



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

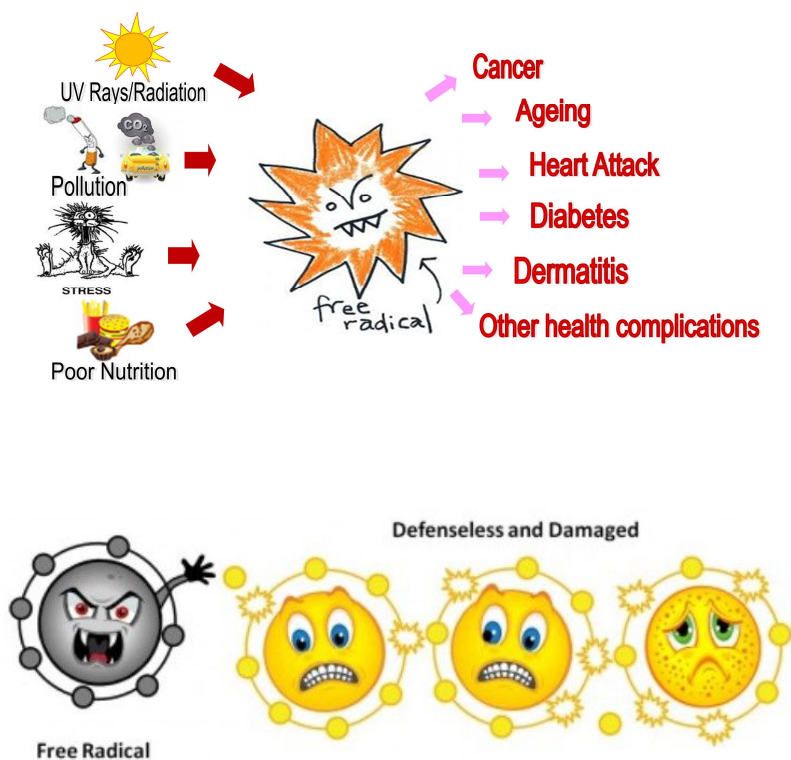
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΚΗΣ ΔΙΣΜΟΥΤΑΣΗΣ (SOD)

ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΦΟΡΤΙΣΗ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΣΕ ΝΟΡΜΟΒΑΡΕΙΣ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΟΥΣ

ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ

ΜΑΡΑΓΚΟΥΔΑΚΗ ΜΑΡΙΑ



Αθήνα, 2017



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

**Τζώρτζης Νομικός (Επιβλέπων), Επίκουρος Καθηγητής,
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

**Φραγκοπούλου Ελισάβετ, Επίκουρη Καθηγήτρια,
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

**Αντωνοπούλου Σμαραγδή, Καθηγήτρια,
Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Η Μαρία Μαραγκουδάκη

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 προσβάλει 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.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	4
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	6
Περίληψη στα Ελληνικά	7
Λέξεις κλειδιά :	7
Abstract ή Περίληψη στα Αγγλικά	8
Keywords:	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	9
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	10
Α' ΕΝΟΤΗΤΑ : ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	11
1. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ	11
1.1. Οξειδωτικό στρες	11
1.2 Φυσιολογική σημασία τους.....	12
1.3 Δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου (RONS).....	12
2. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	15
2.1 Αντιοξειδωτικά.....	15
2.2 Αντιοξειδωτική-προοξειδωτική ισορροπία	15
2.3 Κατάταξη αντιοξειδωτικών.....	16
2.4 Δράση των αντιοξειδωτικών.....	17
2.5 Συμπλήρωμα αντιοξειδωτικών	17
3.ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΚΗ ΔΙΣΜΟΥΤΑΣΗ (SOD)	18
3.1 Κυτταροπλασματική CuZnSOD (SOD1).....	19
3.2 Μιτοχονδριακή MnSOD (SOD2)	20
3.3 Εξωκυττάρια SOD (SOD3)	21
3.3.1 SOD3 και ενδοθήλιο	22
3.3.2 SOD3 και αθηροσκλήρωση	23
4.ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ/ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ	24
4.1 Το οξειδωτικό στρες ευνοεί την παχυσαρκία.....	25
4.2 Η παχυσαρκία γεννά το οξειδωτικό στρες	25
5.ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ	29
5.1 Υπεργλυκαιμία και οξειδωτικό στρες	29
5.2 Αυξημένα επίπεδα λιπιδίων και οξειδωτικό στρες	32
5.3 Διατροφικά αντιοξειδωτικά.....	34
Β' ΕΝΟΤΗΤΑ : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	36
6. ΣΚΟΠΟΣ	36
7. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	37
7.1 Πρωτόκολλο μελέτης	37

7.1.1. Σχεδιασμός μελέτης – Εθελοντές	37
7.1.2 Σωματομετρικές μετρήσεις.....	38
7.1.3 Διατροφική αξιολόγηση	38
7.1.4 Αξιολόγηση φυσικής δραστηριότητας	38
7.2 Συλλογή βιολογικών δειγμάτων	39
7.3 Απομόνωση πλάσματος	39
7.4 Προσδιορισμός SOD στο πλάσμα	40
7.4.1.1 Αρχή μεθόδου	40
7.4.1.2 Όργανα/υλικά	40
7.4.1.3 Διαλύματα.....	40
7.4.1.4 Αναλυτική πορεία.....	41
7.5. Στατιστική ανάλυση	42
8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	43
8.1 Βασικά χαρακτηριστικά εθελοντών	43
8.2 Σύγκριση βασικών επιπέδων SOD3 μεταξύ νορμοβαρών και παχύσαρκων εθελοντών	44
8.3 Συσχέτιση βασικών επιπέδων SOD3 με ανθρωπομετρικά, βιοχημικά και κλινικά χαρακτηριστικά εθελοντών	44
8.4 Επίδραση φόρτισης γλυκόζης στα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης σε νόρμοβαρείς και παχύσαρκους.....	45
8.4.1 Επίδραση της γλυκόζης	45
8.4.2 Επίδραση της ινσουλίνης.....	47
8.5 Μεταβολές δραστικότητας SOD3 στη φόρτιση γλυκόζης 75 γρ. - σύγκριση νορμοβαρών και παχύσαρκων εθελοντών	49
8.6 Συσχέτιση βασικών επιπέδων SOD3 με τις μεταβολές βιοχημικών δεικτών.....	50
9. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	51
9.1 Δοκιμαζόμενοι και κριτήρια επιλογής	51
9.2 Επιλογή βιολογικού δείγματος μέτρησης της SOD3	52
9.3 Σχολιασμός αποτελεσμάτων μελέτης	53
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	56

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία έλαβε χώρα στο Τμήμα Διαιτολογίας και Διατροφής, του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, υπό την επίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή Βιοχημείας κ. Τζώρτζη Νομικό. Θα ήθελα πρωτίστως να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου για την συνεργασία μαζί του. Πάντοτε φιλικός και προσιτός, ήταν συνεχώς δίπλα μου να με κατευθύνει και να με συμβουλεύει σε οτιδήποτε μπορούσε να προκύψει. Ήταν τιμή μου που μου δόθηκε η ευκαιρία να συνεργαστώ μαζί του πάνω στο συγκεκριμένο θέμα. Ο κ. Νομικός αποτελεί το ιδανικό άτομο για την εμβάθυνση στο πολύ ενδιαφέρον και σύγχρονο αντικείμενο των αντιοξειδωτικών.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς μου επιτροπής, κα. Αντωνοπούλου, καθηγήτρια Βιοχημείας, και κα Φραγκοπούλου Ελισάβετ Επίκουρη Καθηγήτρια Βιολογικής Χημείας Φυσικών Προϊόντων. Τέλος, θα αποτελούσε παράλειψή μου αν δεν εξέφραζα τις ευχαριστίες μου για τους εθελοντές μας, χωρίς τη συμβολή των οποίων η πραγματοποίηση της μελέτης θα ήταν αδύνατη.

Περίληψη στα Ελληνικά

Θεωρητικό υπόβαθρο: Η μεταγευματική υπεργλυκαιμία αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την αθηροσκλήρωση. Το οξειδωτικό στρες αποτελεί βασικό παθοφυσιολογικό μηχανισμό που μεσολαβεί για τις επιβλαβείς δράσεις της μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας στο ενδοθήλιο. Η παχυσαρκία επάγει το οξειδωτικό στρες με ποικίλους βιοχημικούς μηχανισμούς. Η εξωκυττάρια ισομορφή της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD3) συμβάλλει στην εκκαθάριση ελευθέρων ριζών στην περιοχή του ενδοθηλίου και το προστατεύει από οξειδωτική βλάβη.

Σκοπός : Η σύγκριση της επίδρασης οξείας υπεργλυκαιμίας, μετά από φόρτιση γλυκόζης 75 g, στη δραστικότητα της SOD3 νέων, φαινομενικά υγείων, νορμοβαρών και παχύσαρκων εθελοντών.

Μεθοδολογία: 11 νορμοβαρείς και 8 παχύσαρκοι εθελοντές στρατολογήθηκαν και υποβλήθηκαν σε καμπύλη σακχάρου μετά την λήψη 75 γραμμάρια γλυκόζης. Λήφθηκε πλάσμα πριν και για 7 χρονικές μετά τη φόρτιση έως και τις 4h. Στο πλάσμα προσδιορίστηκε η δραστικότητα της SOD3 με κινητική ενζυμική μέθοδο που βασίζεται στην αναγωγή του κυτοχρώματος C.

Αποτελέσματα : Η δραστικότητα της SOD3 δεν διαφοροποιείται μεταξύ των δύο ομάδων σε χρόνο 0. Δεν υπάρχει επίδραση του χρόνου στα επίπεδα της SOD3, ενώ δεν υπάρχει διαφοροποίηση μεταξύ των ομάδων αν και η μεταγευματική υπεργλυκαιμία είναι υψηλότερη στους παχύσαρκους εθελοντές, Η SOD3 σε χρόνο 0 σχετίζεται θετικά με τον αριθμό κοκκιοκυττάρων και με τη διαστολική αρτηριακή πίεση.

Συζήτηση: Η φόρτιση γλυκόζης δεν μπορεί να μεταβάλλει τα επίπεδα της SOD3 τόσο σε υγιείς νορμοβαρείς αλλά και σε παχύσαρκους εθελοντές. Είτε το μεταφορτισιακό οξειδωτικό στρες και φλεγμονή, που επάγεται σε αυτούς τους εθελοντές, δεν είναι ικανό να επάγει διαφοροποιήσεις στην SOD3, είτε η SOD3 δεν μπορεί να επηρεαστεί σε συνθήκες μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας.

Λέξεις κλειδιά :

Υπεροξειδική δισμουτάση, φόρτιση γλυκόζης, υπεργλυκαιμία, οξειδωτικό στρες, παχυσαρκία.

Abstract ή Περίληψη στα Αγγλικά

Background: Postprandial hyperglycemia is an independent risk factor for atherosclerosis. Oxidative stress is the main pathophysiological mechanism mediating the harmful effects of postprandial hyperglycemia on endothelium. Obesity augments oxidative stress through several biochemical mechanisms. The extracellular isoform of superoxide dismutase (SOD3) scavenges endothelium-derived superoxide anion protecting by this way the oxidative damage of endothelium.

Aim: Comparison of the SOD3 response of normal weight and obese volunteers to acute hyperglycemia induced by 75 g oral glucose load

Methodology: A 75 g glucose load administered to eleven normal weight and eight obese volunteers. Plasma samples were collected before the load and for 7 time points after the load till 4 h. The plasma SOD3 activity was determined by a kinetic method utilizing the reduction of cytochrome C by superoxide anion.

Results: No differentiation of baseline SOD3 activity was observed between the two groups. The activity of SOD3 did not change after the load while no group effect of SOD3 response was observed despite the higher hyperglycemic peaks of the obese group. A positive correlation of baseline SOD3 levels, granulocyte numbers and diastolic blood pressure was observed.

Discussion: The 75g glucose load could not alter the activity of SOD3 of both normal weight and obese volunteers implying that either the post-load oxidative stress and inflammation were unable to modify SOD3 levels or SOD3 is insensitive to post-load conditions.

Keywords:

Superoxide dismutase, glucose load, hyperglycemia, oxidative stress, obesity(SOD3), oral glucose tolerance test (OGTT), plasma, normal BMI, obese

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Παραγωγή και σχηματισμός ελευθέρων ριζών.....	σ.13
Εικόνα 2: Πηγή και σχηματισμός ROS στα θηλαστικά που σχετίζονται με την υπέρταση.....	σ.14
Εικόνα 3: Μηχανισμοί εκκαθάρισης O ₂ από την SOD.....	σ.19
Εικόνα 4: Η εξωκυττάρια θέση της SOD συμβάλλει στην προστασία του NO από τη ρίζα O ₂	σ.23
Εικόνα 5: Ο μέσο όρος των επί τις εκατό αλλαγών τις υπεροξειδικής δισμουτάσης ήταν: πλάσμα 29%, ερυθροκύτταρα 49%, καρδιά 33%, συκώτι 41%, 48% and σκελετικός μυς 51%.....	σ.53
Εικόνα 6: Σύγκριση των δύο μελετών ως προς την μεταβολή της SOD στο χρόνο.....	σ.54

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1 : Βασικά χαρακτηριστικά εθελοντών.....	σ.43
--	------

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Μέσος όρος και τυπική απόκλιση των βασικών επιπέδων της SOD3 σε νορμοβαρείς και παχύσαρκους.....	σ.44
Σχήμα 2 : Θετική συσχέτιση διαστολικής πίεσης με βασικά επίπεδα SOD3.....	σ.45
Σχήμα 3 : Θετική συσχέτιση κοκκιοκυττάρων με βασικά επίπεδα SOD3.....	σ.45
Σχήμα 4: Μεταβολές των επιπέδων γλυκόζης νορμοβαρών και παχύσαρκων εθελοντών μετά από φόρτιση γλυκόζης 75 g.....	σ.46
Σχήμα 5: Ποσοστιαίες μεταβολές των επιπέδων γλυκόζης νορμοβαρών και παχύσαρκων εθελοντών μετά από φόρτιση γλυκόζης 75 g.....	σ.46
Σχήμα 6: Μεταβολές των επιπέδων ινσουλίνης νορμοβαρών και παχύσαρκων εθελοντών μετά από φόρτιση γλυκόζης 75 g	σ.47
Σχήμα 7: Ποσοστιαίες μεταβολές των επιπέδων ινσουλίνης νορμοβαρών και παχύσαρκων εθελοντών μετά από φόρτιση γλυκόζης 75 g.....	σ.47
Σχήμα 8: Απόκριση της SOD3 σε απόλυτες τιμές στο χρόνο.....	σ.48
Σχήμα 9: Απόκριση της επί τις εκατό μεταβολής της SOD3 στο χρόνο.....	σ.49
Σχήμα 10: Αρνητική συσχέτιση πρωτεϊνικών καρβονυλίων με SOD3.....	σ.50

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

	Αγγλικός όρος	Ελληνικός όρος
ATP	Adenosine triphosphate	Τριφωσφορική αδενοσίνη
AP-1	Activator protein 1	Πρωτεΐνη ενεργοποίησης 1
AGEs	Advanced glycation end products	Τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης
ALS	Amyotrophic Lateral Sclerosis	Μυοτροφική πλευρική σκλήρυνση
DNA	Deoxyribonucleic Acid	Δεσοξυριβονουκλεϊκό οξύ
EC	Endothelial Cells	Ενδοθηλιακά κύτταρα
ER	Endoplasmatic reticulum	Ενδοπλασματικό δίκτυο
eNOS	Endothelial NO synthase	Ενδοθηλιακή συνθάση NO
FRAP	Ferric reducing ability of plasma	Αναγωγική ικανότητα σιδήρου στο πλάσμα
FADH2	Flavin Adenine Dinucleotide	Φλαβινο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο
GPx	Glutathione peroxidase	Υπεροξειδάση γλουταθειόνης
GSH	Glutathione	Γλουταθειόνη
GSSG	Oxidized glutathione	Οξειδωμένη γλουταθειόνη
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule	Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης
IGT	Impaired glucose tolerance	Διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης
LDL	Low Density Lipoprotein	Λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας
MDA	Malonyldialdehyde	Μηλονυλοδιαλδεΐδη
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate	Φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο
NF-κB	Nuclear factor κB	Πυρηνικός παράγοντας κB
OGTT	Oral glucose tolerance test	Δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη
PKC	Protein kinase C	Πρωτεϊνική κινάση C
RNS	Reactive nitrogen species	Δραστικές μορφές αζώτου
RDI	Recommended Dietary Intake	Συνιστώμενες διαιτητικές προσλήψεις
SOD1	CuZn superoxide dismutase	Κυτταροπλασματική CuZnSOD
SOD2	Mn superoxide dismutase	Μιτοχονδριακή MnSOD
SOD3	Extracellular superoxide dismutase	Εξωκυττάρια SOD
SOD	Superoxide dismutase	Δισμουτάση υπεροξειδίου
TBARS	Thiobarbituric acid reactive substances	Ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ
VSMC	Vascular Smooth Muscle Cells	Αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα
VCAM	Vascular cell adhesion protein 1	Αγγειακό μόριο προσκόλλησης

Α' ΕΝΟΤΗΤΑ : ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Το οξυγόνο είναι ένα στοιχείο συνδεδεμένο με την ζωή. Η χρήση του από τα κύτταρα για την παραγωγή ενέργειας (ATP) στο μιτοχόνδριο έχει σαν αποτέλεσμα τον σχηματισμό παραπροϊόντων, τις λεγόμενες ελεύθερες ρίζες. Αυτά τα παραπροϊόντα είναι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) ή δραστικές μορφές αζώτου (RNS) σαν αποτέλεσμα της οξειδοαναγωγικής διαδικασίας. Οι ενώσεις αυτές έχουν διττή φύση και μπορούν είτε να βλάψουν είτε να ωφελήσουν τον οργανισμό. Τα ROS και τα RNS σε χαμηλές συγκεντρώσεις είναι απαραίτητα για την ομαλή λειτουργία του κυττάρου και του ανοσοποιητικού συστήματος. Αντίθετα, σε υψηλές συγκεντρώσεις προάγουν το οξειδωτικό στρες, μία διαδικασία υποβάθμισης του κυττάρου. Το οξειδωτικό στρες παίζει πρωταγωνιστικό ρόλο στην ανάπτυξη χρόνιων και εκφυλιστικών ασθενειών όπως ο καρκίνος, η αρθρίτιδα, η γήρανση, οι νόσοι του ανοσοποιητικού, οι καρδιαγγειακές και νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Τα ενδογενή (παράγονται στον οργανισμό) και τα εξωγενή (από τη δίαιτα ή τα συμπληρώματα) αντιοξειδωτικά δρουν σαν «εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών» μέσω της επιδιόρθωσης και της πρόληψης των καταστροφών των ελευθέρων ριζών και έτσι επάγουν την ανοσοπροστασία και περιορίζουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου και εκφυλιστικών ασθενειών (Pham-Huy, He, & Pham-Huy, 2008).

1.1. Οξειδωτικό στρες

Ο όρος οξειδωτικό στρες συνήθως αναφέρεται στην ανισορροπία μεταξύ της παραγωγής ROS/RNS και των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Υψηλά ποσά ROS/RNS μπορεί να προκαλέσουν βλάβη σε διάφορα υποστρώματα του κυττάρου όπως το DNA, οι πρωτεΐνες και τα λιπίδια. Αυτή η ανισορροπία ωστόσο μπορεί να είναι και αποτέλεσμα δυσλειτουργίας κάποιων διαμερισμάτων του κυττάρου, όπως τα μιτοχόνδρια, στα οποία διαταράσσεται η ομοιόσταση παραγωγής ενέργειας, ο πυρήνας, όπου επηρεάζεται η μεταγραφική διαδικασία (επιγενετική μετάλλαξη) ή η κυτταρική μεμβράνη. Τα εξωκυττάρια ROS επηρεάζουν την σηματοδότηση του κυττάρου και την λειτουργία του.

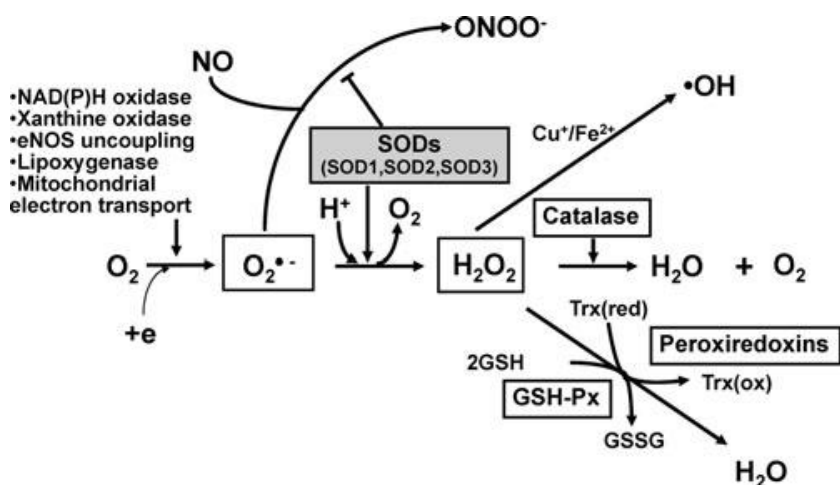
1.2 Φυσιολογική σημασία τους

Τα τελευταία χρόνια έχει διαπιστωθεί ότι οι ελεύθερες ρίζες είναι αναπόσπαστο κομμάτι του φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού άλλοτε ενισχύοντας και άλλοτε βλάπτοντας τον οργανισμό (Ε. Γιαννακοπούλου, 2007). Τα δραστικά μόρια οξυγόνου είναι απαραίτητα για την ομαλή λειτουργία του οργανισμού, καθώς εμπλέκονται σε διαδικασίες του κυττάρου όπως ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση, η γήρανση, η άμυνα, και η αποκατάσταση των βλαβών. Πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι οι ελεύθερες ρίζες συμβάλλουν στην προστασία κατά της γήρανσης (Loperena & Harrison, 2017). Άλλοι υποστηρίζουν ότι οι ελεύθερες ρίζες επάγουν την γήρανση ως αποτέλεσμα της αντίδρασης τους με τα βιομόρια (πρωτεΐνες, DNA, λιπίδια) (Ε. Γιαννακοπούλου, 2007). Τα ROS/RNS έχουν επίσης πολύ σημαντικό ρόλο στην άμυνα του οργανισμού. Αποτελούν μέρος της αναπνευστικής έκρηξης στα φαγοκύτταρα αλλά και της σηματοδότησης των φλεγμονωδών κυττάρων στην φλεγμονή ή στην λοίμωξη. Έτσι, οι ελεύθερες ρίζες συμβάλλουν στην ανάπτυξη του κυττάρου μέσω της έκφρασης των μεταλλοπρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας. Αυτές οι αποκρίσεις που είναι ζωτικής σημασίας, αποσυντονίζονται σε καταστάσεις ασθένειας και προωθούν παθοφυσιολογικές διεργασίες (Loperena & Harrison, 2017). Η μόνιμη τροποποίηση του γενετικού υλικού από αυτή την οξειδωτική βλάβη αποτελεί το πρώτο βήμα στην καρκινογένεση, τη μεταλλαξιογένεση και τη γήρανση (Halliwell, 2007).

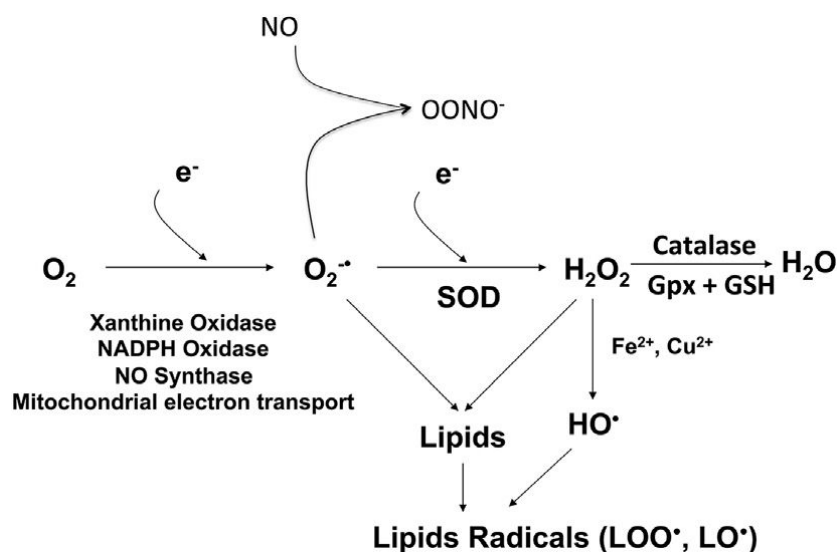
1.3 Δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου (RONS)

Οι RONS είναι αποτέλεσμα της μεταφοράς ηλεκτρονίων από ένα μόριο σε ένα άλλο μέσω των αντιδράσεων οξείδωσης και αναγωγής. Ελεύθερη ρίζα καλείται το μόριο που έχει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στοιβάδα. Η ύπαρξη ασύζευκτου ηλεκτρονίου στις RONS, τους προσδίδει δραστικότητα και μπορούν είτε να δώσουν είτε να λάβουν ηλεκτρόνιο από άλλα μόρια συμπεριφερόμενες ως οξειδοαναγωγικές ουσίες (Ε. Γιαννακοπούλου, 2007). Όταν μιλάμε για οξειδωτικά, αναφερόμαστε στις δραστικές ενώσεις RNS και ROS που μπορεί να είναι ρίζες ή μη ριζικά παράγωγα. Στην τελευταία ομάδα τα μόρια είναι λιγότερο δραστικά καθώς δεν διαθέτουν ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στην εξωτερική στοιβάδα και άρα είναι πιο σταθερά και με μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής, αλλά έχουν ισχυρές οξειδωτικές ικανότητες (H. Sies, 1997). Οι ελεύθερες ρίζες είναι η υδροξυλική ρίζα ($\text{OH}\cdot$), η υπεροξειδική ρίζα ($\text{O}_2^{\cdot-}$), το νιτρικό οξύ ($\text{NO}_2^{\cdot-}$) και οι υπεροξειδικές μορφές ($\text{ROO}\cdot$) μεταξύ

των οποίων και τα λιπιδικά υπεροξυλίου ($\text{LOO}\bullet$). Από την άλλη το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), το όζον (O_3), το μονήρες οξυγόνο ($^1\text{O}_2$), το υποχλωριώδες οξύ (HOCl), το νιτρώδες οξύ (HNO_2), το υπεροξεινιτρώδες (ONOO^-), το τριοξείδιο του αζώτου (N_2O_3), τα λιπιδικά υπεροξείδια (LOOH), δεν είναι ελεύθερες ρίζες αλλά καλούνται οξειδωτικά καθώς μπορούν να οδηγήσουν τον οργανισμό στις αντιδράσεις παραγωγής ελευθέρων ριζών στους ζώντες οργανισμούς. Εξού, οι ελεύθερες ρίζες είναι ασταθή μόρια που έχουν διαθέσιμα ηλεκτρόνια για να αντιδράσουν με πολλές οργανικές ουσίες όπως λιπίδια, πρωτεΐνες, DNA (Pham-Huy et al., 2008). Ο χρόνος ημίσειας ζωής της κάθε οξειδωτικής ρίζας είναι διαφορετικός και γι' αυτό γίνεται επιτακτική η ανάγκη ποικιλίας αμυντικών μηχανισμών. Οι πιο δραστικές ρίζες, οι οποίες αντιδρούν συνεχώς με μόρια στόχους είναι οι ρίζες υδροξυλίου. Αντίθετα οι υπεροξειδικές ρίζες είναι πιο σταθερά μόρια και ο χρόνος ημίσειας ζωής είναι στο φάσμα των δευτερολέπτων. Αυτές οι ρίζες μπορούν και μεταφέρονται μακριά από το σημείο παραγωγής τους όπου δρουν οξειδωτικά σε στόχους-μόρια (H. Sies, 1997).



Εικόνα 1: Παραγωγή και σχηματισμός ελευθέρων ριζών (Fukai & Ushio-Fukai, 2011)



Εικόνα 2: Πηγή και σχηματισμός ROS στα θηλαστικά που σχετίζονται με την υπέρταση (Loperena & Harrison, 2017).

Ο σχηματισμός των δραστικών μορίων γίνεται στα κύτταρα με δύο τρόπους, είτε με ενζυματικές είτε με μη ενζυματικές αντιδράσεις. Η αναπνευστική αλυσίδα, η φαγοκυττάρωση, η σύνθεση των προσταγλανδινών και το κυτόχρωμα P450 είναι πηγές παραγωγής των ελευθέρων ριζών. Για παράδειγμα το ανιόν υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet-}$) παράγεται μέσω διάφορων κυτταρικών συστημάτων όπως η NADPH οξειδάση, η οξειδάση ξανθίνης, οι υπεροξειδάσες. Αφού σχηματιστεί συμμετέχει σε πολλές αντιδράσεις που αποδίδουν διάφορα ROS και RNS όπως υπεροξείδιο του υδρογόνου, ρίζα υδροξυλίου ($OH^{\bullet}$), υπεροξεινιτρώδες ($ONOO^{\bullet}$), υποχλωριώδες οξύ ($HOCl$), και άλλα. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) παράγεται από την οξειδάση της ξανθίνης και την οξειδάση αμινοξέων. Η οξειδάση της ξανθίνης καταλύει την οξείδωση της υποξανθίνης σε ξανθίνη, και της ξανθίνης σε ουρικό οξύ. Η ρίζα υδροξυλίου, η πιο δραστική ρίζα στον οργανισμό σχηματίζεται από την αντίδραση του $O_2^{\bullet-}$ με H_2O_2 παρουσία Fe^{2+} και Cu^{+} (καταλύτης). Αυτή είναι η γνωστή αντίδραση Fenton. Το υποχλωριώδες οξύ παράγεται από την μυελο υπεροξειδάση η οποία οξειδώνει τα ιόντα χλωρίου παρουσία H_2O_2 . Το νιτρικό οξύ ($NO^{\bullet}$) σχηματίζεται στους ιστούς από την οξείδωση της L-αργινίνης σε κιτρουλίνη από την συνθετάση νιτρικού οξέος.

Οι ελεύθερες ρίζες παράγονται και από μη ενζυματικές αντιδράσεις του οξυγόνου με οργανικά μόρια. Μη ενζυματικές αντιδράσεις γίνονται επίσης και κατά την οξειδωτική φωσφορυλίωση στα μιτοχόνδρια. Οι εξωγενείς πηγές παραγωγής των ROS/RNS είναι η μόλυνση του νερού, το τσιγάρο, το αλκοόλ, τα βαρέα μέταλλα (Cd, Hg, Pb, Fe, As), κάποια φάρμακα (κυκλοσπορίνη,

tacrolimus, γενταμικίνη, μπλεομυκίνη), βιοχημικοί διαλύτες, τρόφιμα (καπνιστό κρέας, χρησιμοποιημένο λάδι, λιπαρά) ραδιενέργεια (Pham-Huy et al., 2008). Επίσης, διάφορες μορφές ακτινοβολίας είναι ικανές να παράγουν τα ROS. Η ακτινοβολία Χ παράγει τις ρίζες υδροξυλίου, ενώ η ακτινοβολία με υπεριώδες φως παράγει ηλεκτρονικά διεγερμένες καταστάσεις με επακόλουθο σχηματισμό ριζών (H. Sies, 1997). Μετά την είσοδο τους στον οργανισμό, αυτές οι ουσίες αποσυντίθενται ή παράγουν ελεύθερες ρίζες. Οι ενδογενείς πηγές είναι το ανοσοποιητικό, η φλεγμονή, τος στρες, η υπερβολική άσκηση, η ισχαιμία, η μόλυνση, ο καρκίνος, η γήρανση (Pham-Huy et al., 2008).

2. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Οι αντιοξειδωτικές άμυνες του ανθρώπου είναι ο λόγος που οι αερόβιοι οργανισμοί επιβιώνουν παρουσία της τοξικής δράσης του οξυγόνου. Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να συντεθούν *in vivo* (π.χ. γλουταθειόνη και υπεροξειδική δισμουτάση) ή να προσληφθούν από τη διατροφή.

2.1 Αντιοξειδωτικά

Ο όρος παραδόξως είναι δύσκολο να προσδιοριστεί ξεκάθαρα και κατανοητά, αφού η ιεράρχηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας εξαρτάται από την μεθοδολογία ανάλυσης που χρησιμοποιείται στην κάθε έρευνα και από την αντιοξειδωτική ικανότητα της κάθε δεδομένης χημικής ένωσης. Ο ορισμός, που δίνει ο B. Halliwell είναι «οποιαδήποτε ένωση καθυστερεί, εμποδίζει ή αφαιρεί την οξειδωτική καταστροφή σε ένα μόριο στόχο» (Halliwell, 2007).

Δεν υπάρχει κάποιο αντιοξειδωτικό που να θεωρείται το «καλύτερο»· η κατάταξη εξαρτάται από την φύση της οξειδωτικής πρόκλησης. Ίσως η πιο απλή «αντιοξειδωτική άμυνα» (αν και είναι δύσκολο να ταιριάξει στον παραπάνω ορισμό, εκτός κι αν τον επαναδιατυπώσουμε λέγοντας «οποιαδήποτε ουσία ή δράση αναστέλλει») είναι να ελαχιστοποιήσουμε την έκθεση στο O₂ (Halliwell, 2007).

2.2 Αντιοξειδωτική-προοξειδωτική ισορροπία

Στους υγιείς αερόβιους οργανισμούς, η παραγωγή δραστικών μορίων βρίσκεται περίπου σε ισορροπία με τα συστήματα αντιοξειδωτικής άμυνας. Ωστόσο, αρκετές φορές συμβαίνουν καταστροφές εξαιτίας των δραστικών μορίων καθώς αυτή η ισορροπία δεν είναι εύκολο να

πραγματοποιηθεί. Με άλλα λόγια, η αντιοξειδωτική άμυνα ελέγχει τα επίπεδα αυτών των μορίων παρά τα εξαλείφει. Αυτό συμβαίνει διότι η διατήρηση της αντιοξειδωτικής άμυνας σε υπερβολικά επίπεδα έχει ένα ενεργειακό κόστος και άρα θα ήταν λιγότερο ενεργοβόρο να επιδιορθωθούν ή να αντικατασταθούν τα κατεστραμμένα βιομόρια. Επιπροσθέτως, τα αντιοξειδωτικά είναι πιθανόν απλά να μην μπορούν να παρεμποδίσουν κάποια δραστικά μόρια. Για παράδειγμα, η ρίζα υδροξυλίου ($\text{OH}^\cdot$) που παράγεται από την ομολυτική σχάση του νερού εξαιτίας της έκθεσης μας σε ιονίζουσα ακτινοβολία, είναι τόσο δραστική που μπορεί να αντιδράσει με το οτιδήποτε θα συναντήσει πρώτο και έτσι είναι πρακτικά αδύνατο να αναχθεί. Επίσης, ένας άλλος παράγοντας είναι ότι οι δραστικές ουσίες παίζουν σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση του οργανισμού, όχι μόνο στην οξειδοαναγωγική ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων αλλά και άλλων ενδοκυτταρικών διεργασιών (Halliwell, 2007).

2.3 Κατάταξη αντιοξειδωτικών

Όλοι οι ζώντες οργανισμοί έχουν αναπτύξει ενζυμικούς και μη ενζυμικούς μηχανισμούς για την αντιμετώπιση του χρόνιου οξειδωτικού στρες. Κάποια από τα ενδοκυτταρικά αντιοξειδωτικά ένζυμα είναι η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx). Η SOD, που είναι η πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού έναντι των ριζών, καταλύει την αυτοοξειδοαναγωγή του ανιόντος υπερυπεροξειδίου ($\text{O}_2^{\cdot-}$) σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και η καταλάση είναι υπεύθυνες για την μετατροπή του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) σε νερό και οξυγόνο. Εκτός από το H_2O_2 η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης ανάγει επίσης τα υδρουπεροξείδια των λιπιδίων στις αντίστοιχες αλκοόλες, ενώ οξειδώνει την γλουταθειόνη (GSH), και έτσι οι μεμβράνες των κυττάρων προστατεύονται από την υπεροξείδωση των λιπιδίων. Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης προστατεύει επίσης το κύτταρο από το ONOO^- που ανάγεται σε νιτρώδη. Η σεληνοπρωτεΐνη GPx συμβάλλει στην αναγωγή του H_2O_2 προς νερό με οξείδωση της ανοιγμένης γλουταθειόνης (GSH) σε οξειδωμένη (GSSG). Η αναγωγή της γλουταθειόνης αναπαράγει την ανοιγμένη (GSH) από την οξειδωμένη (GSSG) της μορφή με το NADPH ως πηγή ηλεκτρονίων. Τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά επίσης χωρίζονται σε μεταβολικά και διατροφικά. Τα πρώτα παράγονται από τον μεταβολισμό στο σώμα όπως το λιποϊκό οξύ, η L-αργινίνη, το συνένζυμο Q10, η μελατονίνη, το ουρικό οξύ, η τρανσφερίνη και άλλα. Τα διατροφικά αντιοξειδωτικά τα οποία χορηγούνται μόνο εξωγενώς και δεν συντίθενται στον οργανισμό είναι η βιταμίνη C και E, τα καροτενοειδή, τα ιχνοστοιχεία όπως

σελήνιο, μαγνήσιο, ψευδάργυρος, τα φλαβονοειδή, τα ω -3 και ω -6 λιπαρά οξέα, και άλλα (Pham-Huy et al., 2008).

2.4 Δράση των αντιοξειδωτικών

Όταν ένα αντιοξειδωτικό καταστρέφει μία ελεύθερη ρίζα, το ίδιο αυτοξειδώνεται. Γι' αυτό τα αντιοξειδωτικά πρέπει να αντικαθίστανται συνεχώς. Επίσης, όταν ένα αντιοξειδωτικό είναι αποτελεσματικό κατά κάποιων ριζών σε ένα σύστημα, μπορεί το ίδιο να είναι αναποτελεσματικό σε κάποιο άλλο σύστημα του οργανισμού. Επιπρόσθετα κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, το αντιοξειδωτικό μπορεί ακόμη να δράσει και ως προοξειδωτικό, δηλαδή να δημιουργήσει ROS και RNS, όπως για παράδειγμα στην άσκηση. Τα αντιοξειδωτικά λειτουργούν με δύο τρόπους. Ο ένας είναι η διακοπή των αλυσιδωτών αντιδράσεων και ο άλλος η πρόληψη. Οι αλυσιδωτές αντιδράσεις οφείλονται στο ότι κάθε φορά που το αντιοξειδωτικό δίνει ένα ηλεκτρόνιο, το ίδιο μετατρέπεται σε οξειδωτικό μόριο και αυτό συνεχίζεται μέχρις ότου τη σταθεροποίηση της ελεύθερης ρίζας από ένα αντιοξειδωτικό (βιταμίνη C, E, καροτενοειδή) ή απλά την αποσύνθεση της ρίζας σε ακίνδυνο μόριο. Όσον αφορά την πρόληψη, ένα αντιοξειδωτικό ένζυμο όπως η δισμουτάση υπεροξειδίου, η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης μπορούν να προλάβουν την οξείδωση με μείωση του ρυθμού σχηματισμού της αλυσίδας είτε για παράδειγμα μέσω καθαρισμού των ελευθέρων ριζών, είτε μέσω σταθεροποίησης του μετάλλου μετάπτωσης όπως ο χαλκός και ο σίδηρος μέσω της σύνδεσης τους στις μεταλοπρωτεΐνες (Pham-Huy et al., 2008). Άλλα μόρια χαμηλού μοριακού βάρους τα οποία δρουν ως εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών είναι η γλουταθειόνη, το ουρικό οξύ, η χολερυθρίνη τα οποία συντίθενται ενδογενώς αλλά και το ασκορβικό οξύ και η βιταμίνη E που βρίσκονται στην διατροφή (Powers & Jackson, 2008).

2.5 Συμπλήρωμα αντιοξειδωτικών

Τα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα είναι ενώσεις που λαμβάνονται είτε με εκχύλιση από φυσικά τρόφιμα είτε με χημική σύνθεση. Φυσικά, δεν έχουν την ίδια σύνθεση με τα φυσικά αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα. Ως εκ τούτου, οι απόψεις δίστανται σχετικά με το αν τα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα προσφέρουν τα ίδια οφέλη για την υγεία με τα αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα. Ακόμη κι αν η αντιοξειδωτική συμπλήρωση συζητείται με ενθουσιασμό και υιοθετείται ολοένα και περισσότερο σε πολλές βιομηχανικές χώρες, τα αποδεικτικά στοιχεία

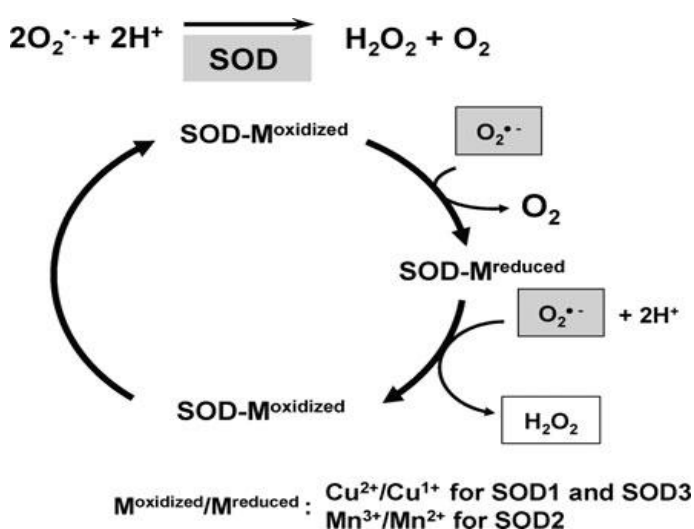
που την υποστηρίζουν εξακολουθούν να είναι διφορούμενα. Παρόλο που πολλά επιδημιολογικά στοιχεία υποδηλώνουν ότι τα αντιοξειδωτικά μπορούν να έχουν ευεργετική επίδραση σε πολλές χρόνιες ασθένειες, η συστηματική χρήση συμπληρωμάτων παρεμποδίζεται από διάφορους παράγοντες: την έλλειψη προοπτικών και ελεγχόμενων μελετών, τις μακροπρόθεσμες επιδράσεις και τις δοσολογίες που είναι απαραίτητες για κάθε είδος ασθενειών. Επίσης, τα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα μπορούν να δράσουν ως προ-οξειδωτικά, π.χ. ως επαγωγείς οξειδωτικού στρες, αν καταναλώνονται σε επίπεδα σημαντικά υψηλότερα από τις συνιστώμενες διαιτητικές προσλήψεις (RDI). Όπως τα κλασικά φάρμακα, έτσι και τα συμπληρώματα διατροφής μπορεί να προκαλέσουν παρενέργειες ή αλληλεπίδραση με άλλο φάρμακο ή συμπλήρωμα, γεγονός που μπορεί να επιδεινώσει την υγεία. Ωστόσο, τα συμπληρώματα διατροφής μπορούν να γίνουν απαραίτητα και χρήσιμα σε ορισμένες ιδιαίτερες καταστάσεις, όπως σε στρατιώτες στο μέτωπο, σε ναυτικούς στα πλοία, σε ασθενείς με γαστρεντερικές διαταραχές ή σε άτομα με χαμηλό εισόδημα, π.χ. οι άνθρωποι που δεν μπορούν να αντέξουν οικονομικά μια ποικιλία από λαχανικά, φρούτα και θαλασσινά. Σε αυτές τις περιπτώσεις, η λήψη ενός ή δύο πολυβιταμινών με μεταλλικά δισκία και κάψουλες ιχθυελαίου σε συγκεντρώσεις RDI μπορεί να είναι χρήσιμη για τη διατήρηση της καλής υγείας. Η λήψη συμπληρωμάτων σε υψηλές δόσεις μπορεί να είναι επιβλαβής και πάντα πρέπει να γίνεται με την συμβουλή και καθοδήγηση ενός επαγγελματία υγείας για το συνδυασμό τους με μια συμβατική ιατρική θεραπεία. Είναι προτιμότερο να γίνεται η λήψη από μια διατροφή πλούσια σε φρούτα και λαχανικά, εάν αυτό είναι εφικτό, παρά από συμπληρώματα (Pham-Huy et al., 2008).

3.ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΚΗ ΔΙΣΜΟΥΤΑΣΗ (SOD)

Η αντιοξειδωτική δράση αυτού του ενζύμου αποδείχθηκε το 1969 από τους McCord και Fridovich, αν και είχε ήδη απομονωθεί από το 1939. Η δισμουτάση του υπεροξειδίου αποτελεί ένα από τα πιο αποτελεσματικά ενζυμικά ενδοκυτταρικά συστήματα και καταλύει τη μετατροπή ανιόντων υπεροξειδίου σε υπεροξείδιο του υδρογόνου ($2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ = \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$). Η δισμουτάση του υπεροξειδίου έχει αρκετές ισομορφές οι οποίες είναι διαφορετικές ως προς το μέταλλο στο ενεργό κέντρο, τη σύνθεση των αμινοξέων, τον αριθμό των υπομονάδων, τους συμπαράγοντες και άλλα χαρακτηριστικά. Κάθε ισομορφή είναι προϊόν διαφορετικού γονιδίου και διαφορετικής κυτταρικής υπομονάδας, όμως όλα καταλύουν την ίδια αντίδραση (Fukai & Ushio-Fukai, 2011). Οι τρεις μορφές που απαντώνται στον άνθρωπο είναι η

κυτταροπλασματική CuZnSOD, η μιτοχονδριακή MnSOD και η εξωκυττάρια SOD. Η δισμουτάση υπεροξειδίου έχει πολύ υψηλή ταχύτητα αντίδρασης και καταστρέφει τα ανιόντα υπεροξειδίου μέσω της διαδοχικής οξειδωσης και της αναγωγής του μετάλλου του ενεργού κέντρου (Fukai & Ushio-Fukai, 2011)).

Ο μηχανισμός μέσω του οποίου το ανιόν υπερυπεροξειδίου μετατρέπεται σε υπεροξείδιο του υδρογόνου από την δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) περιλαμβάνει την αναγωγή και την επανοξείδωση ενός οξειδοαναγωγικού δραστικού μετάλλου όπως ο χαλκός (Cu) και το μαγγάνιο (Mn) στο ενεργό μέρος του ενζύμου. Φαίνεται λοιπόν ότι η SOD απαιτεί ένα καταλυτικό μέταλλο (Fukai & Ushio-Fukai, 2011).



Εικόνα 3: Μηχανισμοί εκκαθάρισης O₂ από την SOD (Fukai & Ushio-Fukai, 2011)

3.1 Κυτταροπλασματική CuZnSOD (SOD1)

Όσον αφορά την κυτταροπλασματική CuZnSOD, είναι ένα ένζυμο αποτελούμενο από δύο ταυτόσημες υπομονάδες. Στο ενεργό του κέντρο αυτό το ένζυμο φέρει ιόντα χαλκού και ψευδαργύρου και δρα ανεξάρτητα από το pH στο εύρος 5-9,5. Πέρα από το κυτταρόπλασμα απαντάται και στο διάμεσο χώρο των μιτοχονδρίων (Fukai & Ushio-Fukai, 2011). Επίσης μέσα από ανοσοκυτταροχημικές μεθόδους έχει φανεί ότι SOD υπάρχει επίσης και στον πυρήνα, στα λυσοσώματα, στα υπεροξεισώματα αλλά και σε μία μεγάλη ποικιλία κυττάρων (Fukai & Ushio-Fukai, 2011). Το ανθρώπινο γονίδιο της SOD βρίσκεται στο χρωμόσωμα 21. Το γονίδιο αυτό σχετίζεται με το σύνδρομο Down, όπου τα άτομα αυτά λόγω της τρισωμίας έχουν ένα παραπάνω αντίγραφο της SOD1 και 50% μεγαλύτερη λειτουργία από τον διπλοειδή πληθυσμό.

Ωστόσο ένα επιπλέον αντίγραφο γονιδίου ανθρώπινης SOD1 σε διγονιδιακά ποντίκια, τους προκαλεί νευρολογικές διαταραχές και πρόωρη γήρανση. Αν και ο ρόλος της κυτταροπλασματικής SOD δεν έχει διαλευκανθεί ακόμα πλήρως είναι ξεκάθαρο ότι όταν τα επίπεδα της είναι αυξημένα, αυξάνουν το υπεροξειδίο του υδρογόνου το οποίο γίνεται τοξικό. Η πιο γνωστή ανθρώπινη ασθένεια στην οποία η SOD παίζει σπουδαίο ρόλο, είναι η νευροεκφυλιστική ασθένεια, μυοτροφική πλευρική σκλήρυνση (ALS). Περισσότερες από 100 μεταλλάξεις του γονιδίου SOD οδηγούν σε κληρονομούμενες μορφές της ALS αλλά ο μηχανισμός παραμένει ασαφής.

Ο χαλκός (Cu) και ο ψευδάργυρος (Zn) είναι απαραίτητα μέταλλα για την ενζυμική δραστηριότητα της SOD1. Ο ψευδάργυρος συγκεκριμένα συμμετέχει στην σταθερότητα και στην αναδίπλωση της πρωτεΐνης. Η δραστικότητα του αντιοξειδωτικού ενζύμου είναι ανάλογη της ποσότητας του χαλκού που έχει συνδεθεί στην εγγενή θέση χαλκού στο ένζυμο. Ακόμη ο χαλκός δεν αντικαθίσταται από άλλο μέταλλο, ενώ ο ψευδάργυρος μπορεί να αντικατασταθεί από κοβάλτιο και χαλκό και δεν απαιτεί χαμηλές τιμές pH. Είναι πολύ σημαντικό να σημειωθεί ότι γίνεται αναγωγή και επανοξείδωση του χαλκού και του δραστικού μέρους του ενζύμου κατά την δέσμευση του O_2 από την SOD.

Τα ελεύθερα ενδοκυττάρια επίπεδα χαλκού, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, είναι πολύ περιορισμένα, γι' αυτό υπάρχουν οι διαλυτές πρωτεΐνες συνοδοί που μεταφέρουν άμεσα τον χαλκό σε συγκεκριμένο κύτταρικό στόχο και έτσι αυξάνουν την δραστικότητα του. Έχει φανεί ότι η SOD1 αποκτά το ιόν του χαλκού μέσω της αντίδρασης με την κυτοσολική συνοδό πρωτεΐνη χαλκού. Έτσι μία συνοδός πρωτεΐνη χαλκού για την SOD1 αυξάνει την δραστικότητα του. (Fukai & Ushio-Fukai, 2011)

3.2 Μιτοχονδριακή MnSOD (SOD2)

Η μιτοχονδριακή MnSOD αποτελείται από τέσσερις όμοιες υπομονάδες που η κάθε μία περιέχει ένα άτομο μαγγανίου στο ενεργό της κέντρο και εντοπίζεται στην μήτρα του μιτοχονδρίου. Η δράση της περιορίζεται στην εσωτερική μεμβράνη αλλά και στην θεμέλια ουσία των μιτοχονδρίων όπου απομακρύνουν τις ρίζες οξυγόνου (Fukai & Ushio-Fukai, 2011). Το μαγγάνιο είναι απαραίτητο για τη δραστικότητα του ενζύμου και την μετατροπή της ρίζας υπεروπεροξειδίου σε οξυγόνο και υπεροξειδίο του υδρογόνου, με παρόμοιο τρόπο, όπως η SOD1 και SOD3. Συντίθεται στο κυτταρόπλασμα και μεταφέρεται στο μιτοχόνδριο. Όσον

αφορά την δομή της SOD, αυτή αποτελείται από το N τελικό ελικοειδές άκρο με μορφή φουρκέτας και από το C τελικό άκρο. Σε κάθε υπομονάδα και τα δύο αυτά άκρα συνεισφέρουν μόρια σύνδεσης στην καταλυτική θέση του μαγγανίου.

Αντίθετα με την SOD1, η SOD2 δεν παρουσιάζει αναστολή προϊόντος από το H_2O_2 . Επίσης, η SOD2 έχει χρόνο ημίσειας ζωής 5-6 ώρες ενώ η SOD1 έχει 6-10 λεπτά. Η SOD2 είναι ζωτικής σημασίας για την λειτουργία του μιτοχονδρίου και αυτό φάνηκε από πειράματα σε ποντίκια, στα οποία όταν διαρρήχθηκε το γονίδιο της SOD2 αυτά εκδήλωσαν νεογνική θνησιμότητα. Αυτή η κατάσταση προκαλείται από ασθένειες όπως η διατακτική μυοκαρδιοπάθεια και ο νευροεκφυλισμός. Ακόμη σε αντίθεση με την SOD1, η SOD2 έχει ήπια επιλεκτικότητα για το μέταλλο σύνδεσης ανάμεσα στο μαγνήσιο και τον σίδηρο. Παρόλο όμως αυτή την κατάσταση, μόνο η σύνδεση με μαγνήσιο αντιπροσωπεύει την ενεργή μορφή της SOD2. Βλέπουμε λοιπόν μία αυστηρή επιλεκτικότητα για το ιόν μετάλλου. (Fukai & Ushio-Fukai, 2011)

3.3 Εξωκυττάρια SOD (SOD3)

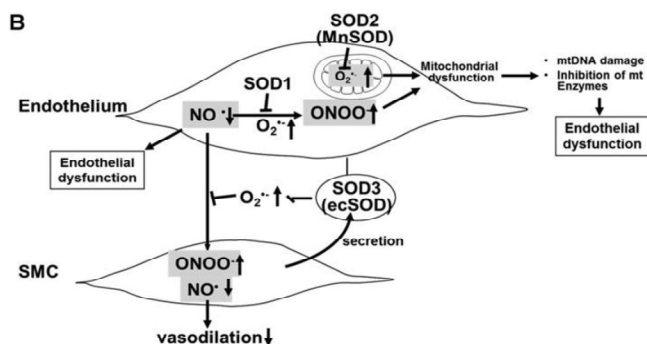
Η εξωκυττάρια SOD είναι μία γλυκοπρωτεΐνη με δύο διμερή συνδεδεμένα με δισουλφίδιο, η οποία αποτελείται από χαλκό και ψευδάργυρο στο ενεργό κέντρο και έχει υψηλή συγγένεια για ορισμένες γλυκοζαμινογλυκάνες, όπως η ηπαρίνη και η θειική ηπαρίνη. Η SOD3 περιέχει ένα κέντρο δέσμευσης της ηπαρίνης όπου συνδέεται ισχυρά το ένζυμο με το εξωκυττάριο πλέγμα (Demchenko, Gutsaeva, Moskvina, & Zhilyaev, 2010). Ο ρυθμιστής της δράσης αυτού του ενζύμου δεν είναι η οξειδωαναγωγική κατάσταση του κυττάρου αλλά οι κυτταροκίνες (Fukai & Ushio-Fukai, 2011). Η SOD3 είναι η βασική SOD στον αγγειακό εξωκυττάριο χώρο. Βρίσκεται κυρίως στην εξωκυττάρια ουσία και στην επιφάνεια του κυττάρου ενώ μικρότερη ποσότητα στο πλάσμα και στα εξωκυττάρια υγρά. Η SOD3 των ιστών αποτελεί το 90-99% της SOD3 στο ανθρώπινο σώμα. Η κατανομή στους ιστούς διαφέρει από είδος σε είδος αλλά γενικά η SOD3 έχει υψηλή έκφραση σε συγκεκριμένους ιστούς όπως τα αιμοφόρα αγγεία, ο πνεύμονας, ο νεφρός, η μήτρα, και σε μικρότερο βαθμό η καρδιά. Εκκρίνεται και εγκαθίστανται στην εξωκυττάρια ουσία και στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων μέσω της σύνδεσης με πρωτεογλυκάνη θειική ηπαρίνης, με κολλαγόνο και με ινουλίνη-5. Κατά συνέπεια, παρόλο που η SOD3 παράγεται κυρίως από τα λεία μυϊκά αγγειακά κύτταρα παρά από τα ενδοθηλιακά, αυτή δεσμεύεται στην εξωκυττάρια ουσία όπως στην θειική ηπαρίνη στα ενδοθηλιακά κύτταρα και μπορεί να ενδοκυτωθεί από αυτά. Η δραστηριότητα της SOD3 είναι

πολύ ευαίσθητη στα κυανιούχα ιόντα όπως και η SOD1. Στον αγγειακό ιστό, η SOD3 συντίθεται κυρίως από λεία μυϊκά κύτταρα και ινοβλάστες. Η SOD3 βρίσκεται επίσης σε φλεγμονώδη κύτταρα, όπως για παράδειγμα στην αθηροσκλήρωση και σε τραυματισμένο ιστό. Η SOD3 φαίνεται να εξαρτάται από τον χαλκό καθώς η δραστηριότητάς της σχετίζεται με την συγκέντρωση χαλκού.

3.3.1 SOD3 και ενδοθήλιο

Η SOD3 των αγγείων βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις ανάμεσα στο ενδοθήλιο και στον λείο μυ, όπου το μονοξείδιο του αζώτου (NO) διεγείρει την χαλάρωση των λείων μυϊκών ινών. Λόγω της εξωκυττάριας θέσης του, το ένζυμο αυτό έχει καταλυτική παρουσία στην προστασία από την καταστροφή του NO που απελευθερώνεται από το ενδοθήλιο. Δεν είναι λίγες οι παθολογικές καταστάσεις, όπως για παράδειγμα η αθηροσκλήρωση, η γήρανση, το κάπνισμα, ο διαβήτης, που σχετίζονται με μείωση της παραγωγής ή/και της δραστηριότητας του NO του ενδοθηλίου. Δεδομένου ότι το ενδοθηλιακό ένζυμο NOS (eNOS) είναι ρυθμιστής της έκφρασης της SOD3, μείωση του μονοξειδίου του αζώτου οδηγεί σε μείωση της έκφρασης της SOD3, αν και υπάρχουν αντικρουόμενες ενδείξεις. Οι Tohru Fukai και Masuko Ushio-Fukai στην μετανάλυση τους υποθέτουν ότι άλλες καταστάσεις που σχετίζονται με μια μακροχρόνια απώλεια NO μπορεί πιθανά να μειώσουν επίσης την έκφραση του SOD3, επηρεάζοντας αρνητικά την αγγειακή οξειδοαναγωγική κατάσταση.

Η φυσική δραστηριότητα, έχει συσχετιστεί με μείωση στην καρδιαγγειακή θνητότητα και θνησιμότητα. Αυτό εξηγείται μέσω της θετικής ρύθμισης του eNOS το οποίο αυξάνει την τοπική παραγωγή NO. Απροσδόκητα, η άσκηση αυξάνει τα επίπεδα οξυγόνου, αυξάνοντας την παραγωγή των ROS και την οξείδωση της LDL πλάσματος. Μέσω της αύξησης του eNOS, αυξάνεται η έκφραση της SOD3 η οποία με την σειρά της θα αντισταθμίσει την αύξηση του οξειδωτικού στρες ως απάντηση στην άσκηση. Συνεπώς η θετική επίδραση της άσκησης στην αγγειοδιαστολή, που εξαρτάται από το ενδοθήλιο, όπως παρατηρήθηκε σε πολλές μελέτες, μπορεί να μην οφείλεται μόνο στην αύξηση της έκφρασης του eNOS αλλά επίσης και στην αύξηση της έκφρασης της SOD3 που χρησιμεύει στην διατήρηση των επιπέδων NO μέσω της μείωσης της αντίδρασης με το O₂.



Εικόνα 4: Η εξωκυττάρια θέση της SOD συμβάλλει στην προστασία του NO από τη ρίζα O_2 (Fukai & Ushio-Fukai, 2011)

3.3.2 SOD3 και αθηροσκλήρωση

Είναι γεγονός ότι στην αθηρογένεση οι λιποπρωτεΐνες και τα αρτηριακά κύτταρα υπόκεινται οξειδωτικές αλλοιώσεις. Όμως ο μηχανισμός των αλλοιώσεων αυτών, όπως η οξείδωση της LDL, δεν είναι ακόμα ξεκάθαρος. Η κατάλυση των μετάλλων μεταπτώσεως όπως ο χαλκός και ο σίδηρος ή η σερουλοπλασμίνη ή ο σχηματισμός ONOO από την αντίδραση NO και O_2 είναι πιθανοί μηχανισμοί που το O_2 τροποποιεί την LDL. Από την άλλη έχει προταθεί ότι το οξυγόνο αντιδρά με ρίζες λιπιδικών υπεροξειδίων ή αλκοξυλίων που σχηματίζονται κατά την οξείδωση των λιπιδίων και τουλάχιστον η τελευταία αντίδραση οδηγεί σε τερματισμό της αλυσίδας. Αυτή η αντίδραση μπορεί να εξισορροπήσει άλλες προοξειδωτικές αντιδράσεις. Η SOD είναι γνωστό ότι καταλύει την μετατροπή του O_2 σε H_2O_2 το οποίο ανάγεται περεταίρω σε H_2O από την καταλάση, την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, και την υπεροξυδεοξίνη. Έτσι η SOD3 φαίνεται να εμπλέκεται στην αθηρογένεση εμποδίζοντας τις οξειδωτικές αλλοιώσεις από το O_2 προλαμβάνοντας της απομάκρυνση του NO και συνεπώς εμποδίζοντας την αναστολή της αγγειοδιαστολής. Τα ευρήματα αυτά αναδεικνύουν την πιθανή προστατευτική δράση της SOD στην αθηροσκλήρωση. Πιο συγκεκριμένα η SOD3 δρα με πολλαπλούς μηχανισμούς στην αθηροσκλήρωση και ακόμα παραμένει ασαφές αν επάγει ή εμποδίζει την εκδήλωση της ασθένειας. Αρχικά, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η SOD3 σχετίζεται με την βιοδιαθεσιμότητα του NO. Δεύτερον, τα επίπεδα έκφρασης και διανομής της SOD3 ελέγχονται από την πρωτεολυτική μετάθεση του κέντρου σύνδεσης της με την ηπαρίνη. Σε αθηροσκληρωτικούς ασθενείς φάνηκε χαμηλή συγγένεια του ενζύμου με την ηπαρίνη. Τρίτον, η δραστηριότητα της SOD3 ρυθμίζεται από το H_2O_2 , το οποίο παράγεται σε αυξημένες ποσότητες από τα

μακροφάγα που είναι πλούσια σε λιπίδια τα οποία επάγουν την παραγωγή ανιόντος υπεροξειδίου και SOD3 και άρα H_2O_2 . Ακόμη, στα λεία μυϊκά κύτταρα η έκφραση του ενζύμου ρυθμίζεται από φλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Πιο συγκεκριμένα ο TNF- α μειώνει την έκφραση της SOD3, ενώ η IL-4 και INF- γ επάγουν την έκφραση του (Fukai & Ushio-Fukai, 2011).

Στην μετανάλυση του Fukai et al φάνηκε ότι σε ποντίκια στα οποία τους έλειπε η SOD3 είχαν διαταραγμένη μεταισχαιμική αγγειογένεση που συσχετίστηκε με μείωση του H_2O_2 καθώς επίσης αύξηση στην παραγωγή υπεροξειδικού ανιόντος και μείωση στο διαθέσιμο NO σε ισχαιμικούς μύες σε οπίσθιο άκρο. Στο ίδιο μοντέλο, όταν μεταφέρθηκε το γονίδιο της SOD3 σε ισχαιμικούς μύες στο οπίσθιο άκρο αυξήθηκε ο μεταβολισμός της γλυκόζης και ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων με αποτέλεσμα την ανάκαμψη του ιστού. Αυτό εξηγείται από την αύξηση της έκφρασης μεταγραφικών παραγόντων όπως AP1, CRE, VEGF-A και κυκλίνη D1. Προτείνεται λοιπόν ότι το H_2O_2 που προέρχεται από την SOD3 συμμετέχει σε σηματοδοτικά μονοπάτια που προάγουν την αγγειογένεση και την ανάπλαση του ιστού.

Το H_2O_2 που προέρχεται από την SOD μπορεί να εμπλέκεται σε παθολογικές καταστάσεις μέσω της αντίδρασης Fenton. Αντιδρώντας με κάποια μέταλλα όπως ο χαλκός ή ο σίδηρος, σχηματίζονται ιδιαίτερα δραστικά μόρια όπως το υδροξύλιο με αποτέλεσμα την φλεγμονή του κυττάρου. Σε προοξειδωτικές καταστάσεις όπως η αθηροσκλήρωση και η υπέρταση, η SOD3 και η SOD1 απενεργοποιούνται πιθανά λόγω της δράσης του H_2O_2 . Αυτό αντιδρά με το κέντρο χαλκού της SOD και έτσι σχηματίζεται ρίζα Cu-OH που οδηγεί σε απενεργοποίηση του ενζύμου. Οι ρίζες αυτές μπορούν να εκκαθαριστούν με μικρά ανιοντικά αντιοξειδωτικά όπως το ουρικό οξύ. Αυτές οι αντιδράσεις συμβαίνουν σε διάφορες ασθένειες όπως η αθηροσκλήρωση. Τέλος, η ρύθμισή της λειτουργία της SOD από το H_2O_2 μας οδηγεί στην ιδέα ότι τα προστατευτικά επίπεδα της SOD, σε παθολογικές καταστάσεις, υπακούουν σε μία βέλτιστη δόση του ενζύμου (Fukai & Ushio-Fukai, 2011).

4.ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ/ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

Η παχυσαρκία ως ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου γεννά συστηματικό οξειδωτικό στρες μέσω διάφορων βιοχημικών μηχανισμών, όπως η παραγωγή ανιόντος υπερωπεροξειδίου από την NADPH οξειδάση, η οξειδωτική φωσφορυλίωση, η αυτοοξειδωση της γλυκεραλδεύδης, η ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C και τα μονοπάτια πολυόλης και εξοζαμίνης. Άλλοι παράγοντες που ενισχύουν το οξειδωτικό στρες σε παχύσαρκα άτομα είναι η υπερλεπτιναιμία, τα χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών, η χρόνια φλεγμονή, και η παραγωγή ελευθέρων ριζών

μεταγευματικά. Παράλληλα διάφορες μελέτες υποστηρίζουν ότι ο λιπώδης ιστός έχει ιδιαίτερο ρόλο στη ρύθμιση παθοφυσιολογικών μηχανισμών της παχυσαρκίας και των ασθενειών που αυτή γεννά (Manna & Jain, 2015a). Κάποιες από αυτές τις παθολογικές καταστάσεις είναι η αντίσταση στην ινσουλίνη και ο διαβήτης, οι καρδιαγγειακές επιπλοκές, οι διαταραχές ύπνου, το άσθμα, τα ογκολογικά προβλήματα, οι επιπλοκές στην αναπαραγωγή και η ηπατική ανεπάρκεια. Επιπρόσθετα, είναι ευρύτατα διαδεδομένη η άποψη ότι ο λιπώδης ιστός διεγείρει την διήθηση μακροφάγων και την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών τα οποία ενισχύουν την αναπνευστική αλυσίδα και αυξάνουν την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου όπως το ανιόν υπερυπεροξειδίου, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, η υδροξυλική ρίζα και το νιτρικό οξύ. Αυτές οι ρίζες οξυγόνου όταν υπερτερούν από τα αντιοξειδωτικά του οργανισμού, προωθούν την κατάσταση του οξειδωτικού στρες. (Morais et al., 2017).

4.1 Το οξειδωτικό στρες ευνοεί την παχυσαρκία

Από τη μία πλευρά το οξειδωτικό στρες είναι αυτό που διεγείρει την παχυσαρκία μέσω της εναπόθεσης λευκού λιπώδους ιστού. Μελέτες σε κυτταροκαλλιέργειες αλλά και μελέτες σε πειραματόζωα έχουν δείξει ότι το οξειδωτικό στρες αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των πρόδρομων λιποκυττάρων, την διαφοροποίηση των λιποκυττάρων αλλά και το μέγεθος τους. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου φαίνεται ότι συμμετέχουν στην διαχείριση του σωματικού βάρους μέσω του ελέγχου των υποθαλαμικών νευρώνων που ελέγχουν τα κέντρα του κορεσμού και της πείνας (Manna & Jain, 2015b).

4.2 Η παχυσαρκία γεννά το οξειδωτικό στρες

Από την άλλη πλευρά, η παχυσαρκία με την σειρά της γεννά το οξειδωτικό στρες. Στην παχυσαρκία το οξειδωτικό στρες συμβάλλει στην εμφάνιση συνοσηρών καταστάσεων. Οι πιθανοί παράγοντες που ενισχύουν το οξειδωτικό στρες είναι η υπεργλυκαιμία, τα αυξημένα επίπεδα λιπιδίων στους ιστούς, οι ανεπάρκειες βιταμινών και ιχνοστοιχείων, η χρόνια φλεγμονή, η υπερλεπτιναιμία, η αυξημένη μυϊκή άσκηση, η δυσλειτουργία του ενδοθελίου, η διαταραγμένη λειτουργία του ενδοθελίου και το διατροφικό πρότυπο. Σημαντική θετική συσχέτιση έχει φανεί ανάμεσα στο BMI και στους δείκτες οξειδωτικού στρες. Επιπρόσθετα,

στους παχύσαρκους έχει φανεί ότι η δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών, όπως η δισμουτάση υπεροξειδίου (CuZn SOD) και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, είναι χαμηλότερη σε σχέση με αυτούς με φυσιολογικό βάρος. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος εμφανίζεται χαμηλότερη στη παχυσαρκία (Manna & Jain, 2015b).

Ένας άλλος δείκτης που επηρεάζεται από την παχυσαρκία και ενισχύει το οξειδωτικό στρες είναι η λεπτίνη. Αυξημένα επίπεδα λεπτίνης στο πλάσμα σχετίζονται με την παχυσαρκία, και αυτά με την σειρά τους επάγουν το οξειδωτικό στρες. Αυτό γίνεται μέσω της ενεργοποίησης των NADPH οξειδασών, ενζύμων που ενισχύουν την παραγωγή δραστικών μορίων όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου και η ρίζα υδροξυλίου. Επιπρόσθετα η λεπτίνη διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των μονοκυττάρων και των μακροφάγων με αποτέλεσμα την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών που επάγουν το οξειδωτικό στρες. Τέλος, η ένωση αυτή περιορίζει την δραστηριότητα του ενδοκυττάριου αντιοξειδωτικού ενζύμου παραοξονάση-1, με αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της 8-isoPGF2a και της MDA (Manna & Jain, 2015b).

Το μιτοχόνδριο κατέχει κεντρικό ρόλο στην παραγωγή ATP, στην κατανάλωση ενέργειας και στην διάθεση των ROS. Η διαδικασία της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης στα μιτοχόνδρια είναι πολύ αποτελεσματική. Ωστόσο κάποιες φορές μια μικρή διαρροή ηλεκτρονίων προκαλεί αναγωγή του οξυγόνου το οποίο μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό τοξικών ελεύθερων ριζών. Υποστρώματα πλούσια σε ενέργεια προκαλούν δυσλειτουργία του μιτοχονδρίου το οποίο σχετίζεται με απορρύθμιση της έκκρισης αδιποκινών, ελαττωματική οξείδωση, αυξημένη παραγωγή ROS και διαταραγμένη ομοιόσταση γλυκόζης (Manna & Jain, 2015b). Όσον αφορά την διατροφή, είναι γνωστό ότι γεύματα πλούσια σε υδατάνθρακες και ελεύθερα λιπαρά οξέα, ίσως συμβάλλουν στο οξειδωτικό στρες μέσω της ρύθμισης των ενδοκυτταρικών μονοπατιών. Αύξηση στα επίπεδα της οξειδωμένης γλυκόζης και στα παράγωγα της οξείδωσης των ελεύθερων λιπαρών οξέων, όπως το ακετυλοσυνένζυμο Α στα κύτταρα, οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή ROS στην μιτοχονδριακή αναπνευστική αλυσίδα (NADPH, FADH2) μέσω της αύξησης παραγωγής ανιόντος του υπερυπεροξειδίου και άλλων δραστικών μορφών οξυγόνου (Morais et al., 2017). Όσον αφορά το ενδοθήλιο των αγγείων, είναι κοινός τόπος ότι είναι πηγή παραγωγής οξειδωτικών συμπεριλαμβάνοντας τα ένζυμα NOX, την οξειδάση της ξανθίνης, και την συνθάση του NO. Η ενεργοποίηση των NOX επάγει την ενδοθηλιακή παραγωγή ανιόντος υπερυπεροξειδίου. Η οξειδάση της ξανθίνης αντιδρά με το οξυγόνο (O_2) προς σχηματισμό ανιόντος υπερυπεροξειδίου (O_2^-) και υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2). Όμως η υπερπαραγωγή ανιόντος υπερυπεροξειδίου επάγει την αντίδραση του με το NO προς σχηματισμό $ONOO^-$ και έτσι μειώνεται η βιοδιαθεσιμότητα του NO και προκαλεί νίτρωση των

πρωτεϊνών και μείωση της διαστολής των αγγείων. Όλες αυτές οι δραστηριότητες μπορούν να τροποποιηθούν από τις κυτταροκίνες και τις ορμόνες τους συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης. Η παχυσαρκία χαρακτηρίζεται από αυξημένες συγκεντρώσεις ορμονών του συστήματος αυτού το οποίο επάγει το οξειδωτικό στρες στα αγγεία μέσα από μηχανισμούς όπως η ενεργοποίηση των NOX, ο σχηματισμός O_2 και η παραγωγή H_2O_2 . Η αυξημένη πίεση στον αυλό του αγγείου από την υπέρταση που σχετίζεται με την παχυσαρκία μπορεί επίσης να διεγείρει τον σχηματισμό O_2^- και ONOO (Manna & Jain, 2015b).

Πιο συγκεκριμένα για την λειτουργία του ενδοθηλίου, στην μετανάλυση της K. Esposito και της ομάδας της φάνηκε η συσχέτιση ανάμεσα στο οξειδωτικό στρες και το μεταβολικό σύνδρομο καθώς τέσσερις από τις πέντε συνιστώσες του μεταβολικού συνδρόμου χαρακτηρίζονται από αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών και διαταραγμένη ενδοθηλιακή λειτουργία. Σε αυτή την έρευνα αξιολογήθηκε το οξειδωτικό στρες και η ενδοθηλιακή λειτουργία σε άτομα με και χωρίς μεταβολικό σύνδρομο. Το οξειδωτικό στρες εκτιμήθηκε μετρώντας τα κυκλοφορούντα επίπεδα της νιτροτυροσίνης, το οποίο είναι προϊόν παραγωγής του υπεροξυνιτρώδους ανιόντος (ONOO), που είναι ένα ισχυρά οξειδωτικό μόριο. Τελικά φάνηκε ότι τα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο έχουν αυξημένο οξειδωτικό στρες σε συνδυασμό με αντίσταση στην ινσουλίνη και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Πιο συγκεκριμένα, τα επίπεδα του υπεροξυνιτρώδους ανιόντος (ONOO) αύξαναν σε συνάρτηση με τις συνιστώσες του μεταβολικού συνδρόμου, γεγονός που καταδεικνύει την στενή συσχέτιση του οξειδωτικού στρες με τις καρδιαγγειακές ασθένειες. Επιπρόσθετα, επειδή η ενδοθηλιακή λειτουργία και η αντίσταση στην ινσουλίνη χειροτέρευαν όσο αυξάνονταν τα επίπεδα του υπεροξυνιτρώδους ανιόντος, συμπεραίνουμε ότι αυτές οι δυο καταστάσεις επηρεάζονται από το οξειδωτικό στρες. Ακόμη, πρόσφατα φάνηκε ότι τα επίπεδα του υπεροξυνιτρώδους ανιόντος ήταν αυξημένα σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο και συσχετίστηκαν με αυξημένη δραστικότητα της NADPH οξειδάσης στα φαγοκύτταρα (Esposito et al., 2006).

Είναι γεγονός ότι στην παχυσαρκία το οξειδωτικό στρες έχει πρωταγωνιστικό ρόλο λόγω της συσσώρευσης λίπους. Επίσης είναι σημαντικό να σημειωθεί, ότι η παραγωγή ROS αυξάνει επιλεκτικά στον λιπώδη ιστό των παχύσαρκων ατόμων συνοδευόμενη από την έκφραση προοξειδωτικών ενζύμων όπως η NADPH οξειδάση και από την μειωμένη παραγωγή αντιοξειδωτικών όπως η υπεροξειδική δισμουτάση, η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Σε μια μελέτη με διάφορα ζωικά μοντέλα παχυσαρκίας, ο Furukawa και η ομάδα του διαπίστωσαν ότι η συσσώρευση υπερβολικού λίπους στο λευκό λιπώδη ιστό

προκάλεσε αύξηση της υπεροξειδωσης λιπιδίων στον ίδιο τον ιστό (Manna & Jain, 2015a). Σε μελέτη ζώων επίσης παρατηρήθηκε ότι η παχυσαρκία αυξάνει την δραστικότητα των NOX και μειώνει την έκφραση του mRNA αλλά και την δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως η SOD, η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης στον λιπώδη ιστό. Είναι ευρύτατα διαδεδομένη η άποψη ότι στην παχυσαρκία υποβόσκει μία ήπια χρόνια φλεγμονή που οφείλεται στο οξειδωτικό στρες. Διάφοροι προφλεγμονώδεις μεταγραφικοί παράγοντες όπως ο πυρηνικός παράγοντας κΒ (NF-κΒ) και η πρωτεΐνη ενεργοποίησης 1 (AP-1), επάγουν την παραγωγή ελεύθερων ριζών προκαλώντας απελευθέρωση φλεγμονωδών κυτταροκινών επάγοντας το οξειδωτικό στρες και εγκαθιστώντας έναν φαύλο κύκλο οξειδωτικού στρες και φλεγμονωδών παραγόντων.

Στους μηχανισμούς που εμπλέκονται στην δημιουργία ROS στην παχυσαρκία, η υπεργλυκαιμία και η αυξημένη μυϊκή δραστηριότητα ξεχωρίζουν τονίζοντας τα υψηλά επίπεδα λιπιδίων, την χρόνια φλεγμονή, την ανεπαρκή αντιοξειδωτική άμυνα και την υπερλεπτιναιμία (Morais et al., 2017).

Στην παχυσαρκία, η αυξημένη μυϊκή δραστηριότητα μπορεί να παράγει μεγάλη ποσότητα ελευθέρων ριζών μέσα από την ενεργοποίηση μεταβολικών οδών, όπως η αυξημένη μεταφορά ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα και η μετατροπή της υποξανθίνης σε ουρικό. Επιπρόσθετα, γρήγορη μεταφορά ηλεκτρονίων κατά την έντονη αναπνοή μπορεί να προκαλέσει διαρροή κάποιων ηλεκτρονίων από την αναπνευστική αλυσίδα. Για αυτούς τους λόγους στα παχύσαρκα άτομα ο ρυθμός κυτταρικής αναπνοής και κατανάλωσης οξυγόνου είναι αυξημένος στον μυϊκό ιστό κατά την φυσική δραστηριότητα. Τα παχύσαρκα άτομα έχουν λιγότερες αντοχές με αποτέλεσμα την αυξημένη ενεργειακή δαπάνη για μια συγκεκριμένη άσκηση. Με άλλα λόγια αύξηση στην μιτοχονδριακή αναπνοή για την παραγωγή ενέργειας σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα λιπιδικής υπεροξειδωσης στα παχύσαρκα άτομα. Τέλος αυξημένα επίπεδα υποξανθίνης παρατηρούνται κατά την φυσική δραστηριότητα τα οποία μετατρέπονται σε ουρικό οξύ με σχηματισμό ανιόντος υπερυπεροξειδίου (Manna & Jain, 2015b).

Εξαιτίας της συσσώρευσης του λίπους προκαλείται βλάβη στα κύτταρα λόγω της πίεσης, που οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή κυτταροκινών όπως ο παράγοντας νέκρωσης TNF-α με αποτέλεσμα την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου στους ιστούς αυξάνοντας τον ρυθμό της λιπιδικής υπεροξειδωσης.

Στην παχυσαρκία οι ανάγκες του μυοκαρδίου είναι αυξημένες με αποτέλεσμα την υψηλή κατανάλωση οξυγόνου και την παραγωγή ανιόντος του υπερυπεροξειδίου, υδροξυλίου και

υπεροξειδίου του υδρογόνου λόγω της ενίσχυσης της αναπνευστικής αλυσίδας εξαιτίας της απώλειας ηλεκτρονίων (Morais et al., 2017) .

5.ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

Το μεταγευματικό οξειδωτικό στρες εμπλέκεται στην παθογένεια(γένεση) των καρδιαγγειακών ασθενειών, του διαβήτη και της κεντρικής παχυσαρκίας, μέσω της LDL λιποπρωτεΐνης που αποτελεί τον κύριο στόχο. Η υπερλιπιδαιμία και η υπεργλυκαιμία, είναι καταστάσεις οι οποίες έχουν συσχετιστεί με την αύξηση του οξειδωτικού στρες το οποίο επηρεάζει τις λιποπρωτεΐνες και το αντιοξειδωτικό προφίλ. Με άλλα λόγια ένα γεύμα πλούσιο σε υδατάνθρακες και λιπίδια οδηγεί στην εμφάνιση μεταγευματικού οξειδωτικού στρες το οποίο προκαλεί οξειδωτικές βλάβες στον οργανισμό. Συνεπώς, τα μακροσυστατικά που περιλαμβάνει η διατροφή μας επιδρούν στην οξειδωτική ισορροπία του οργανισμού. Είτε είναι τα μόρια στόχοι που οδηγούνται προς οξείδωση, είτε είναι σε προοξειδωτική μορφή στη δίαιτα. Οι μεταγευματικές αυτές καταστάσεις έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο αθηροσκλήρωσης και άλλων σχετικών διαταραχών. Μένει ακόμα όμως να διερευνηθεί η σχέση ανάμεσα στην υπερλιπιδαιμία, στην υπεργλυκαιμία, στην υπερινσουλιναίμία και στο οξειδωτικό στρες (Helmut Sies, Stahl, & Sevanian, 2005).

5.1 Υπεργλυκαιμία και οξειδωτικό στρες

Είναι ευρύτατα διαδεδομένη η άποψη ότι η αθηροσκλήρωση είναι από τις επικρατέστερες δευτερογενείς επιπλοκές του σακχαρώδη διαβήτη 2 και της παχυσαρκίας, που συνδέονται άμεσα με την αντίσταση στην ινσουλίνη και την υπεργλυκαιμία. Οι περισσότερες επιδημιολογικές μελέτες καταδεικνύουν την συσχέτιση της μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας και του καρδιαγγειακού κινδύνου. Αναμφίβολα, τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης επάγουν το οξειδωτικό στρες το οποίο έχει τοξική δράση στο ενδοθήλιο των αγγείων, ανεξάρτητα από άλλους καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου όπως η υπερλιπιδαιμία (Helmut Sies et al., 2005). Είναι κοινά παραδεκτό ότι η υπερπροσφορά γλυκόζης στα κύτταρα αυξάνει την γλυκόλυση και τον κύκλο του κιτρικού οξέος οδηγώντας σε υπερπαραγωγή NADH και FADH₂, που είναι γνωστοί δότες ηλεκτρονίων. Σαν αποτέλεσμα αυξάνονται τα πρωτόνια στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων που προκαλούν διαρροή ηλεκτρονίων από το σύμπλεγμα III με

καταληκτικό σημείο την παραγωγή ανιόντος του υπερυπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$). Αυτή η ελεύθερη ρίζα εμποδίζει την αφυδρογονάση της 3-φωσφορικής γλυκεραλδεύδης με αποτέλεσμα των επαναπροσανατολισμό των μεταβολιτών σε 4 εναλλακτικά μονοπάτια :

1. Η γλυκόζη μεταφέρεται στο μονοπάτι της αναγωγάσης σορβιτόλης-αλδόζης (πολυόλης)
2. Η 6-φωσφορική φρουκτόζη μετατοπίζεται στο μονοπάτι της εξοζαμίνης
3. Η φωσφατάση της 3-γλυκεριναλδεύδης παράγει μεθυλγλυοξάλη, η βασική πρόδρομη ένωση σύνθεσης των τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs)
4. Η φωσφορική διυδρόξυ ακετόνη μετατρέπεται σε διακυλογλυκερόλη, η οποία ενεργοποιεί το μονοπάτι της PKC

Η ενεργοποίηση αυτών των εναλλακτικών μονοπατιών ενισχύει το οξειδωτικό στρες μέσω της παραγωγής ROS/RNS ή μέσω της διαταραγμένης αντιοξειδωτικής άμυνας. Σε αρκετές μελέτες σε ζώα έχει φανεί, ότι η ενεργοποίηση του μονοπατιού της πολυόλης προκαλεί εξάντληση των αποθεμάτων του NADPH και αυξάνει την μετατροπή της γλυκόζης σε σορβιτόλη, διαδικασία η οποία ενεργοποιεί διάφορα στρεσογόνα γονίδια και προκαλεί οξειδωτικό στρες. Ο σχηματισμός της 6-φωσφορικής γλυκοζαμίνης, στο μονοπάτι της εξοζαμίνης, εμποδίζει την δραστηριότητα της θειορεδοξίνης και επάγει το οξειδωτικό και ενδοπλασματικό [endoplasmic reticulum (ER)] στρες. Τα τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs) και η PKC διεγείρουν την παραγωγή ROS/RNS μέσω της ενεργοποίησης του NOX και του NF-κB. Τα AGEs συνδέονται σε συγκεκριμένους υποδοχείς στην επιφάνεια των κυττάρων μεταβάλλοντας τη σηματοδότηση του κυττάρου και προκαλώντας επιπλέον παραγωγή ROS. Ακόμη, η ενεργοποίηση του NF-κB οδηγεί σε μεταγραφή μορίων προσκόλλησης (E-σελεκτίνη, ενδοθηλίνη-1), προφλεγμονωδών κυτταροκινών (TNF- α , ιντερλευκίνη-6), iNOS και microRNAs που εμπλέκονται στον σχηματισμό λιποκυττάρων, φλεγμονής και οξειδωτικού στρες. Όπως έχει ήδη αναφερθεί η ενεργοποίηση της ομάδας ενζύμων NOX αυξάνει την παραγωγή του ανιόντος υπερυπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$) μέσω της σύζευξής του οξυγόνου με τα ελεύθερα ηλεκτρόνια που παρέχει η NADPH κατά μήκος της μεμβράνης του κυττάρου. Τέλος, η αυτοοξείδωση της γλυκόζης επίσης παράγει δραστικά οξειδωτικά όπως με το υδροξύλιο και το ανιόν υπερυπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$) (Manna & Jain, 2015b).

Ο Ceriello και η ομάδα του παρατήρησαν αυξημένα οξειδωτικά προϊόντα (νιτροτυροσίνη) καθώς επίσης και ενεργοποίηση του ενδοθηλίου [ενδοκυτταρικά μόρια προσκόλλησης (ICAM), μόρια προσκόλλησης σε αγγεία (VCAM) E-σελεκτίνη] μετά από OGTT τεστ. Το OGTT τεστ συσχετίστηκε επίσης με μειωμένη μεταγευματική ενδοθηλιακή λειτουργία και με αυξημένη λιπιδική υπεροξείδωση [μαλονδιαλδεύδη (MDA)]. Η οξεία υπεργλυκαιμία συσχετίστηκε επίσης

με χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος, χαμηλά επίπεδα βιταμίνης C και αργινίνης (πρόδρομη ένωση του NO), μαζί με αυξημένο μεταγευματικό οξειδωτικό στρες. Άλλες μελέτες εκτίμησαν την επίδραση της έγχυσης αντιοξειδωτικών ταυτόχρονα με γεύμα πλούσιο σε υδατάνθρακες. Μία από αυτές ήταν του Cariello και της ομάδα του, όπου βρήκαν ότι η χορήγηση γλουταθειόνης ή η πρόδρομη θεραπεία με στατίνες, που έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες, κατά την διάρκεια OGTT τεστ, εκμηδένισαν την πρόκληση οξειδωτικού στρες και το διαταραγμένο ενδοθήλιο σε φυσιολογικούς αλλά και σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Ο Title και η ομάδα του παρατήρησαν ότι το OGTT τεστ οδήγησε σε μειωμένη μεταγευματική λειτουργία του ενδοθηλίου, η οποία αποτράπηκε από την ταυτόχρονη χορήγηση αντιοξειδωτικών βιταμινών όπως βιταμίνη C και E. Παρόμοια ο Xiang και η ομάδα του έδειξαν ότι η έγχυση α-λιποικού οξέος μαζί με πρότυπο OGTT τεστ παρεμπόδιζε την λιπιδική υπεροξείδωση και τη μείωση της αγγειοδιαστολής (flow-mediated) που παρατηρείται στο OGTT τεστ μόνο του. Είναι αξιοσημείωτο ότι η παρουσία αντιοξειδωτικών δεν επηρέασε την διάρκεια της μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας και υποστηρίζει την υπόθεση ότι το οξειδωτικό στρες συνδέει την οξεία υπεργλυκαιμία με την διαταραγμένη μεταγευματική ενδοθηλιακή λειτουργία και ακεραιότητα.

Παρομοίως, η μεταγευματική επίδραση ενός γεύματος πλούσιου σε υδατάνθρακες διερευνήθηκε σε άτομα με διαταραγμένο μεταβολισμό γλυκόζης όπως διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης (IGT) ή σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Όλες οι μελέτες που ασχολήθηκαν με αυτόν τον πληθυσμό-στόχο έδειξαν ομόφωνα ότι ένα γεύμα πλούσιο σε υδατάνθρακες αυξάνει τους δείκτες οξειδωτικού στρες και επηρεάζει την ενδοθηλιακή λειτουργία για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και με σημαντικότερες επιπτώσεις. Για παράδειγμα ο Kawano και η ομάδα του παρατήρησαν σημαντική μεταγευματική αύξηση των TBARS και εξασθενημένη διαστολή της αρτηρίας του βραχίονα μετά από OGTT τεστ σε άτομα με διαταραγμένη ανοχή στην γλυκόζη και διαβήτη τύπου 2, ενώ στους υγιείς δεν παρατηρήθηκαν αυτές οι αλλαγές. Επίσης ο Xiang παρατήρησε το ίδιο για άτομα με διαταραγμένη ανοχή στην γλυκόζη και όπως ο Kawano, συσχέτισαν θετικά το μεταγευματικό οξειδωτικό στρες με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Κλείνοντας δεν μπορούμε να εξάγουμε κάποια δυνατή αιτιολογική σχέση ανάμεσα στην υπεργλυκαιμία, το μεταγευματικό οξειδωτικό στρες και την ενδοθηλιακή λειτουργία στους υγιείς λόγω της έλλειψης μελετών που αξιολογούν ταυτόχρονα αυτά τα δύο συμβάντα. Ωστόσο, βλέποντας ότι η ταυτόχρονη έγχυση αντιοξειδωτικών προλαμβάνει την επιβλαβή δράση του οξειδωτικού στρες και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, μετά από φόρτιση με γλυκόζη, ίσως μπορούμε να υποθέσουμε ότι η οξεία υπεργλυκαιμία επάγει τον σχηματισμό

οξειδωτικών μορίων που διαταράσσουν την ενδοθηλιακή λειτουργία (Lacroix, Rosiers, Tardif, & Nigam, 2012).

5.2 Αυξημένα επίπεδα λιπιδίων και οξειδωτικό στρες

Η λιπιδική υπεροξείδωση, είναι μία αλυσιδωτή αντίδραση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων των μεμβρανών, η οποία διαφεύγει την αντιοξειδωτική άμυνα και οδηγεί στην παραγωγή ουσιών που αλλάζουν την διαπερατότητα, την ρευστότητα και την ακεραιότητα καθώς επίσης και τοξικών προϊόντων όπως η μηλονυλοδιαλδεύδη. Πιο συγκεκριμένα, υψηλή πρόσληψη λιπιδίων από την δίαιτα συμβάλλει στην οξείδωση τους στο ήπαρ, ευνοώντας την εγκατάσταση του οξειδωτικού στρες. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγές στο μιτοχονδριακό DNA κατά την οξειδωτική φωσφορυλίωση των μιτοχονδρίων, προκαλώντας δομικές αλλαγές και έλλειμμα ATP. Επιπρόσθετα, τα λιπαρά οξέα με διπλούς δεσμούς είναι πιο ευάλωτα στις οξειδωτικές αντιδράσεις και συνεπώς στην λιπιδική υπεροξείδωση (Morais et al., 2017).

Η παραγωγή του ανιόντος υπερωπεροξειδίου (O_2^-), λόγω των αυξημένων επιπέδων ελεύθερων λιπαρών οξέων, οφείλεται στην παρεμπόδιση της μετατόπισης των νουκλεοτιδίων αδενίνης στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στο μιτοχόνδριο. Σε καλλιέργεια αγγειακών κυττάρων φάνηκε ότι τα ελεύθερα λιπαρά οξέα ρυθμίζουν την παραγωγή δραστικών ενδιάμεσων μορίων μέσω της ενεργοποίησης των ενζύμων NOX από την πρωτεϊνική κινάση C (PKC). Τα συζευγμένα λιπαρά οξέα είναι ευαίσθητα στην οξείδωση, διεγείρουν τον σχηματισμό ριζών και επάγουν την συσσώρευση οξειδωτικών παραπροϊόντων. Επίσης οι αυξημένες συγκεντρώσεις λιπιδίων σε παχύσαρκα άτομα μπορεί να αποτελούν στόχο της οξειδωτικής τροποποίησης από τα ROS. Επίσης η πρόσληψη συγκεκριμένων λιπιδίων μέσω της διατροφής επάγει το οξειδωτικό στρες. Πιο συγκεκριμένα, η κατανάλωση συζευγμένου λινολενικού οξέος αυξάνει την συγκέντρωση της 8-epi-PGF2a (ισοπροστάνιο που παράγεται από την οξείδωση των φωσfolιπιδίων από τις ρίζες οξυγόνου) στους μεσήλικες άντρες με κοιλιακή παχυσαρκία (Manna & Jain, 2015a). Με άλλα λόγια ένα γεύμα πλούσιο σε οξειδωμένα ή εν δυνάμει οξειδώσιμα λιπίδια αυξάνει την λιπιδική υπεροξείδωση του πλάσματος, η οποία ανιχνεύεται με ευαίσθητες τεχνικές χημειοφωτάυγειας. Η αύξηση αυτή οφείλεται στην ευαισθησία της LDL στην οξείδωση λόγω της διαταραγμένης δομής του κυττάρου. Στις κοινωνίες δυτικού τύπου με την πληθώρα τροφής, ο ανθρώπινος οργανισμός το μεγαλύτερο μέρος της ημέρας βρίσκεται σε μεταγευματική κατάσταση. Στη φάση αυτή υπάρχει συσσώρευση λιποπρωτεϊνών πλούσιων σε τριγλυκερίδια λόγω της μειωμένης κάθαρσης των υπολειμμάτων των χυλομικρών. Έτσι τα

υπολείμματα χυλομικρών, στα άτομα που βρίσκονται συχνά σε μεταγευματική φάση, είναι μονίμως αυξημένα στην κυκλοφορία. Όμως αυξημένα επίπεδα λιπιδίων και λιποπρωτεϊνών σχετίζονται με εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου. Ωστόσο πρέπει να ερευνηθεί καλύτερα η συσχέτιση της μεταγευματικής κατάστασης με τις αγγειακές ασθένειες (Sies et al., 2005).

Μία άλλη επίδραση της πρόσληψης των λιπιδίων τα οποία είναι πλούσια σε υπεροξειδία, είναι η παραγωγή προϊόντων οξείδωσης. Τα προϊόντα αυτά δεν επάγουν άμεσα την υπεροξειδωση των λιπιδίων αλλά προκαλούν κυτταρική βλάβη και φλεγμονώδεις αποκρίσεις που έμμεσα επάγουν την οξείδωση στα όργανα ιστούς και κυρίως στους ιστούς του γαστρεντερικού σωλήνα. Μία άλλη ομάδα μορίων, οι οξυστερόλες, που είναι προϊόντα οξείδωσης της χοληστερόλης, συμπεριφέρονται παρόμοια με τα υπεροξειδία των λιπιδίων γιατί και αυτά απορροφώνται από τα λεμφαγγεία, αν και σε μικρότερο ποσοστό από την χοληστερόλη. Γι' αυτό και οι οξυστερόλες μπορεί να θεωρηθούν ως δείκτες οξειδωτικού στρες με την λήψη λιπαρού γεύματος. Επιπρόσθετα, οι οξυστερόλες και άλλα προϊόντα λιπιδικής υπεροξειδωσης προωθούν τις κυτταροτοξικές απαντήσεις που συμβάλλουν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών και στην περαιτέρω λιπιδική υπεροξειδωση. Η επαγωγή των κυτταροκινών και η ενεργοποίηση των φλεγμονωδών κυττάρων από τις οξυστερόλες αντιπροσωπεύει ένα μηχανισμό κατά τον οποίο τα προϊόντα λιπιδικής υπεροξειδωσης του γεύματος προκαλούν το μεταγευματικό οξειδωτικό στρες. Το λίπος της διατροφής επίσης αλληλοεπιδρά με μεταγραφικούς παράγοντες ευαίσθητους στα θρεπτικά συστατικά, οι οποίοι εμπλέκονται σε αρκετά μεταβολικά μονοπάτια. Έτσι αλλαγές στα λιπαρά οξέα επηρεάζουν διάφορα μονοπάτια. Ένας τέτοιος μεταγραφικός παράγοντας είναι ο NF-kB που η δράση του επηρεάζεται από τα θρεπτικά συστατικά της διατροφής (Helmut Sies et al., 2005).

Η υπερχοληστερολαιμία είναι μία παθοφυσιολογική κατάσταση που οδηγεί σε διαταραγμένη παραγωγή NO ευνοώντας την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, καθώς η αγγειοδιαστολή εξαρτάται άμεσα από το μονοξείδιο του αζώτου (NO). Τα υψηλά επίπεδα χοληστερόλης παρεμποδίζουν τη δραστηριότητα της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου λόγω ελαττωματικής σηματοδότησης στα κύτταρα με αυξημένη χοληστερόλη, είτε μέσω της διαταραγμένης μεταμεταφραστικής τροποποίησης του ενζύμου και της συζευγμένης πρωτεΐνης, είτε μέσω της αρνητικής ρύθμισης πρωτεϊνών που σχετίζονται άμεσα με την χοληστερόλη. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν για την λιπιδική υπεροξειδάση και άλλες οξειδωτικές ρίζες.

Ο Vogel και οι συνεργάτες ανέφεραν ότι η αγγειοδιαστολή μειώθηκε περίπου 50% στις δύο ώρες και 70% στις 4 ώρες μετά από ένα γεύμα πλούσιο σε λίπος. Από την άλλη ένα γεύμα

φτωχό σε λίπος ή υψηλό σε λίπος συνοδευμένο με 1 g βιταμίνη C και 800 IU βιταμίνη E δεν επηρέασε την αγγειοδιαστολή. Τα επίπεδα τριγλυκεριδίων δύο ώρες μετά το γεύμα σχετίζονται αντίστροφα με την αγγειοδιαστολή μετά από γεύμα πλούσιο ή φτωχό σε λίπος. Μετά τη χορήγηση γεύματος πλούσιου σε λίπος μαζί με αντιοξειδωτικά φάνηκε ότι, η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου που συμβαίνει κανονικά μετά από 4 ώρες σε υγιή άτομα με φυσιολογικές τιμές χοληστερόλης, παρεμποδίστηκε. Είναι γνωστό ότι στα υπερλιπιδαιμικά άτομα, και συγκεκριμένα στην μεταγευματική φάση η ενδοθηλιακή αγγειοδιαστολή είναι διαταραγμένη. Η μεταγευματική υπερτριγλυκεριδαιμία είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας για την πρόωγη εμφάνιση αθηροσκλήρωσης (Helmut Sies et al., 2005).

5.3 Διατροφικά αντιοξειδωτικά

Κατά την διάρκεια της πέψης και της απορρόφησης της τροφής τα αντιοξειδωτικά ένζυμα αναλαμβάνουν δράση. Η μεταγευματική αύξηση του οξειδωτικού στρες και των προϊόντων οξείδωσης των λιπιδίων περιορίζεται όταν το γεύμα με οξειδωμένα λιπαρά οξέα περιέχει και κόκκινο κρασί ή προκυανιδίνες. Οι προκυανιδίνες βρίσκονται στα φυτά στο κρασί, σε συγκεκριμένα σταφύλια, στο κακάο, στο φλοιό πεύκου και στο πράσινο τσάι. Για παράδειγμα, το κόκκινο κρασί προστάτεψε τους διαβητικούς ασθενείς από το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από την διατροφή. Αυτό σημαίνει ότι το εύρος του οξειδωτικού στρες μπορεί να μεταβληθεί από διατροφικά συστατικά όπως οι προκυανιδίνες. Με αφορμή αυτό, έχει προταθεί ότι οι αγγειακές επιπλοκές μπορεί να βελτιωθούν από τα διαιτητικά αντιοξειδωτικά. Μελέτες παρέμβασης έδειξαν ότι δείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου επηρεάζονται από την κατανάλωση τροφίμων πλούσιων σε πολυφαινόλες. Εκτός του κρασιού υπάρχουν και άλλες σημαντικές πηγές διαιτητικών φλαβονοειδών όπως το κακάο και τα σχετικά προϊόντα, το τσάι και πολλά φρούτα και λαχανικά. Κακάο υψηλής περιεκτικότητας σε φλαβονοειδή, μπορεί να αντιστρέψει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία σε άτομα που βρίσκονται σε κίνδυνο για καρδιαγγειακές ασθένειες και να μειώσει την συγκέντρωση του F2 ισοπροστανίου στο πλάσμα. Παρόμοια το τσάι και ο χυμός από κόκκινο σταφύλι αναστέλλει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και μειώνει την επιδεκτικότητα της LDL χοληστερόλης σε οξείδωση. Πρόσφατα σε μελέτες για την κατανάλωση τσαγιού, προτάθηκε ότι οι επιδράσεις στην ενδοθηλιακή λειτουργία δεν οφείλονται σε αντιοξειδωτικές ή αντιφλεγμονώδεις δράσεις. Από την άλλη πλευρά υπάρχουν ξεκάθαρες επιδράσεις των πολυφαινολών του κακάου στην επαγωγή

φλεγμονωδών μεσολαβητών. Σε ένα πειραματικό μοντέλο φλεγμονής σε ποντίκια τα οποία είχαν βλάβη στο ήπαρ επαγόμενη από το αλκοόλ, εκχυλίσματα κακάου φάνηκαν να είναι προστατευτικά.

Αυτές οι παρατηρήσεις, *in vivo* και *in vitro* αναδεικνύουν την ικανότητα της διατροφής να διαμορφώσει την μεταγευματική απόκριση που οδηγεί σε προαθηρογονικές καταστάσεις. Είναι φανερό από την βιβλιογραφία μέχρι σήμερα, ότι τα αντιοξειδωτικά είναι απαραίτητα για την προστασία από το οξειδωτικό στρες των μεταγευματικών σακχάρων και λιπών. Όλα τα αντιοξειδωτικά είναι εξίσου σημαντικά. Όμως μία μεγάλη ποικιλία πολυφαινολών από τα φυτά φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικά διατροφικά αντιοξειδωτικά, ειδικά όταν καταναλώνονται με γεύματα πλούσια σε λίπος (Helmut Sies et al., 2005).

Β' ΕΝΟΤΗΤΑ : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6. ΣΚΟΠΟΣ

Με σκοπό να αναδειχτούν διαφορές μεταξύ της απόκριση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών μετά από φορτίσεις γλυκόζης σε νορμοβαρείς και παχύσαρκους εθελοντές η παρούσα πτυχιακή εργασία μελετάει την επίδραση της υπεργλυκαιμίας μετά από φόρτιση γλυκόζης 75 g στη δραστηριότητα της υπεροξειδικής δισμουτάσης πλάσματος (SOD3) νέων (20-40), φαινομενικά υγιών εθελοντών φυσιολογικού ΔΜΣ (18-25 kg/m²) σε σχέση με την αντίστοιχη επίδραση σε νέους, φαινομενικά υγιείς εθελοντές με ΔΜΣ >30 kg/m² (παχύσαρκοι).

7. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

7.1 Πρωτόκολλο μελέτης

7.1.1. Σχεδιασμός μελέτης – Εθελοντές

Στρατολογήθηκαν 11 φαινομενικά υγιείς εθελοντές με φυσιολογικό ΔΜΣ ($18-25 \text{ kg/m}^2$) και 8 φαινομενικά υγιείς εθελοντές με ΔΜΣ $>30 \text{ kg/m}^2$ (παχύσαρκοι). Οι εθελοντές ήταν άνδρες ή γυναίκες στο ηλικιακό εύρος 20-40 ετών. Για τις γυναίκες η αιμοληψία έλαβε χώρα τις πρώτες 7-10 ημέρες του κύκλου. Οι φυσιολογικοί εθελοντές έπρεπε να έχουν φυσιολογική αρτηριακή πίεση (Συστολική Αρτηριακή Πίεση $\leq 130 \text{ mmHg}$ και Διαστολικοί Αρτηριακή Πίεση $\leq 85 \text{ mmHg}$), με επίπεδα γλυκόζης νηστείας $\leq 100 \text{ mg/dl}$, επίπεδα ολικής χοληστερόλης $\leq 200 \text{ mg/dl}$, επίπεδα τριακυλογλυκερολών $\leq 150 \text{ mg/dl}$, και χωρίς ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου. Οι εθελοντές φυσιολογικού ΔΜΣ ($18-25 \text{ kg/m}^2$) έπρεπε να έχουν περιφέρεια μέσης $\leq 102 \text{ cm}$. Επιπλέον, τα άτομα της μελέτης ήταν μη καπνιστές. Για την στρατολόγηση των εθελοντών χρησιμοποιήθηκε συγκεκριμένο ερωτηματολόγιο στρατολόγησης. Επίσης, πριν την είσοδο των εθελοντών στο πρωτόκολλο οι εθελοντές συμπλήρωσαν ερωτηματολόγια φυσικής δραστηριότητας και διατροφικών συνθηκών. Οι εθελοντές ήταν μη ενεργά άτομα ή κατ'ελάχιστο ενεργά άτομα σύμφωνα με τη κατάταξη του ερωτηματολογίου IPAQ. Επιπλέον δεν λάμβαναν, για τουλάχιστον 2 μήνες, ασπιρίνη, ορμόνες, συμπληρώματα διατροφής, αντιυπερτασικά και υπολιπιδαιμικά φάρμακα.

Το παρόν ερευνητικό πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου, ενώ απαραίτητη προϋπόθεση για την συμμετοχή των εθελοντών στην παρούσα μελέτη ήταν η υπογραφή συμφωνητικού εθελοντικής συμμετοχής, όπου αναφερόταν αναλυτικά ο σκοπός της μελέτης και οι υποχρεώσεις του εθελοντή και του ερευνητή.

Οι εθελοντές, ενημερώθηκαν για τους σκοπούς της μελέτης και υπέγραψαν το πρωτόκολλο εθελοντικής συμμετοχής, προσήλθαν στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο μετά από δωδεκάωρη νηστεία και κατανάλωσαν πόσιμο διάλυμα γλυκόζης περιεκτικότητας $75 \text{ g}/200 \text{ ml}$ νερού. Το προηγούμενο βράδυ, οι εθελοντές, ακολούθησαν συγκεκριμένης σύστασης γεύμα, 600 Kcal για τις γυναίκες και 750 Kcal για τους άνδρες, περιεκτικότητας 50% σε υδατάνθρακες, 20% σε πρωτεΐνες και 30% σε λιποειδή (το ακριβές διαιτολόγιο συντάχθηκε και δόθηκε στους εθελοντές από διαιτολόγο) και μετά από 12ωρη νηστεία προσήλθαν στο χώρο του Πανεπιστημίου. Αρχικά, πραγματοποίησαν ανθρωπομετρήσεις (βάρος, ύψος, περιφέρεια

μέσης) και μέτρηση της αρτηριακής πίεσης. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε αιμοληψία πριν από οποιαδήποτε παρέμβαση με τη βοήθεια φλεβοκαθετήρα και στην συνέχεια οι εθελοντές κατανάλωσαν το έτοιμο διάλυμα γλυκόζης μέσα σε διάστημα 5 λεπτών και ακολούθησαν αιμοληψίες στα 15, 30, 60, 90, 120, 180 και 240 λεπτά μετά από την έναρξη της πρόσληψης του διαλύματος. Η αιμοληψίες έγιναν από ειδικά εκπαιδευμένο προσωπικό, παρουσία ιατρού. Σε κάθε χρονική στιγμή απομονώθηκαν κατάλληλα βιολογικά δείγματα (ορός, πλάσμα, πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια, ομογενοποίημα αιμοπεταλίων) στο οποίο έγιναν κατάλληλες βιοχημικές μετρήσεις όπως αναφέρεται παρακάτω.

7.1.2 Σωματομετρικές μετρήσεις

Το σωματικό βάρος των εθελοντών μετρήθηκε με ελαφρύ ρουχισμό και χωρίς υποδήματα, σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας. Το ύψος μετρήθηκε με τη χρήση εντοιχισμένου αναστημόμετρου σε όρθια στάση, χωρίς παπούτσια και με ακρίβεια 0,5 cm. Οι μετρήσεις αυτές έγιναν εις διπλούν. Επίσης υπολογίστηκε ο μέσος όρος του βάρους και του ύψους για κάθε εθελοντή, από όπου και στη συνέχεια υπολογίστηκε ο ΔΜΣ ως το πηλίκο του βάρους (σε kg) προς το τετράγωνο του ύψους (σε m). Επιπλέον μετρήθηκε η περιφέρεια μέσης και η περιφέρεια ισχίου, ενώ υπολογίστηκε και το πηλίκο της περιφέρειας μέσης ως προς την περιφέρεια ισχίου.

7.1.3 Διατροφική αξιολόγηση

Οι διατροφικές συνήθειες των εθελοντών αξιολογήθηκαν με την βοήθεια 2 μεθόδων καταγραφής της διατροφικής πρόσληψης: α) Ανάκληση εικοσιτετράωρου. Στην παρούσα έρευνα, στους εθελοντές πραγματοποιήθηκαν τρεις ανακλήσεις 24ώρου, 2 που αφορούν καθημερινές και μία για ημέρα του Σαββατοκύριακου, β) Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων (FFQ). Χρησιμοποιήθηκε έγκυρο ημιποσοτικό ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (Panagiotakos, Pitsavos, Arvaniti, & Stefanadis, 2007).

7.1.4 Αξιολόγηση φυσικής δραστηριότητας

Για την αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας των εθελοντών χρησιμοποιήθηκε το ερωτηματολόγιο IPAQ (International Physical Activity Questionnaire). Το ερωτηματολόγιο IPAQ επιτρέπει την κατηγοριοποίηση των ερωτώμενων σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας: α) Μη ενεργά άτομα- καθιστική ζωή, β) Κατ' ελάχιστο ενεργά άτομα

και γ) Ενεργό άτομο με επίπεδα φυσικής δραστηριότητας ικανά για την προαγωγή της υγείας (Hagströmer, Oja, & Sjöström, 2006).

7.2 Συλλογή βιολογικών δειγμάτων

Όλες οι αιμοληψίες έγιναν σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο του Εργαστηρίου Διατροφής και Κλινικής Διατροφολογίας από έμπειρο προσωπικό και παρουσία γιατρού. Σε κάθε αιμοληψία λαμβάνονταν 26 ml αίματος. Από αυτά τα 10 ml χρησιμοποιούνταν για την απομόνωση του ορού (vacutainers ορού), 1 ml για τη γενική αίματος (vacutainers με αντιπηκτικό EDTA), 5 ml για απομόνωση πλάσματος και ερυθροκυττάρων, 6 ml για την απομόνωση λευκοκυττάρων (vacutainer με Lithium Heparin) και 4 ml για την απομόνωση αιμοπεταλίων (vacutainer με κιτρικό νάτριο). Σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές (0, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240 min) μετά τη λήψη του πόσιμου διαλύματος γλυκόζης, παραλαμβάνεται αίμα με φλεβοκαθετήρα το οποίο διαμοιράζεται σε κατάλληλα σωληνάρια κενού (vacutainers) με σκοπό να απομονωθεί ορός, πλάσμα, και πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (platelet-rich plasma). Ένα μέρος του PRP χρησιμοποιείται άμεσα για τη μέτρηση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων (αναφέρεται παρακάτω) και το υπόλοιπο για την απομόνωση ομογενοποιημένου αιμοπεταλίων με κατάλληλες φυγοκεντρήσεις. Η συνολική ποσότητα αίματος που απαιτείται μετά το πέρας του συνόλου της δοκιμασίας είναι 200 ml αίματος (8 αιμοληψίες x 25 ml ανά αιμοληψία). Ο απομονωμένος ορός, το πλάσμα και το ομογενοποίημα αιμοπεταλίων μοιράστηκαν σε σωλήνες errendorfs και αποθηκεύτηκαν στους -80°C .

7.3 Απομόνωση πλάσματος

Όργανα

-Φυγόκεντρος (Avanti 30 centrifuge, Beckman)

Διαδικασία

Το ολικό αίμα (6ml) που έμεινε από τη γενική αίματος στο vacutainer με EDTA φυγοκεντρήθηκε στα 1500 g, επί 10 λεπτά, στους 15°C . Το υπερκείμενο πλάσμα που παραλήφθηκε, μοιράστηκε σε σωλήνες τύπου errendorfs και φυλάχθηκε στους -80°C .

7.4 Προσδιορισμός SOD στο πλάσμα

7.4.1.1 Αρχή μεθόδου

Οι SOD είναι μεταλλοένζυμα που καταλύουν την οξειδοαναγωγή του ανιόντος υπεροξειδίου σε μοριακό οξυγόνο και έτσι παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στον αντιοξειδωτικό αμυντικό μηχανισμό του κυττάρου. Η οξειδάση της ξανθίνης καταλύει την αντίδραση της ξανθίνης με το οξυγόνο, δίνοντας υπεροξείδιο με ρυθμό $1 \mu\text{M}/\text{min}$. Αυτό αντιδρά με το ferricytochrome c και το ανάγει σε ferrocycytochrome c, προκαλώντας αύξησης της απορρόφησης στα 550 nm, με αύξηση του συντελεστή μοριακής απορρόφησης κατά 20.000 cm^{-1} (από 9000 στα 29000 cm^{-1}). Η παρουσία SOD στο μίγμα της αντίδρασης μειώνει την παραγωγή O_2^- και συνεπώς την αναγωγή του κυτοχρώματος c σε βαθμό τόσο μεγαλύτερο όσο και η δραστηριότητα της SOD.

7.4.1.2 Όργανα/υλικά

Φωτόμετρο (Spectrophotometer Pharmacia Biotech, Novaspec II)

Κυψελίδες 1 ml

7.4.1.3 Διαλύματα

- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού καλίου 0,05M, pH 7,8: Ζυγίζονται 3,40g KH_2PO_4 και διαλύονται σε 500ml απιονισμένο H_2O . Η ρύθμιση του pH γίνεται με δ/μα KOH 1N.
- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού καλίου 0,05M, pH 7,8/EDTA 0,1mM: Ζυγίζονται 0,0093g EDTA και διαλύονται σε 250ml ρυθμιστικού δ/τος φωσφορικού καλίου 0,05M, pH 7,8. Η ρύθμιση του pH γίνεται με δ/μα KOH 1N.
- Διάλυμα KOH 4N: Ζυγίζονται 11,222 g KOH (MW=56) σε 50mL H_2O
- Stock διάλυμα κυτόχρωμα c 1mM: Ζυγίζονται 250mg κυτοχρώματος c (MW= 13000) σε 19,23 mL ρυθμιστικού δ/τος φωσφορικού καλίου 0,05M, pH 7,8. Φυλάσσεται στους -20°C .
- Διάλυμα ξανθίνης 1mM: Ζυγίζονται 0,0174g και διαλύονται σε 100mL ρυθμιστικού δ/τος KH_2PO_4 0,05M, pH 7,8. Φυλάσσεται στους -20°C .
- Stock δ/μα οξειδάσης της ξανθίνης 3 units/ml: Η αρχική συγκέντρωση του προϊόντος είναι 32 units/ml. Αναδιάλυση σε όγκο 2,1 ml με ρυθμιστικό δ/μα PBS/EDTA. Φυλάσσεται στους -20°C .

- Working δ/μα οξειδάσης της ξανθίνης 0,3 units/ml: αραιώσης 1:10 του stock δ/τος.
- Στερεό sodium dithionate
- SOD assay cocktail: Σε 141 ml ρυθμιστικού δ/τος φωσφορικού καλίου 0,05M, pH 7,8/EDTA 0,1 mM προστίθενται 7,5ml stock δ/τος ξανθίνης. Προστίθενται 1,5ml δ/μα κυτοχρώματος c. Ελέγχεται η συγκέντρωση του κυτοχρώματος c με προσθήκη μιας μικρής ποσότητας σε κυψελίδα οπτικής διαδρομής 1 cm και μετρώντας την απορρόφηση στα 550nm. Προστίθενται μερικοί κρύσταλλοι στερεού sodium dithionate, αναδεύεται και μετράται ξανά η απορρόφηση, η οποία πρέπει να αυξηθεί ακριβώς κατά 0,2.

7.4.1.4 Αναλυτική πορεία

Το φωτόμετρο ρυθμιζόταν στα 550nm. Εισαγάγαμε σε κυψελίδα, με τη σειρά, 1 ml SOD assay cocktail, 90μL φυσιολογικός ορός, και 10 μL διαλύματος οξειδάσης της ξανθίνης. Μόλις το τελικό διάλυμα αναδευόταν, τοποθετούνταν στο φωτόμετρο και καταγραφόταν η απορρόφηση ανά λεπτό, με χρήση ψηφιακού χρονόμετρου, επί 5 λεπτά. Η απορρόφηση έπρεπε να αυξάνεται περίπου κατά 0,02 A/min (μεταξύ 0,015 και 0,025 A/min). Στην περίπτωση που η ταχύτητα control ήταν μεγαλύτερη, ο όγκος της οξειδάσης της ξανθίνης ρυθμιζόταν έτσι ώστε να επιτευχθεί η συγκεκριμένη ταχύτητα. Στη συνέχεια, σε 1 ml SOD assay cocktail, τοποθετούνταν 90μL δείγματος και 10μL διαλύματος οξειδάσης της ξανθίνης (ή μικρότερος όγκος, ανάλογα με τον όγκο της στο control) και καταγραφόταν ξανά η απορρόφηση, επί 5 λεπτά. Γινόταν προσθήκη τέτοιας ποσότητας βιολογικού δείγματος, η οποία προκαλούσε μείωση του ρυθμού απορρόφησης του control κατά 40-60% εφόσον ήταν δυνατόν. Η % αναστολή υπολογιζόταν ως εξής:

$$\% \text{ inhibition} = [(control - sample) / control] \times 100$$

Κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς της δραστηρότητας της SOD, βάσει των παρακάτω τιμών (Πίνακας 5.1), προκειμένου να υπολογιστεί η δραστηρότητα της SOD (u/ml) που περιεχόταν στα δείγματα.

U/ml	0,027	0,090	0,270	0,360	0,450	0,630	0,810
%Inh	7,30	13,00	36,00	48,00	54,70	60,00	75,50

7.5. Στατιστική ανάλυση

Η κανονικότητα των συνεχών μεταβλητών εξετάστηκε με εφαρμογή του ελέγχου Kolmogorov-Smirnov. Όλες οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος όρος $\pm$ SD (standard deviation, τυπική απόκλιση). Οι συσχετίσεις μεταξύ των συνεχών μεταβλητών έγιναν με τη χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson r . Για τη μελέτη της επίδρασης του χρόνου της παρέμβασης, καθώς και του είδους της παρέμβασης στις μεταβολές των μετρούμενων παραμέτρων χρησιμοποιήθηκε η απλή συσχετισμένη ανάλυση διακύμανσης για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις. Εξαιτίας των πολλαπλών συγκρίσεων χρησιμοποιήθηκε η διόρθωση κατά Bonferroni, προκειμένου να γίνει διόρθωση του σφάλματος τύπου I ώστε να προσεγγίζει το επίπεδο σημαντικότητας που έχει οριστεί για τους στατιστικούς ελέγχους αυτής της μελέτης. Το iAUC υπολογίσθηκε από το εμβαδόν που περικλείεται μεταξύ της καμπύλης μεταβολής μίας μετρούμενης παραμέτρου και της νοητής ευθείας παράλληλης στον άξονα x , η οποία ξεκινά από την τιμή της παραμέτρου σε χρόνο 0. Όλες οι αναφερόμενες τιμές πιθανοτήτων (p) βασίζονται σε αμφίπλευρους ελέγχους και συγκρίνονται στο επίπεδο σημαντικότητας του 5%. Για όλους τους στατιστικούς υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS έκδοση 18.0 (Statistical Package for social sciences, SPSS Inc., Chicago, Illinois, U.S.A.).

8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

8.1 Βασικά χαρακτηριστικά εθελοντών

Τα βασικά χαρακτηριστικά των εθελοντών των δύο ομάδων της μελέτης και η σύγκριση μεταξύ τους φαίνονται στον Πίνακα 1

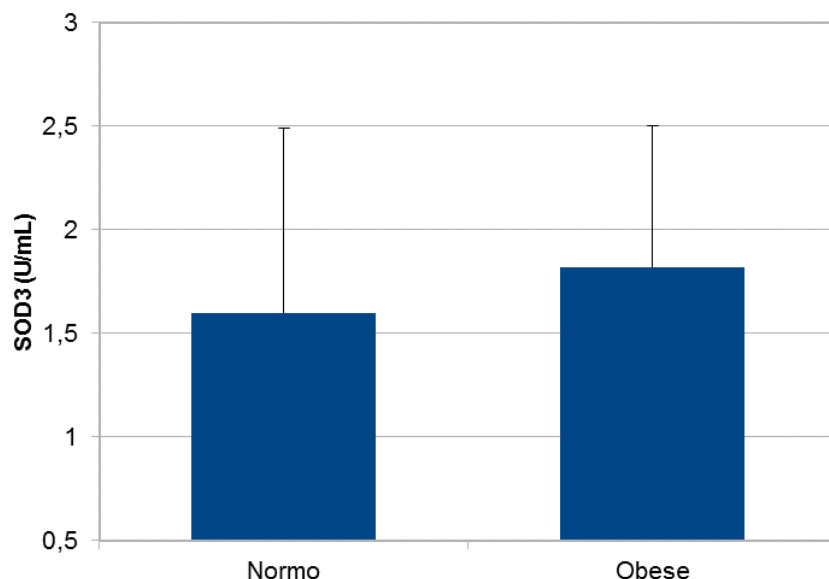
Πίνακας 1: Βασικά χαρακτηριστικά εθελοντών

	Νορμοβαρείς	Παχύσαρκοι	p
Ηλικία	29,3±6,0	27,7±7,9	0,617
BMI (kg/m ²)	23,5±2,5	35,8±4,8	0,000
Διαστολική πίεση (mmHg)	73,4±7,9	81,3±12,6	0,149
Συστολική πίεση (mmHg)	121,3±15,7	128,4±15,1	0,377
Παλμοί	71,3±8,9	83±22,2	0,169
Αριθμός λευκοκυττάρων (10 ³ /μL)	4,7±0,9	6,6±0,9	0,001
Αιματοκρίτης	37,8±4,4	39,3±2,7	0,420
Αριθμός αιμοπεταλίων (10 ³ /μL)	235,1±53,9	239,6±43,3	0,858
MPV (fL)	7,9±0,3	8,0±0,4	0,658
Γλυκόζη (mg/dL)	85,7±6,9	86,4±6,8	0,803
Γλυκόζη 2h (mg/dL)	88,3±14,9	108,7±24,9	0,034
INS_0 (μIU/ml)	7,2 + 3,0	27,3 + 22,2	0,006
HOMA-IR	1,5 + 0,6	5,9 + 4,8	0,006

Όπως ήταν αναμενόμενο, στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων βρέθηκε στο δείκτη μάζας σώματος (BMI) (p=0.000) καθώς ήταν το βασικό χαρακτηριστικό διαχωρισμού των δύο ομάδων. Στην ομάδα των παχυσάρκων βρέθηκαν υψηλότερα επίπεδα, λευκοκυττάρων, γλυκόζης 2h μετά την φόρτιση, στην ινσουλίνη νηστείας και στο HOMA-IR.

8.2 Σύγκριση βασικών επιπέδων SOD3 μεταξύ νορμοβαρών και παχύσαρκων εθελοντών

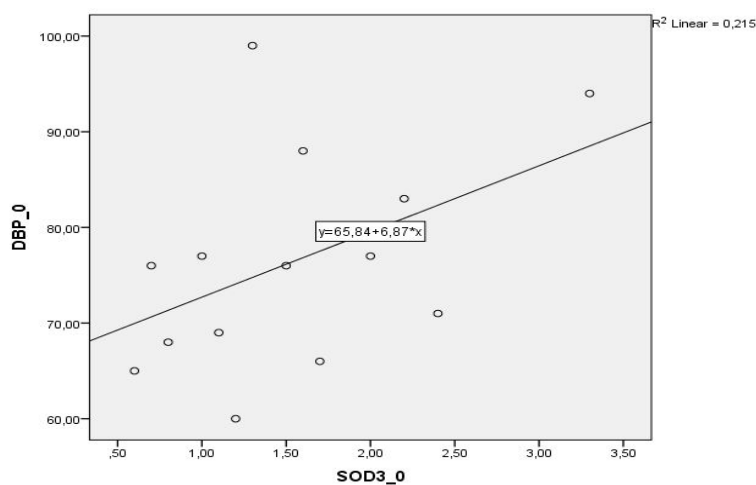
Βάσει των τιμών που προέκυψαν από τις μετρήσεις της δραστικότητας της SOD3 σε χρόνο μηδέν υπολογίστηκε ο μέσος όρος των επιπέδων νηστείας της SOD3 των νορμοβαρών και των παχύσαρκων. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων SOD3 στους νορμοβαρείς και στους παχύσαρκους εθελοντές.



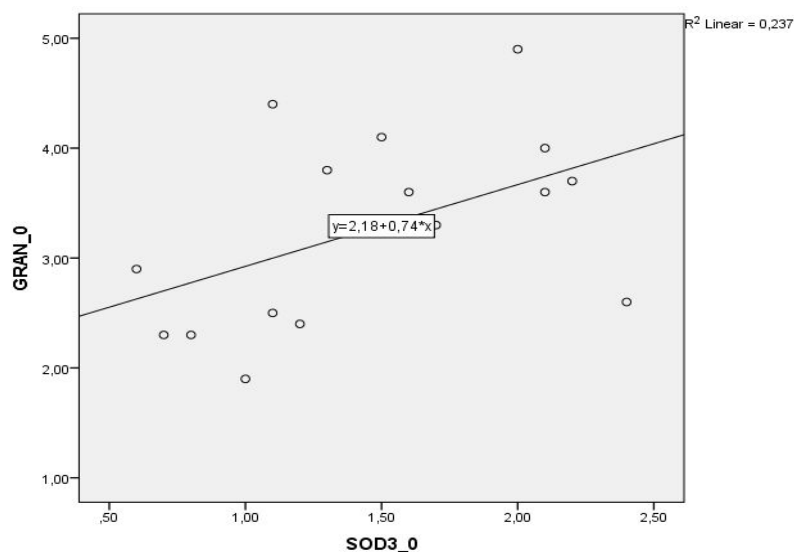
Σχήμα 1: Επίπεδα νηστείας SOD3 σε νορμοβαρείς και παχύσαρκους.

8.3 Συσχέτιση βασικών επιπέδων SOD3 με ανθρωπομετρικά, βιοχημικά και κλινικά χαρακτηριστικά εθελοντών

Στη συνέχεια προχωρήσαμε σε μια ανάλυση συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων νηστείας της SOD3 και ανθρωπομετρικών, βιοχημικών και κλινικών δεικτών στο σύνολο του πληθυσμού μας. Βρέθηκε δύο δείκτες οι οποίοι συσχετίζονται θετικά με την SOD3: η διαστολική πίεση, η οποία εμφανίζει μία τάση συσχέτισης ($r=0,463$, $p=0,082$) και ο αριθμός κοκκιοκυττάρων. ($r=0,486$, $p=0,056$). Διαγράμματα των συσχετίσεων φαίνονται στα σχήματα 2 και 3 .



Σχήμα 2 : Θετική συσχέτιση διαστολικής πίεσης με βασικά επίπεδα SOD3



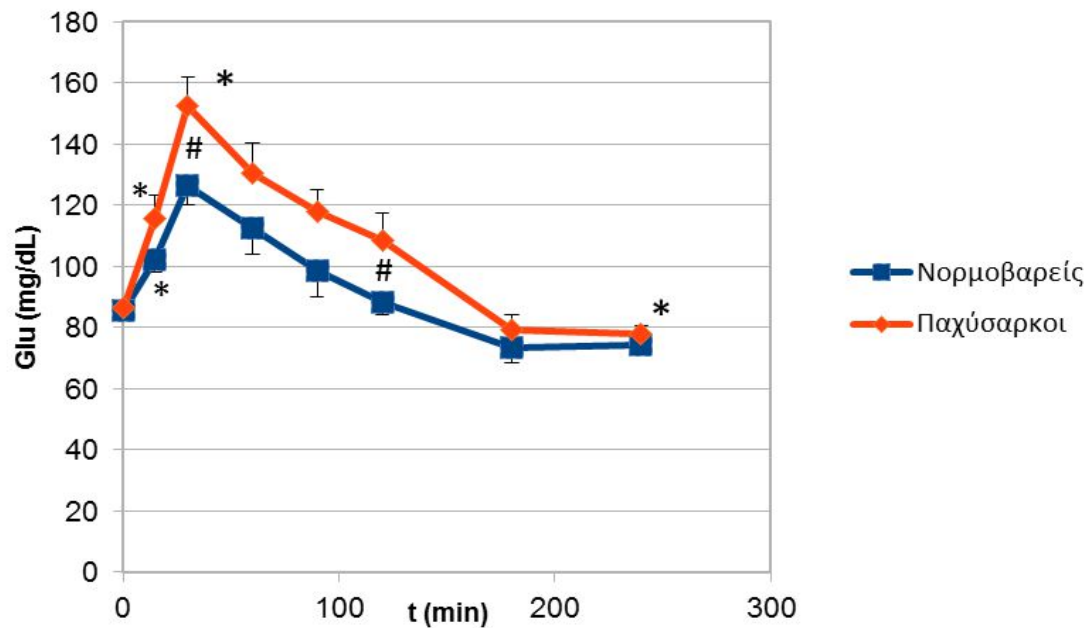
Σχήμα 3: Θετική συσχέτιση κοκκιοκυττάρων με βασικά επίπεδα SOD3

8.4 Επίδραση φόρτισης γλυκόζης στα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης σε νόρμοβαρείς και παχύσαρκους

8.4.1 Επίδραση της γλυκόζης

Στα σχήματα 4 και 5 φαίνονται οι μεταβολές των απόλυτων τιμών της γλυκόζης και η % μεταβολή τους σε σχέση με το χρόνο 0 στις δύο ομάδες παρέμβασης. Στους παχύσαρκους, η καμπύλη γλυκόζης είναι σημαντικά υψηλότερη από αυτή των νορμοβαρών τόσο στις απόλυτες τιμές ($p=0,037$) όσο και στις % μεταβολές ($p=0,023$). Η γλυκόζη στα 15 και 30 λεπτά είναι

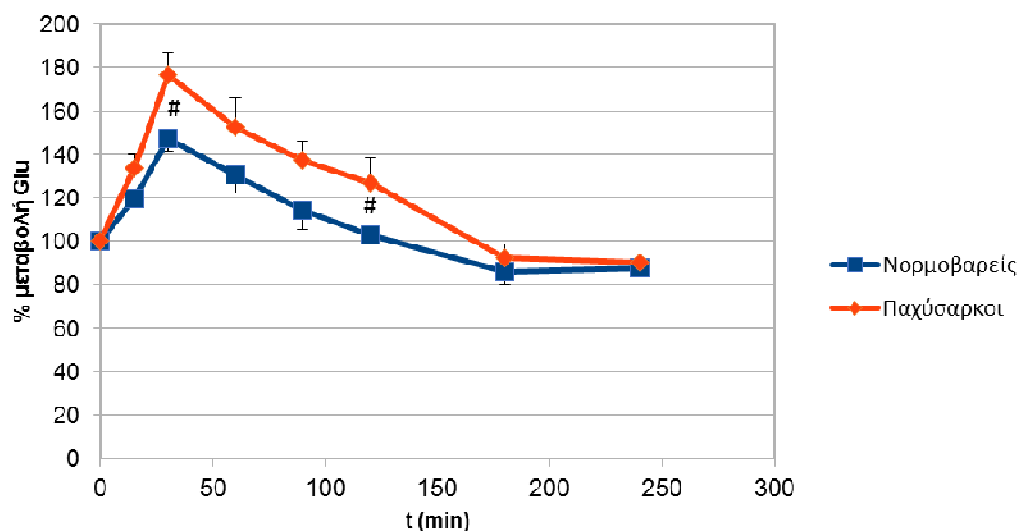
σημαντικά αυξημένη σε σχέση με τη γλυκόζη νηστείας ενώ στους παχύσαρκους παρατηρείται και μία ελαφριά υπογλυκαιμία αφού τα επίπεδα γλυκόζης στα 240 λεπτά είναι στατιστικά σημαντικά μειωμένα σε σχέση με τα επίπεδα νηστείας.



Σχήμα 4: Μεταβολές των επιπέδων γλυκόζης νορμοβαρών και παχύσαρκων εθελοντών μετά από φόρτιση γλυκόζης 75 g

*: Σημαντική διαφορά σε σχέση με $t=0$ ($p<0,05$)

#: Σημαντική διαφορά μεταξύ νορμοβαρών-παχυσάρκων στον ίδιο χρόνο



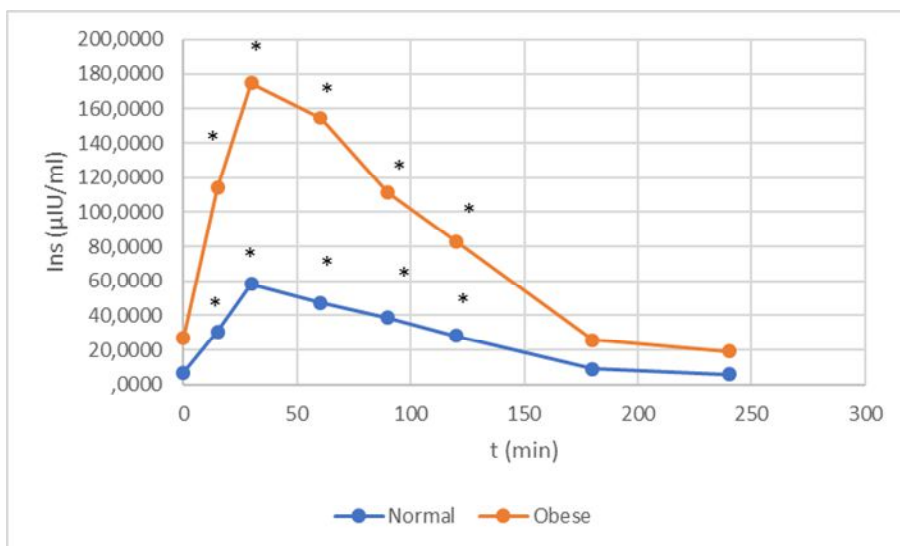
Σχήμα 5: Ποσοστιαίες μεταβολές των επιπέδων γλυκόζης νορμοβαρών και παχύσαρκων εθελοντών μετά από φόρτιση γλυκόζης 75 g

*: Σημαντική διαφορά σε σχέση με $t=0$ ($p<0,05$)

#: Σημαντική διαφορά μεταξύ νορμοβαρών-παχύσαρκων στον ίδιο χρόνο

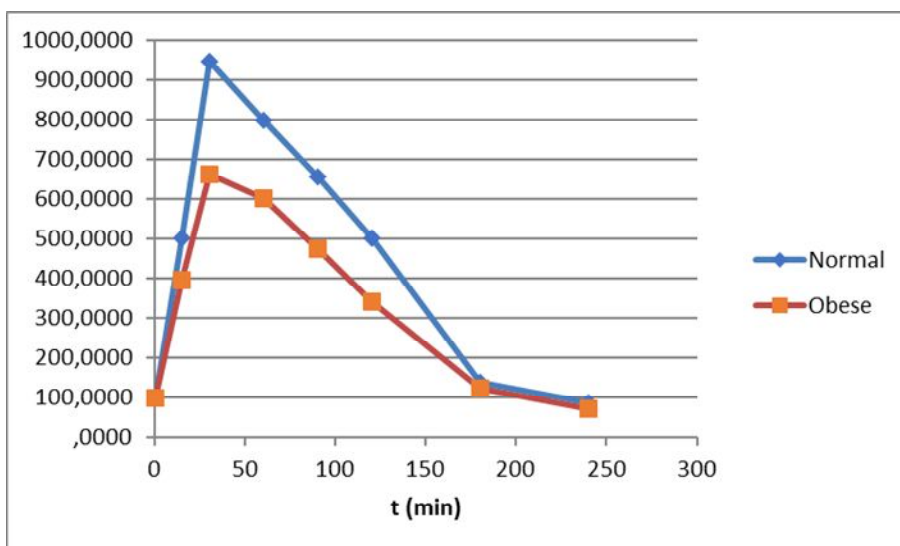
8.4.2 Επίδραση της ινσουλίνης

Στα σχήματα 6 και 7 φαίνονται οι μεταβολές των απόλυτων τιμών της ινσουλίνης και η % μεταβολή τους σε σχέση με το χρόνο 0 στις δύο ομάδες παρέμβασης. Στους παχύσαρκους, η καμπύλη ινσουλίνης είναι σημαντικά υψηλότερη από αυτή των νορμοβαρών στις απόλυτες τιμές ($p=0,009$) όχι όμως και στις ποσοστιαίες μεταβολές ($p=0,223$). Αυτό οφείλεται στο ότι οι παχύσαρκοι εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα ινσουλίνης νηστείας με αποτέλεσμα οι αντίστοιχες % μεταβολές να είναι μικρότερες.



Σχήμα 6: Μεταβολές των επιπέδων ινσουλίνης νορμοβαρών και παχύσαρκων εθελοντών μετά από φόρτιση γλυκόζης 75 g

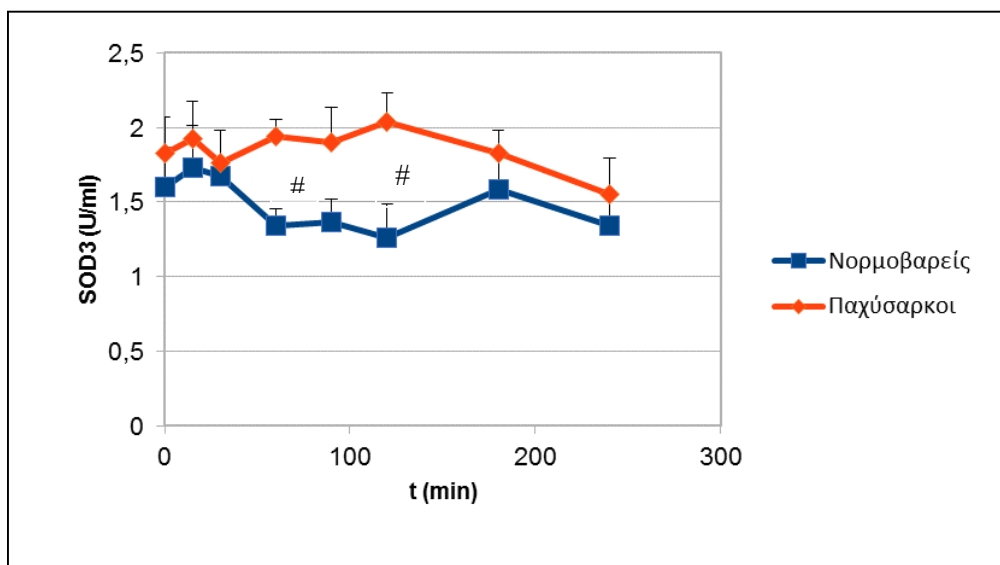
*: Σημαντική διαφορά σε σχέση με t=0 ($p < 0,05$)



Σχήμα 7: Ποσοστιαίες μεταβολές των επιπέδων ινσουλίνης νορμοβαρών και παχύσαρκων εθελοντών μετά από φόρτιση γλυκόζης 75 g

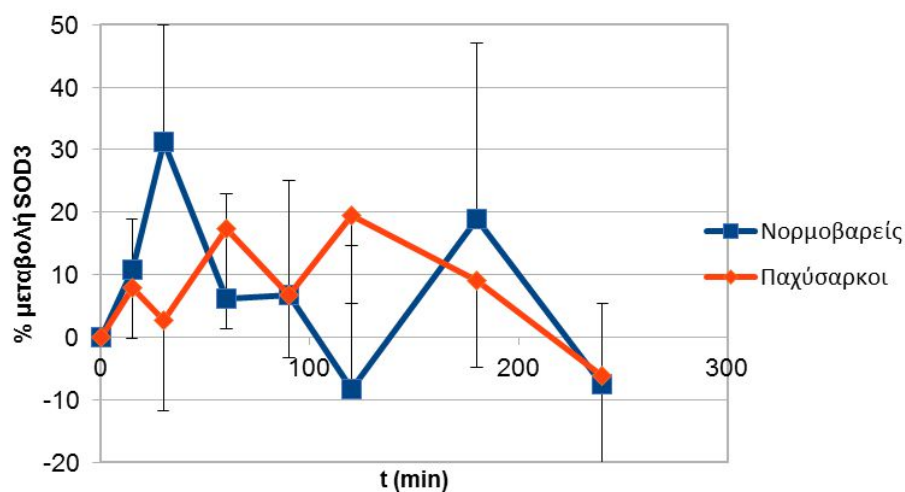
8.5 Μεταβολές δρασικότητας SOD3 στη φόρτιση γλυκόζης 75 γρ. - σύγκριση νορμοβαρών και παχύσαρκων εθελοντών

Όσον αφορά τις μεταβολές των απόλυτων τιμών της εξωκυττάριας SOD δεν υπάρχει επίδραση του χρόνου στις μεταβολές της τόσο για τους φυσιολογικούς ($p_{\text{time}}=0,166$), όσο και για τους παχύσαρκους ($p_{\text{time}}=0,579$). Επίσης δεν υπάρχει διαφοροποίηση στις μεταβολές της SOD3 μεταξύ των δύο ομάδων. Τέλος αναλύοντας τις διαφορές στις απόλυτες τιμές της SOD3 σε κάθε χρονική στιγμή μεταξύ των δύο ομάδων φάνηκε ότι αυτές ήταν διαφορετικές στις χρονικές στιγμές των 60 λεπτών ($p=0,02$) και των 120 λεπτών ($p=0,024$)



Σχήμα 8:
Απόκριση της
SOD3 σε
απόλυτες
τιμές στο
χρόνο.

Όταν η στατιστική ανάλυση έγινε με τις επί τις εκατό αναστολές πάλι δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή στο χρόνο τόσο στην ομάδα των φυσιολογικών ($p_{\text{time}}=0.357$) όσο και στην ομάδα των παχύσαρκων ($p_{\text{time}}=0.641$).

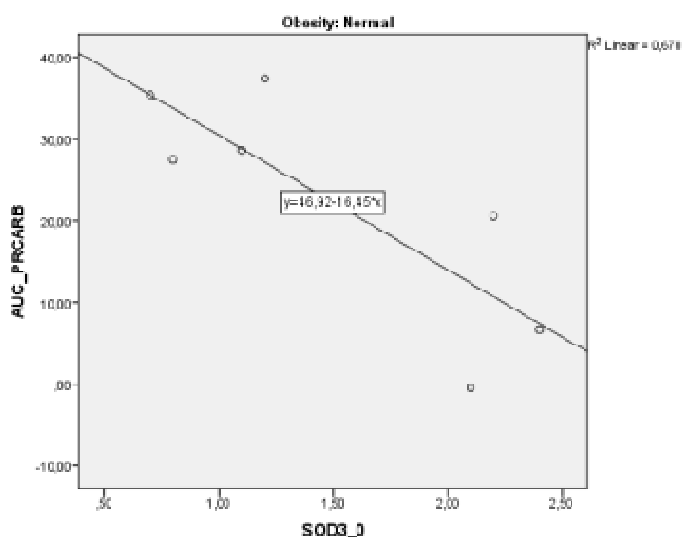


Σχήμα 9: Απόκριση της επί τις εκατό μεταβολής της SOD3 στο χρόνο.

Συνεπώς η υπεργλυκαιμία δεν επηρεάζει την SOD3 ούτε στους φυσιολογικούς ούτε στους παχύσαρκους και προφανώς δεν διαφοροποιείται η μεταβολή της SOD3 μεταξύ των δύο ομάδων παρέμβασης.

8.6 Συσχέτιση βασικών επιπέδων SOD3 με τις μεταβολές βιοχημικών δεικτών

Σε μία προσπάθεια να δούμε κατά πόσο τα βασικά επίπεδα της SOD μπορούν να επηρεάσουν τις μεταβολές άλλων μετρούμενων βιοχημικών δεικτών, έγινε ανάλυση συσχετίσεων μεταξύ των βασικών επιπέδων της SOD3 και των μεταβολών των βιοχημικών δεικτών μετά την φόρτιση και βρέθηκε αρνητική συσχέτιση με το AUC των πρωτεϊνικών καρβονυλίων ($R=0.819$, $p=0.024$) όπως φαίνεται και στο σχήμα 10.



Σχήμα 10 : Αρνητική συσχέτιση πρωτεϊνικών καρβονυλίων με SOD3

9. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Βασικός στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η σύγκριση της μεταβολή της εξωκυττάριας SOD, ενός αντιοξειδωτικού ενζύμου που βρίσκεται στην πρώτη γραμμή άμυνας κατά του οξειδωτικού στρες, μεταξύ εθελοντών φυσιολογικού βάρους και παχύσαρκων μετά από φόρτιση γλυκόζης 75 g. Με άλλα λόγια θέλαμε να διερευνήσουμε κατά πόσο το αυξημένο σωματικό βάρος και συνεπώς η λιπώδης μάζα σώματος απουσία διαβητικής κατάστασης, επηρεάζουν την αντιοξειδωτική προστασία του οργανισμού σε καταστάσεις οξείας υπεργλυκαιμίας.

Μέχρι στιγμής, η αξιολόγηση του αντιοξειδωτικού προφίλ του ανθρώπινου οργανισμού έχει γίνει στις περισσότερες των περιπτώσεων σε μελέτες που συγκρίνουν εθελοντές με διαβήτη τύπου 2 ή/και πρόδιαβητικούς ή/και υγιείς, ή σε μελέτες που συγκρίνουν δραστήριους και μη δραστήριους εθελοντές. Αντιθέτως μία προσέγγιση σαν την δική μας, σε εθελοντές με απουσία προδιαβητικής κατάστασης και δεδομένου ότι η παχυσαρκία αποτελεί μία κατάσταση ήπιας χρόνιας φλεγμονής που επάγει το οξειδωτικό στρες, που θα αναδείξει την συσχέτιση βιοχημικών, κλινικών και ανθρωπομετρικών παραγόντων με την SOD3, δεν έχει ξαναγίνει.

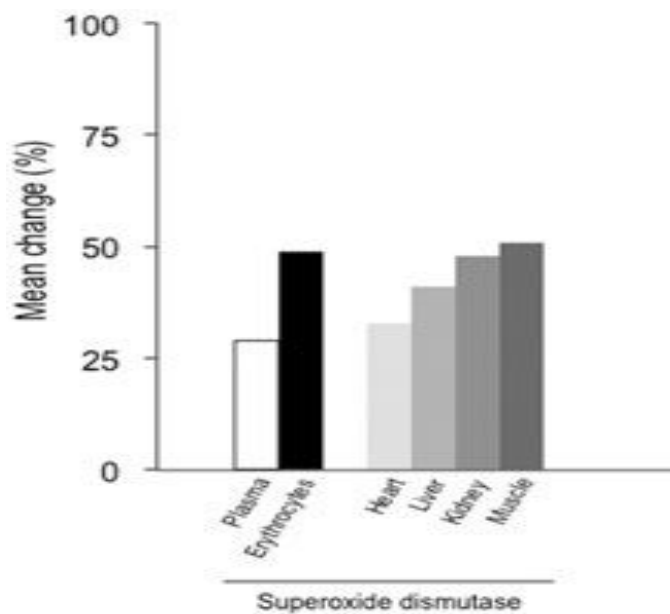
9.1 Δοκιμαζόμενοι και κριτήρια επιλογής

Το βασικό κριτήριο επιλογής των εθελοντών ήταν να μην είναι διαβητικοί ή προδιαβητικοί (επίπεδα γλυκόζης νηστείας $\leq 100\text{mg/dl}$), να μην πάσχουν από υπερλιπιδαιμίες (επίπεδα ολικής χοληστερόλης $\leq 200\text{mg/dl}$, επίπεδα τριακυλογλυκερολών $\leq 150\text{ mg/dl}$) και να μην έχουν ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου διότι σε αυτές τις παθολογικές καταστάσεις η μεταγευματική αλλά και πρόγευματική κατάσταση είναι δεδομένο ότι είναι διαταραγμένη. Αυτό πιθανά να στερούσε την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων και την πιθανή εύρεση κάποιου δείκτη συσχέτισης καθώς δεν έχουν γίνει μελέτες με ίδιο πρωτόκολλο και δεν μπορούμε να είμαστε σίγουροι για το πως να εκτιμήσουμε τα ευρήματά μας. Οι εθελοντές επίσης είχαν φυσιολογική αρτηριακή πίεση (Συστολική Αρτηριακή Πίεση $\leq 130\text{ mmHg}$ και Διαστολικοί Αρτηριακή Πίεση $\leq 85\text{mmHg}$) καθώς η υπέρταση είναι μία κατάσταση που επάγει και επάγεται από το οξειδωτικό στρες. (Loperena & Harrison, 2017). Τέλος οι εθελοντές φυσιολογικού ΔΜΣ ($18\text{-}25\text{ kg/m}^2$) θα έπρεπε να είχαν περιφέρεια μέσης $\leq 102\text{cm}$.

Άλλα σημαντικά κριτήρια για την επιλογή εθελοντών ήταν οι γυναίκες να είναι στις πρώτες 7-10 μέρες του κύκλου τους. Σε έρευνα που σύγκρινε γυναίκες με και χωρίς πολυκυστικές ωοθήκες, φάνηκε ότι η δραστηριότητα της SOD των ερυθροκυττάρων ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένη την 7^η με 9^η μέρα του κύκλου σε σχέση με την 22^η-25^η. Έτσι συμπεραίνουμε ότι η συγκέντρωση των ορμονών των ωοθηκών στο πλάσμα επηρεάζει την δραστηριότητα της SOD των ερυθροκυττάρων (Lutosławska et al., 2003). Επιπλέον, τα άτομα τα οποία συμμετέχουν στη μελέτη δεν είναι καπνιστές. Από μελέτες έχει φανεί ότι οι καπνιστές έχουν υψηλότερα επίπεδα οξειδωτικού στρες το οποίο αποδίδεται στην υψηλή συγκέντρωση ROS στον καπνό του τσιγάρου (Zuo et al., 2014). Ήταν σημαντικό, οι εθελοντές μεταξύ των δύο ομάδων να έχουν εξομοιωμένα όλα τα βιοχημικά, κλινικά και ανθρωπομετρικά τους χαρακτηριστικά έκτος από τον δείκτη μάζας σώματος με στόχο την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων για το πως η παχυσαρκία επιδρά στην μεταβολή της SOD3.

9.2 Επιλογή βιολογικού δείγματος μέτρησης της SOD3

Στην πλειοψηφία των μελετών που έχουν μετρήσει δείκτες οξειδοαναγωγικού στρες, αυτοί έχει μετρηθεί στο πλάσμα ή τον ορό. Αυτή η πρακτική ακολουθείται διότι το πλάσμα αντανakλά καλύτερα τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες στον ιστό και παράλληλα είναι αρκετά εύκολη η συλλογή του. Ωστόσο σε ερευνά μέτρησης της μεταβολής των αντιοξειδωτικών μετά από άσκηση, έχει προταθεί η άποψη ότι δεν μπορούμε να συνάγουμε έγκυρα συμπεράσματα για τις μεταβολές των αντιοξειδωτικών μόνο από έναν κυτταρικό τύπο καθώς τα αντιοξειδωτικά μπορεί να αναδιανέμονται στα διάφορα κύτταρα και ιστούς. Έτσι δεν πρέπει να βασιζόμαστε μόνο στις μετρήσεις των αντιοξειδωτικών του πλάσματος καθώς προφέρει περιορισμένη πληροφόρηση (Nikolaidis & Jamurtas, 2009). Πιο συγκεκριμένα σε μία μετανάλυση που έγινε από τους Margaritelis et al η πλειοψηφία των μελετών έδειξε ότι η συγκέντρωση της υπεροξειδικής δισμουτάσης αλλάζει προς την ίδια κατεύθυνση και στο αίμα αλλά και στους ιστούς μετά από πειραματικές παρεμβάσεις. Έτσι όπως φαίνεται και στην εικόνα, το πλάσμα και ακόμα καλύτερα τα ερυθροκύτταρα αντανakλούν της μεταβολές της SOD στους ιστούς. Καταλήγουν λοιπόν ότι η SOD σε γενικές γραμμές συμφωνεί ποιοτικά και ποσοτικά μεταξύ των ιστών και του αίματος. (Margaritelis et al., 2015)

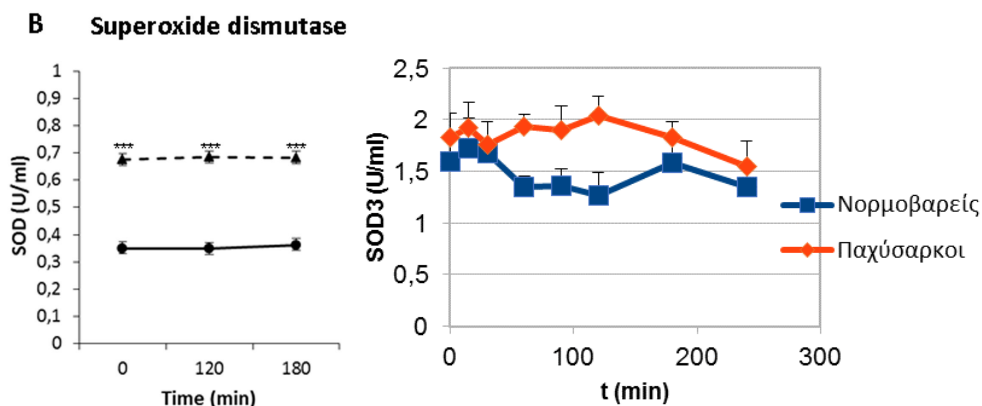


Εικόνα 5: Ο μέσο όρος των επί τις εκατό αλλαγών τις υπεροξειδικής δισμουτάσης ήταν: πλάσμα 29%, ερυθροκύτταρα 49%, καρδιά 33%, συκώτι 41%, 48% and σκελετικός μυς 51% (Margaritelis et al., 2015)

9.3 Σχολιασμός αποτελεσμάτων μελέτης

Οι πιο πολλές μελέτες που έχουν ως τώρα συγκρίνει την δραστικότητα της SOD3 προ- και μεταγευματικά απευθύνονται κυρίως σε πληθυσμό διαβητικών και προ-διαβητικών ανθρώπων.

Πιο συγκεκριμένα, η Malinska et al στα πλαίσια της έρευνας που πραγματοποίησε συγκρίνοντας διαβητικούς και υγιείς ανθρώπους, μέτρησε την συγκέντρωση της SOD3 του πλάσματος προ- και μεταγευματικά μετά την χορήγηση πρωινού με 50 γρ υδατάνθρακα, 19 γρ πρωτεΐνη και 19 γρ λίπος. Τα ευρήματα της έδειξαν ότι σε χρόνο 0 η SOD ήταν κατά 48% χαμηλότερη στους διαβητικούς σε σχέση με τους υγιείς. Επίσης μεταγευματικά δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική μεταβολή στην SOD του πλάσματος σε καμία από τις δύο ομάδες. Το κοινό μας εύρημα με αυτή την μελέτη είναι ότι η SOD μεταγευματικά δεν άλλαξε. Ωστόσο ερχόμαστε σε αντίθεση με το γεγονός ότι στο δικό μας πληθυσμό οι υγιείς είχαν χαμηλότερη SOD (Malinska et al., 2014).



Εικόνα 6: Σύγκριση των δύο μελετών ως προς την μεταβολή της SOD στο χρόνο (Malinska et al., 2014)

Σε μία ακόμη έρευνα του Leilei Wang et al, με 3 ομάδες παρέμβασης: νεοδιαγνωσμένους με διαβήτη, προδιαβητικούς και υγιείς ανθρώπους, φάνηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην δραστηριότητα της SOD τόσο κατά την νηστεία αλλά και στις δύο ώρες μετά το OGTT και στις 3 ομάδες. Πιο συγκεκριμένα το NO ήταν σημαντικά χαμηλότερο τόσο κατά την νηστεία όσο και 2 ώρες μετά το OGTT στους νεοδιαγνωσμένους και στους προδιαβητικούς ασθενείς. Γνωρίζοντας ότι η SOD παίζει προστατευτικό ρόλο στο NO συμπεραίνουμε ότι και αυτή θα ήταν αντίστοιχα μειωμένη. Και στις 3 ομάδες η SOD μειώθηκε σημαντικά μετά την φόρτιση γλυκόζης. Η έρευνα αυτή έρχεται σε αντίθεση και με την δική μας αλλά και με την προηγούμενη στις οποίες δεν μειώθηκαν τα τις SOD μεταγευματικά (Wang et al., 2013).

Στην βιβλιογραφία υπάρχει μία μόνο μελέτη και συγκεκριμένα αυτή του S. Gregersen et al όπου 15 υγιείς εθελοντές χωρίστηκαν σε δύο ομάδες με βάση το θετικό ή αρνητικό ιστορικό διαβήτη. Μετά την λήψη γεύματος πλούσιου σε υδατάνθρακα (182 γρ.) τα επίπεδα του πλάσματος της SOD1 παρέμειναν ίδια, όμως μειώθηκε η έκφραση του γονιδίου από τον σκελετικό μυ (με λήψη βιοψίας σκελετικού μυ). Τα ευρήματα της έρευνας αυτής έρχονται σε συμφωνία με τα δικά μας όπου δείξαμε ότι η SOD δεν εξαρτάται από τον χρόνο (Gregersen, Samocha-Bonet, Heilbronn, & Campbell, 2012).

Από την βιβλιογραφία γνωρίζουμε ότι τα επίπεδα της SOD3 αυξάνονται σε απόκριση φλεγμονωδών δεικτών όπως ο INF-γ και η IL-1α. Ακόμη, το ένζυμο αυτό παίζει σημαντικό ρόλο στο αγγειακό τοίχωμα, και αγγειοδραστικοί παράγοντες όπως η ισταμίνη, η αγγειοπιεσίνη, η οξιτοκίνη, η ενδοθηλίνη-1 και η ηπαρίνη αυξάνουν σημαντικά το ένζυμο σε καλλιέργεια αρτηριακών κυττάρων λείου μυός. Επίσης, έχει φανεί ότι η αγγειοτενσίνη II του συστήματος

ρενίνης-αγγειοτενσίνης επάγει έντονα την δραστικότητα της SOD3 σε καλλιέργεια λείων μυικών κυττάρων και στην αορτή ποντικών. Ωστόσο είναι γνωστό ότι η παχυσαρκία χαρακτηρίζεται από αυξημένες συγκεντρώσεις ορμονών του συστήματος αυτού (Zelko, Mariani, & Folz, 2002). Οι γνώσεις αυτές δικαιολογούν τα αυξημένα επίπεδα της SOD3 στους παχύσαρκους της μελέτης μας.

Είναι κοινά παραδεκτό ότι η υπερπροσφορά γλυκόζης στα κύτταρα αυξάνει την γλυκόλυση και τον κύκλο του κιτρικού οξέος οδηγώντας σε υπερπαραγωγή NADH και FADH₂, που είναι γνωστοί δότες ηλεκτρονίων. Αυτό όμως δεν σημαίνει ότι το αυξημένο οξειδωτικό στρες επάγει και την ενίσχυση της αντιοξειδωτική άμυνας του οργανισμού. Αντίθετα στην μελέτη του Ceriello et al η οξεία υπεργλυκαιμία συσχετίστηκε με χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος κάτι το οποίο, στην ίδια μελέτη, αντιρροπίστηκε με την εξωγενή χορήγηση αντιοξειδωτικών. Αυτό πιθανά να συνδέεται με το γεγονός ότι μεταγευματικά η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων επάγει την έκκριση αυξητικών παραγόντων οι οποίοι μειώνουν σημαντικά την έκφραση και έκκριση της SOD3 στα λεία μυικά κύτταρα των αγγείων (Zelko et al., 2002).

Καθώς η SOD3 είναι ένα ένζυμο το οποίο ενεργοποιείται από κυτταροκίνες, δηλαδή δείκτες φλεγμονής, δεν προκαλεί εντύπωση ότι στην μελέτη μας βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ των κοκκιοκυττάρων και της SOD3.

Τέλος σε μετανάλυση της Manna et al φάνηκε ότι τα παχύσαρκα άτομα έχουν λιγότερες αντοχές, και η γρήγορη αναπνοή μπορεί να προκαλέσει διαρροή κάποιων ηλεκτρονίων. Με άλλα λόγια αύξηση στην μιτοχονδριακή αναπνοή για την παραγωγή ενέργειας σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα λιπιδικής υπεροξειδωσης στα παχύσαρκα άτομα (Manna & Jain, 2015b). Έτσι τα παχύσαρκα άτομα μπορεί να θεωρηθεί ότι προσομοιάζουν μία κατάσταση όπως στην άσκηση με αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις. Επιπρόσθετα στην έρευνα του Johnson et al δείχθηκε ότι τα δραστήρια άτομα είχαν σημαντικά αυξημένη δραστικότητα SOD σε σχέση με τα μη δραστήρια. Ακολουθώντας την λογική αυτή, αν θεωρήσουμε ότι τα παχύσαρκα άτομα βρίσκονται σε μια μόνιμη κατάσταση άσκησης, είναι λογικό να έχουν μεγαλύτερα αποθέματα και δραστικότητα της SOD (Johnson, Padilla, Harris, & Wallace, 2011).

Συμπεραίνουμε λοιπόν, ότι ενώ υπάρχει βιβλιογραφία που δικαιολογεί εκ πρώτης όψης τα ευρήματά μας, δεν μπορούμε να αγνοήσουμε άλλες μελέτες, οι οποίες ωστόσο έχουν γίνει σε διαφορετικό πληθυσμό, οι οποίες έχουν διαφορετική άποψη. Σίγουρα δεν είμαστε σε θέση να εξαγάγουμε κάποιο ασφαλές συμπέρασμα, παρα μόνο να τροφοδοτήσουμε το ερευνητικό πεδίο με προβληματισμούς .

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Demchenko, I. T., Gutsaeva, D. R., Moskvina, A. N., & Zhilyaev, S. Y. (2010). Involvement of extracellular superoxide dismutase in regulating brain blood flow. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 40(2), 173–178. <https://doi.org/10.1007/s11055-009-9240-5>
- Esposito, K., Ciotola, M., Schisano, B., Misso, L., Giannetti, G., Ceriello, A., & Giugliano, D. (2006). Oxidative stress in the metabolic syndrome. *Journal of Endocrinological Investigation*, 29(9), 791–795. <https://doi.org/10.1007/BF03347372>
- Fukai, T., & Ushio-Fukai, M. (2011). Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(6), 1583–1606. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.3999>
- Gregersen, S., Samocha-Bonet, D., Heilbronn, L. K., & Campbell, L. V. (2012). Inflammatory and Oxidative Stress Responses to High-Carbohydrate and High-Fat Meals in Healthy Humans [Research article]. <https://doi.org/10.1155/2012/238056>
- Hagströmer, M., Oja, P., & Sjöström, M. (2006). The International Physical Activity Questionnaire (IPAQ): a study of concurrent and construct validity. *Public Health Nutrition*, 9(6), 755–762.
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1147–1150. <https://doi.org/10.1042/BST0351147>
- Johnson, B. D., Padilla, J., Harris, R. A., & Wallace, J. P. (2011). Vascular consequences of a high-fat meal in physically active and inactive adults. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 36(3), 368–375. <https://doi.org/10.1139/h11-028>
- Lacroix, S., Rosiers, C. D., Tardif, J.-C., & Nigam, A. (2012). The role of oxidative stress in postprandial endothelial dysfunction. *Nutrition Research Reviews*, 25(2), 288–301. <https://doi.org/10.1017/S0954422412000182>

- Loperena, R., & Harrison, D. G. (2017). Oxidative Stress and Hypertensive Diseases. *The Medical Clinics of North America*, 101(1), 169–193.
<https://doi.org/10.1016/j.mcna.2016.08.004>
- Lutosławska, G., Tkaczyk, J., Panczenko-Kresowska, B., Hübner-Woźniak, E., Skierska, E., & Gajewski, A. K. (2003). Plasma TBARS, blood GSH concentrations, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in regularly menstruating women with ovulatory and anovulatory menstrual cycles. *Clinica Chimica Acta*, 331(1), 159–163.
[https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(03\)00085-8](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(03)00085-8)
- Malinska, H., Kahleova, H., Topolcan, O., Vrzalova, J., Oliarynyk, O., Kazdova, L., ... Pelikanova, T. (2014). Postprandial Oxidative Stress and Gastrointestinal Hormones: Is There a Link? *PLoS ONE*, 9(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103565>
- Manna, P., & Jain, S. K. (2015a). Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 13(10), 423–444. <https://doi.org/10.1089/met.2015.0095>
- Manna, P., & Jain, S. K. (2015b). Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 13(10), 423–444. <https://doi.org/10.1089/met.2015.0095>
- Margaritelis, N. V., Veskoukis, A. S., Paschalis, V., Vrabas, I. S., Dipla, K., Zafeiridis, A., ... Nikolaidis, M. G. (2015). Blood reflects tissue oxidative stress: a systematic review. *Biomarkers: Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals*, 20(2), 97–108. <https://doi.org/10.3109/1354750X.2014.1002807>
- Morais, J. B. S., Severo, J. S., Santos, L. R. D., de Sousa Melo, S. R., de Oliveira Santos, R., de Oliveira, A. R. S., ... do Nascimento Marreiro, D. (2017). Role of Magnesium in Oxidative Stress in Individuals with Obesity. *Biological Trace Element Research*, 176(1), 20–26. <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0793-1>

- Nikolaidis, M. G., & Jamurtas, A. Z. (2009). Blood as a reactive species generator and redox status regulator during exercise. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 490(2), 77–84.
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2009.08.015>
- Panagiotakos, D. B., Pitsavos, C., Arvaniti, F., & Stefanadis, C. (2007). Adherence to the Mediterranean food pattern predicts the prevalence of hypertension, hypercholesterolemia, diabetes and obesity, among healthy adults; the accuracy of the MedDietScore. *Preventive Medicine*, 44(4), 335–340.
<https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2006.12.009>
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science : IJBS*, 4(2), 89–96.
- POWERS, S. K., & JACKSON, M. J. (2008). Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiological Reviews*, 88(4), 1243–1276. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2007>
- Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82(2), 291–295.
- Sies, Helmut, Stahl, W., & Sevanian, A. (2005). Nutritional, Dietary and Postprandial Oxidative Stress. *The Journal of Nutrition*, 135(5), 969–972.
- Wang, L., Guo, L., Zhang, L., Zhou, Y., He, Q., Zhang, Z., & Wang, M. (2013). Effects of Glucose Load and Nateglinide Intervention on Endothelial Function and Oxidative Stress [Research article]. <https://doi.org/10.1155/2013/849295>
- Zelko, I. N., Mariani, T. J., & Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology & Medicine*, 33(3), 337–349.
- Zuo, L., He, F., Sergakis, G. G., Koozehchian, M. S., Stimpfl, J. N., Rong, Y., ... Best, T. M. (2014). Interrelated role of cigarette smoking, oxidative stress, and immune response in COPD and corresponding treatments. *American Journal of Physiology. Lung Cellular*

and Molecular Physiology, 307(3), L205-218.

<https://doi.org/10.1152/ajplung.00330.2013>