



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ

ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Μεταγευματικό οξειδωτικό στρες : Επίδραση των αντιοξειδωτικών των τροφίμων

Πτυχιακή εργασία

Κουτουλογένης Κωνσταντίνος



Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Καλιώρα Ανδριάνα, Επίκουρη Καθηγήτρια-Διατροφή του Ανθρώπου και Τρόφιμα

Δεδούσης Γεώργιος, Καθηγητής-Κυτταρική και Μοριακή Βιολογία του Ανθρώπου

Καλογερόπουλος Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής-Χημεία Τροφίμων και

Περιβάλλοντος

Αθήνα 2017

Ο Κουτουλογένης Κωνσταντίνος

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 αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Σελίδα για Αφιέρωση

Σε εμένα, τον εαυτό μου και σε εσένα φίλη μου. Ξέρω ότι θα είσαι εκεί μαζί μου όπως θα ήμουν και εγώ εκεί μαζί σου...

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ξεκινώντας και πρώτα από όλους θέλω να ευχαριστήσω των Επιβλέπουσα Καθηγήτρια της πτυχιακής μου, την κυρία Καλιώρα Ανδριάννα για την καταλυτική της βοήθεια στην προσπάθειά περάτωσης των σπουδών μου καθώς επίσης την πολύπλευρη βοήθειά της σε προσωπικό επίπεδο.

Δε θα μπορούσα να παραλείψω και τον πλέον Διδάκτορα Παναγιώτη Κανέλλο, ο οποίος ηγήθηκε της πορείας του πρωτοκόλλου, για την άριστη συνεργασία και επικοινωνία μας. Επίσης, στα πλαίσια της δειγματοληψίας και του πειραματικού μέρους της πτυχιακής είχα την τύχη να γνωρίσω και να συνεργαστώ άψογα με την Νίκη Ζολώτα, μεταπτυχιακή φοιτήτρια στο τμήμα Διατροφής-Διαιτολογίας ενώ εξαιρετική γνωριμία/παρουσία και συνεργάτης αποτέλεσε η Αντιγόνη Τσιαφίτσα, η αιμολήπτρια του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω φίλους, γονείς και συγγενείς για την πολύτιμη βοήθεια, στήριξη και συμπαράσταση τους καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ABSTRACT	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ	15
1.1 Ιστορικά δεδομένα για τα αποξηραμένα φρούτα	15
1.2 Διαδικασία αποξήρανσης φρούτων.....	15
1.3 Περιεχόμενο σε θρεπτικά συστατικά και ευεργετικές δράσεις	16
1.4 Η Κορινθιακή σταφίδα, ένα ελληνικό παραδοσιακό προϊόν.....	23
1.5 Συστατικά Κορινθιακής σταφίδας.....	25
1.5.1 Διατροφική αξία	25
1.5.2 Αντιοξειδωτικά συστατικά της Κορινθιακής σταφίδας.....	27
1.5.3 Δοκιμές διερεύνησης ευεργετικής δράσης της Κορινθιακής Σταφίδας	28
1.5.3.1 Δοκιμές in vitro.....	28
1.5.3.2 Δοκιμές in vivo.....	29
1.6 Οξειδωτικό στρες	33
1.6.1 Προ-οξειδωτικά	35
1.6.2 Αντιοξειδωτικά	36
1.6.3 Μεταγευματικό οξειδωτικό στρες	37
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	39
2.1 Σκοπός της μελέτης	39
2.2 Σχεδιασμός της μελέτης.....	39
2.2.1 Επιλογή δείγματος	39
2.2.2 Παρασκευή γευμάτων παρέμβασης και ελέγχου.....	40
2.3 Διεξαγωγή της μελέτης	41
2.4 Εργαστηριακές αναλύσεις.....	42
2.4.1 Προσδιορισμός επιπέδων γλυκόζης στο πλάσμα.....	43
2.4.2 Προσδιορισμός επιπέδων ινσουλίνης στον ορό.....	43
2.4.3 Προσδιορισμός επιπέδων τριγλυκεριδίων στον ορό.....	44
2.4.4 Προσδιορισμός ολικής χοληστερόλης στον ορό.....	45
2.4.5 Προσδιορισμός επιπέδων ουρικού οξέος στον ορό	46
2.4.6 Προσδιορισμός οξειδωμένης LDL στον ορό.....	47

2.4.7	Προσδιορισμός αντίστασης του ορού στην οξείδωση	48
2.4.8	Μέτρηση επιπέδων 8-ισο-προσταγλανδίνης- $F_{2\alpha}$ σε δείγματα ούρων	50
2.4.9	Μέτρηση ολικού φαινολικού περιεχομένου στο πλάσμα	51
2.5	Στατιστική Επεξεργασία	53
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ		54
3.1	Χαρακτηριστικά του δείγματος.....	54
3.2	Βιοχημικές παράμετροι και δείκτες οξειδωτικού στρες μετά το γεύμα παρέμβασης και το γεύμα ελέγχου.....	57
3.2.1	Βιοχημικοί Δείκτες.....	59
	Γλυκόζη.....	59
	Ινσουλίνη	60
	Εμβαδόν κάτω από την καμπύλη για τη γλυκόζη και την ινσουλίνη (AUC)	61
	Τριγλυκερίδια	62
	Ολική Χοληστερόλη	63
3.2.2	Δείκτες οξειδωτικού στρες	64
	Οξειδωμένη LDLΧοληστερόλη (oxLDL)	64
	Ουρικό οξύ.....	65
	Ισοπροσάνια στα ούρα (8-ισο-προσταγλανδίνη- $F_{2\alpha}$)	66
	Αντίστασης του ορού στην οξείδωση σε σχέση με το χρόνο	67
3.2.3	Ολικό φαινολικό περιεχόμενο	68
3.2.4	Ανάλυση οξειδωτικών δεικτών στους καπνιστές και μη καπνιστές	69
	Αντίσταση του ορού στην οξείδωση σε σχέση με το χρόνο	69
	Ισοπροσάνια (8-ισο-προσταγλανδίνη- $F_{2\alpha}$).....	70
	Ουρικό οξύ.....	70
3.2.5	Ολικό φαινολικό περιεχόμενο	71
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ		73
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ		79

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το μεταγευματικό οξειδωτικό στρες χαρακτηρίζεται από αυξημένη επιρρέπεια του οργανισμού προς οξειδωτική βλάβη μετά από την κατανάλωση ενός γεύματος πλούσιου σε λίπος και/ή υδατάνθρακες. Η κατανάλωση ενός τέτοιου γεύματος οδηγεί σε παρατεταμένη υπερλιπιδαιμία και/ή υπεργλυκαιμία και σχετίζεται με υψηλό κίνδυνο για αθηροσκλήρωση, διαβήτη και παχυσαρκία. Τα αντιοξειδωτικά τόσο τα ενδογενή όσο και αυτά που λαμβάνονται μέσω της τροφής είναι η πρώτη γραμμή άμυνας για την εξουδετέρωση του οξειδωτικού στρες. Ένα ελληνικό τρόφιμο με υψηλό αντιοξειδωτικό περιεχόμενο και με σημαντική αντιοξειδωτική ικανότητα, όπως έχει αναδειχθεί από πολλές *in vitro* αλλά και *in vivo* μελέτες, αποτελεί η Κορινθιακή σταφίδα, ένα φυσικά αποξηραμένο φρούτο.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η πρόκληση μεταγευματικού οξειδωτικού στρες ύστερα από κατανάλωση ενός γεύματος πλούσιου σε λίπος και σάκχαρα καθώς και η διερεύνηση της πιθανής προστατευτικής δράσης της προσθήκης Κορινθιακής σταφίδας στο πλούσιο σε λίπος γεύμα σε νέους υγιείς άνδρες φυσιολογικού βάρους.

Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 13 υγιείς άνδρες, ηλικίας 28 ± 2 ετών με φυσιολογικό ΔΜΣ. Η μελέτη ακολούθησε διασταυρούμενο σχεδιασμό και πραγματοποιήθηκε σε 2 επισκέψεις. Με τυχαία σειρά δόθηκε στους εθελοντές είτε ένα γεύμα που περιείχε 15,5 g σκόνη άνθους αραβοσίτου, 75,9 g βούτυρο γάλακτος και 45,6 g ζάχαρη (γεύμα ελέγχου), είτε γεύμα όπου η ποσότητα της ζάχαρης είχε αντικατασταθεί από 65,6 g σταφίδες (γεύμα παρέμβασης). Πραγματοποιήθηκε συλλογή δειγμάτων αίματος σε χρόνους 0 (πριν ακριβώς από την κατανάλωση των γευμάτων), 1, 2, 3 και 4 h μεταγευματικά. Επίσης, συλλέχθηκαν δείγματα ούρων στους χρόνους 0, 2 και 4 h. Στα δείγματα αίματος προσδιορίστηκαν δείκτες, όπως η γλυκόζη πλάσματος, η ινσουλίνη ορού, η ολική χοληστερόλη ορού, τα τριγλυκερίδια ορού, η ox-LDL ορού, το ουρικό οξύ, ενώ εκτιμήθηκε το ολικό φαινολικό περιεχόμενο στο πλάσμα και η αντίσταση του ορού στην οξείδωση. Στα δείγματα ούρων που συλλέχθηκαν προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της 8-ισο-προσταγλανδίνης- $F_{2\alpha}$.

Τα επίπεδα γλυκόζης αυξήθηκαν σημαντικά την 1^η h σε σχέση με τα επίπεδα νηστείας μετά από την κατανάλωση και των δύο γευμάτων χωρίς σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Αντίστοιχα, πατηρήθηκε σημαντική αύξηση στα επίπεδα ινσουλίνης την 1^η h μεταγευματικά ύστερα από την

κατανάλωση των δύο γευμάτων χωρίς σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων αυξήθηκαν την 3^η και την 4^η h μετά από την κατανάλωση των πλούσιων σε λίπος γευμάτων χωρίς ωστόσο σημαντικές διαφορές μεταξύ των γευμάτων. Τα επίπεδα της ολικής και ox-LDL χοληστερόλης παρέμειναν αμετάβλητα καθόλη τη διάρκεια των δύο δοκιμασιών.

Τα επίπεδα του ουρικού οξέος αυξήθηκαν οριακά σημαντικά την 1^η ($p=0,055$) και 2^η h ($p=0,062$) ύστερα από την κατανάλωση του γεύματος ελέγχου. Τα επίπεδα της 8-ισο-προσταγλανδίνης- $F_{2\alpha}$ στα ούρα βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα τη 2^η h ύστερα από την κατανάλωση του γεύματος που περιείχε τη σταφίδα, με τη διαφορά μεταξύ των γευμάτων να είναι στατιστικά σημαντική ($3,0\pm 0,6$ ng/mL και $4,7\pm 0,8$ ng/mL για το γεύμα παρέμβασης και ελέγχου αντίστοιχα, $p=0,004$). Δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο και στην αντίσταση του ορού στην οξείδωση μεταξύ των δύο γευμάτων. Τέλος, ύστερα από ανάλυση των καπνιστών και των μη καπνιστών εθελοντών, παρατηρήθηκαν μεγαλύτερες επιπτώσεις του οξειδωτικού στρες (μειωμένη αντίσταση ορού στην οξείδωση, μεγαλύτερη αύξηση ουρικού οξέος και υψηλότερα επίπεδα ισοπροσταγλανδίνης- F_{2a}) στους καπνιστές απ' ό,τι στους μη καπνιστές, ενώ το ολικό φαινολικό περιεχόμενο βρέθηκε σημαντικά αυξημένο την 1^η h μετά από την κατανάλωση του γεύματος με σταφίδα σε σύγκριση με το γεύμα ελέγχου στους καπνιστές εθελοντές.

Συμπερασματικά, και τα δύο γεύματα της μελέτης προκάλεσαν μεταγευματική υπεργλυκαιμία και υπερτριγλυκεριδαιμία, ενώ η προσθήκη της Κορινθιακής σταφίδα στο γεύμα παρέμβασης κατάφερε να μειώσει τα επίπεδα της 8-ισο-προσταγλανδίνης- $F_{2\alpha}$ στα ούρα και να αυξήσει το ολικό φαινολικό περιεχόμενο στα άτομα που κάπνιζαν. Περαιτέρω έρευνα απαιτείται σε μεγαλύτερο δείγμα εθελοντών για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων και την ερμηνεία της διαφορετικής απόκρισης μεταξύ καπνιστών και μη καπνιστών εθελοντών στην προσθήκη τη Κορινθιακής σταφίδας στο πλούσιο σε λίπος γεύμα.

Λέξεις κλειδιά: Οξειδωτικό στρες, σταφίδα, ισοπροσάνια, λίπος, σάκχαρα

ABSTRACT

Postprandial oxidative stress is characterized by increased possibility for oxidative damage after consumption of a fat and/or carbohydrate rich meal. The ingestion of such a meal leads to prolonged hyperlipidemia and/or hyperglycemia and is associated with a high risk of atherosclerosis, diabetes and obesity. Antioxidants, both endogenous and those received through food ingestion, are the first line of protection to neutralize oxidative stress. A Greek food with high antioxidant content and significant antioxidant capacity, as demonstrated by many in vitro and in vivo studies, is Corinthian raisins, a naturally dried fruit.

The aim of this thesis is to provoke the postprandial oxidative stress after consumption of a fat and sugar rich meal as well as to investigate the possible protective effects of adding raisins to the high fat meal in healthy young men of normal weight.

Thirteen healthy men with a mean age of 28 ± 2 years with normal BMI participated in the study. The study was conducted in cross-sectional design and took place on 2 visits. In random order, participants were either fed a meal which contained 15.5 g of corn powder, 75.9 g of butter and 45.6 g of sugar (control meal), or a meal in which sugar had been replaced by 65.6 g of raisins (intervention meal). Blood samples were collected at 0 (before consumption), 1, 2, 3, and 4 h postprandially. Urine samples were also collected at 0, 2 and 4 h. In blood samples, markers such as plasma glucose, serum insulin, total cholesterol, triglycerides, ox-LDL, uric acid, plasma total phenolic content and serum resistance were analyzed. In urine samples collected 8-isoprostaglandin-F₂ α levels were determined.

Glucose levels increased significantly 1 h postprandially compared to time 0 in both meals without significant difference between meals. Similarly, there was a significant increase in insulin levels 1 h after consumption of both meals without significant difference between them. Triglyceride levels increased 3 and 4 h after consumption of fat-rich meals without significant differences between meals. Total and ox-LDL cholesterol levels remained unchanged throughout the two tests.

Uric acid levels increased marginally significantly at 1 ($p = 0.055$) and 2 h ($p = 0.062$) after consumption of the control meal. The levels of 8-isoprostaglandin-F₂ α were significantly lower 2h after consumption of the meal with raisins and the difference between the two meals was statistically significant (3.0 ± 0.6 ng / mL and 4.7 ± 0.8 ng / mL for the intervention and control meal

respectively, $p = 0.004$). No changes in the total phenolic content and serum resistance to oxidation between the two meals were observed. Finally, after analysis of smokers and non-smokers, the effect of oxidative stress (reduced serum resistance to oxidation, higher uric acid uptake and higher isoprostaglandin F2a) was found to be more intense in smokers than non-smokers, while total phenolic content was significantly higher 1 h after consumption of the meal with raisins compared to control meal in smokers.

In conclusion, both meals led to postprandial hyperglycemia and hypercholesterolemia. The incorporation of Corinthian raisins in the high fat meal led to a reduction in 8-isoprostaglandin-F2 α levels in urine and an increase in the total phenolic content in smokers. Further research with a larger sample is required to provide safe conclusions and to interpret the different response after adding raisins to a fat rich food between smokers and non-smokers volunteers.

Keywords: Oxidative stress, raisins, isoprostanes, fat, sugars

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικ.1. Κορινθιακή σταφίδα.....σ.18

Εικ.2. Σουλτανίνα.....σ.34

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γραφ. 1. Επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα (mg/dl) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ.....	σ. 55
Γραφ. 2. Επίπεδα ινσουλίνης στον ορό (μIU/ml) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ.....	σ. 56
Γραφ. 3. (Α) AUC γλυκόζης πλάσματος (mg/dl/min) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ (Β) AUC ινσουλίνης στον ορό (μIU/ml/μιν) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ	σ. 57
Γραφ. 4. Επίπεδα τριγλυκεριδίων στον ορό(mg/dl) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ.....	σ. 58
Γραφ. 5. Επίπεδα ολικής χοληστερόλης στον ορό(mg/dl) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ.....	σ. 59
Γραφ. 6. Επίπεδα οξειδωμένης LDL στον ορό(U/L) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ.....	σ. 60
Γραφ. 7. Επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό (mg/dl) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ.....	σ. 61
Γραφ. 8. Επίπεδα 8-ισο-προσταγλαδίνης-F2a στα ούρα (ng/mL) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ.....	σ. 62
Γραφ. 9. Μεταβολή της αντίσταση του ορού στην οξείδωση σε σχέση με τον χρόνο 0 h [Δ lagtime (sec)] 2 h μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ.....	σ. 63
Γραφ. 10. Επίπεδα ολικού φαινολικού περιεχομένου στο πλάσμα (μg ισοδύναμων καφεϊκού οξέος/ mL πλάσματος) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ.....	σ. 64
Γραφ. 11. Αντίσταση του ορού στην οξείδωση σε καπνιστές και μη καπνιστές μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ.....	σ. 64
Γραφ. 12. Επίπεδα 8-ισο-προσταγλαδίνης-F2a στα ούρα (ng/mL) στους καπνιστές μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ.....	σ. 65
Γραφ. 13. Επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό (mg/dl) στους καπνιστές μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ.....	σ. 66
Γραφ. 14. Επίπεδα ολικού φαινολικού περιεχομένου στο πλάσμα (μg ισοδύναμων καφεϊκού οξέος/ mL πλάσματος) στους καπνιστές μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με ΚΣ.....	σ. 67

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίν.1: Ολικά φαινολικά και δοκιμασίες ORAC διαφόρων τροφίμων.....	σ.12
Πίν.2: Γλυκαιμική απόκριση σταφίδας σε 3 διαφοροποιημένες ομάδες.....	σ.15
Πίν.3: Σύσταση της ΚΣ σε απλά σάκχαρα.....	σ.20
Πίν.4: Μικροσυστατικά ΚΣ.....	σ.20
Πίν.5: Συνολικό φαινολικό περιεχόμενο, Ουρικό οξύ, Οξειδωση ορού.....	σ.25
Πίν.6: Σύσταση των 2 γευμάτων της μελέτης.....	σ.36
Πίν.7: Χαρακτηριστικά των εθελοντών κατά την έναρξή τους στη μελέτη.....	σ.49
Πίν.8: Βιοχημικά και αιματολογικά χαρακτηριστικά των εθελοντών κατά την ένταξη τους στη μελέτη.....	σ.50-51
Πίν.9: Διατροφικά χαρακτηριστικά εθελοντών τις δυο μέρες της μελέτης.....	σ.52
Πίν.10: Αρχικές τιμές κάθε δείκτη πριν από τα δύο γεύματα της μελέτης.....	σ.53

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχ.1: Ομαδοποίηση Δείγματος	σ.16
Σχ.2: Τυπικό χρωματογράφημα GC-MSSIM εκχυλίσματος Κοριανθιακής σταφίδας Vostizza.....	σ.23
Σχ.3: Σχεδιασμός μελέτης	σ.36
Σχ.4: Διαδικασία διεξαγωγής μελέτης	σ.37
Σχ.5: Κινητική οξείδωσης ορού και υπολογισμός του lag time	σ.37

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ιστορικά δεδομένα για τα αποξηραμένα φρούτα

Ανατρέχοντας στην ιστορία της ύπαρξης των αποξηραμένων φρούτων, απορρέει το συμπέρασμα ότι τα αποξηραμένα φρούτα αποτελούσαν βασικό κοινωνικό, διατροφικό αλλά και εμπορικό χαρακτηριστικό της κάθε εποχής. Αξίζει να σημειωθεί ότι η παλαιότερη αναφορά σε αποξηραμένα φρούτα βρέθηκε σε σφηνοειδή γραφή σε πήλινες πλάκες στη Μεσοποταμία, οι οποίες περιέχουν ίσως τις παλαιότερες καταγεγραμμένες συνταγές του κόσμου. Σε όλους τους αρχαίους πολιτισμούς της Μεσογείου αποτελούσαν μέρος των γαστρονομικών παραδόσεων τους και είχαν μόνιμη παρουσία στις γιορτές των εύπορων και των αρχόντων. Στην μεσαιωνική Ευρώπη αποτελούν επίσης ένα σημαντικό συστατικό των γευμάτων.

1.2 Διαδικασία αποξήρανσης φρούτων

Ως αποξηραμένα φρούτα καλούνται τρόφιμα τα οποία επεξεργάζονται με τη μέθοδο της ξήρανσης που έχει ως σκοπό την αφυδάτωση του τροφίμου. Ως αφυδάτωση χαρακτηρίζεται η μέθοδος συντήρησης που στηρίζεται στην απομάκρυνση νερού από τα τρόφιμα, έτσι ώστε η υγρασία τους να μειωθεί σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Με αυτόν τον τρόπο μειώνεται η δραστηριότητα νερού του τροφίμου σε τιμές που αναστέλλεται η ανάπτυξη των μικροοργανισμών, οι οποίοι θα μπορούσαν να αλλοιώσουν το προϊόν. Αποτέλεσμα της αφυδάτωσης είναι η συντήρηση των τροφίμων σε συνθήκες περιβάλλοντος για σημαντικά μεγάλο χρονικό διάστημα, με την προϋπόθεση ότι αυτό θα έχει συσκευαστεί με κατάλληλο τρόπο ώστε να εμποδίζεται η επαναπρόσληψη υγρασίας. Η αφυδάτωση αποτελεί την αρχαιότερη μέθοδο συντήρησης των τροφίμων. Τρόφιμα που υφίστανται αφυδάτωση είναι τα φρούτα όπως τα βερίκοκα, τα μήλα, οι μπανάνες, οι σταφίδες, οι φράουλες κ.α. καθώς και πολλά λαχανικά.

Η απομάκρυνση νερού από τα τρόφιμα μπορεί να γίνει με την εφαρμογή θερμότητας, με ώσμωση ή και με μηχανικά μέσα. Στην αφυδάτωση των τροφίμων με την εφαρμογή θερμότητας διακρίνουμε τις εξής περιπτώσεις: την ξήρανση στον ήλιο, την έκθεση του προϊόντος σε ρεύμα

θερμού αέρα, την επαφή του προϊόντος με θερμή επιφάνεια, την έκθεση του προϊόντος σε μικροκύματα ή υπέρυθρη ακτινοβολία, την αφυδάτωση με εκτόνωση, τη λυοφιλίωση.

Η ξήρανση στον ήλιο αποτελεί την αρχαιότερη, την απλούστερη και οικονομικότερη μέθοδο αφυδάτωσης των τροφίμων. Η συγκεκριμένη μέθοδος εφαρμόζεται ακόμη και σήμερα για την αφυδάτωση σταφυλιών, φρούτων, λαχανικών, σιτηρών και οσπρίων και σε ορισμένες περιπτώσεις κρέατος και αλιευμάτων, σε περιοχές που χαρακτηρίζονται από μεγάλη ηλιοφάνεια, χαμηλή σχετική υγρασία και ανομβρία την περίοδο συγκομιδής των προϊόντων.

Όσον αφορά την παραγωγή σταφίδων, η διαδικασία περιλαμβάνει αποξήρανση των σταφυλιών στον ήλιο για 2 έως 3 εβδομάδες, είτε σε δίσκους στο έδαφος ανάμεσα στα αμπέλια ή κρεμασμένα από τα ίδια τα αμπέλια. Ένας άλλος τρόπος περιλαμβάνει μία βραχυπρόθεσμη έκθεση (15-20 sec) σε θερμό νερό (87°C-93°C) και στη συνέχεια τοποθέτηση σε τούνελ αφυδάτωσης στους 71°C για 20 έως 24 h. Οι σταφίδες αποκτούν το σκούρο καφέ χρώμα τους από μια συσσώρευση καφέ-μαύρων χρωστικών μελανίνης που παράγονται από την οξείδωση πολυφαινόλων καθώς και από μη ενζυμικές αντιδράσεις.

1.3 Περιεχόμενο σε θρεπτικά συστατικά και ευεργετικές δράσεις

Τα αποξηραμένα φρούτα περιέχουν μια τεράστια ποσότητα αντιοξειδωτικών (πολυφαινόλων, φαινολικών οξέων και τανινών ή PPTs) ανά μονάδα βάρους που είναι χρήσιμα για την βελτίωση της υγείας και την αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού. Ευεργετικές επιδράσεις ασκούν στην καρδιακή λειτουργία ενώ φαίνεται ότι βοηθούν στον έλεγχο του σωματικού βάρους και της φλεγμονής που προκαλείται από αυτό, στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ2), στη στοματική υγεία, στη βελτίωση της αθλητικής απόδοσης ενώ εμφανίζουν και χημειοπροστατευτική δράση ενάντια σε κάποιες μορφές καρκίνου λόγω των περιεχόμενων φυτοχημικών ενώσεων.

Σε πολλά φρούτα έχει εξεταστεί το περιεχόμενο τους σε φαινόλες αλλά και η αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Η ποσοτικοποίηση αυτών έχει γίνει με διάφορες μεθόδους όπως (HPLC, αντιδραστήριο Follin-Ciocalteu), ενώ η αντιοξειδωτική ικανότητα με τη δοκιμασία ικανότητας απορρόφησης των ριζών οξυγόνου (ORAC). Οι σταφίδες αποτελούν ίσως ένα από τα πλούσια σε PPTs σε σύγκριση με άλλα φρούτα. Επίσης, φαίνεται ότι λόγω της ξήρανσης και των

οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων που συμμετέχουν στη διαδικασία (ενζυμικές-μη ενζυμικές αμαυρώσεις, Maillard) η σταφίδα έχει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τα φρέσκα σταφύλια. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην απουσία οξείδωσης των πολυφαινολών στις σταφίδες αλλά και στη μετατροπή ορισμένων φαινολικών συστατικών κατά τη διαδικασία της ξήρανσης (Πίνακας 1) [1]. Αντίθετα, ευρήματα άλλων μελετών δείχνουν ότι η διαδικασία της ξήρανσης μειώνει το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο, τη συγκέντρωση των ανθοκυανινών και την αντιοξειδωτική ικανότητα των σταφυλιών, όπως φάνηκε σε μια μελέτη που κατά τη διαδικασία της ξήρανσης μειώθηκε η συγκέντρωση των ανθοκυανινών, σχεδόν στη μισή σε ποσότητα στις σταφίδες *V. vinifera* L. ($34,5 \pm 1,6$ mg cya-3-glu/100 g) από αυτή των αντίστοιχων νωπών σταφυλιών ($64,7 \pm 2,8$ mg cya-3-glu/100 g) [2]. Μεταβολές στα αντιοξειδωτικά συστατικά παρατηρήθηκαν κατά την ξήρανση κόκκινων σταφυλιών προς τις ομόλογες σταφίδες τους με ζεστό αέρα στους 40°C και υγρασία RH=20%. Σημαντική ήταν η μείωση μόνο του γλυκοζίτη κυανιδίνης ενώ οι γλυκοζίτες δελφινιδίνης, μαλβιδίνης, πελαργονιδίνης, πεονιδίνης και πετουνιδίνης είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση μετά την ξήρανση [3, 4]. Οι Zhao and Hall (2008) μελετώντας τα αντιοξειδωτικά σε εκχυλίσματα σταφίδας κατέληξαν ότι περισσότερο υπεύθυνα για την αντιοξειδωτική ικανότητα του εκχυλίσματος είναι τα φλαβονοειδή χαμηλού μοριακού βάρους (κατεχίνη, επικατεχίνη) και όχι τα φλαβονοειδή υψηλού μοριακού βάρους (ρουτίνη, ρεσβερατρόλη, καμπφερόλη) [5].

Πίνακας 1 : Ολικά φαινολικά και δοκιμασίες ORAC διάφορων τροφίμων

Τρόφιμο	Συνολικά φαινολικά (mg GAE/g υγρής βάσης)	Υγρασία (%)	L-ORAC (μ mol TE/g)	H-ORAC (μ mol TE/g)
Χουρμάδες Noor dates	$6,6 \pm 1,1$	20	$0,32 \pm 0,16$	39 ± 3
Χουρμάδες Medjool dates	5,7	21,3	0,27	24
Σύκα	$9,6 \pm 0,1$	30,1	$1,8 \pm 0,1$	32 ± 3
Δαμάσκηνα	$12 \pm 1,6$	32,7	$1,8 \pm 0,6$	84 ± 17
Σταφίδες	$10,7 \pm 1,6$	17,7	$0,35 \pm 0,13$	30 ± 5
Πράσινα σταφύλια	$1,5 \pm 0,1$	80,7	-	11 ± 2

Wu, X., et al. 2004

Η ποσότητα και το είδος των φαινολικών συστατικών που έχουν βρεθεί στις σταφίδες ποικίλει στις διάφορες έρευνες και εξαρτάται από τις μεθόδους ανίχνευσης και από την ποικιλία της σταφίδας που μελετάται. Σε 16 ποικιλίες σταφίδας βρέθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις φαινολικών συστατικών (316–1141 mg GAE/ 100 g), που περιελάμβαναν τα φαινολικά οξέα γαλλικό, κουμαρικό, trans-καφταρικό, trans-κουταρικό και φερουλικό οξύ, τις φλαβον-3-όλες κατεχίνη, επικατεχίνη, τις φλαβονόλες μυρικετίνη, κερκετίνη, καμπφερόλη και τις ανθοκυανίνες μαλβιδίνη-3-O-γλυκοζίτες καθώς και ακυλιωμένους εστέρες της [6]. Σε σταφίδες από 3 λευκές και

2 κόκκινες ποικιλίες σταφυλιών, ανιχνεύθηκαν στο σύνολο 27 φαινολικές ενώσεις με τις δοκιμασίες ABTS, DPPH, FRAP και ORAC [6]. Οι φλαβονόλες κερκετίνη και καμπφερόλη όπως και το καφταρικό και κουταρικό οξύ φαίνεται να είναι από τα κυρίαρχα φαινολικά συστατικά της σταφίδας [7]. Τα κυριότερα φαινολικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν σε σταφίδες της ποικιλίας Thompson seedless (*V. vinifera* L. cv. *sultanina*) ήταν οξειδωμένα κινναμωνικά οξέα, καφταρικό οξύ, κουταρικό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ, γλυκοζίτες κερκετίνης και καμπφερόλης, προανθοκυανιδίνες B₃, B₁, B₄, B₂ και ρουτίνη [8].

Σε μία ανασκόπηση σχετικά με τη σύσταση των σταφίδων σε PPTs, βρέθηκε ότι κυρίαρχα αυτών των πολυφαινολών ήταν οι φλαβονόλες κερκετίνη και καμπφερόλη και από τα φαινολικά οξέα το καφταρικό και το κουταρικό οξύ. Αξιοσημείωτο είναι ότι το πρωτοκατεχικό οξύ υπάρχει στις σταφίδες και όχι στα φρέσκα σταφύλια και είναι σημαντικός μεταβολίτης της ανθοκυανίνης in vivo στον άνθρωπο. Ως εκ τούτου, τα PPTs φαίνεται ότι έχουν πολλές ευεργετικές και προστατευτικές δράσεις στην υγεία [7].

Ευρέως διαδεδομένη είναι η προστατευτική δράση των φρούτων και των λαχανικών στην υγεία. Έτσι η κατανάλωση αυτών μπορεί να βελτιώσει τους δείκτες θνησιμότητας ενώ επίσης έχουν καρδιομεταβολικές προστατευτικές δράσεις [9]. Αρχικά, μία έρευνα συνέκρινε την κατανάλωση της σταφίδας σαν σνακ σε σχέση με άλλα συμβατικά σνακ και το συμπέρασμα αυτής ήταν η βελτίωση της συστολικής αλλά και διαστολικής αρτηριακής πίεσης [10]. Επιδημιολογικά και πειραματικά δεδομένα δείχνουν μια προστατευτική επίδραση των τροφίμων πλούσιων σε PPTs έναντι των καρδιολογικών παθήσεων και του εγκεφαλικού επεισοδίου. Βιοδείκτες του καρδιαγγειακού κινδύνου περιλαμβάνουν τα ισοπροσάνια, την LDL χοληστερόλη, την οξειδωμένη LDL, την ενδοθηλιακή λειτουργία, τη συσσώρευση αιμοπεταλίων και τη φλεγμονώδη κατάσταση. Σε έρευνα στην οποία χορηγήθηκε σταφίδα (10 μερίδες για 15 μέρες) σε 35 υγιείς γυναίκες φάνηκε ότι βελτιώθηκε η αντίσταση του πλάσματος στην οξείδωση (ORAC). Σε μία άλλη έρευνα, 17 υπέρβαροι άνδρες και γυναίκες κατανάλωσαν 90 g σταφίδες ή ισοενεργειακό γεύμα για 14 ημέρες ενώ ακολουθούσαν μία δίαιτα χαμηλή σε φλαβονοειδή. Μετά την παρέμβαση, οι εθελοντές που κατανάλωσαν την σταφίδα είχαν ελαφρώς αυξημένα επίπεδα ORAC ενώ τα ισοπροσάνια δεν είχαν διαφορά σε σχέση με το γεύμα. Σε 2 άλλες έρευνες φάνηκε ότι μία μεσογειακού τύπου δίαιτα εμπλουτισμένη με 84 γραμμάρια σταφίδας για 4 εβδομάδες μείωσε την ολική χοληστερόλη και την LDL 9% και 5% αντίστοιχα ενώ σε εθελοντές με υπερλιπιδαιμία και φτωχή δίαιτα σε μη

επεξεργασμένα τρόφιμα, που κατανάλωσαν 126 g σταφίδα ημερησίως, μείωσε την ολική χοληστερόλη κατά 13% και την LDL 16%. Επίσης, κατανάλωση 160 g/ημέρα σταφίδων για 6 εβδομάδες φάνηκε ότι μείωσε σημαντικά τα επίπεδα του TNF-α (προφλεγμονώδης κυτταροκίνη) και το sICAM-1 (μόριο κυτταρικής προσκόλλησης) στους εθελοντές. Χαμηλότερα επίπεδα του sICAM-1 θα μπορούσαν δυνητικά να εμποδίσουν την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης μειώνοντας την προσκόλληση μονοκυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο [7]. Όσον αφορά την αθηροσκλήρωση, έρευνες έχουν δείξει την προστατευτική δράση των φλαβονοειδών στην οξείδωση της LDL και του ορού καθώς και μια σειρά άλλων δράσεων [11].

Επιπρόσθετα, η κατανάλωση σταφίδας φαίνεται ότι έχει προστατευτικές δράσεις για ανάπτυξη ΣΔ2 καθώς και ευεργετικές δράσεις στη γλυκαιμία καθώς και στην ινσουλιναίμια. Χαμηλός κίνδυνος για ανάπτυξη ΣΔ2 συνδέεται με αυξημένη πρόσληψη κερκετίνης και μυρικετίνης [12]. Παρ' όλα αυτά, επιδημιολογικές μελέτες έχουν εξετάσει τη συσχέτιση μεταξύ διατροφικών φλαβονοειδών και την εμφάνιση ΣΔ2. Ενδεικτικά αναφέρονται η WHS (Woman's Health Survey), μία επιδημιολογική μελέτη στην οποία δεν αναδείχτηκε συσχέτιση μεταξύ του κινδύνου ανάπτυξης ΣΔ2 με την πρόσληψη του συνόλου ή μεμονωμένων φλαβονοειδών καθώς και των πιο πλούσιων σε φλαβονοειδή τροφών [13], ενώ η Iowa Health Study (με δείγμα κυρίως λευκών μετεμνηνοπαυσιακών γυναικών) δεν βρήκε καμία συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης φλαβονοειδών και της συχνότητας εμφάνισης ΣΔ2 [14]. Σχετικά με τον Γλυκαιμικό Δείκτη (ΓΔ) του τροφίμου έχει υπολογιστεί από έναν αρκετά μεγάλο αριθμό μελετών και έχει χαρακτηριστεί ως ένα τρόφιμο χαμηλού-μέτριου γλυκαιμικού δείκτη [11], δηλαδή $GI \leq 55$ ή $GI=56-69$ αντίστοιχα [15], ενώ αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι σε μία άλλη έρευνα διάρκειας 12 εβδομάδων μειώθηκε σημαντικά η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη (HbA1c) 0,12% στους εθελοντές που κατανάλωναν σταφίδες σε σχέση με εθελοντές που κατανάλωναν άλλου είδους σνακ [10]. Μία άλλη μελέτη, η οποία κατηγοριοποίησε τους εθελοντές σε 3 ομάδες ανάλογα με τα χαρακτηριστικά τους (καθιστική ζωή, προδιαβητικοί, αθλητές αντοχής), κατάταξε την σταφίδα σε τρόφιμα με χαμηλό ΓΔ ενώ φάνηκε καλύτερη η απόκριση του οργανισμού στην ινσουλίνη στην αθλητική ομάδα (Πίνακας 2) [17]. Επίσης έχει φανεί ότι σε 4 διαφορετικά ισοενεργειακά γεύματα που περιέχουν τα ίδια ποσοστά λίπους, η απόκριση της γλυκόζης ήταν σχεδόν η ίδια σε όλα τα γεύματα παρέμβασης αλλά η απόκριση της ινσουλίνης στο γεύμα με την σταφίδα ήταν η μικρότερη [16]. Αυτό μπορεί να

οφείλεται στο γεγονός ότι οι σταφίδες είναι οι μόνες πλούσιες σε PPTs, έχουν μεγαλύτερο ποσοστό φυτικών ινών από τις μπανάνες ενώ το 50% των σακχάρων της αποτελεί η φρουκτόζη.

Πίνακας 2 : Γλυκαιμική απόκριση σταφίδας σε 3 διαφοροποιημένες ομάδες

	ΓΔ	Ινσουλινικός δείκτης	Ινσουλίνη ορού AUC για την γλυκόζη	Ινσουλίνη ορού AUC για τη σταφίδα
Καθηστικοί ενήλικες	49 ± 7	47 ± 9	4625 ± 1143	1938 ± 399
Προδιαβητικά άτομα	50 ± 5	54 ± 9	5110 ± 851	2431 ± 414
Αθλητές αντοχής	52 ± 7	52 ± 7	2068 ± 217	1021 ± 125

Η διαφορά στις τιμές κάτω από την καμπύλη για τη σταφίδα και τη γλυκόζη ανάμεσα στους προδιαβητικούς και τους αθλητές ήταν στατιστικά σημαντική με $P = 0,008$ και $0,002$ αντίστοιχα. Οι τιμές κάτω από την καμπύλη της σταφίδας είναι διαφορετικές από της γλυκόζης για όλες τις ομάδες με P μεταξύ $0,001$ και $0,29$

Kim, Y., et al. 2008

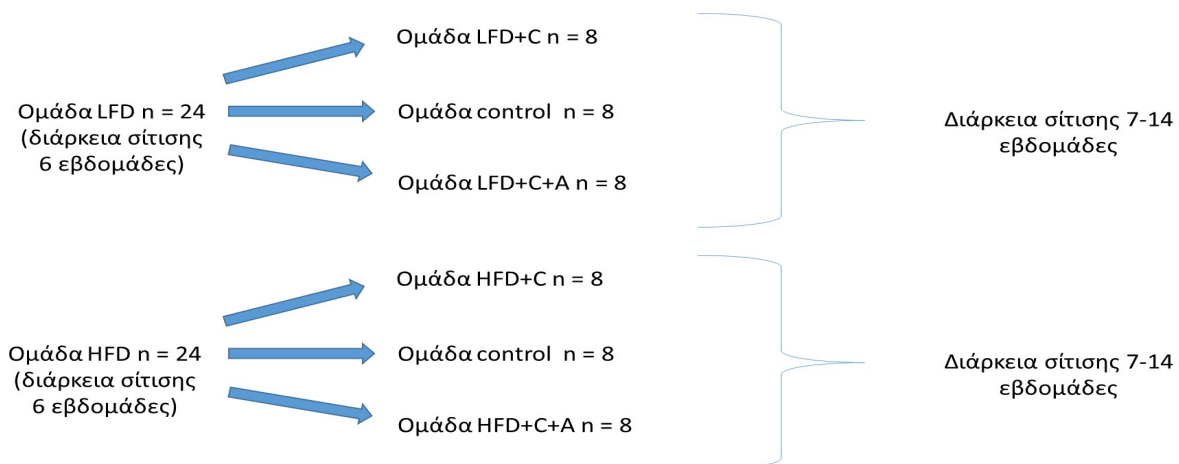
Η κατανάλωση της σταφίδας στα πλαίσια της άσκησης έχει επίσης εξεταστεί σε μελέτες παρεμβατικές. Η 8-υδροξυ-2-δεοξυγουανοσίνη στα ούρα ή στα λευκοκύτταρα είναι ένας δείκτης του οξειδωτικού στρες και βλάβης του DNA που αυξάνεται σε ακραίου τύπου δραστηριότητες. Κατανάλωση 170 g σταφίδας μείωσε σημαντικά τα επίπεδα 8-υδροξυ-2-δεοξυγουανοσίνης στα ούρα σε σύγκριση με την κατανάλωση ενός ποτού γλυκόζης με την ίδια ποσότητα θερμίδων πριν και κατά τη διάρκεια τριάθλου, όταν καταναλώθηκε από προπονημένους αθλητές. Αυτό υποδηλώνει ότι κατά τη διάρκεια της έντονης άσκησης, οι σταφίδες μπορεί να προστατεύσουν από βλάβη του DNA. Η ανταπόκριση της ινσουλίνης είναι χαμηλότερη σε προπονημένους αθλητές σε σύγκριση με προδιαβητικά άτομα όταν δίνεται γλυκόζη. Σε αμφότερες των περιπτώσεων και σε ενήλικες με καθιστικές συνήθειες, η γλυκαιμική και ινσουλινική απόκριση από σταφίδες, όταν εκφράζεται σε σχέση με τη γλυκόζη, είναι περίπου 50% έως 60% μικρότερη (Πίνακας 2). Σε αθλητές αντοχής (προπονημένους ποδηλάτες), το ΓΔ για τις σταφίδες υπολογίστηκε στα 62, σε συμφωνία με την παραπάνω κλίμακα του ΓΔ. Οι σταφίδες προκάλεσαν παρόμοιες μεταβολικές αντιδράσεις μετά από 45 λεπτά άσκησης, χωρίς καμία διαφορά στην απόδοση κατά τη διάρκεια μιας μεταγενέστερης 15λεπτης άσκησης-αγώνα, σε σύγκριση με ένα αθλητικό τζελ [7].

Σχετικά με την επίδραση του ορμονικού ελέγχου που φαίνεται να έχει η κατανάλωση της σταφίδας σε συνδυασμό με την άσκηση, μια ανθρώπινη μελέτη παρέμβασης ανέφερε ότι άνδρες (ηλικίας 50-70 ετών) και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίστηκαν και κλήθηκαν να καταναλώσουν 160 γραμμάρια σταφίδας καθημερινά, είτε να αυξήσουν τον αριθμό των ημερήσιων βημάτων τους ή να συνδυάσουν και τα δύο, για 6 εβδομάδες. Στη συνέχεια, οι σταφίδες αντικαταστάθηκαν από άλλα τρόφιμα ώστε να εξασφαλίζεται ισοδύναμη πρόσληψη ενέργειας,

χωρίς ωστόσο να υπάρχει ομάδα ελέγχου (χωρίς σταφίδες ή άσκηση). Ως εκ τούτου, οι συγκρίσεις έγιναν σε σχέση με τις τιμές εκκίνησης (αναφέρεται από την Puglisi et al ως επίδραση του χρόνου). Παρά το γεγονός ότι το περπάτημα δεν είχε καμία επίδραση στις ορμόνες που σχετίζονται με τον κορεσμό, η κατανάλωση σταφίδας αύξησε τα επίπεδα τη λεπτίνης και γκρελίνης (η γκρελίνη είναι ορεξιογόνος ορμόνη) στο πλάσμα που θα μπορούσαν να προάγουν τον κορεσμό. Η κατανάλωση σταφίδας ή η άσκηση, μόνα τους ή από κοινού, αύξησαν επίσης τον υποδοχέα του mRNA της LDL στα λευκά αιμοσφαίρια, μείωσαν τη χοληστερόλη και την LDL χοληστερόλη του πλάσματος καθώς και τη συστολική αρτηριακή πίεση [7].

Ωστόσο, άλλες μελέτες ανέδειξαν τη σταφίδα σαν ένα σνακ ικανοποιητικό για τον έλεγχο του σωματικού βάρους [7, 17], ικανό να βελτιώσει την υγεία των δοντιών μειώνοντας το pH του στόματος σε παιδιά [18, 19] ενώ μπορεί αυξήσει την ροή του σάλιου σε καπνιστές καθώς και την έκκριση IgA από τους σιελογόνους αδένες [20]. Τα περιεχόμενα χημειοπροστατευτικά φυτοχημικά και τα PPTs παρουσιάζουν προστατευτική δράση απέναντι στον καρκίνο [21], τα φυτοχημικά βελτιώνουν επιπρόσθετα την υγεία των οστών κατά τη γήρανση [22], μειώνουν τόσο το οξειδωτικό στρες όσο και την φλεγμονή στην παχυσαρκία με παρόμοιο τρόπο όπως έχει αναφερθεί παραπάνω [23] ενώ σε μία έρευνα που μελέτησε το εκχύλισμα σταφυλιών της ποικιλίας *Vitis Vinifera*, φάνηκε να έχει αντιοξειδωτική αλλά και αντικαρκινική δράση [24].

Είναι αξιοσημείωτο να αναφερθεί ότι η σταφίδα έχει μελετηθεί και ως προς την επίδραση της στον εντερικό μικροβιόκοσμο. Σε μία μελέτη με δείγμα ποντίκια τύπου C57BL/6J ηλικίας 6 εβδομάδων, μελετήθηκε η επίδραση των ανθοκυανινών σταφίδας της ποικιλίας *Ribes nigrum* L. στον εντερικό μικροβιόκοσμο και πως μπορεί να επηρεαστεί το βάρος των ποντικών. Συνολικά 48 ποντίκια κατηγοριοποιήθηκαν σε 2 βασικές ομάδες (σχήμα 1).



Οι δείκτες που μετρήθηκαν ήταν η γλυκόζη και η ινσουλίνη με από του στόματος δοκιμασία ανοχής (OGT, IGT) ενώ συλλέχθηκαν δείγματα κοπράνων και ιστών του στομάχου, δωδεκαδακτύλου, μέσου του λεπτού εντέρου, ειλεού, τυφλού και του κόλον. Τελικά, με τη μέθοδο της LC-MS βρέθηκε υψηλή συγκέντρωση κιτρικού οξέος ενώ ταυτοποιήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν 4 ανθοκυανίνες, 2 γλυκοζιδάσες και 2 ρουτινοζιδάσες, με τις ρουτινοζιδάσες να βρίσκονται σε 5πλάσια συγκέντρωση από τις γλυκοζιδάσες. Από την σίτιση των ποντικών στις πρώτες 6 εβδομάδες, η ομάδα HFD-control ανέπτυξε παχυσαρκία με 48% μεγαλύτερο βάρος από την ομάδα LFD-control. Η ενσωμάτωση της σκόνης σταφίδας για 8 εβδομάδες είχε ως αποτέλεσμα 8-10% μείωση του σωματικού βάρους με δίαιτα LFD+C και HFD+C, ανεξάρτητα από το περιεχόμενο της περιεκτικότητας σε λιπαρά διατροφής. Ωστόσο, η απώλεια σωματικού βάρους ήταν απύσχα στα ποντίκια τα οποία προσλάμβαναν τροφή πλούσια σε ανθοκυανίνες μαζί με το μίγμα των αντιβιοτικών το οποίο διατάρασσε το μικροβίωμα του εντέρου. Σημαντικό είναι ότι ο εμπλουτισμός της διαίτας με ανθοκυανίνες δεν επηρέασε την πρόσληψη τροφής ή των συνολικών θερμίδων, οπότε η απώλεια βάρους αποδίδεται σε αυτές. Η συγκέντρωση των ανθοκυανινών στα κόπρανα δεν είχε σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες LFD+C και HFD+C σε αντίθεση με τις ομάδες LFD+C+A και HFD+C+A στις οποίες η συγκέντρωσή τους στα κόπρανα ήταν 16-25 φορές μεγαλύτερη. Η επίδραση ήταν εντονότερη στα άπαχα ποντίκια, γεγονός που υποδηλώνει ότι το μικροβίωμα του εντέρου ήταν πιο δραστήριο σε βιομετατροπή των ανθοκυανινών σε σχέση με τα παχύσαρκα ποντίκια. Όσον αφορά τη συγκέντρωση της γλυκόζης, οι ομάδες LFD, LFD+C, LFD+C+A δεν είχαν καμία σημαντική διαφορά όπως και ανάμεσα στις ομάδες HFD και HFD+C. Όμως η ομάδα HFD+C+A στην οποία το εντερικό μικροβίωμα ήταν μη λειτουργικό, η γλυκόζη αυξήθηκε κατά 45% σε σχέση με την ομάδα HFD control και HFD+C. Η ευαισθησία της ινσουλίνης αυξήθηκε στην ομάδα LFD+C ακόμη και όταν διαταράχτηκε η ισορροπία του εντερικού μικροβιώματος. Επίσης μειώθηκε όπως ήταν αναμενόμενο στην ομάδα HFD ενώ φάνηκε βελτίωση της με εμπλουτισμό της διατροφής με ανθοκυανίνες. Τέλος δραματική μείωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη φάνηκε με κατάπνιξη του εντερικού μικροβιώματος του εντέρου [25].

1.4 Η Κορινθιακή σταφίδα, ένα ελληνικό παραδοσιακό προϊόν

Η συγκεκριμένη ποικιλία φύεται και συναντάται εκτός από τον ελληνικό χώρο και σε άλλες μεσογειακές χώρες αλλά και στην κεντρική Ευρώπη, νοτιοδυτικά της Ασίας, στο Μαρόκο, στην Πορτογαλία, νότια της Γερμανίας και ανατολικά προς δυτικά του Ιράν.

Η καλλιέργεια ξηρής σταφίδας στην Ελλάδα αφορά δύο τύπους: την Κορινθιακή (μαύρη σταφίδα) και την Σουλτανίνα (ξανθή σταφίδα). Η καλλιέργεια της Κορινθιακής εντοπίζεται στις περιοχές της Βόρειας και Δυτικής Πελοποννήσου, καθώς και στη Ζάκυνθο, ενώ η καλλιέργεια της Σουλτανίνας εντοπίζεται κυρίως στην Κρήτη και στην Κορινθία.



Εικόνα 1: Κορινθιακή σταφίδα



Εικόνα 2: Σουλτανίνα

Η σταφίδα ήταν, μαζί με τα ξηρά σύκα, η βασική γλυκαντική ύλη για πολλούς αιώνες. Η μαύρη ΚΣ είναι ένα αποξηραμένο φρούτο που χρησιμοποιείται για αιώνες ως συστατικό της ελληνικής διατροφής με αναφορές από την αρχαία εποχή. Υπάρχει ακόμη αναφορά από τον Όμηρο για αποξήρανση σταφυλιών που προσφέρθηκαν στον Οδυσσέα στο νησί των Φαίακων, ενώ γραπτές αναφορές για το εμπόριό της υπάρχουν από τον 12^ο αιώνα. Η σταφίδα αποτελεί ένα ιστορικό παραδοσιακό προϊόν της ελληνικής οικονομικής και κοινωνικής δραστηριότητας. Η καλλιέργεια της σταφίδας συνέβαλλε αποφασιστικά στην στήριξη και ανάπτυξη της ελληνικής κοινωνίας και οικονομίας. Η ύπαρξη της καλλιέργειας στην περιοχή της Βόρειας Πελοποννήσου αναφέρεται από τον αρχαίο Έλληνα φιλόσοφο Αριστοτέλη από τον 4^ο π.Χ. αιώνα. Επίσης, υπάρχουν μαρτυρίες εμπορίας της σταφίδας στην Ελλάδα κατά τη διάρκεια του 12^{ου} και 13^{ου} αιώνα. Το εμπόριο της αυτοφυούς ελληνικής ποικιλίας, της μαύρης ΚΣ, ήκμαζε με πολλές εξαγωγές στη Δύση την περίοδο της Ελισαβετιανής εποχής (16ος αιώνας).

Η καλλιέργεια της σταφίδας ξεκίνησε στην Πάτρα και το Αίγιο, και στη συνέχεια, επεκτάθηκε στην Κόρινθο, τον Πύργο, την Αμαλιάδα, την Πύλο, την Ζάκυνθο, την Κεφαλονιά, τη Ναύπακτο καθώς και σε άλλες περιοχές. Οι εξαγωγές πραγματοποιούνταν από τα λιμάνια της Πάτρας και του Αιγίου. Για τον λόγο αυτό η ονομασία "Currants" προέρχεται από τον "Κορινθιακό κόλπο" (Corinthian Gulf). Μετά την απελευθέρωση από τους Τούρκους, η επέκταση της σταφιδοκαλλιέργειας ήταν ταχύτατη. Η ραγδαία αύξηση της παραγωγής πραγματοποιήθηκε κατά την διάρκεια του 19ου αιώνα κυρίως λόγω της καταστροφής των Γαλλικών αμπελώνων από την φυλλοξήρα.

Κατά το δεύτερο ήμισυ του 19ου αιώνα και κατά την αναδιάρθρωση του Ελληνικού Κράτους, οι εξαγωγές σταφίδας αποτελούσαν το 80% του συνόλου των ελληνικών εξαγωγών. Παρ' όλα αυτά, κατά τη διάρκεια δεκαετίας του 1880, η αναμπέλωση στη Γαλλία με αντιφυλλοξηρικά φυτά μείωσε σταδιακά τη ζήτηση και σε συνδυασμό με τις μεγάλες παραγωγές που προέκυψαν από τις αλόγιστες επεκτάσεις έφεραν την αγορά της σταφίδας σε μεγάλη ύφεση. Το 1925 ιδρύθηκε από το Ελληνικό Κράτος ο Αυτόνομος Σταφιδικός Οργανισμός (Α.Σ.Ο.) με κύριο σκοπό τη διαχείριση, τον έλεγχο της παραγωγής και την εμπορία της σταφίδας. Επίσης, ο ρόλος του Α.Σ.Ο. για τη βελτίωση της ποιότητας ήταν πολύ σημαντικός. Κατά τη διάρκεια της Γερμανικής κατοχής η σταφιδοκαλλιέργεια αντιμετωπίζει μεγάλες δυσκολίες και οι τρεις 10ετίες που ακολουθούν δίνουν πολύ μικρό εισόδημα στην παραγωγή. Σήμερα, η ΚΣ εξάγεται σχεδόν σε όλες της χώρες του κόσμου. Οι κύριες αγορές παραμένουν οι χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης (κυρίως Αγγλία, Ολλανδία) αλλά και τρίτες χώρες όπως η Αυστραλία, οι Η.Π.Α.



Σημαντικές επενδύσεις, αυστηρός ποιοτικός έλεγχος υπό την εποπτεία του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων και τεχνογνωσία, καθιστούν σήμερα την Κορινθιακή ελληνική σταφίδα ένα προϊόν με μεγάλη καθαρότητα, ασφαλές διατροφικά αλλά και πολύτιμο εξαγωγίμο προϊόν. Η σταφίδα, μαζί με το ελαιόλαδο, θεωρείται στις αγορές της Δύσης από τους πιο χαρακτηριστικούς πρεσβευτές ελληνικών προϊόντων διατροφής. Ακόμη και σήμερα η ΚΣ εξάγεται σχεδόν πλήρως στις αγορές της Δυτικής Ευρώπης (περίπου 25.000 τόνοι ετησίως) και καταναλώνεται ως σνακ είτε χρησιμοποιείται ως πρόσθετο υλικό σε διάφορες συνταγές (όπως σε αρτοσκευάσματα). Θεωρείται παγκοσμίως μοναδικό προϊόν, δεδομένου ότι στην Ελλάδα

παράγεται πάνω από το 80% αυτής. Αποτελεί δε ποικιλία διπλής χρήσης, δηλαδή μπορεί να αποξηρανθεί ή να οδηγηθεί στην οινοποίηση.

1.5 Συστατικά Κορινθιακής σταφίδας

1.5.1 Διατροφική αξία

Το προϊόν αυτό, ως αφυδατωμένο σταφύλι της ομώνυμης ποικιλίας (*Vitis vinifera* L.), είναι ένα φυσικό προϊόν το οποίο διατηρεί όλα τα συστατικά των νωπών σταφυλιών, όπως είναι τα σάκχαρα, οι βιταμίνες, τα μεταλλικά άλατα, οι φυτικές ίνες, τα αντιοξειδωτικά και τα αρώματα. Γενικά, το προϊόν έχει εκτιμηθεί ως ένα τέλειο φυσικό εναλλακτικό τρόφιμο και γλυκαντικό με εξαιρετική γεύση και αρώματα. Τα κύρια σάκχάρά της, που είναι η φρουκτόζη (κυρίως) και η γλυκόζη είναι απλά (μονοσακχαρίτες) και αποτελούν πολύτιμη άμεση πηγή ενέργειας για τον ανθρώπινο οργανισμό ενώ περιέχει πικρά ποσά μαλτόζης και σουκρόζης [26]. Είναι πλούσια σε φυτικές ίνες και απαλλαγμένη χοληστερόλης και νατρίου. Επίσης, είναι ιδιαίτερα πλούσια σε σίδηρο, κάλιο και μαγνήσιο. Περιέχει υψηλά ποσοστά ασβεστίου, μαγγανίου, ψευδαργύρου και άλλων μεταλλικών στοιχείων και βιταμινών καθώς και αντιοξειδωτικά (φλαβονοειδή, ανθοκυανίνες). Διατηρείται σε ξηρό και δροσερό μέρος με θερμοκρασία <18 °C και σχετική υγρασία <65% μακριά από έντομα και έντονες οσμές.

Πίνακας 3: Σύσταση της ΚΣ σε απλά σάκχαρα

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

Nikolidaki et al, 2016

Πίνακας 4 : Μικροσυστατικά ΚΣ

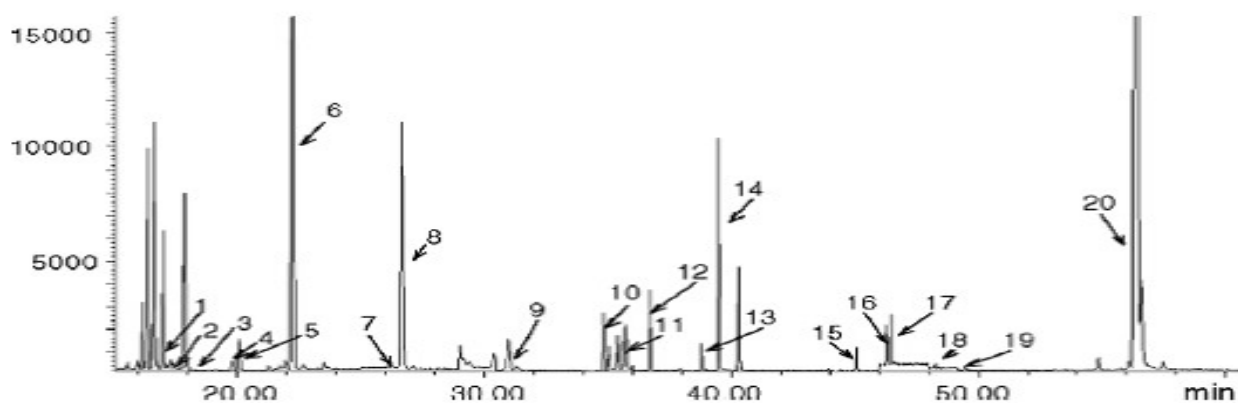
Ιχνοστοιχεία ανά 100 g προϊόντος	
Κάλιο	710mg
Μαγνήσιο	30mg
Σίδηρος	4 mg
Ψευδάργυρος	0.6mg
Ασβέστιο	10mg
Φώσφορος	181mg

ΠΑΝΑΙΓΙΑΛΕΙΟΣ ΕΝΩΣΗ ΣΥΝΕΤΑΙΡΙΣΜΩΝ

1.5.2 Αντιοξειδωτικά συστατικά της Κορινθιακής σταφίδας

Το ενδιαφέρον των μελετών που αφορούν τη σταφίδα στρέφεται στο περιεχόμενό της σε φυτοχημικά συστατικά που παρουσιάζουν αντιοξειδωτική και χημειοπροστατευτική δράση. Η ΚΣ και οι σταφίδες τύπου *raisin* βρέθηκαν ανάμεσα σε 80 φρούτα και καρπούς ως οι υψηλότερες πηγές των ισοφλαβονών δαϊδζεΐνη και γενιστεΐνη με 2,250 μg και 1,840 μg ανά kg νωπού τροφίμου [25]. Σύμφωνα με τον κατάλογο του USDA (2014) για το περιεχόμενο διαφόρων τροφίμων σε φλαβονοειδή, οι σταφίδες (*Vitis vinifera*, raisins seedless) περιέχουν 0,42 mg/100 g κατεχίνης, 0,10 mg/100 g επικατεχίνης και 0,03 mg/100 g κυανιδίνης. Ανάμεσα σε 25 φυτοχημικά συστατικά που ταυτοποιήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν στην ΚΣ, το τριτερπενικό ολεανολικό οξύ ήταν αυτό με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση (70,25 mg/100 g σταφίδας), ακολουθούμενο από την καμπφερόλη, τη χρυσίνη και το βανιλλικό οξύ [26].

Σε μία έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε 3 υποκατηγορίες ΚΣ (*Vostizza*, *Gulf*, *Provincial*) υπολογίστηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu μεταξύ 151 mg/100 g και 246 mg/100 g σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος. Κατά μέσο όρο η *Provincial* εμφάνισε το μεγαλύτερο φαινολικό περιεχόμενο (206 mg GAE/100 g σταφίδας), ακολουθούμενη από τις υποκατηγορίες *Vostizza* και *Gulf* 188 και 184 mg GAE/100 g σταφίδας. Στις σταφίδες οι φαινολικές ενώσεις εκτιμώνται στα 217,4-354,2 mg GAE που αντιστοιχεί στην ποσότητα των 144 g [27]. Στην ίδια μελέτη η ανάλυση με GC/MS έδειξε ένα σύνολο 17 διαφορετικών πολυφαινολών στις σταφίδες. Τα κυρίαρχα φαινολικά συστατικά ήταν το βανιλλικό οξύ με μέση συγκέντρωση 1,21 mg/100 g ΚΣ. Τα υπόλοιπα επικρατέστερα ήταν το καφεϊκό οξύ, το γαλλικό οξύ, το συρινγικό οξύ, το p-κουμαρικό οξύ, το πρωτοκατεχικό οξύ, το φερουλικό οξύ και η κερκετίνη. Σε όλες τις ποικιλίες ανιχνεύθηκε ρεσβερατρόλη, με μέση συγκέντρωση 0,19 mg/100 g. Μετά από όξινη υδρόλυση του δείγματος ανιχνεύθηκαν οι γλυκοζίτες της κερκετίνης και της καμπφερόλης με συγκέντρωση 0,42-0,79 και 0,14-0,46 mg/100 g αντίστοιχα. Οι Chiou et al. προσδιόρισαν επίσης την αντιοξειδωτική ικανότητα της ΚΣ με τη μέθοδο δέσμησης της ελεύθερης ρίζας DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) και η απαιτούμενη ποσότητά της για τη δέσμηση 50% της ρίζας DPPH (EC50) βρέθηκε μεταξύ 4 και 6,5 mg.



Σχήμα 2:Τυπικό χρωματογράφημα GC–MSSIMεκχυλίσματος Κορινθιακής σταφίδας Vostizza.

Κορυφές 8: θανιλικό οξύ, 12: γαλλικό οξύ, 14: καφεϊκό οξύ (Chiou, et al., 2007)

Σε συνέχεια της ανάλυσης του περιεχομένου της ΚΣ, οι βασικοί γλυκοζίτες ανθοκυανινών που ανιχνεύθηκαν στην ήταν οι 3-Ο-γλυκοζίτες της μαλβιδίνης, πεονιδίνης και κυανιδίνης [28].

1.5.3 Δοκιμές διερεύνησης ευεργετικής δράσης της Κορινθιακής Σταφίδας

1.5.3.1 Δοκιμές in vitro

Σε 2 έρευνες, στη μία οι Kountouri et al. μελετήσαν τις χημειοπροληπτικές ιδιότητες 2 ποικιλιών σταφίδας σε καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου (Κορινθιακής σταφίδας και της ποικιλίας *Vitis vinifera* L. και *Vitaceae*) και στην άλλη η επίδραση της σταφίδας από τέσσερις διαφορετικές ποικιλίες της Ελλάδα (Βοστίτσα, Νεμέα, Μεσσηνίας και Κρήτης), στην αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων προς διερεύνηση της προληπτικής προστατευτικής δράσης των εκχυλισμένων συστατικών των σταφίδων με μεθανόλη για τον γαστρικό καρκίνο, της επαγωγής της απόπτωσης και της αναστολή της φλεγμονής. Στην πρώτη, εκχυλίσματα μεθανόλης της ΚΣ και της σουλτανίνας χρησιμοποιήθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Η συνολική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες και η αντιοξειδωτική ικανότητα μετρήθηκαν με τις δοκιμασίες Folin-Ciocalteu και DPPH, αντίστοιχα. Η αντιοξειδωτική, η αντιφλεγμονώδης και η αντιπολλαπλασιαστική επίδραση εξετάστηκε σε καλλιέργεια κυττάρων HT29. Όλα τα εκχυλίσματα απενεργοποίησαν τη ρίζα DPPH με δοσο-εξαρτώμενο τρόπο. Και τα δύο προϊόντα κατέστειλαν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, ενώ τα επίπεδα της γλουταθειόνης και της κυκλοοξυγονάσης 2 μειώθηκαν σημαντικά. Παρατηρήθηκε επίσης μια σημαντική μείωση στα επίπεδα της IL-8 και στην ενεργοποίηση p65 του

NF-κB. Τόσο οι αντιοξειδωτικές όσο και οι αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις φάνηκε ότι εξαρτώνται από τη διάρκεια της έκθεσης. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα εκχυλίσματα μεθανόλης της ΚΣ και της σουλτανίνας παρουσιάζουν αντιοξειδωτική ικανότητα *in vitro*, καθώς και προληπτική δράση απέναντι στον καρκίνο σε καρκινικά κύτταρα από το κόλον, με τη σουλτανίνα να έχει ελαφρά υψηλότερη δραστικότητα. Οι ευεργετικές ιδιότητες αυτών των σταφίδων έχουν αποδοθεί στην υψηλή περιεκτικότητά τους σε φαινολικές ενώσεις [29].

Στην άλλη μελέτη, τα κλάσματα εκχύλισης που μελετήθηκαν από τους Kaliora et al. από 500 αποξηραμένα μικρογραμμάρια σταφίδας έδειξαν καταστολή στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, με σημαντικότερα να είναι τα αποτελέσματα που λήφθηκαν από τη σουλτανίνα Κρήτης και την ΚΣ Νεμέας. Ανάλυση κυτταρομετρίας ροής της Annexin-V επισημασμένων κύτταρων έδειξε ότι τα προϊόντα της Κρήτης, της Νεμέας, και της Μεσσηνίας στα 500 μικρογραμμάρια αποξηραμένου προϊόντος/ml μέσου προκάλεσαν σημαντικά τον κυτταρικό θάνατο. Όλα τα εκχυλίσματα των 500 μικρογραμμάτων μείωσαν σημαντικά τα επίπεδα πρωτεΐνης και mRNA του ICAM-1 στα κύτταρα που είχαν διεγερθεί από τον TNF-α. Η μέτρηση των επιπέδων της πρωτεΐνης της IL-8 και ο ποσοτικός προσδιορισμός του mRNA της IL-8 δεν έδειξε σημαντική μείωση. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα εκχυλίσματα μεθανόλης από σταφίδες πλούσιες σε φαινολικές ενώσεις, εμφανίζουν προστατευτική δράση από τον καρκίνο περιορίζοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και καταστέλλοντας τα επίπεδα του ICAM-1 σε κύτταρα AGS [30].

1.5.3.2 Δοκιμές *in vivo*

Σε μία μελέτη που διεξήχθη από τους Kanellos et al, σε συνέχεια του υπολογισμού των φαινολικών και των φυτοχημικών ενώσεων, προσδιορίστηκε η αντίσταση του ορού στην οξείδωση και ποσοτικοποιήθηκε το βιοδιαθέσιμο φαινολικό περιεχόμενο καθώς και το τριτερπενικό ολεανολικό οξύ σε υγιείς εθελοντές που κατανάλωσαν ΚΣ της ποικιλίας *Vitis vinifera* L. Στρατολογήθηκαν 15 υγιείς εθελοντές οι οποίοι μετά από 12ωρη νηστεία κατανάλωσαν 144 g ΚΣ σε χρόνο 0 h ενώ συλλέχθηκε δείγμα αίματος σε χρόνους 1 h, 2 h, 3 h και 4 h μετά. Τα αποτελέσματα της μελέτης ανέδειξαν την αύξηση της ποσότητας των πολυφαινολικών ενώσεων που συμβάδιζε με τον χρόνο αύξησης της αντίστασης του ορού στην οξείδωση στην 1 h (Πίνακας 5). Η ποσότητα του τριτερπενικού ολεανολικού οξέος βρέθηκε σε υψηλή συγκέντρωση (70,25 mg/100 g),

προσδιορίστηκαν 17 φυτοχημικά (π-υδροξυφαινυλοξικό οξύ, βανιλικό οξύ, πρωτοκατεχουϊκό οξύ, συριγγικό οξύ, γαλλικό οξύ, φλορετικό οξύ, φερουλικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, χρυσίνη, καμπφερόλη, κερκετίνη, ναριγκενίνη και βανιλίνη) που κορυφώθηκαν 1 ώρα μετά, η τυροσόλη κορυφώθηκε 2 h μετά, το ρ-υδροξυβενζοϊκό οξύ, 3,4-διυδροξυφαινυλοξικό οξύ και το τερπενικό ολεανολικό οξύ κορυφώθηκε 4 h μετά την κατανάλωση της σταφίδας [31].

Πίνακας 5 : Συνολικό φαινολικό περιεχόμενο, Ουρικό οξύ, Οξείδωση του ορού

h	Πολυφαινόλες (mg GAE/mL)	Ουρικό οξύ (μg/mL)	Οξείδωση του ορού (sec)
0	289,9 ± 13,5	46,6 ± 4,2	1630,4 ± 172,3
1	316,4 ± 19,8 *	46,0 ± 3,8	3010,6 ± 641*
2	296,2 ± 22,6	52,8 ± 4,1	2215,8 ± 541,9
3	307,7 ± 20,3	59,7 ± 5,3*	1932,5 ± 382,3
4	309,3 ± 20,9	54,7 ± 5,1*	2378 ± 558,9

* Αντιπροσωπεύει στατιστική σημαντική διαφορά με $P < 0,05$

Kanellos, P.T., et al. 2013

Σε μία άλλη μελέτη, χορηγήθηκαν 74 g ΚΣ και 50 γραμμάρια γλυκόζης σε 15 υγιείς εθελοντές και σε 15 ασθενείς με ΣΔ2. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η γλυκόζη ορού κορυφώθηκε σημαντικά μετά από 30 λεπτά τόσο για την ΚΣ όσο και τη γλυκόζη σε υγιή άτομα και μετά από 60 λεπτά σε ασθενείς με ΣΔ2. Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στα βασικά επίπεδα γλυκόζης ορού μεταξύ ΚΣ και διαλύματος αναφοράς στις δύο ομάδες. Η διαφορά στις μέγιστες τιμές γλυκόζης ορού μεταξύ ΚΣ και γλυκόζης ήταν στατιστικά σημαντική σε υγιείς και σε ασθενείς με ΣΔ2. Η ινσουλίνη ορού κορυφώθηκε 30 λεπτά μετά σε υγιείς εθελοντές και 90 λεπτά μετά την κατανάλωση σε ασθενείς με ΣΔ2 τόσο για τη σταφίδα όσο και για τη γλυκόζη. Δεν υπήρχε επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά στα βασικά επίπεδα ινσουλίνης ορού μεταξύ σταφίδας και τροφίμου αναφοράς στις δύο ομάδες. Επιπλέον, δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στην ινσουλίνη ορού μεταξύ του υπό εξέταση τροφίμου και του τροφίμου αναφοράς είτε 30 λεπτά μετά σε υγιείς ή 90 λεπτά μετά την κατανάλωση σε ασθενείς με ΣΔ2. Το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη (AUC) της γλυκόζης ήταν αξιοσημείωτα μικρότερο για την ΚΣ σε σχέση με το τρόφιμο αναφοράς σε υγιή άτομα και σε ασθενείς με ΣΔ2 ενώ της ινσουλίνης ήταν σημαντικά μικρότερο για τη σταφίδα σε σύγκριση με το τρόφιμο αναφοράς στους υγιείς. Επίσης, εκτιμήθηκε ο ΓΔ της ΚΣ στους υγιείς εθελοντές $66,3 \pm 3,4$ ενώ στους ασθενείς με ΣΔ2 $51,1 \pm 7,6$. Τέλος υπολογίστηκε ο ινσουλιναιμικός δείκτης ($70 \pm 10,3$) και το γλυκαιμικό φορτίο ($8,1 \pm 0,4$) στους υγιείς εθελοντές [32].

Σε μία προσπάθεια να εξεταστεί η μακροχρόνια επίδραση της καθημερινής κατανάλωσης ΚΣ, οι Kanellos et al. σχεδίασαν ένα πρωτόκολλο παρέμβασης 24 εβδομάδων, με κατανάλωση 36 γραμμαρίων ΚΣ/ημέρα και δείγμα 48 εθελοντών με ΣΔ2 (22 την ομάδα ελέγχου και 26 στην ομάδα παρέμβασης) με σκοπό την αξιολόγηση της ΚΣ, των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών, της αρτηριακής πίεσης, στα επίπεδα των βιοχημικών δεικτών Glu, GHbA_{1c}, HDL-C, LDL-C, TC, TG και τέλος στα επίπεδα δεικτών οξειδωτικού στρες και φλεγμονής. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα βασικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, όπως η ηλικία, ο ΔΜΣ και τα κλινικά χαρακτηριστικά, δε διέφεραν μεταξύ της ομάδας της ΚΣ και της ομάδας ελέγχου. Η ενέργεια, οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα συνολικά λίπη, συμπεριλαμβανομένων των μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, σημείωσαν σημαντική μεταβολή στην ομάδα της σταφίδας 24 εβδομάδες μετά την παρέμβαση σε σύγκριση με το χρονικό σημείο έναρξης της μελέτης. Το σωματικό βάρος, η περιφέρεια μέσης και ισχίων παρέμειναν αμετάβλητα στις δύο ομάδες. Στους συμμετέχοντες στην ομάδα της σταφίδας διαπιστώθηκε σημαντική ελάττωση της διαστολικής αρτηριακής πίεσης του αίματος και μάλιστα η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων κατά την 24^η εβδομάδα ήταν στατιστικά σημαντική. Η αλκαλική φωσφατάση του ορού μειώθηκε στην ομάδα της σταφίδας, 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 (ουρικού οξέος, αλβουμίνης) δε διέφεραν μεταξύ της ομάδας παρέμβασης και της ομάδας αναφοράς στο τέλος της παρέμβασης. Σημαντική αύξηση ανευρέθηκε στο συνολικό αντιοξειδωτικό δυναμικό του πλάσματος των συμμετεχόντων στην ομάδα παρέμβασης με τη σταφίδα. Δε βρέθηκε σημαντική διαφορά στην οξειδωμένη μορφή της LDL χοληστερόλης (oxLDL) ή στο λόγο oxLDL/LDL κατά την 24^η εβδομάδα της παρέμβασης μεταξύ της ομάδας της παρέμβασης και ελέγχου. Οι συγκεντρώσεις της hs-CRP, του TNF-α, της IL-6, της αδιπονεκτίνης και της λεπτίνης στον ορό του αίματος δε διέφεραν σημαντικά ανάμεσα στις 2 ομάδες της μελέτης μεταξύ εβδομάδας 0 και εβδομάδας 24. Κατά την έναρξη και κατά το τέλος της παρέμβασης φάνηκε σημαντική αύξηση του κυκλοφορούντος στο πλάσμα π-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος στην ομάδα παρέμβασης, ενώ η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων ήταν σημαντική στο τέλος της παρέμβασης [33].

Ευεργετικές δράσεις φάνηκε να έχει η σταφίδα σαν σνακ που αντικατέστησε άλλα ισοθερμιδικά σνακ σε ασθενείς με Μη Αλκοολική Λιπώδη Διήθηση του Ήπατος (NAFLD) με μη

σημαντική ίνωση. Στο σύνολο της μελέτης συμμετείχαν 55 ασθενείς με NAFLD ενώ ολοκλήρωσαν το πρωτόκολλο 44. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 2 ισοθερμιδικές διατροφικές ομάδες θεραπείας για 24 εβδομάδες με την πρώτη (21 ατόμων) να αποτελεί την ομάδα ελέγχου στην οποία έγινε διατροφική συμβουλευτική και την άλλη ομάδα (23 ατόμων) να αποτελεί την ομάδα παρέμβασης στην οποία έγινε διατροφική συμβουλευτική σε συνδυασμό με αντικατάσταση κατανάλωσης ανάλογων ισοθερμιδικών σνακ με σταφίδα (2 μερίδων=36 g). Σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των δύο ομάδων μετά την παρέμβαση στη γλυκόζης νηστείας και στα επίπεδα της IL-6, που μειώθηκαν σημαντικά μόνο στους ασθενείς που κατανάλωσαν σταφίδα. Το σωματικό βάρος, ο ΔΜΣ, η HbA1c και η CRP μειώθηκαν και στις δύο ομάδες, με τις διαφορές να είναι μη στατιστικά σημαντικές μεταξύ των δύο ομάδων μετά την επέμβαση. Η ομάδα που κατανάλωσε σταφίδα μείωσε σημαντικά το συνολικό σωματικό λίπος, της περιφέρειας του καρπού και του λίπους του κορμού του σώματος. Από υπερηχογράφημα σάρωσης φάνηκε σημαντική βελτίωση στους ασθενείς που κατανάλωναν σταφίδα καθημερινά. Επίσης, οι εθελοντές που κατανάλωσαν σταφίδας έδειξαν μειωμένη πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων. Επειδή η ρύθμιση βάρους έχει αναγνωριστεί επίσης ως θεραπευτική προσέγγιση στην NAFLD μια πρόσθετη ανάλυση επαναλήφθηκε στους ασθενείς που κατανάλωσαν σταφίδα. Μετά την παρέμβαση, η μείωση της IL-6 και της γλυκόζης νηστείας ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς που κατανάλωσαν σταφίδα και έχασαν βάρος σε σύγκριση με τους ομολόγους τους στην ομάδα ελέγχου. Συμπερασματικά, ελάχιστες τροποποιήσεις στις επιλογές σνακ, συμπεριλαμβανομένων των σταφίδων στη διατροφή, είναι ευεργετικές σε ασθενείς με NAFLD με μη σημαντική ίνωση [34].

Επίπροσθέτως, ορμονική δράση/ρύθμιση φαίνεται να ασκείται από την κατανάλωση σταφίδας σε μία μελέτη διασταυρούμενης δοκιμής. Η Kaliora et al. μελέτησαν την επίδραση της κατανάλωσης σταφίδας σε σχέση με την κατανάλωση ενός διαλύματος γλυκόζης σε υγιείς εθελοντές. Χορηγήθηκαν 2 γεύματα ίδιας σύστασης σε σάκχαρα. Το ένα αποτελείτο από 50 g γλυκόζης διαλυμένο σε ένα ποτήρι νερό και το άλλο 74 g σταφίδας. Τα 2 αυτά γεύματα αποτελούσαν ισοθερμιδικά ισοδύναμα σακχάρων. Οι δείκτες που αξιολογήθηκαν ήταν η γλυκόζη και ινσουλίνη, το γαστρικό ανασταλτικό πολυπεπτίδιο (GIP) και γλυκαγονόμορφο-πεπτίδιο 1 (GLP-1), η γκρελίνη, η απελίνη και η ομπεστατίνη σε δείγμα αίματος. Η γλυκόζη και η ινσουλίνη κορυφώθηκαν και στα 2 γεύματα στα 60 λεπτά με την απόκριση τους να μην είναι στατιστικά σημαντική ενώ η συγκέντρωση του GIP κορυφώθηκε στον ίδιο χρόνο. Όμως η συγκέντρωση του GIP στο γεύμα της σταφίδας στα

60 και 120 λεπτά ήταν μικρότερη από το διάλυμα γλυκόζης μεταγευματικά. Διαφορές δεν παρατηρήθηκαν στις τιμές των συγκεντρώσεων της απελίνης και του GLP-1 για κανένα από τα 2 γεύματα. Τα επίπεδα της γκρελίνης πλάσματος μειώθηκαν σημαντικά στα 60 λεπτά για την γλυκόζη και τη σταφίδα. Όμως, ήταν σημαντικά χαμηλότερα μετά την κατανάλωση σταφίδας σε σύγκριση με γλυκόζη στα 120 και στα 180 min μεταγευματικά. Η ομπεστατίνη κορυφώθηκε σημαντικά στα 120 λεπτά και στις δύο δοκιμές. Ωστόσο, η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Ο λόγος γκρελίνης/ομπεστατίνης βρέθηκε σημαντικά χαμηλότερο στα 120 λεπτά μετά την κατανάλωση σταφίδας σε σύγκριση με τη γλυκόζη. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι κατά με κατανάλωση της σταφίδας μπορεί να ρυθμιστεί το GIP σε σχέση με ένα διάλυμα γλυκόζης σε νορμοβαρές δείγμα και αυτό οφείλεται στο ότι η σταφίδα περιέχει εκτός από γλυκόζη και φρουκτόζη. Παρά το γεγονός ότι το GLP-1 δεν επηρεάστηκε στη μελέτη, τα επίπεδα του GLP-1 βρέθηκαν χαμηλότερα στο γεύμα με την φρουκτόζης. Επιπλέον, η μελέτη έδειξε ότι η γλυκόζη και σταφίδες είχαν παρόμοια επίδραση στην μεταγευματική γλυκαιμία και ινσουλιναίμια. Ένα άλλο σημαντικό αποτέλεσμα της μελέτης είναι η πιθανή ρυθμιστική επίδραση της κατανάλωσης σταφίδας στα επίπεδα γκρελίνης σε υγιή άτομα φυσιολογικού βάρους, σε σύγκριση με τη γλυκόζη. Έτσι, η μείωση των επιπέδων της γκρελίνης στο πλάσμα 60 λεπτά μετά την κατάποση θα μπορούσε να αποδοθεί στην ταυτόχρονη αύξηση των κυκλοφορούντων στο πλάσμα φαινολικών αλλά στην ύπαρξη των φυτικών ινών της σταφίδας. Αντίθετα, καμία επίδραση δε παρατηρήθηκε στην ομπεστατίνη μετά την πρόσληψη είτε σταφίδας είτε γλυκόζης. Σε αυτή τη μελέτη είναι η πρώτη φορά όπου διερευνήθηκε η αναλογία γκρελίνης/ομπεστατίνης σε φυσιολογικού βάρους άτομα μετά τα γεύματα. Εντός των πρώτων 60 λεπτών μετά από κάθε γεύμα, η αναλογία γκρελίνης/ομπεστατίνης μειώθηκε. Ωστόσο, μια ισορροπία στη όρεξη παρατηρήθηκε στο γεύμα της σταφίδας 1 ώρα μετά την κατανάλωση και καθ' όλη των 3 ωρών έναντι σημαντικής αύξησης της όρεξης στη δοκιμή της γλυκόζης [35].

1.6 Οξειδωτικό στρες

Το οξειδωτικό στρες ορίζεται ως η παρουσία των ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS), ελεύθερες ρίζες και ενεργές μορφές αζώτου (RNS) που υπερβαίνει τη διαθέσιμη αντιοξειδωτική ρυθμιστική ικανότητα. Ο όρος ROS είναι ένας συλλογικός όρος που χρησιμοποιείται για την περιγραφή των χημικών ενώσεων που σχηματίζονται κατά την ατελή μείωση του οξυγόνου και

περιλαμβάνει το ανιόν υπεροξειδίου (O_2^-), το υπεροξείδιο υδρογόνου (H_2O_2) και η ρίζα υδροξυλίου ($HO\bullet$). Αντίθετα, ο όρος RNS αναφέρεται σε όλες τις καταστάσεις οξειδωσης και δραστικών ενώσεων προσθήκης αζωτούχων προϊόντων της συνθετάσης νιτρικού οξειδίου (NOS), από νιτρικό οξείδιο (NO) έως νιτρόξυλο (NO^-), S-νιτροσοθειόλη (RSNO) και υπεροξυνιτρίτη ($OONO^-$) [36]. Μια ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων υπέρ των οξειδωτικών, δυνητικά μπορεί να οδηγήσει σε βλάβη και έχει χαρακτηριστεί ως οξειδωτικό στρες [37]. Τα προϊόντα αυτά, οι δραστικές ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, μπορεί να προκαλέσουν βλάβη στις πρωτεΐνες, στα λιπίδια και στο DNA, να μεταβάλλουν τη δομή πρωτεϊνών και υδατανθράκων καθώς και τις λειτουργίες του οργανισμού ενώ φαίνεται να εμπλέκονται στην παθογένεια καρδιαγγειακών ασθενειών και διαβητικών επιπλοκών [37, 38]. Εκτός από την επίδραση των ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS), οι ενεργές μορφές αζώτου (RNS) μπορούν να προκαλέσουν πιθανές βιολογικές βλάβες. Αυτό είναι εμφανές σε βιολογικά συστήματα όταν υπάρχει είτε υπερβολική παραγωγή ROS/RNS και/ή ανεπάρκεια ενζυμικών και μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών. Το οξειδωτικό στρες είναι μια σύνθετη διαδικασία. Οι επιπτώσεις της στον οργανισμό εξαρτώνται από τον τύπο του οξειδωτικού, τη θέση και την ένταση της παραγωγής του, τη σύνθεση και τις δραστηριότητες των διαφόρων αντιοξειδωτικών και σχετίζονται επίσης με την ικανότητα των συστημάτων επισκευής. Όπως προαναφέρθηκε, ο όρος "ROS" περιλαμβάνει όλους του ασταθείς μεταβολίτες του μοριακού οξυγόνου (O_2) που έχουν υψηλότερη δραστικότητα από αυτό, όπως η ρίζα υπεροξειδίου και η ρίζα υδροξυλίου και μορίων που δεν είναι ρίζες όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Οι ελεύθερες ρίζες με κεντρικό μόριο το οξυγόνο παράγονται ως υποπροϊόν του αερόβιου μεταβολισμού αλλά αυξάνουν τα επίπεδά τους υπό πίεση (stress), που αποδεικνύεται ως ένας βασικός κίνδυνος για την υγεία. Το μιτοχόνδριο είναι το κύριο κυτταρικό οργανίδιο υπεύθυνο για την παραγωγή ROS. Παράγει ATP μέσα από μια σειρά διαδικασιών (οξειδωτική φωσφορυλίωση). Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, ένα ή δύο ηλεκτρόνια του O_2 ανάγονται αντί τεσσάρων, οδηγώντας στο σχηματισμό του υπεροξειδίου ή H_2O_2 . Τα είδη αυτά μπορούν να μετατραπούν σε άλλες μορφές ROS. Άλλες πηγές ROS μπορεί να είναι οι αντιδράσεις που περιλαμβάνουν υπεροξειδικές οξειδάσες, ένζυμα του κυτοχρώματος P-450, NDA(P)H οξειδάσες, την οξειδάση της ξανθίνης [39].

Οι ελεύθερες ρίζες έχουν πολύ μικρό χρόνο ημιζωής (της τάξης των μερικών δευτερολέπτων) και η μέτρηση τους *in vivo* βρίσκεται αντιμέτωπη με πολλές προκλήσεις. Ωστόσο,

τα -οξυ παράγωγα ριζών (π.χ. υπεροξειδίο του υδρογόνου ή υδροϋπεροξειδία λιπιδίων) είναι σταθερά και έχουν μεγάλο χρόνο ημιζωής (ώρες έως εβδομάδες) γεγονός που επιτρέπει να μετρηθούν και να παρακολουθηθούν επανειλημμένα. Πολλοί δείκτες οξειδωτικού στρες που βρίσκονται στο σώμα έχουν προταθεί, συμπεριλαμβανομένων των λιπιδικών υδροϋπεροξειδίων, της 4-υδροξυ-2-εννεανάλη, των ισοπροστανίων (IsoPs), της 8-υδροξυ-2-δεοξυγουανουσίνης (8-OHdG), της μηλονικής διαλδεΐδης (MDA), της αλλαντοΐνης (σχηματίζεται από μη-ενζυμική οξείδωση του ουρικού οξέος από ενεργές μορφές οξυγόνου και αζώτου), των ενεργών ουσιών του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARS) [38].

1.6.1 Προ-οξειδωτικά

Αναφέρονται σε οποιουσδήποτε ενδογενείς ή εξωγενείς παράγοντες που προκαλούν το οξειδωτικό στρες, είτε παράγοντας τις ROS/RNS ή αναστέλλοντας αντιοξειδωτικά συστήματα. Μπορεί να περιλαμβάνουν όλες τις ελεύθερες ρίζες που περιέχουν μόρια αυτών σε κύτταρα ή ιστούς. Τα προ-οξειδωτικά μπορούν να ταξινομηθούν σε διάφορες κατηγορίες. Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι συστατικά που φαίνεται να έχουν αντιοξειδωτική δράση, ανάλογα των συνθηκών, μπορεί να δράσουν τελικά ως οξειδωτικά. Τα φλαβονοειδή (γνωστα για την αντιοξειδωτική τους ικανότητα) έχουν αναφερθεί ότι δρουν επίσης ως προ-οξειδωτικά όταν υπάρχουν διαθέσιμα δραστικά μέταλλα. Οι αντιοξειδωτικές και οι προ-οξειδωτικές (προκαλούμενος από παρουσία χαλκού) δυνατότητες των φλαβονοειδών εξαρτώνται από τις δομές τους. Η υποκατάσταση με OH είναι απαραίτητη για την αντιοξειδωτική δράση ενός φλαβονοειδούς. Οι φλαβόνες και η φλαβανόνες, οι οποίες δεν έχουν υποκαταστάτες OH και οι οποίες παρέχουν τις βασικές χημικές δομές για τα φλαβονοειδή, δεν εμφανίζουν ούτε αντιοξειδωτικές ούτε προ-οξειδωτικού παρουσία χαλκού. Η δράση του προερχόμενου προ-οξειδωτικού, από φλαβονοειδοές που έχει αντιδράσει με χαλκού, εξαρτάται επίσης από τον αριθμό των ελεύθερων OH υποκαταστατών στη δομή του. Όσο περισσότεροι οι OH υποκαταστάτες, τόσο ισχυρότερη είναι η οξειδωτική δράση. Η Ο-μεθυλίωση και πιθανώς και άλλες Ο-τροποποιήσεις των υποκαταστατών OH φλαβονοειδούς, απενεργοποιούν τόσο την αντιοξειδωτική όσο και την προ-οξειδωτική δράση των φλαβονοειδών. Τα φλαβονοειδή γενικά εμφανίζονται σε τρόφιμα ως Ο-γλυκοζίτες με δεσμευμένα σάκχαρα στη θέση C3. Μεθυλίωση ή γλυκοζιδική τροποποίηση των υποκαταστατών OH οδηγεί σε απενεργοποίηση της οξειδωτικής δραστηριότητας ενός φλαβονοειδούς που ενεργοποιείται από μεταβατικό μέταλλο. Η

προστασία που παρέχουν τα φρούτα και τα λαχανικά από διάφορες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου και των καρδιαγγειακών παθήσεων, έχει αποδοθεί στα διάφορα αντιοξειδωτικά φλαβονοειδή, που περιέχονται σε αυτά τα τρόφιμα. Τα φλαβονοειδή, όπως η κερκετίνη και η καμπφερόλη, προκαλούν βλάβη από πυρηνικό DNA και υπεροξειδωση λιπιδίων παρουσία μεταβατικών μετάλλων. Οι in-vivo δράσεις των φλαβονοειδών και άλλων αντιοξειδωτικών που προκαλούνται από χαλκό, όπως το ασκορβικό οξύ και η α-τοκοφερόλη, γενικά δεν θεωρούνται σημαντικές, καθώς τα ιόντα χαλκού θα απομονώνονται σε μεγάλο βαθμό στους ιστούς, εκτός της περίπτωσης που υπάρχει τοξικότητα λόγω αυξημένων επιπέδων μετάλλων. Η πρόληψη της επαγόμενης από σίδηρο υπεροξειδωσης λιπιδίων στα ηπατοκύτταρα από ορισμένα φλαβονοειδή, συμπεριλαμβανομένης της κερκετίνης, είναι ευρέως γνωστή [39].

1.6.2 Αντιοξειδωτικά

Για να αντισταθμίσει τα επιβλαβή αποτελέσματα που λαμβάνουν χώρα στο κύτταρο, ο οργανισμός έχει εξελίξει κάποιες στρατηγικές άμυνας, όπως η πρόληψη των ζημιών, οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης για να διορθωθούν οι οξειδωτικές βλάβες, οι μηχανισμοί φυσικής προστασίας έναντι ζημιάς και οι πιο σημαντικοί όλων, οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί άμυνας. Με βάση το οξειδωτικό στρες που σχετίζεται με βλάβες από παρουσία ελεύθερων ριζών, τα αντιοξειδωτικά είναι η πρώτη γραμμή άμυνας για την εξουδετέρωσή του. Οι ενδογενείς αντιοξειδωτικές άμυνες περιλαμβάνουν ένα δίκτυο διαμερισματοποιημένων αντιοξειδωτικών ενζυμικών και μη ενζυμικών μορίων που συνήθως διανέμονται εντός του κυτταροπλάσματος σε διάφορα κυτταρικά οργανίδια. Σε ευκαρυωτικούς οργανισμούς, είναι παρόντα αρκετά πρωτογενή αντιοξειδωτικά ένζυμα (όπως SOD, καταλάση, και αρκετές υπεροξειδάσες) που καταλύουν μία σύνθετη αλληλουχία αντιδράσεων για τη μετατροπή των ROS σε πιο σταθερά μόρια, όπως το νερό και το O₂. Εκτός από τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά ένζυμα, ένας μεγάλος αριθμός δευτερευόντων ενζύμων ενεργεί σε στενή συνεργασία με τα αντιοξειδωτικά μόρια μικρού μοριακού βάρους, που μέσω της οξειδοαναγωγής παρέχουν τους απαραίτητους συμπαραγόντες για τις πρωτογενείς αντιοξειδωτικές λειτουργίες των ενζύμων. Μικρού μοριακού βάρους μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά (όπως GSH, NADPH, θειορεδοξίνη, βιταμίνες E και C, και ίχνη μετάλλων όπως το σελήνιο) λειτουργούν επίσης ως άμεσοι καθαριστές των ROS. Αυτά τα ενζυμικά και μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά συστήματα είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της ζωής, διατηρώντας μια λεπτή ισορροπία ενδοκυτταρικής οξειδοαναγωγής και

ελαχιστοποιώντας τις ανεπιθύμητες κυτταρικές βλάβες που προκαλούνται από τις ROS. Ενδογενή και εξωγενή αντιοξειδωτικά περιλαμβάνουν κάποια υψηλού μοριακού βάρους (SOD, GPx, καταλάση, αλβουμίνη, τρανφεράση, μεταλλοθειονίνη) και κάποιες ουσίες χαμηλού μοριακού βάρους (ουρικό οξύ, ασκορβικό οξύ, λιποϊκό οξύ, γλουταθειόνη, ουβικινόλη, τοκοφερόλη/ βιταμίνη E, φλαβονοειδή) [39].

1.6.3 Μεταγευματικό οξειδωτικό στρες

Το μεταγευματικό οξειδωτικό στρες χαρακτηρίζεται από αυξημένη επιρρέπεια του οργανισμού προς οξειδωτική βλάβη μετά την κατανάλωση ενός γεύματος πλούσιου σε λίπος και/ή υδατάνθρακες. Έτσι, τα μακροθρεπτικά συστατικά έχουν επίδραση στην οξειδοαναγωγική ισορροπία στον οργανισμό είτε ως στόχοι της οξειδωτικής τροποποίησης μετά την απορρόφηση ή ως προ-οξειδωτικά. Η μεταγευματική κατάσταση είναι μία προ-οξειδωτική κατάσταση που οδηγεί σε μια περίοδο ενεργού οξειδωτικού μεταβολισμού και σχηματισμού/δράσης των ROS [40]. Η υπερλιπιδαιμία και η υπεργλυκαιμία έχουν συσχετιστεί με αυξημένη οξειδωτική βλάβη που επηρεάζει τις λιποπρωτεΐνες και την αντιοξειδωτική κατάσταση του οργανισμού. Έτσι, ο φαύλος κύκλος, της μεταγευματικής αύξησης των επιπέδων των λιπιδίων και των υδατανθράκων μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένο οξειδωτικό στρες, σε μεταγευματική λιπαιμία και γλυκαιμία που έχουν συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο για αθηροσκλήρωση και συναφείς καρδιολογικές διαταραχές. Στις δυτικές κοινωνίες, ένα σημαντικό μέρος της ημέρας ο οργανισμός βρίσκεται σε μεταγευματική κατάσταση [37]. Η ιδέα που εκφράστηκε από τον Zilvermit, ότι δηλαδή η αθηρογένεση αποτελεί κομμάτι της μεταγευματικής κατάστασης του οργανισμού αποκτά όλο και περισσότερο έδαφος. Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, η συσσώρευση των πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών στη μεταγευματική κατάσταση έχει ως συνέπεια τη μείωση του ποσοστού κάθαρσης υπολειμμάτων χυλομικρών και αυτή η παρατεταμένη κατάσταση υπερλιπιδαιμίας συμβάλλει στην αγγειακή βλάβη και στην ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης. Για τα άτομα σε συνεχή μεταγευματική κατάσταση, τα επίπεδα των υπολειμμάτων χυλομικρών στην κυκλοφορία μπορεί να παραμένουν αυξημένα επ' αόριστον. Τα αυξημένα επίπεδα λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών συνδέονται με την εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου [41]. Η μεταγευματική υπερλιπιδαιμία και υπεργλυκαιμία από γεύματα πλούσια σε λιπίδια και υδατάνθρακες, προκαλεί οξειδωτικό στρες που είναι μεγαλύτερο και παρατεταμένο σε παχύσαρκα ή διαβητικά άτομα, τονίζοντας τη σημασία της ευαισθησίας στην

ινσουλίνη. Το μεταγευματικό οξειδωτικό στρες συνήθως συνοδεύεται από μεταγευματική φλεγμονή και διαταραχή της λειτουργίας του ενδοθηλίου [40].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της μεταγευματικής επίδρασης γεύματος πλούσιου σε λίπος και σάκχαρα σε υγιή άτομα και η διερεύνηση της πιθανής προστατευτικής δράσης της κατανάλωσης ΚΣ όταν προστεθεί στο υπό μελέτη λιπαρό γεύμα. Για το λόγο αυτό προσδιορίστηκαν μεταγευματικά η γλυκόζη πλάσματος και η ινσουλίνη ορού, τα λιπίδια του ορού (τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη) και δείκτες οξειδωτικού στρες στον ορό (ουρικό οξύ, οκ-LDL, αντίσταση ορού στην οξείδωση), στα ούρα (8-ισο-προσταγλανδίνη-F_{2a}), το ολικό φαινολικό περιεχόμενο και συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα του γεύματος που περιείχε ΚΣ με αυτά του γεύματος ελέγχου.

2.2 Σχεδιασμός της μελέτης

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

2.2.1 Επιλογή δείγματος

Δεκατρία φαινομενικά υγιή άτομα, ηλικίας μεταξύ 20 και 40 ετών αποτελούσαν το δείγμα της μελέτης. Το δείγμα θεωρείται ικανό να οδηγήσει στην εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων με βάση άλλες μεταγευματικές μελέτες.

Τα κριτήρια αποκλεισμού για τη συμμετοχή στη μελέτη ήταν:

- ΔΜΣ > 25
- Κατάχρηση αλκοόλ ή χρήση ναρκωτικών ουσιών
- Κατανάλωση οποιουδήποτε φαρμάκου ή συμπληρώματος διατροφής
- Ειδική διατροφή (χορτοφαγική, μακροβιοτική, κ.λπ.) πριν από τη μελέτη

- Ύπαρξη ή κλινικά στοιχεία ύπαρξης οποιασδήποτε γαστρεντερικής νόσου, όπως η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, το γαστρικό έλκος και ο καρκίνος

Μετά από την πλήρη ενημέρωση των εθελοντών σχετικά με το πρωτόκολλο ζητήθηκε η γραπτή τους συγκατάθεση για τη συμμετοχή στη μελέτη. Η κατάσταση της υγείας των εθελοντών εκτιμήθηκε μέσω της συμπλήρωσης ερωτηματολογίου ιατρικού ιστορικού, φυσικής εξέτασης και μέτρησης βιοχημικών και αιματολογικών δεικτών, έτσι ώστε όλα τα άτομα που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη να είναι υγιή. Οι μετρήσεις βιοχημικών και αιματολογικών δεικτών πραγματοποιήθηκαν πριν την έναρξη της μελέτης σε διαπιστευμένο διαγνωστικό εργαστήριο. Στην πρώτη επίσκεψη καταγράφηκαν τα κοινωνικο-δημογραφικά χαρακτηριστικά των εθελοντών (ηλικία, οικογενειακή κατάσταση, εργασία, σπουδές, τόπος κατοικίας) λήφθηκε το ιατρικό ιστορικό (κάπνισμα, λήψη φαρμάκων, κατάσταση υγείας) και συμπληρώθηκε το εξειδικευμένο ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων, για να υπολογιστεί το Σκορ Μεσογειακής Διατροφής (MedDietScore) [41]. Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά που μετρήθηκαν 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, ενώ έγινε και λιπομέτρηση με τον αναλυτή TANITA Body Composition Analyzer SC-330. Πριν από την πρώτη αιμοληψία μετρήθηκαν η συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση και οι σφύξεις με ηλεκτρονικό πιεσόμετρο. Τέλος, και στις δύο επισκέψεις πραγματοποιήθηκε ανάκληση εικοσιτετράωρου, για να υπολογιστεί στη συνέχεια η ενεργειακή πρόσληψη των εθελοντών και η σύσταση της διαίτας τους σε μακροθρεπτικά συστατικά με το λογισμικό Nutritionist PRO™.

2.2.2 Παρασκευή γευμάτων παρέμβασης και ελέγχου

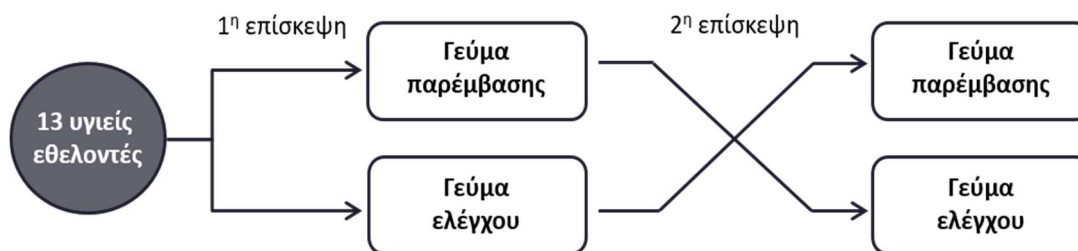
Το γεύμα παρέμβασης παρασκευάστηκε από σκόνη Άνθος αραβοσίτου, βούτυρο γάλακτος και ΚΣ, ώστε να περιέχει συνολικά 800 kcal (70% από τα λιπαρά και 30% από τους υδατάνθρακες), όπως φαίνεται στον Πίνακα 6. Το γεύμα ελέγχου είχε ακριβώς την ίδια σύσταση, αντικαθιστώντας την ποσότητα της ΚΣ με ποσότητα ζάχαρης ίση με το περιεχόμενο της σταφίδας σε σάκχαρο. Τα γεύματα αποθηκεύονταν στο ψυγείο και καταναλώνονταν την επόμενη ημέρα από την παρασκευή τους.

Πίνακας 6: Σύσταση των δύο γευμάτων της μελέτης.

Συστατικό	Γεύμα παρέμβασης	Γεύμα ελέγχου
Συνολική ενέργεια (kcal)	800	800
Λιπαρά (g)	62,2	62,2
Υδατάνθρακες (g)	60	60
Σάκχαρα (g)	57,7	57,7
Σκόνη άνθους αραβοσίτου (g)	15,5	15,5
Ζωικό Βούτυρο (g)	75,9	75,9
Ζάχαρη (g)	-	45,6
Κορινθιακή σταφίδα (g)	65,6	-

2.3 Διεξαγωγή της μελέτης

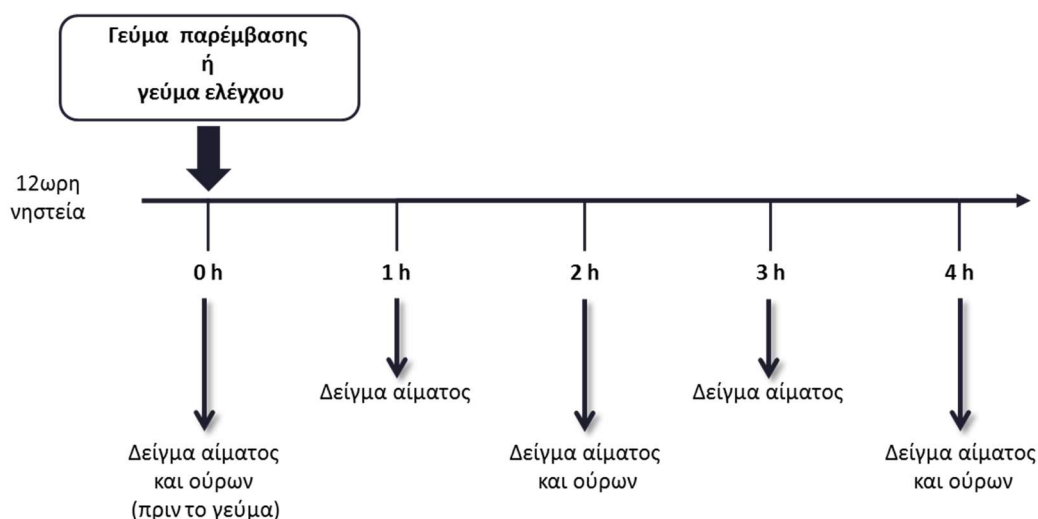
Χρησιμοποιώντας τον τυχαιοποιημένο διασταυρούμενο σχεδιασμό, οι εθελοντές κατανάλωσαν σε τυχαία σειρά, δύο ξεχωριστές ημέρες το γεύμα παρέμβασης ή το γεύμα ελέγχου, με ένα ελάχιστο διάστημα τριών ημερών μεταξύ κάθε επίσκεψης.



Σχήμα 3: Σχεδιασμός μελέτης

Σε κάθε επίσκεψη οι εθελοντές μετά από 12ωρη ολονύκτια νηστεία, προσήλθαν στη Μονάδα Μεταβολισμού του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου και υποβλήθηκαν στην παρακάτω διαδικασία. Αρχικά, λήφθηκε δείγμα αίματος και ούρων πριν από την κατανάλωση του γεύματος

(χρόνος 0 h). Στη συνέχεια, ο κάθε εθελοντής κατανάλωσε με τυχαία σειρά ένα από τα δύο γεύματα. Ακολούθησε συλλογή δειγμάτων αίματος στους χρόνους 1, 2, 3 και 4 h και ούρων στους χρόνους 2 και 4 h μετά από την κατανάλωση του γεύματος. Αμέσως μετά από τη λήψη του αίματος, απομονώθηκε πλάσμα και ορός ύστερα από φυγοκέντρηση των δειγμάτων στις 3000 rpm για 10 min στους 4°C. Όλα τα δείγματα ορού, πλάσματος και ούρων αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι την ανάλυσή τους. Κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας, οι συμμετέχοντες δεν επιτρεπόταν καπνίσουν και να καταναλώσουν οποιοδήποτε φαγητό ή ποτό, εκτός από νερό. Στο Σχήμα 4 παρουσιάζεται η διαδικασία διεξαγωγής της μελέτης.



Σχήμα 4: Διαδικασία διεξαγωγής μελέτης

2.4 Εργαστηριακές αναλύσεις

Οι εργαστηριακές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Χημείας, Βιοχημείας & Φυσικοχημείας Τροφίμων του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Στα δείγματα ορού που συλλέχθηκαν, προσδιορίστηκαν τα επίπεδα ινσουλίνης, ολικής χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων, ουρικού οξέος και oxLDL καθώς και η ικανότητα αντίστασης του ορού στην οξείδωση. Τα επίπεδα γλυκόζης καθώς και των ολικών φαινολικών μετρήθηκαν στο πλάσμα, ενώ στα δείγματα ούρων προσδιορίστηκαν τα επίπεδα 8-ισο-προσταγλανδίνης-F_{2α}. Οι πειραματικές μέθοδοι για κάθε ανάλυση περιγράφονται αναλυτικά στη συνέχεια.

2.4.1 Προσδιορισμός επιπέδων γλυκόζης στο πλάσμα

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

Αρχή μεθόδου

Παρουσία του ενζύμου οξειδάση (GOD) η γλυκόζη οξειδώνεται και παράγει H_2O_2 . Η αντίδραση του H_2O_2 με φαινολικό παράγωγο και 4-αμινοφαιναζόνη καταλύεται από το ένζυμο υπεροξειδάση (POD) και παράγει έγχρωμο προϊόν ερυθρού χρώματος. Η αύξηση της απορρόφησης στα 510 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο δείγμα.

Αναλυτική πορεία

Τα επίπεδα της γλυκόζης στο πλάσμα μετρώνται σε φωτόμετρο ELISA με χρήση εξειδικευμένου φωτομετρικού kit και σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρείας. Αρχικά προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα σύμφωνα με τις οδηγίες του παρασκευαστή. Στις αντίστοιχες θέσεις στην πλάκα προστίθενται αρχικά 1 mL διαλύματος εργασίας και 10μL δείγματος ή προτύπου. Ακολουθεί επώαση για 10 min στους 37°C. Μετά το τέλος της επώασης μετράται η απορρόφηση στα 510nm και η συγκέντρωση της γλυκόζης υπολογίζεται από τον τύπο: $\text{Γλυκόζη (mg/dL)} = A_{\text{δείγμ.}}/A_{\text{πρωτ.}} \times 100$.

2.4.2 Προσδιορισμός επιπέδων ινσουλίνης στον ορό

Η μέτρηση των επιπέδων ινσουλίνης 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 μέθοδος χρησιμοποιεί μονοκλωνικά αντισώματα που κατευθύνονται εναντίον διακριτών επιτόπων ινσουλίνης. Ένα μονοκλωνικό αντίσωμα- ανιχνευτής, σηματοδοτημένο με HRP

(horseradishperoxidase) προστίθεται στα δείγματα και μετά από μία περίοδο επώασης η αντίδραση ξεκινάει με την προσθήκη του διαλύματος υποστρώματος TMB (tetramethylbenzidine) -H₂O₂. Μετά από άλλη μία επώαση το HCL σταματάει την αντίδραση και ακολουθεί φωτομέτρηση. Η ένταση του χρώματος είναι ευθέως ανάλογη με τη συγκέντρωση της ινσουλίνης στα δείγματα.

Αναλυτική πορεία

Τα επίπεδα της ινσουλίνης στον ορό μετρώνται σε φωτόμετρο ELISA reader με χρήση εξειδικευμένου ELISA kit και σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρείας. Αρχικά προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Στις αντίστοιχες θέσεις στην πλάκα προστίθενται αρχικά 50 μ L προτύπου ή δείγματος και 50 μ L από το διάλυμα των αντισωμάτων (Anti-Insulin-HRP). Ακολουθεί επώαση για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί απομάκρυνση του υπερκείμενου και ξέπλυμα με το διάλυμα πλύσης (x3). Μετά το τελευταίο ξέπλυμα απομακρύνεται κάθε ίχνος υγρασίας και προστίθενται 100 μ L από το υπόστρωμα. Ακολουθεί επώαση για 15 min σε θερμοκρασία δωματίου, στο σκοτάδι. Μετά το τέλος της επώασης προστίθενται 100 μ L διαλύματος τερματισμού της αντίδρασης και μετράται η απορρόφηση στα 450 nm. Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης ινσουλίνης σε μ IU/mL κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Για την καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιούνται πρότυπα διαλύματα ινσουλίνης σε συγκεντρώσεις 250, 128, 44,4, 13,8 και 5,1 μ IU/mL. Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $y=f(x)$, όπου x η συγκέντρωση της ινσουλίνης σε μ IU/mL και y η απορρόφηση στα 450nm.

2.4.3 Προσδιορισμός επιπέδων τριγλυκεριδίων στον ορό

Η μέτρηση των επιπέδων τριγλυκεριδίων 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 παρουσία του ενζύμου λιποπρωτεϊνική λιπάση καταλύει την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων και η παραγόμενη γλυκερόλη με τη βοήθεια του ενζύμου γλυκερολο-κινάση (GK) φωσφορυλιώνεται. Η 3-φωσφορική γλυκερόλη παρουσία του ενζύμου γλυκερολο-3-φωσφορική οξειδάση (GPO) οξειδώνεται με ταυτόχρονη παραγωγή H_2O_2 , η αντίδραση του οποίου με φαινολικό παράγωγο και αμινοφαιναζόνη καταλύεται από το ένζυμο υπεροξειδάση (POD) και παράγει έγχρωμο προϊόν ερυθρού χρώματος. Η αύξηση της απορρόφησης στα 510 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των τριγλυκεριδίων στο δείγμα.

Αναλυτική πορεία

Τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων στον ορό μετρώνται σε φωτόμετρο ELISA με χρήση εξειδικευμένου φωτομετρικού kit και σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρείας. Αρχικά προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα σύμφωνα με τις οδηγίες του παρασκευαστή. Στις αντίστοιχες θέσεις στην πλάκα προστίθενται αρχικά 500 μ L διαλύματος εργασίας και 10 μ L δείγματος ή προτύπου. Ακολουθεί επώαση για 5 min στους 37°C. Μετά το τέλος της επώασης προστίθενται 500 μ L σταθεροποιητικού διαλύματος και μετράται η απορρόφηση στα 510nm. Η συγκέντρωση των τριγλυκεριδίων υπολογίζεται από τον τύπο: **Τριγλυκερίδια (mg/dL) = $A_{\text{δείγμ.}}/A_{\text{πρωτ.}} \times 200$.**

2.4.4 Προσδιορισμός ολικής χοληστερόλης στον ορό

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

Αρχή μεθόδου

Παρουσία του ενζύμου χοληστερόλο-εστεράση (CE) οι εστέρες της χοληστερόλης υδrolύονται προς χοληστερόλη (CH) και η ολική χοληστερόλη με τη βοήθεια του ενζύμου

χοληστερολο-οξειδάση (CO) οξειδώνεται και παράγει H_2O_2 . Η υπεροξειδάση (POD) καταλύει την αντίδραση του H_2O_2 με το φαινολικό παράγωγο και την 4-αμινοφαιναζόνη και παράγει έγχρωμο προϊόν ερυθρού χρώματος. Η αύξηση της απορρόφησης στα 510 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης ολικής χοληστερόλης στο δείγμα.

Αναλυτική πορεία

Τα επίπεδα της χοληστερόλης στον ορό μετρώνται σε φωτόμετρο ELISA με χρήση εξειδικευμένου φωτομετρικού kit και σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρείας. Αρχικά προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα σύμφωνα με τις οδηγίες του παρασκευαστή. Στις αντίστοιχες θέσεις στην πλάκα προστίθενται αρχικά 1000 μ L διαλύματος εργασίας και 10 μ L δείγματος ή προτύπου. Ακολουθεί επώαση για 5 min στους 37°C. Μετά το τέλος της επώασης μετράται η απορρόφηση στα 510 nm και τέλος η συγκέντρωση της χοληστερόλης υπολογίζεται από τον τύπο: **Χοληστερόλη (mg/dL) = $A_{\text{δείγμ.}}/A_{\text{πρωτ.}}$ x 200.**

2.4.5 Προσδιορισμός επιπέδων ουρικού οξέος στον ορό

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

Αρχή μεθόδου

Παρουσία του ενζύμου ουρικάση το ουρικό οξύ οξειδώνεται και παράγει H_2O_2 , το οποίο στη συνέχεια αντιδρά με το φαινολικό παράγωγο και την 4-αμινοφαιναζόνη με τη βοήθεια του ενζύμου υπεροξειδάση (POD) και παράγει ένα έγχρωμο προϊόν ερυθρού χρώματος. Η αύξηση της απορρόφησης στα 510 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του ουρικού οξέος στο δείγμα.

Αναλυτική πορεία

Τα επίπεδα του ουρικού οξέος στον ορό μετρώνται σε φωτόμετρο ELISA με χρήση εξειδικευμένου φωτομετρικού kit και σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρείας.

Αρχικά προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα σύμφωνα με τις οδηγίες του παρασκευαστή. Στις αντίστοιχες θέσεις στην πλάκα προστίθενται αρχικά 500 μL διαλύματος εργασίας και 20 μL δείγματος ορού ή προτύπου. Ακολουθεί επώαση για 5 min στους 37°C. Μετά το τέλος της επώασης προστίθενται 500 μL απιονισμένου νερού και μετράται η απορρόφηση στα 510nm. Η συγκέντρωση του ουρικού οξέος στο δείγμα υπολογίζεται τελικά από τον τύπο: $UA \text{ (mg/dL)} = A_{\text{δείγμ.}}/A_{\text{πρωτ.}} \times 8$.

2.4.6 Προσδιορισμός οξειδωμένης LDL στον ορό

Η μέτρηση της οξειδωμένης LDL 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 μέτρηση βασίζεται στη συζευγμένη ανοσοενζυμική μέθοδο (τύπου “sandwich”) κατά την οποία δύο μονοκλωνικά αντισώματα κατευθύνονται κατά των ξεχωριστών αντιγονικών παραγόντων στο μόριο της οξειδωμένης απολιποπρωτεΐνης Β. Κατά την επώαση η oxLDL του δείγματος αντιδρά με το αντι-oxLDL αντίσωμα. Τέλος, η ανίχνευση γίνεται μετά από την αντίδραση με TMB (3,3-5,5-τετραμεθυλο-βενζιδίνη).

Αναλυτική πορεία

Τα επίπεδα της oxLDL στον ορό μετρώνται σε φωτόμετρο ELISA με χρήση εξειδικευμένου sandwich kit και σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρείας. Αρχικά προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Τα δείγματα ορού αραιώνονται 1:6.561 με διαλύτη (Sample Buffer). Στις αντίστοιχες θέσεις στην πλάκα προστίθεται αρχικά 25 μL αραιωμένου δείγματος ή προτύπου και 100 μL διαλύτη (Assay Buffer). Ακολουθεί επώαση για 2h σε θερμοκρασία δωματίου σε αναδευτήρα πιάτου. Ακολουθεί απομάκρυνση του υπερκείμενου και ξέπλυμα με το διάλυμα πλύσης (x6). Μετά το τελευταίο ξέπλυμα απομακρύνεται κάθε ίχνος υγρασίας και προστίθενται 100 μL διαλύματος

Conjugate. Ακολουθεί επώαση για 1 h σε θερμοκρασία δωματίου σε αναδευτήρα. Μετά το τέλος της επώασης απομακρύνεται πάλι το υπερκείμενο και ακολουθεί ξέπλυμα με διάλυμα πλύσης (x6). Απομακρύνεται κάθε ίχνος υγρασίας, προστίθενται 200 μ L από το υπόστρωμα και ακολουθεί επώαση για 15min σε θερμοκρασία δωματίου. Στο τέλος προστίθενται 50 μ L διαλύματος τερματισμού της αντίδρασης και μετράται η απορρόφηση στα 450nm. Για την έκφραση των αποτελεσμάτων σε U/L κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Για την καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιείται πρότυπο oxLDL σε συγκεντρώσεις 23, 11, 5,8, 2,8 και 1,3 U/L. Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $y=f(x)$, όπου x η συγκέντρωση της oxLDL σε U/L και y η απορρόφηση στα 450 nm.

2.4.7 Προσδιορισμός αντίστασης του ορού στην οξείδωση

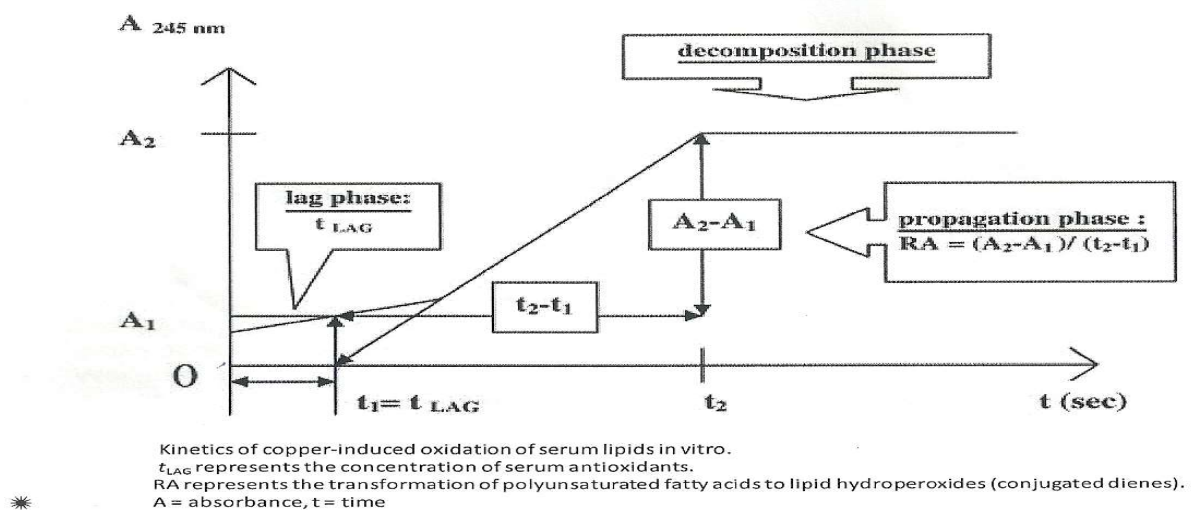
Η μέτρηση της αντίστασης του ορού στην οξείδωση πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit (R&D Systems, Abingdon, UK) σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας.

Αντιδραστήρια-Όργανα

- 1) 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 2,5mL απιονισμένου H_2O . Το διάλυμα φυλάσσεται σε σκουρόχρωμη φιάλη σε θερμοκρασία δωματίου.
- 2) Διάλυμα εργασίας CuSO_4 200 μ M: Αραιώνεται 1:100 το stock διάλυμα CuSO_4 με απιονισμένο H_2O . Δηλαδή λαμβάνονται 20 μ L και αραιώνεται με απιονισμένο H_2O έως όγκο 1980 μ L.
- 3) Διάλυμα PBS: Σε 1000mL απιονισμένου H_2O διαλύονται 9g NaCl, 0,9076g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,2408g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ και ρυθμίζεται το pH στο 7,4.

Αρχή μεθόδου

Με το διάλυμα CuSO_4 προκαλείται οξείδωση της LDL κατά την οποία παράγονται λιποξειδικά υπεροξειδία. Η ανίχνευσή τους γίνεται με φωτομέτρηση στα 245 nm. Στο διάστημα της οξείδωσης των αντιοξειδωτικών του ορού 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. Το αποτέλεσμα εκφράζεται ως χρόνος αντίστασης του ορού στην οξείδωση (Lagtime). Στο Σχήμα 5 φαίνεται μία τυπική καμπύλη οξείδωσης ορού και ο τρόπος υπολογισμού του χρόνου λανθάνουσας φάσης.



Σχήμα 5: Κινητική οξείδωσης ορού και υπολογισμός του lagtime.

Αναλυτική πορεία

Τα δείγματα ορού αραιώνονται σε αναλογία 1:12 με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (διάλυμα PBS), δηλαδή λαμβάνονται 5 μL δείγματος και αραιώνονται μέχρι τον όγκο των 60 μL με PBS. Στις αντίστοιχες θέσεις της πλάκας τοποθετούνται 20 μL αραιωμένου ορού και 230 μL μίγματος PBS- CuSO_4 , 16 μM . Ακολουθεί φωτομέτρηση στα 245 nm και μέτρηση της απορρόφησης στους 37°C, κάθε 2 min επί 4 h. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε sec ως χρόνος αντίστασης του ορού στην οξείδωση (LagTime).

2.4.8 Μέτρηση επιπέδων 8-ισο-προσταγλανδίνης- $F_{2\alpha}$ σε δείγματα ούρων

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

Αρχή μεθόδου

Τα δείγματα αρχικά αναμειγνύονται με ένα ενισχυτικό αντιδραστήριο που ουσιαστικά εξαλείφει τις παρεμβολές λόγω μη-ειδικής πρόσδεσης. Η 8-ισο-προσταγλανδίνη- $F_{2\alpha}$ στο δείγμα ούρων ή στο πρότυπο ανταγωνίζεται με την 8-ισο-προσταγλανδίνη- $F_{2\alpha}$ που έχει συζευχθεί με την horseradishperoxidase (HRP), για την πρόσδεσή τους στο πολυκλωνικό αντίσωμα του πιάτου. Μετά την προσθήκη του υποστρώματος, η ένταση του χρώματος είναι αντιστρόφως ανάλογη στην ποσότητα της 8-ισο-προσταγλανδίνης- $F_{2\alpha}$ στο δείγμα.

Αναλυτική πορεία

Τα επίπεδα της 8-ισο-προσταγλανδίνης- $F_{2\alpha}$ στα ούρα μετρώνται σε φωτόμετρο ELISA με χρήση εξειδικευμένου kit και σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρείας. Αρχικά προετοιμάζονται όλα τα αντιδραστήρια, τα δείγματα και τα πρότυπα σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Τα δείγματα ούρων αραιώνονται 1:2 με Dilution Buffer. Στις αντίστοιχες θέσεις στην πλάκα αρχικά προστίθενται 100 μ L αραιωμένου δείγματος ή προτύπου και 100 μ L HRP Conjugate και επωάζονται για 2 h σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί απομάκρυνση του υπερκείμενου και ξέπλυμα με το διάλυμα πλύσης ($\times 3$), ανά 2-3 min. Μετά το τελευταίο ξέπλυμα απομακρύνεται κάθε ίχνος υγρασίας και προστίθενται 200 μ L υποστρώματος. Ακολουθεί επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 20-40 min, μέχρι να είναι μπλε το χρώμα του προτύπου S0. Η αντίδραση σταματάει με την προσθήκη 50 μ L του διαλύματος Stop και το χρώμα των δειγμάτων στο πιάτο γίνεται κίτρινο. Ακολουθεί φωτομέτρηση στα 450 nm και για την έκφραση των αποτελεσμάτων σε ng/mL κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Για την καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιείται πρότυπο 8-ισο-προσταγλανδίνης- $F_{2\alpha}$ σε συγκεντρώσεις 100, 50, 10, 5, 1, 0,1 και 0,05 ng/mL. Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $y=f(x)$, όπου x η συγκέντρωση της 8-ισο-προσταγλανδίνης- $F_{2\alpha}$ σε ng/mL και y η απορρόφηση στα 450 nm.

2.4.9 Μέτρηση 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 1mg GA και διαλύονται σε 1mL μεθανόλης
- Μεταφωσφορικό οξύ (MPA) 2M: Ζυγίζονται 16g MPA και διαλύονται σε 100mL απιονισμένου νερού
- Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) 2M: Ζυγίζονται 80g 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 ($H_3PMo_{12}O_{40}$) και φωσφο-βολφραμικά ($H_3PW_{12}O_{40}$) 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 10mL προστίθενται 0,5mL πλάσματος και 1mL HCl 1M. Ακολουθεί ανάδευση για 1min και επώαση στους 37°C για 30 min. Μετά το τέλος της επώασης προστίθεται 1mL NaOH 2M και γίνεται ανάδευση για 3min. Ακολουθεί επώαση για άλλη 0,5h στους 37°C και προσθήκη 1mL MPA 2M. Αφού γίνει ανάδευση για 3min, ακολουθεί φυγοκέντρηση (10min, 3.000rpm) και το υπερκείμενο παραλαμβάνεται και φυλάσσεται σε πάγο και στο σκοτάδι. Στο υπόλειμμα προστίθεται 1mL μίγματος ακετόνης/νερού, γίνεται ανάδευση και φυγοκέντρηση (10min, 5.000rpm). Το υπερκείμενο προστίθεται στον σωλήνα με το άλλο υπερκείμενο και ακολουθεί φυγοκέντρηση (6min, 3.500rpm). Ακολουθεί η μέτρηση των ολικών πολυφαινόλων με το αντιδραστήριο FC.

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

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

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

2.5 Στατιστική Επεξεργασία

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος SPSS (SPSS for Windows, version 18.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Αρχικά εξετάστηκε η κανονικότητα όλων των μεταβλητών χρησιμοποιώντας το Kolmogorov-Smirnovtest. Στη συνέχεια εφαρμόστηκε το paired samples T-test για να ελεγχθούν οι διαφορές μεταξύ των μετρήσεων κάθε δείκτη, είτε στο ίδιο γκρουπ (γεύμα ελέγχου ή γεύμα παρέμβασης) στους διάφορους χρόνους, είτε στα δύο γκρουπ για τον ίδιο χρόνο. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέσοι όροι $\pm$ τυπικά σφάλματα και το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο $p < 0,05$.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Χαρακτηριστικά του δείγματος

Στη μελέτη συμμετείχαν 13 υγιείς άντρες, ηλικίας 20-40 ετών, που πληρούσαν όλα τα κριτήρια επιλογής της μελέτης. Στον Πίνακα 7 παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά (μέσος όρος $\pm$ τυπικό σφάλμα) των εθελοντών κατά την ένταξή τους στη μελέτη. Συγκεκριμένα, τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά που μετρήθηκαν ήταν το ύψος, το βάρος, η περίμετρος μέσης και ισχίων και το ποσοστό λιπώδους μάζας, ενώ υπολογίστηκε και ο δείκτης μάζας σώματος των εθελοντών. Επίσης, πραγματοποιήθηκε μέτρηση της συστολικής και διαστολικής αρτηριακής πίεσης και των σφίξεων των εθελοντών. Τέλος, υπολογίστηκε και το Σκορ Μεσογειακής Διατροφής (MedDietScore) των εθελοντών, με βάση το εξειδικευμένο ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων [42].

Πίνακας 7: Χαρακτηριστικά των εθελοντών κατά την ένταξή τους στη μελέτη.

Χαρακτηριστικό	n= 13
Ηλικία	28 $\pm$ 2
Ύψος (cm)	180 $\pm$ 2,0
Βάρος (kg)	79,3 $\pm$ 1,8
ΔΜΣ (kg/m ²)	24,6 $\pm$ 0,7
Περίμετρος Μέσης (cm)	89,9 $\pm$ 2,0
Περίμετρος Ισχίων (cm)	99,8 $\pm$ 1,4
Ποσοστό Λιπώδους μάζας (%)	17,8 $\pm$ 1,3
Συστολική Αρτηριακή Πίεση (mmHg)	120,7 $\pm$ 2,1
Διαστολική Αρτηριακή Πίεση (mmHg)	69,0 $\pm$ 1,7
Σφίξεις	66,8 $\pm$ 2,3
MedDietScore	33,3 $\pm$ 1,0

Από τον Πίνακα 13 φαίνεται πως οι συμμετέχοντες κατά την ένταξή τους στη μελέτη πληρούσαν τα κριτήρια επιλογής (ηλικίας 20-40 ετών, ΔΜΣ <25), είχαν φυσιολογικό ποσοστό σωματικού λίπους και φυσιολογικές τιμές αρτηριακής πίεσης και σφίξεων. Σύμφωνα με το μέσο όρο των Σκορ Μεσογειακής Διατροφής ($33,3 \pm 1,0$) οι εθελοντές κατά την ένταξή τους στη μελέτη είχαν καλή συμμόρφωση με το πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής, με βάση την κλίμακα αξιολόγησης 0-55.

Η κατάσταση της υγείας των εθελοντών εκτιμήθηκε μέσω της συμπλήρωσης ερωτηματολογίου ιατρικού ιστορικού, φυσικής εξέτασης και μετρήσεων βιοχημικών και αιματολογικών δεικτών, έτσι ώστε όλα τα άτομα που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη να είναι υγιή. Οι μετρήσεις βιοχημικών και αιματολογικών δεικτών πραγματοποιήθηκαν πριν την έναρξη της μελέτης σε διαπιστευμένο διαγνωστικό εργαστήριο. Στον Πίνακα 8 παρουσιάζονται τα βιοχημικά και αιματολογικά χαρακτηριστικά (μέσος όρος $\pm$ τυπικό σφάλμα) των εθελοντών κατά την ένταξή τους στη μελέτη, όπως μετρήθηκαν στο διαγνωστικό εργαστήριο μετά από 12ωρη νηστεία, καθώς και οι φυσιολογικές τιμές του κάθε δείκτη σύμφωνα με το συγκεκριμένο εργαστήριο.

Πίνακας 8: Βιοχημικά και αιματολογικά χαρακτηριστικά των εθελοντών κατά την ένταξή τους στη μελέτη

Βιοχημικά Χαρακτηριστικά	n= 13	Φυσιολογικές τιμές
Γλυκόζη (mg/dL)	$90,9 \pm 2,6$	65 - 110
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	$81,7 \pm 10,3$	40 - 160
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	$170,2 \pm 7,6$	<200
HDL χοληστερόλη (mg %)	$50,0 \pm 3,6$	>29
LDL χοληστερόλη (mg/dL)	$104,0 \pm 6,2$	<130
Ουρία (mg/dL)	$35,9 \pm 1,5$	10 - 50
Κρεατινίνη (mg/dL)	$0,9 \pm ,03$	0,5 - 1,5
Αιματολογικά Χαρακτηριστικά	n= 13	Φυσιολογικές τιμές

Αριθμός ερυθρών αιμοσφαιρίων (/μL)	5.062.500 ± 91.884	4.600.000 – 6.200.000
Αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων(/μL)	7.158 ± 585,2	5.000 – 10.000
Αιμοσφαιρίνη (g/dL)	15,6 ± 0,3	13,5 – 18,0
Αιματοκρίτης (%)	45,5 ± 0,7	40 - 54
Μέσος όγκος ερυθρών (fl)	89,9 ± 0,8	76 - 96
Μέση πυκνότητα αιμοσφαιρίνης (g/dL)	34,4 ± 0,2	32 - 36
Μέση περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης (pg/RBC)	30,9 ± 0,3	27 - 32
Εύρος κατανομής ερυθρών (%)	13,7 ± 0,2	11 - 16
Πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα (%)	51,6 ± 1,8	40 - 75
Πολυμορφοπύρρηνα ηωσινόφιλα (%)	4,3 ± 0,9	1 - 6
Λεμφοκύτταρα (%)	39,9 ± 1,3	20 - 45
Μονοκύτταρα (%)	4,1 ± 0,7	2 - 8
Αιμοπετάλια (/μL)	256.833 ± 17.852	150.000 – 350.000
Μέσος όγκος αιμοπεταλίων (fl)	7,1 ± 0,4	7,0 – 11,0
Εύρος κατανομής αιμοπεταλίων (%)	17,6 ± 0,2	8,0 – 18,0

Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 8, οι εθελοντές ήταν υγιείς κατά την ένταξή τους στη μελέτη, εφόσον οι μέσοι όροι όλων των τιμών τους βρίσκονται εντός των φυσιολογικών ορίων. Συγκεκριμένα, φάνηκε ότι όλοι οι εθελοντές είχαν φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης, τριγλυκεριδίων, χοληστερόλης (ολικής, LDL, HDL), ουρίας και κρεατινίνης νηστείας. Επίσης, οι αιματολογικές εξετάσεις τους έδειξαν ότι είχαν φυσιολογικές τιμές ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων, αιματοκρίτη, αιμοσφαιρίνης και των υπόλοιπων αιματολογικών χαρακτηριστικών που μετρήθηκαν.

Στη συνέχεια, στον Πίνακα 9 παρουσιάζονται η ενεργειακή πρόσληψη των συμμετεχόντων και τα μακροθρεπτικά συστατικά που παρέχονται από τη δίαιτά τους (μέσος όρος ± τυπικό

σφάλμα), όπως υπολογίστηκαν από τις ανακλήσεις εικοσιτετράωρου που ελήφθησαν τις δύο ημέρες της μελέτης. Η ομοιογένεια των τιμών ενεργειακής πρόσληψης και των ποσοστών μακροθρεπτικών συστατικών μεταξύ των δύο ανακλήσεων 24ώρου ελέγχθηκε με το paired samples T-test.

Πίνακας 9: Διατροφικά χαρακτηριστικά εθελοντών τις δύο ημέρες της μελέτης.

	Γεύμα ελέγχου	Γεύμα παρέμβασης	p
Ενεργειακή Πρόσληψη (Kcal/ημέρα)	2.006 ± 327,4	2.419 ± 371,6	0,4
Πρωτεΐνη (%)	20,1 ± 1,7	17,0 ± 1,5	0,2
Υδατάνθρακες (%)	46,2 ± 2,9	50,0 ± 3,0	0,4
Λίπος (%)	33,7 ± 3,4	33,0 ± 2,8	0,9

Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 9, οι μέσοι όροι τόσο της ενεργειακής πρόσληψης, όσο και των ποσοστών πρωτεϊνών, υδατανθράκων και λίπους για τις δύο ημέρες που πραγματοποιήθηκαν οι ανακλήσεις εικοσιτετράωρου δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους ($p > 0,05$). Έτσι, φαίνεται ότι οι εθελοντές την ημέρα που προηγήθηκε από την κατανάλωση κάθε γεύματος της μελέτης, είχαν παρόμοια ενεργειακή πρόσληψη και παρόμοια σύσταση της διαίτας τους σε μακροθρεπτικά συστατικά.

3.2 Βιοχημικές παράμετροι και δείκτες οξειδωτικού στρες μετά το γεύμα παρέμβασης και το γεύμα ελέγχου

Προκειμένου να μελετηθεί η μεταγευματική επίδραση του γεύματος πλούσιου σε λίπος και σάκχαρα στους υγιείς εθελοντές, προσδιορίστηκαν η γλυκόζη πλάσματος, η ινσουλίνη ορού, τα λιπίδια του ορού (τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη) και δείκτες οξειδωτικού στρες στον ορό (ουρικό οξύ, oxLDL, αντίσταση ορού στην οξείδωση) και στα ούρα (8-ισο-προσταγλανδίνη- F_{2a}), από τα δείγματα ορού, πλάσματος και ούρων που συλλέχθηκαν από τους εθελοντές κατά τη διεξαγωγή της μελέτης. Προκειμένου να διερευνηθεί η πιθανή ανασταλτική δράση της ΚΣ στο μεταγευματικό οξειδωτικό στρες που προκλήθηκε από το λιπαρό γεύμα, συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα των

δεικτών μετά το γεύμα ελέγχου, με τα αντίστοιχα αποτελέσματα του γεύματος παρέμβασης με την ΚΣ.

Αρχικά πραγματοποιήθηκε έλεγχος κανονικής κατανομής μεταβλητών χρησιμοποιώντας το Kolmogorov-Smirnovtest και φάνηκε ότι όλες οι μεταβλητές που εξετάστηκαν ακολουθούν κανονική κατανομή ($p > 0,05$). Στη συνέχεια ελέγχθηκε η ομοιογένεια των αρχικών τιμών για κάθε δείκτη στις δύο ημέρες της μελέτης, με χρήση του paired samples T-test. Στον πίνακα 10 παρουσιάζονται οι αρχικές τιμές για κάθε δείκτη (μέσος όρος $\pm$ τυπικό σφάλμα). Όπως φαίνεται, οι τιμές για κάθε δείκτη στο χρόνο 0, πριν από την κατανάλωση του κάθε γεύματος, δεν διέφεραν σημαντικά ($p\text{-value} > 0,05$) τις δύο ημέρες της μελέτης.

Πίνακας 10: Αρχικές τιμές κάθε δείκτη πριν από τα δύο γεύματα της μελέτης

Δείκτες	Αρχικές τιμές (χρόνος 0 h)		p
	Γεύμα Ελέγχου	Γεύμα Παρέμβασης	
Γλυκόζη (mg/dL)	90,3 $\pm$ 2,9	91,3 $\pm$ 2,7	0,8
Ινσουλίνη (μIU/mL)	9,9 $\pm$ 2,6	11,3 $\pm$ 2,6	0,3
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	66,6 $\pm$ 9,1	66,4 $\pm$ 9,5	1,0
Χοληστερόλη (mg/dL)	146,2 $\pm$ 11,9	132,7 $\pm$ 8,7	0,2
Ox-LDL (U/L)	52,2 $\pm$ 5,2	50,0 $\pm$ 4,6	0,5
Ουρικό οξύ (mg/dL)	5,5 $\pm$ 0,3	5,3 $\pm$ 0,3	0,7
Αντίσταση ορού στην οξείδωση (sec)	4.633 $\pm$ 215,8	4.470 $\pm$ 267,7	0,6
8-ισο-προσταγλανδίνη-F _{2α} (ng/mL)	4,8 $\pm$ 0,4	6,0 $\pm$ 0,8	0,2

Για να ελεγχθεί η μεταβολή κάθε μεταβλητής σε συνάρτηση με το χρόνο, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση με το pairedsamplesT-test και ελέγχθηκαν ξεχωριστά για κάθε γεύμα οι διαφορές των τιμών κάθε δείκτη σε σχέση με την αρχική τιμή του στο χρόνο 0. Στη συνέχεια με χρήση του ίδιου test πραγματοποιήθηκε σύγκριση των δύο γευμάτων, ελέγχοντας

ξεχωριστά για κάθε χρόνο, τις διαφορές των τιμών κάθε δείκτη ανάμεσα στα δύο γεύματα. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο $p\text{-value} < 0,05$.

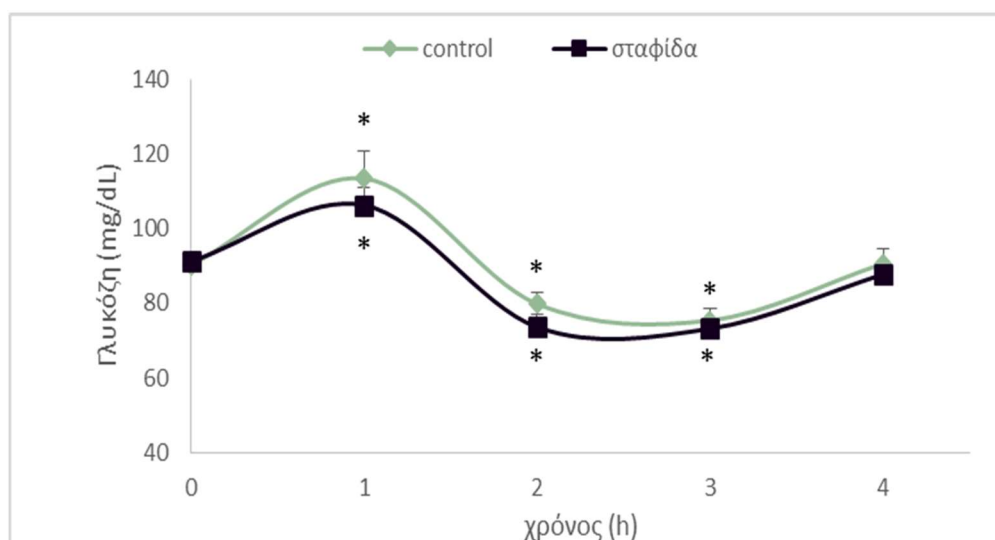
Στα γραφήματα που ακολουθούν, παρουσιάζονται ξεχωριστά όλοι οι δείκτες που εξετάστηκαν στη μελέτη, από τα δείγματα ορού, πλάσματος και ούρων που είχαν συλλεχθεί από τους εθελοντές τις δύο ημέρες συμμετοχής τους στη μελέτη, πριν και μέχρι 4 h μετά την κατανάλωση κάθε γεύματος. Συγκεκριμένα παρουσιάζονται η γλυκόζη πλάσματος και η ινσουλίνη ορού, τα τριγλυκερίδια και η ολική χοληστερόλη ορού, το ουρικό οξύ και η οξειδωμένη λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (oxLDL) στον ορό, η αντίσταση του ορού στην οξείδωση (lagtime) και η 8-ισο-προσταγλανδίνη-F2α (8-epi-PGF2α) στα ούρα.

Για τις μεταβλητές που παρουσιάζονται στα γραφήματα συναρτήσει του χρόνου, ο χρόνος 0 h αντιστοιχεί στη στιγμή πριν την έναρξη του γεύματος, ενώ οι χρόνοι 1 h, 2 h, 3 h, 4 h αντιστοιχούν στην ώρα που είχε περάσει από την κατανάλωση του γεύματος. Οι τιμές των δεικτών στα γραφήματα είναι οι μέσοι όροι των τιμών του δείγματος και με κάθετες γραμμές απεικονίζονται τα τυπικά σφάλματα (SEM). Κάθε γράφημα περιλαμβάνει την καμπύλη του δείκτη για το γεύμα ελέγχου (control) και την αντίστοιχη καμπύλη για το γεύμα παρέμβασης με την ΚΣ (σταφίδα).

3.2.1 Βιοχημικοί Δείκτες

Γλυκόζη

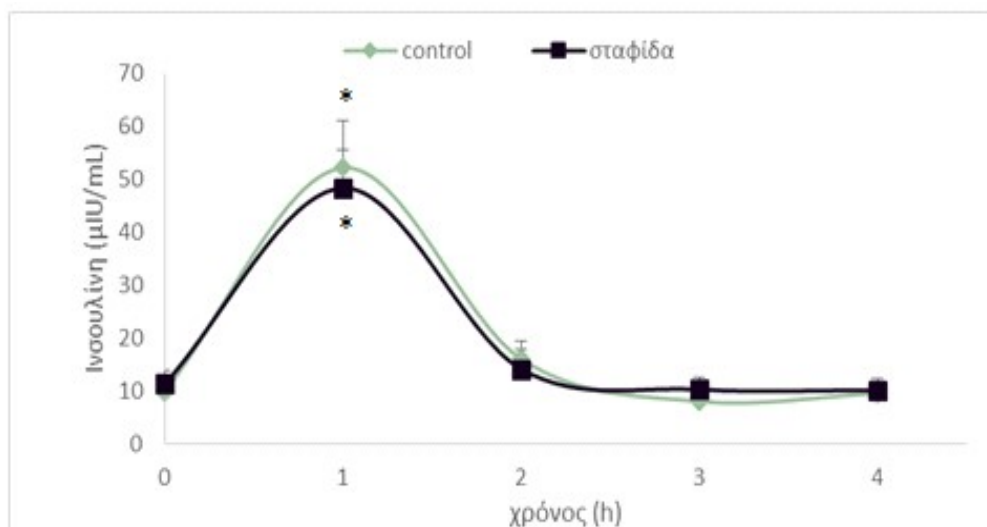
Όπως φαίνεται στο Γράφημα 1, και τα δύο γεύματα προκάλεσαν σημαντική αύξηση στη γλυκόζη του πλάσματος την 1^η ώρα ($p=0,01$). Συγκεκριμένα, η μέγιστη τιμή της γλυκόζης ήταν $113 \pm 7,5$ mg/dL μετά το γεύμα ελέγχου και $106,3 \pm 4,8$ mg/dL μετά το γεύμα παρέμβασης. Στη συνέχεια, τη 2^η ώρα μετά το κάθε γεύμα τα επίπεδα της γλυκόζης μειώθηκαν σημαντικά σε σχέση με τα επίπεδα της γλυκόζης νηστείας και παρέμειναν χαμηλά μέχρι και την 3^η ώρα μεταγευματικά ($p < 0,05$ και για τα δύο γεύματα). Τέσσερις ώρες μετά την κατανάλωση του κάθε γεύματος η συγκέντρωση της γλυκόζης στο πλάσμα επέστρεψε σε επίπεδα παρόμοια με τα αρχικά επίπεδα νηστείας. Μεταξύ των δύο γευμάτων δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στην απόκριση της γλυκόζης, παρόλο που οι τιμές της γλυκόζης πλάσματος των εθελοντών μετά το γεύμα παρέμβασης ήταν ελαφρώς χαμηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές μετά το γεύμα ελέγχου, σε όλους τους χρόνους που μελετήθηκαν.



Γράφημα 1: Επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα (mg/dL) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα. * Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με το χρόνο 0 h

Ινσουλίνη

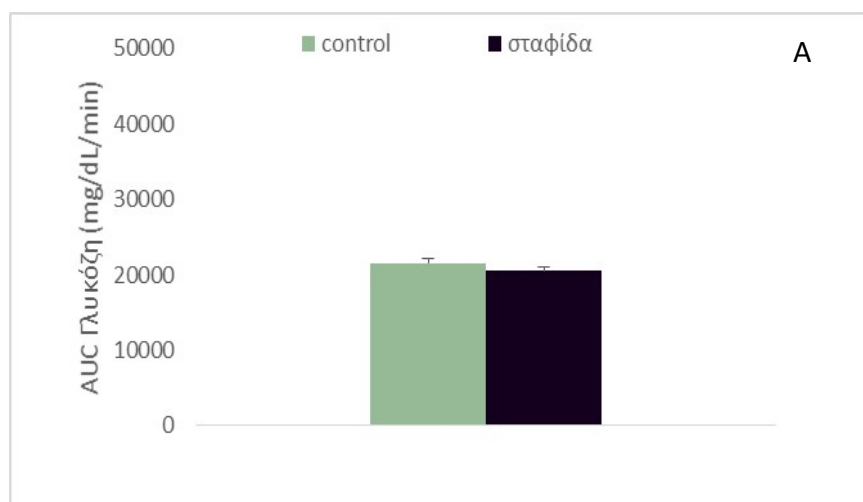
Τα επίπεδα της ινσουλίνης στον ορό, όπως απεικονίζονται στο Γράφημα 2, αυξήθηκαν σημαντικά την 1^η ώρα μετά από κάθε γεύμα ($p < 0,001$ και στα δύο γεύματα), φτάνοντας την τιμή $52,0 \pm 8,9$ $\mu\text{IU/mL}$ και $48,2 \pm 7,3$ $\mu\text{IU/mL}$ μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης αντίστοιχα. Από τη 2^η ώρα και μετά οι τιμές της ινσουλίνης στον ορό επέστρεψαν σε επίπεδα παρόμοια με τα αρχικά επίπεδα νηστείας. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο γευμάτων.

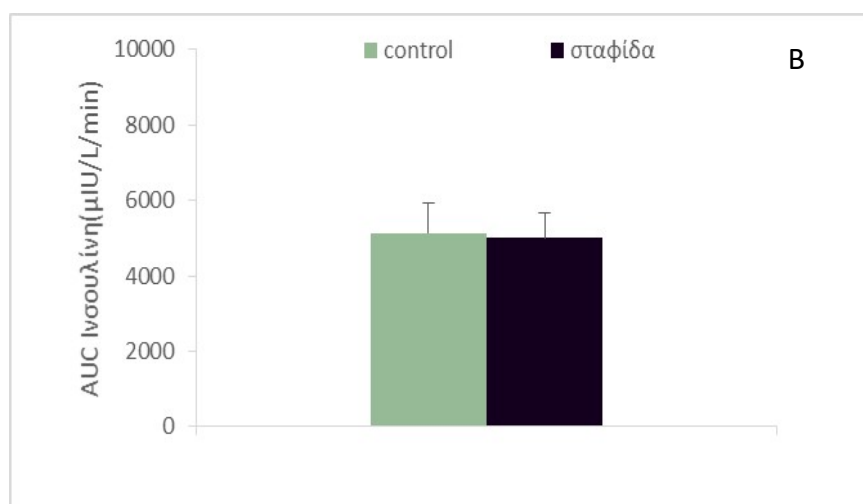


Γράφημα 2: Επίπεδα ινσουλίνης στον ορό (μIU/mL) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα. * Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με το χρόνο 0 h

Εμβαδόν κάτω από την καμπύλη για τη γλυκόζη και την ινσουλίνη (AUC)

Στη συνέχεια υπολογίστηκαν οι τιμές AUC για τη γλυκόζη πλάσματος και την ινσουλίνη ορού από την καμπύλη που αντιστοιχεί σε κάθε γεύμα. Όπως φαίνεται και στα Γραφήματα 3A και 3B που ακολουθούν, οι τιμές AUC των δύο δεικτών δεν διαφέρουν σημαντικά ($p > 0,05$) ανάμεσα στα δύο γεύματα της μελέτης.

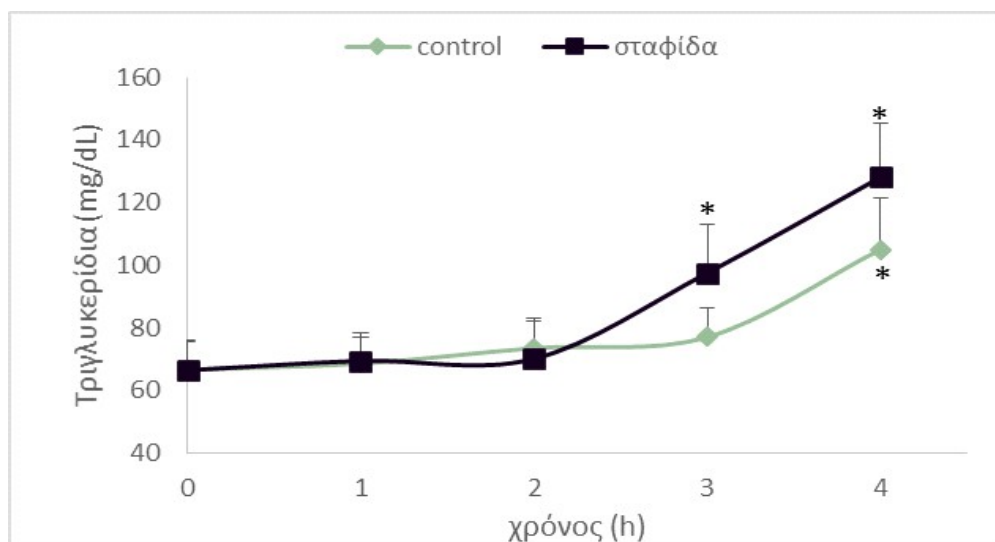




Γράφημα 3: (Α) AUC γλυκόζης πλάσματος (mg/dL/min) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα. **(Β)** AUC ινσουλίνης ορού (μIU/mL/min) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα

Τριγλυκερίδια

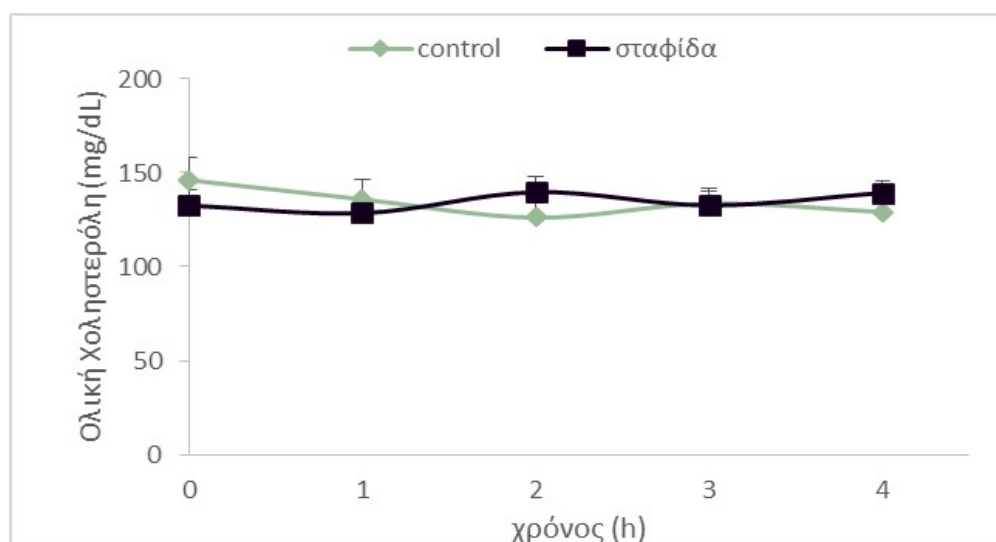
Τα τριγλυκερίδια του ορού παρουσιάζονται στο Γράφημα 4. Σημαντική αύξηση φάνηκε την 4^η ώρα μετά το γεύμα ελέγχου ($105,0 \pm 16,6$ mg/dL, $p=0,04$) σε αντίθεση μετά από το γεύμα παρέμβασης με την ΚΣ όπου τα τριγλυκερίδια του ορού αυξήθηκαν σημαντικά την 3^η και την 4^η ώρα μεταγευματικά, φτάνοντας τις τιμές $97,5 \pm 15,7$ mg/dL ($p=0,01$) και $128,1 \pm 17,3$ mg/dL ($p<0,001$), αντίστοιχα. Ωστόσο, δεν υπάρχει καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές των τριγλυκεριδίων μεταξύ των δύο γευμάτων. Επίσης, οι τελικές τιμές των μεταγευματικών τριγλυκεριδίων των εθελοντών, είτε μετά το γεύμα ελέγχου, είτε μετά το γεύμα παρέμβασης παραμένουν χαμηλότερες από το ανώτατο φυσιολογικό όριο τριγλυκεριδίων νηστείας για τα υγιή άτομα (<150 mg/dL).



Γράφημα 4: Επίπεδα τριγλυκεριδίων στον ορό (mg/dL) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα. * Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με το χρόνο 0 h

Ολική Χοληστερόλη

Εκτός από τα μεταγευματικά τριγλυκερίδια, προσδιορίστηκε και η ολική χοληστερόλη στον ορό των εθελοντών μετά την κατανάλωση των δύο γευμάτων. Όπως φαίνεται στο Γράφημα 5 που ακολουθεί, κανένα από τα δύο γεύματα δεν προκάλεσε σημαντική μεταβολή στα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης στον ορό μεταγευματικά, σε σχέση με την αρχική τιμή του δείκτη στο χρόνο 0 h. Επίσης, δεν παρατηρείται καμία σημαντική διαφορά στις μεταγευματικές τιμές ολικής χοληστερόλης μεταξύ των δύο γευμάτων της μελέτης.

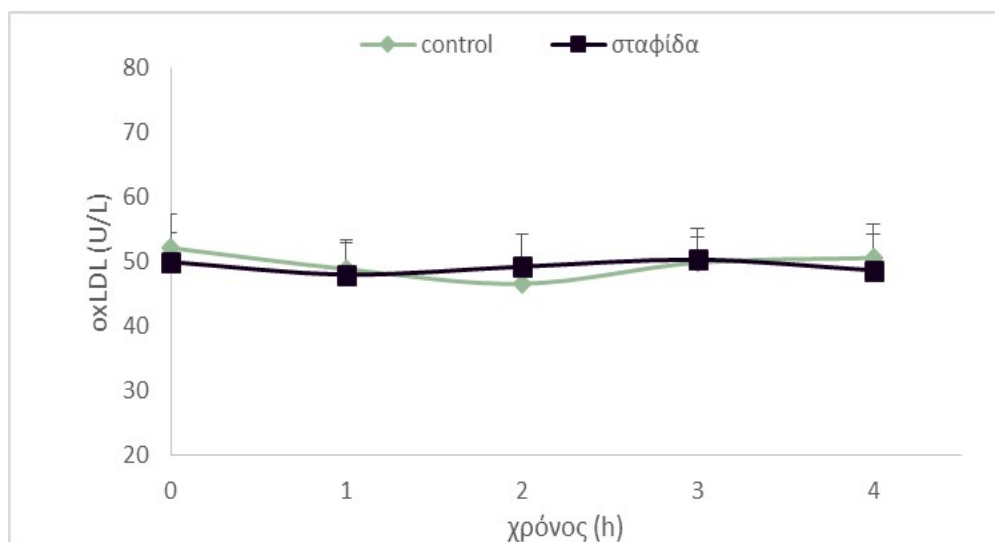


Γράφημα 5: Επίπεδα ολικής χοληστερόλης στον ορό (mg/dL) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα

3.2.2 Δείκτες οξειδωτικού στρες

Οξειδωμένη LDLΧοληστερόλη (oxLDL)

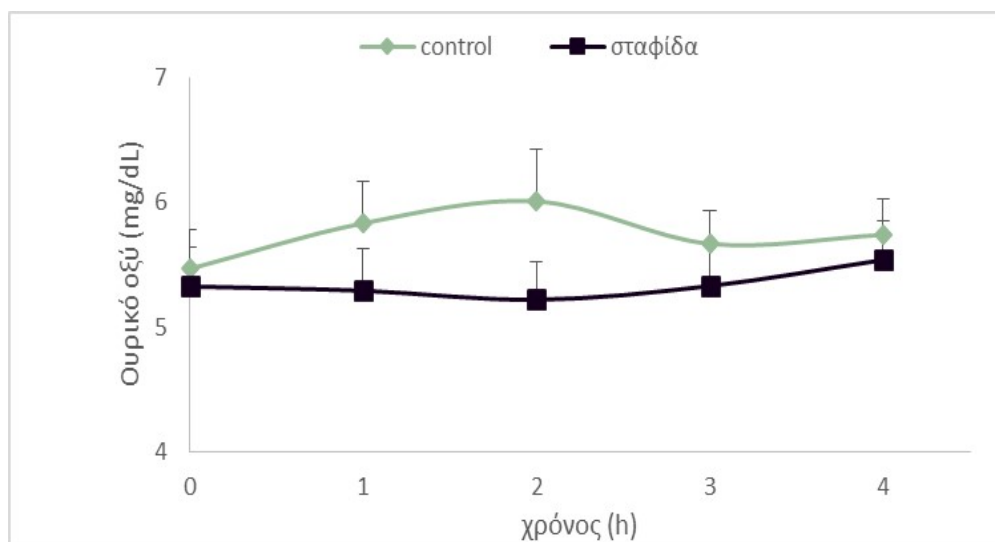
Στο Γράφημα 6 απεικονίζονται τα επίπεδα της οξειδωμένης λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (oxLDL), όπως προσδιορίστηκαν στα δείγματα ορού των εθελοντών. Όπως παρατηρείται, κανένα από τα δύο γεύματα της μελέτης δεν προκάλεσε σημαντικές μεταβολές στα μεταγευματικά επίπεδα της οξειδωμένης LDL του ορού σε συνάρτηση με το χρόνο. Επίσης, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στις τιμές της oxLDL μεταξύ των δύο γευμάτων, καμία χρονική στιγμή μέχρι και 4 h μετά την κατανάλωση των γευμάτων από τους εθελοντές.



Γράφημα 6: Επίπεδα οξειδωμένης LDL στον ορό (U/L) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα

Ουρικό οξύ

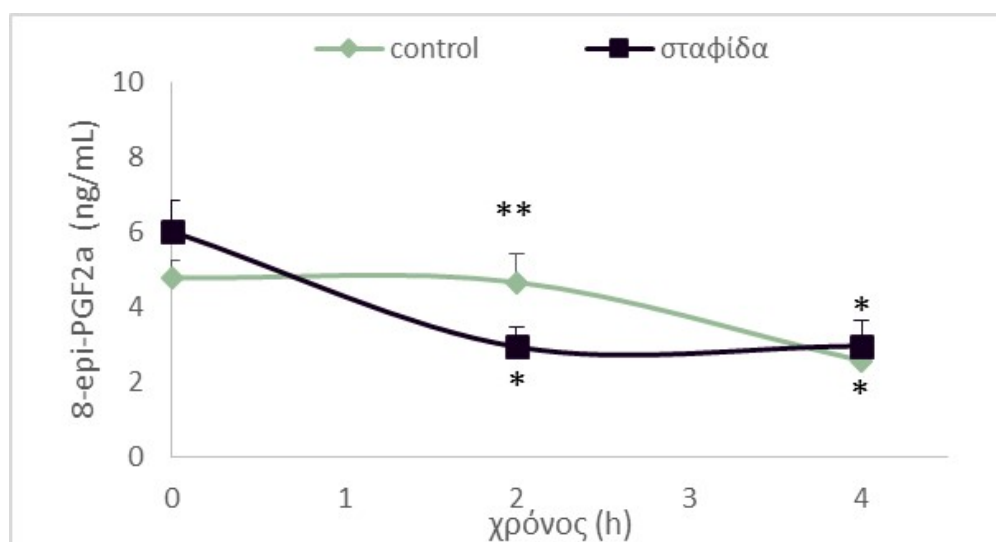
Στο Γράφημα 7 παρουσιάζονται τα επίπεδα ουρικού οξέος του ορού των εθελοντών μετά από κάθε γεύμα της μελέτης. Όπως φαίνεται, το γεύμα ελέγχου προκάλεσε αύξηση του ουρικού οξέος στον ορό την 1^η ώρα μεταγευματικά, από την αρχική τιμή $5,5 \pm 0,3$ mg/dL σε $5,8 \pm 0,3$ mg/dL (στο όριο της στατιστικής σημαντικότητας $p=0,055$). Όπως φαίνεται και από την καμπύλη του γραφήματος, από τη 2^η ώρα του γεύματος ελέγχου και μετά τα επίπεδα του ουρικού οξέος επανέρχονται σε επίπεδα παρόμοια με τα αρχικά. Αντίθετα, το γεύμα με την ΚΣ δεν αύξησε τα επίπεδα του ουρικού οξέος στον ορό. Μάλιστα, η τιμή του ουρικού οξέος στις 2 h μεταγευματικά ήταν χαμηλότερη μετά το γεύμα παρέμβασης ($5,2 \pm 0,3$ mg/dL) από την αντίστοιχη τιμή μετά το γεύμα ελέγχου ($6,0 \pm 0,4$ mg/dL), με διαφορά κοντά στο όριο της σημαντικότητας ($p=0,062$).



Γράφημα 7: Επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό (mg/dL) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα

Ισοπροστάνια στα ούρα (8-ισο-προσταγλανδίνη-F_{2α})

Στο Γράφημα 8, παρουσιάζονται τα επίπεδα της 8-ισο-προσταγλανδίνης-F_{2α} στα ούρα όπου μειώθηκαν σημαντικά την 4^η ώρα μετά το γεύμα ελέγχου, σε σχέση με την αρχική τους τιμή ($p=0,01$). Η παρέμβαση με την ΚΣ προκάλεσε σημαντική μείωση της 8-ισο-προσταγλανδίνης-F_{2α} στα ούρα την 2^η ώρα μετά το γεύμα ($p=0,01$) και η διαφορά σε σχέση με την αρχική τιμή του δείκτη παρέμεινε σημαντική και στην 4^η ώρα μεταγευματικά ($p=0,01$). Στατιστικά σημαντική με $p=0,004$, είναι η διαφορά που παρατηρείται μεταξύ των δύο γευμάτων στο χρόνο 2^ο, με το γεύμα παρέμβασης να έχει επιφέρει πολύ μεγαλύτερη μείωση της 8-ισο-προσταγλανδίνης-F_{2α} στα ούρα ($3,0 \pm 0,6$ ng/mL) από ότι το γεύμα ελέγχου ($4,7 \pm 0,8$ ng/mL).



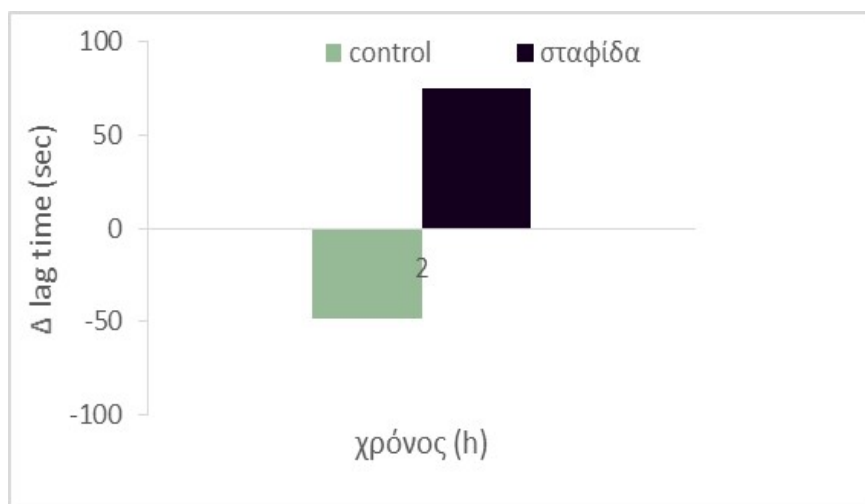
Γράφημα 8: Επίπεδα 8-ισο-προσταγλανδίνης-F2a στα ούρα (ng/mL) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα

* Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με το χρόνο 0 h

** Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο γευμάτων

Αντίστασης του ορού στην οξείδωση σε σχέση με το χρόνο

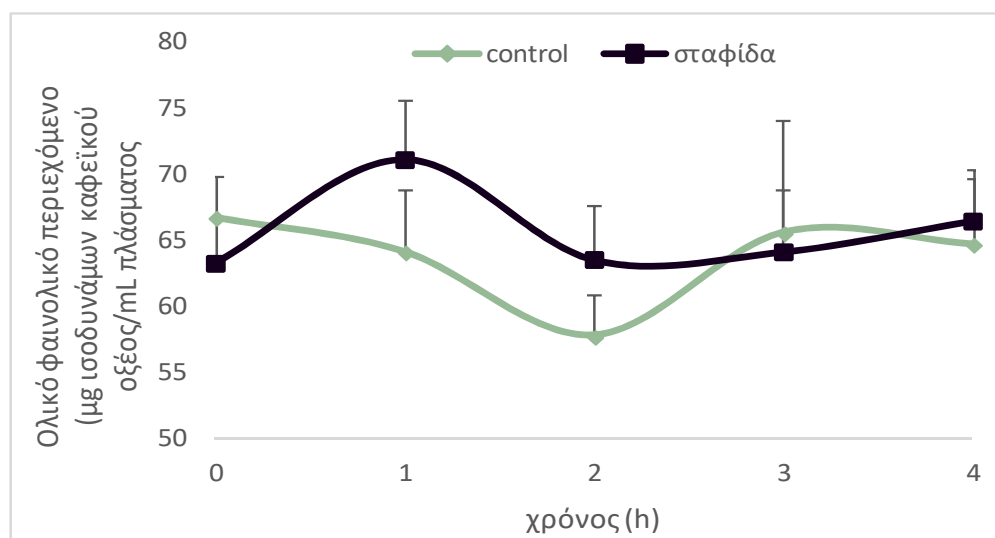
Στο Γράφημα 9, παρουσιάζεται η μεταβολή της αντίστασης του ορού στην οξείδωση την 2^η ώρα μετά την κατανάλωση κάθε γεύματος, σε σχέση με τα αρχικά επίπεδα, στο χρόνο 0. Η αντίσταση του ορού στην οξείδωση εκφράζεται με το χρόνο λανθάνουσας φάσης (lagtime) σε sec. Όπως φαίνεται, μετά το γεύμα παρέμβασης με την ΚΣ η αντίσταση ορού στην οξείδωση αυξήθηκε κατά 136 sec, ενώ μετά το γεύμα ελέγχου μειώθηκε κατά 56 sec, αλλά η διαφορά αυτή μεταξύ των δύο γευμάτων δεν ήταν στατιστικά σημαντική.



Γράφημα 9: Μεταβολή της αντίστασης του ορού στην οξείδωση σε σχέση με το χρόνο 0 h [Δ lagtime (sec)] 2 h μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα.

3.2.3 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο

Στο γράφημα 10, παρουσιάζεται η μεταβολή των επιπέδων των ολικών φαινολικών στο πλάσμα όπου κανένα από τα δύο γεύματα της μελέτης δεν προκάλεσε σημαντικές μεταβολές στα μεταγευματικά επίπεδα. Όμως, την 1^η και τη 2^η ώρα μεταγευματικά παρατηρείται ότι για το γεύμα παρέμβασης η συγκέντρωσή τους είναι εμφανώς μεγαλύτερη από ότι το γεύμα ελέγχου χωρίς όμως να εμφανίζει καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ενώ την 3^η και 4^η ώρα τα επίπεδα επιστρέφουν στα αρχικά.

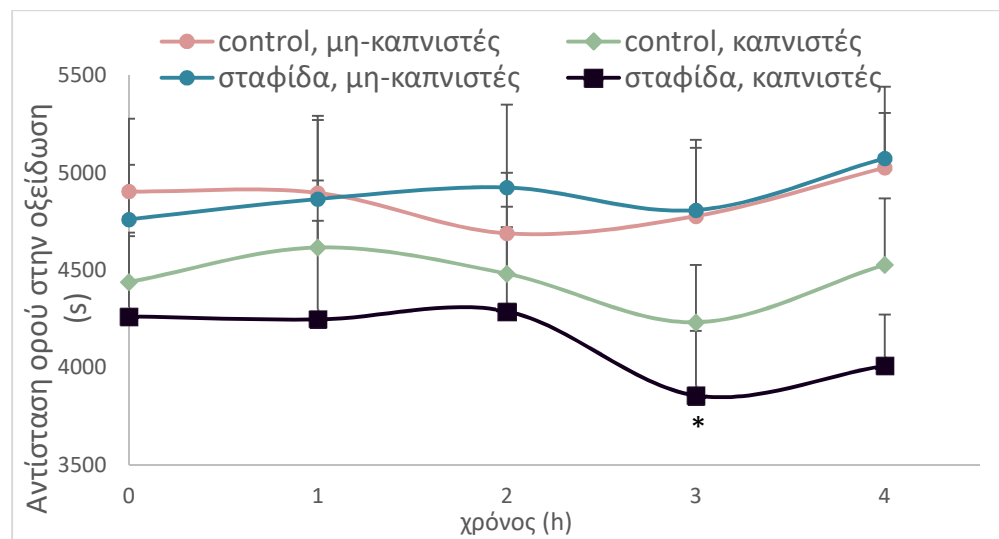


Γράφημα 10: Επίπεδα ολικού φαινολικού περιεχομένου στο πλάσμα (μg ισοδυνάμων καφεϊκού οξέος/mL πλάσματος) μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα

3.2.4 Ανάλυση οξειδωτικών δεικτών στους καπνιστές και μη καπνιστές

Αντίσταση του ορού στην οξείδωση σε σχέση με το χρόνο

Όπως φαίνεται στο παραπάνω γράφημα 11, στους μη καπνιστές ο χρόνος αντίστασης του ορού στην οξείδωση είναι μεγαλύτερος σε σχέση με τους καπνιστές.

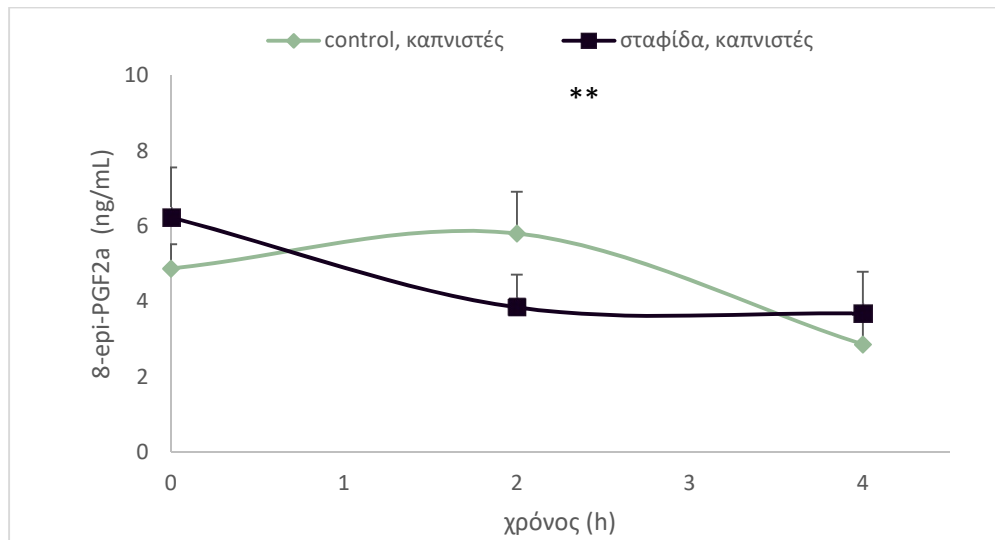


Γράφημα 11: Αντίσταση του ορού στην οξείδωση σε καπνιστές και μη καπνιστές μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα

* Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με το χρόνο 0 h

Ισοπροστανία (8-ισο-προσταγλανδίνη-F_{2α})

Μόνο στους καπνιστές παρατηρήθηκε αύξηση στα επίπεδα ισο-προσταγλανδίνης-F_{2α} στα ούρα την 2^η ώρα μετά το γεύμα ελέγχου ($5,8 \pm 1,1$ ng/mL) με σημαντική στατιστική διαφορά, $p=0,04$, από την αντίστοιχη τιμή μετά το γεύμα παρέμβασης ($3,8 \pm 0,9$ ng/mL)

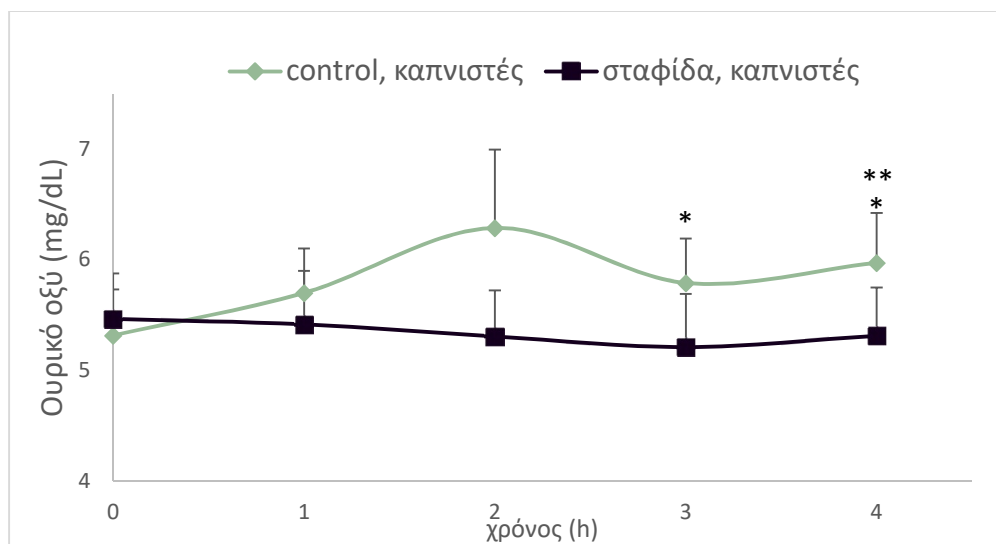


Γράφημα 12: Επίπεδα 8-ισο-προσταγλανδίνης-F_{2α} στα ούρα (ng/mL) στους καπνιστές μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα

****** Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο γευμάτων

Ουρικό οξύ

Επίσης, μόνο στους καπνιστές φάνηκε σημαντική αύξηση του ουρικού οξέος μεταγευματικά κατά το γεύμα ελέγχου, όπου την 3^η και την 4^η ώρα οι τιμές του ήταν στατιστικά σημαντικές σε σχέση με τα επίπεδα νηστείας ενώ την 4^η ώρα ανάμεσα στο δύο γεύματα η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική με $p=0,05$.



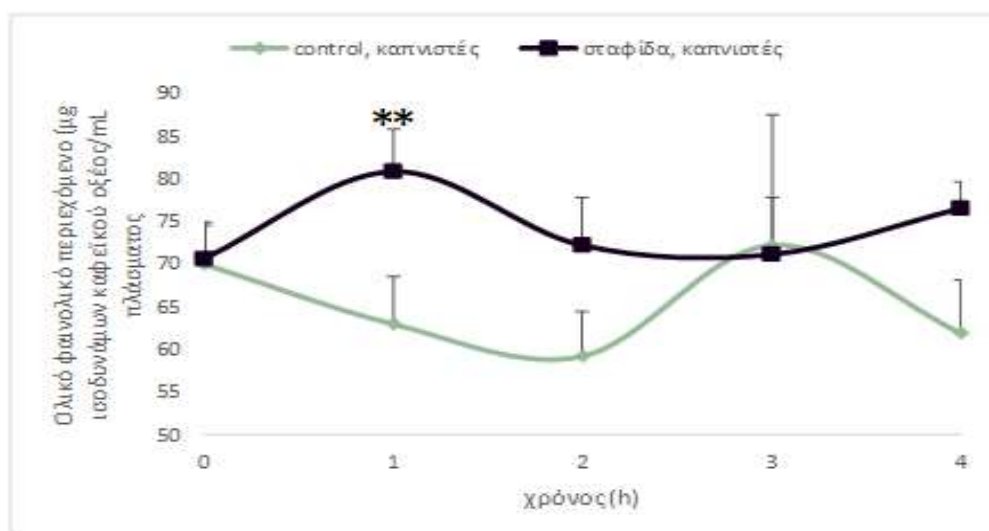
Γράφημα 13: Επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό (mg/dL) στους καπνιστές μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα

* Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με το χρόνο 0 h

** Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο γευμάτων

3.2.5 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο

Τα επίπεδα του ολικού φαινολικού περιεχομένου στο πλάσμα αυξήθηκαν στατιστικά σημαντικά την 1^η ώρα ύστερα από την κατανάλωση του γεύματος που περιείχε σταφίδα και η διαφορά μεταξύ των δύο γευμάτων ήταν στατιστικά σημαντική στους καπνιστές που συμμετείχαν στη μελέτη.



Γράφημα 14: Επίπεδα ολικού φαινολικού περιεχομένου στο πλάσμα (μg ισοδυνάμων καφεϊκού οξέος/mL πλάσματος) στους καπνιστές μετά το γεύμα ελέγχου και το γεύμα παρέμβασης με Κορινθιακή σταφίδα

** Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο γευμάτων

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα οφέλη των σταφυλιών και του κρασιού στην υγεία έχουν μελετηθεί και δημοσιευθεί εκτενώς αλλά οι σταφίδες έχουν λάβει σχετικά μικρή προσοχή. Συνοπτικά, τα περισσότερα PPTs που περιέχονται στην ΚΣ είναι οι φλαβονόλες κερκετίνη και καμπφερόλη και τα φαινολικά οξέα καφταρικό και κουταρικό οξύ. Με βάση το υγρό βάρος, ορισμένα PPTs, όπως το πρωτοκατεχουϊκό και τα οξειδωμένα κινναμωμικά οξέα, είναι παρόντα σε υψηλότερα επίπεδα σε σύγκριση με τα σταφύλια. Σε μελέτες ανθρώπινης παρέμβασης, οι σταφίδες μπορούν να μειώσουν τη μεταγευματική απόκριση στην ινσουλίνη, ρυθμίζουν την απορρόφηση των σακχάρων (χαμηλός γλυκαιμικός δείκτης), επηρεάζουν ορισμένους οξειδωτικούς βιοδείκτες, προστατεύουν από καρδιαγγειακές παθήσεις και μπορεί να προάγουν τον κορεσμό μέσω της λεπτίνης και της γκρελίνης. Ωστόσο, μόνο περιορισμένος αριθμός μελετών έχει διεξαχθεί, και δεν είναι σαφές σε ποιο βαθμό η συνιστώσα των PPTs είναι υπεύθυνη για οποιεσδήποτε συνέπειες. Απαιτείται περισσότερη έρευνα για να καθοριστούν η βιοδιαθεσιμότητα, οι επιπτώσεις στην υγεία των PPTs στις σταφίδες, τα αποτελέσματα της σταφίδας για τους βιοδείκτες υγείας *in vivo* σε ανθρώπους και πως τα αποτελέσματα αυτά συγκρίνονται με τα σταφύλια και το κρασί [7]. Επίσης, η ΚΣ αποτελεί ένα τρόφιμο με πληθώρα μικροσυστατικών και κύριο υδατάνθρακα τη φρουκτόζη.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα της μελέτης, και τα 2 γεύματα αύξησαν σημαντικά τα επίπεδα της γλυκόζης στην 1^η ώρα μετά από την κατανάλωση αυτών. Στη συνέχεια, τη 2^η ώρα μετά το κάθε γεύμα τα επίπεδα της γλυκόζης μειώθηκαν σημαντικά σε σχέση με τα επίπεδα της γλυκόζης νηστείας και παρέμειναν χαμηλά μέχρι και την 3^η ώρα μεταγευματικά ενώ την 4^η ώρα τα επίπεδα της γλυκόζης επέστρεψαν στα αρχικά επίπεδα νηστείας. Σε συνάρτηση με την αύξηση γλυκόζης, την 1^η ώρα αυξήθηκαν τα επίπεδα της ινσουλίνης ενώ από την 2^η ώρα και μετά η συγκέντρωση της ινσουλίνης επέστρεψε στα αρχικά επίπεδα φτάνοντας τα αρχικά επίπεδα νηστείας και στα δύο γεύματα. Μεταξύ των δύο γευμάτων δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στην απόκριση της γλυκόζης και της ινσουλίνης αλλά παρατηρήθηκε μία μικρότερη απόκριση και των δύο δεικτών από το γεύμα παρέμβασης. Σε αντίθεση με την παρούσα εργασία, στη μελέτη του Kanellos et al (2013) φάνηκε σημαντική μείωση της γλυκόζης και της ινσουλίνης στο σύνολο του δείγματος (υγιείς και ασθενείς με ΣΔ2) [32]. Επίσης, λόγω της απορρόφησης και του μεταβολισμού της φρουκτόζης η ΚΣ έχει χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη [43, 44], καθώς από τα απλά σάκχαρα η φρουκτόζη είναι αυτό με τον μικρότερο γλυκαιμικό δείκτη [45].

Σχετικά με τα λιπίδια του αίματος, τα τριγλυκερίδια αυξήθηκαν την 4^η ώρα για το γεύμα ελέγχου ενώ στο γεύμα παρέμβασης αυξήθηκαν την 3^η και την 4^η ώρα μεταγευματικά αλλά και για τα δύο γεύματα οι τιμές ήταν στατιστικά σημαντικές σε σχέση με τα επίπεδα νηστείας. Δεν υπήρχε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές των τριγλυκεριδίων μεταξύ των γευμάτων ελέγχου και παρέμβασης. Επιπρόσθετα, τα επίπεδα της χοληστερόλης επηρεάστηκαν ελάχιστα ενώ δεν υπήρχε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα γεύματα. Σε μία έρευνα φάνηκε ότι το «μέγεθος» του μεταγευματικού οξειδωτικού στρες εξαρτάται κυρίως από την ποσότητα κορεσμένου λίπους του καταναλισκόμενου γεύματος αλλά και από την ηλικία των εθελοντών [46]. Επίσης, η κινητική των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα έχει μετρηθεί σε αρουραίους που τράφηκαν με δίαιτα υψηλή σε σακχαρόζη, γλυκόζη ή φρουκτόζη. Παρατηρήθηκε ότι σε σύγκριση με τη γλυκόζη, η φρουκτόζη και η σακχαρόζη αύξησε την παραγωγή τριγλυκεριδίων και μείωσε την κάθαρσή τους. Η φρουκτόζη αποτελεί λιπογόνο μόριο, παρέχοντας στο ήπαρ μεγάλες ποσότητες φωσφορικής τριόζης ως πρόδρομη ένωση για τη σύνθεση των λιπαρών οξέων. Σε διάφορες μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι η ηπατική σύνθεση de novo διεγείρεται μετά από υψηλή κατανάλωση φρουκτόζης, που συμβάλλει στη σύνθεση γλυκερίνης και λιπαρών-άκυλο τμήματα VLDL-τριγλυκεριδίων ενώ επιπλέον η φρουκτόζη μπορεί να αυξήσει την έκφραση των βασικών λιπογόνων ενζύμων στο ήπαρ. Σε υπέρβαρες γυναίκες, τα μεταγευματικά επίπεδα των τριγλυκεριδίων ενισχύθηκαν από την κατανάλωση αναψυκτικών με φρουκτόζη σε μια περίοδο 10 εβδομάδων, υποδεικνύοντας ότι η φρουκτόζη μειώνει την κάθαρση των τριγλυκεριδίων [47]. Αυτό υποδηλώνει ότι η διαταραγμένη κάθαρση πλούσιων σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεϊνών συμβάλλει στην υπερλιπιδαιμία που επάγεται από δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη και σάκχαρα [44]. Μία μετα-ανάλυση, συσσωρεύσε το σύνολο των αποτελεσμάτων όλων των δημοσιευμένων μελετών που έχουν αξιολογήσει τις επιδράσεις της φρουκτόζης (εκτός από μελέτες που έγιναν με High Fructose Corn Syrup) και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι μία πρόσληψη 50 g/ημέρα (δηλαδή κοντά το μέσο όρο της ημερήσιας πρόσληψης στις Ηνωμένες Πολιτείες) σχετίστηκε με αυξημένη μεταγευματική διαταραχή των τριγλυκεριδίων ενώ η πρόσληψη 100 g/ημέρα σχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων νηστείας [48].

Αναφορικά με τους δείκτες οξειδωτικού στρες, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική αλλαγή στα επίπεδα της oxLDL ενώ και στα 2 γεύματα δεν υπήρξαν σημαντικές μεταβολές της. Μία μελέτη κατά την οποία 6 άνδρες κατανάλωσαν στην πρώτη επίσκεψη ένα γεύμα

με κρέας, τηγανιτές πατάτες και 400 mL κρασί και στη δεύτερη επίσκεψη αντί του κρασιού ένα ισοθερμιδικό υδροαλκοολικό διάλυμα (αιθανόλη), κατά την 3^η ώρα φάνηκε ότι στο γεύμα με το ισοθερμιδικό διάλυμα η LDL ήταν πιο ευαίσθητη στην οξείδωση σε σχέση με το γεύμα του κρασιού [49]. Η οξειδωμένη LDL (oxLDL) είναι μία προαρτηριογόνος λιποπρωτεΐνη, που συσσωρεύεται στο αγγειακό τοίχωμα και συμβάλλει στην παθογένεια της αγγειακής δυσλειτουργίας με την ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης. Ενισχυμένα επίπεδα ορού της oxLDL καθώς και αντισώματα κατά των επιτόπων της, είναι προγνωστικά κριτήρια για την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τη στεφανιαία νόσο. Ενώ το ενισχυμένο οξειδωτικό στρες είναι ένας παράγοντας ενεργοποίησης σχηματισμού oxLDL, η ίδια oxLDL έχει ταυτοποιηθεί ως ένα ισχυρό ερέθισμα για το σχηματισμό ρίζας οξυγόνου, προκαλώντας ένα φαύλο κύκλο. Επιπροσθέτως, μέσα από μια ποικιλία μηχανισμών, η oxLDL συμβάλλει σημαντικά στη δυσλειτουργία και την αναδιαμόρφωση των αγγείων [50] ενώ διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αθηρογένεση προωθώντας ένα φλεγμονώδες περιβάλλον και την εναπόθεση λιπιδίων στο αρτηριακό τοίχωμα [51].

Τα επίπεδα του ουρικού οξέος την 1^η ώρα μεταγευματικά, για το γεύμα ελέγχου, αυξήθηκαν σχεδόν στο όριο της στατιστικής σημαντικότητας ενώ από την 2^η ώρα και μετά η συγκέντρωση του ουρικού οξέος επανέρχεται σε επίπεδα παρόμοια με αυτά της νηστείας. Για το γεύμα παρέμβασης, δεν υπήρχε αύξηση των επιπέδων του ουρικού οξέος στον ορό και μάλιστα στη 2^η ώρα η συγκέντρωσή του ήταν χαμηλότερη από το γεύμα ελέγχου, με διαφορά κοντά στα όρια σημαντικότητας. Το ουρικό οξύ παράγεται από μεταβολική μετατροπή είτε διαιτητικών ή ενδογενών πουρινών, κυρίως στο ήπαρ, στους μυς και το έντερο. Η πρόδρομη ένωση του ουρικού οξέος είναι η ξανθίνη, η οποία αποικοδομείται σε ουρικό οξύ με την οξειδοαναγωγή της ξανθίνης. Η οξειδοαναγωγή της ξανθίνης μπορεί να απαντηθεί σε δύο ενδομετατρέψιμες μορφές, την αφυδρογονάση της ξανθίνης ή την οξειδάση της ξανθίνης. Η οξειδάση της ξανθίνης χρησιμοποιεί μοριακό οξυγόνο ως δέκτη ηλεκτρονίων και παράγει ανιόντα υπεροξειδίου και άλλα αντιδραστικά είδη οξυγόνου ως υποπροϊόντα κατά τη διαδικασία της αποικοδόμησης του ουρικού οξέος ενώ η αφυδρογονάση της ξανθίνης παράγει την ανοιγμένη μορφή του νικοτινάμιδο-αδένινω-δινουκλεοτιδίου. Τόσο οι εξωγενείς (παρούσα σε λιπαρά κρέατα, εντόσθια, και θαλασσινά) όσο και οι ενδογενείς πουρίνες αποτελούν σημαντικές πηγές του ουρικού οξέος στον άνθρωπο. Περίπου τα 2/3 του συνόλου του ουρικού οξέος του σώματος παράγονται ενδογενώς ενώ το υπόλοιπο ένα τρίτο προέρχεται από διαιτητικές πουρίνες [52]. Επίσης η περιεχόμενη φρουκτόζη της ΚΣ θα

μπορούσε να αυξήσει τα επίπεδα ουρικού οξέως στο αίμα. Στο ήπαρ, η φρουκτόζη φωσφορυλιώνεται σε 1-φώσφο-φρουκτόζη με τη δράση της φρουκτοκινάσης (ketohexokinase). Χαμηλές συγκεντρώσεις φρουκτόζης προκαλούν μέτρια αύξηση σε 1-φώσφο-φρουκτόζη με αποτέλεσμα να διασπαστεί η ριθμυστική πρωτεΐνη από την γλυκοκινάση και να οδηγήσει στη διέγερση του μεταβολισμού της γλυκόζης. Αύξηση της συγκέντρωσης της φρουκτόζης, αυξάνει τη συγκέντρωση της φωσφορυλιωμένης φρουκτόζης διότι η δραστηριότητα της κετοεξοκινάσης είναι μεγαλύτερη από αυτή της γλυκοκινάσης. Κατά τη διάρκεια της μετατροπής της ADP σε ATP με τη διαδικασία της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, η περιεκτικότητα των κυττάρων του ανόργανου φωσφορικού (Pi) μειώνεται με αποτέλεσμα την εξάντληση παραγωγής ATP και της υποβάθμισης του ADP σε AMP και περεταίρω σε ουρικό οξύ. Ωστόσο, οι αλλαγές στη συγκέντρωση στο αίμα του ουρικού οξέος στον άνθρωπο μετά την κατανάλωση φρουκτόζης, δεν είναι ένας ευαίσθητος δείκτης υπολογισμού της παραγωγής του ηπατικού ουρικού οξέος, διότι ο βασικός ρυθμός της παραγωγής ουρικού οξέος στο ανθρώπινο ήπαρ (3-5 nmol/min ανά g ήπατος) είναι χαμηλότερος σε σχέση με της συνολικής συγκέντρωσης του πλάσματος (1-5 mmol). Ως εκ τούτου, μια αύξηση 2 έως 3 φορές σε παραγωγή ουρικού οξέος, μπορεί να μην είναι ανιχνεύσιμη στην περιφερική κυκλοφορία [53]. Στην παρούσα μελέτη, η αύξηση του ουρικού οξέως κατά το γεύμα ελέγχου μπορεί να αποτέλεσε τη φυσική άμυνα του οργανισμού στο προκαλούμενο οξειδωτικό στρες ενώ κατά το γεύμα παρέμβασης τα επίπεδα του ουρικού οξέος δε μεταβλήθηκαν πιθανόν λόγω των πλούσιων σε αντιοξειδωτικά της ίδιας της σταφίδας και της αντίστασης αυτών στο προκαλούμενο στρες. Σε 2 μεταγευματικά πρωτόκολλα οι εθελοντές κατανάλωσαν ένα γεύμα υψηλό σε λίπος. Στο 1^ο, παρατηρήθηκε, συμμετείχαν υγιείς υπέρβαροι που κατανάλωσαν γεύμα με 82 γραμμάρια λίπους, αύξηση της συγκέντρωσης του ουρικού οξέος στα 30 λεπτά φτάνοντας στο μέγιστο την 2^η ώρα μεταγευματικά καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι το ουρικό οξύ είναι ένα ισχυρό ενδογενές αντιοξειδωτικό [54]. Στο 2^ο συμμετείχαν υγιείς νορμοβαρείς που κατανάλωσαν γεύμα 60 γραμμαρίων λίπους παρατηρήθηκε την 3^η ώρα το ουρικό οξύ είχε επιστρέψει ήδη σχεδόν στα αρχικά επίπεδα νηστείας [55].

Ένας άλλος οξειδωτικός δείκτης που υπολογίστηκε είναι η 8-ισο-προσταγλανδίνη-F_{2α} στα ούρα των εθελοντών. Στο γεύμα ελέγχου, η συγκέντρωση των ισοπροστανίων μειώθηκε σημαντικά την 4^η ώρα μεταγευματικά σε σχέση με τα επίπεδα νηστείας. Στο γεύμα παρέμβασης με ΚΣ, προκλήθηκε σημαντική μείωση των ισοπροστανίων τη 2^η ώρα μεταγευματικά σε σχέση με το γεύμα

ελέγχου ενώ παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα γεύματα και για το γεύμα παρέμβασης η διαφορά σε σχέση με την αρχική τιμή του δείκτη παρέμεινε σημαντική έως και την 4^η ώρα μεταγευματικά. Τα ισοπροστάνια (IsoP) είναι ισομερή προσταγλανδινών που παράγονται *in vivo* από πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (κυρίως αραχιδονικό οξύ) από μηχανισμό κατάλυσης μίας ελεύθερης ρίζας, πράγμα που σημαίνει ότι δεν απαιτούνται κυκλοοξυγονάσες για το σχηματισμό τους (COX-1 και COX-2). Η 1^η κατηγορία IsoP, που ανακαλύφθηκε το 1990, ήταν F₂-ισοπροστάνια. Από τότε, πολλές άλλες κατηγορίες έχουν περιγραφεί: D₂-ISOP, E₂-ISOP, A₂-ISOP και J₂-ISOP και ονομάζονται σύμφωνα με τον τύπο του κυκλοπεντανίου του δακτυλίου. Υπάρχουν ορισμένες διαφορές μεταξύ των προσταγλανδινών (PG) και των ισοπροστανίων. Οι προσταγλανδίνες σχηματίζονται από ελεύθερο αραχιδονικό οξύ, ενώ τα ισοπροστάνια σχηματίζονται επί τόπου σε μεμβράνες λιπιδίων από πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, και στη συνέχεια, απελευθερώνονται από φωσφολιπάσες. Έχει επίσης αναφερθεί ότι τα ισοπροστάνια μπορούν να σχηματιστούν όχι μόνο από το αραχιδονικό, αλλά και από δοκοσαεξενοϊκό και εικοσιπεντενοϊκό οξύ [56]. Μία ανασκοπική μελέτη σχετικά με τα ισοπροστάνια ως δείκτη οξειδωτικού στρες, συσχετίζουν την αύξησή τους σε εθελοντές παχύσαρκους ή που πάσχουν από ΣΔ, νόσο Alzheimer, οικογενή υπερχοληστερολαιμία, σύνδρομο Down σε σχέση με υγιείς εθελοντές αλλά και σε παιδιά με άσθμα, ενώ το μεγαλύτερο μέρος των ερευνών δεν έδειξαν συσχέτιση ανάμεσα στην αύξηση των ισοπροστανίων με το φύλο ή την ηλικία. Θετική συσχέτιση έχει φανεί στην αύξηση των επιπέδων των ισοπροστανίων σε καπνιστές σε σχέση με μη καπνιστές. Επίσης, εκτός από την μέθοδο ELISA, ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ισοπροστανίων μπορεί να γίνει και με τη μέθοδο GC-MS η οποία χαρακτηρίζεται από ελαφρώς μεγαλύτερη ευαισθησία και εξειδίκευση [38]. Παρεμβατικές μελέτες έχουν δείξει αρνητική συσχέτιση στην κατανάλωση φρούτων και λαχανικών στην αύξηση της συγκέντρωσης των ισοπροστανίων [57, 58].

Η αύξηση του χρόνου αντίστασης του ορού στην οξείδωση δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Παρ' όλα αυτά, υπήρχε μία τάση αύξησης του χρόνου αντίστασης του ορού στην οξείδωση τη 2^η ώρα μεταγευματικά κατά το γεύμα παρέμβασης όμως η διαφορά σε σχέση με το γεύμα ελέγχου δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Στην παρέμβαση με ΚΣ σε ασθενείς με ΣΔ2, οι Kanellou et al συσχέτισαν την ΚΣ με την αντίσταση του ορού στην οξείδωση καθώς την 1^η ώρα μεταγευματικά αυξήθηκε η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων στο πλάσμα ενώ στον ίδιο χρόνο αυξήθηκε η αντίσταση του ορού στην οξείδωση [31].

Τέλος, το κάπνισμα αποτελεί αιτία αύξησης του οξειδωτικού στρες και μπορεί να προκαλέσει μείζονα προβλήματα πέρα από τις οξειδωτικές βλάβες στον οργανισμό [59, 60]. Ξεχωριστή στατιστική ανάλυση έγινε στο δείγμα των καπνιστών και των μη καπνιστών στη μελέτη αυτή. Από αυτήν προέκυψε ότι οι μη καπνιστές εμφάνισαν μεγαλύτερες αρχικές τιμές στο χρόνο αντίστασης του ορού στην οξείδωση από ότι οι καπνιστές. Στους καπνιστές, τα ισοπροσπάνια ήταν αυξημένα στο γεύμα ελέγχου ενώ τέλος τα επίπεδα του ουρικού οξέος ήταν αυξημένα την 3^η και 4^η ώρα μεταγευματικά κατά το γεύμα ελέγχου. Έτσι, το κάπνισμα είναι από μόνος του είναι ένας παράγοντας που μπορεί να αυξήσει το οξειδωτικό στρες στον οργανισμό και να επηρεάζει όχι μόνο οξειδωτικούς δείκτες αλλά και βιοχημικούς [38, 61, 62].

Τελικά, από το παρόν μεταγευματικό πρωτόκολλο προκλήθηκε αύξηση των επιπέδων της γλυκόζης και ινσουλίνης σε φυσιολογικά επίπεδα, μία ήπια τριγλυκεριδαίμια και αύξηση του ουρικού οξέος πιθανόν ως αποτέλεσμα της άμυνας του οργανισμού στο οξειδωτικό στρες. Παρ' όλα αυτά, συγκρίνοντας το γεύμα ελέγχου με το γεύμα που περιείχε ΚΣ, δεν παρατηρήθηκαν άμεσες προστατευτικές δράσεις της ΚΣ στο οξειδωτικό στρες. Περαιτέρω μελέτη με επιπρόσθετους δείκτες και μεθόδους μέτρησης αυτών απαιτείται για τη διερεύνηση των προστατευτικών επιδράσεων της ΚΣ στο οξειδωτικό στρες. Δε πρέπει όμως να παραληφθεί ότι το δείγμα αποτελείτο από υγιείς άνδρες ελεύθερο ιατρικού ιστορικού ηλικίας 28 ± 2 . Από την βιβλιογραφία φαίνεται ότι η ηλικία, το περιβάλλον και η διαίτα μπορεί να αποτελέσει παράγοντας αύξησης των δεικτών του οξειδωτικού στρες [63, 64]. Παθογόνες καταστάσεις, όπως για παράδειγμα ο ΣΔ2 [36, 65] αλλά όχι μόνο μπορούν επίσης να ενισχύσουν την οξειδωτική κατάσταση του οργανισμού.

Το οξειδωτικό στρες αποτελεί ένα πολυπαραγοντικό φαινόμενο το οποίο από μόνο του κάνει τον σχεδιασμό της μελέτης αρκετά δύσκολο. Περιοριστικοί παράγοντες αυτής της μελέτης θα μπορούσαν να θεωρηθούν το μικρό δείγμα της μελέτης αν και ο αριθμός του δείγματος από την βιβλιογραφία φαίνεται ικανοποιητικός, η έλλειψη «wash out period», το γεύμα των εθελοντών θα μπορούσε να προσαρμοστεί ανάλογα με τις ενεργειακές ανάγκες των ασθενών, ίσως το λιπαρό γεύμα που προκάλεσε το μεταγευματικό στρες να ήταν ανεκτό από τους εθελοντές και ίσως προσθήκη ελαφρώς παραπάνω γραμμαρίων λίπους πιθανόν να προκαλούσε μεγαλύτερο μεταγευματικό στρες ενώ θα ήταν καλό το δείγμα να απαρτιζόταν από μη καπνιστές για την αποφυγή συγχυτικών παραγόντων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Wu, X., et al., *Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States*. J Agric Food Chem, 2004. **52**(12): p. 4026-37.
2. Rababah, T.M., et al., *Evaluation of the nutraceutical, physiochemical and sensory properties of raisin jam*. J Food Sci, 2012. **77**(6): p. C609-13.
3. Marquez, A., et al., *Formation of vitisins and anthocyanin-flavanol adducts during red grape drying*. J Agric Food Chem, 2012. **60**(27): p. 6866-74.
4. Kamiloglu, S., et al., *A Review on the Effect of Drying on Antioxidant Potential of Fruits and Vegetables*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2016. **56 Suppl 1**: p. S110-29.
5. Zhao, B. and C.A. Hall, 3rd, *Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents*. Food Chem, 2008. **108**(2): p. 511-8.
6. Kelebek, H., et al., *Comparative evaluation of the phenolic content and antioxidant capacity of sun-dried raisins*. J Sci Food Agric, 2013. **93**(12): p. 2963-72.
7. Williamson, G. and A. Carughi, *Polyphenol content and health benefits of raisins*. Nutr Res, 2010. **30**(8): p. 511-9.
8. Karadeniz, F., R.W. Durst, and R.E. Wrolstad, *Polyphenolic composition of raisins*. J Agric Food Chem, 2000. **48**(11): p. 5343-50.
9. Oyeboade, O., et al., *Fruit and vegetable consumption and all-cause, cancer and CVD mortality: analysis of Health Survey for England data*. J Epidemiol Community Health, 2014. **68**(9): p. 856-62.
10. Anderson, J.W., et al., *Raisins compared with other snack effects on glycemia and blood pressure: a randomized, controlled trial*. Postgrad Med, 2014. **126**(1): p. 37-43.
11. Anderson, J.W. and A.R. Waters, *Raisin consumption by humans: effects on glycemia and insulinemia and cardiovascular risk factors*. J Food Sci, 2013. **78 Suppl 1**: p. A11-7.
12. Knekt, P., et al., *Flavonoid intake and risk of chronic diseases*. Am J Clin Nutr, 2002. **76**(3): p. 560-8.

13. Song, Y., et al., *Associations of dietary flavonoids with risk of type 2 diabetes, and markers of insulin resistance and systemic inflammation in women: a prospective study and cross-sectional analysis*. J Am Coll Nutr, 2005. **24**(5): p. 376-84.
14. Nettleton, J.A., et al., *Dietary flavonoids and flavonoid-rich foods are not associated with risk of type 2 diabetes in postmenopausal women*. J Nutr, 2006. **136**(12): p. 3039-45.
15. Jenkins, D.J., et al., *Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange*. Am J Clin Nutr, 1981. **34**(3): p. 362-6.
16. Oettle, G.J., P.M. Emmett, and K.W. Heaton, *Glucose and insulin responses to manufactured and whole-food snacks*. Am J Clin Nutr, 1987. **45**(1): p. 86-91.
17. Patel, B.P., et al., *An after-school snack of raisins lowers cumulative food intake in young children*. J Food Sci, 2013. **78 Suppl 1**: p. A5-A10.
18. Utreja, A., et al., *The effect of raisin-containing cereals on the pH of dental plaque in young children*. Pediatr Dent, 2009. **31**(7): p. 498-503.
19. Sadler, M.J., *Dried fruit and dental health*. Int J Food Sci Nutr, 2016. **67**(8): p. 944-59.
20. Konic-Ristic, A., et al., *Acute effects of black currant consumption on salivary flow rate and secretion rate of salivary immunoglobulin a in healthy smokers*. J Med Food, 2015. **18**(4): p. 483-8.
21. Kundu, J.K. and K.S. Chun, *The promise of dried fruits in cancer chemoprevention*. Asian Pac J Cancer Prev, 2014. **15**(8): p. 3343-52.
22. Sacco, S.M., M.N. Horcajada, and E. Offord, *Phytonutrients for bone health during ageing*. Br J Clin Pharmacol, 2013. **75**(3): p. 697-707.
23. Rankin, J.W., et al., *Effect of raisin consumption on oxidative stress and inflammation in obesity*. Diabetes Obes Metab, 2008. **10**(11): p. 1086-96.
24. Apostolou, A., et al., *Assessment of polyphenolic content, antioxidant activity, protection against ROS-induced DNA damage and anticancer activity of Vitis vinifera stem extracts*. Food Chem Toxicol, 2013. **61**: p. 60-8.

25. Esposito, D., et al., *Black Currant Anthocyanins Attenuate Weight Gain and Improve Glucose Metabolism in Diet-Induced Obese Mice with Intact, but Not Disrupted, Gut Microbiome*. J Agric Food Chem, 2015. **63**(27): p. 6172-80.
26. Nikolidaki, E.K., et al., *Sun dried Corinthian currant (Vitis Vinifera L., var. Apyrena) simple sugar profile and macronutrient characterization*. Food Chem, 2017. **221**: p. 365-372.
27. Antonia Chiou, V.T.K., Anastasia Mylona, Fotini N. Salta, Fani Preventi, Nikolaos K. Andrikopoulos, *Currants (Vitis vinifera L.) content of simple phenolics and antioxidant activity*. Food Chemistry, 2007. **102**(2): p. 516–522.
28. Chiou, A., et al., *Anthocyanins content and antioxidant capacity of Corinthian currants (Vitis vinifera L., var. Apyrena)*. Food Chem, 2014. **146**: p. 157-65.
29. Kountouri, A.M., et al., *Chemopreventive properties of raisins originating from Greece in colon cancer cells*. Food Funct, 2013. **4**(3): p. 366-72.
30. Kaliora, A.C., et al., *Effect of Greek raisins (Vitis vinifera L.) from different origins on gastric cancer cell growth*. Nutr Cancer, 2008. **60**(6): p. 792-9.
31. Kanellos, P.T., et al., *Absorption and bioavailability of antioxidant phytochemicals and increase of serum oxidation resistance in healthy subjects following supplementation with raisins*. Plant Foods Hum Nutr, 2013. **68**(4): p. 411-5.
32. Kanellos, P.T., et al., *A study of glycemic response to Corinthian raisins in healthy subjects and in type 2 diabetes mellitus patients*. Plant Foods Hum Nutr, 2013. **68**(2): p. 145-8.
33. Kanellos, P.T., et al., *A pilot, randomized controlled trial to examine the health outcomes of raisin consumption in patients with diabetes*. Nutrition, 2014. **30**(3): p. 358-64.
34. Kaliora, A.C., et al., *The effect of minimal dietary changes with raisins in NAFLD patients with non-significant fibrosis: a randomized controlled intervention*. Food Funct, 2016. **7**(11): p. 4533-4544.
35. Kaliora, A.C., et al., *Regulation of GIP and Ghrelin in Healthy Subjects Fed on Sun-Dried Raisins: A Pilot Study with a Crossover Trial Design*. J Med Food, 2017. **20**(3): p. 301-308.

36. Pitocco, D., et al., *Oxidative stress in diabetes: implications for vascular and other complications*. Int J Mol Sci, 2013. **14**(11): p. 21525-50.
37. Sies, H., W. Stahl, and A. Sevanian, *Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress*. J Nutr, 2005. **135**(5): p. 969-72.
38. Czerska, M., et al., *Today's oxidative stress markers*. Med Pr, 2015. **66**(3): p. 393-405.
39. Rahal, A., et al., *Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay*. Biomed Res Int, 2014. **2014**: p. 761264.
40. Burton-Freeman, B., *Postprandial metabolic events and fruit-derived phenolics: a review of the science*. Br J Nutr, 2010. **104 Suppl 3**: p. S1-14.
41. Zilversmit, D.B., *Atherogenesis: a postprandial phenomenon*. Circulation, 1979. **60**(3): p. 473-85.
42. Panagiotakos, D.B., C. Pitsavos, and C. Stefanadis, *Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2006. **16**(8): p. 559-68.
43. Esfahani, A., J. Lam, and C.W. Kendall, *Acute effects of raisin consumption on glucose and insulin responses in healthy individuals*. J Nutr Sci, 2014. **3**: p. e1.
44. Tappy, L. and K.A. Le, *Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity*. Physiol Rev, 2010. **90**(1): p. 23-46.
45. Atkinson, F.S., K. Foster-Powell, and J.C. Brand-Miller, *International tables of glycemic index and glycemic load values: 2008*. Diabetes Care, 2008. **31**(12): p. 2281-3.
46. Bloomer, R.J., et al., *Postprandial oxidative stress in response to dextrose and lipid meals of differing size*. Lipids Health Dis, 2010. **9**: p. 79.
47. Swarbrick, M.M., et al., *Consumption of fructose-sweetened beverages for 10 weeks increases postprandial triacylglycerol and apolipoprotein-B concentrations in overweight and obese women*. Br J Nutr, 2008. **100**(5): p. 947-52.

48. Livesey, G. and R. Taylor, *Fructose consumption and consequences for glycation, plasma triacylglycerol, and body weight: meta-analyses and meta-regression models of intervention studies*. Am J Clin Nutr, 2008. **88**(5): p. 1419-37.
49. Natella, F., et al., *Red wine mitigates the postprandial increase of LDL susceptibility to oxidation*. Free Radic Biol Med, 2001. **30**(9): p. 1036-44.
50. Galle, J., et al., *Impact of oxidized low density lipoprotein on vascular cells*. Atherosclerosis, 2006. **185**(2): p. 219-26.
51. Trpkovic, A., et al., *Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of cardiovascular diseases*. Crit Rev Clin Lab Sci, 2015. **52**(2): p. 70-85.
52. Kang, D.H. and S.K. Ha, *Uric Acid Puzzle: Dual Role as Anti-oxidant and Pro-oxidant*. Electrolyte Blood Press, 2014. **12**(1): p. 1-6.
53. Agius, L., *Dietary carbohydrate and control of hepatic gene expression: mechanistic links from ATP and phosphate ester homeostasis to the carbohydrate-response element-binding protein*. Proc Nutr Soc, 2016. **75**(1): p. 10-18.
54. Miglio, C., et al., *Antioxidant and inflammatory response following high-fat meal consumption in overweight subjects*. Eur J Nutr, 2013. **52**(3): p. 1107-14.
55. Cardona, F., et al., *Circulating antioxidant defences are decreased in healthy people after a high-fat meal*. Br J Nutr, 2008. **100**(2): p. 312-6.
56. Czerska, M., M. Zielinski, and J. Gromadzinska, *Isoprostanes - A novel major group of oxidative stress markers*. Int J Occup Med Environ Health, 2016. **29**(2): p. 179-90.
57. Thompson, H.J., et al., *8-Isoprostane F2alpha excretion is reduced in women by increased vegetable and fruit intake*. Am J Clin Nutr, 2005. **82**(4): p. 768-76.
58. Dow, C.A., et al., *Daily consumption of grapefruit for 6 weeks reduces urine F2-isoprostanes in overweight adults with high baseline values but has no effect on plasma high-sensitivity C-reactive protein or soluble vascular cellular adhesion molecule 1*. J Nutr, 2013. **143**(10): p. 1586-92.

59. Csiszar, A., et al., *Oxidative stress and accelerated vascular aging: implications for cigarette smoking*. Front Biosci (Landmark Ed), 2009. **14**: p. 3128-44.
60. Patrono, C. and G.A. FitzGerald, *Isoprostanes: potential markers of oxidant stress in atherothrombotic disease*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1997. **17**(11): p. 2309-15.
61. Giudice, A., et al., *Metabolic syndrome, insulin resistance, circadian disruption, antioxidants and pancreatic carcinoma: an overview*. J Gastrointestin Liver Dis, 2014. **23**(1): p. 73-7.
62. Manson, J.E. and S.S. Bassuk, *Biomarkers of cardiovascular disease risk in women*. Metabolism, 2015. **64**(3 Suppl 1): p. S33-9.
63. Jones, D.P., *Redox theory of aging*. Redox Biol, 2015. **5**: p. 71-9.
64. Cencioni, C., et al., *Oxidative stress and epigenetic regulation in ageing and age-related diseases*. Int J Mol Sci, 2013. **14**(9): p. 17643-63.
65. Cernea, S. and M. Dobreanu, *Diabetes and beta cell function: from mechanisms to evaluation and clinical implications*. Biochem Med (Zagreb), 2013. **23**(3): p. 266-80.