφίδας

Πριν από τη μελέτη βιοδιαθεσιμότητας πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός και ποσοτικοποίηση των φαινολικών συστατικών-στόχων που περιέχονται στο υπό εξέταση τρόφιμο. Συνολικά 25 φυτοχημικά συστατικά προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας GC-MS. Το τερπενοειδές ολεανολικό οξύ φάνηκε να βρίσκεται στην υψηλότερη συγκέντρωση (70,3 mg/100 g τροφίμου) ενώ σε σημαντικές συγκεντρώσεις βρέθηκαν επίσης η καμφερόλη, η χρυσίνη και το βανιλλικό οξύ (**Πίνακας 4.3**).

Πίνακας 4.3 Φυτοχημικά συστατικά που περιέχονται στην Κοριθιακή σταφίδα μετά από ανάλυση με GC-MS (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)

No	Φυτοχημικό συστατικό	Συγκέντρωση (ng/g)
1	Βανιλίνη	97±6,9
2	Τυροσόλη	8,9±0,2
3	Ομοβανιλική αλκοόλη	7,5±0,3
4	π-Υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	33,9±4,1
5	π-Υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	4,9±0,7
6	Φλωρετικό οξύ	18,0±1,2
7	Βανιλικό οξύ	617,6±66,8
8	Πρωτοκατεχικό οξύ	144,9±9,9
9	3,4-δι-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	3,9±0,4
10	Συρινγγικό οξύ	265,5±35,3
11	Γαλλικό οξύ	115,7±12,2
12	Φερουλικό οξύ	127,3±16,0
13	Καφεϊκό οξύ	182,5±34,2
14	Χρυσίνη	773,6±130,0
15	Ναριγκενίνη	47,9±5,4
16	Καμφερόλη	893,6±114,0
17	Κερκετίνη	563,3±64,5
18	Ρεσβερατρόλη	396,8±82,7
19	Κινναμωμικό οξύ	248,6±13,5
20	π-Κουμαρικό οξύ	144,0±17,8
21	Σιναπικό οξύ	3,0±0,5
22	Επικατεχίνη	120,3±41,7
23	Κατεχίνη	50,0±15,3
24	Γενιστεΐνη	8,7±1,1
25	Ολεανολικό οξύ	702.548±75.357

4.9.2 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο και αντίσταση του ορού στην οξείδωση

Παρατηρήθηκε μια στατιστικά σημαντική αύξηση ($p=0,041$) της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού 1 h μετά από την κατανάλωση Κορινθιακής σταφίδας σε σύγκριση με τον χρόνο 0 ($1630,4\pm172,3$ έναντι $3010,6\pm641$ s). Όμοια, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση ($p=0,05$) στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο 1 h μετά από την κατανάλωση σε σύγκριση με τον χρόνο 0 ($289,9\pm13,5$ έναντι $316,4\pm19,8$ $\mu\text{g GAE/mL}$ πλάσματος). Αντίθετα, τα επίπεδα ουρικού οξέος βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερα 3 και 4 h μετά από την κατανάλωση του τροφίμου σε σύγκριση με τον χρόνο 0 (**Πίνακας 4.4**).

Πίνακας 4.4 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο πλάσματος, αντίσταση του ορού στην χαλκο-επαγόμενη οξείδωση και επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό των εθελοντών πριν και μετά από την κατανάλωση σταφίδων (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)

Χρόνος (h)	Αντίσταση ορού στην οξείδωση (s)	Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (μg GAE/mL)	Ουρικό οξύ (μg/mL)
0	1630,4±172,3	289,9±13,5	46,6±4,2
1	3010,6±641,0*	316,4±19,8*	46,0±3,8
2	2215,8±541,9	296,2±22,6	52,8±4,1
3	1932,5±382,3	307,7±20,3	59,7±5,3*
4	2378,0±558,9	309,3±20,9	54,7±5,1*

*Στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τον χρόνο 0, $p < 0,05$

4.9.3 Ποσοτικός προσδιορισμός επιμέρους φυτοχημικών συστατικών στο πλάσμα

Δεδομένου ότι η μέθοδος μέτρησης του ολικού φαινολικού περιεχομένου στο πλάσμα θεωρείται λιγότερο ακριβής και δεν μπορεί να δώσει αξιόπιστες ενδείξεις σχετικά με την πραγματική απορρόφηση των φαινολικών ενώσεων, ποσοτικοποιήθηκαν τα επιμέρους φυτοχημικά συστατικά στο πλάσμα των εθελοντών. Δεκαεπτά φυτοχημικά συστατικά (16 φαινολικά και το ολεανολικό οξύ) προσδιορίστηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν στα δείγματα πλάσματος με GC-MS. Στον **Πίνακα 4.5** παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις (ng/mL) των φυτοχημικών συστατικών-στόχων στο πλάσμα στα διαδοχικά χρονικά διαστήματα. Η βανιλίνη, η τυροσόλη και το π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ ανιχνεύθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν μετά από όξινη υδρόλυση των δειγμάτων πλάσματος, ενώ όλες οι άλλες ενώσεις ανιχνεύθηκαν μετά από ενζυμική υδρόλυση και εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE). Το π-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ, το βανιλικό οξύ, το πρωτοκατεχικό οξύ, το συριγγικό οξύ, το γαλλικό οξύ, το φλωρετικό οξύ, το φερουλικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, η χρυσίνη, η καμφερόλη, η κερκετίνη, η ναριγκενίνη και η βανιλίνη έφτασαν τη μέγιστη συγκέντρωσή τους 1 h μετά από την κατανάλωση της σταφίδας. Η τυροσόλη έφτασε σε μέγιστο επίπεδο 2 h μετά από την κατανάλωση, ενώ το π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ, το 3,4-δι-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ και το ολεανολικό οξύ 4 h μετά από την κατανάλωση σταφίδας. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων δεν έδειξε καμία σημαντική διαφορά μεταξύ των χρονικών στιγμών για κανένα από τα φυτοχημικά συστατικά που προσδιορίστηκαν.

Πίνακας 4.5 Ποσοτικός προσδιορισμός φυτοχημικών συστατικών σε πλάσμα των εθελοντών (n=15) μετά από κατανάλωση Κορινθιακής σταφίδας (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)

α/α	Φυτοχημικό συστατικό (ng/mL)	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h
1	Βανιλίνη	4,8±0,4	4,9±0,4	3,2±0,4	4,3±0,4	4,2±0,5
2	Τυροσόλη	0,6±0,2	0,6±0,2	1,1±0,6	0,6±0,1	0,5±0,1
3	π-υδροξυ-Βενζοϊκό οξύ	119,7±59	90,9±31,7	111±39,3	95,2±34,3	151±63,4
4	π-υδροξυ-Φαινυλοξικό	219,3±49,2	223,3±49,7	176±44,1	198,3±44,8	222,7±53
5	Βανιλλικό οξύ	42,6±8,6	48,6±10,2	37,6±7,9	40,6±8,3	44,2±9,7
6	Πρωτοκατεχικό οξύ	118,6±27	122±27,4	91,5±22,8	104,8±24,2	118,2±29,4
7	Συριγγικό οξύ	12,5±2,7	16,5±3,8	11,6±2,6	12,3±2,6	13,3±3
8	Γαλλικό οξύ	7,7±2,3	10,3±4,5	3,1±0,8	3±0,8	4,1±1,2
9	3,4-δι-υδροξυ-Φαινυλοξικό οξύ	34,2±8,5	37,5±9,3	27,6±7,6	31,7±7,9	39,3±11,9
10	Φλωρετικό οξύ	60,4 ±13,3	60,7±13	48±11,5	56,4±12,6	58,9±13,6
11	Φερουλικό οξύ	12,5±2,5	15,9±3,6	10,7±2	9,2±1,6	14,3±4,3
12	Καφεϊκό οξύ	64,8±16,4	96,2±36,5	56,8±15,8	41,6±8,5	95,9±53,4
13	Χρυσίνη	61,7±5,4	67,6±7,2	59,9±3,9	52,9±8,2	62,9±7,9
14	Καμφερόλη	55,2±11,9	60,0±14,0	58,7±14,9	51,6±11,3	51,9±11,8
15	Κερκετίνη	44,4±7,1	46,6±8,3	45,1±8,8	41,3±6,7	42,9±6,8
16	Ναριγκενίνη	30,6±3,9	31,0±5,5	27,5±4,7	23,8±3,7	25±3,2
17	Ολεανολικό οξύ	7,8±1,8	10,6±2,5	10,7±1,9	10,3±1,5	24,4±14,4

4.10 Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη φάνηκε ότι η κατανάλωση Κορινθιακής σταφίδας οδήγησε σε αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού κατά τη μεταγευματική κατάσταση. Τα διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με το περιεχόμενο της σταφίδας σε φυτοχημικά συστατικά δείχνουν ότι οι φαινολικές ενώσεις είναι παρούσες σε υψηλότερες συγκεντρώσεις σε σύγκριση με αυτές που υπάρχουν στα φρέσκα ομόλογά της, δηλαδή τα σταφύλια. Συγκεκριμένα στις σταφίδες οι φαινολικές ενώσεις εκτιμώνται στα 217,4-354,2 mg GAE/g (Chiou et al., 2007) έναντι 21,5-177,3 mg GAE/g στα νωπά σταφύλια (Bunea et al., 2012) που αντιστοιχεί στην ποσότητα των 144 g σταφίδας. Στην παρούσα μελέτη, η αύξηση της αντίστασης του ορού στην οξείδωση συσχετίστηκε με αύξηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου στο πλάσμα αίματος. Η ιδιότητα των πολυφαινολών να αυξάνουν την αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος είναι υπό αμφισβήτηση, καθώς οι κυκλοφορούσες φυσιολογικές συγκεντρώσεις δεν υπερβαίνουν τα 'ng' σε συγκεντρώσεις. Επομένως, η πραγματική συμβολή τους στη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος φαίνεται να είναι ελάχιστη και είναι πολύ πιθανό ότι η αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας είναι ένα επιφανόμενο της κατανάλωσης πολυφαινολών και όχι μια άμεση επίδραση (Chiva-Blanch & Visioli, 2012). Μια εξήγηση αυτής της αύξησης, για παράδειγμα, μπορεί να είναι ότι επάγεται η αύξηση άλλων ενδογενών αντιοξειδωτικών παραγόντων. Το ουρικό οξύ θα μπορούσε έμμεσα να συνδέεται με το αυξημένο αντιοξειδωτικό δυναμικό του ορού, καθώς όπως είναι γνωστό η φρουκτόζη αυξάνει τα επίπεδα ουρικού οξέος στο αίμα λόγω του ταχέως μεταβολισμού της σε 1-φωσφορική φρουκτόζη με τη δράση της φρουκτοκινάσης (Angelopoulos et al., 2009), οδηγώντας σε μείωση του ηπατικού ATP και των ανόργανων φωσφορικών και συνεπώς στον καταβολισμό του AMP σε ουρικό οξύ, εντός ολίγων λεπτών από την έγχυση φρουκτόζης. Επιπλέον, επιταχύνεται η *de novo* σύνθεση πουρινών, ενισχύοντας περαιτέρω την παραγωγή ουρικού οξέος. Σε κάποιες μελέτες, παρουσιάζεται σαφής αύξηση των επιπέδων μεμονωμένων αντιοξειδωτικών του πλάσματος, όπως η λουτεΐνη, η α-τοκοφερόλη και τα καροτενοειδή μετά από την πρόσληψη τροφής, χωρίς ωστόσο να αναδεικνύεται αντίστοιχη αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος (Schirrmacher et al., 2010). Εφόσον το πλάσμα περιέχει επίσης μεγάλες ποσότητες ουρικού οξέος, η εν λόγω αντιοξειδωτική ουσία μπορεί να έχει τη μέγιστη συμβολή στην αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος σε υδρόφιλα συστήματα. Προκειμένου να ελεγχθεί αν το ουρικό οξύ είναι συγχυτικός παράγοντας,

μετρήθηκαν τα επίπεδα του ουρικού οξέος πριν και 1, 2, 3 και 4 h μετά από την κατανάλωση σταφίδας. Η αύξηση του ουρικού οξέος σημειώθηκε 3 και 4 h μεταγευματικά, αλλά όχι τη χρονική στιγμή που παρατηρήθηκε η μέγιστη τιμή αντίστασης του ορού στην οξείδωση, δηλαδή 1 h μεταγευματικά (**Πίνακας 4.4**). Συνεπώς, παρατηρήθηκε έλλειψη συσχέτισης μεταξύ της αύξησης του αντιοξειδωτικού δυναμικού του ορού και της αύξησης του ουρικού οξέος (0,107, $p=0,769$). Ωστόσο, κι άλλες ουσίες του ενδογενούς αντιοξειδωτικού οπλοστάσιου μπορεί να αυξηθούν παρουσία βιοδιαθέσιμων φυτοχημικών. Εκτός από φαινολικά συστατικά, η σταφίδα περιέχει επίσης βιταμίνη C, που έχει αντιοξειδωτική δράση. Ωστόσο, το περιεχόμενο της Κορινθιακής σταφίδας είναι περίπου 100 φορές χαμηλότερο από το αντίστοιχο που υπάρχει στο φρέσκο ομόλογό της (2,16 mg/g στο αποξηραμένο φρούτο έναντι 260,6 mg στο νωπό σταφύλι σε ποσότητα 144 g) (USDA) και συνεπώς δεν αναμένεται να συμβάλλει στο αντιοξειδωτικό δυναμικό του ορού. Αν και οι *in vivo* δοκιμασίες οξείδωσης δεν είναι πλήρως αξιόπιστες όσον αφορά την αντιοξειδωτική συμβολή των πολυφαινολών (Chiva-Blanch & Visioli, 2012, Niki, 2011), και η αντιοξειδωτική δράση τους σε κάποιο βαθμό αμφισβητείται (Niki, 2012), αυτές οι ενώσεις θεωρείται πως παρουσιάζουν ένα εύρος πρόσθετων διαφορετικών βιολογικών δραστηριοτήτων, όπως είναι η ρύθμιση της μικροχλωρίδας του εντέρου. Για τον λόγο αυτό, η έρευνα της απορρόφησης και της βιοδιαθεσιμότητας των πολυφαινολών στο πλάσμα παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Όπως φαίνεται, η Κορινθιακή σταφίδα έχει περιεχόμενο πλούσιο σε φαινολικές ενώσεις. Σε συμφωνία με προηγούμενα δημοσιευμένα δεδομένα (Chiou et al., 2007), βρέθηκαν σημαντικές ποσότητες βανιλλικού οξέος, πρωτοκατεχικού οξέος, συριγγικού οξέος, π-κουμαρικού οξέος, γαλλικού οξέος, φερουλικού οξέος, καφεϊκού οξέος και κερκετίνης (**Πίνακας 4.3**). Το φλαβονοειδές χρυσίνη ανιχνεύθηκε επίσης στην παρούσα μελέτη. Δεκαεπτά από τα 25 φυτοχημικά που υπάρχουν στην Κορινθιακή σταφίδα βρέθηκαν να αυξάνουν στο πλάσμα μετά από την κατανάλωση σταφίδας, παρέχοντας στοιχεία για την απορρόφηση και βιοδιαθεσιμότητά τους (**Πίνακας 4.5**). Η κινητική των διαφόρων ενώσεων διέφερε κι ενώ η πλειονότητα των ενώσεων παρουσίαζε υψηλότερες συγκεντρώσεις στο πλάσμα 1 h μετά από την κατανάλωση, η συγκέντρωση μερικών εξ αυτών κορυφώθηκε σε 2-4 h μεταγευματικά (**Πίνακας 4.5**). Στις περισσότερες μελέτες βιοδιαθεσιμότητας, τα φαινολικά αντιοξειδωτικά απελευθερώνονται από τα υποστρώματα τροφίμων με χαμηλή πολυπλοκότητα και η τιμή των φαινολικών συστατικών στο πλάσμα και της αντιοξειδωτικής ικανότητάς του κορυφώνεται 1 h μετά από τη λήψη. Ωστόσο, όταν είναι παρούσες και φυτικές ίνες στο υπόστρωμα του

τροφίμου, παρατηρείται μεταγενέστερη αύξηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας που οφείλεται στις ίνες που καθυστερούν την απορρόφηση (Pérez-Jiménez et al., 2009). Αυτό θα μπορούσε να εξηγήσει το γεγονός ότι μερικά φαινολικά συστατικά φτάνουν στη μέγιστη τιμή τους και ότι η αντίσταση του ορού στην οξείδωση τείνει να αυξάνει 4 h μετά από την κατανάλωση. Επιπλέον, οι διαφορές στον μεταβολισμό φαινολικών ενώσεων μπορεί να σχετίζονται με τη δομή τους, ενώ μερικές από αυτές που προσδιορίζονται στο πλάσμα είναι μεταβολίτες των μητρικών πολυφαινολών. Για παράδειγμα, το πρωτοκατεχικό οξύ, το π-υδροξυβενζοϊκό οξύ και το 3,4-διϋδροξυφαινυλοξικό οξύ είναι γνωστοί μεταβολίτες των ανθοκυανινών, κατεχινών και флаβονολών αντίστοιχα (Forester & Waterhouse, 2009). Μια δεύτερη αύξηση πολλών φαινολικών ενώσεων στο πλάσμα παρατηρήθηκε 4 h μεταγευματικά, πιθανώς λόγω του εντεροηπατικού κύκλου των φαινολικών ενώσεων που επαναρροφώνται και παραμένουν στο ανθρώπινο σώμα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Ένα άλλο σημαντικό εύρημα της παρούσας μελέτης είναι το υψηλό περιεχόμενο των σταφίδων στο τριτερπενοειδές ολεανολικό οξύ (**Πίνακας 4.3**), που φαίνεται να απορροφάται μετά από την κατανάλωση σταφίδας, φθάνοντας την υψηλότερη συγκέντρωση στο πλάσμα 4 h μεταγευματικά (**Πίνακας 4.5**).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΗ ΚΑΙ ΙΝΣΟΥΛΙΝΑΙΜΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ

5.1 Σκοπός

Η μελέτη σχεδιάστηκε για να αξιολογήσει τη μεταβολική απόκριση μετά από κατανάλωση Κορινθιακής σταφίδας σε υγιείς εθελοντές και σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, καθώς επίσης και να εκτιμήσει για πρώτη φορά τον γλυκαιμικό δείκτη, το γλυκαιμικό φορτίο και τον ινσουλιναιμικό δείκτη της Κορινθιακής σταφίδας.

5.2 Δείγμα

Δεκαπέντε φαινομενικά υγιή άτομα, ηλικίας μεταξύ 20 και 40 ετών, και δεκαπέντε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη. Με βάση προηγούμενες μελέτες που είχαν στόχο την εκτίμηση του γλυκαιμικού δείκτη κάποιου τροφίμου ένα δείγμα 8-10 ατόμων θεωρείται επαρκές για τη διεξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.

Κριτήρια επιλογής για την ένταξη στην ομάδα των υγιών εθελοντών ήταν:

- απουσία ιστορικού δυσανεξίας στη γλυκόζη
- απουσία σακχαρώδη διαβήτη
- απουσία γαστρεντερικών διαταραχών
- μη πρόσφατη χρήση των αντιβιοτικών

Κριτήρια επιλογής για την ένταξη στην ομάδα των ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 ήταν:

- ελάχιστο διάστημα από τη διάγνωση τρία χρόνια
- καλός γλυκαιμικός έλεγχος ($HbA1c < 7\%$)

Μετά από πλήρη ενημέρωση των εθελοντών σχετικά με το πρωτόκολλο ζητήθηκε η γραπτή τους συγκατάθεση.

5.3 Σχεδιασμός μελέτης

Ο σχεδιασμός της μελέτης και το ερευνητικό πρωτόκολλο εγκρίθηκαν από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου. Οι εθελοντές προσέρχονταν στο Διαβητολογικό Εργαστήριο της Α΄ Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών όπου πραγματοποιούνταν οι εξής μετρήσεις: το ύψος χρησιμοποιώντας αναστημόμετρο (Seca 220), το βάρος σε κατάσταση νηστείας νωρίς το πρωί με ελαφριά ρούχα χρησιμοποιώντας ζυγό (Tanita WB -110mA), ενώ υπολογιζόταν ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) μέσω του τύπου $\Delta\text{Μ}\Sigma = \text{βάρος (Kg)} / \text{ύψος}^2 (\text{m}^2)$.

Χρησιμοποιώντας τον τυχαιοποιημένο διασταυρούμενο σχεδιασμό, τα άτομα σε τυχαία σειρά δύο ξεχωριστές ημέρες κατανάλωναν το υπό εξέταση τρόφιμο ή το διάλυμα αναφοράς με ένα ελάχιστο διάστημα τριών ημερών μεταξύ κάθε επίσκεψης. Ανά συνήθη κλινική πρακτική πριν από τη διεξαγωγή δοκιμασίας ανοχής γλυκόζης, τα άτομα καλούνταν να καταναλώσουν τουλάχιστον 150 g υδατανθράκων ανά ημέρα για τρεις ημέρες πριν από τη δοκιμασία. Η επαρκής πρόσληψη υδατανθράκων επιβεβαιωνόταν μέσω ημερολογίων τριήμερης καταγραφής της διαιτητικής πρόσληψης. Επίσης, οι συμμετέχοντες έπρεπε να απέχουν από έντονη άσκηση την προηγούμενη ημέρα κάθε επίσκεψης. Την ημέρα της δοκιμασίας, τα άτομα προσέρχονταν στο εργαστήριο ύστερα από 12ωρη ολονύκτια νηστεία και τοποθετούνταν φλεβοκαθετήρας σε μία φλέβα του βραχίονα. Αρχικά, γινόταν λήψη δείγματος αίματος πριν από την κατανάλωση (χρόνος 0). Στη συνέχεια, ο κάθε εθελοντής καλούνταν να καταναλώσει είτε 50 g γλυκόζης διαλυμένης σε ένα ποτήρι με νερό είτε μια ποσότητα 74 g σταφίδων. Ακολουθούσε συλλογή δειγμάτων αίματος σε χρόνους 30, 60, 90, 120, 150 και 180 min μετά από την κατανάλωση του υπό εξέταση τροφίμου ή του διαλύματος αναφοράς. Αμέσως μετά από τη λήψη του αίματος, γινόταν απομόνωση πλάσματος και ορού ύστερα από φυγοκέντρηση των δειγμάτων στις 3.000 rpm για 10 min στους 4°C. Τα δείγματα ορού χρησιμοποιούνταν άμεσα για τον προσδιορισμό της γλυκόζης, ενώ δείγματα αποθηκεύονταν στους -80°C μέχρι την ανάλυση των επιπέδων ινσουλίνης. Κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας, οι συμμετέχοντες δεν επιτρεπόταν να καταναλώσουν φαγητό ή ποτό.

5.4 Προσδιορισμός επιπέδων γλυκόζης και ινσουλίνης ορού

Ο προσδιορισμός της γλυκόζης ορού γινόταν αμέσως σε αυτόματο αναλυτή μέσω της μεθόδου της οξειδάσης της γλυκόζης στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ. Χρηστέας» της Ιατρικής σχολής του ΕΚΠΑ.

Μέτρηση ινσουλίνης ορού

Η μέτρηση της ινσουλίνης ορού πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (Accubind, Los Angeles, CA, USA) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας, με την ευαισθησία να κυμαίνεται από 0,01-129 $\mu\text{IU/mL}$.

Αρχή μεθόδου

Η μέθοδος περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση υψηλής συγγένειας και ειδικότητας αντισωμάτων με αντιγόνο. Η ακινητοποίηση λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας μέσω της αλληλεπίδρασης της στρεπταβιδίνης που είναι προσδεμένη στην πλάκα με το μονοκλωνικό αντίσωμα. Κατά τη ανάμειξη του μονοκλωνικού αντισώματος δημιουργείται ένα διαλυτό σύμπλοκο αντιγόνου και αντισωμάτων. Ταυτόχρονα, το σύμπλοκο αυτό αποτίθεται στο πηγάδι της πλάκας λόγω της υψηλής συγγένειας της στρεπταβιδίνης και του αντισώματος. Αφού επέλθει ισορροπία, το κλάσμα που είναι δεσμευμένο το αντίσωμα διαχωρίζεται από το μη δεσμευμένο αντιγόνο μέσω απόχυσης ή αναρρόφησης. Η ενζυμική δραστηριότητα του κλάσματος που είναι δεσμευμένο το αντίσωμα είναι ευθέως ανάλογη προς τη συγκέντρωση αντιγόνου.

Αναλυτική πορεία

Αρχικά προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα. Στις αντίστοιχες θέσεις στην πλάκα προστίθενται αρχικά 50 μL προτύπου ή δείγματος και 100 μL από το μείγμα των αντισωμάτων (Insulin Enzyme Reagent). Ακολουθεί επώαση για 2 h σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί απομάκρυνση του υπερκείμενου και ξέπλυμα με το διάλυμα πλύσης ($\times 3$). Μετά από το τελευταίο ξέπλυμα απομακρύνεται κάθε ίχνος υγρασίας

και προστίθενται 100 µL από το υπόστρωμα. Ακολουθεί επώαση για 15 min σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά από το τέλος της επώασης προστίθενται 50 µL διαλύματος τερματισμού της αντίδρασης και μετράται η απορρόφηση στα 450 nm. Για την έκφραση των αποτελεσμάτων σε µIU/mL κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Για την καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιούνται διαλύματα προτύπου ινσουλίνης σε συγκεντρώσεις 300, 100, 50, 25 και 5 µIU/mL. Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $y=f(x)$, όπου x η συγκέντρωση της ινσουλίνης σε µIU/mL και y η απορρόφηση στα 450 nm.

5.5 Εκτίμηση Γλυκαιμικού Δείκτη, Γλυκαιμικού Φορτίου & Ινσουλιναιμικού Δείκτη

Υπολογισμός Εμβαδού κάτω από την καμπύλη (AUC)

Το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη (area under the curve-AUC) τόσο για τη γλυκόζη όσο και για την ινσουλίνη υπολογίστηκε με ολοκλήρωση. Κάθε περιοχή κάτω από τα επίπεδα νηστείας δεν χρησιμοποιήθηκε κατά τους υπολογισμούς.

Υπολογισμός Γλυκαιμικού Δείκτη, Γλυκαιμικού Φορτίου, Ινσουλιναιμικού Δείκτη

Ο Γλυκαιμικός Δείκτης (ΓΔ) της Κορινθιακής σταφίδας υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο τύπο:

$$\Gamma\Delta = \frac{\text{AUC γλυκόζης μετά από κατανάλωση Κορινθιακής σταφίδας}}{\text{AUC γλυκόζης μετά από κατανάλωση τροφίμου αναφοράς}} \times 100$$

Ο Ινσουλιναιμικός Δείκτης (ΙΔ) της Κορινθιακής σταφίδας υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο τύπο:

$$\text{ΙΔ} = \frac{\text{AUC ινσουλίνης μετά από κατανάλωση Κορινθιακής σταφίδας}}{\text{AUC ινσουλίνης μετά από κατανάλωση τροφίμου αναφοράς}} \times 100$$

Το Γλυκαιμικό Φορτίο (ΓΦ) της Κορινθιακής σταφίδας υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο τύπο:

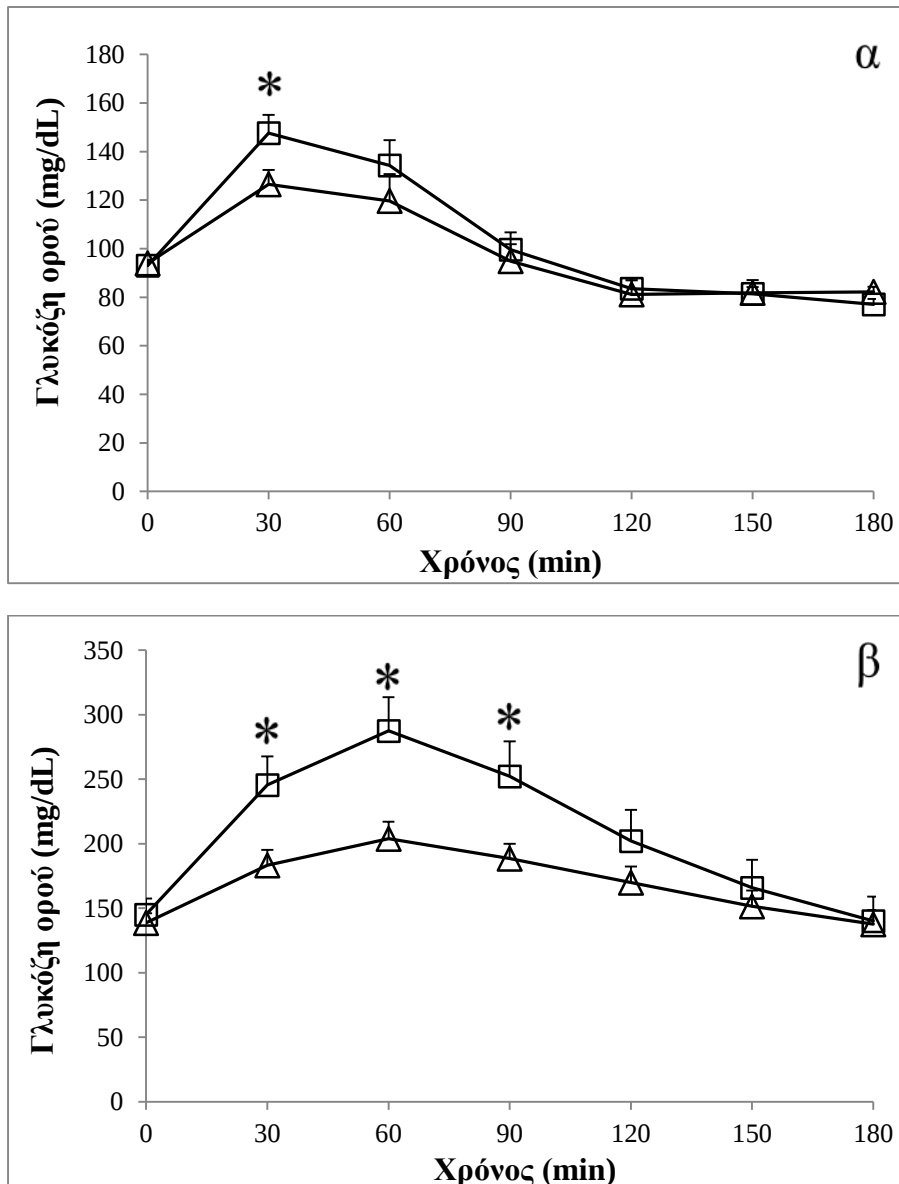
$$\Gamma\Phi = \frac{\Gamma\Delta \times \text{ποσότητα υδατανθράκων (g) που παρέχονται από το τρόφιμο}}{100}$$

5.6 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο SPSS (SPSS for Windows, version 23.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Αρχικά, εξετάστηκε η κανονικότητα όλων των μεταβλητών χρησιμοποιώντας το Kolmogorov-Smirnov test. Για τη σύγκριση των επιπέδων γλυκόζης και ινσουλίνης μεταξύ των χρονικών στιγμών (0-180 min) για κάθε δοκιμασία αλλά και μεταξύ της σταφίδας και του διαλύματος αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το Paired Samples T-test. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο $p<0,05$.

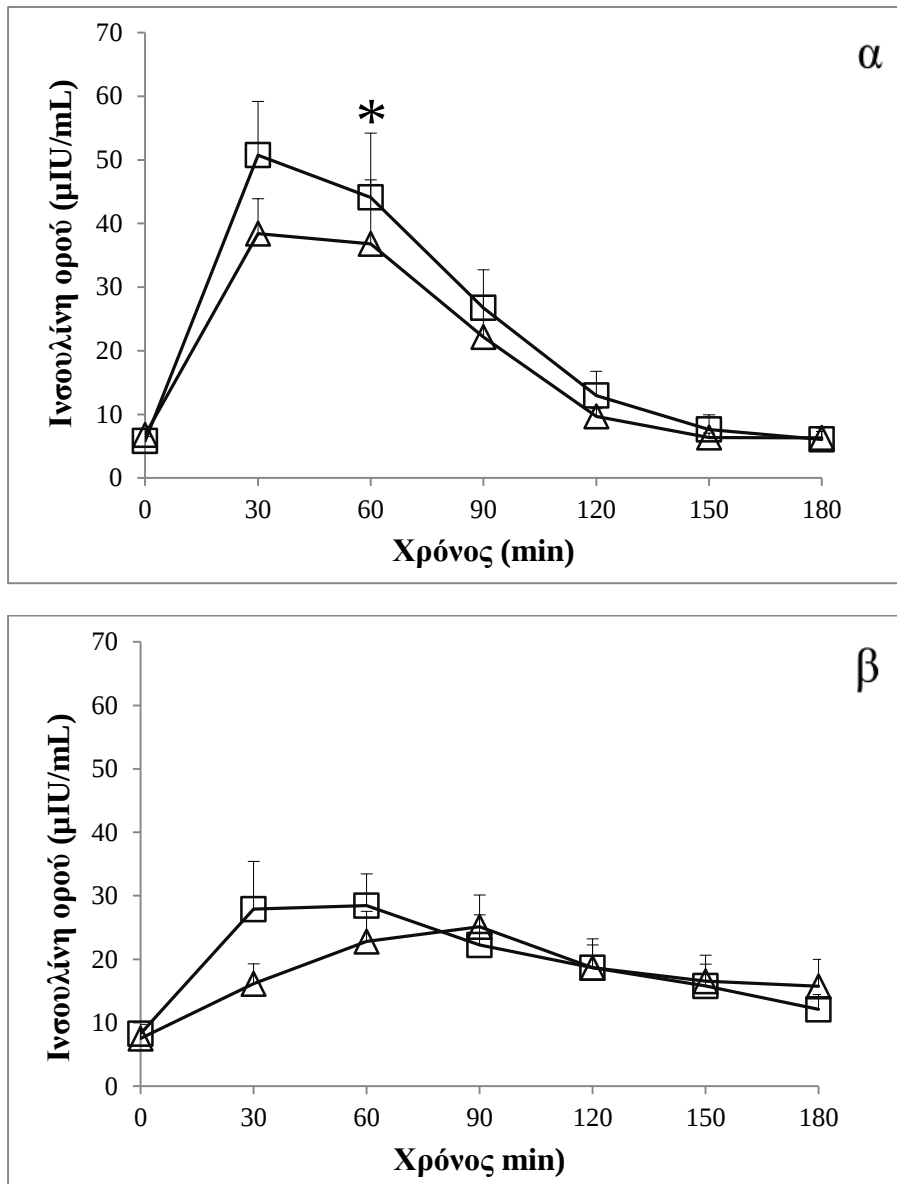
5.7 Αποτελέσματα

Η γλυκόζη ορού κορυφώθηκε σημαντικά μετά από 30 min τόσο για την Κορινθιακή σταφίδα όσο και το διάλυμα αναφοράς στα υγιή άτομα και μετά από 60 min στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (**Σχήμα 5.1**). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα γλυκόζης ορού μεταξύ Κορινθιακής σταφίδας και διαλύματος αναφοράς στις δύο ομάδες στην αρχή της παρέμβασης. Η διαφορά στις μέγιστες τιμές γλυκόζης ορού μεταξύ Κορινθιακής σταφίδας και διαλύματος αναφοράς ήταν στατιστικά σημαντική στους υγιείς εθελοντές ($126,5\pm 7,4$ έναντι $147,6\pm 5,9$ mg/dL, $p=0,002$) και στους ασθενείς με ΣΔ2 ($203,8\pm 13,4$ έναντι $287,5\pm 26$ mg/dL, $p=0,003$).



Σχήμα 5.1 Γλυκόζη ορού (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα) μετά από κατανάλωση σταφίδας (Δ) και διαλύματος αναφοράς (□) σε υγιείς (α) και ασθενείς με ΣΔ2 (β). *Στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p<0,05$) μεταξύ σταφίδας και διαλύματος αναφοράς.

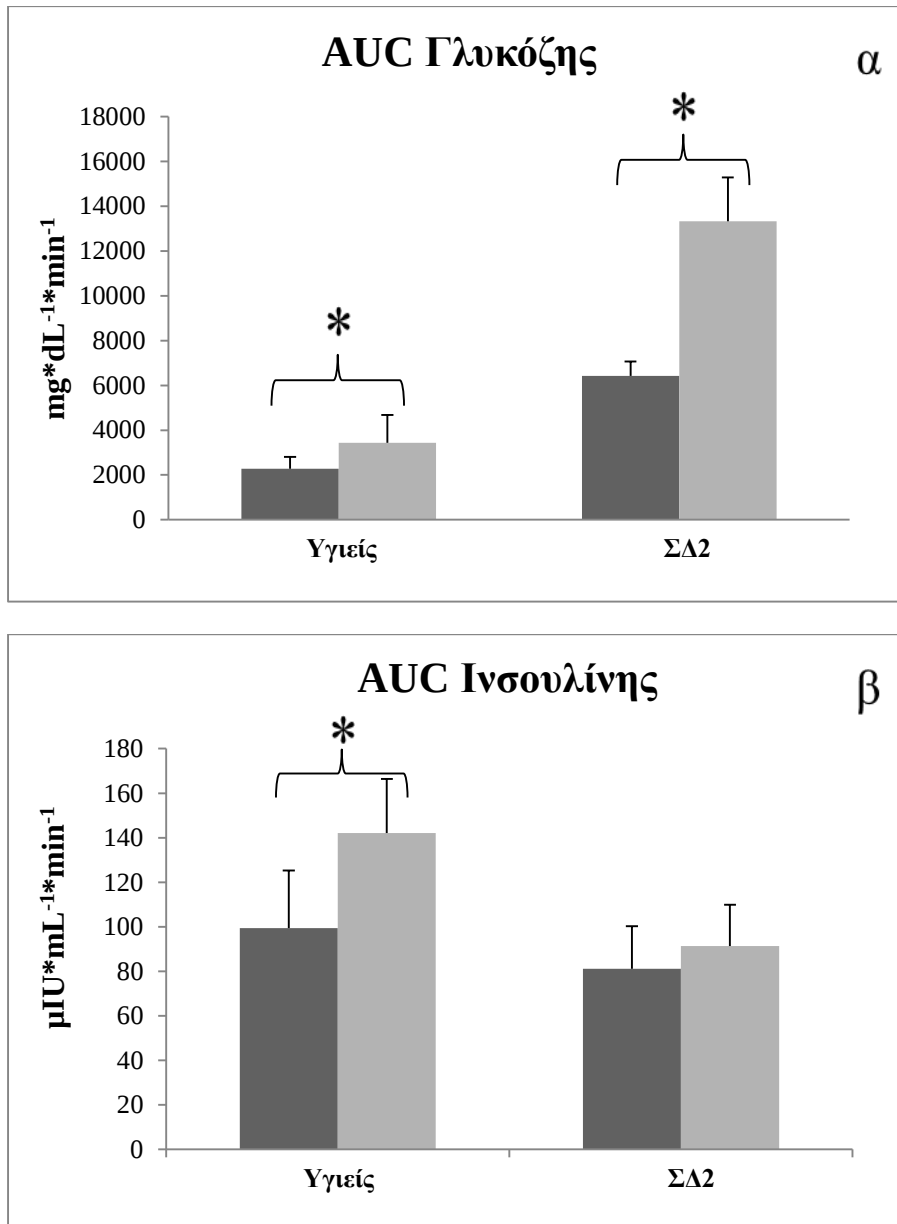
Η ινσουλίνη του ορού κορυφώθηκε 30 min μεταγευματικά στους υγιείς εθελοντές και 90 min μετά από την κατανάλωση στους ασθενείς με ΣΔ2 τόσο για τη σταφίδα όσο και για το διάλυμα αναφοράς (**Σχήμα 5.2**). Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα ινσουλίνης ορού μεταξύ σταφίδας και διαλύματος αναφοράς στις δύο ομάδες στην αρχή της παρέμβασης. Επιπλέον, δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στην ινσουλίνη ορού μεταξύ του υπό εξέταση τροφίμου και του διαλύματος αναφοράς στα 30 min στους υγιείς και στα 90 min στους ασθενείς με ΣΔ2.



Σχήμα 5.2 Ινσουλίνη ορού (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα) μετά από κατανάλωση σταφίδας (Δ) και διαλύματος αναφοράς (□) σε υγιείς (α) και ασθενείς με ΣΔ2 (β). *Στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p<0,05$) μεταξύ σταφίδας και διαλύματος αναφοράς.

Το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη (AUC) για τη γλυκόζη ήταν σημαντικά μικρότερο για την Κορινθιακή σταφίδα σε σχέση με το διάλυμα αναφοράς στα υγιή άτομα ($p=0,05$) και στους ασθενείς με ΣΔ2 ($p=0,002$). Επιπλέον, το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη (AUC) για την ινσουλίνη ήταν σημαντικά χαμηλότερο για την σταφίδα σε σύγκριση με το διάλυμα αναφοράς στους υγιείς εθελοντές ($p=0,022$) (**Σχήμα 5.3**). Παράλληλα, ο γλυκαιμικός δείκτης της Κορινθιακής σταφίδας υπολογίστηκε $66,3\pm3,4$ στους υγιείς και $51,1\pm7,6$ στους ασθενείς με

ΣΔ2. Η εκτίμηση του ινσουλιναϊμικού δείκτη στους υγιείς εθελοντές ήταν $70 \pm 10,3$ και του γλυκαιμικού φορτίου ήταν $8,1 \pm 0,4$ (ανά μερίδα 18 g σταφίδας).



Σχήμα 5.3 Εμβαδόν κάτω από την καμπύλη για τη γλυκόζη (α) και την ινσουλίνη (β) μετά από κατανάλωση σταφίδας ■ και διαλύματος αναφοράς ■ σε υγιείς και ασθενείς με ΣΔ2 (μέσοι όροι $\pm$ τυπικά σφάλματα). * Στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0,05$) μεταξύ σταφίδας και διαλύματος αναφοράς.

5.8 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι η κατανάλωση Κορινθιακής σταφίδας μειώνει την απόκριση στη γλυκόζη και την ινσουλίνη σε υγιή άτομα και σε διαβητικούς ασθενείς, σε σύγκριση με το διάλυμα αναφοράς (διάλυμα γλυκόζης). Όπως είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία η απορρόφηση των σακχάρων φθίνει αυξανόμενης της ηλικίας, γεγονός που είναι εμφανές και από την παρούσα μελέτη όπου παρατηρείται ελάττωση του ρυθμού απορρόφησης των σακχάρων (Drozdowski & Thomson, 2006). Οι ευεργετικές ιδιότητες των τροφίμων χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη έχουν διαπιστωθεί σε αρκετές μελέτες και περιλαμβάνουν αντιφλεγμονώδη δράση (Levitan et al., 2008, Jiang et al., 2006), μείωση της HbA1c, της αρτηριακής πίεσης και του κινδύνου στεφανιαίας νόσου (Jenkins et al., 2011). Επιπλέον, μια σειρά από μελέτες σε ζωικά πρότυπα ή κυτταροκαλλιέργειες έχουν αναδείξει την υπογλυκαιμική δράση των φαινολικών ενώσεων. Για παράδειγμα, οι ανθοκυανίνες εμφανίζουν αντι-υπεργλυκαιμική δράση μέσω αναστολής της μαλτάσης, αλλά όχι μέσω αναστολής της μεταφοράς της σακχαρόζης ή της γλυκόζης στην εντερική μεμβράνη (Matsui et al., 2002) και η μυρισετίνη φαίνεται να βελτιώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη σε αρουραίους (Liu et al., 2007). Με βάση τα αποτελέσματα των Chiou et al. (2007), η κατανάλωση 74 g Κορινθιακής σταφίδας παρέχει περίπου 140 mg πολυφαινόλων. Εκτός από πολυφαινόλες, η Κορινθιακή σταφίδα περιέχει επίσης φυτικές ίνες (περίπου 6,7%). Η πρόσληψη διαιτητικών ινών θεωρείται ότι βελτιώνει τον γλυκαιμικό έλεγχο και μειώνει τις συγκεντρώσεις λιπιδίων στο πλάσμα σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 (Wursch & Pi-Sunyer, 2002). Οι φυτικές ίνες έχει αποδειχθεί επίσης ότι συμβάλλουν στη μείωση της μεταγευματικής ινσουλιναιμίας (Wursch & Pi-Sunyer, 2002, Wolever, 2000, Jenkins et al., 2000), εξηγώντας έτσι τις διαφορές στο εμβαδόν κάτω από την καμπύλη της ινσουλίνης μεταξύ της Κορινθιακής σταφίδας και του διαλύματος αναφοράς.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση των αποκρίσεων γλυκόζης και ινσουλίνης στην πρόσληψη 50 g γλυκόζης και 50 g υδατανθράκων διαθέσιμων από τη Κορινθιακή σταφίδα επιτρέπει την προσέγγιση του γλυκαιμικού δείκτη και του γλυκαιμικού φορτίου της σταφίδας. Σε μια σειρά μελετών που αποσκοπούν στον καθορισμό του γλυκαιμικού δείκτη τροφίμων σε διαβητικούς ασθενείς, η αιμοληψία πραγματοποιείται κάθε 30 min για διάστημα 3 h, ενώ σε υγιή άτομα το πρόγραμμα αιμοληψιών περιλαμβάνει μετρήσεις κάθε 15 min για διάστημα 2 h. Στην παρούσα μελέτη, η εκτίμηση του γλυκαιμικού

δείκτη είναι εφικτή, δεδομένου ότι σε σύγκριση με άλλες διασταυρούμενες μελέτες (crossover) 8-10 εθελοντών, σε αυτή οι συμμετέχοντες αριθμούσαν 15 σε κάθε ομάδα. Η εκτίμηση του γλυκαιμικού δείκτη για την Κορινθιακή σταφίδα ήταν $66,3 \pm 3,4$ ($94 \pm 5,5$ στην κλίμακα ψωμιού με ενδιάμεσο εύρος 70-100). Σύμφωνα με το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου των ΗΠΑ, τα φρούτα έχουν χαμηλό (π.χ. μήλο ή πορτοκάλι) ως μέτριο (π.χ. το πεπόνι) ή υψηλό γλυκαιμικό δείκτη (π.χ. καρπούζι). Στα αποξηραμένα φρούτα, ο γλυκαιμικός δείκτης κυμαίνεται από χαμηλά (π.χ. ξηρά δαμάσκηνα) έως μέτρια (π.χ. ξερά σύκα) ή υψηλά επίπεδα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗ ΜΕ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗ ΣΤΑΦΙΔΑ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2

6.1 Σκοπός

Σκοπός της μελέτης ήταν η αξιολόγηση μιας παρέμβασης 24 εβδομάδων με σταφίδα στα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, στην αρτηριακή πίεση, στα επίπεδα βασικών βιοχημικών δεικτών και στα επίπεδα δεικτών οξειδωτικού στρες και φλεγμονής σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.

6.2 Δείγμα

Η μελέτη διεξήχθη σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, καθώς είναι επιστημονικά αποδεδειγμένο ότι:

- ✓ εμφανίζουν καρδιαγγειακή νόσο ως επιπλοκή του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2
- ✓ το οξειδωτικό στρες στον σακχαρώδη διαβήτη 2 συμμετέχει ισχυρά στην ανάπτυξη και εξέλιξη της καρδιαγγειακής νόσου, ενώ η ενίσχυση της δίαιτας με αντιοξειδωτικά συστατικά για τη μείωση του οξειδωτικού στρες μπορεί να συμβάλλει στην πρόληψη της καρδιαγγειακής νόσου.

Τα κριτήρια επιλογής και αποκλεισμού των ασθενών της παρούσας μελέτης αναλύονται στη συνέχεια.

Κριτήρια επιλογής

- σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2
- ηλικία 40-60 ετών
- διάρκεια νόσου από 3-5 χρόνια
- καλός έλεγχος του ΣΔ2 (HbA1c <7%)

Κριτήρια αποκλεισμού

- νοητική νόσος
- κατάχρηση φαρμάκων ή αλκοόλης
- εγκυμοσύνη ή γαλουχία
- αλλεργίες
- συμμετοχή σε συναφή μελέτη έως και 3 μήνες πριν από την έναρξη της προτεινόμενης
- χρόνια διάρροια
- πρόσληψη συμπληρωμάτων διατροφής (βιταμίνες ή άλλα αντιοξειδωτικά)
- επιπλοκές του διαβήτη (π.χ. μακροαγγειοπάθεια, νεφροπάθεια)
- θεραπεία της νόσου με εντατικοποιημένο σχήμα ινσουλίνης (επετράπη λήψη βραδείας δράσης ινσουλίνης)
- οξεία λοίμωξη ή λήψη αντιβιοτικών τους προηγούμενους 3 μήνες
- αυτοάνοσα νοσήματα ή νοσήματα που καταστέλλουν το ανοσολογικό σύστημα, ή λήψη ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων
- ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου, ασταθούς στηθάγχης, ή εγκεφαλικού επεισοδίου τους τελευταίους 12 μήνες

6.3 Σχεδιασμός μελέτης

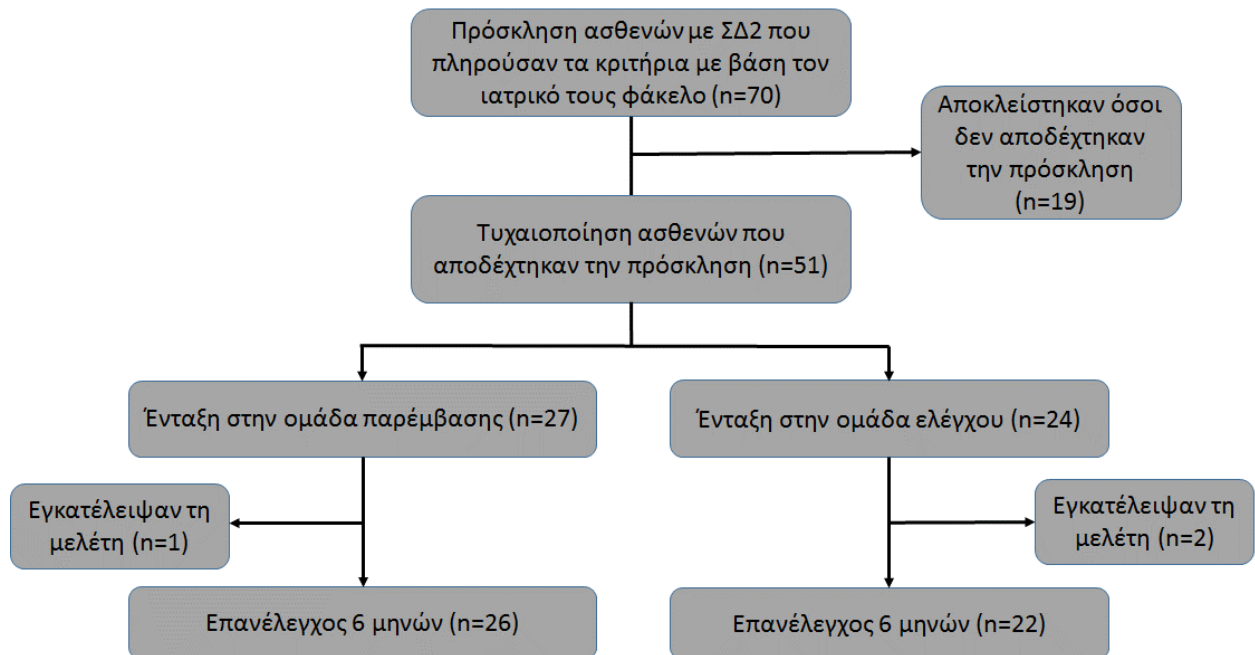
Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

6.3.1 Προκαταρκτικό στάδιο

Επιλογή δείγματος

Το δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 που βρίσκονταν υπό θεραπεία και παρακολουθήση στα τακτικά εξωτερικά ιατρεία του ΓΝΑ «Λαϊκό». Οι ασθενείς προ-επιλέχθηκαν με βάση τη μελέτη του ιατρικού τους φακέλου και ενημερώθηκαν για τη μελέτη. Για τους ασθενείς που επιθυμούσαν να συμμετάσχουν, οριζόταν συνεδρία για λεπτομερή ενημέρωση. Οι ασθενείς που εκπλήρωναν τα κριτήρια επιλογής, ενημερώνονταν αναλυτικά για τη μελέτη, υπέγραφαν το Δελτίο Συγκατάθεσης και

ενσωματώνονταν στη μελέτη με έναν κωδικό αναγνώρισης. Στο **Σχήμα 6.1** περιγράφεται αναλυτικά η διαδικασία στρατολόγησης των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη.



Σχήμα 6.1 Διάγραμμα ροής της μελέτης

Ιατρικό ιστορικό

Στην πρώτη επίσκεψη (baseline) των ασθενών στο εργαστήριο γινόταν λήψη ιατρικού ιστορικού και συμπληρωνόταν το ερωτηματολόγιο ιατρικού ιστορικού που σχεδιάστηκε για τις ανάγκες της μελέτης (Παράρτημα 1).

Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά που μετριόνταν ήταν το ύψος (cm), το σωματικό βάρος (kg), η περιφέρεια μέσης στο ύψος των μειζόνων τροχαντήρων (cm) και η περιφέρεια ισχίων σε ύψος 12 cm από το άνω άκρο της επιγονατίδας.

Αρτηριακή πίεση

Η μέτρηση της αρτηριακής πίεσης και των καρδιακών σφυγμών γινόταν με ηλεκτρονικό πιεσόμετρο 3 φορές και υπολογιζόταν ο μέσος όρος.

Διαιτητικό ιστορικό-Φυσική δραστηριότητα

Η αξιολόγηση της διατροφής των ασθενών γινόταν μέσω της συμπλήρωσης του ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) ενώ η αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας μέσω του ερωτηματολογίου φυσικής δραστηριότητας.

Αιμοληψία

Η αιμοληψία (40 mL) διεξαγόταν το πρωί μετά από 12ωρη νηστεία, ώστε να επιτυγχάνονται συγκρίσιμα αποτελέσματα, χωρίς αποκλίσεις που οφείλονται στην πρόσφατη κατανάλωση τροφών. Εάν ο ασθενής βρισκόταν σε φαρμακευτική αγωγή, προτεινόταν η μετάθεση της λήψης των φαρμάκων μετά από την αιμοληψία.

Απομόνωση ορού και πλάσματος

Η απομόνωση του ορού από το ολικό αίμα πραγματοποιήθηκε με παραμονή του δείγματος σε vacutainer χωρίς αντιπηκτικό παράγοντα για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε φυγοκέντρηση (3.000 rpm, 10 min, 4°C) και παραλαβή του υπερκείμενου. Τα δείγματα ορού χρησιμοποιήθηκαν άμεσα για μέτρηση των απλών βιοχημικών παραμέτρων, ενώ φυλάσσονταν σε βαθιά κατάψυξη (-80°C) μέχρι την ανάλυση των δεικτών φλεγμονής. Η απομόνωση του πλάσματος πραγματοποιήθηκε με τη χρήση vacutainer με αντιπηκτικό παράγοντα και φυγοκέντρηση (3.000 rpm, 10 min, 4°C). Τα δείγματα πλάσματος φυλάσσονταν σε βαθιά κατάψυξη (-80°C) μέχρι την ανάλυσή τους.

Εργαστηριακές Μετρήσεις

Στα δείγματα ορού των εθελοντών πραγματοποιήθηκε μέτρηση των βασικών βιοχημικών παραμέτρων στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής

Έρευνας «Ν.Σ. Χρηστέας» της Ιατρικής σχολής του ΕΚΠΑ (παρουσιάζονται αναλυτικά στην ενότητα 6.4.1). Επίσης, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις δεικτών φλεγμονής (ενότητα 6.4.2), δεικτών οξειδωτικού στρες (ενότητα 6.4.3) ενώ προσδιορίστηκαν τα επιμέρους φυτοχημικά συστατικά στο πλάσμα (ενότητα 6.4.4) των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη.

6.3.2 Στάδιο παρέμβασης

Οι ασθενείς που στρατολογούνταν χωρίζονταν σε 2 ομάδες, την ομάδα παρέμβασης και την ομάδα ελέγχου. Η παρέμβαση περιελάμβανε την κατανάλωση 2 ισοδυνάμων σταφίδας για 24 εβδομάδες. Τα δύο αυτά ισοδύναμα φρούτου καταναλώνονταν στα ενδιάμεσα γεύματα (δεκατιανό και απογευματινό) αντικαθιστώντας σνακ παρόμοιας ενεργειακής πυκνότητας. Επιπλέον, οι ασθενείς της ομάδας παρέμβασης καλούνταν να πραγματοποιούν κάποιες μετρήσεις γλυκόζης μόνοι τους πριν και 2 h μετά από την κατανάλωση ενός ισοδυνάμου σταφίδας (18 g) με στόχο τον καλύτερο έλεγχο τόσο της συμμόρφωσης με τις οδηγίες που δίνονταν όσο και των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα τους. Οι συμμετέχοντες στην ομάδα ελέγχου καλούνταν να διατηρήσουν τις συνήθειες διατροφικές τους συνήθειες αναφορικά με την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, ενώ καλούνταν να απέχουν εντελώς από την κατανάλωση σταφυλιών ή σταφίδας.

6.3.3 Στάδιο αξιολόγησης

Το στάδιο αυτό περιελάμβανε την επανεξέταση των ασθενών 24 εβδομάδες μετά από την ένταξή τους στη μελέτη, στην οποία επαναλαμβάνονταν οι κλινικές, ανθρωπομετρικές και εργαστηριακές μετρήσεις. Επίσης στη συνεδρία αυτή γινόταν αξιολόγηση της διαιτητικής πρόσληψης των ασθενών με τη χρήση της μεθόδου της ανάκλησης 24ώρου για τον έλεγχο συμμόρφωσης στο πειραματικό πρωτόκολλο.

6.4 Κλινικο-εργαστηριακές μετρήσεις

6.4.1 Μέτρηση βιοχημικών παραμέτρων

Η μέτρηση των βασικών βιοχημικών παραμέτρων πραγματοποιούνταν άμεσα στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ. Χρηστέας» της

Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ. Στα δείγματα ορού των εθελοντών πραγματοποιήθηκε μέτρηση γλυκόζης νηστείας, ολικής, LDL και HDL χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων, ηπατικών ενζύμων (αλκαλική φωσφατάση, SGOT, SGPT, γGT), ουρίας, ουρικού οξέος και κρεατινίνης, αλβουμίνης και ολικών λευκωμάτων.

6.4.2 Μέτρηση δεικτών φλεγμονής

Μέτρηση λεπτίνης ορού

Η μέτρηση των επιπέδων λεπτίνης στον ορό πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (R&D Systems, Abingdon, UK) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Αρχή 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 450 nm.

Αναλυτική πορεία

Αρχικά προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα. Στα δείγματα γίνεται αραίωση 1:100. Στις αντίστοιχες θέσεις στην πλάκα προστίθεται αρχικά 100 µL διαλύτη (AssayDiluent RD1-19) και 100 µL προτύπου ή αραιωμένου δείγματος. Ακολουθεί επώαση για 2 h σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί απομάκρυνση του υπερκείμενου και ξέπλυμα με το διάλυμα πλύσης (x4). Μετά από το τελευταίο ξέπλυμα απομακρύνεται κάθε ίχνος υγρασίας και προστίθενται 200 µL του πολυκλωνικού αντισώματος. Ακολουθεί επώαση για 1 h σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά από το τέλος της επώασης απομακρύνεται πάλι το υπερκείμενο και ξεπλένεται με διάλυμα πλύσης (x4). Απομακρύνεται κάθε ίχνος υγρασίας και προστίθενται 200 µL από το υπόστρωμα. Επάζονται για άλλα 30 min σε θερμοκρασία δωματίου και στο σκοτάδι. Στο τέλος προστίθενται 50 µL διαλύματος τερματισμού της

αντίδρασης και μετράται η απορρόφηση στα 450 nm. 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 450 nm.

Μέτρηση αδιπονεκτίνης ορού

Η μέτρηση της αδιπονεκτίνης ορού πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο (βλ. ενότητα 6.4.2) χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (R&D Systems, Abingdon, UK) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Μέτρηση παράγοντα νέκρωσης όγκων- α (TNF- α) ορού

Η μέτρηση του παράγοντα νέκρωσης όγκων- α (TNF- α) ορού πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο (βλ. ενότητα 6.4.2) χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (R&D Systems, Abingdon, UK) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Μέτρηση ιντερλευκίνης-6 (IL-6) ορού

Η μέτρηση της ιντερλευκίνης-6 ορού πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο (βλ. ενότητα 6.4.2) χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (R&D Systems, Abingdon, UK) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Μέτρηση C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (hs-CRP) ορού

Η μέτρηση της CRP (hs-CRP) ορού πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο (βλ. ενότητα 6.4.2) χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (IBL, Hamburg, Germany) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

6.4.3 Μέτρηση δεικτών οξειδωτικού στρες**Μέτρηση οξειδωμένης LDL (oxLDL) ορού**

Η μέτρηση της οξειδωμένης LDL ορού πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο (βλ. ενότητα 6.4.2) χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (Mercodia, Uppsala, Sweden) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Εκτίμηση ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (AOP) πλάσματος

Η εκτίμηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος πραγματοποιήθηκε φωτομετρικά χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο kit (OxisResearch, Beverly Hills, CA, USA) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Αρχή μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή του Cu^{+2} 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 490 nm.

Αναλυτική πορεία

Αρχικά προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα. Τα δείγματα και τα πρότυπα αραιώνονται 1:40 με αντιδραστήριο R1 που περιέχει το Bathocuproine. Προστίθενται 200 μL από τα αραιωμένα δείγματα στην αντίστοιχη θέση στην πλάκα και μετράται η απορρόφηση στα 490 nm. Στη συνέχεια προστίθενται 50 μL από το αντιδραστήριο R2 που περιέχει τα ιόντα δισθενή χαλκού Cu^{+2} και αναμιγνύονται καλά.

Ακολουθεί επώαση για 3 min σε θερμοκρασία δωματίου και προστίθεται το αντιδραστήριο τερματισμού της αντίδρασης. Ακολουθεί ανάμειξη και μέτρηση της απορρόφησης στα 490 nm. 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 490 nm.

6.4.4 Προσδιορισμός επιμέρους φυτοχημικών συστατικών στο πλάσμα

Η μέθοδος προσδιορισμού των επιμέρους φυτοχημικών συστατικών στο πλάσμα των ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη παρουσιάζεται αναλυτικά στην ενότητα 4.7.

6.5 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο SPSS (SPSS for Windows, version 23.0, SPSSInc., Chicago, IL, USA). Αρχικά, εξετάστηκε η κανονικότητα όλων των μεταβλητών χρησιμοποιώντας το Kolmogorov-Smirnov test. Για τις μεταβλητές που ακολουθούν κανονική κατανομή εφαρμόστηκε T-test. Για τις μεταβλητές που δεν ακολουθούν κανονική κατανομή εφαρμόστηκαν μη παραμετρικά test (Mann-Whitney test, Wilcoxon test). Όλα τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο $p < 0,05$.

6.6 Αποτελέσματα

Από τους 51 ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, οι οποίοι ξεκίνησαν την παρέμβαση, 48 ολοκλήρωσαν το πρωτόκολλο, 22 στην ομάδα ελέγχου και 26 στην ομάδα

παρέμβασης. Κανένας από τους εθελοντές στην ομάδα που κατανάλωναν Κορινθιακή σταφίδα δεν ανέφερε κάποια ενόχληση από την καθημερινή κατανάλωση του τροφίμου, ενώ μόνο το 6% των συμμετεχόντων στην ομάδα της σταφίδας παρουσίασε προσωρινό πρόβλημα στη ρύθμιση της αυτοπαρακολούθησης των επιπέδων γλυκόζης αίματος που αποκαταστάθηκε μετά τη δεύτερη εβδομάδα της παρέμβασης. Τα βασικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, όπως η ηλικία, ο ΔΜΣ και τα κλινικά χαρακτηριστικά, δεν διέφεραν μεταξύ της ομάδας παρέμβασης και της ομάδας ελέγχου στην αρχή της μελέτης και επομένως οι 2 ομάδες παρουσιάζουν ομοιογένεια (**Πίνακας 6.1**).

Πίνακας 6.1 Χαρακτηριστικά των ασθενών με ΣΔ2 στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη (μέσοι όροι±τυπικές αποκλίσεις)

	Ομάδα Παρέμβασης <i>n</i> =26	Ομάδα Ελέγχου <i>n</i> =22	<i>p</i>
Ηλικία (έτη)	63,7±6,3	63±8,5	0,508
Φύλο (<i>n</i>)			
Άνδρες	15	10	
Γυναίκες	11	12	
Κάπνισμα (<i>n</i> , %)	4 (15,4)	5 (22,7)	
ΔΜΣ (Kg/m ²)	30,5±4,4	30,4±5,5	0,976
HbA1c (%)	6,5±0,6	6,9±0,9	0,051
Συστολική ΑΠ (mmHg)	131,8±11,8	129,3±16,1	0,549
Διαστολική ΑΠ (mmHg)	76,8±10,5	75,3±8	0,598
Ολική Χολ. (mg/dL)	172,1±30,1	170,4±39,3	0,865
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	121,6±50,6	123,3±51,9	0,909
Ουρία (mg/dL)	35,7±7,6	38,2±8,5	0,385
Κρεατινίνη (mg/dL) [#]	0,9±0,1	0,9±0,1	0,282
Αλκαλική φωσφ. (U/L) [#]	150,2±40,7	143,6±39,3	0,251
SGOT (U/L)	21,3±5,7	21,5±5,3	0,908
SGPT (U/L)	22,3±10,7	23,3±8,6	0,743
γ-GT (U/L) [#]	26,1±14,3	30,8±17,7	0,056

Φαρμακευτική αγωγή, n (%)

Μετφορμίνη	26 (100)	20 (90,9)
Σουλφονουλιδίες	12 (46,2)	14 (53,8)
Γλιταζόνη	4 (15,4)	2 (9,1)
Ακαρβόζη	-	-
Γλιπτίνες	6 (23,1)	9 (40,9)
Ινσουλίνη (βασική)	2 (7,7)	3 (13,6)
Υπολιπιδαιμική	22 (84,6)	20 (90,9)
Αντι-υπερτασική	20 (76,9)	15 (68,2)

HbA1c: Γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη

p-value: Σύγκριση διαφορών μεταξύ των ομάδων ελέγχου και παρέμβασης στην αρχή της μελέτης μέσω Independent sample T-test ή Mann-Whitney test[#]Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p < 0,05$

Επίσης, η ημερήσια πρόσληψη ενέργειας και θρεπτικών συστατικών δεν διέφερε μεταξύ των δύο ομάδων κατά την έναρξη της μελέτης. Η πρόσληψη ενέργειας, πρωτεΐνης, υδατανθράκων και ολικού λίπους, συμπεριλαμβανομένων των μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπών, σημείωσαν σημαντική μεταβολή στην ομάδα που κατανάλωναν σταφίδα 24 εβδομάδες μετά από την παρέμβαση σε σύγκριση με τις αρχικές τιμές ($p=0,007$, $p=0,031$, $p=0,008$, $p<0,001$, $p<0,001$ και $p=0,005$, αντίστοιχα) (**Πίνακας 6.2**). Στην ομάδα ελέγχου, σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν στις πρωτεΐνες ($p=0,018$), στους υδατάνθρακες ($p=0,017$) και στο ολικό λίπος ($p=0,004$), συμπεριλαμβανομένων των μονοακόρεστων λιπών ($p<0,001$), μεταξύ των αρχικών προσλήψεων και των αντίστοιχων τιμών στο τέλος της παρέμβασης. Ωστόσο, σε καμία από τις παραπάνω μεταβλητές δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων στο τέλος της μελέτης (**Πίνακας 6.2**). Όσον αφορά την κατανάλωση λαχανικών, δεν παρατηρήθηκε διαφορά μεταξύ της έναρξης και της λήξης της παρέμβασης σε καμία ομάδα, όμως, όπως αναμενόταν, σημειώθηκε μια σημαντική αύξηση της κατανάλωσης φρούτων στην ομάδα της σταφίδας στο τέλος της παρέμβασης σε σχέση με την έναρξη ($p=0,048$) (**Πίνακας 6.2**).

Πίνακας 6.2 Μεταβολές στην πρόσληψη ενέργειας και θρεπτικών συστατικών και την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών στους ασθενείς με ΣΔ2 (μέσοι όροι±τυπικές αποκλίσεις)

Δ (0-24 εβδομάδες)					
	Ομάδα Παρέμβασης		Ομάδα Ελέγχου		p*
	ΜΟ±ΤΑ	p	ΜΟ±ΤΑ	p	
Ενέργεια (kcal)	-147±232	0,007	-212±408	0,100	0,664
Πρωτεΐνη (%)	2,0±4,1	0,031	2,6±3,2	0,018	0,251
Υδατάνθρακες (%)	7,5±12,0	0,008	8,9±10	0,017	0,477
Ολικό λίπος (%)	-9,7±10,8	0,000	-10,7±10,1	0,004	0,875
Κορεσμένα (%) [#]	1±5,2	0,381	0,3±4,2	0,840	0,881
Μονοακόρεστα (%)	-9,6±6,8	0,000	-10,3±6,9	0,000	0,951
Πολυακόρεστα (%) [#]	-0,8±1,2	0,005	-0,8±1,6	0,096	0,865
Φυτικές ίνες (g)	2,2±0,8	0,071	0,3±0,7	0,430	0,582
Φρούτα (μερίδες)	1,4±0,6	0,048	-0,4±0,5	0,603	0,067
Λαχανικά (μερίδες)	0,2±0,4	0,624	0,3±0,7	0,801	0,435

p-value: Σύγκριση διαφορών πριν και μετά την παρέμβαση στην κάθε ομάδα μέσω paired sample t-test ή Wilcoxon test[#]

*p-value: Σύγκριση διαφορών στο τέλος της παρέμβασης μεταξύ των 2 ομάδων μέσω Independent sample t-test ή Mann-Whitney test[#]

Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας p<0,05

Στους συμμετέχοντες στην ομάδα παρέμβασης παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση (p=0,013) της διαστολικής αρτηριακής πίεσης αίματος και μάλιστα η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων κατά την 24^η εβδομάδα ήταν στατιστικά σημαντική (p=0,011). Η συστολική αρτηριακή πίεση του αίματος δε μεταβλήθηκε κατά τη διάρκεια της μελέτης (**Πίνακας 6.3**). Η αλκαλική φωσφατάση του ορού μειώθηκε (p=0,001) στην ομάδα που κατανάλωναν σταφίδα, αλλά δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων κατά την 24^η εβδομάδα. Η συγκέντρωση της γλυκόζης ορού και το λιπιδαιμικό προφίλ δεν επηρεάστηκαν σε καμία από τις δύο ομάδες. Επίσης τα επίπεδα των ενδογενών αντιοξειδωτικών ουσιών, δηλαδή του ουρικού οξέος και της αλβουμίνης, δεν διέφεραν μεταξύ της ομάδας παρέμβασης και της ομάδας ελέγχου στο τέλος της μελέτης. Το σωματικό βάρος, η περιφέρεια μέσης και ισχίων παρέμειναν αμετάβλητα στις δύο ομάδες (**Πίνακας 6.3**).

Πίνακας 6.3 Μεταβολές στα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, την αρτηριακή πίεση και τους βιοχημικούς δείκτες στους ασθενείς με ΣΔ2 που ανήκουν στην ομάδα παρέμβασης και την ομάδα ελέγχου (μέσοι όροι±τυπικές αποκλίσεις)

Μεταβλητή	Ομάδα	Πριν	Μετά	p	p*
Σωματικό βάρος (Kg)	Σταφίδα	83,4±13,8	83±14,3	0,317	0,864
	Ελέγχου	81,2±14,3	81,9±14,8	0,555	
Περίμετρος μέσης (cm)	Σταφίδα	103,4±11	101,8±11,4	0,077	0,075
	Ελέγχου	101,1±13,1	101,6±13,8	0,496	
Περίμετρος ισχίων (cm)	Σταφίδα	105,2±7,6	105,5±8,5	0,707	0,114
	Ελέγχου	107±10,5	110,3±13,3	0,097	
Συστολική ΑΠ (mmHg)	Σταφίδα	131,8±11,8	128,1±11,2	0,281	0,216
	Ελέγχου	129,3±16,1	132,6±17,3	0,482	
Διαστολική ΑΠ (mmHg)	Σταφίδα	76,8±10,5	71,4±8	0,013	0,025
	Ελέγχου	75,3±8	77,3±9,4	0,430	
Καρδιακοί Σφυγμοί (min ⁻¹)	Σταφίδα	67±7	66±8	0,451	0,653
	Ελέγχου	74±14	72±11	0,242	
Γλυκόζη νηστείας (mg/dL)	Σταφίδα	139±23,9	137,3±32,7	0,807	0,803
	Ελέγχου	142±42,9	137,3±26	0,649	
Ολική Χολ. (mg/dL)	Σταφίδα	172,1±30,1	173±34,5	0,868	0,243
	Ελέγχου	170,4±39,3	180,1±35,6	0,076	
LDL Χολ. (mg/dL)	Σταφίδα	101,5±28,6	104,4±29	0,567	0,308
	Ελέγχου	98,5±36,3	109,4±28,7	0,080	
HDL Χολ. (mg/dL)	Σταφίδα	46,3±9,8	46,5±9,9	0,476	0,569
	Ελέγχου	47,2±10,1	47,6±10,7	0,177	
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	Σταφίδα	121,6±50,6	119,5±47,1	0,830	0,681
	Ελέγχου	123,3±51,9	115,4±28,1	0,427	
Αλκαλική φωσφ. (U/L) [#]	Σταφίδα	142,1±39,2	122,5±24,8	0,001	0,180
	Ελέγχου	136,6±38,6	126,8±41,5	0,179	
Ουρικό οξύ (mg/dL)	Σταφίδα	5,6±0,9	5,7±1,1	0,898	0,235
	Ελέγχου	5,0±1,1	4,8±0,9	0,136	

Αλβουμίνη (g/dL)	Σταφίδα	5,4±0,4	5,2±0,5	0,056	0,672
	Ελέγχου	5,4±0,6	5,1±0,4	0,031	
HbA1c (%)	Σταφίδα	6,5±0,6	6,5±0,5	0,686	0,429
	Ελέγχου	6,9±0,9	6,8±0,8	0,500	

HbA1c: Γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη

p-value: Σύγκριση διαφορών πριν και μετά την παρέμβαση στην κάθε ομάδα μέσω paired sample t-test ή Wilcoxon test[#]

*p-value: Σύγκριση διαφορών στο τέλος της παρέμβασης μεταξύ των 2 ομάδων μέσω Independent sample t-test ή Mann-Whitney test[#]

Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας p<0,05

Στατιστικά σημαντική αύξηση (p=0,039) παρατηρήθηκε στο συνολικό αντιοξειδωτικό δυναμικό του πλάσματος των συμμετεχόντων στην ομάδα παρέμβασης με τη σταφίδα. Η διαφορά αυτή ήταν στατιστικά σημαντική μεταξύ των δύο ομάδων στο τέλος της μελέτης (p=0,048). Δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά στην οξειδωμένη LDL χοληστερόλη (oxLDL) ή στο λόγο oxLDL/LDL κατά την 24^η εβδομάδα της παρέμβασης μεταξύ της ομάδας που κατανάλωνε σταφίδα και της ομάδας ελέγχου (**Πίνακας 6.4**).

Οι συγκεντρώσεις της hs-CRP, του TNF-α, της IL-6, της αδιπονεκτίνης και της λεπτίνης στον ορό του αίματος δεν διέφεραν σημαντικά σε καμία από τις δύο ομάδες της μελέτης μεταξύ εβδομάδας 0 και εβδομάδας 24.

Πίνακας 6.4 Μεταβολές στους δείκτες φλεγμονής και οξειδωτικού στρες στους ασθενείς με ΣΔ2 που ανήκουν στην ομάδα παρέμβασης και την ομάδα ελέγχου (μέσοι όροι±τυπικές αποκλίσεις)

Μεταβλητή	Ομάδα	Πριν	Μετά	p	p*
hsCRP (μg/mL) [#]	Σταφίδα	2,2±0,9	2,8±1,5	0,298	0,269
	Ελέγχου	3,1±1,5	3±1,9	0,913	
IL-6 (pg/mL)	Σταφίδα	1,7±1,1	1,5±1,5	0,600	0,187
	Ελέγχου	2,9±1,8	2,1±1,4	0,088	
TNF-α (pg/mL) [#]	Σταφίδα	1,7±0,8	1,5±0,8	0,102	0,165
	Ελέγχου	1±0,7	1±0,9	0,367	
Λεπτίνη (ng/mL) [#]	Σταφίδα	27,2±21,5	28±23,7	0,910	0,364

	Ελέγχου	22,7±14,7	25±19	0,929	
Αδιπονεκτίνη (µg/mL) #	Σταφίδα	20,6±15,2	22,5±20,8	0,493	0,604
	Ελέγχου	31,6±17,1	32,9±18,2	0,959	
TAP (µM Trolox)	Σταφίδα	0,35±0,08	0,4±0,11	0,039	0,048
	Ελέγχου	0,39±0,11	0,37±0,11	0,459	
oxLDL (U/L)	Σταφίδα	67,8±15	59,7±12,8	0,005	0,885
	Ελέγχου	64,3±28,4	56,9±15,4	0,096	
oxLDL/LDL (U/mg)	Σταφίδα	0,07±0,03	0,06±0,02	0,037	0,457
	Ελέγχου	0,07±0,03	0,05±0,01	0,016	

CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, IL-6: ιντερλευκίνη-6, TNF-α: παράγοντας νέκρωσης όγκων-α, TAP: ολική αντιοξειδωτική ικανότητα

p-value: Σύγκριση διαφορών πριν και μετά την παρέμβαση στην κάθε ομάδα μέσω paired sample t-test ή Wilcoxon test[#]

*p-value: Σύγκριση διαφορών στοτέλοστηςπαρέμβασης μεταξύ των 2 ομάδων μέσω Independent sample t-test ή Mann-Whitney test[#]

Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p < 0,05$

Τέλος, έγινε ποσοτικοποίηση των φαινολικών ενώσεων στα δείγματα πλάσματος που λήφθηκαν από όλους τους συμμετέχοντες ($n=48$) κατά την έναρξη και κατά το τέλος της παρέμβασης και ανέδειξε σημαντική αύξηση ($p=0,038$) του κυκλοφορούντος στο πλάσμα π-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος στην ομάδα της σταφίδας, ενώ η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων ήταν σημαντική ($p=0,049$) στο τέλος της παρέμβασης (**Πίνακας 6.5**). Η αύξηση του συγκεκριμένου φαινολικού συστατικού δεν συσχετιζόταν με αύξηση του ολικού αντιοξειδωτικού δυναμικού του πλάσματος.

Πίνακας 6.5 Μεταβολές στα επίπεδα των κυκλοφορούντων φαινολικών συστατικών στους ασθενείς με ΣΔ2 που ανήκουν στην ομάδα παρέμβασης και την ομάδα ελέγχου (μέσοι όροι±τυπικές αποκλίσεις)

Φαινολικά (ng/mL)	Ομάδα	Πριν	Μετά	p	p*
π-υδροξυ-Βενζοϊκό οξύ	Σταφίδα	54,7±11,6	63,7±16,2	0,038	0,049
	Ελέγχου	56,2±25,3	52,2±16,7	0,447	

π-υδροξυ-Φαινυλοξικό οξύ	Σταφίδα	18,9±5,2	18,4±3,9	0,615	0,912
	Ελέγχου	15,5±5,3	14,8±4,8	0,444	
Βανιλλικό οξύ	Σταφίδα	6±1,5	5,7±0,9	0,326	0,903
	Ελέγχου	5±1,9	4,7±1,8	0,269	
Πρωτοκατεχικό οξύ	Σταφίδα	3,2±0,8	3,3±0,8	0,473	0,824
	Ελέγχου	2,9±1,2	2,9±1,8	0,890	
Συριγγικό οξύ [#]	Σταφίδα	1,9±1	1,7±0,5	0,461	0,661
	Ελέγχου	1,4±0,6	1,3±0,6	0,702	
Φερουλικό οξύ [#]	Σταφίδα	2±0,5	2,1±1,2	0,703	0,991
	Ελέγχου	1,8±0,9	1,6±0,5	0,627	
Καφεϊκό οξύ [#]	Σταφίδα	8,4±5,3	6,6±1,5	0,056	0,140
	Ελέγχου	5,5±2,2	5,7±2,6	0,876	
Καμφερόλη	Σταφίδα	2,8±2,1	2,6±2,1	0,779	0,935
	Ελέγχου	1,5±1,3	1,4±1,2	0,769	

p-value: Σύγκριση διαφορών πριν και μετά την παρέμβαση στην κάθε ομάδα μέσω paired sample t-test ή Wilcoxon test[#]

*p-value: Σύγκριση διαφορών στο τέλος της παρέμβασης μεταξύ των 2 ομάδων μέσω Independent sample t-test ή Mann-Whitney test[#]

Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p < 0,05$

6.7 Συζήτηση

Τα αποτελέσματά της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι διατροφική παρέμβαση 6 μηνών με Κορινθιακή σταφίδα οδήγησε σε σημαντική μείωση της διαστολικής αρτηριακής πίεσης του αίματος και σημαντική αύξηση του ολικού αντιοξειδωτικού δυναμικού του πλάσματος σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Οι διαφορές μεταξύ της ομάδας ελέγχου και της ομάδας παρέμβασης ήταν επίσης σημαντικές στο τέλος της μελέτης. Η ποσότητα των 36 g σταφίδας, που είναι σύμφωνη με τις συστάσεις για ημερήσια πρόσληψη δύο μερίδων φρούτου, επιλέχθηκε κατά κύριο λόγο προκειμένου να διερευνηθούν οι επιπτώσεις της σταφίδας στην υγεία, όταν ενσωματώνεται στη διατροφή σε ρεαλιστική ημερήσια δόση.

Η αυξημένη αρτηριακή πίεση είναι αναμφίβολα ένας παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις και επειδή ο κίνδυνος είναι γραμμικός, ακόμα και εκείνοι που δεν χαρακτηρίζονται σύμφωνα με τον κλασικό ορισμό ως «υπερτασικοί» μπορεί να εξακολουθούν να βρίσκονται σε κίνδυνο. Η ελάττωση της αρτηριακής πίεσης, ακόμα και όταν βρίσκεται εντός

φυσιολογικού εύρους, μέσω διαιτητικής αγωγής μπορεί να αποτρέψει τις επιπτώσεις της υπέρτασης. Υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι η κατανάλωση φρούτων που περιέχουν μεγάλες ποσότητες φλαβονοειδών οδηγεί σε μείωση της αρτηριακής πίεσης. Για παράδειγμα, η κατανάλωση τροφίμων πλούσιων σε φλαβονοειδή έχει συσχετιστεί αντίστροφα με τη συστολική αρτηριακή πίεση αίματος στις γυναίκες (Mennen et al., 2004). Στην παρούσα μελέτη, οι συμμετέχοντες που κατανάλωναν σταφίδες εμφάνισαν μειωμένη διαστολική αρτηριακή πίεση, που ίσως οφείλεται στο φαινολικό περιεχόμενο της σταφίδας. Η μείωση της διαστολικής αρτηριακής πίεσης συσχετίζεται με ρύθμιση της δραστηριότητας της συνθετάσης του νιτρικού οξέος (Leikert et al., 2002). Η κερκετίνη, που είναι παρούσα στην Κορινθιακή σταφίδα, έχειδειχθεί ότι παίζει βασικό ρόλο στη ρύθμιση της πίεσης του αίματος μέσω της ενεργοποίησης των διαύλων ασβεστίου-καλίου σε μεμονωμένα μυοκύτταρα από στεφανιαίες αρτηρίες αρουραίων με αποτέλεσμα τη χαλάρωση των στεφανιαίων αρτηριών (Cogolludo et al., 2007). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι παρόμοια με αυτά της μελέτης των Basu et al. (2010), όπου αναφέρεται ότι η πρόσληψη 50 g βατόμουρων καθημερινά για 8 εβδομάδες οδήγησε σε μειωμένη αρτηριακή πίεση σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο. Αν και σε πολλές μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι τα φρούτα μειώνουν επίσης τη συστολική αρτηριακή πίεση αίματος, στην παρούσα μελέτη δεν ανευρέθηκε σημαντική διαφορά στη συστολική αρτηριακή πίεση μεταξύ της ομάδας ελέγχου και της ομάδας παρέμβασης.

Επιπλέον, τα φρούτα που είναι πλούσια σε φυτικές ίνες φαίνεται να έχουν κάποια επίδραση στα λιπίδια του αίματος. Σημαντικές μειώσεις στα λιπίδια του πλάσματος έχουν παρατηρηθεί σε μελέτες με υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς (Chong et al., 2010, Qin et al., 2009). Στη μελέτη των Frederiksen et al. (2007) φάνηκε ότι εκχύλισμα από φλούδα σταφυλιού μείωσε την υπερχοληστερολαιμική απόκριση στη δίαιτα και καθυστέρησε την ανάπτυξη αορτικής αθηροσκλήρωσης σε αρσενικά υπερχοληστερολαιμικά κουνέλια. Οι σταφίδες παρέχουν φυτικές ίνες σε επίπεδα που συμβάλλουν στην ημερήσια πρόσληψη φυτικών ινών και σε επίπεδα που θα μπορούσε ο άνθρωπος να επωφεληθεί από τη ρύθμιση των λιπιδίων αίματος. Παρ' όλα αυτά, στην παρούσα παρέμβαση τα επίπεδα των λιπιδίων του αίματος παρέμειναν αμετάβλητα, γεγονός που δεν αποτελεί έκπληξη δεδομένου ότι τα λιπίδια του αίματος των συμμετεχόντων ήταν εντός του φυσιολογικού εύρους. Παρομοίως, δε σημειώθηκε κάποια σημαντική μεταβολή στη γλυκόζη και τη γλυκοζυλωμένη αιμοσφαιρίνη των ασθενών με ΣΔ2.

Οι πολυφαινόλες έχουν συνδεθεί με την πρόσληψη ενέργειας σε πειραματικά μοντέλα ζώων. Έχειδειχθεί ότι η μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού μπορεί να αποτρέψει την αύξηση της πρόσληψης τροφής και του σωματικού βάρους σε ζωικό πρότυπο αρουραίων με επαγόμενη από τη διατροφή παχυσαρκία (Vadillo et al., 2006). Επίσης, έχει φανεί ότι η κατανάλωση γαλλικών εστέρων της επιγαλλοκατεχίνης μειώνει την πρόσληψη τροφής σε ζωικό πρότυπο μέσω μείωσης των επιπέδων λεπτίνης του ορού (Kao et al., 2000). Στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στην πρόσληψη ενέργειας, στο σωματικό βάρος, ή στην περίμετρο μέσης στην ομάδα παρέμβασης με τη σταφίδα. Η σημαντική μείωση του ποσοστού του προσλαμβανόμενου λίπους με την ταυτόχρονη επίσης σημαντική αύξηση του ποσοστού των προσλαμβανόμενων πρωτεϊνών και υδατανθράκων στις δύο ομάδες ήταν πιθανόν τυχαία, καθώς οι συμμετέχοντες κατά την έναρξη της μελέτης παρουσίαζαν ομοιογένεια ως προς όλες τις μεταβλητές που θα μπορούσαν να επηρεάσουν το αποτέλεσμα. Μια πιθανή εξήγηση είναι οι εποχικές διαφορές στην επιλογή των προσλαμβανόμενων τροφίμων.

Η τρέχουσα βιβλιογραφία παρέχει άμεσες ενδείξεις για τη συμβολή των φλεγμονωδών αποκρίσεων στην παθογένεση της αθηροσκλήρωσης στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (Ray et al., 2009), με τη χρόνια φλεγμονή να θεωρείται ένας κεντρικός παθοφυσιολογικός μηχανισμός στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης. Από την άλλη πλευρά, ερευνητικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι τα φρούτα που είναι πλούσια σε πολυφαινόλες παρουσιάζουν κάποιες αντιφλεγμονώδεις δράσεις. Στην περίπτωση της σταφίδας τα δεδομένα είναι ελλιπή καθώς μόνο στη μελέτη των Puglisi et al. (2008) έχει αναφερθεί σημαντική μείωση του TNF-α μετά από κατανάλωση σταφίδας. Ωστόσο, η μείωση παρατηρήθηκε μόνο σε 12 εθελοντές που κατανάλωναν 160 g σταφίδων/ημέρα (που αντιστοιχούν σε 9 μερίδες φρούτου ανά ημέρα) για 6 εβδομάδες. Επιπλέον, στην ίδια μελέτη δεν παρέχεται καμία πληροφορία σχετικά με τη διατροφή κατά την έναρξη της μελέτης. Στην παρούσα μελέτη, η καθημερινή κατανάλωση 36 g Κορινθιακής σταφίδας για 24 εβδομάδες συνολικά δεν επηρέασε τα επίπεδα της hs-CRP ή των προφλεγμονωδών κυτταροκινών ή των αδιποκινών σε ασθενείς με καλά ρυθμιζόμενο σακχαρώδη διαβήτη κατά την έναρξη της μελέτης. Γενικά, οι αμελητέες μεταβολές σε δείκτες όπως τα λιπίδια, οι αδιποκίνες ή οι δείκτες φλεγμονής μπορεί να οφείλονται στην έλλειψη δύναμης του δείγματος της μελέτης ώστε να ανιχνευτούν.

Το οξειδωτικό στρες έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλει κατά κύριο λόγο στην αθηρογένεση και την εξέλιξη της καρδιαγγειακής νόσου. Από την άλλη πλευρά, αρκετές μελέτες παρατήρησης και κλινικές δοκιμές υποδεικνύουν ότι μια διατροφή πλούσια σε αντιοξειδωτικές ενώσεις, όπως οι πολυφαινόλες, έχει συσχετιστεί με την πρόληψη ή/και τη θεραπεία της αθηροσκλήρωσης (Kaliora et al., 2006). Μετά από μια εβδομάδα παρέμβασης με 90 g σταφίδες ημερησίως, οι εθελοντές παρουσίασαν ελαφρά υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα αίματος σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (Rankin et al., 2008). Αντίθετα, μια μικρή μείωση στην αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος παρατηρήθηκε σε υγιείς εθελοντές σε μια άλλη παρέμβαση 4 εβδομάδων με 50 g σταφίδων ή 50 g ξανθών σταφίδων (Parker et al., 2007). Στην παρούσα μελέτη η κατανάλωση σταφίδας δεν οδήγησε σε σημαντική διαφορά στα επίπεδα της oxLDL ή του λόγου oxLDL/LDL μεταξύ της ομάδας ελέγχου και της ομάδας παρέμβασης στο τέλος της μελέτης, αλλά παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος. Με βάση τα αποτελέσματα προηγούμενης μελέτης (Chiou et al., 2007), η κατανάλωση 36 g Κορινθιακής σταφίδας περιέχει περίπου 68 mg πολυφαινολών. Έτσι, η καθημερινή κατανάλωση σταφίδας θα μπορούσε να παρέχει μια σχετικά υψηλή ποσότητα φυσικών αντιοξειδωτικών ουσιών σε σχέση με την πρόσληψη 23 mg/ημέρα φλαβονών και 28 mg/ημέρα φλαβανονών για την Ολλανδία και τη Δανία ή 115 mg ανά ημέρα για τις Ηνωμένες Πολιτείες (Ross & Kasum, 2002). Εξάλλου από τη μελέτη βιοδιαθεσιμότητας των φαινολικών ενώσεων που υπάρχουν στην Κορινθιακή σταφίδα που αναλύθηκε στο Κεφάλαιο 4 προκύπτει ότι αρκετές ενώσεις είναι διαθέσιμες στο ανθρώπινο πλάσμα αίματος. Στην παρούσα μελέτη, η ανάλυση ορισμένων φαινολικών ενώσεων, που είχαν προηγουμένως ανιχνευθεί στην Κορινθιακή σταφίδα, έδειξε ότι τα επίπεδα του π-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος ήταν σημαντικά αυξημένα στην ομάδα παρέμβασης, ενώ η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων στο τέλος της μελέτης ήταν στατιστικά σημαντική. Επιπλέον, η έλλειψη σημαντικής αύξησης των ενδογενών αντιοξειδωτικών ενώσεων, όπως το ουρικό οξύ, που προσδιορίστηκαν στην ομάδα παρέμβασης παράλληλα με την έλλειψη συσχέτισης μεταξύ της αύξησης του ολικού αντιοξειδωτικού δυναμικού και της αύξησης του π-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος υποδεικνύει την πιθανή συμβολή και άλλων φαινολικών ενώσεων στην αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι το οξειδωτικό στρες αναγνωρίζεται ευρέως ως σημαντικός παράγοντας στην παθογένεση και στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης (Ray et al., 2009), αυτή η μεταβολή στην αντιοξειδωτική άμυνα των ασθενών είναι αξιοσημείωτη.

Σε μια άλλη πρόσφατη κλινική δοκιμή (Kaliora et al., 2016) χορηγήθηκε Κορινθιακή σταφίδα σε ασθενείς με μη αλκοολική λιπώδη διήθηση ήπατος (NAFLD) ως σνακ καθημερινά για 24 εβδομάδες. Στόχος της μελέτης ήταν να διερευνηθεί η επίδραση δύο ισοθερμικών διαιτών με διαφορετικές επιλογές σνακ μεταξύ των γευμάτων, όπου στην ομάδα παρέμβασης ως σνακ χρησιμοποιήθηκε ποσότητα 36 g Κορινθιακής σταφίδας, αντίστοιχη ποσότητα με αυτή που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη. Οι συμμετέχοντες και στις δύο ομάδες έλαβαν διατροφικές συμβουλές που στόχευαν στην απώλεια βάρους περίπου 5% του αρχικού εντός έξι μηνών, κατά τη συνήθη διατροφική αντιμετώπιση των ασθενών με NAFLD. Στη μελέτη αυτή παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων μετά από την παρέμβαση με σταφίδα στα επίπεδα γλυκόζης νηστείας και IL-6 ($p=0,023$ και $p=0,032$, αντίστοιχα). Οι παράμετροι αυτές βρέθηκαν σημαντικά μειωμένες μόνο στους ασθενείς της ομάδας παρέμβασης ($p=0,004$ για τη γλυκόζη και $p=0,009$ για την IL-6). Στο τέλος της δοκιμής οι ανθρωπομετρικές μετρήσεις (σωματικό βάρος, ΔΜΣ και περίμετρος ισχίων) βελτιώθηκαν και στις δύο ομάδες σε σύγκριση με την αρχική τιμή, καθώς επίσης μειώθηκαν οι τιμές της HbA1c, της CRP και της ελαστογραφίας σάρωσης υπερήχων (EUS), χωρίς ωστόσο σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων.

Επιπλέον, η τήρηση του Μεσογειακού προτύπου διατροφής, όπως καταγράφηκε από το MedDietScore, αυξήθηκε τόσο στην ομάδα ελέγχου ($p=0.005$) όσο και στην ομάδα παρέμβασης ($p<0,001$). Ωστόσο, στο τέλος της δοκιμής, η διαφορά της προσκόλλησης ήταν σημαντικά υψηλότερη στην ομάδα της σταφίδας ($p=0,044$). Παράλληλα, οι ασθενείς της ομάδας παρέμβασης μείωσαν την πρόσληψη των κορεσμένων λιπαρών οξέων ($p=0,003$). Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι η αύξηση του επιπολασμού της NAFLD είναι στενά συνδεδεμένη με τις επιδημίες της παχυσαρκίας, της αντίστασης στην ινσουλίνη και του διαβήτη τύπου 2, τα αποτελέσματα της μελέτης των Kaliora et al. ενισχύουν τη θετική επίδραση της ενσωμάτωσης της Κορινθιακής σταφίδας ως σνακ στη διατροφή ασθενών που εμφανίζουν διαταραχές στον μεταβολισμό της γλυκόζης ή/και στη δράση της ινσουλίνης. Άλλωστε, η εκτιμώμενη επίπτωση της NAFLD και της μη αλκοολικής στεατοηπατίτιδας παγκοσμίως (περίπου 30% και 7%, αντίστοιχα) διπλασιάζεται μέσα σε έναν πληθυσμό διαβητικών ασθενών τύπου 2.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗ ΜΕ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗ ΣΤΑΦΙΔΑ ΣΕ ΥΓΙΕΙΣ ΚΑΠΝΙΣΤΕΣ

7.1 Σκοπός

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

7.2 Δείγμα

Το δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν καπνιστές καθώς:

- ✓ ο κίνδυνος για την εμφάνιση σειράς νοσημάτων είναι αυξημένος και συσχετίζεται με το οξειδωτικό στρες που επάγει η έκθεση στον καπνό του καπνίσματος
- ✓ έχει αναφερθεί πως οι καπνιστές έχουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών στο πλάσμα, ιδίως καρροτενοειδών, 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 αθηροσκλήρωση και ο καρκίνος
- ✓ η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία είναι ένα πρώιμο συμβάν στην αθηρογένεση που οδηγεί σε φλεγμονή, αγγειοσυστολή και θρόμβωση
- ✓ η ζημιά που προκαλείται στο ενδοθήλιο από τον εισπνεόμενο καπνό του τσιγάρου συμβάλλει στον αγγειακό τραυματισμό, την αθηρογένεση και τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου

Οι εθελοντές που συμμετείχαν στη μελέτη ήταν ενήλικες χρόνιοι βαρείς καπνιστές, με χαμηλή συμμόρφωση στις συστάσεις για την υιοθέτηση του Μεσογειακού διατροφικού προτύπου και είχαν φυσιολογικό ΔΜΣ. Τα κριτήρια επιλογής και αποκλεισμού παρουσιάζονται αναλυτικά στη συνέχεια.

Κριτήρια επιλογής

- Φαινομενικά υγιείς καπνιστές εθελοντές (άνδρες & γυναίκες)
- Ηλικία 20-40 έτη
- ΔΜΣ: 18,5-24,9 kg/m²
- >15 τσιγάρα/ημέρα για τουλάχιστον 2 χρόνια
- Σκορ υιοθέτησης Μεσογειακής Διατροφής (MedDietScore) ≤30

Κριτήρια αποκλεισμού

- 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

7.3 Σχεδιασμός μελέτης

Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών.

7.3.1 Προκαταρκτικό στάδιο

Επιλογή δείγματος

Η επιλογή του δείγματος πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια ενημερωτικών φυλλαδίων στους χώρους εκπαιδευτικών ιδρυμάτων της Αττικής. Εξήντα εθελοντές ανταποκρίθηκαν στο κάλεσμα για συμμετοχή στη μελέτη και ενημερώθηκαν σχετικά με τη διαδικασία που έπρεπε να ακολουθήσουν. Όσοι επιθυμούσαν να συμμετάσχουν ορίστηκε συνεδρία για λεπτομερή ενημέρωση. Η πρώτη επίσκεψη (baseline) των εθελοντών έγινε στο εργαστήριο της Α' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ. Κατά τη διάρκεια της πρώτης επίσκεψης συμπληρώθηκε το ερωτηματολόγιο της μελέτης (Παράρτημα 2) και έγινε λήψη ιατρικού ιστορικού. Οι εθελοντές που πληρούσαν τα κριτήρια επιλογής ενημερώθηκαν αναλυτικά για τη μελέτη, παρέλαβαν Πληροφοριακό Δελτίο, υπέγραψαν Δελτίο Συγκατάθεσης και ενσωματώθηκαν στη μελέτη με έναν κωδικό αναγνώρισης (**Σχήμα 7.1**).

Συμπλήρωση Ερωτηματολογίου

Το ερωτηματολόγιο της μελέτης περιελάμβανε 7 ενότητες:

✓ Γενικά Στοιχεία

Αφορούσε στοιχεία επικοινωνίας με τον εθελοντή, την επαγγελματική και οικογενειακή του κατάσταση καθώς και την ηλικία.

✓ Ιστορικό Καπνίσματος

Το ιστορικό του καπνίσματος εξέταζε το σύνολο των ετών που κάπνιζε ο εθελοντής, καθώς και τον αριθμό των τσιγάρων που κάπνιζε ημερησίως.

✓ Ιατρικό Ιστορικό

Η λήψη του ιατρικού ιστορικού ήταν απαραίτητη για να εξακριβωθεί η απουσία κάποιας παθολογικής κατάστασης και περιελάμβανε ερωτήσεις σχετικά με τη λήψη οποιασδήποτε φαρμακευτικής αγωγής ή τη λήψη αντιμικροβιακής θεραπείας για τους τελευταίους 3 μήνες.

✓ Ανθρωπομετρικά Χαρακτηριστικά

✓ Ιατρικές Μετρήσεις

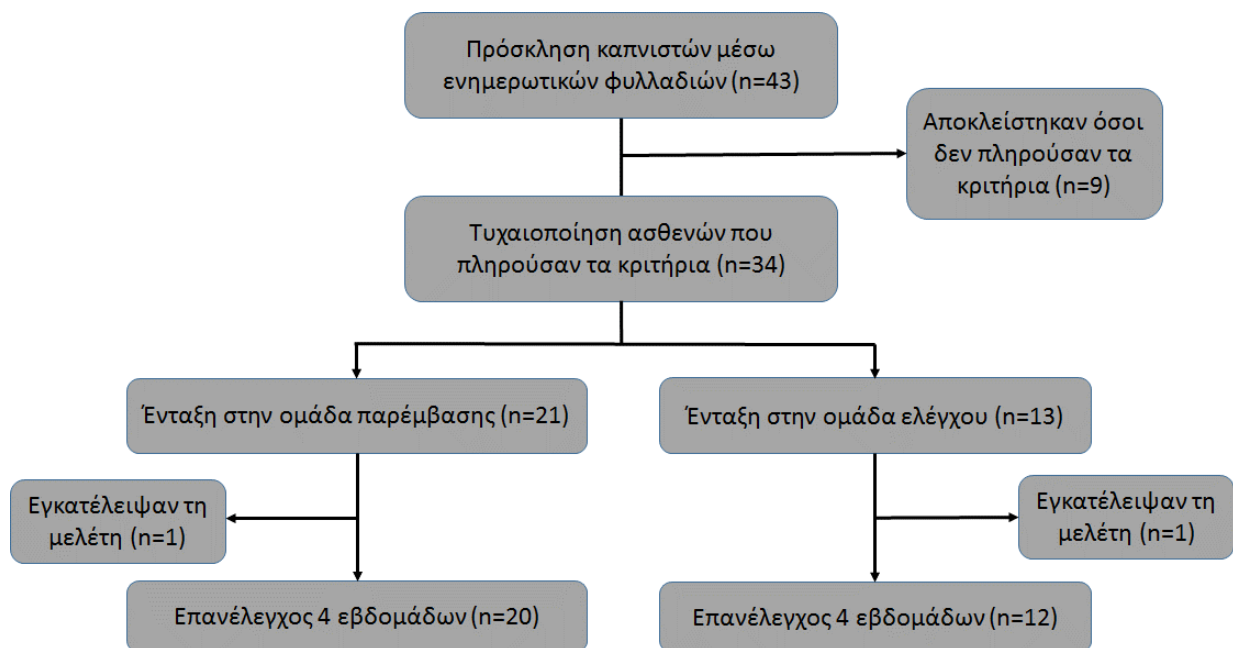
Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά καθώς και οι ιατρικές εξετάσεις παρουσιάζονται αναλυτικότερα στην ενότητα 6.4.

✓ Φυσική Δραστηριότητα

Η φυσική δραστηριότητα αξιολογήθηκε με βάση τη φυσική δραστηριότητα στο σπίτι, την εργασία και την διασκέδαση για τις 7 τελευταίες ημέρες πριν από την πρώτη επίσκεψη.

✓ Διατροφικές Συνήθειες

Οι διατροφικές συνήθειες εκτιμήθηκαν μέσω τόσο μέσω του υπολογισμού του Μεσογειακού Διατροφικού Σκορ (MedDietScore), το οποίο περιλαμβάνει 11 ερωτήσεις και αξιολογεί τη συμμόρφωση στη Μεσογειακή διατροφή, όσο και μέσω 2 ανακλήσεων 24ώρου (Παράρτημα 2).



Σχήμα 7.1 Διάγραμμα ροής της μελέτης

Αιμοληψία

Η αιμοληψία (40 mL) πραγματοποιήθηκε κατά την πρώτη επίσκεψη νωρίς το πρωί μετά από 12ωρη νηστεία και χωρίς οι εθελοντές να έχουν καπνίσει. Μετά από την αιμοληψία ακολούθησε απομόνωση ορού και πλάσματος (ενότητα 6.3.1).

Εργαστηριακές Μετρήσεις

Στα δείγματα ορού των εθελοντών πραγματοποιήθηκε μέτρηση των βασικών βιοχημικών παραμέτρων στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ. Χρηστέας» της Ιατρικής σχολής του ΕΚΠΑ (παρουσιάζονται αναλυτικά στην

ενότητα 7.4.3). Επίσης, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις δεικτών έκθεσης στο κάπνισμα (ενότητα 7.4.4), δεικτών οξειδωτικού στρες και φλεγμονής (ενότητα 7.4.5) και δεικτών ενδοθηλιακής λειτουργίας (ενότητα 7.4.6).

7.3.2 Στάδιο παρέμβασης

Κατά το στάδιο της παρέμβασης οι εθελοντές που ανήκαν στην ομάδα παρέμβασης κατανάλωναν ποσότητα σταφίδας ίση με 5 ισοδύναμα φρούτου κάθε μέρα για διάστημα 1 μήνα. Κατά τη διάρκεια της παρέμβασης, διατηρήθηκε επικοινωνία με τους εθελοντές μέσω αιφνίδιων ανακλήσεων 24ώρου τηλεφωνικώς για να ελεγχθεί η συμμόρφωσή τους στο πρωτόκολλο.

7.3.3 Στάδιο αξιολόγησης

Κατά το στάδιο αυτό πραγματοποιήθηκε επανεξέταση των εθελοντών 1 μήνα μετά από την ένταξή τους στην μελέτη. Επαναλήφθηκαν οι ιατρικές μετρήσεις και οι μετρήσεις των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών, καθώς και δεύτερη αιμοληψία για την ανάλυση των προαναφερθέντων εργαστηριακών αναλύσεων.

7.4 Κλινικο-εργαστηριακές μετρήσεις

7.4.1 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά που μετρήθηκαν περιλαμβάνουν σωματικό βάρος, ύψος, περιφέρεια μέσης στο ύψος των μείζονων τροχαντήρων και περιφέρεια ισχίων σε ύψος 12 cm από το άνω άκρο της επιγονατίδας. Ο Δείκτης Μάζας Σώματος υπολογίστηκε από τον τύπο $\text{Βάρος}/\text{Υψος}^2$ (Kg/m^2).

7.4.2 Μέτρηση αρτηριακής πίεσης

Η μέτρηση της αρτηριακής πίεσης και των σφυγμών έγιναν με χρήση ηλεκτρονικού πιεσόμετρου OMRON. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε 3 φορές για να υπολογιστεί ο μέσος όρος.

7.4.3 Μέτρηση βιοχημικών παραμέτρων

Η μέτρηση των βασικών βιοχημικών παραμέτρων έγινε άμεσα στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ. Χρηστέας» της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ. Στα δείγματα ορού των εθελοντών πραγματοποιήθηκε μέτρηση γλυκόζης νηστείας, ολικής, LDL και HDL χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων, ηπατικών ενζύμων (αλκαλική φωσφατάση, SGOT, SGPT, γGT), ουρίας, ουρικού οξέος, κρεατινίνης και ολικών λευκωμάτων.

7.4.4 Μέτρηση δεικτών έκθεσης στο κάπνισμα

Μέτρηση κοτινίνης πλάσματος

Η μέτρηση της κοτινίνης στο πλάσμα πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (Abnova, Heidelberg, Germany) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Αρχή μεθόδου

Η κοτινίνη αποτελεί μεταβολίτη της νικοτίνης και είναι καλός δείκτης της έκθεσης στο κάπνισμα, καθώς έχει μεγαλύτερο χρόνος ημιζωής από τη νικοτίνη. Τα δείγματα τοποθετούνται στην πλάκα μαζί με το ένζυμο της κοτινίνης. Η κοτινίνη ανταγωνίζεται το ένζυμο για τις θέσεις πρόσδεσης στα μονοκλωνικά αντίσωμα της πλάκας. Στην συνέχεια, προστίθεται το υπόστρωμα. Η ένταση του χρώματος είναι αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης της κοτινίνης. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης γίνεται με φωτομέτρηση στα 450 nm.

Αναλυτική πορεία

Αρχικά προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα πρότυπα και τα δείγματα. Στην πλάκα προστίθενται 10 μ L από τα πρότυπα, το τυφλό και τα δείγματα και 100 μ L από το διάλυμα του ενζύμου. Ακολουθεί, επώαση για 60 min σε σκοτεινό μέρος. Με το πέρας της επώασης η πλάκα πλένεται, ακολουθεί προσθήκη του αντιδραστηρίου σε ποσότητα 100 μ L και επώαση για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου σε σκοτεινό μέρος. Με το πέρας της επώασης γίνεται προσθήκη 100 μ L του διαλύματος τερματισμού της αντίδρασης. Ακολουθεί

φωτομέτρηση στα 450 nm μέσα σε 15 min από τον τερματισμό της αντίδρασης. Για την έκφραση των αποτελεσμάτων σε μM κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

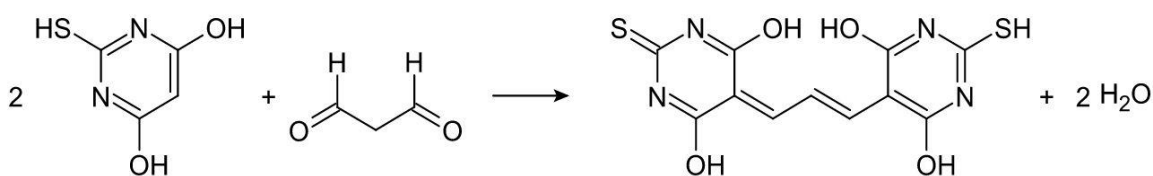
7.4.5 Μέτρηση δεικτών οξειδωτικού στρες και φλεγμονής

Μέτρηση μηλονικής διαλδεΐδης (MDA) πλάσματος

Η μέτρηση της MDA στο πλάσμα πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (Cell Biolabs, San Diego, USA) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Αρχή μεθόδου

Τα αντιδρώντα με το θειοβαρβιτουρικό οξύ συστατικά (TBARS) είναι μια καθιερωμένη δοκιμασία για τον έλεγχο και την ανίχνευση της υπεροξείδωσης των λιπιδίων. Η άγνωστη συγκέντρωση MDA που περιέχουν τα δείγματα ή τα πρότυπα αντιδρά πρώτα με TBA στους 95°C . Η μέθοδος βασίζεται στην χρωματομετρική αντίδραση ενός μορίου MDA με δύο μόρια TBA. Το σύμπλεγμα είναι χαρακτηριστικής ερυθρής χρώσης που απορροφά στα 532 nm.



Σχήμα 7.2 Σχηματισμός συμπλέγματος MDA-TBA

Αναλυτική πορεία

Αρχικά προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα. Σε erpendorf tubes προστίθενται 100 μL δείγματος ή προτύπου και 100 μL SDS Lysis Solution. Ακολουθεί επώαση για 5 min σε θερμοκρασία δωματίου. Προστίθενται 250 μL TBA σε κάθε erpendorf tube και επάζονται στους 95°C για 45-60 min. Ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 3.000 rpm για 15 min και παραλαβή του υπερκείμενου. Για την πρόληψη της παρεμβολής της

αιμοσφαιρίνης και των παραγώγων του ακολουθείται η παρακάτω διαδικασία: 300 μL από το υπερκείμενο μεταφέρονται σε καθαρό errendorf tube, προστίθενται 300 μL n-βουτανόλης, ακολουθεί ισχυρή ανάδευση και φυγοκέντρωση στις 10.000g για 5 min. Τέλος, μετράται η απορρόφηση στα 532 nm. Για την έκφραση των αποτελεσμάτων σε μM κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Για την καμπύλη αναφοράς γίνονται διαδοχικές αραιώσεις με ρυθμιστικό διάλυμα από μητρικό διάλυμα MDA (125 μM). Οι τελικές συγκεντρώσεις είναι 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81, 3,91, 1,95 και 0,98 μM . Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $y=f(x)$, όπου x η συγκέντρωση της MDA σε μM και y η απορρόφηση στα 532 nm.

Μέτρηση τελικών προϊόντων οξείδωσης πρωτεϊνών (AOPPs) πλάσματος

Η μέτρηση των AOPPs στο πλάσμα πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (Immundiagnostik AG, Bensheim, Germany) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Αρχή μεθόδου

Οι πρωτεΐνες υφίστανται οξειδωτική βλάβη που προκαλεί το οξειδωτικό στρες σχηματίζοντας προϊόντα οξείδωσης πρωτεϊνών (AOPPs). Η δοκιμασία βασίζεται στην φωτομέτρηση των τροποποιημένων πρωτεϊνών στα 340 nm.

Αναλυτική πορεία

Αρχικά, προετοιμάζονται όλα τα δείγματα και τα πρότυπα. Στα δείγματα πλάσματος προστίθεται αντιδραστήριο απολιπιδίωσης και έπειτα από επώαση τοποθετούνται στη φυγόκεντρο για 5 min (3.000g). Στη συνέχεια, γίνεται αραιώση στα δείγματα με ρυθμιστικό διάλυμα. Τα δείγματα, τα πρότυπα και το control τοποθετούνται στην πλάκα σε ποσότητα 200

μL το καθένα. Ακολουθεί άμεση μέτρηση της απορρόφησης στα 340 nm. Για την έκφραση των αποτελεσμάτων σε μM κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Για την καμπύλη αναφοράς γίνονται διαδοχικές αραιώσεις με ρυθμιστικό διάλυμα από μητρικό διάλυμα AOPs (100 μmol/L). Οι τελικές συγκεντρώσεις είναι 50, 25, 12,5 και 6,25 μmol/L. Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $y=f(x)$, όπου x η συγκέντρωση των AOPs σε μmol/L και y η απορρόφηση στα 340 nm.

Μέτρηση λεπτίνης ορού (Αναλύεται στην παράγραφο 6.4.2)

Μέτρηση CRP (hs-CRP) ορού (Αναλύεται στην παράγραφο 6.4.2)

7.4.6 Μέτρηση δεικτών ενδοθηλιακής λειτουργίας

Μέτρηση ICAM-1 ορού

Η μέτρηση του ICAM-1 ορού πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο (βλ. ενότητα 6.4.2) χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (Invitrogen, Camarillo, USA) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Εκτίμηση ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (FMD)

Αρχή μεθόδου

Η εκτίμηση της 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) και προοδευτικά καθιερώνεται ως μια αρκετά αξιόπιστη δοκιμασία της λειτουργικότητας του ενδοθηλίου σε εξειδικευμένα

εργαστήρια. Χρησιμοποιείται πολύ συχνά σε μελέτες που εξετάζουν την επίδραση της κατανάλωσης ενός γεύματος ή ενός τροφίμου στη λειτουργικότητα του ενδοθηλίου (Tentolouris et al., 2008). Βασίζεται στη μέτρηση (με υπερηχοτομογράφο) της διαμέτρου της βραχιονίου αρτηρίας τόσο πριν, όσο και μετά την πρόκληση ισχαιμίας. Ουσιαστικά, η FMD μετράται ως η ποσοστιαία μεταβολή της διαμέτρου της αρτηρίας και είναι ένας δείκτης της ικανότητας της αρτηρίας να παράγει μονοξείδιο του αζώτου (που προκαλεί διαστολή των αρτηριών). Οι μετρήσεις γίνονται μετά από 8ωρη νηστεία και χωρίς να έχει καπνίσει ο εξεταζόμενος (Karatzi et al., 2007).

Αναλυτική πορεία

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 πραγματοποιούνται 3 διαδοχικές μετρήσεις. Η ίδια διαδικασία μέτρησης της ταχύτητας ροής και της διαμέτρου της βραχιονίου επαναλαμβάνεται μετά από ισχαιμία, που εφαρμόζεται για 5 min (3 μετρήσεις αμέσως μετά την ισχαιμία ανά 30 s η κάθε μία). Η ισχαιμία επιτυγχάνεται με περισφιξη του δεξιού αντιβραχίου, 15 cm 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 cm κεντρικότερα από τον αγκώνα και στο τέλος της καρδιακής διαστολής (η οποία αντιστοιχεί στην κορυφή του QRS επάρματος του ηλεκτροκαρδιογραφήματος). Ταυτόχρονα με τη μέτρηση της 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:

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

Εκτίμηση ταχύτητας αγωγής του σφυγμικού κύματος (PWV)

Αρχή μεθόδου

Η μέτρηση της ταχύτητας του σφυγμικού κύματος (PWV) αποτελεί μια αναγνωρισμένη, για την αξιοπιστία της, μέθοδο μέτρησης της ελαστικότητας των αρτηριών με επαναληψιμότητα, άρα και του καρδιαγγειακού κινδύνου (Vlachopoulos et al., 2010). 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.

Αναλυτική πορεία

Η διαδικασία που περιγράφεται έχει χρησιμοποιηθεί σε παλιότερες μελέτες (Eleftheriadou et al., 2013). Η τονομέτρηση πραγματοποιείται με την ειδική συσκευή SphygmoCor (AtCorMedical, Sydney, Australia), αφού ο εθελοντής έχει παραμείνει σε ύπτια θέση για 15 min και σύμφωνα με τις δημοσιευμένες κατευθυντήριες οδηγίες (Laurent et al., 2006). Για να υπολογισθεί η ταχύτητα του σφυγμικού κύματος θα πρέπει αρχικά να μετρηθούν, με μεζούρα, οι 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. Για τη λήψη της κυματομορφής χρησιμοποιείται ένα ενιαίο τονόμετρο επιπέδωσης υψηλής πιστότητας (Millar) συνδεδεμένο με τη συσκευή ανάλυσης κυματομορφής, με ταυτόχρονη καταγραφή ηλεκτροκαρδιογραφήματος τριών ηλεκτροδίων. 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 και εκφράζεται σε m/s.

7.5 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο SPSS (SPSS for Windows, version 23.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Αρχικά, εξετάστηκε η κανονικότητα όλων των μεταβλητών χρησιμοποιώντας το Kolmogorov-Smirnov test. Για τις μεταβλητές που ακολουθούν κανονική κατανομή εφαρμόστηκε T-test. Για τις μεταβλητές που δεν ακολουθούν κανονική κατανομή εφαρμόστηκαν μη παραμετρικά test (Mann-Whitney test, Wilcoxon test). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο $p<0,05$.

7.6 Αποτελέσματα

7.6.1 Χαρακτηριστικά του δείγματος

Από τους 34 υγιείς καπνιστές, οι οποίοι ξεκίνησαν την παρέμβαση, 32 ολοκλήρωσαν το πρωτόκολλο, 12 στην ομάδα ελέγχου και 20 στην ομάδα παρέμβασης. Κανένας από τους εθελοντές στην ομάδα που κατανάλωναν Κορινθιακή σταφίδα δεν ανέφερε κάποια ενόχληση από την καθημερινή κατανάλωση του τροφίμου. Τα βασικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, όπως η ηλικία, τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και η αρτηριακή πίεση, δεν διέφεραν μεταξύ της ομάδας παρέμβασης και της ομάδας ελέγχου στην αρχή της μελέτης και επομένως οι 2 ομάδες παρουσιάζουν ομοιογένεια ως προς τα συγκεκριμένα χαρακτηριστικά (**Πίνακας 7.1**).

Πίνακας 7.1 Χαρακτηριστικά των εθελοντών στην έναρξη της μελέτης ανά ομάδα (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)

	Ομάδα Ελέγχου <i>n</i> =12	Ομάδα Παρέμβασης <i>n</i> =20	<i>p</i>
Ηλικία (έτη)	29,2±1,4	30,6±1,7	0,584
Φύλο (<i>n</i>)			
Άνδρες	9	15	
Γυναίκες	3	5	
Έτη καπνίσματος	11,9±1,4	12,1±1,4	0,930

Αριθμός τσιγάρων/ημέρα	18,1±2,9	15,2±1,4	0,317
MedDietScore	28,8±1,5	29,6±1,2	0,687
Σωματικό Βάρος (Kg)	75,1±3,9	79,8±2,9	0,339
ΔΜΣ (Kg/m ²)	23,9±0,9	24,7±0,6	0,462
Περίμετρος Μέσης (cm)	89,9±3,8	93,3±2,5	0,446
Περίμετρος Ισχίων (cm)	99,1±1,9	101,8±1,3	0,229
Συστολική ΑΠ (mm Hg)	117,2±2,8	117,2±1,8	0,993
Διαστολική ΑΠ (mm Hg) [#]	77,1±2,2	74,7±1,9	0,507
Καρδιακοί Σφυγμοί (min ⁻¹)	68,1±3,4	63,8±2,2	0,275

ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος, MedDietScore: Σκορ Υιοθέτησης Μεσογειακής Διατροφής

p-value: Σύγκριση διαφορών μεταξύ των ομάδων ελέγχου και παρέμβασης στην αρχή της μελέτης μέσω Independent sample T-test ή Mann-Whitney test[#]

Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας p<0,05

Στον **Πίνακα 7.2** παρουσιάζονται τα βιοχημικά χαρακτηριστικά, οι δείκτες οξειδωτικού στρες, φλεγμονής και ενδοθηλιακής λειτουργίας των συμμετεχόντων κατά την ένταξή τους στην μελέτη, καθώς και η κοτινίνη ως δείκτης έκθεσης στο κάπνισμα. Οι δύο ομάδες παρουσιάζουν ομοιογένεια ως προς τα χαρακτηριστικά αυτά.

Πίνακας 7.2 Βιοχημικές παράμετροι, δείκτες οξειδωτικού στρες, φλεγμονής και ενδοθηλιακής λειτουργίας των συμμετεχόντων κατά την ένταξη στη μελέτη (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)

	Ομάδα Ελέγχου <i>n</i> =12	Ομάδα Παρέμβασης <i>n</i> =20	<i>p</i>
Γλυκόζη νηστείας (mg/dL) [#]	90,8±2,6	89,7±2	0,662
Ολική Χοληστερόλη (mg/dL)	186,7±7,9	183,2±7,9	0,773
HDL-Χοληστερόλη (mg/dL)	52,8±3,6	58,2±2,1	0,174
LDL-Χοληστερόλη (mg/dL)	110,8±7,5	105,1±7	0,601
Τριγλυκερίδια (mg/dL) [#]	115±20,1	99,8±10,9	0,667
Κρεατινίνη (mg/dL) [#]	1±0,0	0,9±0,0	0,060
Ουρία (mg/dL) [#]	32±1,5	30,3±1,3	0,340
Ουρικό οξύ (mg/dL)	5,1±0,5	5±0,2	0,869
Αλκαλική φωσφατάση (U/L)	68,1±5,2	67,3±3,9	0,898

γ-GT (U/L)	27,2±2,2	26,8±2	0,896
SGOT(U/L) #	27,5±3,9	21,1±1,2	0,241
SGPT (U/L) #	25,7±4,3	19,2±1,7	0,212
Ολικές πρωτεΐνες (g/dL) #	7,3±0,1	7,4±0,1	0,799
Κοτινίνη (μM)	94,7±3,6	85,1±3,9	0,105
CRP (μg/mL) #	1,5±0,6	1,9±0,3	0,259
MDA (μM) #	5,1±0,6	4,3±0,3	0,402
Λεπτίνη (pg/mL)	10,7±1,9	13,2±2,1	0,424
AOOPs (μM)	5,1±0,4	4,6±0,2	0,177
ICAM-1 (ng/mL) #	387,6±38,1	353,9±15,8	0,627
Carotid-Radial PWV (m/s)	6,2±0,3	6±0,2	0,680
Carotid-Femoral PWV (m/s)	6,6±0,3	6,4±0,2	0,481
FMD (%)	3,8±0,6	2,7±0,4	0,104

CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, MDA: Μηλονική διαλδεΰδη, AOOPs: Τελικά προϊόντα οξειδωσης πρωτεϊνών, Carotid-Radial PWV: Ταχύτητα αγωγής σφυγμικού κύματος καρωτίδας-κερκιδικής, Carotid-Femoral PWV: Ταχύτητα αγωγής σφυγμικού κύματος καρωτίδας-μηριαίας, FMD: Ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, ICAM-1: Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1

p-value: Σύγκριση διαφορών μεταξύ των ομάδων ελέγχου και παρέμβασης στην αρχή της μελέτης μέσω Independent sample T-test ή Mann-Whitney test[#]

Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p < 0,05$

7.6.2 Επίπεδα των υπό μελέτη μεταβλητών πριν και μετά από την παρέμβαση

Στον **Πίνακα 7.3** παρουσιάζονται οι μεταβολές τόσο στην ομάδα ελέγχου όσο και στην ομάδα παρέμβασης ανάμεσα στις δύο χρονικές στιγμές (πριν και μετά από την παρέμβαση) όσον αφορά τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και την αρτηριακή πίεση. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων στο τέλος της παρέμβασης ως προς τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, την αρτηριακή πίεση και τους καρδιακούς σφυγμούς.

Πίνακας 7.3 Διαφορές στα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά ανάμεσα στις δύο ομάδες πριν και μετά από την παρέμβαση (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)

Μεταβλητή	Ομάδα	Πριν	Μετά	p	p*
Σωματικό Βάρος (Kg)	Ελέγχου	75,1±3,9	74,6±3,8	0,425	0,371

	Σταφίδα	79,8±2,9	79,8±2,8	1,000	
ΔΜΣ (Kg/m ²)	Ελέγχου	23,9±0,9	23,8±0,8	0,398	0,294
	Σταφίδα	24,7±0,6	24,7±0,6	0,769	
Περίμετρος Μέσης (cm)	Ελέγχου	89,9±3,8	90,1±3,5	0,357	0,210
	Σταφίδα	93,3±2,5	93,2±2,5	0,658	
Περίμετρος Ισχίου (cm)	Ελέγχου	99,1±1,9	99,2±1,8	0,894	0,875
	Σταφίδα	101,8±1,3	102±1,2	0,509	
Συστολική ΑΠ (mm Hg)	Ελέγχου	117,2±2,8	117,5±2,9	0,799	0,582
	Σταφίδα	117,2±2,2	115,7±2,4	0,543	
Διαστολική ΑΠ (mm Hg) [#]	Ελέγχου	77,1±2,2	75,4±2,9	0,432	0,876
	Σταφίδα	74,7±1,9	73,3±1,9	0,380	
Καρδιακοί Σφυγμοί (min ⁻¹)	Ελέγχου	68,1±3,4	69,5±2,3	0,613	0,767
	Σταφίδα	63,8±2,2	64,3±2,1	0,816	

p-value: Σύγκριση διαφορών πριν και μετά την παρέμβαση στην κάθε ομάδα μέσω paired sample t-test ή Wilcoxon test[#]

*p-value: Σύγκριση διαφορών στο τέλος της παρέμβασης μεταξύ των 2 ομάδων μέσω Independent sample t-test ή Mann-Whitney test[#]

Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας p<0,05

Στον **Πίνακα 7.4** παρουσιάζονται οι μεταβολές τόσο στην ομάδα ελέγχου όσο και στην ομάδα παρέμβασης ανάμεσα στις δύο χρονικές στιγμές (πριν και μετά από την παρέμβαση) όσον αφορά τους βιοχημικούς δείκτες.

Πίνακας 7.4 Διαφορές στις βιοχημικές παραμέτρους ανάμεσα στις δύο ομάδες (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)

Μεταβλητή	Ομάδα	Πριν	Μετά	p	p*
Γλυκόζη (mg/dL) [#]	Ελέγχου	90,8±2,6	85,6±2,7	0,082	0,128
	Σταφίδα	89,7±2	89,4±2,1	0,809	
Ολική Χολ.(mg/dL)	Ελέγχου	186,7±7,9	178,8±6,9	0,310	0,755
	Σταφίδα	183,2±7,9	177,9±7,3	0,246	
HDL-Χολ. (mg/dL)	Ελέγχου	52,8±3,6	51,2±3,7	0,182	0,128
	Σταφίδα	58,2±2,1	58±2,1	0,297	

LDL-Χολ. (mg/dL)	Ελέγχου	110,8±7,5	102,2±4,8	0,256	0,714
	Σταφίδα	105,1±7	99,3±7,1	0,179	
Τριγλυκερίδια (mg/dL) #	Ελέγχου	115±20,6	121,2±20	0,789	0,812
	Σταφίδα	99,8±10,9	102,2±10,6	0,392	
Κρεατινίνη (mg/dL) #	Ελέγχου	1±0,0	1±0,0	0,499	1,000
	Σταφίδα	0,9±0,2	0,9±0,0	0,115	
Ουρία (mg/dL) #	Ελέγχου	32±1,5	35,1±2	0,325	0,587
	Σταφίδα	30,3±1,3	32,1±1,3	0,134	
Ουρικό οξύ (mg/dL)	Ελέγχου	5,1±0,5	4,9±0,4	0,584	0,560
	Σταφίδα	5±0,2	5±0,2	0,968	
Αλκαλική φωσφ. (U/L)	Ελέγχου	68,1±5,2	73,7±5,8	0,093	0,349
	Σταφίδα	67,3±3,9	68,6±3,1	0,649	
γ-GT (U/L)	Ελέγχου	27,2±2,2	24,9±2,5	0,114	0,064
	Σταφίδα	26,8±2	28±2	0,298	
SGOT (mg/dL) #	Ελέγχου	27,5±3,9	27±3	0,906	0,841
	Σταφίδα	21,1±1,2	21,2±1,1	0,877	
SGPT (mg/dL) #	Ελέγχου	25,7±4,3	26,1±4,4	0,919	0,771
	Σταφίδα	19,2±1,7	18,4±1,5	0,467	
Ολικές πρωτεΐνες (g/dL) #	Ελέγχου	7,3±0,1	7,3±0,1	0,688	0,441
	Σταφίδα	7,4±0,1	7,3±0,1	0,468	
Κοτινίνη (μM) #	Ελέγχου	94,7±3,6	93,9±3,6	0,764	0,843
	Σταφίδα	85,1±3,9	83,4±5,2	0,597	

p-value: Σύγκριση διαφορών πριν και μετά την παρέμβαση στην κάθε ομάδα μέσω paired sample t-test ή Wilcoxon test[#]

*p-value: Σύγκριση διαφορών στο τέλος της παρέμβασης μεταξύ των 2 ομάδων μέσω Independent sample t-test ή Mann-Whitney test[#]

Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p < 0,05$

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται πως δεν υπάρχει σημαντική διαφορά σε καμία από τις βιοχημικές παραμέτρους που εξετάστηκαν τόσο μεταξύ των δύο χρονικών στιγμών στην κάθε ομάδα όσο και μεταξύ των δύο ομάδων. Επιπλέον, τα επίπεδα της κοτινίνης παρέμειναν αμετάβλητα μετά από την παρέμβαση των 4 εβδομάδων και στις δύο ομάδες. Η κοτινίνη αποτελώντας τον κύριο μεταβολίτη της νικοτίνης παρέχει πληροφορίες σχετικά με τις

καπνιστικές συνήθειες των καπνιστών και μετρώντας τα επίπεδά της στο αίμα μπορούμε να ελέγξουμε τυχόν διαφοροποιήσεις στον αριθμό των τσιγάρων γεγονός που θα επηρέαζε πιθανόν τα αποτελέσματα της μελέτης.

Στον **Πίνακα 7.5** παρουσιάζονται οι μεταβολές τόσο στην ομάδα ελέγχου όσο και στην ομάδα παρέμβασης ανάμεσα στις δύο χρονικές στιγμές (πριν και μετά από την παρέμβαση) όσον αφορά τους δείκτες οξειδωτικού στρες και φλεγμονής.

Πίνακας 7.5 Διαφορές στους δείκτες οξειδωτικού στρες και φλεγμονής ανάμεσα στις δύο ομάδες (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)

Μεταβλητή	Ομάδα	Πριν	Μετά	p	p*
CRP (μg/mL) #	Ελέγχου	1,5±0,6	2±0,8	0,239	0,716
	Σταφίδα	1,9±0,3	2,7±0,7	0,717	
MDA (μM) #	Ελέγχου	5,1±0,6	4,4±0,3	0,117	0,113
	Σταφίδα	4,3±0,3	4,5±0,4	0,433	
Λεπτίνη (pg/mL)	Ελέγχου	10,7±1,9	10,5±1,5	0,776	0,753
	Σταφίδα	13,2±2,1	13,5±2	0,813	
AOPs (μM)	Ελέγχου	5,1±0,4	4,6±0,2	0,066	0,276
	Σταφίδα	4,6±0,2	4,5±0,2	0,631	

CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, MDA: Μηλονική διαλδεΐδη, AOPs: Τελικά προϊόντα οξείδωσης πρωτεϊνών

p-value: Σύγκριση διαφορών πριν και μετά την παρέμβαση στην κάθε ομάδα μέσω paired sample t-test ή Wilcoxon test[#]

*p-value: Σύγκριση διαφορών στο τέλος της παρέμβασης μεταξύ των 2 ομάδων μέσω Independent sample t-test ή Mann-Whitney test[#]

Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας p<0,05

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές για τους δείκτες οξειδωτικού στρες και φλεγμονής που μελετήθηκαν ούτε μεταξύ αρχής και τέλους της παρέμβασης στην κάθε ομάδα ούτε μεταξύ των δύο ομάδων στο τέλος της παρέμβασης.

Στον **Πίνακα 7.6** παρουσιάζονται οι μεταβολές τόσο στην ομάδα ελέγχου όσο και στην ομάδα παρέμβασης ανάμεσα στις δύο χρονικές στιγμές (πριν και μετά από την παρέμβαση) όσον αφορά τους δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας και αρτηριακής σκληρίας.

Πίνακας 7.6 Διαφορές στους δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας και αρτηριακής σκληρίας ανάμεσα στις δύο ομάδες (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)

Μεταβλητή	Ομάδα	Πριν	Μετά	p	p*
Carotid-Radial PWV (m/s)	Ελέγχου	6,2±0,3	5,8±0,3	0,072	0,051
	Σταφίδα	6±0,2	6,1±0,2	0,444	
Carotid-Femoral PWV (m/s)	Ελέγχου	6,6±0,3	6,8±0,2	0,588	0,555
	Σταφίδα	6,4±0,2	6,4±0,2	0,855	
FMD (%)	Ελέγχου	3,8±0,6	3,9±0,7	0,925	0,907
	Σταφίδα	2,7±0,4	2,9±0,5	0,602	
ICAM-1 (ng/mL) [#]	Ελέγχου	387,6±38,1	414,3±44,1	0,347	0,117
	Σταφίδα	353,9±15,8	327,5±12,9	0,232	

Carotid-Radial PWV: Ταχύτητα αγωγής σφυγμικού κύματος καρωτίδας-κερκιδικής, Carotid-Femoral PWV: Ταχύτητα αγωγής σφυγμικού κύματος καρωτίδας-μηριαίας, FMD: Ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, ICAM-1: Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1

p-value: Σύγκριση διαφορών πριν και μετά την παρέμβαση στην κάθε ομάδα μέσω paired sample t-test ή Wilcoxon test[#]

*p-value: Σύγκριση διαφορών στοτέλος της παρέμβασης μεταξύ των 2 ομάδων μέσω Independent sample t-test ή Mann-Whitney test[#]

Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας p<0,05

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές για τους δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας και αρτηριακής σκληρίας ούτε μεταξύ αρχής και τέλους της παρέμβασης στην κάθε ομάδα ούτε μελέτη μεταξύ των δύο ομάδων στο τέλος της παρέμβασης.

Στον **Πίνακα 7.7** παρουσιάζονται κάποιες μεταβλητές οι οποίες μετά από κατηγοριοποίηση ανάλογα με το φύλο των εθελοντών παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ομάδα παρέμβασης με σταφίδα μεταξύ των δύο χρονικών στιγμών. Παρατηρήθηκε μια σημαντική μείωση στη διαστολική αρτηριακή πίεση, την ολική χοληστερόλη και την LDL χοληστερόλη στις γυναίκες της ομάδας παρέμβασης στο τέλος της μελέτης.

Πίνακας 7.7 Διαφορές σε εξεταζόμενες μεταβλητές στην ομάδα παρέμβασης με σταφίδα μετά από κατηγοριοποίηση ανάλογα με το φύλο (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα)

Μεταβλητή	Ομάδα	Πριν	Μετά	p
Διαστολική ΑΠ [#] (mm Hg)	Άνδρες	74,7±2,2	75,2±2,1	0,754
	Γυναίκες	74,6±4,2	67,4±2,6	0,043
Ολική χολ. (mg/dL)	Άνδρες	185,7±10,3	181,7±9,4	0,510
	Γυναίκες	175,8±7	166,6±6,6	<0,001
LDL-χολ. (mg/dL)	Άνδρες	108±8,8	102,7±8,8	0,356
	Γυναίκες	96,2±9,6	89±10,5	0,012

p-value: Σύγκριση διαφορών πριν και μετά την παρέμβαση στην κάθε ομάδα μέσω paired sample t-test ή Wilcoxon test[#]

Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας p<0,05

7.7 Συζήτηση

Όπως φάνηκε από τα αποτελέσματα της παρέμβασης που πραγματοποιήθηκε σε υγιείς καπνιστές, η κατανάλωση ποσότητας σταφίδας ίσης με 5 ισοδύναμα φρούτου καθημερινά για διάστημα 4 εβδομάδων, δεν έδειξε σημαντική επίδραση στην ενδοθηλιακή λειτουργία και στην αρτηριακή σκληρία, καθώς και στους δείκτες οξειδωτικού στρες και φλεγμονής. Σύμφωνα με άλλες μελέτες έχει αναδειχθεί ο ρόλος των πολυφαινόλων έναντι της καρδιαγγειακής νόσου που εξέτασαν την επίδραση τροφίμων πλούσιων σε αντιοξειδωτικά και πολυφαινόλες, όπως το κακάο, τα αμύγδαλα και η μπύρα. Οι Vlachopoulos et al. (2005) μελέτησαν την επίδραση της μαύρης σοκολάτας πλούσιας σε флаβονοειδή (100 g) στην ενδοθηλιακή λειτουργία, την αρτηριακή σκληρία, τις ανακλάσεις σφυγμικών κυμάτων και την οξειδοαναγωγική κατάσταση. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν βελτίωση της τιμής της FMD, κατά τα πρώτα 60 min της μελέτης, μείωση των ανακλάσεων σφυγμικών κυμάτων κατά τη διάρκεια όλης της μελέτης (3 h), ενώ δεν παρατήρησαν διαφορά στην αρτηριακή σκληρία όπως προσδιορίστηκε από την PWV και την οξειδοαναγωγική κατάσταση που εκτιμήθηκε με προσδιορισμό της MDA πλάσματος και της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας. Σε άλλη μελέτη, οι ίδιοι ερευνητές αξιολόγησαν τη συνήθη πρόσληψη κακάο σε 198 υγιείς εθελοντές (58% καπνιστές) χρησιμοποιώντας ερωτηματολόγιο πρόσληψης κακάο. Φάνηκε ότι τόσο η χαμηλή όσο και η υψηλή κατανάλωση κακάο συσχετίζονταν με μικρότερη τιμή PWV συγκριτικά με αυτούς που δεν κατανάλωναν κακάο. Επίσης, η υψηλή κατανάλωση κακάο

συσχετίστηκε με χαμηλότερη πίεση παλμού. Τα δύο αυτά ευρήματα παρουσίαζαν ανεξάρτητη συσχέτιση, αφού έγινε έλεγχος για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες, όπως η κατανάλωση καφέ (Vlachopoulos et al., 2007).

Οι Li et al. (2007) εξέτασαν την χορήγηση 84 g αμυγδάλων για 4 εβδομάδες σε 60 υγιείς άντρες καπνιστές και σε 30 μη καπνιστές. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι οι καπνιστές παρουσίαζαν αυξημένα επίπεδα 8-υδροξυ-δεοξυ-γουανοσίνης (8-OHdG) κατά 185% και MDA κατά 24%, ενώ παράλληλα η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPX) και η καταλάση εμφανίζονταν μειωμένες κατά 15%, 10% και 9% αντίστοιχα. Μετά από την παρέμβαση με αμύγδαλα στην ομάδα των καπνιστών παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων α-τοκοφερόλης στον ορό, SOD και GPX κατά 10%, 35% και 16% αντίστοιχα, ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε μείωση της 8-OHdG κατά 28% και της MDA κατά 34%. Τα ευρήματα αυτά συνιστούν βελτίωση της αντιοξειδωτικής άμυνας και των δεικτών οξειδωτικής βλάβης στους καπνιστές.

Επιπλέον, οι Karatzi et al. (2013) σε μια πρόσφατη μελέτη που διεξήγαγαν σε 17 υγιείς μη καπνιστές άντρες έδειξαν ότι η κατανάλωση 400 mL μύρας μειώνει την αρτηριακή σκληρία, όπως προσδιορίστηκε μέσω της PWV, συγκριτικά με την κατανάλωση ποσότητας βότκας (που περιείχε ίση ποσότητα αλκοόλ με τα 400 mL μύρας) και την κατανάλωση μύρας χωρίς αλκοόλ (σε ποσότητα που περιείχε την ίδια ποσότητα πολυφαινόλων). Επίσης, φάνηκε ότι οι ανακλάσεις σφυγμικών κυμάτων μειώθηκαν σημαντικά και στις 3 κατηγορίες: στην μύρα μειώθηκαν κατά 9,2%, στην μύρα χωρίς αλκοόλ μειώθηκαν 2,8% και στη βότκα 9,5%). Τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να εξηγηθούν πιθανόν από τη συνεργιστική δράση του αλκοόλ με τα αντιοξειδωτικά της μύρας στην ενδοθηλιακή λειτουργία κατά την οξεία κατανάλωσή της.

Αναφορικά με την κατανάλωση φρούτων ή χυμών φρούτων και την επίδρασή τους σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας έχουν αναφερθεί κάποιες πρόσφατες μελέτες. Στη μελέτη των Dohadwala et al. (2011) εξετάστηκε η επίδραση της χορήγησης χυμού κράνμπερι εμπλουτισμένου με πολυφαινόλες στην αγγειακή λειτουργία ασθενών με στεφανιαία νόσο και φάνηκε μείωση της PWV στην ομάδα κατανάλωσης του χυμού κράνμπερι έναντι εικονικού φαρμάκου. Ωστόσο, ο χυμός που χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη αυτή ήταν εμπλουτισμένος με φαινολικά συστατικά, σε αντίθεση με την παρούσα μελέτη όπου χορηγήθηκε ένα φυσικά

αποξηραμένο φρούτο σε ποσότητα ίση με 5 ισοδύναμα φρούτου καλύπτοντας την ελάχιστη ημερήσια κατανάλωση φρούτων και λαχανικών βάσει των συστάσεων.

Σε μια άλλη πρόσφατη μελέτη (Johnson et al., 2015) εξετάστηκε η καθημερινή κατανάλωση σκόνης κατεψυγμένων blueberries για διάστημα 8 εβδομάδων σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με προ-υπέρταση και υπέρταση σταδίου 1. Στο τέλος της παρέμβασης φάνηκε μια σημαντική μείωση στη συστολική ($p<0,05$) και τη διαστολική αρτηριακή πίεση του αίματος ($p<0,01$) καθώς και στην ταχύτητα αγωγής σφυγμικού κύματος βραχιονίου-κνήμης από τα αρχικά επίπεδα στην ομάδα που κατανάλωνε τη σκόνη blueberries. Παράλληλα, τα επίπεδα του μονοξειδίου του αζώτου ήταν μεγαλύτερα στην ομάδα παρέμβασης χωρίς μεταβολές στην ομάδα ελέγχου. Ωστόσο, σε μια παλιότερη μελέτη (McAnulty et al., 2005) όπου χορηγήθηκαν 250 g blueberries καθημερινά για 3 εβδομάδες σε χρόνιους υγιείς καπνιστές, πληθυσμό αντίστοιχο με της παρούσας μελέτης, δεν φάνηκε καμία επίδραση στα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης και των δεικτών οξειδωτικού στρες που αξιολογήθηκαν. Παράλληλα, δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στο αντιοξειδωτικό δυναμικό του αίματος στο τέλος της παρέμβασης. Στην παρούσα μελέτη, επίσης, δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση μετά από την παρέμβαση με 90 g σταφίδας για 4 εβδομάδες. Κοινό χαρακτηριστικό των δύο μελετών ήταν ότι το δείγμα αποτελούσαν νέοι υγιείς χρόνιοι καπνιστές ενώ η διάρκεια της παρέμβασης ήταν 3-4 εβδομάδες. Η διάρκεια της παρέμβασης αποτελεί έναν πιθανό περιορισμό της παρούσας μελέτης. Επιπλέον, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι οι καπνιστές αντιδρούν διαφορετικά από τους μη καπνιστές στις διαιτητικές παρεμβάσεις (Alvarez-Parrilla et al., 2010, Chopra et al., 2000). Το γεγονός αυτό μπορεί να εξηγήσει τη διαφορετική επίδραση της κατανάλωσης blueberries που φάνηκε στις προαναφερθείσες μελέτες αλλά και τη διαφορετική επίδραση της κατανάλωσης σταφίδας που παρατηρήθηκε στις μελέτες της παρούσας διατριβής. Μια πιθανή εξήγηση για τη διαφορετική επίδραση της κατανάλωσης σταφίδας στους καπνιστές σε σχέση με τους μη καπνιστές εθελοντές που συμμετείχαν στη μελέτη ελέγχου της βιοδιαθεσιμότητας των φυτοχημικών συστατικών της σταφίδας, που παρουσιάζεται αναλυτικά στο Κεφαλαίο 4, θα μπορούσε να είναι ότι το φαινολικό περιεχόμενο που χορηγήθηκε μέσω της κατανάλωσης σταφίδας δεν ήταν επαρκές για να εξουδετερώσει τις ελεύθερες ρίζες που παράγονται από το κάπνισμα (Alvarez-Parrilla et al., 2010).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ ΣΕ ΟΡΜΟΝΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΟΡΕΞΗ

8.1 Σκοπός

Η μελέτη σχεδιάστηκε για να αξιολογήσει τη μεταγευματική επίδραση της κατανάλωσης Κορινθιακής σταφίδας σε υγιείς εθελοντές στα επίπεδα ορμονών που σχετίζονται με την όρεξη και τον κορεσμό.

8.2 Δείγμα

Δέκα φαινομενικά υγιή άτομα, ηλικίας μεταξύ 20 και 40 ετών χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη. Τα άτομα που συμμετείχαν στη μελέτη έπρεπε να μην ακολουθούν κάποια ειδική δίαιτα και να μην καταναλώνουν συμπληρώματα διατροφής.

8.3 Σχεδιασμός μελέτης

Ο σχεδιασμός της μελέτης και το ερευνητικό πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου. Οι εθελοντές ύστερα από 12ωρη ολονύκτια νηστεία, προσήλθαν στο Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων. Πραγματοποιήθηκε μέτρηση του βάρους, του ύψους και της περιμέτρου μέσης των εθελοντών, ενώ υπολογίστηκε ο Δείκτης Μάζας Σώματος μέσω του τύπου $ΔΜΣ = \frac{\text{βάρος (Kg)}}{\text{ύψος}^2 (\text{m}^2)}$.

Χρησιμοποιώντας τον τυχαιοποιημένο διασταυρούμενο σχεδιασμό, τα άτομα σε τυχαία σειρά δύο ξεχωριστές ημέρες κατανάλωσαν Κορινθιακή σταφίδα ή διάλυμα γλυκόζης ως διάλυμα αναφοράς με ένα ελάχιστο διάστημα τριών ημερών μεταξύ κάθε επίσκεψης. Τα άτομα είχαν ενημερωθεί να απέχουν από έντονη άσκηση την προηγούμενη ημέρα κάθε επίσκεψης. Την ημέρα της δοκιμασίας, τα άτομα προσήλθαν στο εργαστήριο μετά από 12ωρη ολονύκτια νηστεία, τοποθετήθηκε φλεβοκαθετήρας και έγινε λήψη αίματος πριν από την κατανάλωση (χρόνος 0). Στη συνέχεια, ο κάθε εθελοντής κατανάλωσε ποσότητα 74 g σταφίδων ή διάλυμα γλυκόζης (50 g γλυκόζης σε 240 mL νερού). Ακολούθησε συλλογή

δειγμάτων αίματος σε χρόνους 60, 120, και 180 min μεταγευματικά. Ακολούθησε απομόνωση ορού και πλάσματος ύστερα από φυγοκέντρηση των δειγμάτων στις 3.000 rpm για 10 min στους 4°C. Τα δείγματα ορού και πλάσματος αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι την ανάλυση των εξεταζόμενων μεταβλητών. Κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας, οι συμμετέχοντες δεν επιτρεπόταν να καταναλώσουν φαγητό ή ποτό.

8.4 Εργαστηριακές μετρήσεις

Μέτρηση γαστρικού ανασταλτικού πολυπεπτιδίου (GIP) και γλυκαγονόμορφου πεπτιδίου-1 (GLP-1) ορού

Η μέτρηση των GIP και GLP-1 στον ορό πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (EMD Millipore Corporation, Missouri) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Μέτρηση απελίνης ορού

Η μέτρηση της απελίνης ορού πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (Cloud-Clone Corp., Houston, USA) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Μέτρηση γκρελίνης πλάσματος

Η μέτρηση της γκρελίνης πλάσματος πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (BioVendor, Heidelberg, Germany) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Μέτρηση ομπεστατίνης ορού

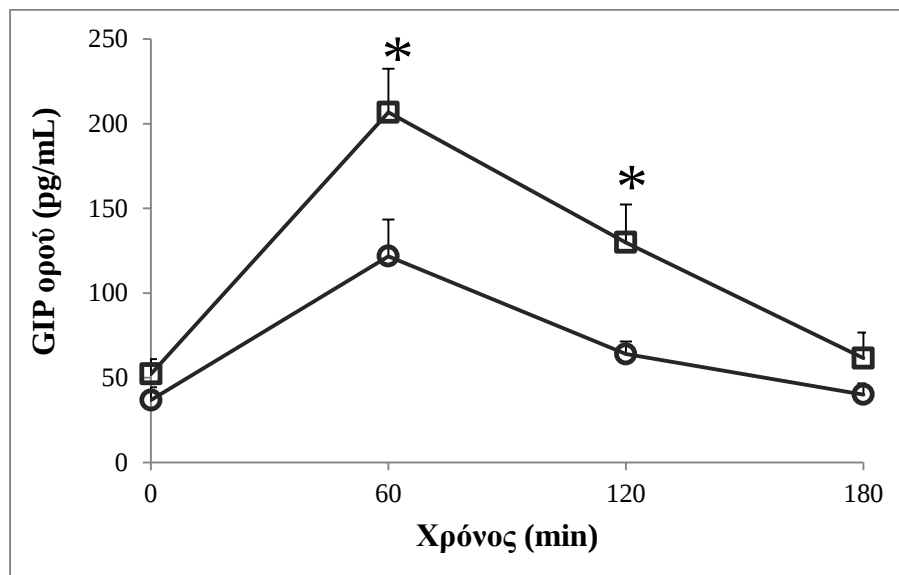
Η μέτρηση της ομπεστατίνης ορού πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (RayBiotech, Georgia, USA) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

8.5 Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο SPSS (SPSS for Windows, version 23.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Αρχικά, εξετάστηκε η κανονικότητα όλων των μεταβλητών χρησιμοποιώντας το Kolmogorov-Smirnov test. Για τη σύγκριση των επιπέδων των υπό εξέταση μεταβλητών μεταξύ των χρονικών στιγμών (0-3h) για κάθε τρόφιμο αλλά και μεταξύ των δύο τροφίμων χρησιμοποιήθηκε το Paired Samples T-test. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο $p<0,05$.

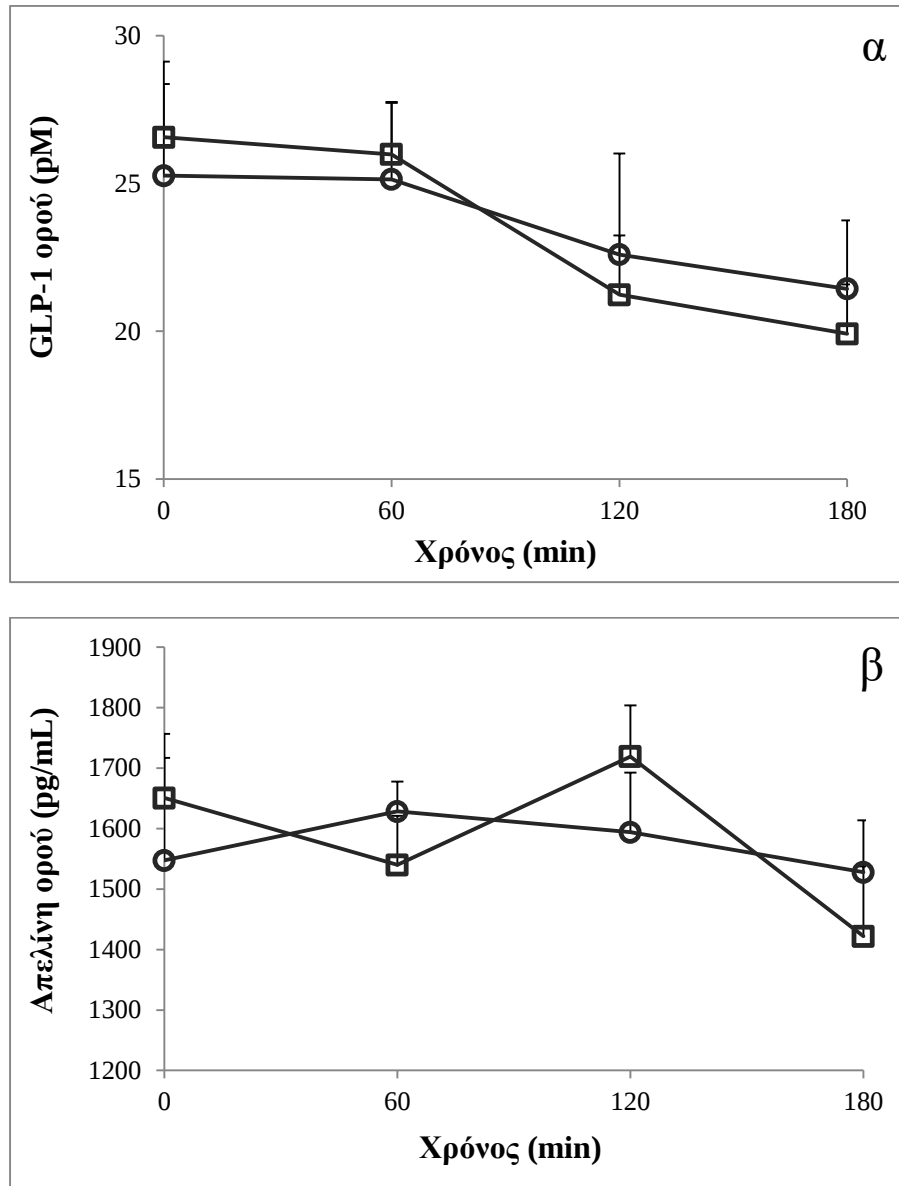
8.6 Αποτελέσματα

Η μέση ηλικία των συμμετεχόντων στην παρούσα μελέτη ήταν $26,3\pm0,8$ ετών, ο ΔΜΣ $21,6\pm0,9$ kg/m² και η περίμετρος μέσης $77,7\pm3,4$ cm. Τα επίπεδα του GIP στον ορό κορυφώθηκαν σημαντικά στα 60 min μετά από την κατανάλωση τόσο του υπό εξέταση τροφίμου όσο και του διαλύματος αναφοράς. Τα επίπεδα του GIP βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα μετά από την πρόσληψη σταφίδας σε σχέση με το διάλυμα γλυκόζης στα 60 min ($121,7\pm21,8$ έναντι $206,7\pm25,8$ pg/mL) και στα 120 min ($63,9\pm7,5$ έναντι $129,9\pm22,5$ pg/mL) μεταγευματικά (Σχήμα 8.1).



Σχήμα 8.1 Γαστρικό ανασταλτικό πολυπεπτίδιο (GIP) ορού (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα) μετά από κατανάλωση σταφίδας (ο) και διαλύματος γλυκόζης (□). *Στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p<0,05$) μεταξύ σταφίδας και διαλύματος γλυκόζης.

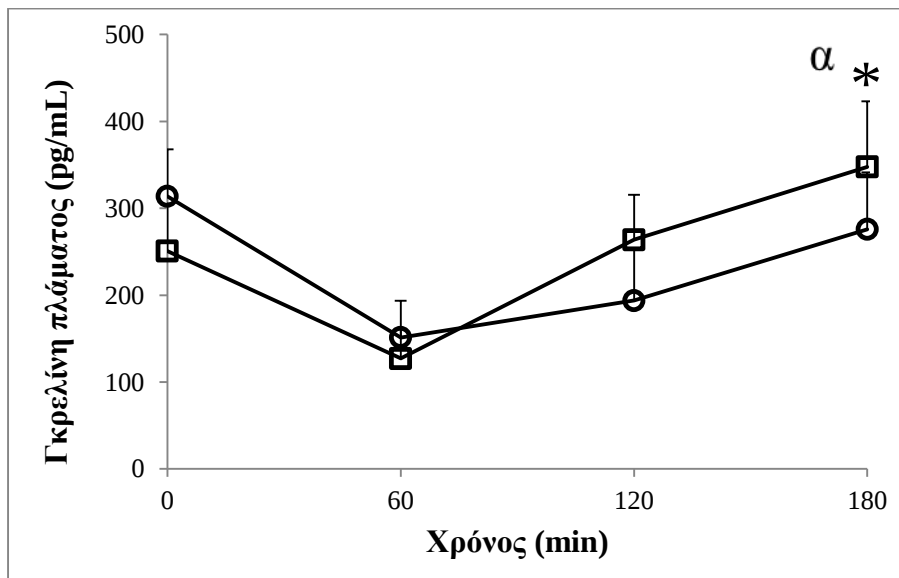
Παρατηρήθηκε επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,004$) στο εμβαδόν κάτω από την καμπύλη (iAUC) μετά από την κατανάλωση σταφίδας σε σύγκριση με το διάλυμα αναφοράς. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στα επίπεδα απερίνης και GLP-1 σε καμία από τις δύο δοκιμασίες (Σχήμα 8.2).

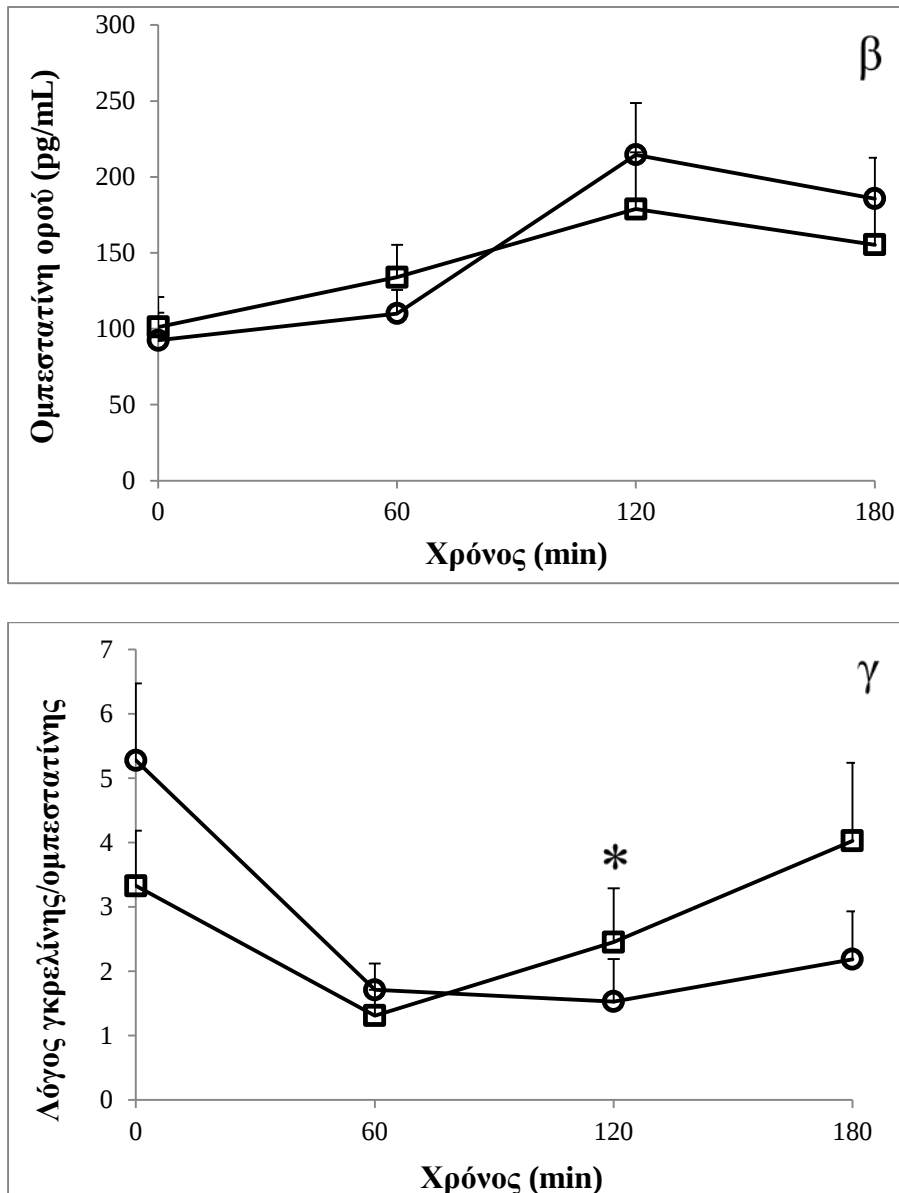


Σχήμα 8.2 Γλυκαγονόμορφο πεπτίδιο-1 (GLP-1) ορού (α) και απερίνη ορού (β) (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα) μετά από κατανάλωση σταφίδας (ο) και διαλύματος γλυκόζης (□).

*Στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p<0,05$) μεταξύ σταφίδας και διαλύματος γλυκόζης.

Αναφορικά με τα επίπεδα γκρελίνης, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ Κορινθιακής σταφίδας και διαλύματος αναφοράς στην αρχή της παρέμβασης. Τα επίπεδα γκρελίνης πλάσματος μειώθηκαν σημαντικά στα 60 min τόσο για τη σταφίδα όσο και για το διάλυμα γλυκόζης. Τα επίπεδα γρελίνης ήταν σημαντικά χαμηλότερα μετά την κατανάλωση σταφίδας σε σύγκριση με το διάλυμα γλυκόζης στα 120 και στα 180 min μεταγευματικά ($193,9 \pm 59,5$ έναντι $263,9 \pm 51,6$ pg/mL, $p=0,011$ και $275,9 \pm 65,5$ έναντι $347,7 \pm 75,5$ pg/mL, $p=0,035$, αντίστοιχα) (**Σχήμα 8.3α**). Τα επίπεδα της ομπεστατίνης ορού δεν διέφεραν κατά την έναρξη της παρέμβασης μεταξύ σταφίδας και διαλύματος γλυκόζης. Η ομπεστατίνη κορυφώθηκε σημαντικά στα 120 min και στις δύο δοκιμές. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο δοκιμών (**Σχήμα 8.3β**). Τέλος, ο λόγος γκρελίνης/ομπεστατίνης βρέθηκε σημαντικά χαμηλότερος στα 120 min μετά από την κατανάλωση σταφίδας σε σύγκριση με το διάλυμα γλυκόζης ($1,5 \pm 0,7$ έναντι $2,5 \pm 0,8$, $p=0,020$) (**Σχήμα 8.3γ**).





Σχήμα 8.3 Γκρελίνη πλάσματος (α), ομπεστατίνη ορού (β) και λόγος γκρελίνης/ομπεστατίνης (γ) (μέσοι όροι±τυπικά σφάλματα) μετά από κατανάλωση σταφίδας (ο) και διαλύματος γλυκόζης (□). *Στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p<0,05$) μεταξύ σταφίδας και διαλύματος γλυκόζης.

8.7 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι η αντικατάσταση της γλυκόζης με ένα αποξηραμένο φρούτο όπως η σταφίδα μπορεί να ρυθμίσει το GIP σε υγιή άτομα με φυσιολογικό βάρος. Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να είναι ευνοϊκό, καθώς πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι το GIP θα μπορούσε να συμμετέχει στην ανάπτυξη της παχυσαρκίας λόγω της

αναβολικής του δράσης στον λιπώδη ιστό, όπως η διέγερση της σύνθεσης των λιπαρών οξέων και η ενσωμάτωση των λιπαρών οξέων στα τριγλυκερίδια (Paschetta et al., 2011, Song et al., 2007). Τα ερήματα αυτά είναι σε συμφωνία με τα ευρήματα προηγούμενης μελέτης των Johnston et al. (2002) όπου μελετήθηκε η πιθανή επίδραση των φυσικά απαντώμενων φαινολικών ενώσεων στον χυμό μήλου στα επίπεδα της γλυκόζης πλάσματος και των γαστρεντερικών ορμονών σε υγιείς εθελοντές. Τα επίπεδα του GIP πλάσματος ήταν χαμηλότερα κατά τα πρώτα 90 min μετά από την κατανάλωση τόσο του φυσικού όσο και του εμπλουτισμένου με φαινολικά χυμού μήλου, σε σύγκριση με το ρόφημα ελέγχου, το οποίο περιείχε ίδια αναλογία σακχάρων (25 g γλυκόζης και 30,7 g φρουκτόζης) με τους χυμούς αλλά ήταν ελεύθερο φαινολικών. Επίπλέον, στη μελέτη αυτή παρατηρήθηκε αύξηση στα επίπεδα του GLP-1 στο πλάσμα στα πρώτα 90 min μετά από την κατανάλωση του εμπλουτισμένου χυμού μήλου σε σύγκριση τόσο με το ρόφημα ελέγχου όσο και με τον φυσικό χυμό μήλου, σε αντίθεση με την παρούσα μελέτη όπου δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στα επίπεδα του GLP-1. Ένας πιθανός μηχανισμός που θα μπορούσε να εξηγήσει τη διαφορετική αυτή απόκριση είναι ότι το φαινολικό περιεχόμενο του χυμού μήλου, κυρίως η φλοριτζίνη και τα χλωρογενικά οξέα που περιέχει, μπορεί να αναστείλει την ενεργητική μεταφορά της γλυκόζης. Καθώς το GIP εκκρίνεται σε απόκριση στην ενεργητική απορρόφηση της γλυκόζης, παρατηρείται μειωμένη και καθυστερημένη αντίδραση στην έκκριση του GIP παράλληλα με την καθυστερημένη απορρόφηση της γλυκόζης μετά από την κατανάλωση των χυμών (Sykes et al., 1980) και πιθανόν μετά από την κατανάλωση σταφίδας στην παρούσα μελέτη.

Σε μια άλλη πρόσφατη μελέτη των Wölnerhanssen et al. (2015) εξετάστηκαν τα επίπεδα του GIP και του GLP-1 μετά από πρόσληψη γλυκόζης ή φρουκτόζης σε υγιή άτομα. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής ήταν, επίσης, σύμφωνα με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης αναφορικά με τα επίπεδα GIP καθώς η πρόσληψη γλυκόζης οδήγησε σε σημαντικά μεγαλύτερες αυξήσεις στις συγκεντρώσεις GIP πλάσματος σε σύγκριση με τη φρουκτόζη. Παρά το γεγονός ότι τα επίπεδα του GLP-1 παρέμειναν αμετάβλητα στην παρούσα μελέτη, στη μελέτη των Wölnerhanssen et al. τα επίπεδα του GLP-1 βρέθηκαν χαμηλότερα μετά από την κατανάλωση φρουκτόζης, αλλά αξίζει να αναφερθεί ότι τα δύο γεύματα που δόθηκαν δεν ήταν ισοθερμικά (75 g γλυκόζης έναντι 25 g φρουκτόζης), γεγονός που μπορεί να εξηγήσει αυτή τη διαφορετική απόκριση.

Πέρα από το περιεχόμενο σε φαινολικά συστατικά, ένας άλλος παράγοντας που θα μπορούσε να επηρεάσει την απόκριση στη γλυκόζη και επομένως και στα πεπτίδια που εκκρίνονται ως επακόλουθο είναι η περιεκτικότητα των τροφίμων σε φυτικές ίνες. Στη μελέτη των García-Rodríguez et al. (2013) συγκρίθηκε η κατανάλωση μιας φόρμουλας για διαβητικούς ελεύθερης φρουκτόζης υψηλής περιεκτικότητας σε διαλυτές και αδιάλυτες φυτικές ίνες με ένα διάλυμα γλυκόζης. Το εμβασμόν κάτω από την καμπύλη για το GLP-1 και το GIP ήταν σημαντικά χαμηλότερο μετά από την κατανάλωση της φόρμουλας σε σύγκριση με τη γλυκόζη πιθανώς λόγω της περιεκτικότητάς της σε φυτικές ίνες, η οποία οδηγεί σε πιο αργή πέψη και απορρόφηση, καθυστερώντας τη γαστρική κένωση και ελαττώνοντας τον χρόνο διέλευσης από το λεπτό έντερο.

Αντίθετα, στη μελέτη των Hoggard et al. (2013) διερευνήθηκε η οξεία επίδραση ενός τυποποιημένου εκχυλίσματος από μύρτιλα στον μεταβολισμό της γλυκόζης και των GIP και GLP-1 σε διαβητικούς ασθενείς. Από τα αποτελέσματα δεν παρατηρήθηκε διαφορά στα επίπεδα GIP και GLP-1 πλάσματος μετά από την κατανάλωση του εκχυλίσματος σε σύγκριση με εικονικό φάρμακο. Επιπλέον, σε μια άλλη μελέτη (Barone et al., 2012) αξιολογήθηκε η ικανότητα πρόκλησης κορεσμού τριών ποτών που περιείχαν 3 g β-γλυκάνης από κριθάρι, 2,5 g φυτικών ινών από φρούτα ή καθόλου φυτικές ίνες και δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές στα επίπεδα του GIP και του GLP-1 μεταγευματικά.

Ένα άλλο σημαντικό αποτέλεσμα της παρούσας μελέτης ήταν η πιθανή επίδραση της κατανάλωσης σταφίδας στη ρύθμιση των επιπέδων γκρελίνης σε υγιή άτομα φυσιολογικού βάρους, σε σύγκριση με διάλυμα γλυκόζης ως διάλυμα αναφοράς. Αρκετές μελέτες έχουν διεξαχθεί για να εξετάσουν τα επίπεδα γκρελίνης μετά από την κατανάλωση γευμάτων με διαφορετική σύσταση σε μακροθρεπτικά συστατικά. Στη μελέτη των Tannous dit El Khoury et al. (2006) διερευνήθηκε η απόκριση της μεταγευματικής γκρελίνης σε τρία γεύματα με διαφορετική σύνθεση σε μακροθρεπτικά συστατικά (υψηλό σε υδατάνθρακες, υψηλό σε λιπαρά και υψηλό σε πρωτεΐνες) σε υγιείς ενήλικες άνδρες. Όπως ήταν αναμενόμενο, τα επίπεδα της γκρελίνης μειώθηκαν σημαντικά μετά από την κατανάλωση και των τριών γευμάτων, ενώ το γεύμα υψηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες οδήγησε στη μεγαλύτερη μείωση σε σύγκριση με τα άλλα δύο γεύματα ($p < 0,05$). Αυτά τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν σε μια πιο πρόσφατη μελέτη (Foster-Schubert et al., 2008) όπου τα επίπεδα γκρελίνης μειώθηκαν σημαντικά περισσότερο μετά από την πρόσληψη υδατανθράκων ή

πρωτεϊνών συγκριτικά με την πρόσληψη λιπιδίων. Επιπλέον, έχει φανεί ότι η κατανάλωση ποτού υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη μπορεί να ελαττώσει περισσότερο τα μεταγευματικά επίπεδα γκρελίνης σε σύγκριση με ένα ποτό υψηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη σε άτομα φυσιολογικού βάρους (Teff et al., 2004). Ωστόσο, τα παραπάνω αποτελέσματα δεν επαληθεύτηκαν σε παχύσαρκα άτομα (Teff et al., 2009).

Άλλες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην επίδραση της περιεκτικότητας σε φυτικές ίνες στα επίπεδα γκρελίνης. Σε μια πρόσφατη μελέτη, υγιείς εθελοντές κλήθηκαν να καταναλώσουν ή αποξηραμένα δαμάσκηνα ή χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά μπισκότα ή άσπρο ψωμί (τρόφιμο αναφοράς) και παρατηρήθηκαν χαμηλότερα επίπεδα γκρελίνης ($p < 0,05$) για τα αποξηραμένα δαμάσκηνα σε σχέση με το άσπρο ψωμί 15 και 30 min μεταγευματικά και μια τάση μείωσης ($p = 0,056$) σε σύγκριση με τα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά μπισκότα (Furchner-Evanson et al., 2010). Η περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες της χορηγούμενης ποσότητας δαμάσκηνων υπολογίζεται στα 6 g, παρόμοια με την ποσότητα φυτικών ινών που παρέχονται από τη σταφίδα στην παρούσα μελέτη. Είναι πιθανό, η παρουσία φυτικών ινών και στις δύο μελέτες να παίζει ρόλο στον έλεγχο των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα και στην αύξηση του κορεσμού, ελαττώνοντας τον ρυθμό γαστρικής κένωσης και την απορρόφηση των μακροθρεπτικών συστατικών και/ή αυξάνοντας τη ζύμωση από το κατώτερο πεπτικό (Nilsson et al., 2008).

Επιπλέον, σε αρκετές μελέτες έχει εξεταστεί η επίδραση των πολυφαινολών στις μεταβολικές αποκρίσεις τροφίμων που περιέχουν σάκχαρα. Στην παρούσα μελέτη, παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων γκρελίνης στο πλάσμα 60 min μεταγευματικά, γεγονός που θα μπορούσε να αποδοθεί στην ταυτόχρονη αύξηση του φανολικού περιεχομένου στο πλάσμα, όπως αναλύθηκε στο Κεφάλαιο 4. Αντίθετα, στη μελέτη των Puglisi et al. (2009) παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων γκρελίνης μετά από παρέμβαση με σταφίδα, σε συνδυασμό ή όχι με περπάτημα για 6 εβδομάδες. Αυτό το παράδοξο αποτέλεσμα θα μπορούσε να εξηγηθεί με μια πιθανή μείωση της πρόσληψη τροφής μετά από την παρέμβαση των 6 εβδομάδων με αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων γκρελίνης. Στην παρούσα μελέτη, η κατανάλωση των δύο τροφίμων ήταν οξεία και ο διαφορετικός σχεδιασμός θα μπορούσε να εξηγήσει τη διαφορετική επίδραση του ίδιου τροφίμου στα επίπεδα γκρελίνης. Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, στη μελέτη των Gruendel et al. (2006), όπου εξετάστηκε η επίδραση ενός παρασκευάσματος από χαρούπι πλούσιου σε φυτικές ίνες στη

μεταγευματική αποκρίση της γκρελίνης, παρατηρήθηκαν μειωμένα επίπεδα γκρελίνης σε σύγκριση με το τρόφιμο αναφοράς 60 min μεταγευματικά ($p < 0,001$). Στα άτομα της μελέτης αυτής η πρόσληψη ολικών φαινολικών συστατικών ήταν παρόμοια με αυτή στην παρούσα μελέτη. Η υπόθεση της συνεργιστικής δράσης φυτικών ινών και φαινολικών συστατικών στα επίπεδα μεταγευματικής γκρελίνης φαίνεται να είναι ισχυρή στις δύο μελέτες.

Όσον αφορά τα επίπεδα ομπεστατίνης παρέμειναν αμετάβλητα μετά από την κατανάλωση είτε σταφίδας είτε γλυκόζης. Τα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με τη μεταγευματική επίδραση διαφορετικών μακροθρεπτικών συστατικών στα επίπεδα ομπεστατίνης είναι ελάχιστα. Στις περισσότερες μελέτες η ομπεστατίνη έχει μελετηθεί σε κατάσταση νηστείας, όπως στη μελέτη των Qi et al. (2007) όπου τα επίπεδα ομπεστατίνης βρέθηκαν χαμηλότερα σε ασθενείς με διαταραχές ρύθμισης γλυκόζης και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 σε σύγκριση με υγιή άτομα. Τα δεδομένα αυτά δείχνουν έναν πιθανό ρόλο της ομπεστατίνης στην όρεξη σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Επιπλέον, όταν εξετάστηκε η απόκριση της κατανάλωσης ενός γεύματος στα επίπεδα της ομπεστατίνης σε τρεις διαφορετικές ομάδες (άτομα μειωμένου σωματικού βάρους, παχύσαρκοι και άτομα που είχαν υποβληθεί σε γαστρεκτομή), τα επίπεδα βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα σε ασθενείς με νοσογόνο παχυσαρκία σε σύγκριση με άτομα μειωμένου σωματικού βάρους, υποστηρίζοντας έναν πιθανό ρόλο της ομπεστατίνης στη μακροπρόθεσμη ρύθμιση του σωματικού βάρους (Huda et al., 2008).

Τέλος, στην παρούσα μελέτη, εξετάστηκε για πρώτη φορά ο λόγος γκρελίνης/ομπεστατίνης σε άτομα φυσιολογικού βάρους μεταγευματικά. Συγκεκριμένα, ο λόγος γκρελίνης/ομπεστατίνης φάνηκε μειωμένος μέσα στα πρώτα 60 min μετά από την κατανάλωση και των δύο τροφίμων. Παράλληλα, ο λόγος γκρελίνης/ομπεστατίνης παρέμεινε σημαντικά χαμηλότερος 120 min μετά από την κατανάλωση σταφίδας έναντι της γλυκόζης, ρυθμίζοντας πιθανώς την όρεξη κατά τη διάρκεια των 3 h της παρέμβασης.

ΣΥΝΟΨΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η σχέση μεταξύ διατροφής και υγείας έχει αναγνωριστεί από τους αρχαίους χρόνους. Πολλοί διατροφικοί παράγοντες από φυτικά τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων των φρούτων, των λαχανικών και διαφόρων βοτάνων, έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον τόσο της επιστημονικής κοινότητας όσο και του ευρύτερου πληθυσμού, λόγω των ευεργετικών επιδράσεων τους στην υγεία του ανθρώπου. Πολλές επιδημιολογικές και κλινικές μελέτες έχουν αναδείξει τη συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών και της υγείας του ανθρώπου. Τα τρόφιμα αυτά περιέχουν ποικιλία βιοδραστικών συστατικών, όπως φυτικές ίνες, βιταμίνες και μέταλλα, καθώς επίσης και πληθώρα φυτοχημικών συστατικών, τα οποία είναι μοναδικά στα φυτά και έχουν χρησιμοποιηθεί για χιλιάδες χρόνια στην παραδοσιακή ιατρική ως αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινικοί παράγοντες.

Σήμερα, είναι γνωστή η προστατευτική δράση των φυτοχημικών συστατικών των φυτών στην προώθηση της υγείας. Αν και τα φυτοχημικά δεν θεωρούνται «θεραπευτικά» συστατικά και αρχικά είχαν θεωρηθεί και επικίνδυνα ως «τοξικές ουσίες» για τον ανθρώπινο οργανισμό, η σύγχρονη βιβλιογραφία αναδεικνύει την πρόσληψη αυτών των συστατικών μέσω της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών ως ευεργετική. Μάλιστα φαίνεται ότι η κατανάλωση ποικιλίας φυτοχημικών οδηγεί σε σωρευτικά ή συνεργιστικά αποτελέσματα.

Σε μια πρόσφατη ανασκόπηση (Wang et al., 2014) φάνηκε η θετική επίδραση της πρόσληψης φαινολικών συστατικών στον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Συγκεκριμένα, αύξηση της πρόσληψης φλαβονολών κατά 10 mg ημερησίως οδήγησε σε μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου κατά 5%. Σε άλλη πρόσφατη μελέτη (Ivey et al., 2015) σε 1.063 γυναίκες ηλικίας >75 ετών παρατηρήθηκε μείωση του 5ετούς κινδύνου θνησιμότητας από κάθε αιτία, καρκίνο ή καρδιαγγειακή νόσο στις συμμετέχουσες που παρουσίαζαν υψηλή πρόσληψη φλαβονοειδών από τρόφιμα όπως τσάι, σοκολάτα, κόκκινο κρασί, φρούτα, λαχανικά. Τα αποτελέσματα ενισχύονται και από τη μετα-ανάλυση των Jiang et al. (2015) όπου συμμετείχαν 452.564 άτομα και τα αποτελέσματα προτείνουν ότι η υψηλότερη πρόσληψη φλαβονοειδών σχετίζεται με μείωση του κινδύνου για στεφανιαία νόσο.

Επιδημιολογικά και στατιστικά δεδομένα καταγράφουν αύξηση του ποσοστού του πληθυσμού των αναπτυγμένων και αναπτυσσόμενων χωρών που υιοθετεί ένα Δυτικό πρότυπο διατροφής. Συγκεκριμένα, η Δυτικού τύπου διατροφή χαρακτηρίζεται από υψηλή

πρόσληψη επεξεργασμένου κρέατος, κόκκινου κρέατος, βουτύρου, γαλακτοκομικών προϊόντων υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, αυγών, επεξεργασμένων δημητριακών και αλατιού και χαμηλή πρόσληψη φρούτων, λαχανικών ψαριού και οσπρίων (Hu, 2002). Έχει φανεί ότι μια Δυτικού τύπου διατροφή σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο γενικής και κεντρικής παχυσαρκίας και σημαντικά αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης μεταβολικού συνδρόμου. Στη μελέτη Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) (Lutsey et al., 2008) και στη μελέτη Health Workers Cohort (Denova-Gutiérrez et al., 2010, Denova-Gutiérrez et al., 2011), οι συμμετέχοντες που παρουσίαζαν υψηλότερη υιοθέτηση μιας Δυτικού τύπου διατροφής είχαν υψηλότερο κίνδυνο για μεταβολικό σύνδρομο, κεντρική παχυσαρκία και αυξημένα επίπεδα γλυκόζης νηστείας από τους συμμετέχοντες με χαμηλότερη υιοθέτηση (Denova-Gutiérrez et al., 2010). Τα παραπάνω επαληθεύονται και από άλλες μελέτες σύμφωνα με τις οποίες παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της Δυτικού τύπου διατροφής και της επίπτωσης του υπέρβαρου ή/και της παχυσαρκίας σε ενήλικες (Esmailzadeh et al., 2008, Murtaugh et al., 2007, Yu et al., 2015). Επιπλέον, σε μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε διάφορες χώρες παγκοσμίως, όπως το Ιράν (Esmailzadeh et al., 2007), την Ολλανδία (van Dam et al., 2003), την Ιαπωνία (Arisawa et al., 2014), τις ΗΠΑ (Lutsey et al., 2008, van Dam et al., 2002) και τη Σουηδία (Wirfalt et al., 2001) παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της υψηλότερης υιοθέτησης μιας Δυτικού τύπου διατροφής και της συχνότητας εμφάνισης αντίστασης στην ινσουλίνη και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Τέλος, η Δυτικού τύπου διατροφή έχει επίσης συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα και θνησιμότητα από κάθε αιτία (Heidemann et al., 2008).

Τα παραπάνω οδηγούν στην ανάγκη εύρεσης παραγόντων/συστατικών που θα περιορίζαν τις αρνητικές επιπτώσεις που συνοδεύουν την υιοθέτηση της Δυτικού τύπου διατροφής. Παράλληλα, η τάση του σύγχρονου καταναλωτή να επιστρέψει στην κατανάλωση λιγότερο επεξεργασμένων τροφίμων καθώς επίσης και η ανάγκη ανάδειξης τοπικών παραδοσιακών τροφίμων έχει οδηγήσει σε αύξηση της ενασχόλησης της επιστημονικής κοινότητας με παραδοσιακά τρόφιμα τόσο σε παγκόσμιο επίπεδο όσο και στον ελλαδικό χώρο.

Τα παραδοσιακά αποξηραμένα φρούτα φαίνεται ότι κερδίζουν το ενδιαφέρον των επιστημόνων της Διατροφής καθώς αρκετές μελέτες αναδεικνύουν τις πιθανές ευεργετικές επιδράσεις τους σε δείκτες που σχετίζονται με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Επιπρόσθετα,

καθώς είναι διαθέσιμα όλο τον χρόνο με σχετικά χαμηλό κόστος, θα μπορούσαν να συμβάλλουν σημαντικά στη συνιστώμενη ημερήσια κατανάλωση φρούτων και λαχανικών. Η Κορινθιακή σταφίδα αποτελεί ένα από σημαντικότερα αποξηραμένα φρούτα που παράγονται στην Ελλάδα όπου κάποιες δράσεις της έχουν ήδη αναδειχθεί βιβλιογραφικά. Ειδικότερα, έχει φανεί ότι η σταφίδα είναι πλούσια σε βιοδραστικά συστατικά (Chiou et al., 2007) τα οποία επιδεικνύουν αντιοξειδωτική και χημειοπροστατευτική δράση (Kaliora et al., 2008, Kaliora et al., 2008, Kountouri et al., 2013).

Βασιζόμενοι στα άνωθι *in vitro* αποτελέσματα για τα βιοδραστικά συστατικά της σταφίδας και στην υφιστάμενη γνώση της σχέσης αυτών και της πρόληψης σύγχρονων χρόνιων νοσημάτων, η παρούσα διατριβή είχε ως στόχο τη διερεύνηση της ευεργετικής επίδρασης της ένταξης της Κορινθιακής σταφίδας στη Δυτικού τύπου διατροφή σε κλινικές δοκιμές σε υγιείς και ασθενείς ανθρώπους.

Αρχικά, μελετήθηκε η βιοδιαθεσιμότητα των φυτοχημικών συστατικών που περιέχονται στη σταφίδα. Φάνηκε ότι 17 από τα 25 συστατικά που είχαν προσδιοριστεί στο τρόφιμο ανιχνεύτηκαν άμεσα (1-4 h) στο πλάσμα των υγιών εθελοντών μετά από κατανάλωση σταφίδας. Αν και δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα των επιμέρους φυτοχημικών που μελετήθηκαν μεταγευματικά, για πρώτη φορά ανιχνεύτηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Παράλληλα, παρατηρήθηκε αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού αίματος μεταγευματικά, η οποία συσχετίστηκε με αύξηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου στο πλάσμα των εθελοντών. Πιθανόν το σύνολο των φυτοχημικών που προσδιορίστηκαν στο αίμα και όχι κάποιο συγκεκριμένο συστατικό ευθύνεται για την αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας στο αίμα. Αποκλείστηκε ωστόσο ένας σημαντικός συγχυτικός παράγοντας, το κύριο ενδογενές αντιοξειδωτικό του ανθρώπινου οργανισμού, το ουρικό οξύ, καθώς η αύξηση της συγκέντρωσης του ουρικού οξέος δεν συσχετίστηκε με την αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Ο έλεγχος της επίδρασης του ουρικού οξέος ήταν σημαντικός καθώς η σταφίδα περιέχει μεγάλη ποσότητα φρουκτόζης, η οποία έχει φανεί ότι επηρεάζει τα επίπεδα ουρικού οξέος στο αίμα (Angelopoulos et al., 2009).

Σε επόμενο στάδιο της παρούσας διατριβής εξετάστηκε η γλυκαιμική και ινσουλιναιμική απόκριση μετά από κατανάλωση σταφίδας σε υγιείς εθελοντές αλλά και ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 σε μια μεταγευματική μελέτη με διασταυρούμενο

σχεδιασμό. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν σημαντική βελτίωση της γλυκαιμικής και ινσουλιναιμικής απόκρισης μετά από την κατανάλωση σταφίδας σε σύγκριση με το τρόφιμο αναφοράς. Για πρώτη φορά, επίσης, υπολογίστηκε ο γλυκαιμικός δείκτης ($ΓΔ=66$), το γλυκαιμικό φορτίο ($ΓΦ=8$) και ο ινσουλιναιμικός δείκτης της Κορινθιακής σταφίδας. Τα αποτελέσματα αυτά έχουν μεγάλη σημασία καθώς η σταφίδα αποτελεί ένα τρόφιμο με υψηλή περιεκτικότητα σε απλά σάκχαρα (33% φρουκτόζη και 32% γλυκόζη) και η κατάταξή του ως τροφίμου μέτριου γλυκαιμικού δείκτη και χαμηλού γλυκαιμικού φορτίου «απενοχοποιεί» την κατανάλωσή του από ομάδες ασθενών που συστήνεται να ακολουθούν διατροφικά πρότυπα που χαρακτηρίζονται από χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη.

Έχοντας εξασφαλίσει ότι η κατανάλωση του τροφίμου από ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη θεωρείται ενδεδειγμένη με βάση τις διατροφικές συστάσεις και οδηγίες για τους ασθενείς αυτούς, σχεδιάστηκε μια πιλοτική κλινική δοκιμή σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Συγκεκριμένα, στην παρέμβαση που σχεδιάστηκε και υλοποιήθηκε στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής εξετάστηκε η ένταξη της σταφίδας στο καθημερινό διαιτολόγιο των ασθενών με διαβήτη ως σνακ για διάστημα 6 μηνών και η πιθανή ευεργετική επίδρασή της σε ποικιλία δεικτών όπως ανθρωπομετρικά και κλινικά χαρακτηριστικά καθώς και δείκτες οξειδωτικού στρες και φλεγμονής. Στην κλινική αυτή δοκιμή στην οποία συμμετείχαν 22 ασθενείς στην ομάδα ελέγχου και 26 στην ομάδα παρέμβασης, φάνηκε σημαντική μείωση κατά 7% στη διαστολική αρτηριακή πίεση και αύξηση κατά 13% στην αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος των ασθενών που κατανάλωναν 2 ισοδύναμα σταφίδας καθημερινά για 6 μήνες. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στα επίπεδα των βιοχημικών δεικτών και δεικτών φλεγμονής που εξετάστηκαν στο τέλος της παρέμβασης.

Η ανάδειξη της ευεργετικής δράσης ύστερα από κατανάλωση σταφίδας από διαβητικούς ασθενείς αποτελεί σημαντικό εύρημα της παρούσας διατριβής, καθώς ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί πανδημία. Πάνω από 350 εκατομμύρια άνθρωποι πάσχουν από τη νόσο και αποτελεί την 7η κύρια αιτία θανάτου στις ΗΠΑ. Συνολικά, ο κίνδυνος θνησιμότητας μεταξύ των ατόμων με διαβήτη είναι περίπου διπλάσιος από τον κίνδυνο ατόμων χωρίς διαβήτη παρόμοιας ηλικίας (Leitzmann, 2016). Επιπρόσθετα, η παρουσία διαβήτη αυξάνει τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου και χαρακτηρίζεται από επιπλοκές σε πολλά όργανα και ιστούς, όπως στον αμφιβληστροειδή χιτώνα, στους νεφρούς και στα περιφερικά νεύρα (National Diabetes Information Clearinghouse, 2008).

Η πρόληψη και η αντιμετώπιση του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 συνίσταται στην υιοθέτηση ενός υγιεινού τρόπου ζωής, που περιλαμβάνει τη διατήρηση ενός φυσιολογικού σωματικού βάρους, την αύξηση της φυσικής δραστηριότητας, την αποφυγή του καπνίσματος και την ένταξη μιας ισορροπημένης διατροφής. Στο πλαίσιο αυτό, η ενίσχυση της δίαιτας με συστατικά που επιδεικνύουν αντιοξειδωτική δράση με στόχο τη μείωση του οξειδωτικού στρες και της ήπιας και χρόνιας φλεγμονής μπορεί να συμβάλλει στην πρόληψη της καρδιαγγειακής νόσου.

Επιπλέον, ο έλεγχος των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα και η διατήρησή τους πιο κοντά στα φυσιολογικά επίπεδα μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο θνησιμότητας από τη νόσο αλλά και από τις επιπλοκές της. Οι υδατάνθρακες που καταναλώνονται στο πλαίσιο της διατροφής των διαβητικών έχουν άμεσο αντίκτυπο στα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα και επομένως ο έλεγχος της ποσότητας και της ποιότητας των υδατανθράκων που καταναλώνονται σε κάθε γεύμα αποτελεί το επίκεντρο της διαχείρισης του διαβήτη. Ο έλεγχος των επιπέδων της αρτηριακής πίεσης αποτελεί, επίσης, σημαντικό τμήμα της αντιμετώπισης της νόσου καθώς η υπέρταση συνήθως συνυπάρχει στους ασθενείς που πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη και αποτελεί τόσο ανεξάρτητο παράγοντα όσο και συμπαράγοντα κινδύνου ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου.

Ένας άλλος ανεξάρτητος παράγοντας για την ανάπτυξη και την εξέλιξη της καρδιαγγειακής νόσου αποτελεί το κάπνισμα. Το κάπνισμα χαρακτηρίζεται από αυξημένο οξειδωτικό στρες καθώς ελεύθερες ρίζες περιέχονται στην πίσσα και κυρίως την αέρια φάση του καπνού, δημιουργώντας αλυσιδωτές αντιδράσεις μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό. Με τον τρόπο αυτό προκαλείται μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα μονοξειδίου του αζώτου, ενεργοποίηση των μακροφάγων και των πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων, έκκριση προθρομβωτικών παραγόντων, οξείδωση των λιποπρωτεϊνών και φλεγμονώδης αντίδραση, επάγοντας τη δημιουργία αθηροσκλήρωσης. Μάλιστα, σε συνδυασμό με την υιοθέτηση μιας «δυτικοποιημένης» διατροφής, η οποία, όπως αναλύθηκε παραπάνω, σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου, το κάπνισμα μπορεί να δράσει επιβαρυντικά προς αυτή την κατεύθυνση.

Για τον λόγο αυτό, η επόμενη μελέτη που σχεδιάστηκε και υλοποιήθηκε στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη της ένταξης της Κορινθιακής σταφίδας στο καθημερινό διαιτολόγιο υγιών καπνιστών οι οποίοι παρουσίαζαν χαμηλή συμμόρφωση ως προς την

υιοθέτηση του Μεσογειακού προτύπου διατροφής για διάστημα ενός μήνα. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στα ανθρωπομετρικά και κλινικά χαρακτηριστικά καθώς και στους δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας, φλεγμονής και οξειδωτικού στρες ύστερα από ένταξη 5 ισοδυνάμων σταφίδας στη διατροφή υγιών καπνιστών στο τέλος της παρέμβασης. Αντίθετα, από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων ανά φύλο παρατηρήθηκε μείωση της διαστολικής αρτηριακής πίεσης και των επιπέδων της ολικής και LDL χοληστερόλης στις γυναίκες που συμμετείχαν στην ομάδα παρέμβασης, ευρήματα τα οποία πρέπει να επιβεβαιωθούν μέσω μελετών με μεγαλύτερο δείγμα.

Τέλος, εξετάστηκε η επίδραση της κατανάλωσης Κορινθιακής σταφίδας στα επίπεδα ορμονών που σχετίζονται με την όρεξη, όπως η γκρελίνη, το γαστρικό ανασταλτικό πολυπεπτίδιο (GIP), το γλυκαγονόμορφο πεπτιδίο-1 (GLP-1), η απελίνη και η ομπεστατίνη. Η σταφίδα, ως ένα τρόφιμο που περιέχει ίση αναλογία φρουκτόζης και γλυκόζης, συγκρίθηκε με αντίστοιχη ποσότητα γλυκόζης σε 10 υγιείς εθελοντές και παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων γκρελίνης, GIP και του λόγου γκρελίνης/ομπεστατίνης μεταγευματικά, υποστηρίζοντας έναν πιθανό ρυθιστικό μηχανισμό της σταφίδας στην όρεξη.

Οι ινκρετίνες, όπως το GIP και GLP-1, είναι πεπτιδια που εκκρίνονται από τον εντερικό βλεννογόνο και η έκκρισή τους εξηγεί πάνω από το 50% της αύξησης της ινσουλίνης πλάσματος μετά από την πρόσληψη γλυκόζης, ενώ επηρεάζουν την ενεργειακή πρόσληψη αυξάνοντας τον κορεσμό και την απώλεια βάρους (Vilsbøll et al., 2012). Η γκρελίνη και η ομπεστατίνη αποτελούν γαστρεντερικές ορμόνες οι οποίες είναι γνωστές για τον ρόλο τους στη ρύθμιση της όρεξης και της ενεργειακής ομοιόστασης (Gasco et al., 2010). Τέλος, η απελίνη είναι μια αδιποκίνη η οποία έχει προταθεί από μελέτες για τον πιθανό της ρόλο στη ρύθμιση της πρόσληψης τροφής (Sunter et al., 2003). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι η κατανάλωση σταφίδας θα μπορούσε να είναι ευνοϊκή στη ρύθμιση της όρεξης σε σύγκριση με επεξεργασμένα σάκχαρα ή προϊόντα με βάση τη γλυκόζη σε υγιή άτομα με φυσιολογικό βάρος.

Από το σύνολο των μελετών που διεξήχθησαν στην παρούσα διατριβή και αναλύθηκαν παραπάνω φάνηκε ότι η κατανάλωση της Κορινθιακής σταφίδας όταν εντάσσεται στο καθημερινό διαιτολόγιο ασθενών ή υγιών ατόμων μπορεί να βελτιώσει δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου και να αυξήσει την αντιοξειδωτική ικανότητα στο αίμα. Επιπλέον, δεδομένου ότι η υψηλή συγκέντρωση του μεταγευματικού GIP μπορεί να εμπλέκεται στην

ανάπτυξη της παχυσαρκίας, η ρύθμιση των επιπέδων GIP που παρατηρήθηκε στην παρούσα διατριβή αποτελεί σημαντικό παράγοντα. Οι ευεργετικές δράσεις πιθανώς σχετίζονται με τη βιοδιαθεσιμότητα, και κατ' επέκταση την αύξηση των κυκλοφορούντων βιοδραστικών συστατικών στο αίμα μετά από την κατανάλωση του τροφίμου. Στην κατανόηση των μηχανισμών δράσης των συστατικών της σταφίδας σε δείκτες υγείας θα συνέβαλε σημαντικά η μελέτη της αλληλεπίδρασης των συστατικών του τροφίμου με το γενετικό υπόβαθρο των ατόμων, εξετάζοντας για παράδειγμα την τροποποίηση της έκφρασης γονιδίων που εμπλέκονται σε νοσήματα. Ταυτόχρονα προς τη διατήρηση της υγείας, σημαντική θα ήταν η μελέτη για την αξιολόγηση της σταφίδας ως συστατικού με πρεβιοτική δράση, ενισχύοντας με αυτό τον τρόπο τη μικροχλωρίδα του εντέρου το οποίο συνεπάγει και τη ενίσχυση της υγείας των καταναλωτών.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Agudo A, Slimani N, Ocké MC, Naska A, Miller AB, Kroke A, Bamia C, Karalis D, Vineis P, Palli D, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Engeset D, Hjartåker A, Navarro C, Martínez-García C, Wallström P, Zhang JX, Welch AA, Spencer E, Stripp C, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Casagrande C, Riboli E. Consumption of vegetables, fruit and other plant foods in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) cohorts from 10 European countries. *Public Health Nutrition* 2002,5:1179-1196.
- Alvarez-Parrilla E, De La Rosa LA, Legarreta P, Saenz L, Rodrigo-García J, González-Aguilar GA. Daily consumption of apple, pear and orange juice differently affects plasma lipids and antioxidant capacity of smoking and non-smoking adults. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2010, 61(4):369-380.
- Anderson JA, Huth HA, Larson MM, Colby AJ, Krieg EJ, Golbach LP, Simon KA, Wasmundt SL, Malone CJ, Wilson T. Glycaemic and insulin response to raisins, grapes and bananas in college aged students. *FASEB Journal* 2011a, 25:587.4.
- Anderson JA, Andersen KF, Heimerman RA, Larson MM, Baker SE, Freeman MR, Carughi A, Wilson T. Glycaemic response of type 2 diabetics to raisins. *FASEB Journal* 2011b, 25:587.5.
- Anderson JW, Weiter KM, Christian AL, Ritchey MB, Bays HE. Raisins compared with other snack effects on glycaemia and blood pressure: A randomized, controlled trial. *Postgraduate Medicine* 2014, 126:37-43.
- Angelopoulos TJ, Lowndes J, Zukley L, Melanson KJ, Nguyen V, Huffman A, Rippe JM. The effect of high-fructose corn syrup consumption on triglycerides and uric acid. *Journal of Nutrition* 2009, 139(6):1242S-1245S.
- Arisawa K, Uemura H, Yamaguchi M, Nakamoto M, Hiyoshi M, Sawachika F, Katsuura-Kamano S. Associations of dietary patterns with metabolic syndrome and insulin resistance: a cross-sectional study in a Japanese population. *The Journal of Medical Investigation* 2014,61:333-344.

- Attaluri A, Donahoe R, Valestin J, Brown K, Rao SSC. Randomised clinical trial: dried plums (prunes) vs. psyllium for constipation. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2011, 133:822-828.
- Aurrekoetxea I, Ruiz-Sanz JI, del Agua AR, Navarro R, Hernández ML, Matorras R, Prieto B, Ruiz-Larrea MB. Serum oxidizability and antioxidant status in patients undergoing *in vitro* fertilization. *Fertility and Sterility* 2010,94:1279-1286.
- Australian Bureau of Statistics (ABS). National health survey summary of results 2004-2005 ABS Catalogue No 4364.0 Canberra, Australia: ABS 2006.
- Barone Lumaga R, Azzali D, Fogliano V, Scalfi L, Vitaglione P. Sugar and dietary fibre composition influence, by different hormonal response, the satiating capacity of a fruit-based and a β -glucan-enriched beverage. *Food and Function* 2012, 3:67-75.
- Basu A, Du M, Leyva MJ, Sanchez K, Betts NM, Wu M, Aston CE, Lyons TJ. Blueberries decrease cardiovascular risk factors in obese men and women with metabolic syndrome. *Journal of Nutrition* 2010, 140:1582-1587.
- Bays H, Schmitz K, Christian A, Ritchey M, Anderson JW. Raisins and blood pressure: a randomized controlled trial. *Journal of the American College of Cardiology* 2012, 59:E1721.
- Bays H, Weiter K, Anderson J. A randomized study of raisins versus alternative snacks on glycemic control and other cardiovascular risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus. *Physician and Sportsmedicine* 2015, 43:37-43.
- Bjorck I, Elmstahl HL. The glycemic index: importance of dietary fibre and other food properties. *Proceedings of the Nutrition Society* 2003, 62:201-206.
- Blake M, Chaudhury M, Deverill C. Health Survey for England 2003 volume 2. Risk factors for cardiovascular disease. Norwich, United Kingdom: her majesty's Stationary Office 2004.
- Block G, Patterson B, Subar A. Fruit, vegetables and cancer prevention: A review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer* 1992, 18:1-9.
- Buil-Cosiales P, Toledo E, Salas-Salvadó J, Zazpe I, Farràs M, Basterra-Gortari FJ, Diez-Espino J, Estruch R, Corella D, Ros E, Martí A, Gómez-Gracia E, Ortega-Calvo M, Arós F, Moñino M, Serra-Majem L, Pintó X, Lamuela-Raventós RM, Babio N, Gonzalez JI, Fitó M, Martínez-

- González MA; PREDIMED investigators. Association between dietary fibre intake and fruit, vegetable or whole-grain consumption and the risk of CVD: results from the PREvención con Dieta MEDiterránea (PREDIMED) trial. *British Journal of Nutrition* 2016, 116(3):534-546.
- Bunea CI, Pop N, Babeş AC, Matea C, Dulf FV, Bunea A. Carotenoids, total polyphenols and antioxidant activity of grapes (*Vitis vinifera*) cultivated in organic and conventional systems. *Chemistry Central Journal* 2012, 6:66.
- Carughi A. Raisins as a source of prebiotic compounds in the diet. *FASEB Journal* 2009, 23:716.9.
- Camire ME, Dougherty MP. Raisin dietary fiber composition and in vitro bile acid binding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003, 51:834-837.
- Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *Journal of the American College of Cardiology* 1994, 24:1468-1474.
- Chiou A, Karathanos VT, Mylona A, Salta FN, Preventi F, Andrikopoulos NK. Currants (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolics and antioxidant activity. *Food Chemistry* 2007, 102:516-522.
- Chiou A, Panagopoulou EA, Gatzali F, De Marchi S, Karathanos VT. Anthocyanins content and antioxidant capacity of Corinthian currants (*Vitis vinifera* L., var. Apyrena). *Food Chemistry* 2014, 146:157-165.
- Chiva-Blanch G, Visioli F. Polyphenols and health: moving beyond antioxidants. *Journal of Berry Research* 2012, 2:63-71.
- Cho E, Seddon JM, Rosner B, Willett WC, Hankinson SE. Prospective study of intake of fruits and vegetables and carotenoids and risk of age related maculopathy. *Archives of Ophthalmology Journal* 2004, 122:883-892.
- Chong MF, Macdonald R, Lovegrove JA. Fruit polyphenols and CVD risk: a review of human intervention studies. *British Journal of Nutrition* 2010, 104:S28-39.

- Chopra M, O'Neill ME, Keogh N, Wortley G, Southon S, Thurnham DI. Influence of increased fruit and vegetable intake on plasma and lipoprotein carotenoids and LDL oxidation in smokers and nonsmokers. *Clinical Chemistry* 2000, 46(11):1818-1829.
- Cogolludo A, Frazziano G, Briones AM, Cobeno L, Moreno L, Lodi F, Salaices M, Tamargo J, Perez-Vizcaino F. The dietary flavonoid quercetin activates BKCa currents in coronary arteries via production of H₂O₂. Role in vasodilatation. *Cardiovascular Research* 2007, 7:424-431.
- Denova-Gutiérrez E, Castañón S, Talavera JO, Gallegos-Carrillo K, Flores M, Dosamantes-Carrasco D, Willett WC, Salmerón J. Dietary patterns are associated with metabolic syndrome in an urban Mexican population. *Journal of Nutrition* 2010, 140:1855-1863.
- Denova-Gutiérrez E, Castañón S, Talavera JO, Flores M, Macías N, Rodríguez-Ramírez S, Flores YN, Salmerón J. Dietary patterns are associated with different indexes of adiposity and obesity in an urban Mexican population. *Journal of Nutrition* 2011, 141:921-927.
- Dohadwala MM, Holbrook M, Hamburg NM, Shenouda SM, Chung WB, Titas M, Kluge MA, Wang N, Palmisano J, Milbury PE, Blumberg JB, Vita JA. Effects of cranberry juice consumption on vascular function in patients with coronary artery disease. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2011, 93:934-940.
- Drozdzowski L, Thomson AB. Aging and the intestine. *World Journal of Gastroenterology* 2006, 12(47):7578-7584.
- Edwards T. Inflammation, pain and chronic disease: An integrative approach to treatment and prevention. *Alternative Therapies In Health And Medicine* 2005, 11:20-27.
- Eleftheriadou I, Grigoropoulou P, Moyssakis I, Kokkinos A, Perrea D, Toutouzas K, Katsilambros N, Tentolouris N. The effect of hyperhomocysteinemia on aortic distensibility in healthy individuals. *Nutrition* 2013, 29:876-880.
- Elmadfa I. European nutrition and health report.(ed) Karger, Basel, page:5, 2009.
- Esfahani A, Lam J, Kendall CW. Acute effects of raisin consumption on glucose and insulin responses in healthy individuals. *Journal of Nutritional Science* 2014 3:1-6.

- Esmailzadeh A, Kimiagar M, Mehrabi Y, Azadbakht L, Hu FB, Willett WC. Dietary patterns, insulin resistance, and prevalence of the metabolic syndrome in women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2007,85:910-918.
- Esmailzadeh A and Azadbakht L. Major dietary patterns in relation to general obesity and central adiposity among Iranian women. *Journal of Nutrition* 2008, 138:358-363.
- 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.
- Feldeisen SE, Tucker KL. Nutritional strategies in the prevention and treatment of metabolic syndrome. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 2007, 32:46-60.
- Frederiksen H, Mortensen A, Schrøder M, Frandsen H, Bysted A, Knuthsen P, Rasmussen SE. Effects of red grape skin and seed extract supplementation on atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Molecular Nutrition & Food Research* 2007, 51:564-71.
- Forester SC, Waterhouse AL. Metabolites are key to understanding health effects of wine polyphenolics. *Journal of Nutrition* 2009, 138:1824S-1831S.
- Foshati S, Nouripour F, Akhlaghi M. Effect of Date and Raisin Snacks on Glucose Response in Type 2 Diabetes. *Nutrition and Food Sciences Research* 2015, 2:19-25.
- Foster-Schubert KE, Overduin J, Prudom CE, Liu J, Callahan HS, Gaylinn BD, Thorner MO, Cummings DE. Acyl and total ghrelin are suppressed strongly by ingested proteins, weakly by lipids, and biphasically by carbohydrates. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2008, 93:1971-1979.
- Furchner-Evanson A, Petrisko Y, Howarth L, Nemoseck T, Kern M. Type of snack influences satiety responses in adult women. *Appetite* 2010, 54:564-569.
- García-Rodríguez CE, Mesa MD, Olza J, Bucciatti G, Pérez M, Moreno-Torres R, Pérez de la Cruz A, Gil A. Postprandial glucose, insulin and gastrointestinal hormones in healthy and diabetic subjects fed a fructose-free and resistant starch type IV-enriched enteral formula. *European Journal of Nutrition* 2013, 52:1569-1578.

- Gasco V, Beccuti G, Marotta F, Benso A, Granata R, Broglio F, Ghigo E. Endocrine and metabolic actions of ghrelin. *Endocrine Development* 2010, 17:86-95.
- Goetz ME, Judd SE, Hartman TJ, McClellan W, Anderson A, Vaccarino V. Flavanone Intake Is Inversely Associated with Risk of Incident Ischemic Stroke in the REasons for Geographic and Racial Differences in Stroke (REGARDS) Study. *Journal of Nutrition* 2016, 146(11):2233-2243.
- Gruendel S, Garcia AL, Otto B, Mueller C, Steiniger J, Weickert MO, Speth M, Katz N, Koebnick C. Carob pulp preparation rich in insoluble dietary fiber and polyphenols enhances lipid oxidation and lowers postprandial acylated ghrelin in humans. *Journal of Nutrition* 2006, 136:1533-1538.
- Guenther PM, Dodd KW, Reedy J, Krebs-Smith SM. Most Americans eat much less than the recommended amount of fruits and vegetables. *Journal of the American Dietetic Association* 2006, 106:1371-1379.
- Hall JN, Moore S, Harper SB, Lynch JW. Global variability in fruit and vegetable consumption. *American Journal of Preventive Medicine* 2009, 36:402-409.
- Halloran BP, Wronski TJ, VonHerzen DC, Chu V, Xia X, Pingel JE, Williams AA, Smith B. Dietary dried plum increases bone mass in adult and aged male mice. *Journal of Nutrition* 2010, 140:1781-1787.
- Harasym J, Oledzki R. Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma. *Nutrition* 2014, 30(5):511-517.
- Heidemann C, Schulze MB, Franco OH, van Dam RM, Mantzoros CS, Hu FB. Dietary patterns and risk of mortality from cardiovascular disease, cancer, and all causes in a prospective cohort of women. *Circulation* 2008, 118:230-237.
- Hoggard N, Cruickshank M, Moar KM, Bestwick C, Holst JJ, Russell W, Horgan G. A single supplement of a standardised bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract (36 % wet weight anthocyanins) modifies glycaemic response in individuals with type 2 diabetes controlled by diet and lifestyle. *Journal of Nutritional Science* 2013, 2:e22.
- Hooshmand S, Arjmandi BH. Viewpoint: dried plum, an emerging functional food that may effectively improve bone health. *Aging Research Reviews* 2009, 8:122-127.

- Hung HC, 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. *Journal of the National Cancer Institute* 2004, 96:1577-1584.
- Hu FB. Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. *Current Opinion in Lipidology* 2002, 13: 3-9.
- Hu B. Vegetarian diets and risk of selected chronic diseases: Plant based foods and prevention of cardiovascular disease: An overview. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2003, 78:544-551.
- Huda MSB, Durham BH, Wong SP, Deepak D, Kerrigan D, McCulloch P, Ranganath L, Pinkney J, Wilding JPH. Plasma obestatin levels are lower in obese and postgastrectomy subjects, but do not change in response to a meal. *International Journal of Obesity (Lond)* 2008, 32:129-135.
- International Nut and Dried Fruit Council. World Dried Fruits Production. International Nut and Dried Fruit Council Foundation, Reus, Spain 2012.
- Ivey KL, Hodgson JM, Croft KD, Lewis JR, Prince RL. Flavonoid intake and all-cause mortality. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2015, 101:1012-1020.
- Jenkins DJ, Wolever TM, Taylor RH, Barker H, Fielden H, Baldwin JM, Bowling AC, Newman HC, Jenkins AL, Goff DV. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1981, 34:362-366.
- Jenkins DJA, Axelsen M, Kendall CWC, Augustin LSA, Vuksan V, Smith U. Dietary fibre, lente carbohydrates and the insulin-resistant disease. *British Journal of Nutrition* 2000, 83:S157-S163.
- Jenkins DJ, Srichaikul K, Kendall CW, Sievenpiper JL, Abdulnour S, Mirrahimi A, Meneses C, Nishi S, He X, Lee S, So YT, Esfahani A, Mitchell S, Parker TL, Vidgen E, Josse RG, Leiter LA. The relation of low glycaemic index fruit consumption to glycaemic control and risk factors for coronary heart disease in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2011, 54:271-279.
- Jiang R, Jacobs DR, Mayer-Davis E, Szklo M, Herrington D, Jenny NS, Kronmal R, Barr RG. Nut and seed consumption and inflammatory markers in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *American Journal of Epidemiology* 2006, 163:222-231.

- Jiang W, Wei H, He B. Dietary flavonoids intake and the risk of coronary heart disease: a dose-response meta-analysis of 15 prospective studies. *Thrombosis Research* 2015, 135(3):459-463.
- Johnson SA, Figueroa A, Navaei N, Wong A, Kalfon R, Ormsbee LT, Feresin RG, Elam ML, Hooshmand S, Payton ME, Arjmandi BH. Daily blueberry consumption improves blood pressure and arterial stiffness in postmenopausal women with pre- and stage 1-hypertension: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* 2015, 115(3):369-377.
- Johnston KL, Clifford MN, Morgan LM. Possible role for apple juice phenolic compounds in the acute modification of glucose tolerance and gastrointestinal hormone secretion in humans. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2002, 82:1800-1805.
- Joseph JA, Shukitt-Hale B, Lau FC. Fruit polyphenol and their effects on neuronal signaling and behaviour senescence. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007, 1100:470-485.
- Kaliora AC, Dedoussis GV, Schmidt H. Dietary antioxidants in preventing atherogenesis. *Atherosclerosis* 2006, 187:1-17.
- Kaliora AC, Kountouri AM, Karathanos VT, Koumbi L, Papadopoulos NG, Andrikopoulos NK. Effect of Greek Raisins (*Vitis Vinifera* L.) from different origins on gastric cancer cell growth. *Nutrition and Cancer* 2008, 60:792-799.
- Kaliora AC, Kountouri AM, Karathanos VT. Antioxidant properties of raisins. *Journal of Medicinal Food* 2009, 12:1302-1309.
- Kaliora AC, Kokkinos A, Diolintzi A, Stoupaki M, Gioxari A, Kanellos PT, Dedoussis GV, Vlachogiannakos J, Revenas C, Ladas SD, Karathanos VT. The effect of minimal dietary changes with raisins in NAFLD patients with non-significant fibrosis: a randomized controlled intervention. *Food and Function* 2016, 7(11):4533-4544.
- Kao YH, Hiipakka RA, Liao S. Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate. *Endocrinology* 2000, 141:980-987.
- Karatzi K, Papamichael C, Karatzis E, Papaioannou TG, Voidonikola PT, Lekakis J, Zampelas A. Acute smoking induces endothelial dysfunction in healthy smokers. Is this reversible by

- red wine's antioxidant constituents? The Journal of the American College of Nutrition 2007, 26:10-15.
- Karatzi K, Rontoyanni VG, Protogerou AD, Georgoulia A, Xenos K, Chrysou J, Sfrikakis PP, Sidossis LS. Acute effects of beer on endothelial function and hemodynamics: A single-blind, crossover study in healthy volunteers. Nutrition 2013, 29:1122-1126.
- Kayano S, Kikuzaki H, Fukutsuka N, Mitani T, Nakatani N. Antioxidant activity of prune (*Prunus domestica* L.) constituents and a new synergist. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2002, 50: 3708-3712.
- Keast DR, Jones JM. Dried fruit consumption associated with reduced improved overweight or obesity in adults: NHANES, 1999-2004. FASEB Journal 2009, 23:LB11.
- Keast DR, O'Neil CE, Jones JM. Dried fruit consumption is associated with improved diet quality and reduced obesity in US adults: National Health and Nutrition Examination Survey, 1999–2004. Nutrition Research 2011, 31:460-467.
- Kim Y, Hertzler SR, ByrneHK, MatternCO. Raisins are a low to moderate glycemic index food witha correspondingly low insulin index. Nutrition Research 2008, 28:304-308.
- Kountouri AM, Gioxari A, Karvela E, Kaliora AC, Karvelas M, Karathanos VT. Chemopreventive properties of raisins originating from Greece in colon cancer cells. Food and Function 2013, 4:366-372.
- Laham-New SA. Fruits and vegetables: the unexpected natural answer to the question of osteoporosis. The American Journal of Clinical Nutrition 2006, 83:1254-1255.
- Lau FC, Shukitt-Hale B, Joseph JA. The beneficial effects of fruit polyphenols on brain aging. Neurobiology of Aging 2005, 26:128-132.
- Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, Pannier B, Vlachopoulos C, Wilkinson I, Struijker-Boudier H; European Network for Non-invasive Investigation of Large Arteries. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications.European Heart Journal 2006, 27:2588-2605.

- Leikert JF, Räthel TR, Wohlfart P, Cheynier V, Vollmar AM, Dirsch VM. Red wine polyphenols enhance endothelial nitric oxide synthase expression and subsequent nitric oxide release from endothelial cells. *Circulation* 2002, 106:1614-1617.
- Leitzmann C. Characteristics and Health Benefits of Phytochemicals. *Forschende Komplementärmedizin* 2016, 23(2):69-74.
- Levitan EB, Cook NR, Stampfer MJ, Ridker PM, Rexrode KM, Buring JE, Manson JE, Liu S. Dietary glycemic index, dietary glycemic load, blood lipids, and C-reactive protein. *Metabolism* 2008, 57:437-443.
- Li N, Jia X, Chen O, Blumberg JB, Song Y, Zhang W, Zhang X, Ma G, Chen J. Almond Consumption Reduces Oxidative DNA Damage and Lipid Peroxidation in Male Smokers. *Journal of Nutrition* 2007, 137: 2717-2722.
- Lin BW, Gong CC, Song HF, Cui YY. Effects of anthocyanins on the prevention and treatment of cancer. *British Journal of Pharmacology* 2016. doi: 10.1111/bph.13627.
- Liu IM, Tzeng TF, Liou SS, Lan TW Myricetin, a naturally occurring flavonol, ameliorates insulin resistance induced by a high-fructose diet in rats. *Life Sciences* 2007, 81:1479-1488.
- Lock K, Pormeleau J, Causer L, McKee M. 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 2005.
- Lutsey PL, Steffen LM, Stevens J. Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation* 2008, 117:754-761.
- Maćkowiak K, Torlińska-Walkowiak N, Torlińska B. Dietary fibre as an important constituent of the diet. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (Online)* 2016, 70:104-109.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2004, 79:727-747.
- Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2005, 81:230S-242S.

- Mandalari G, Chessa S, Bisignano C, Chan L, Carughi A. The effect of sun-dried raisins (*Vitis vinifera* L.) on the in vitro composition of the gut microbiota. *Food and Function* 2016, 7(9):4048-4060.
- Mata-Bilbao Mde L, Andrés-Lacueva C, Roura E, Jáuregui O, Escribano E, Torre C, Lamuela-Raventós RM. Absorption and pharmacokinetics of green tea catechins in beagles. *British Journal of Nutrition* 2008, 100(3):496-502.
- Matsui T, Ebuchi S, Kobayashi M, Fukui K, Sugita K, Terahara N, Matsumoto K. Anti-hyperglycemic effect of diacylated anthocyanin derived from *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki can be achieved through the alpha-glucosidase inhibitory action. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2002, 50:7244-7248.
- Maynard M, Gunnell D, Emmett P, Frankel S, Davey Smith G. Fruit, vegetables and antioxidants in childhood and risk of adult cancer:the Boyd Orr cohort.*Journal of Epidemiology & Community Health* 2003, 57:218-225.
- McAnulty SR, McAnulty LS, Morrow JD, Khardouni D, Shooter L, Monk J, Gross S, Brown V. Effect of daily fruit ingestion on angiotensin converting enzyme activity, blood pressure, and oxidative stress in chronic smokers. *Free Radical Research* 2005, 39(11):1241-1248.
- Mennen LI, Sapinho D, de Bree A, Arnault N, Bertrais S, Galan P, Hercberg S. Consumption of foods rich in flavonoids is related to a decreased cardiovascular risk in apparently healthy French women. *Journal of Nutrition* 2004, 134:923-926.
- Miller CJ, Dunn EV, Hashim IB. Glycemic Index of 3 varieties of dates. *Saudi Medical Journal* 2002, 23:536-538.
- Murtaugh MA, Herrick JS, Sweeney C, Baumgartner KB, Guiliano AR, Byers T, Slattery ML. Diet composition and risk of overweight and obesity in women living in the southwestern United States. *Journal of the American Dietetic Association* 2007, 107:1311-1321.
- National Academy of Science-National Research Council. Committee on Diet, Nutrition and Cancer. Diet, Nutrition and Cancer. National Academy Press, Washington DC, 1982.
- National Academy of Science–National Research Council. Commission on Life Sciences. Diet and Health: Implications for Reducing Chronic Disease, National Academy Press, Washington DC, 1989.

- National Diabetes Information Clearinghouse. National Diabetes Statistics. <http://www.diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/statistics/#deaths> (accessed July 2008).
- Ness AR, Maynard M, Frankel S, Smith GD, Frobisher C, Leary SD, Emmett PM, Gunnell D. Diet in childhood and adult cardiovascular and all cause mortality: The Boyd Orr cohort. *Heart* 2005, 91:894-898.
- Nielsen IL, Williamson G. Review of the factors affecting bioavailability of soy isoflavones in humans. *Nutrition Cancer* 2007, 57(1):1-10.
- Niki E. Antioxidant capacity: which capacity and how to assess it? *Journal of Berry Research* 2011, 1:169-176.
- Niki E. Do antioxidants impair signaling by reactive oxygen species and lipid oxidation products? *FEBS Letters* 2012, 586:3767-3770.
- Nikolidaki EK, Chiou A, Christea M, Gkegka AP, Karvelas M, Karathanos VT. Sun dried Corinthian currant (*Vitis Vinifera* L., var. Apyrena) simple sugar profile and macronutrient characterization. *Food Chemistry* 2016. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.070>
- Nilsson AC, Ostman EM, Holst JJ, Björck IM. Including indigestible carbohydrates in the evening meal of healthy subjects improves glucose tolerance, lowers inflammatory markers, and increases satiety after a subsequent standardized breakfast. *Journal of Nutrition* 2008, 138:732-739.
- Oettle GJ, Emmett PM, Heaton KW. Glucose and insulin responses to manufactured and whole-food snacks. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1987, 45:86-91.
- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns: A Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 2006, 16, 559-568.
- Patel BP, Bellissimo N, Luhovvyy B, Bennett LJ, Hurton E, Painter JE, Anderson GH. A pre-meal raisin snack increases satiety and lowers cumulative food intake in normal weight children. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 2011, 36:475.

- Parker TL, WangXH, PazminoJ, EngesethNJ. Antioxidant capacity and phenolic content of grapes, sun-dried raisins, and golden raisins and their effect on ex vivo serum antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007, 55:8472-8477.
- Paschetta E, Hvalryg M, Musso G. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide: from pathophysiology to therapeutic opportunities in obesity-associated disorders. *Obesity Reviews* 2011, 12:813-828.
- Pérez-Jiménez J, Serrano J, Tabernero M, Arranz S, Díaz-Rubio ME, García-Diz L, Goñi I, Saura-Calixto F. Bioavailability of phenolic antioxidants associated with dietary fiber: plasma antioxidant capacity after acute and long-term intake in humans. *Plant Foods for Human Nutrition* 2009, 64:102-107.
- 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 Nutrition* 2005, 9:575-583.
- Prasain JK, Xu J, Kirk M, Smith Johnson M, Sfakianos J, Barnes S. Differential biliary excretion of genistein metabolites following intraduodenal and intravenous infusion of genistin in female rats. *Journal of Nutrition* 2006, 136(12):2975-2979.
- 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 in Health and Disease* 2008, 7:14.
- Puglisi MJ, Mutungi G, Brun PJ, McGrane MM, Labonte C, Volek JS, Fernandez ML. Raisins and walking alter appetite hormones and plasma lipids by modifications in lipoprotein metabolism and up-regulation of the low density lipoprotein receptor. *Metabolism: Clinical and Experimental* 2009, 58:120-128.
- Qi X, Li L, Yang G, Liu J, Li K, Tang Y, Liou H, Boden G. Circulating obestatin levels in normal subjects and in patients with impaired glucose regulation and type 2 diabetes mellitus. *Clinical Endocrinology (Oxf)* 2007, 66:593-597.
- Qin Y, Xia M, Ma J, Hao Y, Liu J, Mou H, Cao L, Ling W. Anthocyanin supplementation improves serum LDL- and HDL-cholesterol concentrations associated with the inhibition of

- cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2009, 90:485-492.
- Rankin JW, Andreae MC, Chen CYO, O'Keefe SF. Effect of raisin consumption on oxidative stress and inflammation in obesity. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2008, 10:1086-1096.
- Ray A, Huisman MV, Tamsma JT, van Asten J, Bingen BO, Broeders EA, Hoogeveen ES, van Hout F, Kwee VA, Laman B, Malgo F, Mohammadi M, Nijenhuis M, Rijkée M, van Tellingen MM, Tromp M, Tummers Q, de Vries L. The role of inflammation on atherosclerosis, intermediate and clinical cardiovascular endpoints in type 2 diabetes mellitus. *European Journal of Internal Medicine* 2009, 20:253-260.
- 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. *Phytochemistry Letters* 2008, 1:151-154.
- Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition* 2002, 22:19-34.
- Satija A, Hu FB Cardiovascular benefits of dietary fiber. *Current Atherosclerosis Reports* 2012, 14:505-514.
- Schirmacher G, Skurk T, Hauner H, Graßmann J. Effect of *Spinacia oleracea* L. and *Perilla frutescens* L. on antioxidants and lipid peroxidation in an intervention study in healthy individuals. *Plant Foods for Human Nutrition* 2010, 65:71-76.
- Schneider M, Norman R, Steyn N, Bradshaw D. South African Comparative risk Assessment Collaborating Group. Estimating the burden of disease attributed to low fruit and vegetable intake in South Africa in 2000. *South African Medical Journal* 2001, 97:717-723.
- Schroeder H. Protective mechanisms of the Mediterranean diet in obesity and type 2 diabetes. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2007, 18:149-160.
- Song DH, Wolfe MM. Glucose-dependent insulintropic polypeptide and its role in obesity. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* 2007, 14:46-51.

- Sunter D, Hewson AK, Dickson SL. Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat. *Neuroscience Letters* 2003, 353:1-4.
- Sykes S, Morgan LM, English J, Marks V. Evidence for preferential stimulation of gastric inhibitory polypeptide secretion in the rat by actively transported carbohydrates and their analogues. *Journal of Endocrinology* 1980, 85:201-207.
- Tannous dit El Khoury D, Obeid O, Azar ST, Hwalla N. Variations in postprandial ghrelin status following ingestion of high-carbohydrate, high-fat, and high-protein meals in males. *Annals of Nutrition and Metabolism* 2006, 50:260-269.
- Tantamango YM, Knutsen SF, Beeson WL, Fraser G, Sabate J. Food and food groups associated with the incidence of colorectal polyps: the Adventist health study. *Nutrition and Cancer* 2011, 63:565-572.
- Teff KL, Elliott SS, Tschöp M, Kieffer TJ, Rader D, Heiman M, Townsend RR, Keim NL, D'Alessio D, Havel PJ. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2004, 89:2963-2972.
- Teff KL, Grudziak J, Townsend RR, Dunn TN, Grant RW, Adams SH, Keim NL, Cummings BP, Stanhope KL, Havel PJ. Endocrine and metabolic effects of consuming fructose- and glucose-sweetened beverages with meals in obese men and women: influence of insulin resistance on plasma triglyceride responses. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2009, 94:1562-1569.
- Tentolouris N, Arapostathi C, Perrea D, Kyriaki D, Revenas C, Katsilambros N. Differential effects of two isoenergetic meals rich in saturated or monounsaturated fat on endothelial function in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2008, 31:2276-2278.
- Turati F, Rossi M, Pelucchi C, Levi F, La Vecchia C. Fruit and vegetables and cancer risk: a review of southern European studies. *British Journal of Nutrition* 2015, 113(2):S102-S110.
- United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 23. Nutrient Laboratory Homepage, <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>.

- United States Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture. Chapter 7: Carbohydrates. Dietary Guidelines for Americans, 2005. Sixth Edition. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, Jan 2005.
- USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25 <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=8964> (Accessed March 10, 2013)
- Utreja A, Lingstrom P, Evans CA, Salzmänn LB, Wu CD. The effect of raisins-containing cereals on the PH of dental plaque in young children. *Pediatric Dentistry* 2009, 31:498-503.
- Vadillo M, Ardevol A, Fernandez-Larrea J, Pujadas G, Blade C, Salvado MJ, Arola L, Blay M. Moderate red-wine consumption partially prevents body weight gain in rats fed a hyperlipidic diet. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2006, 17:139-142.
- van Dam RM, Rimm EB, Willett WC, Stampfer MJ, Hu FB. Dietary patterns and risk for type 2 diabetes mellitus in U.S. men. *Annals of Internal Medicine* 2002,136:201-209.
- van Dam RM, Grievink L, Ocke MC, Feskens EJ. Patterns of food consumption and risk factors for cardiovascular disease in the general Dutch population. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2003,77:1156-1163.
- Vayalil PK. Date fruits (*Phoenix dactylifera* Linn): an emerging medicinal food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2012, 52:249-271.
- Vilsbøll T, Christensen M, Junker AE, Knop FK, Gluud LL Effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on weight loss: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials. *British Medical Journal* 2012, 344:d7771.
- Vinceti M, Filippini T, Crippa A, de Sesmaisons A, Wise LA, Orsini N. Meta-Analysis of Potassium Intake and the Risk of Stroke. *Journal of the American Heart Association* 2016, 6:5(10).
- Vinson JA, Zubik L, Bose P, Samman N, Proch J. Dried fruits: Excellent in vitro and in vivo antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition* 2005, 24:44-50.
- Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Alexopoulos N, Economou E, Andreadou I, Stefanadis C. Effect of dark chocolate on arterial function in healthy individuals. *American Journal of Hypertension* 2005, 18:785-791.
- Vlachopoulos C, Alexopoulos NA, Aznaouridis KA, Ioakeimidis NC, Dima IA, Dagre 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. *American Journal of Cardiology* 2007, 99:1473-1475.
- Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness. *Journal of the American College of Cardiology* 2010, 55:1318-1327.
- Wang X, Ouyang Y, Liu J, Zhu M, Zhao G, Bao W, Hu FB. Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *British Medical Journal* 2014, 349:g4490.
- Wang X, Ouyang YY, Liu J, Zhao G. Flavonoid intake and risk of CVD: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *British Journal of Nutrition* 2014, 111: 1-11.
- Widanagamage RD, Ekanayake S, Welihinda J. Carbohydrate-rich foods: glycemic indices and the effect of constituent macronutrients. *International Journal of Food Science and Nutrition* 2009, 60:215-223.
- Williamson G, Carughi A. Polyphenol content and health benefits of raisins. *Nutrition Research* 2010, 30 511-519.
- Wilson T, Anderson JA, Andersen KF, Heimerman RA, Larson MM, Freeman MR, Baker SE. Glycemic Response of Type 2 Diabetics to Raisins. *Food and Nutrition Sciences* 2012, 3:1162-1166.
- Wirfalt E, Hedblad B, Gullberg B, Mattisson I, Andrén C, Rosander U, Janzon L, Berglund G. Food patterns and components of the metabolic syndrome in men and women: a cross-sectional study within the Malmo Diet and Cancer cohort. *American Journal of Epidemiology* 2001, 154:1150-1159.
- Wolever TMS. Dietary carbohydrates and insulin action in humans. *British Journal of Nutrition* 2000, 83:S97-S102.
- Wölnerhanssen BK, Meyer-Gerspach AC, Schmidt A, Zimak N, Peterli R, Beglinger C, Borgwardt S. Dissociable Behavioral, Physiological and Neural Effects of Acute Glucose and Fructose Ingestion: A Pilot Study. *PLoS One* 2015, 10:e0130280.

- 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.
- World Health Organization. Cancer preventive effects. In: IARC Handbook of Cancer Prevention: Fruit and Vegetables. IARC Press, Lyon, France. 2008, 8:53-62.
- Wursch P, Pi-Sunyer FX. The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes: a review with special emphasis on cereals rich in beta-glucan. Diabetes Care 2002, 20:1774-1780.
- Yanni AE, Efthymiou V, Lelovas P, Agrogiannis G, Kostomitsopoulos N, Karathanos VT. Effects of dietary Corinthian currants (*Vitis vinifera* L., var. Apyrena) on atherosclerosis and plasma phenolic compounds during prolonged hypercholesterolemia in New Zealand White rabbits. Food and Function 2015, 6:963-971.
- Yu C, Shi Z, Lv J, Du H, Qi L, Guo Y, Bian Z, Chang L, Tang X, Jiang Q, Mu H, Pan D, Chen J, Chen Z, Li L. Major Dietary Patterns in Relation to General and Central Obesity among Chinese Adults. Nutrients 2015, 7: 5834-5849.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1: ΦΟΡΜΑ ΣΥΜΠΛΗΡΩΣΗΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2

Ονοματεπώνυμο:

Κωδικός:

Επίσκεψη 1 (1 μήνας)

Ημερομηνία.....

Βάρος.....

Περίμετρος μέσης.....

Περίμετρος ισχίων.....

Συστολική ΑΠ..... Διαστολική ΑΠ.....

Σφύξεις.....

Ποσότητα φρούτων που καταναλώθηκε καθημερινά.....

Ποσότητα φρούτων που καταναλώθηκε ανά εβδομάδα.....

Τιμές σακχάρου πριν και 2 ώρες μετά από την κατανάλωση 1 μερίδας φρούτου:

1^η εβδομάδα

1) Πριν:Μετά 2 ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

2) Πριν:Μετά 2 ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

2^η εβδομάδα

1) Πριν:Μετά 2 ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

2) Πριν:Μετά 2 ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

3^η εβδομάδα

1) Πριν:Μετά 2 ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

2) Πριν:Μετά 2 ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

4^η εβδομάδα

1) Πριν:Μετά 2 ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

2) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

Σχόλια:

ΑΝΑΚΛΗΣΗ ΕΙΚΟΣΙΤΕΤΡΩΡΟΥ

Ώρα	Τρόφιμο
Πρωινό	
Δεκατιανό Μεσημεριανό	
Απογευματινό Βραδινό	
Προ του ύπνου	

Επίσκεψη 2 (3 μήνες)

Ημερομηνία.....

Βάρος.....

Περίμετρος μέσης.....

Περίμετρος ισχίων.....

Συστολική ΑΠ..... Διαστολική ΑΠ.....

Σφύξεις.....

Ποσότητα φρούτων που καταναλώθηκε καθημερινά.....

Ποσότητα φρούτων που καταναλώθηκε ανά εβδομάδα.....

Τιμές σακχάρου πριν και 2 ώρες μετά από την κατανάλωση 1 μερίδας φρούτου:

1^η εβδομάδα

3) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

4) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

2^η εβδομάδα

3) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

4) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

3^η εβδομάδα

3) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

4) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

4^η εβδομάδα

3) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

4) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

Σχόλια:

ΑΝΑΚΛΗΣΗ ΕΙΚΟΣΙΤΕΤΡΩΡΟΥ

Ώρα	Τρόφιμο
Πρωινό	
Δεκατιανό Μεσημεριανό	
Απογευματινό Βραδινό	
Προ του ύπνου	

Επίσκεψη 3 (6 μήνες)

Ημερομηνία.....

Βάρος.....

Περίμετρος μέσης.....

Περίμετρος ισχίων.....

Συστολική ΑΠ..... Διαστολική ΑΠ.....

Σφύξεις.....

Ποσότητα φρούτων που καταναλώθηκε καθημερινά.....

Ποσότητα φρούτων που καταναλώθηκε ανά εβδομάδα.....

Τιμές σακχάρου πριν και 2 ώρες μετά από την κατανάλωση 1 μερίδας φρούτου:

1^η εβδομάδα

5) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

6) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

2^η εβδομάδα

5) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

6) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

3^η εβδομάδα

5) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

6) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

4^η εβδομάδα

5) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

6) Πριν:Μετά 2ώρες..... Ώρα μέτρησης πριν.....

Σχόλια:

ΑΝΑΚΛΗΣΗ ΕΙΚΟΣΙΤΕΤΡΩΡΟΥ

Ώρα	Τρόφιμο
Πρωινό	
Δεκατιανό Μεσημεριανό	

Απογευματινό Βραδινό Προ του ύπνου	
---	--

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2: ΦΟΡΜΑ ΣΥΜΠΛΗΡΩΣΗΣ ΥΓΙΩΝ ΚΑΠΝΙΣΤΩΝ ΕΘΕΛΟΝΤΩΝ

ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Ημερομηνία:

Κωδικός εξεταζομένου: HS

Όνομα:

Επώνυμο:

Περιοχή-Δήμος Κατοικίας:

Τ.Κ:

Οδός:

Αριθμός:

Τηλέφωνο οικίας:

Κινητό:

Ημερομηνία γέννησης:

Ηλικία:

Επάγγελμα:

Οικογενειακή κατάσταση: παντρεμένος

ανύπαντρος

διαζευγμένος

χήρος

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΚΑΠΝΙΣΜΑΤΟΣ		
Καπνίζετε;	ΝΑΙ	ΟΧΙ
Πόσα χρόνια είστε καπνιστής;		
Πόσα τσιγάρα ημερησίως;		
ΙΑΤΡΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ		
Λήψη φαρμακευτικής αγωγής	ΝΑΙ	ΟΧΙ
Φυσιολογική νεφρική λειτουργία	ΝΑΙ	ΟΧΙ

Ιστορικό στεφανιαίας νόσου	ΝΑΙ	ΟΧΙ
Ιστορικό ΑΕΕ	ΝΑΙ	ΟΧΙ
Περιφερική αγγειοπάθεια	ΝΑΙ	ΟΧΙ
Χρόνια διάρροια	ΝΑΙ	ΟΧΙ
Οξεία λοίμωξη/Λήψη αντιμικροβιακής θεραπείας τους τελευταίους 3 μήνες	ΝΑΙ	ΟΧΙ
Αυτοάνοσα νοσήματα/Ανοσοκαταστολή	ΝΑΙ	ΟΧΙ

ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	Πριν	Μετά
Ύψος (cm):		
Βάρος (Kg)		
Περιφέρεια μέσης (cm)		
Περιφέρεια ισχίων (cm)		
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 εβδομαδιαία	3-4 φορές εβδομαδιαία	4-6 φορές εβδομαδιαία	1 φορά εβδομαδιαία	1 φορά 15ήμερες	1 φορά το 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 σούπες	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	300	400	500	600	>700 ή 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