



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΑΓΩΓΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

**Επίδραση της μακροχρόνιας ελαφριάς προς μέτριας κατανάλωσης
κρασιού, σε δείκτες οξειδωτικού στρες σε ασθενείς με στεφανιαία
νόσο.**

Γερογιάννη Αναστασία

Αθήνα, 2017



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΑΓΩΓΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Φραγκοπούλου Ελισάβετ

**Επίκουρη Καθηγήτρια Βιολογικής Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα
Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Αντωνοπούλου Σμαραγδή

**Καθηγήτρια Βιοχημείας, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας & Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Νομικός Τζώρτζης

**Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας &
Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Η Γερογιάννη Αναστασία δηλώνω υπεύθυνα ότι:

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

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω βαθύτατα τις Αργυρού Χρύσα και Ντετοπούλου Μαρία για την βοήθεια και την υποστήριξη τους σε όλη την διάρκεια αυτής της προσπάθειας. Χωρίς την πολύτιμη συνεισφορά τους αυτή η πτυχιακή εργασία δεν θα είχε πραγματοποιηθεί.

Περιεχόμενα

Περίληψη στα Ελληνικά	7
Περίληψη στα Αγγλικά (Abstract)	8
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	10
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	11
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ	12
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ	13
1.1 Παραγωγή	13
1.1.α Δραστικές μορφές οξυγόνου , ROS	13
1.1.β Δραστικές μορφές αζώτου , RNS	15
1.1.γ Σημεία παράγωγης ελεύθερων ριζών	15
1.2 Επίδραση σε βιολογικά μόρια	16
1.2.α DNA	16
1.2.β Πρωτεΐνες	17
1.2.γ Λιποειδή	17
1.3 Επίδραση στον ανθρώπινο οργανισμό	18
Οξειδωτικό στρες και αθηρογένεση	19
1.4 Αμυντικά συστήματα	21
1.4.α Αντιοξειδωτικά ένζυμα	21
1.4.β Αντιοξειδωτικά που διασπούν αλυσιδωτές αντιδράσεις	23
1.4.γ Πρωτεΐνες που δεσμεύουν μέταλλα μετάπτωσης	28
1.5 Προσδιορισμός του οξειδωτικού στρες	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΚΡΑΣΙ	31
2.1 Εισαγωγή και ιστορική αναδρομή	31
Μεσογειακή διατροφή και κατανάλωση κρασιού	31
2.2 Επιδημιολογικά δεδομένα για τις ευεργετικές δράσεις της κατανάλωσης κρασιού	32
2.3 Συστατικά	43
2.3 Επίδραση βιοδραστικών συστατικών	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΚΡΑΣΙΟΥ ΣΕ ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΑ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	50
3.1 Επίδραση σε λιπιδαιμικό προφίλ	50
3.2 Επίδραση σε δείκτες θρόμβωσης	60
3.3 Επίδραση σε δείκτες φλεγμονής	70
3.4 Επίδραση σε δείκτες οξειδωτικού στρες	74
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : ΣΚΟΠΟΣ	81

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΕΡΕΥΝΑΣ.....	82
5.1 Ερευνητικό πρωτόκολλο	82
5.2 Ανθρωπομετρία.....	83
5.3 Απομόνωση ορού	83
5.4 Αιματολογικές αναλύσεις	83
5.5 Παραλαβή πλάσματος και απομόνωση ερυθρών αιμοσφαιρίων	83
5.6 Παραλαβή αίματος σε κιτρικά	84
5.7 Παραλαβή λευκών κυττάρων.....	84
5.8 Βιοχημικές αναλύσεις	84
5.9 Προσδιορισμός ουρικού οξέος	85
5.10 Προσδιορισμός λιποξειδικών υπεροξειδίων (TBARS)	86
5.11 Προσδιορισμός Υπεροξειδάση της Γλουταθειόνης (GPx).....	87
5.12 Στατιστική ανάλυση	89
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	90
6.1 Εθελοντές	90
6.2 Βασικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στην έναρξη της μελέτης	90
6.3 Δείκτες οξειδωτικού στρες για τους εθελοντές στην έναρξη της μελέτης	92
6.4 Συσχετίσεις με τους δείκτες οξειδωτικού στρες	95
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 : ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	97
Βιβλιογραφία	101

Περίληψη στα Ελληνικά

Η αθηροσκλήρωση αποτελεί τον βασικό μηχανισμό για την εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου και είναι μια πολυπαραγοντική διαδικασία στην οποία εμπλέκονται πληθώρα μεταβολιτών. Η αιμόσταση, η φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες αποτελούν βασικούς μηχανισμούς στον σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας.

Πλήθος επιδημιολογικών μελετών έχουν δείξει την θετική επίδραση της μέτριας κατανάλωσης κρασιού στην εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων. Η τελική απόδειξη όμως της ευεργετικής δράσης της μέτριας κατανάλωσης κρασιού προκύπτει από ελεγχόμενες κλινικές μελέτες. Η πλειοψηφία των κλινικών μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί χρησιμοποιεί υγρή πληθυσμό. Σκοπός επομένως της πτυχιακής μελέτης είναι να μελετηθεί η επίδραση της μακροχρόνιας κατανάλωσης κόκκινου κρασιού σε άνδρες με εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο, σε δείκτες οξειδωτικού στρες.

Στην μελέτη, έως την χρονική περίοδο που ολοκληρώθηκε αυτή η πτυχιακή εργασία, είχαν συμμετάσχει 53 εθελοντές. Όλοι οι εθελοντές, πριν την ένταξή τους στην έρευνα, ακολούθησαν μια περίοδο προετοιμασίας 15 ημερών, κατά την διάρκεια της οποίας απέχχαν από κάθε μορφή αλκοόλ. Ακολούθησε ο διαχωρισμός τους, με τυχαίο τρόπο λαμβάνοντας υπόψη την ηλικία και το ΔΜΣ, σε 3 ομάδες παρέμβασης. Η πρώτη ομάδα κατανάλωνε καθημερινά 200 mL κόκκινο καρσί της ποικιλίας Cabernet Sauvignon, η δεύτερη 65 ml τσίπουρο και η τρίτη απέχε από το αλκοόλ. Μετρήθηκαν τα βασικά ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των εθελοντών, η αρτηριακή πίεση, ο υποκυτταρικός πληθυσμός, κλασικοί βιοχημικοί δείκτες και δείκτες οξειδωτικού στρες. Συγκεκριμένα μετρήθηκαν στον ορό η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx), το ουρικό οξύ και τα λιποξειδικά υπεροξειδία (TBARS).

Δεν βρέθηκε καμία σημαντική διαφορά στους κλασικούς βιοχημικούς δείκτες ούτε στους δείκτες οξειδωτικού στρες των εθελοντών των τριών ομάδων στην έναρξη της μελέτης. Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στους δείκτες οξειδωτικού στρες σε καμία ομάδα κατά τη διάρκεια της παρέμβασης. Παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ του ουρικού οξέος και της GPx, της αιμοσφαιρίνης/αιματοκρίτη, θετική συσχέτιση του ουρικού οξέος με τον ΔΜΣ, θετική συσχέτιση μεταξύ της GPx της αιμοσφαιρίνης/αιματοκρίτη.

Συμπερασματικά η κατανάλωση κρασιού για 8 εβδομάδες δεν επηρέασε τους μετρούμενους δείκτες οξειδωτικού στρες σε άνδρες με εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο.

Περίληψη στα Αγγλικά (Abstract)

Atherosclerosis is the basic mechanism for the appearance of cardiovascular disease and is a multifactorial process involving a multitude of metabolites. Hemostasis, inflammation and oxidative stress are key mechanisms in the formation of atherosclerotic plaque. Numerous epidemiological studies have shown the positive effect of moderate wine consumption on the occurrence of cardiovascular events. The final evidence of the beneficial effects of moderate wine consumption results from controlled clinical studies. The majority of clinical trials conducted have a healthy population.

The aim of the dissertation is to study the effect of long-term consumption of red wine on men with established cardiovascular disease on oxidative stress markers. In the study, up to the time that this graduate work was completed, 53 volunteers were involved. All volunteers, before joining the survey, followed a 15-day preparation period, during which they abstained from any form of alcohol. It followed their separation, in a random manner, taking into account age and BMI, into three intervention groups. The first team consisted of 200 mL of red Cabernet Sauvignon, the second 65 ml of tsipouro, and the third one with alcohol. The main anthropometric characteristics of volunteers, blood pressure, subcellular population, classical biochemical markers and oxidative stress markers were measured. In particular serum glutathione peroxidase activity (GPx), uric acid and lipid peroxides (TBARS) were measured in serum.

No significant difference was found in the classic biochemical markers or in the oxidative stress markers of the volunteers of the three groups at the start of the study. In addition, no significant change in the oxidative stress markers was observed in any group during the intervention. A negative correlation was observed between uric acid and GPx, hemoglobin / hematocrit, positive correlation of uric acid with BMI, positive correlation between hemoglobin / hematocrit GPX.

In conclusion, wine consumption for 8 weeks did not affect the measured oxidative stress markers in men with established cardiovascular disease

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

$^1\text{O}_2$: Μονήρες οξυγόνο

apo A1 : Απολιποπρωτεΐνη A1 (apolipoprotein A1)

CAT : Καταλάση

CRP : C αντιδρώσα πρωτεΐνη (C reactive protein)

D-Dimer : Προϊόντα αποδόμησης ινώδους

GR : Αναγωγή της γλουταθειόνης

GRAN : Πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα

GSH : Ανηγμένη γλουταθειόνη

GSSG : Οξειδωμένη γλουταθειόνη

HC : Αιματοκρίτης

HDL chol : HDL χοληστερόλη, χοληστερόλη που συνδέεται με υψηλής περιεκτικότητας λιποπρωτεΐνη (high density lipoprotein cholesterol)

HGB : Αιμοσφαιρίνη

IL-6 : Ιντερλευκίνη 6

LDL chol : LDL χοληστερόλη, χοληστερόλη που συνδέεται με χαμηλής περιεκτικότητας λιποπρωτεΐνη (low density lipoprotein cholesterol)

LP(a) : Λιποπρωτεΐνη a

LYMPH : Λεμφοκύτταρα

MDA : Μαλόνδιαλδεϋδη (malondialdehyde)

Mid : Αριθμός μονοκυττάρων, βασεόφιλων και ηωσινόφιλων

$\text{NO}_2 \bullet$: Νιτρώδες

$\text{O}_2 \bullet -$: Ανιόν υπεροξειδίου

O_3 : Όζον

PA : Δραστηριότητα προθρομβίνης

PAF : Παράγοντας Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων

PAI : Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου

PLT : Αιμοπετάλια

PLV : Ιξώδες πλάσματος

RBC : Ερυθρά αιμοσφαίρια

ROOH : Οργανικό υδροϋπεροξείδιο

ROS : Δραστικές Μορφές Οξυγόνου (Reactive Oxygen Species)

SOD : Δισμουτάση του υπεροξειδίου

TBARS : Προϊόντα λιποειδικής υπεροξείδωσης, δραστικές ουσίες του θειοβαρβιτουρικού οξέος (Thiobarbituric acid reactive substances)

tchol : Ολική χοληστερόλη (total cholesterol)

TNF- α : Παράγοντας νέκρωσης όγκου- άλφα (tumor necrosis factor- alpha)

t-PA : Ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου

TXB2 : Θρομβοξάνη B2

vWF : Παράγοντας von Willebrand

WBC : Λευκοκύτταρα

$\Delta\text{M}\Sigma$: Δείκτης μάζας σώματος

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1 : Δομή καφεϊκού οξέος	44
Εικόνα 2 : Δομή trans ρεσβερατρώλης	45
Εικόνα 3 : Το σύστημα των δακτυλίων των φλαβονοειδών	46
Εικόνα 4 : Δομή επικατεχίνης και γαλλοκατεχίνης	46
Εικόνα 5 : Δομή κερκετίνης	47
Εικόνα 6 : Δομή και είδη ανθοκυανιδινών	47
Εικόνα 7 : Παραγωγή TBARS	85

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.1 : Δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου	15
ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1 : Επιδημιολογικές μελέτες για την επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στα καρδιαγγειακά νοσήματα	34
ΠΙΝΑΚΑΣ 2.2 : Φαινολικές ενώσεις και οι ιδιότητες τους	49
ΠΙΝΑΚΑΣ 3.1 : Κλινικές μελέτες για την επίδραση της κατανάλωσης κρασιού σε δείκτες λιπιδαιμικού προφίλ	59
ΠΙΝΑΚΑΣ 3.2 : Κλινικές μελέτες για την επίδραση της κατανάλωσης κρασιού σε δείκτες θρόμβωσης	64
ΠΙΝΑΚΑΣ 3.3 : Κλινικές μελέτες για την επίδραση της κατανάλωσης κρασιού σε δείκτες φλεγμονής	73
ΠΙΝΑΚΑΣ 3.4 : Κλινικές μελέτες για την επίδραση της κατανάλωσης κρασιού σε δείκτες οξειδωτικού στρες	78
ΠΙΝΑΚΑΣ 6.1 : Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στην έναρξη της μελέτης.....	91
ΠΙΝΑΚΑΣ 6.2 : Γενικές εξετάσεις των εθελοντών στην έναρξη της μελέτης (αρτηριακή πίεση και υποκυτταρικός πληθυσμός)	91
ΠΙΝΑΚΑΣ 6.3 : Κλασικοί βιοχημικοί δείκτες των εθελοντών στην έναρξη της μελέτης.....	91
ΠΙΝΑΚΑΣ 6.4 : Αποτελέσματα test Kolmogorov - Smirnov	92
ΠΙΝΑΚΑΣ 6.5 : Δείκτες οξειδωτικού στρες των εθελοντών στην έναρξη της παρέμβασης.....	92
ΠΙΝΑΚΑΣ 6.6 : Δείκτες οξειδωτικού στρες των εθελοντών στις 3 διαφορετικές χρονικές στιγμές της παρέμβασης	92
ΠΙΝΑΚΑΣ 6.7 : Συσχέτιση των δεικτών οξειδωτικού στρες με τα βασικά χαρακτηριστικά και τους βασικούς βιοχημικούς δείκτες των εθελοντών.....	97

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 2.1 : διάγραμμα "δάσος" της θνησιμότητας από καρδιαγγειακή νόσο σε συσχέτιση με την κατανάλωση αλκοόλ	43
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.1 : Η επίδραση της παρέμβασης στα επίπεδα ουρικού οξέος των εθελοντών...	94
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.2 : Η επίδραση της παρέμβασης στην δραστικότητα του ενζύμου GPx στον ορό των εθελοντών.....	95
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.3 : Η επίδραση της παρέμβασης στα επίπεδα των tBARS των εθελοντών.....	96

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

1.1 Παραγωγή

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να οριστούν ως μόρια ή μοριακά θραύσματα που περιέχουν ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια σε ατομικά ή μοριακά τροχιακά (1). Η έννοια του ασύζευκτου ηλεκτρονίου υποδηλώνει ότι ένα ηλεκτρόνιο κινείται μόνο του σε μία τροχιά, γύρω από τον πυρήνα του ατόμου, σε αντίθεση με το σύνηθες φαινόμενο της ύπαρξης δύο ηλεκτρονίων, σε κάθε τροχιά, τα οποία παρουσιάζουν αντίθετη στροφορμή ή spin (μαγνητική ροπή που δημιουργείται από την περιστροφή του ηλεκτρονίου γύρω από τον άξονά του) (2).

Τελευταία χρησιμοποιείτε ο όρος «δραστικές μορφές» αντί του όρου «ελεύθερες ρίζες».

1.1.α Δραστικές μορφές οξυγόνου , ROS

Οι Δραστικές Μορφές Οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) ταξινομούνται στις εξής τέσσερις κατηγορίες: (i) ελεύθερες ρίζες, όπως η ρίζα υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$), (ii) ιόντα, όπως το υποχλωριώδες ανιόν (ClO^-), που προκύπτει από τη διάσπαση του υποχλωριώδους οξέος (HClO), (iii) συνδυασμούς ελευθέρων ριζών και ιόντων, όπως το ανιόν υπεροξειδίου ($\cdot\text{O}_2^-$) και (iv) μόρια, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2).

Οι ρίζες που προέρχονται από το οξυγόνο αντιπροσωπεύουν την πιο σημαντική κατηγορία ελευθέρων ριζών.

Το μοριακό οξυγόνο έχει μια μοναδική ηλεκτρονιακή διαμόρφωση , γεγονός που το καθιστά χημικά πολύ δραστικό και αποτελεί και το ίδιο ρίζα. Ο ατομικός αριθμός (Z) του οξυγόνου είναι οκτώ, γεγονός που σημαίνει ότι διαθέτει οκτώ πρωτόνια και οκτώ ηλεκτρόνια. Τα ηλεκτρόνια του είναι κατανεμημένα, γύρω από τον πυρήνα, σε δύο στιβάδες, τη στιβάδα K και τη στιβάδα L. Η στιβάδα K περιέχει δύο ηλεκτρόνια, ενώ η στιβάδα L περιέχει έξι ηλεκτρόνια. Τα έξι ηλεκτρόνια της στιβάδας L του ατόμου του οξυγόνου κατανέμονται δύο σε τροχιά που χαρακτηρίζεται ως 2s, ενώ τα υπόλοιπα τέσσερα κατανέμονται σε τρεις τροχιές, οι οποίες χαρακτηρίζονται ως 2p. Τα δύο από τα τέσσερα αυτά ηλεκτρόνια παρουσιάζουν αντίθετο spin και καταλαμβάνουν το πρώτο τροχιακό, ενώ τα υπόλοιπα δύο παρουσιάζουν το ίδιο spin και καταλαμβάνουν από ένα τροχιακό το καθένα. Επειδή τα δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια του μοριακού οξυγόνου έχουν το ίδιο spin, το μοριακό οξυγόνο μπορεί να αντιδράσει με ένα μόνο ηλεκτρόνιο κάθε φορά, με αποτέλεσμα να περιορίζεται η δραστικότητά του. Εάν όμως ένα από τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια διεγερθεί και αλλάξει spin, προκύπτει το μονήρες οξυγόνο, το οποίο είναι ιδιαίτερα δραστικό, αφού τα δύο ηλεκτρόνια με το αντίθετο spin μπορούν να αντιδράσουν και τα δύο γρήγορα με άλλα ζεύγη ηλεκτρονίων.

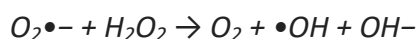
Η προσθήκη ενός ηλεκτρονίου στο μοριακό οξυγόνο σχηματίζει την ελεύθερη ρίζα του ανιόντος υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet -}$). Η παραγωγή του ανιόντος υπεροξειδίου λαμβάνει χώρα ως επί το πλείστον εντός των μιτοχονδρίων του κυττάρου (3). Το ανιόν υπεροξειδίου, που προκύπτει είτε μέσω μεταβολικών διεργασιών ή μετά από την ενεργοποίηση του οξυγόνου μέσω φυσικής ακτινοβολίας, θεωρείται το "πρωτογενές" ROS, και μπορεί να αλληλεπιδράσει περαιτέρω με άλλα μόρια για να δημιουργήσει "δευτερεύοντα" ROS, είτε άμεσα είτε έμμεσα κατά κύριο λόγο μέσω ενζύμων ή διαδικασιών οι οποίες καταλύονται από μέταλλα (4). Το ανιόν υπεροξειδίου δεν αντιδρά με πολυπεπτίδια, σάκχαρα και νουκλεϊκά οξέα αλλά εξαντλείται διότι συμμετέχει σε αντιδράσεις αυτοοξειδοαναγωγής.



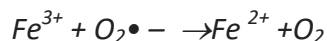
Σε καταστάσεις stress απελευθερώνεται $O_2^{\bullet -}$ με αποτέλεσμα να αποδεσμεύεται Fe^{2+} από τις πρωτεΐνες δέσμευσης του και να πραγματοποιείται η αντίδραση Fenton



Στην αντίδραση Fenton συμμετέχει το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), το οποίο αν και δεν περιέχει ασύζευκτο ηλεκτρόνιο αποτελεί και αυτό ROS (5). Επιπλέον παράγεται και ρίζα υδροξυλίου ($\bullet OH$), η οποία αποτελεί επίσης ένα πολύ δραστικό ROS με πολύ μικρό χρόνο ημιζωής in vivo ($\approx 10^{-7}$ s) (6). Ρίζα υδροξυλίου ($\bullet OH$) επίσης παράγεται και στην αντίδραση Haber-Weis



στην οποία συμμετέχει το $O_2^{\bullet -}$ και συνδυάζει την αντίδραση Fenton με την αναγωγή του τρισθενούς σιδήρου από το $O_2^{\bullet -}$ προς δισθενή σίδηρο και μοριακό οξυγόνο (5)



Πρέπει βέβαια να σημειωθεί ότι η αντίδραση Fenton είναι γνωστό ότι συμβαίνει in vitro. Η σπουδαιότητά της υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν είναι σαφής, ιδιαίτερα εάν ληφθεί υπόψη η αμελητέα ποσότητα ελευθέρων ιόντων μετάλλων, τα οποία μπορούν να δράσουν καταλυτικά λόγω της επιτυχούς δέσμευσής τους από τις μεταλλοπρωτεΐνες (7).

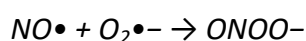
Άλλες μορφές ελεύθερων ριζών σε ζώντες οργανισμούς οι οποίες προέρχονται από το O_2 αποτελούν οι ρίζες υπεροξειδίου ($ROO^{\bullet}$). Η απλούστερη ρίζα υπεροξειδίου είναι η $HOO^{\bullet}$ και είναι γνωστή ως ρίζα υδροϋπεροξειδίου, η οποία είναι το συζυγές οξύ του ανιόντος

υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet -}$). Η ρίζα υδροϋπεροξειδίου είναι υπεύθυνη για την έναρξη της υπεροξειδωσής των λιπιδίων (8).

1.1.β Δραστικές μορφές αζώτου , RNS

Η ρίζα του μονοξειδίου του αζώτου ($NO^{\bullet}$) αποτελεί ένα μικρό μόριο, το οποίο περιέχει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο και συνεπώς αποτελεί ελεύθερη ρίζα. Το $NO^{\bullet}$ αποτελεί σημαντικό μόριο μεταγωγής σήματος σε μεγάλο αριθμό φυσιολογικών διεργασιών, όπως η νευροδιαβίβαση, η ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, η χάλαση των λείων μυϊκών ινών και το ανοσοποιητικό σύστημα (9). Παράγεται κατά την οξείδωση της L-αργινίνης προς κιτρουλίνη, με μια διεργασία που καταλύεται από τις συνθετάσες του NO (NOSs) (10).

Μπορεί να μετατραπεί σε πολλές άλλες δραστικές ρίζες αζώτου, όπως NO^+ , (NO^-) και υπεροξυνιτρώδες ($ONOO^-$). Κατά την διάρκεια οξειδωτικής έκρηξης στο κύτταρο του ανοσοποιητικού παράγονται ρίζα μονοξειδίου του αζώτου και ανιόν υπεροξειδίου, τα οποία αντιδρούν και παράγεται υπεροξυνιτρώδες ($ONOO^-$).



Η ρίζα του μονοξειδίου του αζώτου ($NO^{\bullet}$) αντιδρά και με το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) παράγοντας υπεροξυνιτρώδες ($ONOO^-$), το οποίο είναι πιο οξειδωτικά ισχυρό από το ανιόν υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet -}$) και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) (11).

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.1 : Δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου (12) (13)

Χημικός Τύπος	Ονομασία
$O_2^{\bullet -}$	Ανιόν υπεροξειδίου
$HO_2^{\bullet}$	Υδροϋπεροξειδική ρίζα
$H_2 O_2$	Υπεροξείδιο του υδρογόνου
$\bullet OH$	Ρίζα υδροξυλίου
$RO^{\bullet}$	Ρίζα αλκοξειδίου
$ROO^{\bullet}$	Ρίζα υπεροξειδίου
$ROOH$	Οργανικό υδροϋπεροξείδιο
1O_2	Μονήρες οξυγόνο
O_3	Όζον
$HOCl$	Υποχλωριώδες οξύ
$NO^{\bullet}$	Ρίζα μονοξειδίου του αζώτου
$NO_2^{\bullet}$	Νιτρώδες
$ONOO^-$	Υπεροξυνιτρώδες ανιόν

1.1.γ Σημεία παράγωγης ελεύθερων ριζών

Οι δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου στους ζώντες οργανισμούς παράγονται ενδογενώς (σε μιτοχόνδρια, υπεροξυσώματα και ενεργοποιημένα φλεγμονώδη κύτταρα) και εξωγενώς (14).

Διάφοροι οδοί και μηχανισμοί εμπλέκονται στον σχηματισμό των ROS ενδογενώς στα κύτταρα. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται ο σχηματισμός τους μέσω του ενζύμου οξειδάσης του NAD(P)H, μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας στα μιτοχόνδρια, του κυτοχρώματος P450, της οξειδάσης της ξανθίνης (XO), της οδού του αραχιδονικού οξέος (λιποξυγονάση και κυκλοξυγονάση (COX)) και της συνθετάσης του μονοξειδίου (NOS) (15).

Τα μιτοχόνδρια είναι η κύρια θέση γένεσης ελεύθερων ριζών καθώς περιέχουν αντιοξειδωτικά όπως η γλουταθειόνη (GSH), η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx), τα οποία βρίσκονται και στις δύο πλευρές των μεμβρανών του μιτοχονδρίου για την ελαχιστοποίηση του οξειδωτικού stress (16). Το κυτόχρωμα P450 αποτελεί πηγή αντιδραστικών μορφών O_2 ιδιαίτερα ανιόντων υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet -}$) και υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2). Το ήπαρ με τη σειρά του, ως το κύριο όργανο που περιέχει υπεροξυσώματα, παράγει υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), καθώς τα υπεροξυσώματα παράγουν σε φυσιολογικές συνθήκες μόνο υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και όχι ανιόντα υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet -}$). Τα υπεροξυσώματα είναι τα κύρια οργανίδια, τα οποία καταναλώνουν οξυγόνο στο κύτταρο και συμμετέχουν σε πολλές βιολογικές διεργασίες χρησιμοποιώντας αυτό του οξυγόνου. Η κατανάλωση οξυγόνου στα υπεροξυσώματα οδηγεί στην παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), το οποίο, στη συνέχεια, χρησιμοποιείται για την οξείδωση μεγάλου αριθμού μορίων. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) παράγεται και σε άλλα όργανα που περιέχουν υπεροξυσώματα. Τέλος ενδογενώς, τα ενεργοποιημένα μακροφάγα λόγω αυξημένης πρόσληψης O_2 παράγουν και αυτά ελεύθερες ρίζες, όπως ανιόν υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet -}$), νιτρικό οξείδιο (NO) και υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) (4).

Αντιδραστικά είδη μπορούν να παραχθούν και από έναν ξενιστή μέσω εξωγενών διαδικασιών. Περιβαλλοντικοί παράγοντες συμπεριλαμβανομένων και μη γονοτοξικών καρκινογόνων ουσιών μπορούν να δημιουργήσουν άμεσα ή έμμεσα ROS ένα κύτταρο.

1.2 Επίδραση σε βιολογικά μόρια

1.2.α DNA

Το DNA αποτελεί το γενετικό υλικό του οργανισμού και αποτελείται από μονομερή που ονομάζονται νουκλεοτίδια. Βλάβη στην δομή του DNA οδηγεί σε βλάβη της πρωτεΐνης που κωδικοποιείται στην συγκεκριμένη θέση του DNA, προκαλώντας τη δυσλειτουργία ή και τη πλήρη αδρανοποίηση της (17). Οι δραστικές μορφές οξυγόνου ROS επιδρούν στο DNA στις πουρίνες, στις πυριμιδίνες αλλά και στον σκελετό δεοξυριβόζης. Οι περιστασιακές οξειδωτικές βλάβες του DNA μπορεί να θεωρηθούν και ως πρώτα βήματα για μεταλλάξεις, καρκινογένεση

και γήρανση (18). Τα ROS , και ιδιαίτερα η ρίζα υδροξυλίου ($\text{OH}\bullet$) μπορούν να αντιδράσουν με το DNA με την προσθήκη της $\text{OH}\bullet$ στον διπλό δεσμό μεταξύ άνθρακα C5 και C6 στις πυριμιδίνες (ουρακίλη, θυμίνη και κυτοσίνη) σχηματίζοντας 5-υδρόξυ-6-υλο και 6-υδρόξυ-5-υλο ελεύθερες ρίζες. Ταυτόχρονα η $\text{OH}\bullet$ αφαιρεί και ένα άτομο υδρογόνου από την μεθυλομάδα της θυμίνης. Η ελεύθερη ρίζα που προκύπτει διαφέρει ως προς τις οξειδοαναγωγικές της ιδιότητες , καθώς η 5-υδρόξυ-6-υλορίζα έχει αναγωγικές και η 6-υδρόξυ-5-υλορίζα έχει οξειδωτικές ιδιότητες. Η $\text{OH}\bullet$ μπορεί να αντιδράσει και με τις πουρίνες (αδενίνη και γουανίνη) όπου μπορεί να προστεθεί στους άνθρακες C4,C5,C8 και παραχθούν ρίζες ενώσεων προσθήκης $\text{C4-OH}\bullet$, $\text{C5-OH}\bullet$, και $\text{C8-OH}\bullet$. Με πρόδρομο μόριο την $\text{C8-OH}\bullet$, μετά από μία σειρά αντιδράσεων, μπορεί να σχηματιστεί η 8- υδροξυγουανίνη (8-oxo-G) που αποτελεί το πλέον συχνό παράγωγο οξειδωτικής βλάβης του DNA στον ανθρώπινο οργανισμό και διαθέτει υψηλή μεταλλαξογόνο δράση στο βιολογικά κύτταρα (19).

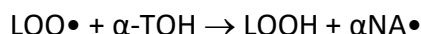
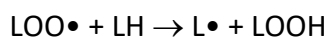
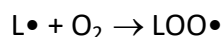
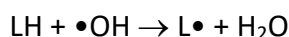
1.2.β Πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες αποτελούν μόρια ζωτικής σημασίας για τον οργανισμό κυρίως καθώς μια πληθώρα αυτών αποτελούν ένζυμα που καταλύουν σημαντικές βιοχημικές αντιδράσεις. Η οξείδωση των πρωτεϊνών από τις ενεργές μορφές οξυγόνου ROS επηρεάζει την δραστικότητα και την τριτοταγή δομή των πρωτεϊνών ,καθώς επίσης τις κάνει πιο ευάλωτες στους μηχανισμούς των κυττάρων που εξαλείφουν κατεστραμμένες πρωτεΐνες. Τα ROS επηρεάζουν με διαφορετικό τρόπο τα διάφορα αμινοξέα, με τα πλέον ευαίσθητα να είναι η κυστεΐνη , η μεθειονίνη και η ιστιδίνη (20).Τα ROS , και ιδιαίτερα η ρίζα υδροξυλίου ($\text{OH}\bullet$) αντιδρούν με τις πρωτεΐνες απομακρύνοντας ένα άτομο υδρογόνου από την πολυπεπτιδική αλυσίδα σχηματίζοντας μια ρίζα που αντιδρά σε αερόβιες συνθήκες άμεσα με οξυγόνο προς ρίζα υπεροξειδίου ($\text{ROO}\bullet$) (21) .

1.2.γ Λιποειδή

Τα λιποειδή, ιδιαίτερα όσα περιέχουν φωσφορικές ομάδες στα μόρια τους, αποτελούν δομικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών αλλά και άλλων κυτταρικών δομών του πυρήνα και των μιτοχονδρίων. Οποιαδήποτε βλάβη στα φωσfolιπίδια, σημαίνει βλάβη ή καταστροφή των δομών αυτών άρα και κίνδυνο για την βιωσιμότητα του κυττάρου. Η πιο χαρακτηριστική βλάβη που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες στα λιπίδια είναι η υπεροξειδωση των λιποειδών. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στα φωσfolιπίδια είναι τα πλέον ευαίσθητα σε οξείδωση από ρίζες υδροξυλίου ($\text{OH}\bullet$) αλλά και άλλα οξειδωτικά. Μια ελεύθερη ρίζα είναι σε θέση να προκαλέσει την οξείδωση πολλών μορίων , διότι πυροδοτεί μια σειρά

αλυσιδωτών αντιδράσεων κατά την διάρκεια των οποίων εκτός από την καταστροφή των μεμβρανών των κυττάρων, σχηματίζονται και προϊόντα με οξειδωτική δράση τα οποία προκαλούν βλάβες σε άλλα βιομόρια όπως οι πρωτεΐνες και το DNA (17). Η υπεροξείδωση των λιποειδών, ξεκινά όταν μια ελεύθερη ρίζα αφαιρεί ένα άτομο υδρογόνου από μία αιθυλομάδα CH_2 αφήνοντας ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στο άτομο του άνθρακα. Η ρίζα του άνθρακα που έχει προκύψει σταθεροποιείται με μοριακή μετάθεση προς συζευγμένο διένιο, το οποίο μπορεί να αντιδράσει με μόριο οξυγόνου προς ρίζα υπεροξυλίου ($\text{LOO}\bullet$). Η ρίζα υπεροξυλίου ($\text{LOO}\bullet$) μπορεί να αντιδράσει, αφαιρώντας άτομα υδρογόνου από άλλα μόρια, να παραχθεί υδροϋπεροξειδικό λιπίδιο (LOOH) και να συνεχιστεί η αλυσίδα. Για να τερματιστεί ο κύκλος, συνήθως αντιοξειδωτικά όπως η Βιταμίνη Ε ως α -τοκοφερόλη ($\alpha\text{-TOH}$) αντιδρούν για παράδειγμα προς σταθερή φινόξυ τοκοφερολική ρίζα ($\alpha\text{NA}\bullet$) (13)



Κατά την διάρκεια της υπεροξείδωσης μπορεί να σχηματιστεί ρίζα υδροξειδίου ($\text{ROO}\bullet$), από την οποία με αντίδραση κυκλοποίησης προκύπτουν ενδοϋπεροξειδία και τελικά μηλονυλοαλδεύδη (MDA). Η μηλονυλοαλδεύδη έχει κατηγορηθεί από έρευνες ως καρκινογόνος ουσία σε αρουραίους και κύτταρα θηλαστικών (22). Επιπλέον παράγεται και 4-υδρόξυνονελάνη (HNE), η οποία έχει ασθενή δράση στον άνθρωπο αλλά θεωρείται το πιο τοξικό προϊόν της υπεροξείδωσης των λιπιδίων (18).

1.3 Επίδραση στον ανθρώπινο οργανισμό

Το οξειδωτικό στρες λόγω της επίδρασης του στα βιολογικά μόρια του οργανισμού έχει κατηγορηθεί για την πρόκληση μιας πληθώρας ασθενειών στον άνθρωπο. Ασθένειες και καταστάσεις που φαίνεται να εμπλέκεται το οξειδωτικό στρες είναι (23) :

- τα καρδιαγγειακά νοσήματα και η αθηροσκλήρωση
 - Η οξειδωμένη LDL χοληστερόλη σχετίζεται άμεσα με την αθηρογένεση καθώς είναι γνωστό ότι διεγείρει τα μακροφάγα και την δημιουργία αφρωδών κυττάρων και επάγει την φλεγμονώδη απάντηση (περαιτέρω ανάλυση της σχέσης οξειδωμένης LDL και καρδιαγγειακών νοσημάτων παρακάτω) (24).
- η αλκοολική ηπατοπάθεια

- Καταστροφή προκαλείται και στα κύτταρα του ήπατος , με αποτέλεσμα την εμφάνιση αλκοολικής ηπατοπάθειας λόγω της παραγωγής ROS κατά την οξείδωση της αιθανόλης είτε λόγω της συσσώρευσης NADH κατά την επανοξείδωση του οποίου σε NAD⁺ υπάρχει ροή ηλεκτρονίων, είτε λόγω της δράσης του ενζύμου CYP2E1 του κυτοχρώματος P450 (25).
- οι νεφροπάθειες
- οι διάφοροι τύποι καρκίνου
 - Μια μη θανατηφόρος μετάλλαξη στο μόριο του DNA από ROS, η οποία δεν διορθώνεται από την DNA συνθάση, μπορεί να οδηγήσει στην δημιουργία ενός αλλαγμένου κυττάρου που μετά από κυτταρική διαίρεση μπορεί να δημιουργήσει όγκους άρα και καρκίνο στον οργανισμό (4).
- ο σακχαρώδης διαβήτης
- οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως Alzheimer και Parkinson
- οι φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου
- η ρευματοειδής αρθρίτιδα
- το γήρας, το οποίο φαίνεται να οφείλεται στην κανονική αλλά μακροχρόνια έκθεση σε ROS και την συσσώρευση οξειδωμένων και κατεστραμμένων μορίων στα κύτταρα. Ακόμη και μια κανονική και μακροχρόνια έκθεση του οργανισμού σε ROS και η συσσώρευση οξειδωμένων μορίων στα κύτταρα , φαίνεται να οδηγεί σε εμφάνιση γήρατος και νευροεκφυλιστικών ασθενειών όπως το Alzheimer (26).

Οξειδωτικό στρες και αθηρογένεση

Το οξειδωτικό στρες αποτελεί ένα βασικό παράγοντα για την δημιουργία αθηρωματικών πλακών στα αιμοφόρα αγγεία άρα και της πρόκλησης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Με το πέρασμα των ετών έχουν διατυπωθεί διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί που μπορούν να εξηγήσουν την αθηρογένεση. Το 1973, οι Ross και Glomset ανέφεραν για πρώτη φορά της σχέση που μπορεί να έχει η αθηρογένεση με την ενδοθηλιακή αγγειακή βλάβη. (27). Το 1977 ο Ross προτείνει μια ολοκληρωμένη υπόθεση για αθηροσκλήρωση ,την υπόθεση "response to injury" (28). Ο Ross προτείνει ότι μια ενδοθηλιακή βλάβη είναι αρκετή να ξεκινήσει αθηρογένεση λόγω της αυξημένης ενδοθηλιακή διαπερατότητα σε αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες (29). Η υπόθεση "response to injury" του Ross έδωσε το έναυσμα για να δημιουργηθεί η υπόθεση της

"οξειδωτικής τροποποίησης" ("oxidative modification") στην οποία κύριο ρόλο παίζει η οξειδωμένη LDL μέσω της παραγωγής αφρωδών κυττάρων.

Μια ενδοθηλιακή βλάβη στο αγγειακό τοίχωμα θα εκθέσει στην κυκλοφορία του αίματος εσωτερικά στρώματα του ενδοθηλίου με αποτέλεσμα να μπορούν να εισέλθουν στα τοιχώματα αυτά, ουσίες που κυκλοφορούν στο πλάσμα. Έτσι, εάν στην κυκλοφορία του αίματος υπάρχει μεγάλη συγκέντρωση LDL χοληστερόλης, θα αυξηθεί και η συγκέντρωση της στα υποενδοθηλιακά στρώματα. Εκεί η LDL μπορεί να τροποποιηθεί αρχικά σε MM-LDL (ελάχιστα τροποποιημένη LDL), η δομή της οποία είναι τέτοια ώστε να μπορεί να αναγνωριστεί από τους υποδοχείς της κανονικής LDL και να μην αναγνωρίζεται από τους υποδοχείς εκκαθαριστές των μακροφάγων, και τελικά σε οξειδωμένη LDL (ox-LDL). Κατά την οξείδωση της LDL παράγεται ο Παράγοντας Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (PAF) και τα οξειδωμένα φωσφολιποειδή στα οποία κυρίως οφείλεται η αθηρογόνος δράσης της LDL (30). Η ox-LDL δρα χημειοτακτικά προσελκύοντας στην περιοχή της βλάβης μονοκύτταρα. Αυτά όταν εισέλθουν στο ενδοθήλιο μετατρέπονται με μακροφάγα, τα οποία λόγω της παρουσίας της ox-LDL δεν μπορούν ξανά-απελευθερωθούν στην κυκλοφορία και εγκλωβίζονται στο ενδοθήλιο. Στην επιφάνειά τους, τα μακροφάγα διαθέτουν υποδοχείς-εκκαθαριστές της ακετυλο-LDL, ώστε να δεσμεύουν αυτή την μορφή της LDL και να την αποικοδομούν. Σε αυτούς τους υποδοχείς μπορεί να συνδεθεί και η ox-LDL, αλλά τα μακροφάγα αδυνατούν να αποικοδομήσουν αυτή με αποτέλεσμα να συσσωρεύεται στο εσωτερικό τους και να μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα, το βασικό δομικό στοιχείο της αθηρωματικής πλάκας (31), (32), (33), (34).

Ο PAF αποτελεί τον ισχυρότερο λιπιδικό μεσολαβητή φλεγμονής. Είναι ένα φωσφολιπίδιο με δράσεις στην αιμόσταση, την αγγειοδιαστολή, τον ερεθισμό, την αλλεργία και άλλα. Έχει την δυνατότητα να επάγει την απελευθέρωση ROS και έτσι να οδηγηθούμε σε οξείδωση της LDL που υπάρχει στο υποενδοθήλιο, η οποία με τη σειρά της συμβάλλει σημαντικά στην αύξηση των επιπέδων του PAF, δημιουργώντας έναν αέναο φαύλο κύκλο προς την δημιουργία αφρωδών κυττάρων, με το ίδιο τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω. (30)

Σημαντικό ρόλο στην δημιουργία αθηρωματικής πλάκας διαδραματίζει και η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων για να διορθωθεί η βλάβη του ενδοθηλίου, κυρίως μέσω του παράγοντα PAF. Προηγούμενες μελέτες της ερευνητικής μας ομάδας έχουν δείξει πως η μέτρια κατανάλωση κρασιού, συνοδεία γεύματος μπορεί να μειώσει *in vivo* την βιοσύνθεση του PAF από τα λευκοκύτταρα καθώς και να μειώσει την *ex vivo* συσσώρευση των αιμοπεταλίων έναντι

του PAF εμφανίζοντας ευεργετική δράση στους παθολογικούς μηχανισμούς της αθηροσκλήρωσης (35) (36).

Τα αιμοπετάλια όταν δεν είναι ενεργοποιημένα, διαθέτουν πολλές πτυχώσεις στην κυτταροπλασματική τους μεμβράνη προς το εσωτερικό του κυττάρου. Κατά την ενεργοποίησή τους, η κυτταροπλασματική μεμβράνη εκτείνεται προς το εξωτερικό μέρος παρέχοντας εύκολη πρόσβαση στους υποδοχείς και στα φωσfolιποειδή, που είναι απαραίτητα για τη διαδικασία της πήξης. Για την ενεργοποίησή τους είναι απαραίτητη η προσκόλλησή τους στον υποενδοθηλιακό τοίχωμα. Σε φυσιολογικές καταστάσεις τα αιμοπετάλια δεν προσκολλούνται στο ενδοθήλιο, αλλά μόνο όταν έχει υποστεί βλάβη το αγγειακό τοίχωμα και εκτίθενται τα συστατικά του (όπως το κολλαγόνο και ο παράγοντας von Willebrand (vWF)) στην κυκλοφορία του αίματος.

Στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων βρίσκονται γλυκοπρωτεΐνες (ιντεγκρίνες) οι οποίες συνδέονται με το κολλαγόνο και τον vWF οδηγώντας σε προσκόλλησή τους στο υποενδοθήλιο. Η συσσώρευση περισσότερων αιμοπεταλίων στον υποενδοθηλιακό χώρο σχηματίζει μια στιβάδα στην περιοχή της βλάβης.

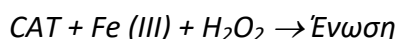
Οι παράγοντες που προκαλούν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων μπορεί να παράγονται από τα ίδια τα αιμοπετάλια ή άλλα κύτταρα που εμπλέκονται στη διαδικασία, μεταξύ των οποίων είναι το ADP, η θρομβίνη, το κολλαγόνο και ο PAF (37).

1.4 Αμυντικά συστήματα

1.4.α Αντιοξειδωτικά ένζυμα

Στον οργανισμό υπάρχουν ένζυμα τα οποία καταλύουν αντιδράσεις καταστροφής των ROS στα κύτταρα.

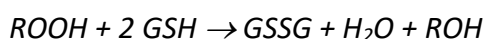
1. Καταλάση (CAT) : αποτελεί το πρώτο αντιοξειδωτικό ένζυμο που προσδιορίστηκε και καταλύει σε 2 στάδια την μετατροπή του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) σε νερό και οξυγόνο.



Το μόριο της αποτελείται από 4 πρωτεϊνικές υπομονάδες που διαθέτουν μια αίμη και ένα μόριο NADPH η κάθε μία (38). Ο σταθερός ρυθμός την αντίδρασης της CAT είναι πολύ υψηλός ($\approx 10^7$ m/sec) και αυτό καθιστά σχεδόν αδύνατο το κορεσμό του ενζύμου

in vivo. Η CAT βρίσκεται κυρίως στα υπεροξυσώματα, όπως και τα περισσότερα ένζυμα που παράγουν H_2O_2 . Κυρίως η CAT βρίσκεται στα ερυθροκύτταρα και τα ηπατοκύτταρα αλλά και σε άλλους ιστούς.

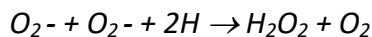
2. Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) & Αναγωγάση της γλουταθειόνης (GR) : η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης καταλύει την οξειδωση την ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) σε βάρος κάποιου υδροϋπεροξειδίου (ROOH), ή του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) ή κάποιου λιπιδικού υδροϋπεροξειδίου (39).



Οι υπεροξειδάσες μπορούν να παίξουν πολύ σημαντικό ρόλο στην αποκατάσταση βλαβών από την υπεροξείδωση λιπιδίων. Οι υπεροξειδάσες για να δράσουν απαιτούν την παρουσία σεληνίου (Se) στην ενεργό μορφή του και αν υπάρχει έλλειψη αυτού μειώνεται η δράση τους (40). Υπάρχουν αρκετές μορφές GPx στον ανθρώπινο οργανισμό, με αυτή που κυκλοφορεί στο πλάσμα να συντίθεται κυρίως στους νεφρούς. Υψηλές συγκεντρώσεις GPx παρατηρούνται στο πάγκρεας αλλά και σε άλλους ιστούς. Ενδοκυτταρικά η GPx εντοπίζεται κυρίως σε μιτοχόνδρια και κυτταρόπλασμα., έτσι θεωρείται ο βασικός "καθαριστής" του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) σε αυτά τα κυτταρικά διαμερίσματα. Η δραστηριότητα της εξαρτάται από την διαθεσιμότητα της ανηγμένης γλουταθειόνης (41).

Η αναγωγάση της γλουταθειόνης δρα αντίθετα από την οξειδάση της γλουταθειόνης καταλύοντας την αναγωγή της οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG). Η οξειδωμένη γλουταθειόνη απομακρύνεται από το κύτταρο με αποτέλεσμα να μειώνεται η συγκέντρωση της ολικής γλουταθειόνης σε αυτό. Όμως για να δράσει η γλουταθειόνη ως αντιοξειδωτικό, όπως θα αναφερθεί παρακάτω, θα πρέπει η αναλογία ανηγμένης προς οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSH/GSSG) να είναι υψηλή και έτσι πραγματοποιείται η αναγωγή της GSSG από την GR παρουσία NADPH.

3. Δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD): καταλύει την αποσύνθεση του υπεροξειδίου (O_2^-) σε υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), καταστρέφοντας με πολύ μεγάλη ταχύτητα το υπεροξείδιο (42).



Στην συνέχεια το H_2O_2 απομακρύνεται από την αναγωγή και την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Στους ιστούς υπάρχουν 3 διαφορετικά είδη SOD με διαφορετική κατανομή σε ιστούς και κυτταρικά διαμερίσματα:

- a. Zn-Cu SOD : βρίσκεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα και διαθέτει 2 πρωτεϊνικές υπομονάδες , η καθεμία από τις οποίες διαθέτει 1 άτομο Zn και 1 άτομο Cu στο ενεργό της κέντρο.
- b. Mn SOD : βρίσκεται κυρίως στα μιτοχόνδρια και διαθέτει 4 πρωτεϊνικές υπομονάδες , η καθεμία από τις οποίες διαθέτει 1 άτομο Mn .
- c. εξωκυττάρια SOD (EC SOD):βρίσκεται κυρίως στα εξωκυτταρικά υγρά και διαθέτει και αυτή μόρια Zn και Cu όπως και η Zn-Cu SOD αλλά διαφέρουν μεταξύ τους. Συντίθεται μόνο σε μερικούς ιστούς , όπως οι ιννοβλάστες και τα ενδοθηλιακά κύτταρα και εκφράζεται στην επιφάνεια των κυττάρων όπου συνδέεται λόγω αυξημένης συγγένειας με την θεική ηπαράνη και την ηπαρίνη, η οποία ενισχύει και την απελευθέρωση της EC SOD στην κυκλοφορία. (43)

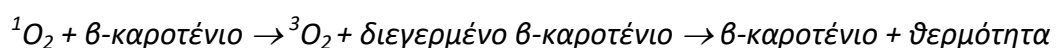
1.4.β Αντιοξειδωτικά που διασπούν αλυσιδωτές αντιδράσεις

Κάθε φορά που μια ελεύθερη ρίζα αντιδρά με ένα μόριο παράγονται δευτερογενείς ρίζες , οι οποίες αντιδρούν και αυτές με άλλα μόρια σχηματίζοντας περισσότερες ελεύθερες ρίζες. Αυτές οι αλυσιδωτές αντιδράσεις είναι συχνές στον ανθρώπινο οργανισμό με χαρακτηριστικό παράδειγμα την υπεροξειδωση την λιποειδών και συνεχίζονται μέχρι να ενωθούν 2 ελεύθερες ρίζες σε ένα σταθερό διμερές προϊόν ή μέχρι οι ελεύθερες ρίζες να εξουδετερωθούν από κάποιο αντιοξειδωτικό που να σταματήσει την αλυσιδωτή αυτή αντίδραση. Αυτές τις αντιοξειδωτικές ουσίες μπορούμε να τις χωρίσουμε σε 2 κατηγορίες, τα αντιοξειδωτικά λιποειδικής και τα αντιοξειδωτικά υδατικής φάσης.

- a. αντιοξειδωτικά λιποειδικής φάσης : εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες σε μεμβράνες και λιποπρωτεϊνικά σωματίδια και συμβάλουν σημαντικά στην πρόληψη της υπεροξειδωσης των λιπιδίων.
 1. Βιταμίνη E : την συναντάμε στην φύση σε 8 διαφορετικές μορφές που διαφέρουν ως προς την βιολογικής τους δραστηριότητα. Οι τοκοφερόλες (α, β, γ και δ) περιέχουν 1 χρωμανυλικό δακτύλιο και 1 φυτυλικό άκρο και διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τον αριθμό των μεθυλίων στο δακτύλιο. Οι τοκοτριενόλες (α, β, γ και δ) έχουν παρόμοια δομή με τις τοκοφερόλες αλλά ακόρεστα άκρα. Όλες οι μορφές της βιταμίνης είναι

λιποδιαλυτές και έχουν έντονη αντιοξειδωτική δράση , καθώς αντιδρούν πιο γρήγορα με τις ρίζες υπεροξειδικών λιποειδών συγκριτικά με τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και έτσι διακόπτουν την αλυσιδωτή αντίδραση. Η λειτουργία της βιταμίνης E είναι άκρως απαραίτητη για τις μεμβράνες και τις λιποπρωτεΐνες αφού αποτελούν παγίδα των ριζών υπεροξειδίου και σπάνε την αλυσίδα υπεροξειδωσής των λιπιδίων (44). Την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση μεταξύ των διαφορετικών μορφών της βιταμίνης έχει η α -τοκοφερόλη , η οποία είναι και άφθονη στον ανθρώπινο οργανισμό. Αυτή αντιδρά γρήγορα με την ρίζα υπεροξειδίου προς την σχετικά σταθερή τοκοφεροξειλική ρίζα. Η επιβάρυνση που προκαλεί το e- είναι διασκορπισμένη σε όλο τον χρωμανυλικό δακτύλιο και έτσι το μόριο είναι σχετικά σταθερό (45). Η α -τοκοφερόλη έχει την ικανότητα να αναγεννηθεί σε υδατικό περιβάλλον με την βοήθεια του ασκορβικού οξέος ή άλλων αντιοξειδωτικών που διασπούν αλυσιδωτές αντιδράσεις σε υδάτινη φάση ,όπως το ουρικό οξύ και η γλουταθειόνη. Εναλλακτικά μπορεί να συνδυαστούν 2 τοκοφεροξειλικές ρίζες ή να οξειδωθεί τελείως η α -τοκοφερόλη σε κινόνη της τοκοφερόλης.

2. Καροτενοειδή : αποτελούν λιποδιαλυτά μόρια ,δομημένα γύρω από έναν ισοπρενιακό ανθρακικό σκελετό με συζευγμένους διπλούς δεσμούς. Αποτελούν πρόδρομα μόρια της βιταμίνης A (ρετινόλης) και έχουν αντιοξειδωτική και εξουδετερώνοντας πλέον αποτελεσματικά το μονήρες οξυγόνο (1O_2) αλλά και συμμετέχοντας στην διάσπαση της υπεροξειδωσής των λιπιδίων μαζί με την βιταμίνη E , συμμετέχοντας βέβαια σε μικρότερο βαθμό (46). Το β - καροτένιο είναι το πιο δραστικό (μαζί με το λυκοπένιο) στην εξουδετέρωση του μονήρους οξυγόνου καθώς το 1O_2 μεταφέρει την διεγερμένη του κατάσταση στο β -καροτένιο και μετατρέπεται σε 3O_2 .Λόγω συντονισμού στο μόριο του β -καροτενίου εξαιτίας των διπλών δεσμών του, το διεγερμένο μόριο απελευθερώνει την ενέργεια του με την μορφή θερμότητας και αναγεννιέται (47).



3. Φλαβονοειδή : αποτελούν ένα μεγάλο σύνολο πολυφαινολικών ενώσεων που περιέχονται σε φρούτα ,λαχανικά και ποτά (π.χ. τσάι και κρασί). Έχουν ταυτοποιηθεί τουλάχιστον 4000 διαφορετικά φλαβονοειδή , τα οποία κατατάσσονται ανάλογα με την χημική τους δομή σε φλαβονόλες (κερκετίνη και καμπφερόλη), φλαβανόλες (κατεχίνες), φλαβόνες (απιγενίνη) και ισοφλαβόνες (γενιστεΐνη) (48). Τα φλαβονοειδή

έχουν χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα και βρίσκονται σε μικρές ποσότητες στο πλάσμα αλλά υπάρχουν ενδείξεις για την συσχέτιση αύξησης των φλαβονοειδών και την βελτίωση δεικτών οξειδωτικού στρες (49).

4. Ουβικινόνη-10: αποτελεί την ανηγμένη μορφή του συνενζύμου Q-10. Η ουβικινόνη ενώ βρίσκεται σε μικρότερες συγκεντρώσεις στον οργανισμό από την τοκοφερόλη διακόπτει πιο αποτελεσματικά την υπεροξειδωση των λιπιδίων συγκριτικά με την α-τοκοφερόλη και το καροτένιο καθώς επίσης μπορεί να βοηθήσει και στην αναγέννηση της τοκοφερόλης από την τοκοφεροξειλική ρίζα. Η ουβικινόνη διαθέτει ιδιαίτερη σημασία στην πρόληψη διάδοσης της υπεροξειδωσης των λιπιδίων, γεγονός που φαίνεται αφού είναι το πρώτο αντιοξειδωτικό λιπιδικής φάσης που εξαντλείται στο πλάσμα όταν η LDL εκτεθεί σε ελεύθερες ρίζες (50).

b. αντιοξειδωτικά υδατικής φάσης : εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες σε υδατικό περιβάλλον.

1. Ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C): αποτελεί το σημαντικότερο αντιοξειδωτικό υδατικής φάσης για τον άνθρωπο και δρα κυρίως ως συμπαραάγοντας ενζύμων σε αντιδράσεις υδροξυλίωσης παρέχοντας ηλεκτρόνια e^- στα ένζυμα ώστε αυτά να αποκτούν την μέγιστη δραστηριότητα τους (51). Η πιο γνωστή χρήση του είναι ως συμπαραάγοντας της 4-υδροξυλάσης της προλίνης και της 3-υδροξυλάσης της λυσίνης στην σύνθεση του κολλαγόνου. Υπάρχουν και άλλα βιοχημικά μονοπάτια στα οποία συμμετέχει το ασκορβικό οξύ. Ως αντιοξειδωτικό, το ασκορβικό οξύ επιδρά στο υπεροξειδίο ($O_2\bullet$), το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), την ρίζα υδροξυλίου ($OH\bullet$), το υπερχλωριώδες οξύ, τις υδατικές ύδροϋπεροξυλικές ρίζες και το μονήρες οξυγόνο (1O_2). Το ασκορβικό οξύ μπορεί να δώσει 1 ή 2 ηλεκτρόνια και να μετατραπεί σε ρίζα ημιδευδροασκορβικού οξέος ή δευδροασκορβικό οξύ αντίστοιχα (52). Για αναγεννηθεί το μόριο του ασκορβικού οξέος μπορούν να συνδυαστούν 2 ρίζες ημιδευδροασκορβικού οξέος προς ασκορβικό οξύ και δευδροασκορβικό οξύ ή να δράσουν αναγωγάσες, όπως η νιασίνη οι θειόλες, η γλουταθειόνη ή η θειρεδοξίνη.

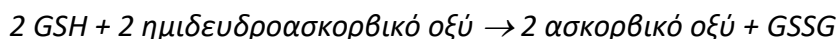
Η νιασίνη ως NADH ή NADPH δρα :



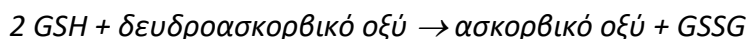
Οι θειόλες, όπως το διϋδρολιποϊκό οξύ, παρέχουν υδρογόνα στο δευδροασκορβικό οξύ :



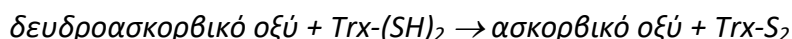
Η γλουταθειόνη στην ανηγμένης της μορφή (GSH) δρα :



ή



Η θειρεοδοξίνη παρέχει αναγωγικά ισοδύναμα στο δευδροασκορβικό οξύ :



(53)

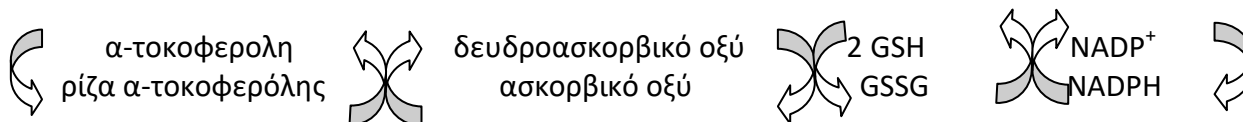
Το μόριο του δευδροασκορβικού οξέος έχει την ικανότητα να απορροφάται πιο γρήγορα από τα ερυθροκύτταρα από ότι αναγεννιέται και γι αυτό η συγκέντρωση του στο πλάσμα είναι πολύ μικρή (54).

2. Ουρικό οξύ: υπάρχει άφθονο στον οργανισμό του ανθρώπου και όταν δρα σαν αντιοξειδωτικό μετατρέπεται σε αλλαντοΐνη (55). Διαθέτει ιδιαίτερη αντιοξειδωτική δράση έναντι συγκεκριμένων οξειδωτικών παραγόντων όπως το όζον (O_3) και μέρος της αντιοξειδωτικής του δράσης οφείλεται σχηματισμό αντιδραστικών συμπλόκων με τον Fe και στην άμεση δέσμευση των ελεύθερων ριζών.
3. Χολερυθρίνη : αποτελεί και αυτό ένα αντιοξειδωτικό υδατικής που διασπά αλυσιδωτές αντιδράσεις και παίζει μεγάλο ρόλο στην προστασία των νεογνών έναντι του οξειδωτικού στρες καθώς αποτελεί το μοναδικό αντιοξειδωτικό τέτοιου τύπου στον οργανισμό ενός νεογνού (43).
4. Πρωτεΐνες που διαθέτουν θειόλες : δρουν ως αντιοξειδωτικά προσφέροντας e- στις ελεύθερες ρίζες προς τον σχηματισμό θειλικών πρωτεϊνικών ριζών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιων πρωτεϊνών αποτελεί η αλβουμίνη, κύρια πρωτεΐνη στο πλάσμα, η οποία ενισχύει των αριθμό θειολών (σουλφιδριλομάδων) στο πλάσμα. Διαθέτει 17 δισουλφιδικούς δεσμούς και 1 κυστεΐνη. Η αντιοξειδωτική

της δράση είναι πολύ σημαντική καθώς είναι η πρωτεΐνη που μεταφέρει τα ελεύθερα λιπαρά οξέα στο αίμα. Δρα δεσμεύοντας τον Cu και αναστέλλοντας την Cu-εξαρτώμενη υπεροξειδωση των λιπιδίων αλλά και τον σχηματισμό ριζών υδροξυλίου (56). Θεωρείται θυσιαστικό μόριο καθώς δεν μπορεί να αναγεννηθεί. Μπορεί όμως να λειτουργήσει και ως προοξειδωτικό μόριο στην υπεροξειδωση την λιποειδών , κάτι που αποτρέπεται από την δράση του ασκορβικού οξέος και της ρετινόλης.

5. Γλουταθειόνη (GSH) : αποτελεί το πιο άφθονο, μικρού μοριακού βάρους, υδατοδιαλυτό, πλούσιο σεθειόλες μόριο στον ανθρώπινο οργανισμό και αποτελείται από 3 αμινοξέα , την κυστεΐνη, την γλυκίνη και το γλουταμινικό οξύ (11). Η γλουταθειόνη συμμετέχει στην μεταφορά αμινοξέων διαμέσου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης αλλά έχει και έντονη αντιοξειδωτική δράση έναντι πληθώρας ελεύθερων ριζών όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), την υπεροξειδική ρίζα λιπιδίων και το μονήρες οξυγόνο (1O_2) (18). Επιπλέον δρα ως συμπράγοντας αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) αλλά αντιδρά και με άλλες πρωτεΐνες που διαθέτουνθειόλες όπως η γλουταρεντοξίνη και η θειρεοδοξίνη που ρυθμίζουν την ομοιόσταση και οξειδωαναγωγική κατάσταση του οργανισμού (11). Κατά την οξείδωση της GSH προκύπτει η ρίζα $GS\bullet$, η οποία δρα προοξειδωτικά και αντιδρά με μια όμοια ρίζα $GS\bullet$ σχηματίζοντας την οξειδωμένη γλουταθειόνη GSSG. Η GSSG έχει την δυνατότητα να αναγεννηθεί ξανά σε GSH με την βοήθεια της αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GR). Τέλος η γλουταθειόνη συμμετέχει και στο κύκλο του μονοξειδίου του αζώτου (NO) που είναι πολύ σημαντικός για την ζωή καθώς αντιδρά και με το μονοξείδιο του αζώτου προς νιτριοθειόλη, πριν αυτό οξειδωθεί, αλλά αντιδρά και με το υπεροξυνιτρώδες ($ONOO^-$) προς οξειδωμένη GSH η οποία αναγεννιέται. (18)

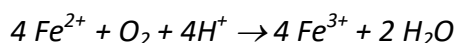
Όλα τα αντιοξειδωτικά που διασπούν αλυσιδωτές αντιδράσεις έχουν 2 κοινά χαρακτηριστικά. Αρχικά μπορούν να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και να αναγεννιούνται το ένα με την βοήθεια του άλλου όπως χαρακτηριστικά η τοκοφερόλη αναγεννιέται από το ασκορβικό οξύ και το ασκορβικό οξύ αναγεννιέται από την γλουταθειόνη.



Τέλος , συχνά αυτά τα αντιοξειδωτικά ενδέχεται να συμπεριφερθούν και ως προοξειδωτικοί παράγοντες. Για παράδειγμα η χορήγηση ασκορβικού οξέος με παράλληλη χορήγηση Fe μπορεί να αυξήσει την οξειδωτική βλάβη, και η τοκοφερόλη μπορεί να προωθήσει την οξείδωση της LDL απουσία αντιοξειδωτικών υδατικής φάσης όπως το ασκορβικό οξύ (43).

1.4.γ Πρωτεΐνες που δεσμεύουν μέταλλα μετάπτωσης

Πρωτεΐνες όπως η φερριτίνη, η τρανφερίνη, η λακτοσφαιρίνη και η σερουλοπλασμίνη έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν Fe και Cu ώστε αυτά να μην είναι διαθέσιμα για την δημιουργία ριζών υδροξυλίου. Η σερουλοπλασμίνη ιδιαίτερα που δεσμεύει τον Cu λειτουργεί αντιοξειδωτικά και μέσω της κατάλυσης της οξείδωσης του δισθενούς Fe.



Ο δισθενής Fe είναι η μορφή Fe που οδηγεί σε αντίδραση Fenton και έτσι η οξείδωση του δισθενή σε τρισθενή Fe παίζει αντιοξειδωτικό ρόλο (57).

1.5 Προσδιορισμός του οξειδωτικού στρες

Ο προσδιορισμός του οξειδωτικού στρες στον οργανισμό δεν μπορεί να γίνει μετρώντας άμεσα το ποσό των ελεύθερων ριζών διότι αυτά αποτελούν πολύ ασταθή μόρια αλλά μπορεί να επιτευχθεί με μετρήσεις που αφορούν άλλες ουσίες που βρίσκονται στο πλάσμα, τα ούρα και τα κύτταρα. Τέτοιες ουσίες είναι προϊόντα οξείδωσης μορίων (LIP, DNA & PRO), αντιοξειδωτικά ένζυμα καθώς και άλλες αντιοξειδωτικές ουσίες.

ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΜΟΡΙΩΝ

Προϊόντα της οξείδωσης των **λιποειδών** που μπορούν αν ανιχνευθούν είναι :

- 4-υδροξυνονελαΐνη (4-HNE) : σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της υπεροξείδωσης λινολεϊκού και αραχιδονικού οξέος (58).
- μηλονυλοαλδεύδη (MDA) : προϊόν της υπεροξείδωσης των λιποειδών που μπορεί να μετρηθεί είτε άμεσα είτε έμμεσα με μεθόδους όπως η μέθοδος των TBARS. Η κύρια προσέγγιση για τον άμεσο, ποσοτικό προσδιορισμό της MDA γίνεται μέσω υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC) σε συνδυασμό με φασματοφωτομετρία UV. Η

διαδικασία όμως δεν είναι πάντα αποτελεσματική διότι υπάρχουν πολλοί παράμετροι που επηρεάζουν την μέτρηση (59).

- TBARS : αποτελούν την πιο κοινή μέτρηση για τον προσδιορισμό της MDA κατά την οποία, προσδιορίζονται ουσίες που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ και δημιουργούν μια κόκκινη χρωστική ουσία που έχει τιμή απορρόφησης εντός ορατού φάσματος ,στα 535 nm.
- Ισοπροστανίνα: ισομερή προσταγλανδινών που παράγονται από την υπεροξειδωση των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης. Μπορούν να εντοπιστούν στα ούρα, το πλάσμα, το εγκεφαλονωτιαίο υγρό και τον εκπνεόμενο αέρα. Προτιμάται γενικά να προσδιορίζονται στα ούρα επειδή συλλογή τους είναι μη επεμβατική και είναι πολύ σταθερά μόρια όταν βρίσκονται στα ούρα (12).

Προϊόντα της οξείδωσης των **πρωτεϊνών** που μπορούν αν ανιχνευθούν είναι :

- Αλλαντοΐνη: έχει πρόσφατα θεωρηθεί ένας πολλά υποσχόμενος βιοδείκτης οξειδωτικού στρες. Στο ανθρώπινο σώμα σχηματίζεται κατά την μη ενζυμική οξείδωση του ουρικού οξέος ,το οποίο είναι το τελικό προϊόν του μεταβολισμού της πουρίνης στους ανθρώπους, από ROS. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, το ουρικό οξύ είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό αλλά η υπερπαραγωγή ROS μπορεί να οδηγήσει στην οξείδωση του ουρικού οξέος προς αλλαντοΐνη (12).
- Ανηγγμένα πρωτεϊνικά προϊόντα οξείδωσης (AOPP) : βρίσκονται στο πλάσμα και μπορούν να προσδιοριστούν με χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους. Κυκλοφορούν στο πλάσμα συνδεδεμένα με οξειδωμένες πρωτεΐνες του πλάσματος, ιδιαίτερα την λευκωματίνη και δεν έχουν οξειδωτικές ιδιότητες (60).

Προϊόντα της οξείδωσης του **DNA** που μπορούν αν ανιχνευθούν είναι :

- Οξειδωμένο DNA: μέσω απομόνωσης του DNA από ανθρώπινα κύτταρα και ιστούς μπορούμε να προσδιορίσουμε βασικά προϊόντα καταστροφής του DNA. Στην διαδικασία αυτή όμως μπορεί να μην έχουμε ακριβές αποτέλεσμα διότι στο DNA ενδέχεται να έχουν ήδη διορθωθεί οι βλάβες μέσω ενζύμων που έχουν την ικανότητα να το επιδιορθώνουν.
- 8- υδροξυγουανίνη (8-OHG) & 8- υδροξυδιγουανίνη (8-OHdG): αποτελούν πολύ συχνούς δείκτες προσδιορισμού οξειδωτικού στρες στο DNA. Ο προσδιορισμός της 8-

υδροξυδιγουανίνη γίνεται με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης HPLC συνοδευόμενη με ηλεκτροχημική ανίχνευση ECD, είτε με ανοσοτεχνικές (EIA) (61) .

ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ENZYMA & ΑΛΛΕΣ ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

Μπορούμε να προσδιορίσουμε το οξειδωτικό στρες στον οργανισμό μέσω και του προσδιορισμού του ποσού διαφόρων αντιοξειδωτικών ενζύμων ή άλλων αντιοξειδωτικών ουσιών , που ουσιαστικά εκφράζουν την ανάγκη του οργανισμού να αντισταθεί στην οξειδωτική αυτή κατάσταση. Υπάρχει η δυνατότητα να μετρήσουμε τα ποσά ενζύμων όπως

- δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD)
- υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) & αναγωγή της γλουταθειόνης (GR)
- καταλάση (CAT)

αλλά και αντιοξειδωτικών ουσιών όπως

- ουρικό οξύ
- βιταμίνη E
- βιταμίνη A (καροτενοειδή)
- γλουταθειόνη
- άμεση χολερυθρίνη
- βιταμίνη C
- φλαβονοειδή
- ουβικινόνη - 10

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΚΡΑΣΙ

2.1 Εισαγωγή και ιστορική αναδρομή

Σύμφωνα με πολλές απόψεις η ιστορία του πολιτισμού συμπορεύεται με την ιστορία του κρασιού στον πλανήτη. Η εξημέρωση του ευρασιατικού αμπέλου και η εκμάθηση του ανθρώπου ,πως να το μετατρέπει και να το διατηρεί ως κρασί ξεκινά πριν από 7000 χρόνια. Τα ευρασιατικά είδη αμπέλων (*Vitis vinifera* L. subsp. *Sylvestris*),που είναι αυτοφυή στις εύκρατες ζώνες της Ασίας, την Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική, φαίνεται πως αποτελούν τη πηγή του 99 τοις εκατό του παγκόσμιου κρασιού σήμερα. Η επικράτηση της ευρασιατικής αμπέλου έγινε κυρίως στην Ευρώπη διότι οι λαοί της Βόρειας Αμερικής και της Κίνας δεν θεωρούσαν το σταφύλι ως σημαντική τροφή και δεν προώθησαν την καλλιέργεια του με το πέρασ των χρόνων (62).

Φαίνεται ότι το κρασί, εκτός από την χρήση του ως ποτό, χρησιμοποιούταν και για ιατρικούς σκοπούς από τους γιατρούς της αρχαιότητας ως ηρεμιστικό, αναλγητικό, διουρητικό και φορέα φαρμάκων. Η κατανάλωση κρασιού μαζί με το φαγητό φαίνεται πως χρησιμοποιούταν για να προστατεύσει από γαστρεντερικές λοιμώξεις και υπήρχαν επίσης τεκμηριωμένες απόψεις ότι το κρασί μπορούσε να συμβάλλει και στην επούλωση τραυμάτων (63). Μέχρι και στην μέρες μας, το κρασί φαίνεται να έχει προστατευτική δράση για τον οργανισμό έναντι πολλών παθογόνων καταστάσεων και η επίδραση του στον οργανισμό αποτελεί συνεχώς μια πηγή για νέες έρευνες στον χώρο της υγείας.

Μεσογειακή διατροφή και κατανάλωση κρασιού

Το κρασί για τους λαούς της Μεσογείου αποτελούσε από την αρχαιότητα, μέρος του πολιτισμού τους. Έχουν βρεθεί ζωγραφιές που αφορούν το κρασί σε αντικείμενα εντός των ταφών στις πυραμίδες της Αιγύπτου που δείχνουν πως οι Αιγύπτιοι παρήγαγαν από τα σταφύλια κρασί, μια διαδικασία που αποτελούσε μέρος της καθημερινότητας τους. Εκτός από τους Αιγύπτιους και οι αρχαίοι Έλληνες , μέσα από ποιήματα με ποιητές όπως ο Όμηρος, έχουν δείξει την αφοσίωση τους στην οινοποιεία. Χαρακτηριστικά οι Έλληνες θεωρούσαν το κρασί ως δώρο των θεών και δημιούργησαν το Διόνυσσο, τον θεό του κρασιού. Πίνοντας κρασί πίστευαν πως πίνουν το αίμα του Διονύσου, κάτι που συναντάται και στον μετέπειτα Χριστιανισμό όπου το κρασί θεωρείτο το αίμα του Χριστού όπως αναφέρεται στην Αγία Γραφή. Τέλος και η αγάπη των αρχαίων Ρωμαίων για το κρασί είναι γνωστή μέσα από τα

γραφτά και τα μνημεία τους καθώς μεγάλοι ποιητές όπως ο Οβίδιος, ο Βιργίλιος και ο Οράτιος έγραψαν για το κρασί (64).

Μέχρι και στις μέρες μας το κρασί αποτελεί το κύριο αλκοολούχο ποτό που καταναλώνεται στην Ευρώπη και ιδιαίτερα στις χώρες της Μεσογείου αλλά και την Γαλλία. Αποτελεί επίσης ένα αναπόσπαστο κομμάτι της Μεσογειακής Δίαιτας. Η Μεσογειακή Δίαιτα όπως έχει οριστεί (65), (66), (67). στηρίζεται στην κατανάλωση φυτικών τροφών κυρίως φρούτων και λαχανικών, δημητριακών και ψωμιού ολικής αλέσεως, οσπρίων, ξηρών καρπών και σπόρων. Σάκχαρα ή μέλι καταναλώνονται λίγες φορές την εβδομάδα και κύρια πηγή λίπους για το μαγείρεμα είναι το ελαιόλαδο. Καταναλώνονται μικρές ποσότητες κόκκινου κρέατος και υψηλότερες ποσότητες ψαριών. Χαμηλή έως μέτρια ποσότητα κόκκινου κρασιού συχνά συνοδεύει τα κύρια γεύματα. Το πρότυπο της Μεσογειακής διατροφής αντικατοπτρίζει το κοινό διατροφικό πρότυπο των χωρών της Μεσογείου στις αρχές του 1960 (68) αλλά και στο σύνολο των γνώσεων, εθίμων, συμβολισμών και παραδόσεων που συνδέονται με τη διαδικασία καλλιέργειας, παρασκευής και κατανάλωσης προϊόντων στον ευρύτερο μεσογειακό χώρο, το οποίο αναγνωρίστηκε το 2013 ως αγαθό της άυλης πολιτιστικής κληρονομιάς από την UNESCO (69).

2.2 Επιδημιολογικά δεδομένα για τις ευεργετικές δράσεις της κατανάλωσης κρασιού

Το 1992 για πρώτη φορά παρατηρήθηκε από τον γάλλο καθηγητή Serge Renaud πως ενώ η διατροφή των Γάλλων ήταν πλούσια σε κορεσμένα λιπαρά, εκείνοι παρουσίαζαν χαμηλή συχνότητα εμφάνισης στεφανιαίας νόσου (70). Αυτό αποδεικνύεται και από τα αποτελέσματα του MONICA project του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, το οποίο αφορά δεδομένα της δεκαετίας του 1980, σύμφωνα με τα οποία, η συχνότητα εμφάνισης στεφανιαίας νόσου στους Γάλλους είναι σε αντίστοιχα επίπεδα με εκείνη των λαών της Κίνας και της Ιαπωνίας και πολύ μικρότερα από εκείνα των λαών της Αμερικής και του Ηνωμένου Βασιλείου (World Health Organisation. World Health Statistic Annual, Geneva: World Health Organisation, 1989). Αυτό το παράδοξο φαινόμενο ονομάστηκε <<Γαλλικό παράδοξο>> και φαίνεται να οφείλεται μερικώς στην πρόσληψη κόκκινου κρασιού, το οποίο λόγω του αλκοόλ, της ρεσβερατρόλης και άλλων φαινολικών ενώσεων, δρα προστατευτικά για την υγεία. Αντίστοιχα πιο πρόσφατα δεδομένα του Οργανισμού Τροφίμων και Γεωργίας (Food and Agriculture Organisation, FAO) των Ηνωμένων Εθνών, η διαιτητική κατανάλωση λίπους στη Γαλλία το 2003 ήταν περίπου 168 g / κεφαλή / ημέρα σε σύγκριση με 155 g / κεφαλή / ημέρα στις Ηνωμένες Πολιτείες, και 134 g / κεφαλή / ημέρα στο Ηνωμένο Βασίλειο. Η κατανάλωση ζωικού λίπους ήταν 47 g / κεφαλή /

ημέρα στη Γαλλία, 16 στις Ηνωμένες Πολιτείες, και 19 στο Ηνωμένο Βασίλειο. Παρόλο που η συνολική κατανάλωση αλκοολούχων ποτών ήταν 255 g / κεφαλή / ημέρα στη Γαλλία, 269 στις Ηνωμένες Πολιτείες, και 340 στο Ηνωμένο Βασίλειο, η κατανάλωση κρασιού ήταν 145 g / κεφαλή / ημέρα στη Γαλλία, 19 στις Ηνωμένες Πολιτείες και 49 στο Ηνωμένο Βασίλειο, άρα η κατανάλωση κρασιού αντιπροσώπευε το 57% της συνολικής κατανάλωσης αλκοολούχων ποτών στη Γαλλία, 7% σε οι Ηνωμένες Πολιτείες, και 15% στο Ηνωμένο Βασίλειο. Ωστόσο, σύμφωνα με τον Άτλα της παγκόσμιας επιδημίας της καρδιαγγειακής νόσου και εγκεφαλικού επεισοδίου που εκδίδονται από το Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO), το 2002 το ποσοστό εμφάνισης στεφανιαίας νόσου στη Γαλλία (0,8%) ήταν δύο με τρεις φορές χαμηλότερο από εκείνο των ΗΠΑ (1,8%), και του Ηνωμένου Βασιλείου (2,1%) (71). Έτσι φαίνεται πως η τακτική και μέτρια κατανάλωση κρασιού (1-2 ποτήρια, 10-30 gr αλκοόλ) μπορεί να δράσει προστατευτικά για τον άνθρωπο, σε αντίθεση με τη χρόνια, έντονη κατανάλωση αλκοόλ αλλά και την ευκαιριακή άμετρη κατανάλωση οινοπνεύματος, οι οποίες συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων. Φυσικά δεν υπάρχουν στοιχεία που να προωθούν την κατανάλωση αλκοόλ σε μη πότες (72).

Οι πιθανές καρδιοπροστατευτικές επιδράσεις της κατανάλωσης αλκοόλ αλλά και της κατανάλωσης κρασιού, έχουν απασχολήσει κατά καιρούς πολλούς ερευνητές και επιστήμονες υγείας. Η σχέση της κατανάλωσης κρασιού αλλά και αλκοόλ και των καρδιαγγειακών νοσημάτων αποτέλεσε την εκκίνηση για ένα πλήθος μελετών παρατήρησης ώστε να προσδιοριστεί ο σχετικός κίνδυνος εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων σε πότες και μη. Ένα πλήθος τέτοιων ερευνών έχει συγκεντρωθεί και στον πίνακα που ακολουθεί (73). Οι έρευνες προέρχονται από όλο τον πλανήτη και καταληκτικό σημείο ορίζεται η παρουσία ή απουσία του θανάτου από καρδιαγγειακή νόσο (δηλαδή, θανατηφόρο καρδιαγγειακού ή εγκεφαλικού επεισοδίου), επεισόδιο στεφανιαίας νόσου (θανατηφόρο ή μη θανατηφόρο περιστατικό εμφράγματος του μυοκαρδίου, στηθάγχη, ισχαιμική καρδιακή ασθένεια, ή στεφανιαία επαναγγείωση), ο θάνατος από στεφανιαία νόσο (θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου ή ισχαιμική καρδιοπάθεια), περιστατικό εγκεφαλικού επεισοδίου (ισχαιμικό ή αιμορραγικό επεισόδιο) ή θάνατος από εγκεφαλικό επεισόδιο. Στις συνολικά 84 έρευνες που παραθέτονται στον πίνακα, 34 περιελάμβαναν μόνο άνδρες εθελοντές, 7 μόνο γυναίκες και 44 εθελοντές και των δύο φύλων.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1 : Επιδημιολογικές μελέτες για την επίδραση της κατανάλωσης αλκοόλ στα καρδιαγγειακά νοσήματα

Έρευνα	Ονομασία έρευνας	Αριθμός συμμετεχόντων	Χώρα	Άνδρες (%)	Ηλικία (χρόνια)	Follow-up (χρόνια)	RR	95% CI	Μετρούμενα αποτελέσματα
(74)	Physicians' Health Study	21 537	ΗΠΑ	100	40–84	12	0,73	0,59-0,92	Θνησιμότητα από CHD
(75)	China National Hypertension Survey	64 338	Κίνα	100	≥40	8	0,98	0,91-1,06	Περιστατικό εμφράγματος
							1,00	0,91-1,11	Θνησιμότητα από έμφραγμα
(76)	Epidemiology Follow-up Study	64 597	Κίνα	100	≥40	8	0,73	0,54-0,98	Περιστατικό CHD
							0,72	0,44-1,19	Περιστατικό CHD
							0,83	0,78-0,89	Θνησιμότητα από CVD
(77)	Zoetermeer Cohort	1620	Ολλανδία	46.9	>20	10	0,42	0,24-0,73	Θνησιμότητα από CVD
(78)	Physicians' Health Study	22 071	ΗΠΑ	100	40–84	12.2	0,79	0,66-0,94	Περιστατικό εμφράγματος
(79)	Honolulu Heart Program	7888	ΗΠΑ	100	Δεν αναφέρεται	8	0,54	0,37-0,79	Θνησιμότητα από CHD
							1,36	0,79-2,32	Θνησιμότητα από έμφραγμα
(80)	American Cancer Society Prospective Study	276 802	ΗΠΑ	100	40–59	12	0,82	0,79-0,86	Θνησιμότητα από CHD
(81)	Western Australian Aboriginal cohort	514	Αυστραλία	50.2	15–88	11.6	1,70	1,10-2,63	Περιστατικό CHD
(82)	Physicians' Health Study	22 071	ΗΠΑ	100	40-84	11	0,78	0,63-0,98	Περιστατικό CHD

(83)	Nurses' Health Study 71	71243	ΗΠΑ	0	34-59	20	0,88	0,71-1,09	Περιστατικό εμφράγματος
	Health Professionals Follow-up Study	43685	ΗΠΑ	100	40-75	18	0,93	0,78-1,11	Περιστατικό εμφράγματος
(84)	Massachusetts cohort	1184	ΗΠΑ	38	≥66	4.75	0,52	0,24-1,12	Θνησιμότητα από CHD
(85)	Brusselton, Western Australian cohort	2171	Αυστραλία	50	≥40	23	0,80	0,58-1,10	Θνησιμότητα από CHD
							0,77	0,65-0,92	Θνησιμότητα από CVD
(86)	US-Russian Lipid Research Clinics Prevalence Study	4011	ΗΠΑ	46.6	40-69	13	0,49	0,40-0,59	Θνησιμότητα από CVD
		4153	Ρωσία	46.7	40-69	13	0,79	0,66-0,94	
(87)	Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes	287	Ελβετία	12.6	56.4	≥35	0,77	0,26-2,22	Θνησιμότητα από CHD
(88)	Framingham Study	9171	ΗΠΑ	42.2	≥50	10	0,83	0,67-1,03	Περιστατικό εμφράγματος
(89)	Women's Health Study	29399	ΗΠΑ	0	≥45	12	0,94	0,69-1,28	Θνησιμότητα από CVD
(90)	British Physician Cohort	12325	Ηνωμένο Βασίλειο	100	18-78	23	0,71	0,63-0,81	Θνησιμότητα από CHD
(91)	Honolulu Heart Program	8006	ΗΠΑ	100	45-69	12	1,31	1,08-1,59	Περιστατικό εμφράγματος
(92)	Iowa Women's Health Study	30 518	ΗΠΑ	0	55-69	14	0,86	0,64-1,15	Θνησιμότητα από CHD
(93)	Women's Heart and Health Study	2717	Ηνωμένο Βασίλειο	0	60-79	4.7	0,80	0,53-1,22	Περιστατικό CHD
	Caerphilly Study	1291	Ηνωμένο	100	47-67	20	0,88	0,47-	

			Βασίλειο					1,65	
(94)	Northern Manhattan Study	3176	ΗΠΑ	37.2	≥40	5.9	0,89	0,48-1,65	Περιστατικό εμφράγματος
(95)	Framingham Study	4745	ΗΠΑ	44.4	30–59	24	0,77	0,67-0,88	Θνησιμότητα από CHD
(96)	Nurses' Health Study	85709	ΗΠΑ	0	34–59	12	0,69	0,61-0,79	Θνησιμότητα από CVD
(97)	Atherosclerosis Risk in Communities Study	14506	ΗΠΑ	43.3	45–64	9.8	0,85	0,54-1,34	Περιστατικό CHD
(98)	American Cancer Society Prospective Study	581 321	ΗΠΑ	0	>30	12	0,55	0,52-0,57	Θνησιμότητα από CHD
(99)	National Health and Nutrition Examination Study	3718	ΗΠΑ	0	45–74	13	0,90	0,71-1,15	Θνησιμότητα από CHD
(100)	Physicians' Health Study	89299	ΗΠΑ	100	40-84	5.5	0,80	0,74-0,86	Θνησιμότητα από CVD
							0,91	0,70-1,19	Θνησιμότητα από έμφραγμα
(101)	Framingham Study	4625	ΗΠΑ	43.8	29-62	22	0,74	0,65-0,84	Περιστατικό CHD
(102)	Albany Study	1755	ΗΠΑ	100	38-55	18	0,72	0,59-0,86	Περιστατικό CHD
(103)	Copenhagen City Heart Study	13285	Δανία	45.5	30-79	12	0,79	0,68-0,93	Θνησιμότητα από CVD
(104)	Employees of Australian Institute of Petroleum member companies	16 547	Αυστραλία	100	Δεν αναφέρεται	20	0,66	0,55-0,78	Θνησιμότητα από CHD
(105)	Swedish Twin	1900	Σουηδία	67.4	30-74	NR	0,66	0,48-	Περιστατικό CHD

	Register							0,92	
(106)	Swedish Twin Register	15 077	Σουηδία	47	≥42	20	0,91	0,43-1,40	Θνησιμότητα από έμφραγμα
(107)	Melbourne Collaborative Cohort Study	38 200	Αυστραλία	39.7	27–75	11.4	1,02	0,64-1,63	Θνησιμότητα από CHD
							1,07	0,72-1,59	Θνησιμότητα από CVD
(108)	Midspan Collaborative Cohort Study	6000	Σκοτία	100	35–64	35	0,95	0,86-1,06	Θνησιμότητα από CHD
							1,30	1,01-1,66	Θνησιμότητα από έμφραγμα
(109)	Copenhagen Male Study	2826	Δανία	100	53–74	6	0,61	0,41-0,91	Περιστατικό CHD
(110)	Japan Public Health Center-Based Prospective Study	19 356	Ιαπωνία	100	40–69	9.9	0,33	0,24-0,46	Περιστατικό CHD
							1,10	0,91-1,34	Περιστατικό εμφράγματος
(111)	Rural Japanese cohorts	2890	Ιαπωνία	100	40–69	10.5	0,83	0,48-1,45	Περιστατικό CHD
							1,07	0,69-1,65	Περιστατικό εμφράγματος
(112)	Institute for Chronic Diseases and Gerontology	286	Σερβία και Μαυροβούνιο	50.7	30–60	20	1,14	0,21-6,27	Θνησιμότητα από έμφραγμα
(113)	Perth Community Stroke Study	931	Αυστραλία	48	>18	4	0,47	0,30-0,77	Θνησιμότητα από CVD
(114)	Finnish Cohort	14 874	Φιλανδία	48.2	25–64	12	0,92	0,77-1,09	Περιστατικό εμφράγματος

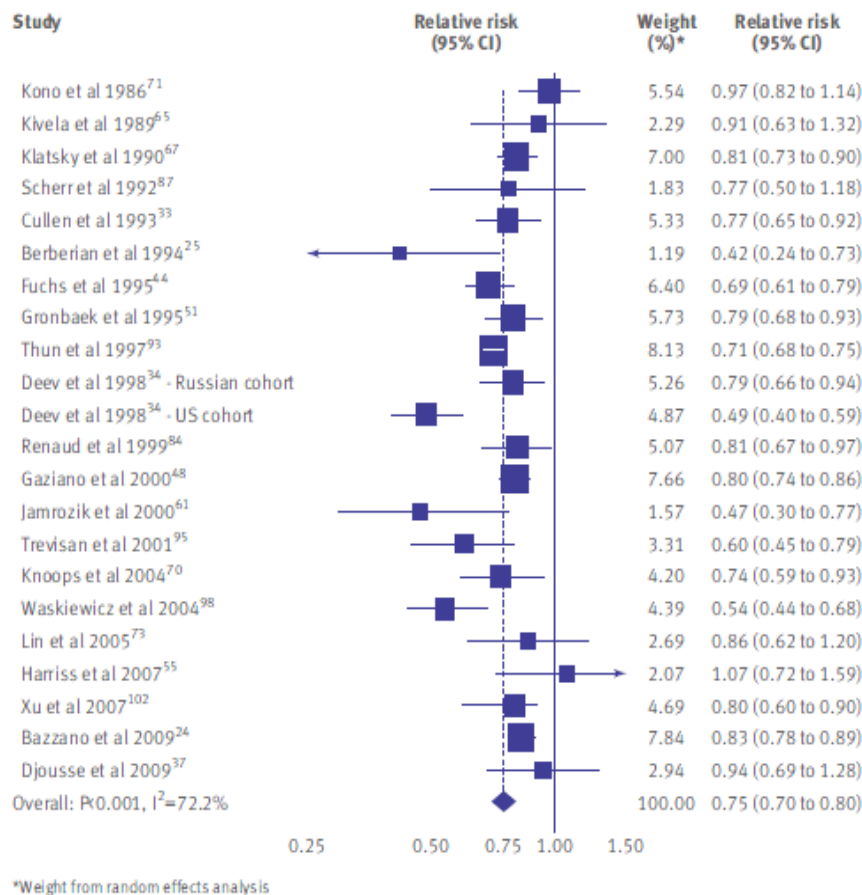
(115)	Japanese Male Employees	8476	Ιαπωνία	100	40–59	8.8	0,59	0,36-0,80	Περιστατικό CHD
(116)	Puerto Rico Heart Health Program	9150	Πουέρτο Ρίκο	100	35–79	12	0,66	0,50-0,85	Περιστατικό CHD
							0,95	0,52-1,75	Θνησιμότητα από CHD
(117)	Two Finnish cohorts from the Seven Countries Study	1112	Φιλανδία	100	55–74	10	0.91	0.63-1.32	Θνησιμότητα από CVD
(118)	Hisayama Study	1621	Ιαπωνία	43.6	≥40	26	1,90	1,15-3,14	Περιστατικό εμφράγματος
(119)	Kaiser Permanente Medical Care Program Cohort	123 840	ΗΠΑ	40.5	<30→70	7	0,81	0,73-0,90	Θνησιμότητα από CVD
(120)		128 934	ΗΠΑ	44	<30→70	Δεν αναφέρεται	0,78	0,71-0,85	Περιστατικό CHD
(121)		128 934	ΗΠΑ	44	<30→70	18	0,92	0,75-1,12	Περιστατικό εμφράγματος
(122)	Healthy Ageing: A Longitudinal Study in Europe 2339	11	Ευρωπαϊκές χώρες	64.4	70–90	10	0,60	0,40-0,88	Θνησιμότητα από CHD
							0,74	0,59-0,93	Θνησιμότητα από CVD
(123)	Japanese Male Physician Cohort	5135	Ιαπωνία	100	Δεν αναφέρεται	19	0,66	0,52-0,85	Θνησιμότητα από CHD
							0,97	0,82-1,14	Θνησιμότητα από CVD
							1,30	1,01-1,68	Θνησιμότητα από έμφραγμα
(124)	Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene	26 556	Φιλανδία	100	50–69	6.1	1,13	0,86-1,49	Περιστατικό εμφράγματος

	Cancer Prevention cohort								
(125)	Japan Collaborative Cohort Study for Evaluation of Cancer Risk	110 792	Ιαπωνία	41.9	40–79	11	0.86	0.62-1.20	Θνησιμότητα από CVD
(126)	Helsinki Heart Study	1924	Φιλανδία	100	40–55	5	0,77	0,46-1,29	Περιστατικό CHD
(127)	PRIME Study—France	7352	Γαλλία	100	50–59	5	0,55	0,40-0,74	Περιστατικό CHD
	PRIME Study—Northern Ireland	2398	Ιρλανδία	100	50-59	5	0,77	0,57-1,04	
(128)	Multiethnic cohort (Hawaii)	27 678	ΗΠΑ	50.1	>30	Δεν αναφέρεται	0,78	0,54-1,14	Θνησιμότητα από CHD
							0,97	0,72-1,31	Θνησιμότητα από έμφραγμα
(129)	Health Professionals Follow-up Study	38 077	ΗΠΑ	100	40–75	12	0,77	0,65-0,92	Περιστατικό CHD
							0,70	0,58-0,85	Θνησιμότητα από CHD
(130)	Cardiovascular Health Study	4410	ΗΠΑ	36.1	≥65	9.2	0,83	0,69-1,00	Περιστατικό εμφράγματος
(131)		4410	ΗΠΑ	38.7	≥65	9.2	0,80	0,65-0,98	Περιστατικό CHD
(132)	Manitoba Health Cohort	1154	Καναδάς	50.2	18–64	8	0,80	0,45-1,44	Περιστατικό CHD
(133)	Lung Health Study	3702	Καναδάς	100	35–60	14	0,80	0,67-0,96	Περιστατικό CHD
(134)	Copenhagen City Heart Study	11 914	Δανία	44.3	≥20	20	0,81	0,72-0,92	Θνησιμότητα από CHD
(135)	National Health	6788	ΗΠΑ	43.6	40–75	14.6	0,67	0,59-	Περιστατικό CHD

	and Nutrition Examination Study							0,76	
							0,82	0,67-0,99	Θνησιμότητα από CHD
(136)	Cohort from Centre de Medecine Preventive	36 250	Γαλλία	100	40–60	12–18	0,86	0,69-1,09	Θνησιμότητα από CHD
							0.81	0.67-0.97	Θνησιμότητα από CVD
(137)	Two counties of eastern Finland	4063	Φιλανδία	100	30–59	7	0,54	0,21-1,38	Περιστατικό CHD
(138)	Six Japanese communities	12 372	Ιαπωνία	40.2	40–69	9.4	1,46	0,61-3,45	Περιστατικό εμφράγματος
(139)	Established populations for Epidemiologic Studies of the Elderly	6891	ΗΠΑ	36.9	>65	5	0.77	0.50-1.18	Θνησιμότητα από CVD
(140)	British Regional Heart Study	6103	Ηνωμένο Βασίλειο	100	40–59	6.2	1,06	0,53-2,13	Περιστατικό CHD
(141)	Dubbo Cohort of New South Wales	2805	Αυστραλία	44.1	≥60	6.4	0,86	0,74-0,99	Περιστατικό CHD
(142)	Nurses' Health Study	121 700	ΗΠΑ	0	30–55	Δεν αναφέρεται	0,63	0,38-1,05	Περιστατικό CHD
							0,59	0,40-0,89	Θνησιμότητα από CHD
(143)	Multiple Risk Factor Intervention Trial	11 688	ΗΠΑ	100	35–57	3.8	0,72	0,52-0,98	Θνησιμότητα από CHD
(144)	Social Insurance Institution's Mobile Clinic Health Survey	4532	Φιλανδία	100	40–64	5	1,25	0,82-1,91	Θνησιμότητα από CHD

(145)	Cancer Prevention Study II	489 626	ΗΠΑ	51.3	30–104	9	0,82	0,76-0,88	Θνησιμότητα από CHD
							0,71	0,68-0,75	Θνησιμότητα από CVD
							0,79	0,67-0,87	Θνησιμότητα από έμφραγμα
(146)	Danish Cohort	53 500	Δανία	46.8	50–65	5.7	0,69	0,62-0,76	Περιστατικό CHD
(147)	Risk Factors and Life Expectancy Study	8647	Ιταλία	100	30–59	7	0,61	0,44-0,83	Θνησιμότητα από CHD
							0,60	0,45-0,79	Θνησιμότητα από CVD
(148)	Copenhagen City Heart Study	13 329	Δανία	45.5	45–84	16	0,92	0,771,11	Περιστατικό εμφράγματος
(149)	Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy	983	ΗΠΑ	45.2	Δεν αναφέρεται	12.3	0,49	0,27-0,86	Θνησιμότητα από CHD
(150)	Pol-MONICA Programme	5452	Πολωνία	49.3	35–64	Δεν αναφέρεται	0,54	0,44-0,68	Θνησιμότητα από CVD
(151)	MONICA Augsburg Cohort	2710	Γερμανία	49.6	35–64	10	0,47	0,33-0,67	Περιστατικό CHD
(152)	National Population Health Survey	6014	Καναδάς	43.8	≥40	4	0,84	0,35-1,98	Περιστατικό CHD
(153)	Elderly Chinese Cohort	427	Κίνα	40	≥60	2.5	1,90	0,01-11,6	Περιστατικό εμφράγματος
(154)	Husbands from Shanghai Women's Health Study	64 515	Κίνα	100	30– 89	4.6	0,70	0,40-1,00	Θνησιμότητα από CHD
							0,80	0,60-0,90	Θνησιμότητα από CVD

(155)	South Bay Heart Watch Cohort	1196	ΗΠΑ	89	≥45	3.4	0,30	0,20-0,60	Περιστατικό CHD
(156)	Four communities in Shanghai	18 244	Κίνα	100	45–64	6.7	0,64	0,41-1,00	Θνησιμότητα από CHD
							1,36	1,07-1,72	Θνησιμότητα από έμφραγμα
(157)	Northern and southern Chinese populations	12 352	Κίνα	100	35–59	15.2	1,26	0,93-1,71	Περιστατικό εμφράγματος



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 2.1 : διάγραμμα "δάσος" της θνησιμότητας από καρδιαγγειακή νόσο σε συσχέτιση με την κατανάλωση αλκοόλ.

2.3 Συστατικά

Η θεραπευτική αξία αρχικά του σταφυλίου και μετέπειτα του κρασιού φαίνεται να οφείλεται σε ουσίες, όπως οι πολυφαινόλες με την αντιοξειδωτική δράση τους, που περιέχονται στους σπόρους και στην φλούδα του καρπού. Οι σπόροι του σταφυλίου περιέχουν επίσης βιταμίνη Ε, λινολεϊκό οξύ, φλαβονοειδή και προκυανιδίνες, τα οποία είναι επίσης γνωστά ως OPCs (ολιγομερή προανθοκυανιδινών), τανίνες και πυκνογενόλη. Στη φλούδα των σταφυλιών συναντάμε και πάλι αυτές τις ενώσεις, αλλά σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Τα μη φλαβονοειδή αποθηκεύονται κυρίως στα κενοτόπια των κυττάρων των σταφυλιών. Επιπλέον η ρεσβερατρόλη και οι προανθοκυανιδίνες είναι 2 σημαντικές αντιοξειδωτικές ουσίες που ανήκουν στις πολυφαινόλες και υπάρχουν στα σταφύλια, με τις προανθοκυανιδίνες να βρίσκονται στους σπόρους και την φλούδα ενώ η ρεσβερατρόλη μόνο στην φλούδα του σταφυλίου (158).

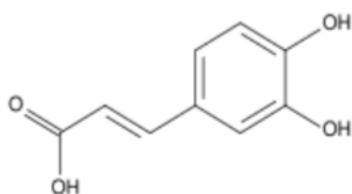
Στο κρασί, πιο συγκεκριμένα, εκτός από το αλκοόλ που περιέχεται συνήθως σε ποσοστό 12 με 15 τοις εκατό όγκο κατ' όγκο, υπάρχουν και άλλες βιοδραστικές ουσίες, σε πολύ μικρότερες

ποσότητες, ικανές όμως να του προσδώσουν τις επιπλέον ευεργετικές ιδιότητες έναντι άλλων αλκοολούχων ποτών. Οι κυριότερες αυτές βιοδραστικές ενώσεις είναι οι φαινολικές ενώσεις αλλά και κάποια κλασικά λιποειδή. Ως απλές φαινόλες ονομάζουμε τις ενώσεις που περιέχουν στην δομή τους ένα αρωματικό δακτύλιο που διαθέτει μια ή περισσότερες ομάδες υδροξυλίου, π.χ. το καφεϊκό οξύ. Ως πολυφαινόλες ονομάζουμε τις ενώσεις που περιέχουν πολλαπλούς φαινολικούς δακτυλίους, π.χ. οι κατεχίνες και το ελλαγικό οξύ. Οι φαινολικές ενώσεις διακρίνονται στα μη φλαβονοειδή αλλά και στα φλαβονοειδή (159) .

Στα μη φλαβονοειδή κατατάσσονται τα φαινολικά οξέα (υδροξυκινναμικά οξέα, υδροξυβενζοϊκά οξέα), οι υδρολυόμενες τανίνες και τα στυλβένια.

- Φαινολικά οξέα

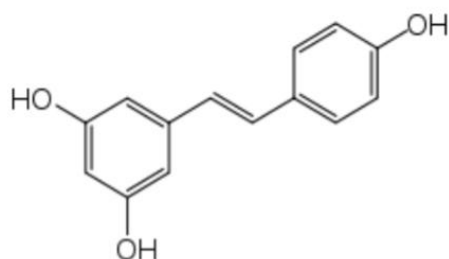
- Υδροξυκινναμικά οξέα : αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό φαινολικών ενώσεων στον χυμό των σταφυλιών και αποτελούν το κύριο είδος φαινολικών ενώσεων που βρίσκονται στο λευκό κρασί. Τα συναντάμε στην σάρκα του σταφυλιού άρα και σε όλα τα κρασιά. Αυτές είναι και οι πρώτες ουσίες που μπορούν να οξειδωθούν και να προκαλέσουν τη αμαύρωση που μπορεί να παρατηρηθεί στο κρασί και αποτελεί μεγάλο πρόβλημα για το λευκό κρασί. Στο σταφύλι και στο κρασί θα συναντήσουμε 3 είδη υδροξυκινναμικών οξέων, το κουμαρικό, το καφεϊκό και το φερουλικό οξύ.



Εικόνα 1 : Δομή καφεϊκού οξέος

- Υδροξυβενζοϊκά οξέα : βρίσκονται σε μικρότερες ποσότητες στο κρασί και κύριος εκπρόσωπος τους είναι το γαλλικό οξύ. Το γαλλικό οξύ προέρχεται από τους εστέρες γαλλικού οξέος των υδρολυόμενων τανινών και φαίνεται πως το γαλλικό οξύ αντέχει κατά την ωρίμανση του κρασιού καθώς είναι από μια από τις φαινολικές ενώσεις που γίνεται άμεσα ορατή σε χρωματογραφική ανάλυση παλαιωμένων κόκκινων κρασιών.

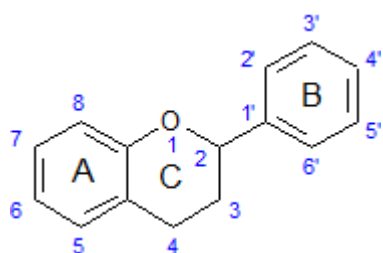
- Υδρολυόμενες τανίνες : αυτές οι ουσίες δεν βρίσκονται στον καρπό του σταφυλιού αλλά μόνο το ξύλο της βελανιδιάς, έτσι περιέχονται μόνο στο κρασί το οποίο έχει ωριμάσει σε βαρέλια από ξύλο βελανιδιάς και η περιεκτικότητα σε υδρολυόμενες τανίνες εξαρτάται από τον χρόνο ωρίμανσης του κρασιού στο βαρέλι. Αποτελούν εστέρες γαλλικού και ελλαγικού οξέος με γλυκόζη ή άλλα σάκχαρα.
- Στιλβένια : βρίσκονται επίσης σε μικρές ποσότητες στο κρασί και κύριος εκπρόσωπος τους είναι η ρεσβερατρόλη. Η ρεσβερατρόλη παράγεται από το ίδιο το αμπέλι έναντι στην μόλυνση από μύκητες όπως ο βοτρίτης. Την αντιμυκητιακή δράση διαθέτουν τα ολιγομερή της ρεσβερατρόλης που ονομάζονται βινιφερίνες. Η ρεσβερατρόλη βρίσκεται στο κρασί σε διάφορες μορφές όπως cis και trans ισομερή και γλυκοζίτες αυτών ,ενώ στο καρπό του σταφυλιού , και ιδιαίτερα στον φλοιό του καρπού συναντάμε όλα τα είδη εκτός της cis-ρεσβερατρόλης, η οποία μπορεί να παραχθεί με την ηλιακή ακτινοβολία με cis/trans ισομερισμό (165)



Εικόνα 2 : Δομή trans- ρεσβερατρόλης

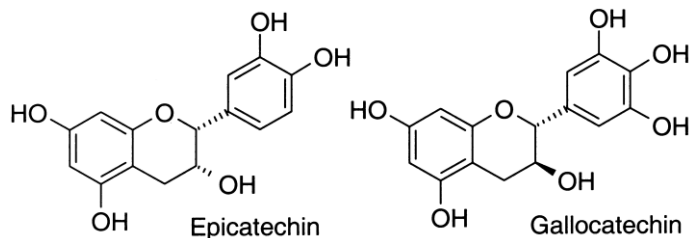
Στην κατηγορία των φλαβονοειδών που βρίσκονται στο κρασί ανήκουν οι φλαβανόλες, οι φλαβονόλες και οι ανθοκυανίνες. Γενικά τα φλαβονοειδή αποτελούν μια ομάδα φαινολικών ενώσεων που διαθέτουν 3 φαινολικούς δακτυλίους με κεντρικό ένα πυρανικό δακτύλιο που περιέχει ένα οξυγόνο (C δακτύλιος). Αυτός είναι συγχωνευμένος με έναν αρωματικό δακτύλιο (A δακτύλιος) κατά μήκος ενός δεσμού και συνδέεται με ένα άλλο αρωματικό δακτύλιο με ένα μονό δεσμό (δακτύλιος B).

(159)



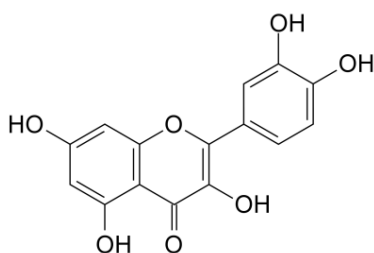
Εικόνα 3 :Το σύστημα των δακτυλίων των φλαβονοειδών.

- Φλαβανόλες : αποτελούν την κύρια κατηγορία φλαβονοειδών που συναντάμε στα σταφύλια και το κρασί. Συχνά καλούνται και φλαβαν-3-όλες λόγω της ύπαρξης υδροξυλομάδας -OH στον άνθρακα 3' του C δακτυλίου. Επειδή στις θέσεις 2 και 3 ο C δακτύλιος είναι κορεσμένος, παρουσιάζεται στερεοϊσομέρια με την trans μορφή να είναι η (2R, 3S) (+) - κατεχίνη και η cis μορφή η (2R, 3R) (-) - επικατεχίνη. Η κατεχίνη και η επικατεχίνη διαθέτουν και οι δύο υποκαταστάτες υδροξύλια στις θέσεις 3 και 4 του B δακτυλίου (κατηχητικοί υποκαταστάτες) ενώ υπάρχει και άλλο είδος φλαβονολών με υποκαταστάτες υδροξύλια στις θέσεις 3,4 και 5 του B δακτυλίου και ονομάζονται γαλλοκατεχίνες. Η επιγαλλοκατεχίνη βρίσκεται στο φλοιό του σταφυλιού, αλλά γαλλοκατεχίνη δεν βρίσκεται σε σημαντικές ποσότητες. Τις φλαβανόλες δεν τις βρίσκουμε με μορφή γλυκοζιτών στο κρασί, όπως χαρακτηριστικά συμβαίνει στα άλλα φλαβονοειδή, αλλά μπορούμε να βρούμε με αυτή τη μορφή εστέρες γαλλικού οξέος και το γαλλικό οξύ να εστεροποιήσει με την σειρά του μόνο τις επικατεχίνες. Αυτές οι μονομερείς φλαβαν-3-όλες μερικές φορές αναφέρονται συνολικά ως "κατεχίνες".



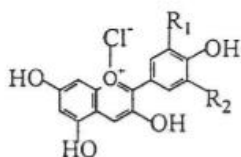
Εικόνα 4 : Δομή επικατεχίνης και γαλλοκατεχίνης

- Φλαβονόλες : βρίσκονται σε φυτικά τρόφιμα όπως και στα σταφύλια όπου εντοπίζονται ιδιαίτερα στον φλοιό. Βρίσκονται κυρίως σε μορφή γλυκοζιτών στα φυτά και στο κρασί υπάρχουν 3 είδη φλαβονολών, η μυρικετίνη, η κερκετίνη και η καμπφερόλη. Υπάρχουν έρευνες που έχουν δείξει ότι το ηλιακό φως μπορεί να αυξήσει την περιεκτικότητα φλαβονολών στα σταφύλια δρώντας σαν αντηλιακή προστασία (166)



Εικόνα 5 : Δομή κερκετίνης

- **Ανθοκυανίνες :** είναι υπεύθυνες για το κόκκινο χρώμα του κόκκινου κρασιού αλλά και για το κόκκινο και το μπλε χρώμα στα κόκκινα και τα μαύρα σταφύλια αλλά και σε άλλα τρόφιμα. Οι ελεύθερες ανθοκυανίνες που συναντάμε στο κρασί δεν είναι ιδιαίτερα σταθερές ενώσεις και μπορούν να αντιδρούν με τανίνες και να δίνουν σταθεροποιημένες ανθοκυανίνες και χρωματισμένες τανίνες, οι οποίες είναι πιο σταθερές μορφές και μπορούν να διατηρηθούν στο κρασί για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα διατηρώντας και το χρώμα του κόκκινου κρασιού (167). Ο όρος για τον απλό σύστημα φλαβονοειδών δακτυλίων είναι η ανθοκυανιδίνη. Υπάρχουν πέντε βασικά είδη ανθοκυανιδινών στον αμπελοοινικό τομέα: κυανιδίνη, πεονιδίνη, δελφινιδίνη, πετουνιδίνη και μαλβιδίνη, η πιο άφθονη στο κόκκινο κρασί.



ανθοκυανιδίνη

R ₁	R ₂	
OH	H	κυανιδίνη
OH	OH	δελφινιδίνη
OCH ₃	H	παιωνιδίνη
OCH ₃	OCH ₃	μαλβιδίνη
OCH ₃	OH	πετουνιδίνη

Εικόνα 6 : Δομή και είδη ανθοκυανιδινών

2.3 Επίδραση βιοδραστικών συστατικών

Μετά την ανακάλυψη του "Γαλλικού παραδόξου", τα βιοδραστικά συστατικά των σταφυλιών και του κρασιού, όπως και η επίδραση τους στον ανθρώπινο οργανισμό, προκάλεσαν το ενδιαφέρον των ερευνητών σε όλο τον κόσμο. Οι φαινολικές ενώσεις, αποτελούν την

"ομπρέλα" κάτω από την οποία συγκαταλέγονται όλα τα βιοδραστικά συστατικά του κρασιού όπως οι ανθοκυανίνες, οι φλαβανόλες και οι φλαβονόλες, που αποτελούν τα φλαβονοειδή, τα στυλβένια όπως η ρεσβερατρόλη και φαινολικά οξέα, που περιλαμβάνονται στα μη φλαβονοειδή.

Οι φαινολικές ενώσεις και ιδιαίτερα τα φλαβονοειδή αποτελούν φυσικά αντιοξειδωτικά που περιέχονται στην διατροφή του ανθρώπου. Τα φλαβονοειδή είναι η συχνότερη μορφή φαινολικών ενώσεων που συναντάμε στα φυτά και δεν μπορούν να συνθεθούν από ανθρώπους και ζώα (168). Στις φαινολικές ενώσεις έχουν δοθεί κατά καιρούς, πλήθος ευεργετικών ιδιοτήτων όπως, η αντιαλλεργική, η αντιφλεγμονώδης, η αντικρκική, η αντιπολλαπλασιαστική, η αντικαρκινική και η αντιγηραντική δράση ((169), (170)). Φαίνεται πως η πρόσληψη φαινολικών ενώσεων έχει θετική επίδραση σε ένα πλήθος παθολογικών καταστάσεων όπως ο καρκίνος, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, διαταραχές που σχετίζονται με γαστρικό και δωδεκαδακτυλικό έλκος, αλλεργίες, αγγειακή ευθραυστότητα και οι βακτηριακές λοιμώξεις καθώς και στην επιβράδυνση της γήρασης (171).

Η πιο σημαντική ιδιότητα των φαινολικών ενώσεων, η οποία τα καθιστά και τόσο ευεργετικά για τον οργανισμό του ανθρώπου έναντι τόσων πολλών παθολογικών καταστάσεων είναι η αντιοξειδωτική τους δράση. Αυτό συμβαίνει καθώς περιέχουν ένα συζευγμένο δακτύλιο και ομάδες υδροξυλίου και έχουν τη δυνατότητα να λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά, εξουδετερώνοντας ανιόντα υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet-}$), μονήρες οξυγόνο (1O_2) και ρίζες υπεροξειδίου ($ROO^{\bullet}$), και σταθεροποιώντας ελεύθερες ρίζες που εμπλέκονται στην οξειδωτική διαδικασία, αναστέλλοντας την οξείδωση των λιπιδίων, δημιουργώντας χηλικά σύμπλοκα μετάλλων και άλλα (172), (173).

Η αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων θεωρείται μια επίσης σημαντική δράση των φαινολικών ενώσεων. Προηγούμενες μελέτες της ερευνητικής μας ομάδας έχουν δείξει ότι εκχυλίσματα από λευκό και κόκκινο κρασί περιέχουν αναστολείς του PAF και έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την συσσώρευση των αιμοπεταλίων καθώς έχουν και ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες (159) (160) (161) (162) (163) (63).

Αξίζει να αναφερθεί όμως ότι η συνολική περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις δεν φαίνεται να καθορίζει τόσο την παρατηρούμενη αντι-αιμοπεταλιακή και αντι-οξειδωτική τους δράση υποστηρίζοντας την άποψη ότι η ποιότητα των φαινολικών ενώσεων και όχι η ποσότητα φαίνεται να συνεισφέρει περισσότερο στην παρατηρούμενη βιολογική δράση (164).

Στο πίνακα που ακολουθεί συνοψίζονται οι σημαντικότερες βιοδραστικές ιδιότητες των φαινολικών ενώσεων του κρασιού (173) .

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.2: Φαινολικές ενώσεις και βιοδραστικές ιδιότητες τους

Φαινολική ένωση	Βιοδραστική ιδιότητα	Πηγη
Ρεσβερατρόλη	Εκκαθάριση των ελεύθερων ριζών Αντιπολλαπλασιαστική δράση Ενίσχυση των επίπεδων NO του πλάσματος Ρύθμιση του μεταβολισμού των λιπιδίων Προστασία κατά της οξείδωσης των μεμβρανών Αναστολή της συσώρευσης των αιμοπεταλίων	[(174), (175)] [(176), (177)] [(178)] [(179)] [(180)] [(181)]
Κερκετίνη	Αντιβακτηριακή δράση Ενίσχυση των επίπεδων NO του πλάσματος	[(182)] [(183)]
Κατεχίνη	Αντικαρκινική δράση Εκκαθάριση των ελεύθερων ριζών Αντιβακτηριακή δράση Αντιφλεγμονώδης δράση Προστασία κατά της οξείδωσης των μεμβρανών	[(184)] [(185), (186), (187)] [(188)] [(189)] [(180)]
Φλαβόνη	Αντιπολλαπλασιαστική δράση	[(190)]
Φλαβονόλη	Εκκαθάριση των ελεύθερων ριζών	[(191), (175)]
Προανθοκυανίνη	Αντικαρκινική δράση Εκκαθάριση των ελεύθερων ριζών Αντιφλεγμονώδης δράση Αντιοξειδωτική δράση	[(184), (192)] [(191)] [(193), (194), (187)] [(195)]
Ανθοκυανίνη	Αγγειοχάλαση Εκκαθάριση των ελεύθερων ριζών Αντιβακτηριακή δράση Αντιοξειδωτική δράση Επαγωγή απόπτωσης	[(196)] [(197)] [(198), (188)] [(195)] [(199)]
Γαλλικό οξύ	Εκκαθάριση των ελεύθερων ριζών	[(174)]
Επικατεχίνη	Αντιβακτηριακή δράση	[(200), (198)]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΚΡΑΣΙΟΥ ΣΕ ΔΕΙΚΤΕΣ

ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΑ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Η σχέση που υπάρχει μεταξύ της μακροχρόνιας και συστηματικής μακροχρόνιας κατανάλωσης κρασιού και των καρδιαγγειακών νοσημάτων αποτελεί για πλήθος ερευνητών αντικείμενο ενασχόλησης και έχει πραγματοποιηθεί ένας μεγάλος αριθμός κλινικών παρεμβάσεων ώστε να προσδιοριστεί αυτή η αλληλεπίδραση. Οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι και σήμερα είναι είτε υγιείς είτε ασθενείς εθελοντές και ασχολούνται με τον προσδιορισμό ενός μεγάλου πλήθους δεικτών ώστε να προσδιορίσουν την σχέση μεταξύ καρδιαγγειακών και κατανάλωσης κρασιού. Σε κλινικές μελέτες έχουν μετρηθεί δείκτες οξειδωτικού στρες, φλεγμονής ή θρόμβωσης αλλά και το λιπιδαιμικό προφίλ των συμμετεχόντων.

Κατατάσσοντας το πλήθος των μελετών σε κατηγορίες ώστε να μελετηθούν και να σχολιαστούν, μπορούμε να κατατάξουμε τις κλινικές μελέτες σε 4 κατηγορίες ανάλογα με τους δείκτες που μετρήθηκαν σε κάθε μία. Οι κατηγορίες που δημιουργούνται είναι οι μελέτες που προσδιόρισαν την επίδραση της συστηματικής κατανάλωσης κρασιού σε δείκτες θρόμβωσης, οξειδωτικού στρες, φλεγμονής και την επίδραση στο λιπιδαιμικό προφίλ.

3.1 Επίδραση σε λιπιδαιμικό προφίλ

Ένας παράγοντας κινδύνου για την πρόκληση καρδιαγγειακών νοσημάτων, αποτελεί και τα επίπεδα των λιπιδίων στον ανθρώπινο οργανισμό. Το λιπιδαιμικό προφίλ είναι και αυτό ένα θέμα, το οποίο έχει απασχολήσει τους ερευνητές, οι οποίοι έχουν πραγματοποιήσει αρκετές έρευνες που ασχολούνται με την επίδραση που μπορεί να έχει η συστηματική κατανάλωση κρασιού σε αυτό. Στο πίνακα που ακολουθεί αναφέρονται 20 τέτοιες έρευνες.

Μεταξύ των μελετών που παραθέτονται, 6 είχαν δείγμα με εθελοντές και των δύο φύλων, 10 δείγμα αποκλειστικά ανδρικού φύλου και 4 μόνο γυναίκες συμμετέχουσες.

Στις έρευνες, ως επί το πλείστον, συμμετείχαν υγιείς εθελοντές, κυρίως μη καπνίζοντες. Σε δύο έρευνες τα άτομα ήταν εμμηνοπαυσιακές γυναίκες και σε μία από αυτές ήταν και υπερχολιστερολαιμικές, ενώ σε άλλη έρευνα συμμετείχαν άτομα φυσιολογικού βάρους και παχύσαρκοι, όπου αποτελούσαν και τις 2 ομάδες σύγκρισης. Το εύρος των ηλικιών που συμμετείχαν στις έρευνες είναι ιδιαίτερα μεγάλο καθώς υπάρχουν έρευνες με συμμετέχοντες ηλικίας 18 έως 25, ηλικίας περίπου 30 αλλά και έρευνες με δείγμα άνω των 40 ετών έως και 70.

Όλες οι έρευνες που παρουσιάζονται στον πίνακα μελέτησαν την κατανάλωση κόκκινου κρασιού, εκτός από τρεις στις οποίες πραγματοποιήθηκε κατανάλωση μόνο λευκού κρασιού και μία στην οποία υπήρχε η επιλογή από τους συμμετέχοντες να καταναλωθεί λευκό ή κόκκινο κρασί. Επιπλέον όλες οι μελέτες διαθέτουν εκτός των ομάδων που καταναλώνουν κρασί (λευκό ή κόκκινο) και ομάδες ελέγχου. Οι ομάδες ελέγχου μπορεί να καταναλώνουν νερό, χυμό σταφυλιών, κρασί από το οποίο έχει αφαιρεθεί η αλκοόλη, νερό με εκχύλισμα σταφυλιών, μπύρα, σαμπάνια, τζιν ή να απέχουν από την κατανάλωση κρασιού γενικά. Παρατηρείται επίσης ότι σε μερικές από τις έρευνες οι συμμετέχοντες ακολουθούσαν και συγκεκριμένες δίαιτες, ισοθερμιδικές ή χαμηλές σε φαινολικές ενώσεις, ώστε να αποφευχθούν τυχόν συγχυτικοί παράγοντες.

Η διάρκεια των ερευνών κυμαίνεται από 10 ημέρες έως και 10 εβδομάδες, αλλά συνήθως διαρκούσαν 3 με 4 εβδομάδες. Οι συμμετέχοντες κατανάλωναν ημερησίως από 150 μέχρι και 750 mL ποτού ή εναλλακτικά από 15 έως και 40 gr αλκοόλης.

Για τον προσδιορισμό του λιπιδαιμικού προφίλ στους εθελοντές μετρήθηκαν δείκτες όπως η HDL χοληστερόλη, η LDL χοληστερόλη, η ολική χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, η απολιποπρωτεΐνη A1 και η λιποπρωτεΐνη a.

Οι μετρήσεις που αφορούν την χοληστερόλη που είναι συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες έδειξαν πως η HDL χοληστερόλη, από τις 19 μελέτες οι οποίες παρουσίασαν αποτελέσματα για αυτή, στις 15 ((201), (202), (203), (204), (205), (206), (207), (208), (209), (210), (211), (212), (213), (214), (215)) αυξήθηκε μετά την κατανάλωση κρασιού, κόκκινου ή και λευκού. Στην μελέτη του Hansen (207), παρατηρήθηκε πως η HDL χοληστερόλη αυξήθηκε μόνο μετά την χορήγηση κόκκινου κρασιού, ενώ με την κατανάλωση νερού με εκχύλισμα σταφυλιών και νερού με placebo, η HDL χοληστερόλη μειώθηκε, χωρίς καμία σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο αυτών ομάδων. Ο Van der Gaag, σε δύο έρευνες του ((214), (215)) κατέληξε στο ότι η HDL χοληστερόλη αυξήθηκε μετά την κατανάλωση γενικά αλκοόλ, κρασιού, μπύρας ή τζιν, συγκριτικά με την κατανάλωση νερού, με τον ίδιο βαθμό σε κάθε αλκοολούχο ποτό. Στην μελέτη του, και ο Senault (211), παρατήρησε πως η HDL χοληστερόλη αυξήθηκε με την κατανάλωση κόκκινου κρασιού, ενώ δεν υπήρξε καμία σημαντική διαφορά όταν καταναλώθηκε κόκκινο κρασί από το οποίο είχε απομακρυνθεί η αλκοόλη. Στην περίπτωση

που χορηγήθηκε διαφορετικό διάλυμα που περιείχε αλκοόλη, και πάλι παρατηρήθηκε αύξηση της HDL 3 χοληστερόλης. Αυτά τα αποτελέσματα συνάδουν με διάφορες μελέτες (216) (217) (218) (219) που δείχνουν πως, οι πολυφαινόλες, από οποιαδήποτε πηγή, αυξάνουν τα επίπεδα της HDL χοληστερόλη στο αίμα, αλλά η μείωση της HDL χοληστερόλης όταν οφείλεται σε αλκοολούχο ποτό με πολυφαινόλες εξηγείται μόνο στο 50% από τις αυτές, και φαίνεται να επηρεάζεται και από την ύπαρξη την αλκοόλης (220). Σε 2 έρευνες ((221), (222)) δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική διαφορά στην HDL χοληστερόλη κα σε άλλες 2 μελέτες ((223), (224)) αυτή δεν μεταβλήθηκε καθόλου μετά το τέλος της παρέμβασης.

Όσον αφορά την LDL χοληστερόλη, από τις 13 έρευνες που παρουσίασαν στοιχεία για αυτή, στις 5 ((225), (208), (209), (210), (224)) μειώθηκε μετά την κατανάλωση κρασιού, λευκού ή κόκκινου. Σε 5 ((202), (203), (206), (207), (214)) η LDL χοληστερόλη παρέμεινε σταθερή ενώ σε 3 ((221), (201), (222)) δεν υπήρξε καμία σημαντική διαφορά.

Στο πίνακα υπάρχουν επιπλέον και 13 έρευνες στις οποίες αναφέρονται στοιχεία και για την τυχόν μεταβολή της ολικής χοληστερόλη λόγω της κατανάλωσης κρασιού. Σε 7 ((202), (205), (209), (210), (224), (212), (214)) μελέτες δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή ενώ σε 3 ((226), (201), (222)) δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μετά την κατανάλωση κρασιού συγκριτικά με την αποχή. Υπάρχουν 2 ((225), (223)) έρευνες στις οποίες η ολική χοληστερόλη παρουσίασε μείωση, γεγονός που συνάδει και με άλλες έρευνες που προβάλλουν την μείωση της ολικής χοληστερόλης λόγω των πολυφαινολών (227) (228) και τέλος σε 1 μόνο έρευνα (204) παρατηρήθηκε αύξηση της ολικής χοληστερόλης.

Όσον αφορά τις μετρήσεις των τριγλυκεριδίων, 17 έρευνες είναι εκείνες που αναφέρουν στοιχεία για την επίδραση της κατανάλωσης κρασιού. Σε 4 ((202), (204), (210), (211)) έρευνες παρατηρείται η αύξηση των επιπέδων των τριγλυκεριδίων. Κοινό χαρακτηριστικό και στις 4 είναι ότι, η αύξηση των τριγλυκεριδίων παρατηρείται με την κατανάλωση αλκοόλ (κρασιού ή διαλύματος που περιείχε μόνο αλκοόλη (211)). Σε 1 έρευνα (208) τα τριγλυκερίδια μειώθηκαν με την κατανάλωση λευκού κρασιού, ενώ σε 9 μελέτες ((203), (205), (206), (229), (209), (223), (224), (212), (214)) τα τριγλυκερίδια παρέμειναν αμετάβλητα και σε 3 ((226), (201), (222)) δεν υπήρξε σημαντική διαφορά μεταξύ της αποχής και της κατανάλωσης κόκκινου κρασιού.

Η απολιποπρωτεΐνη A-1 είναι ακόμη ένα δείκτη που επηρεάζει το λιπιδαιμικό προφίλ και πιο συγκεκριμένα την υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (HDL), καθώς αποτελεί σημαντικό δομικό συστατικό της (230). Η απολιποπρωτεΐνη A-1 παρουσιάζεται σε 11 έρευνες του πίνακα και σε 8 ((225), (202), (203), (204), (206), (211), (214), (215)) εμφανίζεται αυξημένη μετά το τέλος της παρέμβασης. Στην έρευνα που πραγματοποίησε ο Senault (211) παρατηρούμε συγκεκριμένα πως η απολιποπρωτεΐνη A-1 αυξήθηκε μετά την κατανάλωση κρασιού και διαλύματος με αλκοόλη αλλά δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στις τιμές της μετά την χορήγηση κρασιού από το οποίο έχει απομακρυνθεί η αλκοόλη. Αυτά τα αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με έρευνες που δείχνουν ότι τόσο οι πολυφαινόλες αυξάνουν τα επίπεδα HDL στο πλάσμα, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, άρα και της απολιποπρωτεΐνης A-1. Σε 2 ((205), (215)) μελέτες φαίνεται πως η απολιποπρωτεΐνη A-1 δεν μεταβλήθηκε καθόλου ενώ σε 1 (222) μελέτη δεν υπήρχε καμία σημαντική διαφορά.

Τέλος σε 4 έρευνες παρουσιάζονται στοιχεία και για την λιποπρωτεΐνη a (LP(a)), η οποία σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών όταν βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα στο πλάσμα (231) καθώς αποτελεί παράγωγο μετάλλαξης της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (232). Στην έρευνα του Gottrand (205) οι τιμές της λιποπρωτεΐνη a παραμένουν σταθερές μετά την κατανάλωση κόκκινου κρασιού, ενώ στην έρευνα του Sharpe (224), τα επίπεδα μετά την χορήγηση κόκκινου κρασιού μειώθηκαν. Στην μελέτη του Senault (211), οι τιμές της λιποπρωτεΐνη a αυξήθηκαν με την χορήγηση κόκκινου κρασιού ενώ στην μελέτη του Hagiage (206), η λιποπρωτεΐνη a , με την χορήγηση κόκκινου κρασιού, εμφάνισε Αύξηση στα άτομα φυσιολογικού σωματικού βάρους και μείωση στα παχύσαρκα άτομα.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.1 : Κλινικές μελέτες για την επίδραση της κατανάλωσης κρασιού σε δείκτες λιπιδαιμικού προφίλ

ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ		ΕΙΔΟΣ ΕΡΕΥΝΑΣ	ΔΙΑΙΤΑ ΕΛΕΓΧΟΥ	ΠΑΡΕΜΒΑΣ Η ΜΕ	ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ	ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	ΑΝΑΦΟΡΑ
ΑΡΙΘΜΟΣ	ΗΛΙΚΙΑ							
17 (7 m, 10 w)	≥40	τυχαιοποιημένο cross-over	ΟΧΙ	1.κόκκινο κρασί 2.αποχή	2 μήνες: 30 μέρες κατανάλωση 112 gr αλκοόλ για γυναίκες και 24 gr αλκοόλ για άνδρες / ημέρα, 30 μέρες αποχή	Τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη	Κρασί vs αποχή: Καμία σημαντική διαφορά σε TGL, Total chol, HDL chol, LDL chol	(221)
10 m υγιής	18-21	Πριν και μετά	ΟΧΙ	1.κόκκινο κρασί 2.αποχή	10 εβδ.: 3 εβδ. αποχή από αλκοόλ, 4 εβδ 30 gr. αλκοόλ/ ημέρα, 3 εβδ. αποχή από αλκοόλ	Τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη και απολιποπρωτεΐνη A1	Κόκκινο κρασί vs αποχή: TGL, Total chol, , LDL chol, apoA1 : καμία σημαντική διαφορά 14%↑HDL chol	(201)
18 m υγιής, μη καπνίζοντες	20-45	τυχαιοποιημένο cross-over	ΝΑΙ	1.κόκκινο κρασί 2. λευκό κρασί 3.σαμπάνια	3 εβδ. το κάθε κρασί (250 mL / ημέρα) με 3 εβδ. wash out ενδιάμεσα	Ολική χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη και απολιποπρωτεΐνη A1	Κόκκινο κρασί : ↓ Total chol, , LDL chol ↑ apoA1	(225)
8 m υγιής	30-47	cross-over	ΝΑΙ	1.κόκκινο κρασί 2.αποχή	2 εβδ. 750 mL κόκκινο κρασί / ημέρα	Τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη	Κόκκινο κρασί vs αποχή: Total chol, ,LDL chol - HDL chol ,TGL ↑	(202)

						και απολιποπρωτεΐνη A1	apoA1 ↑	
7 m υγιής	28-31 MO 29,6	Πριν και μετά	OXI	Κόκκινο κρασί	1 εβδ. 23 gr κόκκινο κρασί / ημέρα και 4 εβδ. 31 gr κόκκινο κρασί / ημέρα	Τριγλυκερίδια, HDL χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη και απολιποπρωτεΐνη A1	TGL,LDL chol - HDL chol ,apoA1 ↑	(203)
24 m υγιής	26-45	cross-over	OXI	1.Κόκκινο κρασί ή λευκό κρασί 2. 2 διαφορετικ οί χυμοί σταφυλιών (υψηλοί και χαμηλοί σε φαινόλες)	4 εβδ. 375 mL κόκκινο ή λευκό κρασί / ημέρα , 2 εβδ. αποχή και 4 εβδ. 500 mL χυμός σταφυλιών / ημέρα	Τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη και απολιποπρωτεΐνη A1	κρασί ή λευκό κρασί: HDL chol , apoA1 ↑ κόκκινο κρασί: Total chol ,TGL ↑	(204)
5 m υγιής, μη καπνίζοντες	MO 22,8	τυχαιοποιημ ένο cross-over	NAI	1.κόκκινο κρασί 2.αποχή	4 εβδ. 50 gr αλκοόλ ως κόκκινο κρασί / ημέρα 4 εβδ. αποχή	Τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, απολιποπρωτεΐνη A1 και λιποπρωτεΐνη a	Κόκκινο κρασί vs αποχή: HDL chol ↑ Total chol ,TGL - LP(a), apoA1 -	(205)
14 m υγιής (7 παχύσαρκοι, 7	MO 28	Πριν και μετά	OXI	κόκκινο κρασί	2 εβδ. 30 gr αλκοόλ ως 370 mL κόκκινο κρασί /	Τριγλυκερίδια, HDL χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη,	HDL chol ↑ όχι στατ. σημαντική TGL, LDL chol -	(206)

φυσιολογικό ΣΒ)					ημέρα	απολιποπρωτεΐνη A1 και λιποπρωτεΐνη a	LP(a) ↑ 40% σε Φυσιολογικού ΣΒ και ↓ 30% σε παχύσαρκους apoA1 ↑ 12% σε Φυσιολογικού ΣΒ	
69 (31 m, 38 w)	38-75	τυχαιοποιημ ένο cross-over	NAI	1.Κόκκινο κρασί 2. νερό με εκχύλισμα σταφυλιών 3. νερό με placebo	4 εβδ. 300 mL κρασί (38,3 gr αλκοόλ) / ημέρα για άνδρες και 200 mL κρασί (25.5 gr αλκοόλ)/ ημέρα για γυναίκες Ισοδύναμη και μίσση δόση υγρών σε συστατικά κρασιού	Τριγλυκερίδια, HDL χοληστερόλη και LDL χοληστερόλη	TGL, LDL chol καμία σημαντική διαφορά σε κανένα group HDL chol: ↑ 6% στο κόκκινο κρασί ↓ στα άλλα groups Καμία σημαντική διαφορά μεταξύ εκχυλίσματος και placebo	(207)
32 w (16 χωρίς φυσική δραστ. και 16 με φυσική δραστ., αθλήτριες)	30-49	Πριν και μετά	OXI	1.κόκκινο κρασί 2.αποχή	3 εβδ. 35 gr αλκοόλ/ ημέρα 3 εβδ. αποχή	Τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη και απολιποπρωτεΐνη A1	Καμία σημαντική διαφορά σε κανένα group	(222)
36 w υγιής μεταεμμηνοπα υσιακές	MO 56,3	Cross over	OXI	1. λευκό κρασί 2. χυμός	6 εβδ. 250 mL λευκό κρασί / ημέρα (25	Τριγλυκερίδια, HDL χοληστερόλη και	TGL, LDL chol ↓ HDL chol ↑	(208)

				λευκού σταφυλίου	gr αλκοόλ) ή 250 mL χυμός λευκού σταφυλίου	LDL χοληστερόλη		
45 w υπερχολιστερο λάιμικές, μετεμμηνοπαυ σιακές	50-70 MO 58,4	τυχαιοποιημ ένη προοπτική 2 arm control	OXI	1 κόκκινο κρασί 2.κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη 3. νερό	6 εβδ. 400 mL / ημέρα υγρού αναλόγως την ομάδα 4 εβδ. wash out	Τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη και LDL χοληστερόλη	Κόκκινο κρασί vs νερό: HDL chol ↑17% LDL chol ↓ 8% TGL, Total chol - Κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη vs νερό: Καμία σημαντική διαφορά	(209)
87 (30 m, 57 w) υγιής, μη καπνίζοντες	MO 50	τυχαιοποιημ ένο cross-over	OXI	1.κόκκινο κρασί 2.αποχή	3 εβδ. 150 mL κόκκινο κρασί / ημέρα (15 gr αλκοόλ)	Τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη και HDL χοληστερόλη	TGL, HDL chol - Total chol ελάχιστη ↓	(223)
6 (4 m, 2w) υγιής	18-35	Πριν και μετά	NAI	1.λευκό κρασί 2.αποχή	4 εβδ. αποχή από αλκοόλ και 4 εβδ. 70-80 gr αλκοόλ/ ημέρα	Τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη και LDL χοληστερόλη	HDL chol ↑40% LDL chol ↓ 18% TGL ↑ Total chol -	(210)
56 m υγιής	18-35	τυχαιοποιημ ένο cross-over	OXI	1 κόκκινο κρασί 2.κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη 3. διάλυμα με την	2 εβδ. 30gr αλκοόλ/ ημέρα από κρασί ή διάλυμα με αλκοόλ ή αντίστοιχη ποσότητα κρασιού χωρίς αλκοόλ	Τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη, απολιποπρωτεΐνη A1 και	κόκκινο κρασί: HDL chol, apoA1, LP(a)↑ κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη: Καμία σημαντική διαφορά	(211)

				αντίστοιχη ποσότητα αλκοόλ		λιποπρωτεΐνη a	διάλυμα με αλκοόλ: HDL3 chol, apoA1, TGL ↑	
20 (11m, 9w) υγιής	25-60 MO 37,2	Πριν και μετά	OXI	1.κόκκινο κρασί 2.λευκό κρασί	10 ημέρες 200 mL (21 gr αλκοόλ)/ ημέρα κόκκινο κρασί 6 εβδ. wash out 10 ημέρες 200 mL (21 gr αλκοόλ)/ ημέρα λευκό κρασί	Τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη, απολιποπρωτεΐνη A1 και λιποπρωτεΐνη a	Γενικά: HDL chol, TGL, Total chol - κόκκινο κρασί: LDL chol, LP(a) ↓	(224)
18 w υγιής μη καπνίστριες	49-65 MO 57	τυχαιοποιημένο cross-over	OXI	1. λευκό κρασί 2. χυμός λευκού σταφυλίου	3 εβδ. 250 mL λευκό κρασί / ημέρα (24 gr αλκοόλ) και 3 εβδ. 250 mL χυμός λευκού σταφυλίου / ημέρα	Τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, και απολιποπρωτεΐνη A1	λευκό κρασί vs χυμός λευκού σταφυλίου: HDL chol ↑5% apoA1, TGL, Total chol -	(212)
12 (m, w) υγιής μη καπνίζοντες	23-50	Τυχαιοποιημένη προοπτική 2 arm control	NAI	1.κόκκινο κρασί 2.αποχή	2 εβδ. 375 mL/ ημέρα κόκκινο κρασί	Τριγλυκερίδια, HDL χοληστερόλη και LDL χοληστερόλη	HDL chol ↑	(213)
11 m υγιής μη καπνίζοντες	45-60	τυχαιοποιημένο cross-over	NAI	1. κόκκινο κρασί ή μύρα ή τζιν 2.νερό	3 εβδ. 40 gr αλκοόλ/ ημέρα	Τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη και	Αλκοόλ vs νερό : HDL chol, apoA1 ↑ ,καμία διαφορά μεταξύ των αλκοολούχων ποτών	(214)

						απολιποπρωτεΐνη A1	TGL, Total chol, LDL chol -	
11 m υγιής μη καπνίζοντες	44-59 MO 51,7	τυχαιοποιημένο cross-over	NAI	1. κόκκινο κρασί 2.μπύρα 3.τζιν 4.νερό	40 gr αλκοόλ/ ημέρα 3 εβδ. το κάθε αλκοολούχο ποτό	HDL χοληστερόλη και απολιποπρωτεΐνη A1	Αλκοόλ vs νερό HDL chol, apoA1 ↑ ίδιο βαθμό μεταξύ των αλκοολούχων ποτών	(215)

3.2 Επίδραση σε δείκτες θρόμβωσης

Υπάρχουν κλινικές μελέτες, οι οποίες έχουν ασχοληθεί με την μακροχρόνια επίδραση της κατανάλωσης κρασιού σε αιμοστατικούς παράγοντες, όπως παρουσιάζονται στο ακόλουθο πίνακα. Από το σύνολο των 18 ερευνών που υπάρχουν στο πίνακα στις 16 έχει χρησιμοποιηθεί δείγμα υγιών εθελοντών ενώ σε 3 μόνο το δείγμα συμπεριλαμβάνει ασθενή άτομα με κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακού νοσήματος. Η ηλικία των εθελοντών κυμαίνεται σχεδόν σε όλες στα 40 με 60 έτη, ενώ σε 4 ο πληθυσμός είχε μικρότερη ηλικία, εντός της 3ης δεκαετίας της ζωής. Τέλος οι 10 από τις 18 μελέτες είχαν αποκλειστικά άνδρες εθελοντές ενώ οι υπόλοιπες εθελοντές και από τα δύο φύλα.

Συνήθως στην μελέτη υπάρχει μια ή περισσότερες ομάδες ελέγχου. Σε 5 μελέτες η ομάδα ελέγχου ήταν αποχή από το αλκοόλ, σε 3 χρησιμοποιήθηκε το τζιν ως αλκοολούχο ποτό αναφοράς, σε 2 χρησιμοποιήθηκε μικρότερη ποσότητα κρασιού, σε 3 χορηγούνταν χυμός σταφυλιών ή ταμπλέτες ενώ υπήρχαν και 2 μελέτες που δεν είχαν ομάδα ελέγχου. Υπήρχαν και μελέτες που χρησιμοποίησαν ως ομάδες ελεγχού μίγματα χυμών με εξωγενή προσθήκη συστατικών του κρασιού, κρασί στο οποίο είχε απομακρυνθεί η αλκοόλη ή κατανάλωση κρασιού σε συνδυασμό σε διαφορετικές δίαιτες.

Οι παρεμβάσεις διήρκησαν από 2 έως 5 εβδομάδες και οι ποσότητες κρασιού που καταναλωνόταν κυμαίνονταν από 150 έως 500 mL ανά ημέρα, συχνά συνοδεία γεύματος. Σε κάποιες από τις έρευνες υπήρχε περιορισμός στην δίαιτα των εθελοντών ως προς την κατανάλωση τροφίμων με αντιοξειδωτικές ουσίες, ως ένας συγχυτικός παράγοντας.

Γενικά η επίδραση της κατανάλωσης κρασιού στην συσσώρευση των αιμοπεταλίων *in vitro* φαίνεται να οφείλεται τόσο στην αιθανόλη όσο και στα βιοδραστικά συστατικά του κρασιού (233). Σύμφωνα με τις κλινικές μελέτες που έχουμε συγκεντρώσει στο πίνακα, όμως δεν είμαστε σε θέση να αξιολογήσουμε την επίδραση της αιθανόλης *in vivo*, καθώς οι μελέτες που αξιολόγησαν την συσσώρευση των αιμοπεταλίων δεν διαθέτουν ομάδα ελέγχου με κατανάλωση άλλου αλκοολούχου ποτού ώστε να συγκριθεί αυτό με αποχή από το αλκοόλ. Στηριζόμενοι στις μελέτες (234), (235), (236), (237), (238), (239), (240), (241) παρατηρούμε πώς, η κατανάλωση κρασιού μειώνει ή δεν επηρεάζει την συσσώρευση αιμοπεταλίων. Στις έρευνες (234), (236), (241) όπου παρατηρείται ανεπηρέαστη η συσσώρευση αιμοπεταλίων ενδέχεται αυτό να οφείλεται στο νεαρό της ηλικίας των εθελοντών, κοινό χαρακτηριστικό και

στις 3 μελέτες. Επιπλέον στις μελέτες (235), (238), (240) παρατηρείται ότι η κατανάλωση λευκού κρασιού έχει το ίδιο θετική επίδραση στην συσσώρευση με τη κατανάλωση κόκκινου κρασιού, ενώ συγκεκριμένα στις μελέτη (238) φαίνεται ότι δεν υπάρχει καμία επίδραση μετά την πρόσληψη χυμού σταφυλιών, εμπλουτισμένου με ρεσβερατρόλη ή όχι. Παρ' ολ' αυτά στην έρευνα (239) βλέπουμε ότι ενώ και οι 2 ομάδες κατανάλωναν κρασί σε συνδυασμό με συγκεκριμένη δίαιτα οι κάθε ομάδα φαίνεται πως, η πρόσληψη κρασιού οδήγησε σε μείωση της έκκριση σεροτονίνης που προκαλείται από την ADP, αλλά αύξησης της έκκρισης σεροτονίνης και της συσσώρευση αιμοπεταλίων που προκαλείται από κολλαγόνο. Αυτά τα αποτελέσματα δεν συνάδουν με την διαδεδομένη αντίληψη για την προστατευτική δράση του κρασιού έναντι της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων. Οι ίδιοι οι ερευνητές απέδωσαν το αποτέλεσμα αυτό στην υπέρμετρη κατανάλωση κρασιού που είχε παρατηρηθεί στους εθελοντές, δεδομένου ότι η αύξηση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων συμβαίνει αρκετές ώρες μετά την πρόσληψη του, και ότι μετά την υπέρμετρη πρόσληψη προκαλείται το φαινόμενο της αύξησης της οξειδωσης των λιπαρών οξέων και την ταυτόχρονη αύξηση της δραστικότητας των αιμοπεταλίων.

Στις μελέτες (242), (236), (243), (241), (244) έχει αξιολογηθεί και η επίδραση της μακροχρόνιας πρόσληψης κρασιού στα μόρια προσκόλλησης του ενδοθηλίου, ICAM-1, VCAM-1 και σελεκτίνη, το οποία διαδραματίζουν και αυτά ρόλο στην συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Σε όλες τις έρευνες σημειώθηκε μείωση των ICAM-1 και VCAM-1 με την κατανάλωση κρασιού, τζιν ή κρασιού χωρίς αλκοόλη, γεγονός που συμπερασματικά αποδίδεται στην αιθανόλη όσο και στις φαινολικές ενώσεις. Εξάιρεση αποτελεί η μελέτη των 7 στην οποία παρατηρείται αύξηση του ICAM-1 και της E-σελεκτίνης την οποία η ερευνητές απέδωσαν στο ότι η αύξηση των φαινολικών κρασί πλάσματος δεν είναι επαρκής για να αντισταθμίσει την επίδραση της αιθανόλης στους μηχανισμούς που ευθύνονται για την ενεργοποίηση του ενδοθηλίου και την συσσώρευση των αιμοπεταλίων.

Στις μελέτες που συμπεριλαμβάνονται στο πίνακα έχουν προσδιορισθεί και παράγοντες πήξης, όπως το ινωδογόνο, τον παράγοντα VII, vWF, ιξώδες πλάσματος (PLV), θρομβοξάνη B2 (TXB2), χρόνος αιμορραγίας (BT) και δραστηριότητα προθρομβίνης (PA), αποτιμώνται στο πλάσμα του αίματος. Στις έρευνες (245), (207), (245), (242), (246), (237), (247), (240) εκτιμάται η επίδραση στο ινωδογόνο και παρουσιάζεται μείωση του, με την κατανάλωση αλκοόλ σε οποιοδήποτε τύπο (κόκκινο και λευκό κρασί ή τζιν) και δεν εμφανίζεται αντίστοιχη μείωση στις ομάδες οι οποίες απέχουν από το αλκοόλ ή καταναλώνουν κρασί χωρίς αλκοόλη ή χυμό σταφυλιών. Αν και δεν

είναι ακόμα σαφές πώς αιθανόλη μπορεί να μειώνει τα επίπεδα του ινωδογόνου, φαίνεται ότι επηρεάζει την σταθερότητα και την δομή του (233). Όσον αφορά τους παράγοντες VII και vWF λίγες είναι οι έρευνες που τους έχουν αξιολογήσει. Στην μελέτη (245) παρουσιάστηκε μείωση αυτού του παράγοντα VII, ως αποτέλεσμα της κατανάλωσης κόκκινου κρασιού, αλλά δεν είμαστε σε θέση να διευκρινίσουμε εάν για αυτό το αποτέλεσμα ευθύνεται η αιθανόλη ή πολυφαινόλες του κόκκινου κρασιού. Στην μελέτη (207) δεν βρήκε καμία αλλαγή στην παράγοντα VII μετά την πρόσληψη κόκκινου κρασιού. Όσον αφορά τον παράγοντα vWF, η έρευνα (237) δεν έδειξε καμία επίδραση στα επίπεδα του παράγοντα vWF μετά την κατανάλωση κόκκινου κρασιού ή χυμού φρούτων με προσθήκη αιθανόλης.

Τέλος στις έρευνες που συμπεριλαμβάνονται στον πίνακα αξιολογήθηκαν και δείκτες αντί- πήξης όπως οι t-PA, PAI, προϊόντα αποδόμησης ινώδους (D-Dimer) και σύμπλοκα πλασμίνης / αντιπλασμίνης (PAP). Η ικανοποιητική λειτουργία του ινωδολυτικού μηχανισμού οφείλεται στην αυξημένη t-PA ή / και μειωμένη PAI. Στην έρευνα (245) εντοπίστηκε μια αύξηση των t-PA και PAI καθώς και αύξηση των επιπέδων των D-Dimers (όχι σημαντική), η οποία αντανακλά την υποβάθμιση του ινώδους, μετά την κατανάλωση κόκκινου κρασιού. Στη μελέτη (234) παρατηρείται ότι το πλασμινογόνο αυξάνεται ανάλογα με την ποσότητα κρασιού που καταναλώνεται, γεγονός που θεωρείται ευεργετικό αποτέλεσμα. Αλλά, αντίθετα, η t-PA εμφανίζει μια αξιοσημείωτη μείωση, η οποία αντισταθμίζει την ευεργετική επίδραση που υπήρχε στο πλασμινογόνο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.2: Κλινικές μελέτες για την επίδραση της κατανάλωσης κρασιού σε δείκτες θρόμβωσης

ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ		ΕΙΔΟΣ ΕΡΕΥΝΑΣ	ΔΙΑΙΤΑ ΕΛΕΓΧΟΥ	ΠΑΡΕΜΒΑΣΗ ΜΕ	ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ	ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	ΑΝΑΦΟΡΑ
ΑΡΙΘΜΟΣ	ΗΛΙΚΙΑ							
48 (m+w) υγιής	43.6±10.6	crossover	OXI	1. κόκκινο κρασί 2. αποχή από αλκοόλ	4 εβδ. 250 mL/ ημέρα ,με γεύμα	D-Dimer, παράγοντας VII, PAI Ag, t-PA Ag, ινωδογόνο	Κόκκινο κρασί: ↑ (t-PA Ag, PAI Ag), ↓ (ινωδογόνο, VII), ↑ D-Dimer, όχι σημαντικά	(245)
69 (m+w) υγιής	52	4-armed	OXI	1.κόκκινο κρασί 2.νερό+RGTs (ολόκληρη δόση) 3. νερό+RGTs (μισή δόση) 4. placebo	4 εβδ. 1. m: 300 mL, w: 200 mL/ημέρα (m: 38,3g, w: 25,5 g αιθανόλη /ημέρα) 2. m: 6, w: 4 RGTs/ημέρα 3. m: 3, w: 2 RGTs/ημέρα 4. m: 6, w: 4 RGTs/ημέρα στο δείπνο	Παράγοντας VII, παράγοντας VIIc, ινωδογόνο	Κόκκινο κρασί: 5% ↓ ινωδογόνο RGTs (ολική δόση): ↑ 10% ινωδογόνο όλες οι παρεμβάσεις : καμία διαφορά για VIIc	(207)
87 (m+w) υγιής	50.2±9.6	crossover	NAI	1. κόκκινο κρασί 2. αποχή από αλκοόλ	3 εβδ.: 150 mL/ημέρα (15 g αιθανόλη/ ημέρα), Ελεύθερη δίαιτα	Ινωδογόνο	m+w: Κόκκινο κρασί: 3% ↓ ινωδογόνο	(245)

40 m υγιής	37.6 ± 7.4	crossover	NAI	1. κόκκινο κρασί 2. τζιν	28 ημέρας: 30g αιθανόλη/ημέρα (κόκκινο κρασί 2X 160 mL ή Τζιν 100 mL), στο δείπνο	Ινωδογόνο, VCAM-1, ICAM-1	Κόκκινο κρασί ή Τζιν: ↓ ινωδογόνο, VCAM-1, ICAM-1	(242)
12 m υγιής	21-29	crossover	NAI	Κόκκινο κρασί σε δόσεις 1. αποχή 2.2 ποτήρια/ημέρα 3.4 ποτήρια/ημέρα 4. binge drinking	5 εβδ.	κολλαγόνο-επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων, πλασμινογόνο, t-PA VII	Κόκκινο κρασί (όλες οι δόσεις vs αποχή): ↑ πλασμινογόνο, ↓ κολλαγόνο (1 μg/mL)-επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων Κόκκινο κρασί (4 ποτήρια vs αποχή): ↓ t-PA καμία επιρροή σε (VII, ADP-επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων, κολλαγόνο (4 μg/mL)-επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων)	(234)
20 (m+w) υγιής	43	2-armed	NAI	1. κόκκινο κρασί 2. λευκό κρασί	2 εβδ.: 300 mL/ημέρα στο δείπνο	κολλαγόνο-επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων	κόκκινο κρασί, λευκό κρασί: ↓ κολλαγόνο-επαγόμενη συσσώρευση	(235)

							αιμοπεταλίων (κόκκινο κρασί>λευκό κρασί)	
15 m υγιής	23.13±0.4 5	1-armed	NAI	κόκκινο κρασί	4 εβδ.: 250 mL/ημέρα	ADP- και κολλαγόνο, επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων, ινωδογόνο, PA,APTT, MPC, MPV, P- και E-σελεκτίνη, VCAM-1, ICAM-1	κόκκινο κρασί: καμία διαφορά (ADP ή κολλαγόνο- επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων, PA, APTT, MPC, P- σελεκτίνη, VCAM- 1), ↓ ινωδογόνο, ↑ (MPV, ICAM-1, E- σελεκτίνη)	(236)
92 m υγιής	50,3	crossover	OXI	1. κόκκινο κρασί 2. αποχή	3 εβδ. 250 mL/ημέρα	PLV και ινωδογόνο	κόκκινο κρασί: ↓ PLV, ινωδογόνο	(246)
6 m υγιής	34±6	1-armed	OXI	κόκκινο κρασί	2 περίοδοι της 1 εβδ.: 3 ποτήρια/ ημέρα στο δείπνο	PAI-1, t-PA antigen, Σύμπλοκο πλασμίνης αντιπλασμίνης	Όχι σημαντικά διαφορές	(248)
11 m υγιής		crossover	OXI	1. κόκκινο κρασί 2. χυμός φρούτων +αιθανόλη 3. κόκκινο κρασί χωρίς	4 εβδ. 320 mL/ημέρα (30 g αιθανόλης/ημέρ α) Κατά την διάρκεια των 2	ADP ή κολλαγόνο- επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων, ινωδογόνο, πλασμινιγόνο, t-PA Ag, vWF	κόκκινο κρασί + χυμός φρούτων με αιθανόλη: ↓ (κολλαγόνο- επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων,	(237)

				αλκοόλη	κυρίως γευμάτων		ινωδογόνο) όλες οι παρεμβάσεις: καμία διαφορά (ADP- επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων, t-PA antigen, vWF and πλασμινογόνο)	
24 m υγιής	26,45	2-armed	NAI	1. κόκκινο κρασί 2. λευκό κρασί 3. χυμός σταφυλιού εμπορίου 4. χυμός σταφυλιού εμπορίου +trans ρεσβερατρόλ η	4 εβδ: χυμοί: 500 mL/ημέρα κρασί: 375 mL/ημέρα	πλάσμα TXB2, IC50 για ADP και θρομβίνη- επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων	Λευκό κρασί vs κόκκινο κρασί: ↑ IC50 για ADP- επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων και τα 2 κρασιά: ↑ IC50 for θρομβίνη- επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων, reduction TXB2 2 χυμοί φρούτων: καμία διαφορά ADP- επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων ή TXB2 χυμός σταφυλιού εμπορίου: ↓ IC50 για θρομβίνη-	(238)

							επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων χυμός σταφυλιού εμπορίου +trans ρεσβερατρόλη : δραματική ↑ IC50 για θρομβίνη- επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων	
42 m υγιής	22±3,4	2-armed	NAI	1. κόκκινο κρασί+ μεσογειακή δίαιτα 2. κόκκινο κρασί+ δίαιτα υψηλού λίπους	30 ημέρες: 240 mL/ημέρα	Ινωδογόνο, VIIc και VIIIc, αντιθρομβίνη III (AT III), πρωτεΐνη C, πρωτεΐνη S, t-PA Ag, PAI-1 Ag	μεσογειακή δίαιτα vs δίαιτα υψηλού λίπους: ↓ (ινωδογόνο, VIIc, VIIIc), ↑ πρωτεΐνη S, κόκκινο κρασί (2 δίαιτες): ↓ (ινωδογόνο, VIIc), ↑ (t-PA, PAI-1)	(247)
42 m υγιής	22±3,4	crossover	OXI	1. κόκκινο κρασί+ μεσογειακή δίαιτα 2. κόκκινο κρασί+ δίαιτα υψηλού λίπους	30 ημέρες: 240 mL/ημέρα	ADP-, κολλαγόνο και επινεφρίνη επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων, έκκριση σεροτονίνης, BT, vWF	μεσογειακή δίαιτα vs δίαιτα υψηλού λίπους: ↑ (BT, επινεφρίνη- επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων) κόκκινο κρασί και οι 2 δίαιτες : ↓ ADP-επαγόμενη	(239)

							έκκριση σεροτονίνης, ↑ κολλαγόνο- επαγόμενη έκκριση και συσσώρευση, καμία διαφορά (BT, vWF)	
13 (m+w) υγιής	25–56	crossover	NAI	1. κόκκινο κρασί 2. λευκό κρασί	28 ημέρας: w: 23 g αιθανόλης/ημέρ α m: 32 g αιθανόλης/ημέρ α	Ινωδογόνο, κολλαγόνο- επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων, t- PA, PAI-1, TXB2, platelet membrane micro viscosity	κόκκινο κρασί: ↓ κολλαγόνο- επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων Λευκό κρασί : ↓ (ινωδογόνο, PAI- 1) κόκκινο κρασί, Λευκό κρασί: ↓ TXB2, καμία διαφορά t-PA κόκκινο κρασί: ↓ platelet membrane micro viscosity Λευκό κρασί: ↑ platelet membrane micro viscosity	(240)
20 m υγιής	34±9	2-armed	NAI	1. λευκό κρασί 2. Τζιν	28 ημέρες: 30 g αιθανόλη/ημέρα	VCAM-1, ICAM-1, E-σελεκτίνη P-σελεκτίνη	Λευκό κρασί + Τζιν: ↓ (VCAM-1, ICAM-1, E-σελεκτίνη , P-σελεκτίνη) Λευκό κρασί vs Τζιν: ↓ ICAM-1	(243)

16 (m+w) υπερχολησ τερολαιμικ οί	51.6±8.1	crossover	NAI	1. χυμός μοβ σταφυλιού 2. κόκκινο κρασί	2 περίοδοι των 2 εβδ. 1. 500 mL/ημέρα 2. 250 mL/ημέρα	ICAM-1, VCAM-1, επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων	χυμός μοβ σταφυλιού: ↓ ICAM-1 κόκκινο κρασί ή χυμός μοβ σταφυλιού: καμία αλλαγή (επαγόμενη συσσώρευση αιμοπεταλίων, VCAM-1)	(241)
67 m, αυξημένος κίνδυνος	55–75	crossover	OXI	1. κόκκινο κρασί 2. κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη 3. Τζιν	4 εβδ. 30 g αλκοόλ/ ημέρα	ICAM-1, E-σελεκτίνη, VCAM-1	κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη vs κόκκινο κρασί, Τζιν: ↓ E- σελεκτίνη κόκκινο κρασί, κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη, Τζιν: ↓ VCAM-1 κόκκινο κρασί, κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη vs Τζιν: ↓ ICAM-1	(244)
18 με μη ινσουλινοε ξαρτώμενο ΣΔ 2	64	crossover	OXI	1. κόκκινο κρασί or λευκό κρασί (επιλογή από τους εθελοντές) 3. αποχή	30 ημέρες 171 mL/ημέρα με το δείπνο	πλασμινογόνο	κρασί vs αποχή: καμία διαφορά πλασμινογόνο	(221)

3.3 Επίδραση σε δείκτες φλεγμονής

Πεδίο έρευνας για τους επιστήμονες που έχουν ασχοληθεί με την επίδραση του κρασιού στον ανθρώπινο οργανισμό, αποτελεί και η φλεγμονή και το πώς οι δείκτες αυτής επηρεάζονται από την κατανάλωση κρασιού. Στο πίνακα που ακολουθεί έχουν συγκεντρωθεί 8 έρευνες που ασχολούνται με αυτό το θέμα. Σε αυτές τις μελέτες έχει χρησιμοποιηθεί κυρίως δείγμα εθελοντών ηλικίας από 30 έως 70 ετών, ενώ σε μία μόνο έρευνα το δείγμα είχε μέσο όρο ηλικίας τα 22 έτη. Σε 4 έρευνες, οι συμμετέχοντες ήταν αποκλειστικά ανδρικού φύλου και σε 4 ήταν άτομα και των δύο φύλων. Όσον αφορά την κατάσταση υγείας των εθελοντών σε όλες συμμετείχαν υγιή άτομα, μη καπνίζοντες.

Σε όλες τις έρευνες που παρουσιάζονται στον πίνακα χρησιμοποιήθηκαν μία ή περισσότερες ομάδες ελέγχου ώστε να μπορεί να γίνει σύγκριση των αποτελεσμάτων και μόνο σε μια δεν υπήρχε ομάδα ελέγχου. Οι ομάδες ελέγχου μπορεί να κατανάλωναν κρασί από το οποίο έχει αφαιρεθεί η αλκοόλη, χυμούς σταφυλιών, τζιν ή μπορεί να απείχαν γενικά από την κατανάλωση οποιουδήποτε αλκοολούχου ποτού και κρασιού. Σε μία έρευνα όπου υπήρχαν δύο ομάδες, και οι δύο κατανάλωναν κρασί αλλά ακολουθούσαν διαφορετικού είδους δίαιτα. Τέλος σε 1 από τις μελέτες δεν καταναλωνόταν κόκκινο κρασί, αλλά λευκό αφρώδες κρασί τύπου "Cava".

Οι παρεμβάσεις διήρκησαν 2 εβδομάδες έως και 3 μήνες και οι εθελοντές κατανάλωναν ημερησίως από 15 έως και 40 gr αλκοόλης ή εναλλακτικά από 150 έως 500 mL κρασιού ή άλλου διαλύματος. Σε 2 έρευνες οι εθελοντές ακολουθούσαν επιπλέον και δίαιτα ελέγχου, κυρίως ισοθερμική, ώστε να αποφευχθεί οποιοσδήποτε συγχυτικός παράγοντας.

Στις μελέτες που παραθέτονται στον πίνακα έχουν προσδιοριστεί τα επίπεδα τριών δεικτών φλεγμονής, του TNF-α, της IL-6 και της CRP. Γενικά παρατηρούμε πως μεταξύ των ερευνών οι δείκτες φλεγμονής είτε είναι αμετάβλητες, είτε έχουν μειωθεί ή δεν υπάρχει σημαντική αλλαγή λόγω τη κατανάλωσης κρασιού.

Πιο συγκεκριμένα από τις 4 έρευνες που μας δίνουν στοιχεία για τον TNF-α, στις 3 ((249), (250), (242)) δεν υπάρχει σημαντική διαφορά, λόγω της κατανάλωσης κόκκινου κρασιού συγκριτικά με χυμό σταφυλιών, κρασιού χωρίς αλκοόλη τζιν ή αποχής. Σε 1 μόνο έρευνα (243) παρατηρείται μείωση του TNF-α, λόγω κατανάλωσης λευκού κρασιού συγκριτικά με κατανάλωση τζιν. Σε 2 έρευνες μετρήθηκε η ιντερλευκίνη 6 εκ των οποίων σε μία (249) η IL-6

μειώθηκε με την κατανάλωση λευκού κρασιού συγκριτικά με την κατανάλωση τζιν και στην άλλη (243) δεν υπήρξε καμία σημαντική διαφορά μεταξύ της χορήγησης κόκκινου κρασιού και αποχής.

Τέλος όσον αφορά την CRP αυτή μετρήθηκε σε 5 έρευνες και στις 3 από αυτές ((221), (247), (223)) δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά λόγω της κατανάλωσης κόκκινου κρασιού, ενώ σε 2 ((242), (245)) υπήρχε μείωση της, συγκριτικά με την κατανάλωση τζιν ή την αποχή.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.3: Κλινικές μελέτες για την επίδραση της κατανάλωσης κρασιού σε δείκτες φλεγμονής

ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ		ΕΙΔΟΣ ΕΡΕΥΝΑΣ	ΔΙΑΙΤΑ ΕΛΕΓΧΟΥ	ΠΑΡΕΜΒΑΣΗ ΜΕ	ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ	ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΑ	ΑΝΑΦΟΡΑ
ΑΡΙΘΜΟΣ	ΗΛΙΚΙΑ							
17 (7 m, 10 w)	≥40	τυχαιοποιημ ένο cross-over	ΟΧΙ	Κόκκινο κρασί	2 μήνες: 30 μέρες κατανάλωση 12 gr αλκοόλ για γυναίκες και 24 gr αλκοόλ για άνδρες /ημέρα, 30 μέρες αποχή	C αντιδρώσα πρωτεΐνη	CRP -	(221)
88 (37 m,57 w) υγιής, μη καπνίζοντες	35-70	Τυχαιοποιημ ένη προοπτική 2 arm control	ΟΧΙ	1.κόκκινο κρασί 2.αποχή από αλκοόλ	3 εβδ. 150 mL κόκκινο κρασί (15 g αλκοόλ)/ημέρα	Ιντερλευκίνη TNFa	Ιντερλευκίνη και TNFa : καμία σημαντική διαφορά σε άνδρες και γυναίκες	(249)
21 m υγιής	ΜΟ 22	Πριν και μετά	ΝΑΙ	1. μεσογειακή δίαιτα με και χωρίς κρασί 2. υψηλή σε λίπος δίαιτα με και χωρίς κρασί	90 ημέρες : δίαιτα 30 ημέρες (30η-60η): 240 mL κόκκινο κρασί (23,2 g αλκοόλ)/ημέρα	C αντιδρώσα πρωτεΐνη	CRP -	(247)
87 (30 m, 57 w) υγιής, μη καπνίζοντες	ΜΟ 50	τυχαιοποιημ ένο cross-over	ΟΧΙ	1.κόκκινο κρασί 2.αποχή	3 εβδ. 150 mL κόκκινο κρασί / ημέρα (15 gr αλκοόλ)	C αντιδρώσα πρωτεΐνη	CRP -	(223)
20 m υγιής, μη καπνίζοντες	25-50	τυχαιοποιημ ένο cross-over	ΟΧΙ	1. αφρώδες λευκό κρασί 2. τζιν	28 ημέρες 30 gr αλκοόλ / ημέρα από αφρώδες λευκό	C αντιδρώσα πρωτεΐνη Ιντερλευκίνη	αφρώδες λευκό κρασί : IL-6↓	(243)

					κρασί Wash out 28ημέρες 30 gr αλκοόλ / ημέρα από τζιν	6 Αντιπνεκτί η TNFa	TNFa↓	
24 m υγιής, μη καπνίζοντες	MO 30.6	τυχαιοποιημ ένο cross-over	OXI	1.κόκκινο κρασί 2.κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη 3. χυμός κόκκινων σταφυλιών	2 εβδ. 500 mL ποτού / ημέρα	TNFa	καμία σημαντική διαφορά σε κανένα είδος ποτού	(250)
40 m	30-50 MO 37.6	τυχαιοποιημ ένο cross-over	NAI	1.κόκκινο κρασί 2. τζιν	15 ημέρες αποχή 28 ημέρες 320 mL κόκκινο κρασί / ημέρα (30 gr αλκοόλ) 15 ημέρες αποχή 28 ημέρες 100 mL τζιν / ημέρα (30 gr αλκοόλ)	C αντιδρώσα πρωτεΐνη TNFa	Κόκκινο κρασί vs τζιν: TNFa - CRP↓	(242)
48 (28m, 20w) υγιής	35-65	τυχαιοποιημ ένο cross-over	OXI	1.κόκκινο κρασί	4 εβδ. συνήθης κατανάλωση 4 εβδ. συνήθης κατανάλωση + 250 mL κόκκινο κρασί / ημέρα	C αντιδρώσα πρωτεΐνη	CRP ↓	(245)

3.4 Επίδραση σε δείκτες οξειδωτικού στρες

Στους παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα εκτός του μηχανισμού θρόμβωσης, της φλεγμονώδους διαδικασίας και του λιπιδαιμικού προφίλ, καθοριστικό ρόλο έχει και η κατάσταση οξειδωτικού στρες του οργανισμού. Η σχέση που υπάρχει μεταξύ της συστηματικής κατανάλωσης κρασιού και των δεικτών οξειδωτικού στρες, έχει μπει αρκετές φορές στο πεδίο ενδιαφέροντος για τους ερευνητές ανά τον κόσμο, οι οποίοι έχουν πραγματοποιήσει ένα πλήθος κλινικών μελετών για να την προσδιορίσουν. Στο πίνακα που ακολουθεί έχουμε συγκεντρώσει 11 μελέτες που ασχολούνται με την επίδραση της μακροχρόνιας και συστηματικής κατανάλωσης κρασιού και των δεικτών οξειδωτικού στρες.

Μεταξύ των 11 ερευνών μόνο 1 έχει χρησιμοποιήσει ασθενή πληθυσμό. Συγκεκριμένα στην έρευνα του ο Guarda (252) έχει συλλέξει άτομα που πάσχουν από ασταθή στηθάγχη είτε έχουν πάθει ένα περικαρδιακό έμφραγμα (Non- STEMI, Non- ST elevation myocardial infarction). Στην έρευνα του Schrieke (251) χρησιμοποιείται πληθυσμός με αυξημένη περιφέρεια μέσης, μεγαλύτερη των 94 εκατοστών, και Δείκτη Μάζας Σώματος μεγαλύτερο του 25, άρα παχύσαρκα ή υπέρβαρα άτομα. Στις υπόλοιπες 9 μελέτες ο πληθυσμός ήταν υγιής. Όσον αφορά το φύλο των συμμετεχόντων 4 έρευνες χρησιμοποίησαν μόνο άνδρες, 3 άνδρες και γυναίκες, ενώ σε 4 έρευνες δεν αναφερόταν συγκεκριμένα το γένος των εθελοντών. Οι ηλικίες των εθελοντών σε όλες τις μελέτες κυμαίνονται σε ένα μεγάλο εύρος, με μέσο όρο περίπου γύρω στα 50 με 55 έτη. Σε 2 έρευνες ο μέσος όρος ήταν κοντά στα 30 έτη.

Για την πραγματοποίηση των μελετών χορηγήθηκαν στους εθελοντές έκτος από το κόκκινο ή λευκό κρασί ως ομάδες ελέγχου, κόκκινο κρασί από το οποίο έχει απομακρυνθεί η αλκοόλη, κάψουλες με εκχύλισμα πολυφαινόλων κόκκινου κρασιού, νερό, μπύρα ή άλλα αλκοολούχα ποτά ή πλήρης αποχή από οποιοδήποτε αλκοολούχο ποτό. Σε 7 έρευνες υπήρξε περίοδος προετοιμασίας (wash out) πριν την έναρξη της παρέμβασης κατά την οποία οι εθελοντές έχει αποκλείσει από την διατροφή τους τις πηγές φαινολικών ενώσεων και το αλκοόλ, ενώ στις υπόλοιπες 4 μελέτες δεν υπήρχε αντίστοιχη περίοδος πριν την παρέμβαση. Το χρονικό διάστημα που διήρκησαν οι παρεμβάσεις ήταν από 2 έως και 6 εβδομάδες με τους εθελοντές να καταναλώνουν σε καθημερινή βάση από 250 έως και 450 mL κρασιού ή άλλου ποτού, αναλόγως με την ομάδα στην οποία ανήκαν.

Οι δείκτες οξειδωτικού στρες που μετρήθηκαν ήταν δείκτες που αφορούν προϊόντα οξείδωσης μακρομορίων όπως τα TBARS, οι F2 ισοπροστάνια τα εικοσανοειδή ούρων και η μηλονυλοαλδεύδη για την οξείδωση των λιπιδίων, ανηγμένα πρωτεϊνικά προϊόντα οξείδωσης (AOPP) για την οξείδωση πρωτεϊνών και 8-OH- υδροξυγουανίνη και θραύσματα DNA για την οξείδωση του DNA. Επιπλέον, έχουν μετρηθεί ενζυμικά αντιοξειδωτικά (δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx)) καθώς και μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά (βιταμίνη C, β-καροτένιο α- και γ- τοκοφερόλη, θειόλες, ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH)). Τέλος έχουν προσδιορισθεί η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα, η αντιοξειδωτική ικανότητα πλάσματος και η αντιοξειδωτική δύναμη αναγωγικού σιδήρου.

Πιο συγκεκριμένα σε 7 έρευνες έχουν μετρηθεί δείκτες για την οξείδωση των λιπιδίων. Σε 3 από αυτές ((253), (213), (254)) μετρήθηκαν TBARS, τα οποία βρέθηκαν μειωμένα σε όλες, μετά την κατανάλωση κόκκινου κρασιού ((253), (213)), λευκού κρασιού με εκχύλισμα πολυφαινόλων κόκκινου κρασιού (253) και κάψουλας με εκχύλισμα πολυφαινόλων (253), ενώ όσον αφορά το λευκό κρασί στην έρευνα του Nigdikar (253) τα TBARS αυξήθηκαν μετά την παρέμβαση και στην έρευνα του Rajdi (254) μειώθηκαν. Σε 2 μελέτες ((255), (256)) μετρήθηκε η μηλονυλοαλδεύδη, η οποία μειώθηκε και στις δύο. Οι F2 ισοπροστάνες μετρήθηκαν σε 3 έρευνες ((257), (258), (251)). Στην μελέτη του Cacceta (257), οι F2 ισοπροστάνες μειώθηκαν με την κατανάλωση κόκκινου κρασιού από το οποίο έχει αφαιρεθεί η αλκοόλη, ενώ έμειναν σταθερές με το κόκκινο και το λευκό κρασί. Ο Pignatelli (258) παρατήρησε την μείωση των εικοσανοειδών στα ούρα σε όλες τις ομάδες, λόγω του φαινολικού περιεχομένου των ποτών ενώ αντίθετα στην μελέτη του ο Schrieke (251) μέτρησε τους δείκτες ισοπροστανών 8-iso-PGF, οι οποίοι φαίνεται να αυξήθηκαν με την κατανάλωση κόκκινου κρασιού συγκριτικά με την κατανάλωση κόκκινου κρασιού από το οποίο έχει αφαιρεθεί η αλκοόλη. Αυτό το αποτέλεσμα φαίνεται να εξηγείται από τον ερευνητή λόγω της αιθανόλης, η οποία έχει κατηγορηθεί πως αυξάνει την οξείδωση των λιπιδίων πολύ περισσότερο από την μείωση της οξείδωσης που προκαλείται από τις πολυφαινόλες (257) (259), (260).

Για την οξείδωση των πρωτεϊνών αποτελέσματα δίνει μόνο 1 έρευνα, εκείνη του Radji (254), στην οποία τα ανηγμένα πρωτεϊνικά προϊόντα οξείδωσης (AOPP) μειώθηκαν μετά την κατανάλωση λευκού κρασιού.

Η οξειδωση του DNA μετρήθηκε από 2 ερευνητές σύμφωνα με τους οποίους, για τον Arendt (261) τα untreated θραύσματα DNA μειώθηκαν μετά την κατανάλωση κόκκινου κρασιού και τα H₂O₂ treated θραύσματα δεν παρουσίασαν καμία αλλαγή. Για τον Guarda (252), που μέτρησε τα επίπεδα 8-OH υδροξυγουανίνης, αυτά βρέθηκαν μειωμένα και στην αποχή αλλά ακόμη περισσότερο στην κατανάλωση κόκκινου κρασιού.

Σε 5 έρευνες ((257), (255), (256), (262), (254)) έχουν προσδιοριστεί ενζυμικά και μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά. Το β- καροτένιο αρχικά μειώθηκε με την χορήγηση κόκκινου κρασιού στην μελέτη του Cacceta (257). Η α- και γ- τοκοφερόλη παρέμεινε σταθερή ομοίως με την βιταμίνη C στην έρευνα του Cacceta (257) και του Arendt (261), ενώ η βιταμίνη E παρουσίασε μείωση με την κατανάλωση κόκκινου κρασιού και άλλων αλκοολούχων ποτών στην μελέτη του Addolorato (256). Στην μελέτη του Radji (254) παρουσιάζεται αύξηση της ανηγμένης γλουταθειόνης μετά την χορήγηση λευκού κρασιού σε αντίθεση με μείωση της στις έρευνες του Micallef (255) και του Addolorato (256) με το κόκκινο κρασί ή άλλα αλκοολούχα ποτά. Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά μετρήθηκαν και στην μελέτη του Otaolauruchi (262) τα οποία δεν μεταβλήθηκαν με την χορήγηση κόκκινου κρασιού ενώ στην ίδια έρευνα μετρήθηκαν και οι θειόλες του πλάσματος, οι οποίες βρέθηκαν μειωμένες στην ομάδα με την αποχή. Ενζυμικά αντιοξειδωτικά και πιο συγκεκριμένα υπεροξειδάση την δισμουτάσης και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης προσδιορίστηκαν στην έρευνα του Radji (254), όπως υπήρξε μείωση της υπεροξειδάσης της δισμουτάσης και αύξηση της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης.

Τέλος μετρήθηκε σε 3 έρευνες η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα, η οποία βρέθηκε αυξημένη στις 2 έρευνες ((255), (262)) μετά την κατανάλωση κόκκινου κρασιού. Στην μελέτη του Radji (254) φαίνεται πως μειώθηκε τον πρώτα μήνα μετά την κατανάλωση λευκού κρασιού αλλά αυξήθηκε στα αρχικά της επίπεδα σένα μήνα μετά. Η αντιοξειδωτική δύναμη του ανηγμένη σιδήρου μετρήθηκε σε μία μόνο έρευνα (252) στην οποία υπήρξε αύξηση και στην ομάδα του κόκκινου κρασιού αλλά και στην ομάδα που απείχε.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.4 : Κλινικές μελέτες για την επίδραση της κατανάλωσης κρασιού σε δείκτες οξειδωτικού στρες								
ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ		ΕΙΔΟΣ ΕΡΕΥΝΑΣ	ΠΑΡΕΜΒΑΣΗ ΜΕ	ΠΕΡΙΟΔΟΣ WASHOUT	ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ	ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	ΑΝΑΦΟΡΑ
ΑΡΙΘΜΟΣ	ΗΛΙΚΙΑ							
30 m υγιής μη καπνιστές	35-65	Parallel	1.κόκκινο κρασί 2.λευκό κρασί 3.κάψουλα με εκχύλισμα πολυφαινολών 4. λευκό κρασί +εκχύλισμα πολυφαινολών κόκκινου κρασιού 5.αιθανόλης	2 εβδ. χωρίς αλκοόλ	2 εβδ.: 375mL/ημέρα κόκκινο κρασί(n = 9), 375mL/ημέρα λευκό κρασί (n = 9), κάψουλα με εκχύλισμα πολυφαινολών (n = 6), εκχύλισμα πολυφαινολών κόκκινου κρασιού +λευκό κρασί (n = 6) ή 40 g αιθανόλης/ημέρα	Ex vivo LDL οξείδωση and LOOH TBARS	Σταθερά εκτός από αύξηση με λευκό κρασί και αιθανόλης	(253)
18 m υγιής καπνιστές	25-71 MO 46	Crossover	1.κόκκινο κρασί 2.λευκό κρασί 3.κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη	1 εβδ. Χωρίς αλκοόλ	2 εβδ. το κάθε ποτό με 1 εβδ. washout ενδιάμεσα : 375mL/ημέρα κόκκινο κρασί, λευκό κρασί ή κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη	F2 - ισοπροστάνες (ούρα και πλάσμα) Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικ	↓ με κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη, - με κρασί λευκό και κόκκινο Καμία αλλαγή	(257)

						ά Β-καροτένιο	↓ με κόκκινο και λευκό κρασί	
20 υγιής μη καπνιστές	23-50	Parallel	1. κόκκινο κρασί 2. νερό	2 εβδ. χωρίς αλκοόλ με δίαιτα χαμηλή σε φαινόλες	2 εβδ.: 375mL/ημέρα κόκκινο κρασί(<i>n</i> =12) ή νερό (<i>n</i> = 8)	Συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα και <i>ex vivo</i> LDL οξείδωση TBARS σε LDL	Καμία αλλαγή ↓ με κόκκινο κρασί	(213)
78 (m, w) υγιής μη καπνιστές	18-50 KK MO 30±8,3 KKXA MO 26,7±6,4 N MO 28,8±7,1	Parallel	1.κόκκινο κρασί 2.κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη 3.νερό	1 εβδ. Με ελεγχόμενη πρόσληψη καφέ, τσαγιού και χυμών, αποχή από αλκοόλ	6 εβδ.: 200 mL/ημέρα κόκκινο κρασί(<i>n</i> =27) 175mL/ημέρα κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη (<i>n</i> = 26) ή νερό (<i>n</i> = 25)	TAC, βιταμίνη C (πλάσμα), α- και γ- τοκοφερόλη (ορός) θραύσματα DNA, κυττάρων: -untreated -H2O2 treated	Καμία αλλαγή ↓ με κόκκινο κρασί Καμία αλλαγή	(261)
30 (14 m, 16 w) υγιής μη καπνιστές	43±5	Parallel	1. κόκκινο κρασί 2.λευκό κρασί 3. νερό με ελεγχόμενη πρόσληψη φλαβονοειδ ών	1 εβδ. με ελεγχόμενη πρόσληψη φλαβονοειδ ών	2 εβδ.: 300mL/ημέρα κόκκινο κρασί, λευκό κρασί, ή νερό με ελεγχόμενη πρόσληψη φλαβονοειδών	Εικοσανοειδή ούρων	↓ με το φαινολικό περιεχόμενο του κρασιού	(258)

40 υγιής	n =20 18-30 n=20 >50	Crossover σε κάθε ηλικιακή ομάδα	1. κόκκινο κρασί 2. αποχή	2 εβδ. χωρίς αλκοόλ και προϊόντα σταφυλιού	2 εβδ. 400 mL/ημέρα κόκκινο κρασί και μετά 2 εβδ. αποχή (εναλλάξ)	TAC GSH MDA	↑ με κόκκινο κρασί ↓ με κόκκινο κρασί ↓ με κόκκινο κρασί	(255)
40 μη καπνιστές (10 σε κάθε ομάδα)	Δεν αναφέρεται	Parallel	1. κόκκινο κρασί 2.μπύρα 3. αλκοολούχο πότων 4. αποχή	OXI	30 ημέρες 40 g αλκοόλης/ ημέρα σε δύο κύρια γεύματα από μπύρα ή κρασί ή αλκοολούχο ποτό	GSH βιταμίνη E MDA	↓ εκτός από το νερό ↑ εκτός από το νερό	(256)
8 υγιής	28,7±3,3	Crossover	1.κόκκινο κρασί 2.αποχή	2 ημέρες χωρίς αλκοόλ	1εβδ. : 300mL/ημέρα κόκκινο κρασί, δίαιτα χαμηλής πρόσληψης φαινολών	TAC Θειόλες πλάσματος Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά	↑ με κόκκινο κρασί ↓ με νερό Καμία αλλαγή	(262)
42 υγιής m	41,9 ± 9,7	Κλινική μελέτη παρέμβασης	Λευκό κρασί	OXI	4 εβδ. 375 mL λευκό κρασί/ ημέρα (μετρήσεις στο τέλος του πρώτου μήνα και 1 μήνα μετά)	SOD GPx CSH TAC TBARS AOPP (ανηγμένα πρωτεϊνικά	SOD ↓ GPx ↑ CSH ↑ TAC ↓ το πρώτο μήνα μετά την κατανάλωση κρασιού και ↑ 1	(254)

						προϊόντα οξειδωσης)	μήνα μετά TBARS ↓ AOPP ↓	
19 m BMI ≥25 Περιφέρεια μέσης ≥94	35-68 MO 55	Τυχαιοπ οιημένο Crossove r	1.Κόκκινο κρασί 2. Κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη	OXI	4 εβδ. 450 mL κόκκινο κρασί/ ημέρα 4 εβδ. 450 mL κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη/ ημέρα	F2 ισοπροστάνες (8-iso-PGF2α)	Κόκκινο κρασί vs κόκκινο κρασί χωρίς αλκοόλη : 8-iso-PGF2α ↑	(251)
20 (19m,1w) Με ασταθή στηθάγχη ή με NSTEMI έμφραγμα (περικαρδι ακό)	KK MO 58±3 Απόχη MO 55±3	Δεν αναφέρε ται	1. κόκκινο κρασί 2. αποχή	OXI	2 μήνες n=9 , 250 mL κόκκινου κρασιού/ ημέρα n=11, αποχή από αλκοόλ	Αντιοξειδωτικ ή ικανότητα πλάσματος : • TAC •αντιοξειδωτικ ή δύναμη αναγωγικού σιδήρου 8-OH υδροξυγουανί νη	Και στις 2 ομάδες : αντιοξειδωτική δύναμη αναγωγικού σιδήρου↑ ↓ 8-OH υδροξυγουανίνη (περισσότερο στο κρασί)	(252)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : ΣΚΟΠΟΣ

Η κατανάλωση κρασιού έχει βρεθεί συχνά στο επίκεντρο ερευνών που αφορούν την επίδραση αυτού στην υγεία. Το φαινόμενο του Γαλλικού παραδόξου έδωσε το έναυσμα για εκτεταμένη και εμπεριστατωμένη έρευνα σχετικά με τις ευεργετικές επιδράσεις της συστηματικής μέτριας κατανάλωσης κρασιού έναντι της εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Το γεγονός ότι οξειδωτικό στρες αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου, ώθησε πλήθος ερευνητών να ασχοληθούν με την σχέση οξειδωτικού στρες, καρδιαγγειακής νόσου και κατανάλωσης κρασιού. Οι κλινικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι τώρα σχετικά με αυτό το τρίπτυχο, έχουν ασχοληθεί εκτεταμένα με την επίδραση τόσο της άμεσης όσο και της μακροχρόνιας και συστηματικής κατανάλωσης κρασιού. Οι περισσότερες από αυτές όμως έχουν χρησιμοποιήσει ως δείγμα υγιή πληθυσμό, ενώ πολύ λίγες είναι αυτές που χρησιμοποίησαν παθολογικό.

Σκοπός της μελέτης ήταν να εξεταστεί η επίδραση της μακροχρόνιας κατανάλωσης κρασιού σε δείκτες οξειδωτικού στρες σε άνδρες με υπάρχουσα καρδιαγγειακή νόσο, δηλαδή σε παθολογικό πληθυσμό. Για αυτό το σκοπό πραγματοποιήθηκε κλινική μελέτη παράλληλα σε τρεις ομάδες α) κόκκινο κρασί, β) τσίπουρο και γ) αποχή από αλκοολούχα ποτά, διάρκειας 8 εβδομάδων και εκτιμήθηκε η επίδραση των παρεμβάσεων σε δείκτες οξειδωτικού στρες. Πιο συγκεκριμένα στην οξείδωση των λιπιδίων (μέτρηση προϊόντων λιποξειδικής υπεροξειδωσης), σε ενδογενή αντιοξειδωτικά (μέτρηση ουρικού οξέος) και στην δραστικότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων (μέτρηση της δραστικότητας της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης) .

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΕΡΕΥΝΑΣ

5.1 Ερευνητικό πρωτόκολλο

Οι συμμετέχοντες που έλαβαν μέρος στην έρευνα ήταν όλοι ασθενείς με στεφανιαία νόσο και βρίσκονταν μεταξύ του 50ου και του 75ου έτους της ηλικίας τους. Η επιλογή τους πραγματοποιήθηκε από διάφορες συνεργαζόμενες κλινικές (το Καρδιολογικό Τμήμα του Ωνασείου Καρδιοχειρουργικού Κέντρου, το Καρδιολογικό Τμήμα του Γενικού Νοσοκομείου Ελευσίνας «Θριάσιο» και το Καρδιολογικό Τμήμα του Γενικού Νοσοκομείου Νοσημάτων Θώρακος Αθηνών «Η Σωτηρία»), με κριτήρια ένταξης τους στην μελέτη την ύπαρξη στεφανιαίας νόσου, εξακριβωμένης με αγγειογραφία. Κριτήρια αποκλεισμού από την έρευνα αποτέλεσαν ο αλκοολισμός, το ιστορικό οποιασδήποτε άλλης φλεγμονώδους ασθένειας, η παρουσία κρυώματος ή γρίπης, η οξεία αναπνευστική μόλυνση, τα προβλήματα στα δόντια και οι νεφρικές ή ηπατικές παθήσεις. Όλοι οι εθελοντές υπέγραψαν ενημερωτικό έντυπο συγκατάθεσης κατά την διάρκεια της πρώτης συνάντησης και στην ταυτόχρονη αρχική τους διατροφική εκτίμηση συμπλήρωσαν ένα ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας και ένα ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) ώστε να εξασφαλιστεί ότι ακολουθούν μια ισορροπημένη διατροφή, καθώς και ότι συνηθίζουν να καταναλώνουν 10-28 gr αλκοόλ την εβδομάδα. Όλοι οι εθελοντές, πριν την ένταξή τους στην έρευνα, ακολούθησαν μια περίοδο προετοιμασίας 15 ημερών (wash out period), κατά την διάρκεια της οποίας απέχχαν από κάθε μορφή αλκοόλ. Ακολούθησε ο διαχωρισμός τους, με τυχαίο τρόπο, σε 3 ομάδες παρέμβασης. Η πρώτη ομάδα κατανάλωνε καθημερινά μαζί με το δείπνο 200 mL κόκκινο κρασί της ποικιλίας Cabernet Sauvignon (13% v.v. αλκοόλ), η δεύτερη 65 mL τσίπουρο (36% v.v.) και η τρίτη απέχε από το αλκοόλ (< από 2 ποτά/εβδομάδα). Το κρασί και το τσίπουρο που κατανάλωναν οι συμμετέχοντες, του το παρείχε η ίδια η έρευνα. Η παρέμβαση είχε διάρκεια 8 εβδομάδες. Για να αξιολογηθεί η συμμόρφωση των εθελοντών με το πρωτόκολλο της μελέτης χρησιμοποιήθηκαν δύο ημερολόγια καταγραφής τροφίμων (ένα στις 4 και ένα στις 8 εβδομάδες παρέμβασης), καθώς πραγματοποιούνταν και δύο 24ωρες ανακλήσεις μέσω τηλεφώνου κάθε εβδομάδα, από συνεργάτες της έρευνας. Πραγματοποιήθηκαν επίσης 3 αιμοληψίες με ταυτόχρονη παραλαβή βιολογικών δειγμάτων στις 0,4 και 8 εβδομάδες παρέμβασης.

5.2 Ανθρωπομετρία

Το σωματικό βάρος των εθελοντών μετρήθηκε με ελαφρύ ρουχισμό και χωρίς υποδήματα, σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας. Το ύψος μετρήθηκε με τη χρήση αναστημόμετρου σε όρθια στάση, χωρίς υποδήματα και υπολογίστηκε ο ΔΜΣ (Kg/m^2) για κάθε εθελοντή. Επιπλέον μετρήθηκε η περιφέρεια μέσης κάθε εθελοντή και έγινε λιπομέτρηση με μηχανήμα μέτρησης της σύστασης σώματος με την μέθοδο Βιοηλεκτρικής Εμπέδησης (BIA). Οι ανθρωπομετρικές μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στις 0,4 και 8 εβδομάδες παρέμβασης.

5.3 Απομόνωση ορού

Κατάλληλη ποσότητα αίματος μεταφέρθηκε σε vacutainers ορού (10mL). Το vacutainer παρέμεινε σε θερμοκρασία δωματίου για 40min, έως ότου την πήξη του αίματος. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 1500 στροφές ανά δευτερόλεπτο για 10 λεπτά σε θερμοκρασία 20 °C. Μετά την φυγοκέντρηση, έγινε παραλαβή του υποκείμενου, μοιράστηκε σε σωλήνες erpendorfs ανά 500μL και τα δείγματα φυλάχθηκαν στους -80 °C.

5.4 Αιματολογικές αναλύσεις

Τα λευκοκύτταρα (WBC), τα λεμφοκύτταρα (LYMPH), ο αριθμός μονοκυττάρων, βασεόφιλων και ηωσινόφιλων (Mid), τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα (GRAN), η αιμοσφαιρίνη (HGB), τα ερυθρά αιμοσφαίρια (RBC), ο αιματοκρίτης (HC) και τα αιμοπετάλια (PLT) μετρήθηκαν σε δείγματα ορού με φασματοφωτομετρική μέθοδο και με τη χρήση εμπορικά διαθέσιμων αντιδραστηρίων.

5.5 Παραλαβή πλάσματος και απομόνωση ερυθρών αιμοσφαιρίων

Κατάλληλη ποσότητα αίματος μεταφέρθηκε σε vacutainer με αντιπηκτικό (10mL). Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 1500 στροφές ανά δευτερόλεπτο για 10 λεπτά και παραλαβή του υπερκείμενου. Αυτό κατανεμήθηκε σε σωλήνες erpendorf των 500 μL, εκ των οποίων σε 2 σωλήνες erpendorf προστέθηκαν και 5 μL BHT και ακολούθησε ανάδευση σε Vortex . Όλα τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους -80 °C.

Για την απομόνωση των ερυθροκυττάρων, συμπληρώθηκε ο όγκος στο αρχικό vacutainer έως την χαραγή με φυσιολογικό ορό, ακολούθησε απλή ανάδευση και φυγοκέντρηση στις 200 στροφές ανά δευτερόλεπτο για 15 λεπτά. Στην συνέχεια απομακρύναμε την πάνω διάφανη φάση καθώς και την ενδιάμεση στοιβάδα , ώστε να φύγουν και τα λευκά αιμοσφαίρια. Η διαδικασία αυτή (ξέπλυμα) επαναλήφθηκε άλλες 2 φορές γεμίζοντας με 4 mL φυσιολογικό ορό ως την χαραγή, και φυγοκέντρηση στις 1500 στροφές ανά δευτερόλεπτο για 10 λεπτά.

Μετά την 3η και τελευταία φυγοκέντρηση, απομακρύνουμε το υπερκείμενο και λίγο από το πάνω μέρος των ερυθρών και μετά από ανάδευση και κατανομή σε σωλήνες erpendorf ανά 500μL, τα δείγματα φυλάχθηκαν στους -80 °C.

5.6 Παραλαβή αίματος σε κιτρικά

Κατάλληλη ποσότητα αίματος μεταφέρθηκε σε ειδικό vacutainer με κιτρικά (5mL). Έγινε φυγοκέντρηση στις 1500 στροφές ανά δευτερόλεπτο για 10 λεπτά , παραλαβή του υπερκείμενου και κατανομή αυτού σε σωλήνες erpendorf ανά 500μL. Τέλος τα δείγματα τοποθετήθηκαν στους -80 °C.

5.7 Παραλαβή λευκών κυττάρων

Κατάλληλη ποσότητα αίματος μεταφέρθηκε σε vacutainer (6mL) και στη συνέχεια αυτό μεταφέρθηκε σε πλαστικό σωλήνα των 10 mL, προστέθηκαν 2 mL διαλύματος δεξτράνης 3 % σε θερμοκρασία δωματίου , τοποθετήθηκε parafilm και ακολούθησε ανάδευση αναποδογυρίζοντας τον σωλήνα με το αίμα 4-5 φορές. Ακόλουθα το parafilm αφαιρέθηκε και το μίγμα αφέθηκε για καταβύθιση σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Το υπερκείμενο λήφθηκε με πιπέτα , μεταφέρθηκε σε άλλο πλαστικό σωλήνα και φυγοντρήθηκε στις 500 στροφές ανά δευτερόλεπτο για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το τέλος της φυγοκέντρησης το υπερκείμενο απορρίφθηκε με απόχυση και προστέθηκαν 6 mL Lysis Buffer σε θερμοκρασία δωματίου ώστε να αναδιασπείρουμε το ίζημα αναδεύοντας με την βοήθεια μιας πιπέτας. Το μίγμα αφέθηκε για 5 λεπτά και ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 300 στροφές ανά δευτερόλεπτο για 10 λεπτά, ενώ στην συνέχεια το υπερκείμενο απορρίφτηκε ξανά. Το ίζημα αναδιασπάστηκε σε 1 mL παγωμένο Tris 50 mM, pH7.4.

Ακολούθησε κατεργασία με υπερήχους (sonicator) για 10 δευτερόλεπτα , 4 φορές με μεσοδιάστημα 30 δευτερόλεπτα . Η κατεργασία αυτή γίνεται υπό ψύξη για να αποφευχθεί υπερθέρμανση του μίγματος. Τέλος το μίγμα φυγοντρήθηκε στους 4 °C, στις 500 στροφές ανά δευτερόλεπτο για 10 λεπτά και το περιεχόμενο τοποθετήθηκε σε 4 σωλήνες erpendorf, 220 μL ανά erpendorf.

5.8 Βιοχημικές αναλύσεις

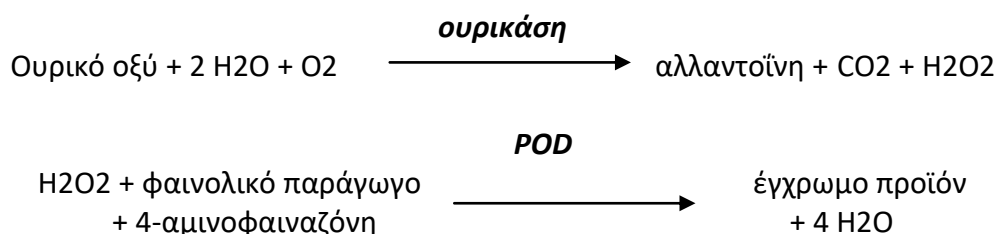
Η γλυκόζη (GLU), η χοληστερόλη (CHOL), η λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας (HDL), η λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL) και τα τριγλυκερίδια (TG) μετρήθηκαν σε δείγματα ορού με φασματοφωτομετρική μέθοδο και με τη χρήση εμπορικά διαθέσιμων αντιδραστηρίων

της εταιρίας AlfaWassermann (Woerden The Netherlands) στο βιοχημικό αναλυτή ACE (Schiapparelli Biosystem Inc NJ USA).

5.9 Προσδιορισμός ουρικού οξέος

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Παρουσία του ενζύμου ουρικήση το ουρικό οξύ (φυσικό αντιοξειδωτικό του ανθρώπινου οργανισμού) οξειδώνεται και παράγει υπεροξείδιο του υδρογόνου H_2O_2 . Η αντίδραση του υπεροξειδίου του υδρογόνου H_2O_2 με φαινολικό παράγωγο και 4-αμινοφαιναζόνη καταλύεται από το ένζυμο υπεροξειδάση (POD) και παράγει έγχρωμο προϊόν ερυθρού χρώματος. Η αύξηση της απορρόφησης στο 510 nm είναι ανάλογη με την συγκέντρωση το ουρικού οξέος στο δείγμα



ΜΕΘΟΔΟΣ

Το ουρικό οξύ μετρήθηκε σε δείγματα ορού, χρησιμοποιώντας εμπορικά διαθέσιμα αντιδραστήρια. Τα εμπορικά αντιδραστήρια ήταν τα εξής R1 : ρυθμιστικό διάλυμα, R1α : ένζυμο, R4 : Πρότυπο διάλυμα ουρικού οξέος 8 mL, και απαραίτητη ήταν η ανάμιξη των αντιδραστηρίων R1 και R1α για την δημιουργία του διαλύματος εργασίας.

Η μέθοδος περιλάμβανε την δημιουργία πρότυπης καμπύλης με 4 πρότυπα διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων (0.0004 , 0.0008 , 0.0012 , 0.0016 mg πρότυπου διαλύματος ουρικού οξέος). Στο πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται οι ποσότητες των αντιδραστηρίων καθώς και τα βήματα τις μεθόδου.

	T	S1	S2	S3	S4	Δείγμα εθελοντή
R4	-	5	10	15	20	-
Ααποσταγμένο H_2O	100	95	90	85	80	85
Ορός	-	-	-	-	-	15
Διάλυμα εργασίας	500	500	500	500	500	500
Ανάδευση και επώαση για 5 λεπτά στους 37 °C						
Απιονισμένο H_2O	500	500	500	500	500	500
Ανάδευση, μεταφορά 200 mL του μίγματος σε plate και φωτομέτρηση έναντι του						

τυφλού στα 510 nm.

(Όλοι οι όγκοι δηλώνονται σε mL)

(T : τυφλό δείγμα , S1, S2, S3, S4: πρότυπα δείγματα)

Για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν τουλάχιστον 2 μετρήσεις, ώστε η διαφορά μεταξύ τους να μην υπερβαίνει τον αριθμό 0,005.

5.10 Προσδιορισμός λιποειδικών υπεροξειδίων (TBARS)

Αντιδραστήρια

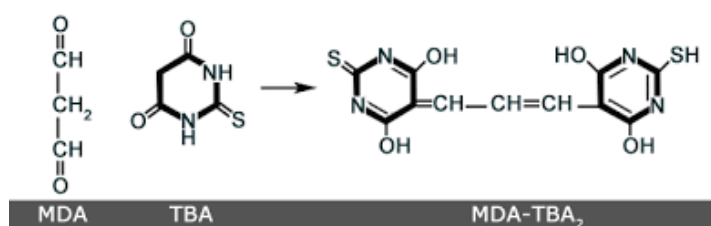
- φωσφορικό οξύ 0.2 M,
- διάλυμα BHT (5 mM : 0,0055 g σε 5 mL μεθανόλη) όπου παρασκευαζόταν εκ νέου πριν από κάθε μέτρηση,
- διάλυμα θειοβαρβιτουρικού οξέος TBA (0.11 M : 0,0793 g TBA σε 5 mL NaOH 0.1N , σε υδρόλουτρο 37 °C)
- αρχικό πρότυπο διάλυμα MDA 200 μM. 0.672 μL TMP υδρολύθηκαν σε 20 mL HCl 0.01 μM για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Από αυτό το διάλυμα δημιουργήσαμε 6 πρότυπα διαλύματα συγκεντρώσεων 0.1, 0.5, 1, 2, 2.5 και 3 μM σε τελικό όγκο 5 mL χρησιμοποιώντας αντίστοιχα 2.5, 12.5, 25, 50, 62.5, 75 μL διαλύματος.

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Κατά την διαδικασία του οξειδωτικού στρες παράγονται λιποειδικά υπεροξείδια τα οποία όμως είναι ασταθή και διασπώνται κυρίως σε αλδεΐδες (κυρίως μηλονυλοαλδεύδη και 4-υδροξυνονενάλη) και σε συζευγμένα διένια. Οι ουσίες αυτές αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ , προς παραγωγή thiobarbituric acid reactive substances, TBARS, τα οποία μπορούν να ανιχνευτούν φωτομετρικά στα 535 nm λόγω του ερυθρού τους χρώματος.

Για την ποσοτική έκφραση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιείτε πρότυπο διάλυμα μαλόνυλοαλδευδης για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mol μαλόνυλοαλδευδης/ mL ορού.

Όσο περισσότερα mol μαλόνυλοαλδευδης υπάρχουν στο δείγμα του ορού τόσο περισσότερα προϊόντα οξειδωτικού στρες υπάρχουν μέσα στο δείγμα.



Εικόνα 7 : παραγωγή TBARS

ΠΟΡΕΙΑ

Η μέθοδος περιλάμβανε την δημιουργία πρότυπης καμπύλης με 5 πρότυπα διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων MDA. Στο πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται οι ποσότητες των αντιδραστηρίων καθώς και τα βήματα της μεθόδου.

	T	S1	S2	S3	S4	S5	S6	Δείγμα εθελοντή
Φωσφορικό οξύ	200	200	200	200	200	200	200	200
BHT	25	25	25	25	25	25	25	25
Πρότυπο διάλυμα MDA	-	200	200	200	200	200	200	200
Ορός	-	-	-	-	-	-	-	100
Απιονισμένο H ₂ O	200	-	-	-	-	-	-	100
TBA	25	25	25	25	25	25	25	25
Ανάδευση και επώαση για 60 λεπτά στους 90 °C.								
Αμέσως μετά την θέρμανση τοποθέτηση των δειγμάτων για λίγα λεπτά σε ψύξη 4°C.								
Βουτανόλη	500	500	500	500	500	500	500	500
Ανάδευση, φυγοκέντρηση στις 1200 στροφές ανά λεπτό για 10 λεπτά στους 4 °C για να διαχωριστούν οι δύο φάσεις.								
Παραλαβή 450 μL της πάνω, βουτανολικής φάσης και ξανά φυγοκέντρηση στις 1200 στροφές ανά λεπτό για 10 λεπτά στους 4 °C σε νέο σωλήνα erpendorf.								
Μεταφορά 200 μL σε κυψελίδες plate και φωτομέτρηση στα 535 nm.								

(Όλοι οι όγκοι δηλώνονται σε mL)

(T :τυφλό δείγμα , S1, S2, S3, S4: πρότυπα δείγματα)

Για κάθε δείγμα έγιναν τουλάχιστον 2 επαναληπτικές μετρήσεις.

5.11 Προσδιορισμός Υπεροξειδάσης της Γλουταθειόνης (GPx)

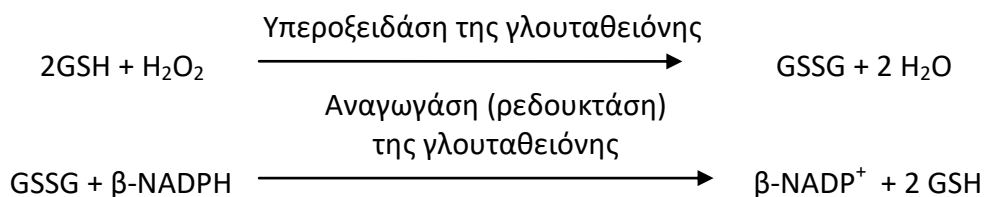
ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 50 mM με EDTA 0.4 mM, Sodium Azide 1 mM pH 7.0 (PBS/EDTA/Sodium Azide) : 3.45 g NaH₂PO₄•H₂O και 0.08325 g EDTA, 0.032 g NaN₃ σε 500mL απεσταγμένο νερό. Ρύθμιση pH με NaOH 1M.
- Διάλυμα αναγωγάσης της γλουταθειόνης 100 U/ mL (GR) : Αραίωση stock διαλύματος αναγωγάσης σε παγωμένο απεσταγμένο νερό.

- Διάλυμα ανηγμένης γλουταθειόνης 200 mM (GSH) : 0,0615 g σε 1 mL απεσταγμένο νερό.
- Διάλυμα H_2O_2 0,0084% : 1,12 μ L διαλύματος H_2O_2 από stock διάλυμα (30 %) και 3999 μ L απεσταγμένο νερό.

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η ανηγμένη μορφή της γλουταθειόνης έχει την δυνατότητα να αντιδρά με υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) παρουσία του ενζύμου υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx), το οποίο υπάρχει στον ορό των εθελοντών, προς παραγωγή οξειδωμένης γλουταθειόνης και νερού. Η οξειδωμένη γλουταθειόνη με την σειρά της μπορεί να αντιδράσει με NADPH παρουσία αναγωγάσης της γλουταθειόνης προς παραγωγή $NADP^+$ και ανηγμένης γλουταθειόνης ξανά. Το NADPH έχει την δυνατότητα να απορροφά ακτινοβολία στα 340 nm και έτσι μελετώντας την μείωση της απορρόφησης κατά την διάρκεια της αντίδρασης, μπορούμε να προσδιορίσουμε την μείωση της συγκέντρωσής του NADPH, την μείωση της συγκέντρωσης της οξειδωμένης γλουταθειόνης άρα και την ποσότητα της και τελικά την δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης.



ΜΕΘΟΔΟΣ

Η GPx μετρήθηκε σε δείγματα ορού με την χρήση των εξής διαλυμάτων : ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 50mM με EDTA 0,4 mM Sodium Azide 1mM pH 0,7 (PBT/EDTA/Sodium Azide), διάλυμα αναγωγάσης της γλουταθειόνης 100 U/mL (GR), διάλυμα ανηγμένης γλουταθειόνης 200mM (GSH), διάλυμα H_2O_2 0,00084% (H_2O_2).

Πριν την έναρξη της μέτρησης προετοιμάστηκε το μίγμα αντίδρασης σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα.

PBS/ Sodium Azide	8340 mL
GR	15 mL
GSH	50 mL
NADPH	100 mL

Στην συνέχεια έγινε προσθήκη των αντιδραστηρίων στις θέσεις των plates και ακολουθήθηκαν τα βήματα σύμφωνα με τον πίνακα.

	Τυφλό	Δείγμα εθελοντή
Διαλύτης διαλύματος GPx (απιονισμένο νερό)	50	20

Διάλυμα GPX (ορός)		
Μίγμα αντίδρασης	180	180
	-	30
Ανάμιξη με tir και παραμονή 1 λεπτό σε θερμοκρασία δωματίου.		
Διάλυμα H ₂ O ₂	25	25
Μέτρηση απορρόφησης στα 340nm για 5λεπτά συνεχόμενα ανά 1 λεπτό.		

(Όλοι οι όγκοι δηλώνονται σε mL)

Για να υπολογίσουμε τη δραστικότητα του ενζύμου χρησιμοποιήσαμε τον εξής τύπο :

$$\text{Units/ mL παρασκευάσματος} = \frac{((\Delta A \text{ δείγματος}) / \text{λεπτό}) - (\Delta A \text{ τυφλού}) / \text{λεπτό}}{(5,60 * 0,03)} * 2 * 0,255$$

όπου:

2 : τα 2 moles της GHS που παράγονται για κάθε mole NADPH που οξειδώνεται.

0,255 : ο τελικός όγκος του διαλύματος σε mL.

5,60 : ε, ο συντελεστής μοριακής απορροφητικότητας του NADPH στα 340 nm και για 0,0255 mL (μήκος οπτικής διαδρομής = 0,9 cm).

0,03 : ο όγκος του διαλύματος της GPx (ορός) που χρησιμοποιήσαμε.

5.12 Στατιστική ανάλυση

Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό SPSS 18.0 για τα Windows. Η κανονικότητα των ποσοτικών μεταβλητών αξιολογήθηκε με το στατιστικό τεστ Kolmogorov-Smirnov. Στα κανονικά μεγέθη χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο one way ANOVA ενώ στα μη κανονικά το kruskal walls για τον έλεγχο του baseline. Επιπλέον στα κανονικά μεγέθη εφαρμόσαμε και το κριτήριο Repeated Measure ANOVA. Για να ελέγξουμε εάν υπάρχουν πιθανές συσχετίσεις προσδιορίσαμε τον συντελεστή γραμμικής συσχέτισης Pearson. Σε όλες τις αναλύσεις ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (p-value) ορίστηκε το 5% (0.05).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.1 Εθελοντές

Στην μελέτη, έως την χρονική περίοδο που ολοκληρώθηκε αυτή η πτυχιακή εργασία, είχαν συμμετάσχει 53 εθελοντές οι οποίοι χωρίστηκαν σε 3 ομάδες, μία ομάδα control, μία ομάδα παρέμβασης με κρασί και μία ομάδα παρέμβασης με τσίπουρο. Η κατανομή των εθελοντών στις ομάδες έγινε με τυχαιοποίηση λαμβάνοντας υπόψη την ηλικία και το Δείκτη Μάζας Σώματος των εθελοντών. Στην ομάδα αναφοράς υπήρχαν 19 εθελοντές και από αυτούς, 2 ήταν drop outs. Στην ομάδα του κρασιού υπήρχαν 20 εθελοντές και από αυτούς, 3 ήταν drop outs, ενώ στην ομάδα του τσίπουρου υπήρχαν 14 εθελοντές και από αυτούς, 2 ήταν drop outs. Τελικά το σύνολο των εθελοντών σε κάθε ομάδα ήταν το εξής : 17 στην ομάδα αναφοράς, 17 στην ομάδα του κρασιού και 12 στην ομάδα του τσίπουρου.

6.2 Βασικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στην έναρξη της μελέτης

Πίνακας 6.1 : Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στην έναρξη της μελέτης

	ΟΜΑΔΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	ΚΡΑΣΙ	ΤΣΙΠΟΥΡΟ	P
Ηλικία (έτη)	63,8 ± 11,7	59,2 ± 12,0	61,9 ± 13,1	0,5
Ύψος (m)	1,72 ± 0,06	1,71 ± 0,07	1,72 ± 0,07	0,9
Σωματικό Βάρος (Kg)	95,2 ± 19,4	85,4 ± 12,3	86,9 ± 17,8	0,1
ΔΜΣ (kg/m ²)	31,9 ± 5,6	28,9 ± 3,9	29,2 ± 4,9	0,1
Κάπνισμα	16,8 %	40 %	57,1 %	0,04

Παρατηρούμε (Πίνακας 6.1) πως δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 ομάδων για τις μεταβλητές ηλικία, ύψος, σωματικό βάρος και δείκτη μάζας σώματος ($P > 0,05$). Αλλά παρατηρούμε επίσης ότι το P για την παράμετρο του καπνίσματος είναι μικρότερο του 0,05 (0,044) γεγονός που δηλώνει ότι υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 ομάδων όσον αφορά την μεταβλητή αυτή. Ελπίζουμε πως μετά την ολοκλήρωση της μελέτης αυτό θα έχει αλλάξει.

Πίνακας 6.2 : Γενικές εξετάσεις των εθελοντών στην έναρξη της μελέτης (αρτηριακή πίεση και υποκυτταρικός πληθυσμός)

	ΟΜΑΔΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	ΚΡΑΣΙ	ΤΣΙΠΟΥΡΟ	P
--	---------------------------	--------------	-----------------	----------

Διαστολική Πίεση (mmHg)	130,5±17,7	139,6±16,7	145,3±15,9	0,05
Συστολική Πίεση (mmHg)	71,5 ±7,6	77,1 ± 13,6	77,4 ± 11,6	0,2
Λευκά Αιμοσφαίρια (10^3 /μL)	7,5 ±1,8	6,67 ± 2,43	7,3±2,6	0,4
Λεμφοκύτταρα (10^3 /μL)	1,9±0,7	2,0±0,8	2,1±0,7	0,8
Μονοκύτταρα, Βασεόφιλα και Ηωσινόφιλα (10^3 /μL)	0,5±0,2	0,4±0,3	0,5±0,4	0,6
Πολυμορφοπύρρηνα Λευκοκύτταρα (10^3 /μL)	5,0±1,4	4,2±1,5	4,7±1,5	0,2
Αιμοσφαιρίνη (g/dL)	13,7±1,7	14,4±1,3	14,7±1,3	0,2
Ερυθρά Αιμοσφαίρια (10^6 /μL)	4,5 ±0,8	4,8±0,4	4,8±0,4	0,3
Αιματοκρίτης (%)	41,3±5,1	43,2±4,0	44,1±4,1	0,2
Αιμοπετάλια (10^3 /μL)	265,0 ±91,8	230,2±44,9	232,6±40,7	0,2

Όσον αφορά τους δείκτες της αρτηριακής πίεσης και του υποκυτταρικού πληθυσμού των εθελοντών στην έναρξη της μελέτης, παρατηρούμε (Πίνακας 6.2) πως δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 ομάδων σε κανένα δείκτη καθώς σε όλους υπάρχει $P > 0,05$. Εξαιρέση αποτελεί η διαστολική πίεση, στη οποία παρατηρείται μια μικρή διαφοροποίηση, όμως όχι σημαντική ($P=0,05$)

Πίνακας 6.3 : Κλασικοί βιοχημικοί δείκτες των εθελοντών στην έναρξη της μελέτης

	ΟΜΑΔΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	ΚΡΑΣΙ	ΤΣΙΠΟΥΡΟ	P
Γλυκόζη (mg/dL)	104,5±12,9	131,7±44,3	123,4±25,9	0,1
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	133,2±76,0	145,8±86,7	195,9±82,1	0,5
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	157,5±40,92	175,2±31,8	171,3±46,1	0,5
HDL χοληστερόλη (mg/dL)	42,0±8,7	46,7±13,9	43,6±8,2	0,6
LDL χοληστερόλη (mg/dL)	88,8± 36,1	99,3±33,2	88,5±20,3	0,6
Ινσουλίνη (μU/L)	15,9±9,0	11,7±7,4	11,5±6,3	0,3

Όσον αφορά τις τιμές των κλασικών βιοχημικών δεικτών των εθελοντών στην έναρξη της μελέτης, παρατηρούμε (Πίνακας 6.3) πως και πάλι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 ομάδων σε κανένα δείκτη καθώς σε όλους υπάρχει $P > 0,05$.

6.3 Δείκτες οξειδωτικού στρες για τους εθελοντές στην έναρξη της μελέτης

Πριν προχωρήσουμε στην στατιστική ανάλυση των δεικτών οξειδωτικού στρες που μετρήθηκαν, ελέγχθηκε πρώτα το εάν αυτοί ακολουθούν την κανονική κατανομή, εφαρμόζοντας το test Kolmogorov - Smirnov. Βρέθηκε, όπως φαίνεται και στον πίνακα 6.4, πως τα μεγέθη είναι κανονικά ($P > 0,05$) γεγονός που μας επέτρεψε να εφαρμόσουμε στη συνέχεια Repeated Measures ANOVA.

Πίνακας 6.4 : Αποτελέσματα test Kolmogorov - Smirnov

	P (0 Εβδ. Παρέμβασης)	P (4 Εβδ. Παρέμβασης)	P (8Εβδ. Παρέμβασης)
Ουρικό οξύ (mg/dL)	0,4	0,8	0,8
GPx (U/mL)	0,5	0,9	0,9
TBARS ($\mu\text{mol/L}$)	0,6	0,5	0,9

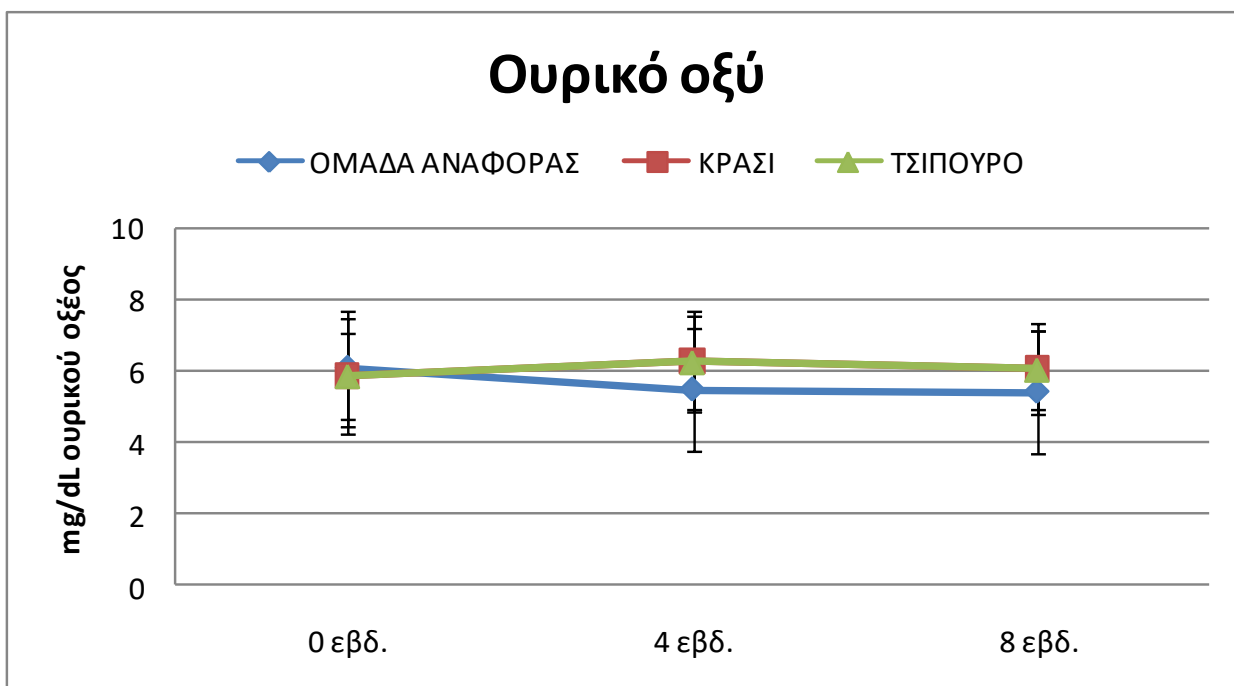
Πίνακας 6.5 : Δείκτες οξειδωτικού στρες των εθελοντών στην έναρξη της παρέμβασης

	ΟΜΑΔΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	ΚΡΑΣΙ	ΤΣΙΠΟΥΡΟ	P
Ουρικό Οξύ(mg/dL)	6,4 $\pm$ 1,9	5,7 $\pm$ 1,2	5,8 $\pm$ 1,4	0,3
GPx (U/ml)	0,1 $\pm$ 0,02	0,01 $\pm$ 0,01	0,1 $\pm$ 0,03	0,9
TBARS ($\mu\text{mol/L}$)	1,6 $\pm$ 0,5	1,7 $\pm$ 0,5	1,6 $\pm$ 0,4	0,8

Όσον αφορά, λοιπόν, τις τιμές των δεικτών οξειδωτικού στρες που μετρήθηκαν στους εθελοντές στην έναρξη της μελέτης, παρατηρούμε (Πίνακας 6.5) πως και πάλι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των 3 ομάδων σε κανένα δείκτη καθώς σε όλους υπάρχει $P > 0,05$.

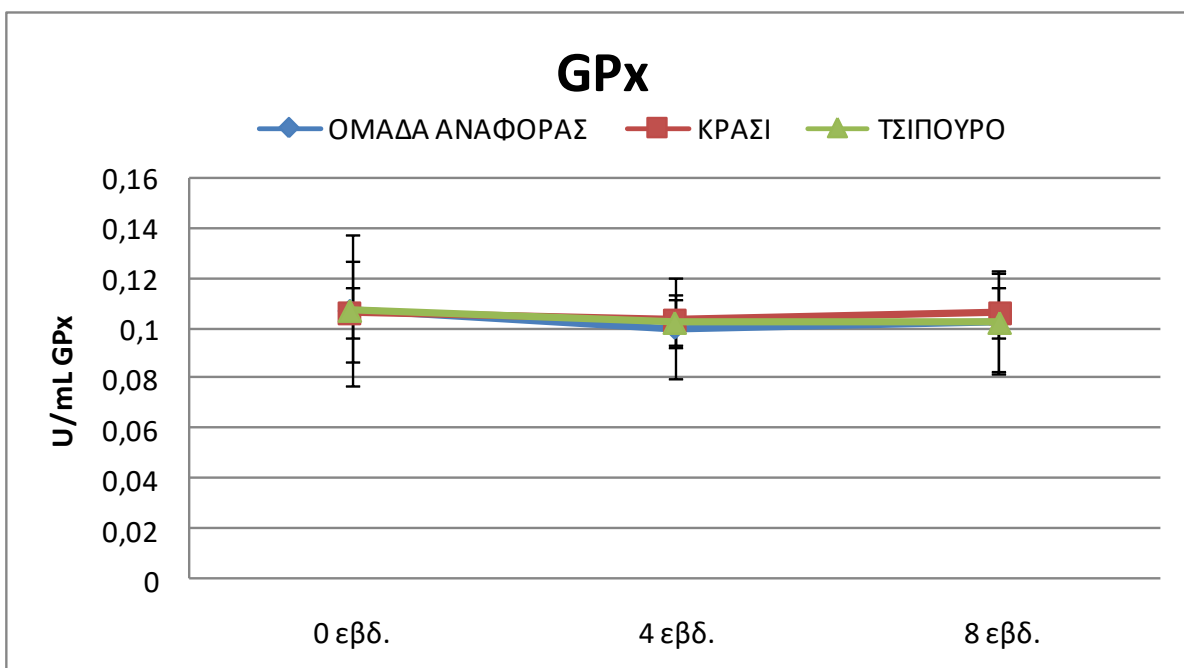
Πίνακας 6.6 : Δείκτες οξειδωτικού στρες των εθελοντών στις 3 διαφορετικές χρονικές στιγμές της παρέμβασης

	Εβδομάδες παρέμβασης	ΟΜΑΔΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	ΚΡΑΣΙ	ΤΣΙΠΟΥΡΟ	P	
Ουρικό οξύ (mg/dL)	0	6,1 $\pm$ 1,6	5,9 $\pm$ 1,2	5,8 $\pm$ 1,6	P _{trial}	0,6
	4	5,5 $\pm$ 1,7	6,284 $\pm$ 1,4	6,2 $\pm$ 1,3	P _{time}	0,5
	8	5,4 $\pm$ 1,7	6,1 $\pm$ 1,3	6,0 $\pm$ 1,1	P _{time*trial}	0,03
GPx (U/mL)	0	0,107 $\pm$ 0,02	0,106 $\pm$ 0,01	0,107 $\pm$ 0,03	P _{trial}	0,9
	4	0,100 $\pm$ 0,02	0,103 $\pm$ 0,01	0,102 $\pm$ 0,01	P _{time}	0,09
	8	0,103 $\pm$ 0,02	0,106 $\pm$ 0,01	0,102 $\pm$ 0,02	P _{time*trial}	0,8
TBARS ($\mu\text{mol/L}$)	0	1,5 $\pm$ 0,4	1,6 $\pm$ 0,4	1,6 $\pm$ 0,4	P _{trial}	0,8
	4	1,6 $\pm$ 0,5	1,5 $\pm$ 0,5	1,7 $\pm$ 0,3	P _{time}	0,4
	8	1,6 $\pm$ 0,5	1,5 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,5	P _{time*trial}	0,8



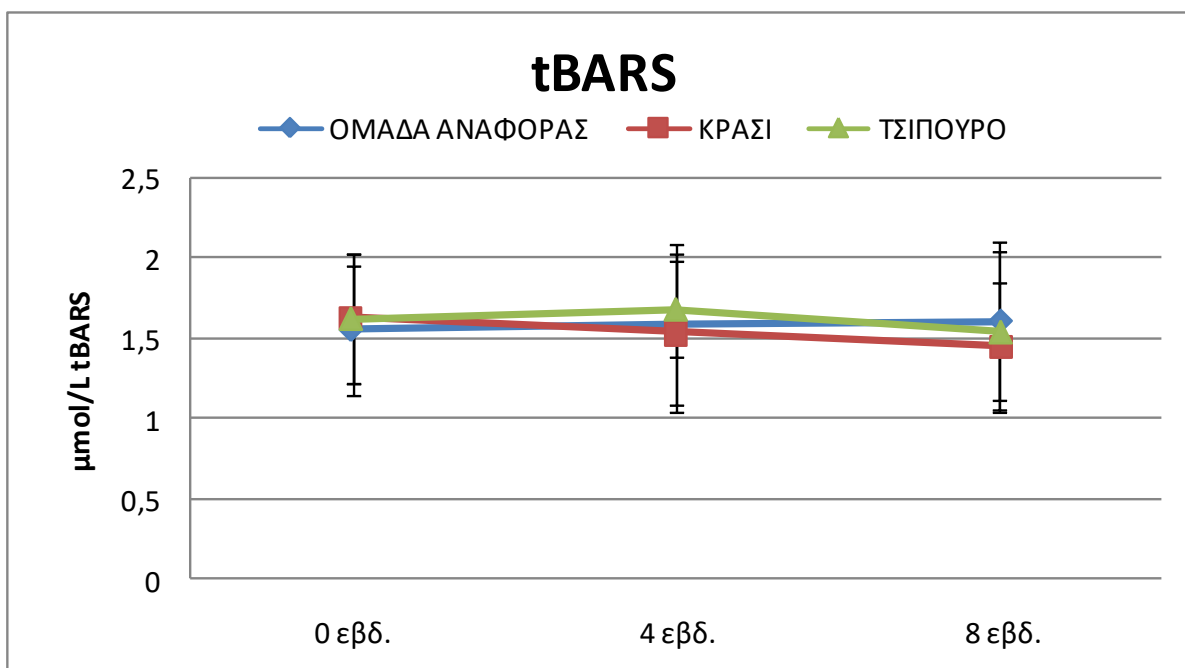
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.1 : Η επίδραση της παρέμβασης στα επίπεδα ουρικού οξέος των εθελοντών.

Όσον αφορά το ουρικό οξύ και τη μεταβολή των επιπέδων αυτού κατά την παρέμβαση παρατηρούμε σύμφωνα με τον πίνακα 6.6 και το διάγραμμα 6.1 πως δεν υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση στον χρόνο ανεξάρτητα με το είδος της παρέμβασης ($P_{\text{trial}}=0,6$). Επιπλέον δεν παρατηρείται ούτε κάποια σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των παρεμβάσεων ανεξαρτήτως του χρόνου ($P_{\text{time}}=0,5$). Όμως βλέπουμε πως υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση στα επίπεδα του ουρικού οξέος όταν αλληλεπιδρούν ο χρόνος και το είδος της παρέμβασης ταυτόχρονα ($P_{\text{time*trial}}=0,03$). Αυτή η σημαντική διαφοροποίηση φαίνεται και στο διάγραμμα 6.1, καθώς η τάση μεταβολής της ομάδας αναφοράς διαφέρει από τις τάσεις μεταβολής των αλκοολούχων ποτών.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.2 : Η επίδραση της παρέμβασης στην δραστικότητα του ενζύμου GPx στον ορό των εθελοντών.

Όσον αφορά την GPx και τη μεταβολή της δραστικότητας της, παρατηρούμε σύμφωνα με τον πίνακα 6.6 και το διάγραμμα 6.2 πως δεν υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση στον χρόνο ανεξάρτητα με το είδος της παρέμβασης ($P_{\text{trial}}=0,9$). Παρατηρείται μια τάση διαφοροποίησης μεταξύ των παρεμβάσεων ανεξαρτήτως του χρόνου, η οποία όμως δεν θεωρείται σημαντική ($P_{\text{time}}=0,09$). Τέλος βλέπουμε πως δεν υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση στην δραστικότητα της GPx, ούτε όταν αλληλεπιδρούν ο χρόνος και το είδος της παρέμβασης ταυτόχρονα ($P_{\text{time*trial}}=0,8$). Αυτή η μη σημαντική διαφοροποίηση φαίνεται και στο διάγραμμα 6.2, καθώς η τάση μεταβολής και των τριών ομάδων παρέμβασης στον χρόνο είναι όμοια.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.3 : Η επίδραση της παρέμβασης στα επίπεδα των TBARS των εθελοντών.

Όσον αφορά τα TBARS και τη μεταβολή των επιπέδων τους, παρατηρούμε σύμφωνα με τον πίνακα 6.6 και το διάγραμμα 6.3 πως δεν υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση στον χρόνο ανεξάρτητα με το είδος της παρέμβασης ($P_{\text{trial}} > 0,05$). Επιπλέον δεν παρατηρείται ούτε κάποια σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των παρεμβάσεων ανεξαρτήτως του χρόνου ($P_{\text{time}} > 0,05$). Τέλος βλέπουμε πως δεν υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση στα επίπεδα των TBARS, ούτε όταν αλληλεπιδρούν ο χρόνος και το είδος της παρέμβασης ταυτόχρονα ($P_{\text{time*trial}} > 0,05$). Αυτή η μη σημαντική διαφοροποίηση φαίνεται και στο διάγραμμα 6.3, καθώς η τάση μεταβολής και των τριών ομάδων παρέμβασης στον χρόνο είναι όμοια.

6.4 Συσχετίσεις με τους δείκτες οξειδωτικού στρες

Μετά από την μελέτη της συσχέτισης των δεικτών οξειδωτικού στρες που μετρήθηκαν (ουρικό οξύ, GPx, TBARS) με τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, τους βασικούς βιοχημικούς δείκτες, την αρτηριακή πίεση και τους υποκυτταρικούς δείκτες της γενικής αίματος των εθελοντών βρέθηκε πώς υπάρχουν κάποιες συσχετίσεις αυτών με τους δείκτες οξειδωτικού στρες. Για να δούμε εάν υπάρχουν πιθανές συσχετίσεις προσδιορίσαμε τον συντελεστή γραμμικής συσχέτισης Pearson, αφού έχουμε ήδη ελέγξει ότι τα μεγέθη ακολουθούν κανονική κατανομή. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται και στον πίνακα 6.7 που ακολουθεί, αρχικά φαίνεται πως υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του ουρικού οξέος και της GPx ορού ($r = -0,0378$, $p = 0,005$), άρα όσο αυξάνεται το ουρικό οξύ στον ορό, φαίνεται να μειώνεται η δραστηριότητα της GPx. Επιπλέον αρνητική συσχέτιση παρουσιάζεται μεταξύ του ουρικού οξέος και της αιμοσφαιρίνης ($r = -0,254$, $p = 0,06$) αλλά και μεταξύ του ουρικού οξέος και του

αιματοκρίτη των εθελοντών ($r=-0,252$, $p= 0,06$). Το ουρικό οξύ παρουσιάζει επίσης και μια θετική συσχέτιση με τον ΔΜΣ ($r=0,370$, $p=0,006$). Θετική συσχέτιση φαίνεται πως υπάρχει μεταξύ της GPx και της αιμοσφαιρίνης ($r=0,408$, $p=0,002$) καθώς και μεταξύ της GPx και του αιματοκρίτη ($r=0,404$, $p=0,003$). Τέλος παρατηρήθηκε μια τάση θετικής συσχέτισης μεταξύ της GPx και της διαστολικής πίεσης ($r=0,27$, $p=0,05$). Δεν φάνηκε να υπάρχει κάποια σημαντική συσχέτιση των TBARS με του δείκτες που μετρήθηκαν.

Πινάκας 6.7 : Συσχέτιση των δεικτών οξειδωτικού στρες με τα βασικά χαρακτηριστικά και τους βασικούς βιοχημικούς δείκτες των εθελοντών.

	Ουρικό οξύ		GPx ορού	
	r	p	r	p
ΔΜΣ	0,370	0,006	-0,061	0,6
Ουρικό οξύ	1		-0,378	0,005
Συστολική πίεση	-0,114	0,4	0,27	0,05
Αιμοσφαιρίνη	-0,254	0,06	0,408	0,002
Αιματοκρίτης	-0,252	0,06	0,404	0,003

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 : ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η βιβλιογραφία μας έχει δείξει πως η μακροχρόνια κατανάλωση κρασιού φαίνεται να έχει επίδραση στα επίπεδα οξειδωτικού στρες στον ανθρώπινο οργανισμό. Η πλειοψηφία όμως των ερευνών που έχουν ασχοληθεί με το θέμα αφορά υγιή πληθυσμό, και μικρός αριθμός αυτών παθολογικό πληθυσμό.

Στην παρούσα μελέτη στόχος μας ήταν να ερευνήσουμε την επίδραση που έχει η συστηματική κατανάλωση μέτριας προς ελαφριάς ποσότητας κρασιού σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Το κρασί που χρησιμοποιήθηκε είχε πιστοποιηθεί *in vitro* ότι περιέχει αναστολείς του PAF με αντι-αιμοπεταλιακή δράση καθώς και έντονη αντι-οξειδωτική δράση ((169), (169), (171)). Επιπλέον σε κλινική παρέμβαση σε υγιείς εθελοντές φάνηκε ότι κατανάλωση του μειώνει μεταγευματικά την ικανότητα των αιμοπεταλίων για συσώρευση έναντι του PAF καθώς και την δραστικότητα των βιοσυνθετικών ενζύμων του PAF στα λευκοκύτταρα των εθελοντών (36). Επομένως το επόμενο βήμα ήταν να εξετάσουμε την επίδραση της μακροχρόνιας κατανάλωσης του κρασιού στους παραπάνω βιοχημικούς δείκτες.

Στην συγκεκριμένη πτυχιακή στόχος ήταν η αντιοξειδωτική δράση της μακροχρόνιας ελαφριάς προς μέτριας κατανάλωσης κρασιού, σε ασθενείς με υπάρχουσα, διαγνωσμένη στεφανιαία νόσο. Στις περισσότερες έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί έχει χρησιμοποιηθεί πληθυσμός μέσης ηλικίας (50 - 55 έτη) ενώ υπάρχουν και κάποιες που χρησιμοποίησαν πιο νεαρό πληθυσμό ($\approx$ 30 έτη). Όσον αφορά το φύλο των εθελοντών δεν υπάρχει κάποια προτίμηση καθώς υπάρχουν έρευνες με αποκλειστικά ανδρικό, αποκλειστικά θηλυκό ή και πληθυσμό και των δύο φύλων. Εμείς στην έρευνα μας προτιμήσαμε να χρησιμοποιήσουμε άνδρες εθελοντές, με ένα μεγάλο εύρος ηλικίας από 36 έως και 81, με μέσο όρο τα 61 έτη. Στις έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί έως τώρα έχουν χρησιμοποιηθεί πλήθος διαφορετικών ομάδων αναφοράς όπως κόκκινο κρασί από το οποίο έχει απομακρυνθεί η αλκοόλη, κάψουλες με εκχύλισμα πολυφαινόλων κόκκινου κρασιού, νερό, μπύρα ή άλλα αλκοολούχα ποτά ή πλήρης αποχή από οποιοδήποτε αλκοολούχο ποτό. Στην έρευνα που πραγματοποιήσαμε, επιλέξαμε να δημιουργήσουμε 2 ομάδες αναφοράς, μία που απείχε από την κατανάλωση αλκοολούχων ποτών και μία που κατανάλωνε τσίπουρο, ως αλκοολούχο ποτό το οποίο δεν περιέχει τα βιοδραστικά συστατικά του κρασιού. Επιπλέον το χρονικό διάστημα που διαρκούν οι παρεμβάσεις είναι από 2 έως και 6 εβδομάδες με τους εθελοντές να καταναλώνουν σε καθημερινή βάση από 250 έως και 450 mL κρασιού ή άλλου ποτού, ενώ εμείς στην μελέτη μας εφαρμόσαμε την παρέμβαση μας για περισσότερες εβδομάδες (8 εβδομάδες) και χορηγήσαμε

200 ml κόκκινου κρασιού και 65 ml τσίπουρου καθημερινά , και τούτο διότι ο πληθυσμός μας είναι ασθενής και έπρεπε να χορηγήσουμε τα αλκοολούχα ποτά σε ποσότητες που είναι σύμφωνες με τις αντίστοιχες κατευθυντήριες οδηγίες για ασθενείς με στεφανιαία νόσο.

Επειδή υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός δεικτών οξειδωτικού στρες που μπορούμε να μετρήσουμε στον ανθρώπινο οργανισμό οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί μετρούν πολλούς και διαφορετικούς δείκτες, με αποτέλεσμα να είναι λίγες εκείνες που έχουν μετρήσει όπως και εμείς τα επίπεδα του ουρικού οξέος και των TBARS ή την δραστικότητα της GPx του ορού. Στην μελέτη που πραγματοποιήσαμε δεν παρατηρήσαμε κάποια σημαντική μεταβολή στους δείκτες αυτούς μετά την κατανάλωση κρασιού ή τσίπουρου για 8 εβδομάδες σε σχέση με την ομάδα αναφοράς με αποχή από το αλκοόλ. Υπάρχουν όμως έρευνες με σημαντικά αποτελέσματα όπως του Radji (254) , στην οποία συμμετείχαν 42 υγιείς εθελοντές με μέσο όρο ηλικία 42 έτη, στους οποίους χορηγήθηκε λευκό κρασί για 4 εβδομάδες και δεν υπήρχε ομάδα ελέγχου, που έδειξε την μείωση των TBARS και την αύξηση της GPx. Επιπλέον ο Addolorato (256) , στην έρευνα του οποίου συμμετείχαν 40 μη καπνιστές που κατανάλωναν κόκκινο κρασί ή αλκοολούχο ποτό ή μπύρα ή πραγματοποιούσαν αποχή για 30 ημέρες, που έδειξε ότι η κατανάλωση κρασιού οδηγεί στην αύξηση της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού. Η Tsang (213) , στην μελέτη της οποία συμμετείχαν 20 μη καπνιστές, ηλικία 23 έως 50 ετών, στους οποίους χορηγήθηκε κόκκινο κρασί ή νερό για διάστημα 2 εβδομάδων, που έδειξε μείωση των TBARS και πως η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού δεν μεταβάλλεται λόγω της κατανάλωσης κρασιού. Στην έρευνα του, ο Avellone (245) , ο οποίος χρησιμοποίησε 30 υγιείς μη καπνιστές ηλικίας 35 έως 65 ετών και τους χορήγησε κόκκινο ή λευκό κρασί ή κάψουλα με εκχύλισμα πολυφαινόλων ή λευκό κρασί με εκχύλισμα πολυφαινόλων ή αιθανόλη για 2 εβδομάδες, δεν παρατήρησε σημαντική μεταβολή των TBARS πέραν της αύξηση τους μετά την κατανάλωση λευκού κρασιού και αιθανόλης. Ο Mezzano (247) στην έρευνα που πραγματοποίησε με 40 υγιείς εθελοντές στους οποίους χορήγησε κόκκινο κρασί ή αποχή από το αλκοόλ για 2 εβδομάδες, βρήκε σημαντική μείωση του MDA μετά την πρόσληψη κόκκινου κρασιού και τέλος ο Van Colde (248) στην έρευνα του με 40 υγιείς μη καπνιστές ,οι οποίοι κατανάλωναν για 30 ημέρες κόκκινο κρασί ή μπύρα ή αλκοολούχο ποτό ή αποχή από το αλκοόλ, παρατήρησε την αύξηση των MDA σε όλες τις ομάδες εκτός εκείνης που απέχετο από το αλκοόλ. Όλες οι παραπάνω έρευνες με τις σημαντικές μεταβολές σε δείκτες που μετρήθηκαν και από εμάς είχαν υγιή πληθυσμό και φαίνεται πως μελέτες με παθολογικό πληθυσμό , όπως και η δικιά μας, δεν έχουν δείξει σημαντικές μεταβολές στους δείκτες οξειδωτικού στρες που έχουμε μετρήσει και εμείς.

Όσον αφορά τις συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν αξίζει να σχολιάσουμε την αρνητική συσχέτιση μεταξύ του ουρικού οξέος και της GPx. Το αποτέλεσμα αυτό σημαίνει πως η μείωση του ουρικού οξέος, φαίνεται να αυξάνει την δραστικότητα του ενζύμου GPx. Το ουρικό οξύ αποτελεί ένα ενδογενές αντιοξειδωτικό το οποίο έχει ευεργετική δράση στον οργανισμό όταν βρίσκεται σε φυσιολογικά επίπεδα όμως υπάρχουν και μελέτες που υποστηρίζουν πως διαθέτει μια διττή φύση καθώς σε μεγάλες συγκεντρώσεις μπορεί να δράσει και ως προ-οξειδωτικό παράγοντας εντείνοντας έτσι την ζημιογόνο δράση του οξειδωτικού στρες και προκαλώντας καρδιαγγειακά και άλλα προβλήματα ((263) (264) (265)). Το φαινόμενο αυτό χαρακτηρίζεται ως το παράδοξο του ουρικού οξέως. Παρατηρούμε όμως πως η μεταβολή των επιπέδων του ουρικού οξέος που είδαμε στους εθελοντές μας είναι εντός των φυσιολογικών τιμών (3,5- 7,2 mg/dL), και έτσι δεν μπορούμε να πούμε πως τα επίπεδα του αυξήθηκαν τόσο ώστε ενδεχομένως να έδρασε ή όχι ως προ-οξειδωτικός παράγοντας. Επίσης δεν υπάρχει μια συγκεκριμένη άποψη για το πως η μείωση του οξειδωτικού στρες, άρα η αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας ενός οργανισμού, επηρεάζει την δραστικότητα της GPx καθώς υπάρχουν ερευνητές που υποστηρίζουν πως η μείωση του οξειδωτικού στρες οδηγεί σε μείωση της δραστικότητας της GPx, αφού έχουν μειωθεί οι ρίζες που εκείνη πρέπει να εξουδετερώνει, αλλά υπάρχουν και άλλοι ερευνητές που υποστηρίζουν πως πρέπει τα επίπεδα της να είναι αυξημένα ώστε να είναι σε θέση να εξουδετερώνει γρήγορα τις ελεύθερες ρίζες που μπορεί να υπάρχουν στον ανθρώπινο οργανισμό. Συνοψίζοντας τα παραπάνω μια πιθανή εξήγηση είναι ότι το αυξημένο οξειδωτικό στρες οδηγεί σε μείωση των επιπέδων του ουρικού οξέως το οποίο δρα ως ενδογενές αντι-οξειδωτικό και παράλληλα σε αύξηση της δραστικότητας της GPx για να εξουδετερωθούν οι ελεύθερες ρίζες.

Επιπλέον παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ του ουρικού οξέος και του αιματοκρίτη και της αιμοσφαιρίνης των εθελοντών. Πλήθος, όμως, ερευνών έχουν δείξει αντίθετα αποτελέσματα για την σχέση ουρικού οξέος με αιματοκρίτη και αιμοσφαιρίνη, υποστηρίζοντας ότι η αύξηση του αιματοκρίτη και της αιμοσφαιρίνης αυξάνει τα επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό ((266), (267), (268)). Ένας πιθανός μηχανισμός που εξηγεί αυτό το φαινόμενο είναι πως η αύξηση του αιματοκρίτη και της αιμοσφαιρίνης οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους του αίματος, άρα μειώνεται η οξυγόνωση και η αιματική ροή με αποτέλεσμα η αντίσταση στην ινσουλίνη και την αυξημένη επαναρρόφηση του ουρικού οξέος στα νεφρά. (269). Όσον αφορά την θετική συσχέτιση που φαίνεται να υπάρχει μεταξύ της δραστικότητας της GPx και του αιματοκρίτη και της αιμοσφαιρίνης, δεν υπάρχουν έρευνες που να υποστηρίζουν ή όχι αυτή την συσχέτιση. Το ίδιο συμβαίνει και για την συσχέτιση μεταξύ της GPx και της συστολικής πίεσης. Τέλος η

θετική συσχέτιση που φάνηκε να υπάρχει μεταξύ ουρικού οξέος και Δείκτη Μάζας Σώματος είναι σύμφωνη και με άλλες έρευνες που υποστηρίζουν την σχέση αυτή ((270), (271), (272), (273)).

Συμπερασματικά η κατανάλωση κρασιού για 8 εβδομάδες δεν επηρέασε τους μετρούμενους δείκτες οξειδωτικού στρες σε άνδρες με εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο. Για να εξαχθούν όμως ασφαλή συμπεράσματα θα πρέπει να ολοκληρωθεί η μελέτη και να μετρηθούν και περισσότεροι δείκτες οξειδωτικού στρες.

Βιβλιογραφία

1. **Halliwell, B.** Antioxidant defense mechanisms: From the beginning to the end. *Free Radical Research*. 1999, σσ. 31:261–272.
2. **Γιαννακοπούλου, Ε.** Οξειδωτικό Stress - Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί Κλινική Σημασία. *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής*. 2009, σσ. 26(Ι):23-35.
3. **Cadenas, E και Sies, H.** The lag phase. *Free Radic Res*. Jun 1998, σσ. 28(6):601-9.
4. **Valko, M., και συν.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160. 2006, σσ. 1–40.
5. **Liochev, S.I. και Fridovich, I.** Copper, zinc superoxide dismutase and H₂O₂. Effects of bicarbonate on inactivation and oxidations of NADPH and urate, and on consumption of H₂O₂. *J Biol Chem*. Sep 20 2002, σσ. 277(38):34674-8.
6. **Paston, N, και συν.** A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding. *J Mol Biol*. Nov 2000, σσ. 17;304(1):55-68.
7. **Cabantchik, ZI, και συν.** Intracellular and extracellular labile iron pools. *Adv Exp Med Biol*. 2002, σσ. 509:55-75.
8. **Aikens, J και Dix, TA.** Perhydroxyl radical (HOO.) initiated lipid peroxidation. The role of fatty acid hydroperoxides. *J Biol Chem*. Aug 1991, σσ. 15;266(23):15091-8.
9. **Bergendi, L, και συν.** Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sci*. 1999, σσ. 65(18-19):1865-74.
10. **Ghafourifar, P και Cadenas, E.** Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol Sci*. Apr 2005, σσ. 26(4):190-5.
11. **Fang, YZ, Yang, S και Wu, G.** Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. Oct 2002, σσ. 18(10):872-9.
12. **Czerska, M, και συν.** Today's oxidative stress markers. *Med Pr*. 2015, σσ. 66(3):393-405.
13. **Devasagayam, TP, και συν.** Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India*. Oct 2004, σσ. 52:794-804.
14. **Inoue, M, και συν.** Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Curr Med Chem*. Dec 2003, σσ. 10(23):2495-505.
15. **Panth, N, Paudel, KR και Parajuli, K.** Reactive Oxygen Species: A Key Hallmark of Cardiovascular Disease. *Adv Med*. 2016, σ. 2016:9152732.
16. **Cadenas, E και Davies, KJ.** Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Mec*. Aug 2000, σσ. 29(3-4):222-30.
17. **Wu, D και Cederbaum, AI.** Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Res Health*. 2003, σσ. 27(4):277-84.
18. **Valko, M, και συν.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007, σσ. 39(1):44-84.
19. **Cooke, M, και συν.** Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J*. Jul 2003, σσ. 17(10):1195-214.
20. **Wu, D και Cederbaum, AI.** Alcohol, oxidative stress and free radical damage. *Alcohol Res Health*. 2003, σσ. 27(4):277-84.
21. **Stadtman, E.R.** Protein oxidation and aging. *Science*. . 28 Aug 1992, σσ. 257(5074):1220-4.

22. **Marnett.** Chemistry and biology of DNA damage by malondialdehyde. *IARC Sci Publ.* 1999, σσ. (150):17-27.
23. **Srivastava, KK και Kumar, R.** Stress, oxidative injury and disease. *Indian J Clin Biochem.* Jan 2015, σσ. 30(1): 3–10.
24. **Hiroyuki, Itabe, Takashi, Obama και Rina, Kato.** The Dynamics of Oxidized LDL during Atherogenesis. *J Lipids.* 2011, σ. 2011: 418313.
25. **Elisabetta, Ceni, Tommaso, Mello και Andrea, Galli.** Pathogenesis of alcoholic liver disease: Role of oxidative metabolism. *World J Gastroenterol.* 21 Dec 2014, σσ. 20(47): 17756-17772.
26. **Simoncini, C., και συν.** Alzheimer's Pathogenesis and Its Link to the Mitochondrion. *Oxid Med Cell Longev.* 2015, σ. 2015: 803942.
27. **Ross, R. και Glomset, J.A.** Atherosclerosis and arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science* 180. 1973, σσ. 1332-1339.
28. **Ross, R., Glomset, J. και Harker, L.** Response to injury and atherogenesis. *Am. J. Pathol.* 86. 1977, σσ. 675-684.
29. **Ross, R.** Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 1999, σσ. 115-126.
30. **Demopoulos, Constantinos A., Karantonis, Haralabos C. και Antonopoulou, Smaragdi.** Platelet activating factor — a molecular link between atherosclerosis theories. *European Journal of Lipid Science and Technology.* Nov 2013, σσ. 705-716.
31. **Young, S. G. και Parthasarathy, S.** Why are low-density lipoproteins atherogenic? *West J Med.* Feb 1992, σσ. 160(2): 153–164.
32. **Stocker, R και Keaney, JF Jr.** Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. *Physiol Rev.* Oct 2004, σσ. 84(4):1381-478.
33. **Parthasarathy, S και Rankin, SM.** Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis, Sampath Parthasarathy 1992,. *Prog Lipid Res.* 1992, σσ. 31(2):127-43.
34. **Berliner, JA και Heinecke, JW.** The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis,. *Free Radic Biol Med.* 1996, σσ. 20(5):707-27.
35. **Xanthopoulou, M.N., και συν.** Wine consumption reduced postprandial platelet sensitivity against Platelet-Activating-Factor in healthy men. *Eur. J. Nutr.* 2016, 55, σσ. 1-8.
36. **Argyrou, C., και συν.** Postprandial effects of wine consumption on Platelet Activating Factor metabolic enzymes. *Prostaglandins & other Lipid Mediators.* 2017, 130, σσ. 23-29.
37. **Damianov, Ivan.** *Παθολογία. σ.λ. : Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε., 2009.*
38. **Kirkman, HN, Galiano, S και Gaetani, GF.** The function of catalase-bound NADPH. *J Biol Chem.* 1987 Jan 15;262(2):660-6. 15 Jan 1987, σσ. 262(2):660-6.
39. **Takahashi, K, Newburger, PE και Cohen, HJ.** Glutathione peroxidase protein. Absence in selenium deficiency states and correlation with enzymatic activity. *J Clin Invest.* Apr 1986, σσ. 77(4):1402-4.
40. **Nakane, T, και συν.** Effect of selenium deficiency on cellular and extracellular glutathione peroxidases: immunochemical detection and mRNA analysis in rat kidney and serum. *Free Radic Biol Med.* Sep 1998, σσ. 25(4-5):504-11.
41. **Gibson, DD, Hawrylko, J και McCay, PB.** GSH-dependent inhibition of lipid peroxidation: properties of a potent cytosolic system which protects cell membranes. *Lipids.* Oct 1985, σσ. 20(10):704-11.
42. **McCord, J M και Fridovich, I.** Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemoglobin. *J. Biol. Chem.* 1969, σσ. 244:6049-55.

43. **Young, I.S. και Woodside, J.V.** Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*. 2001, σσ. 176-186.
44. **Urano, S, και συν.** Vitamin E: inhibition of retinol-induced hemolysis and membrane-stabilizing behavior. *J Biol Chem*. 15 Sep 1992, σσ. 267(26):18365-70.
45. **May, JM, Qu, ZC και Mendiratta, S.** Protection and recycling of alpha-tocopherol in human erythrocytes by intracellular ascorbic acid. *Arch Biochem Biophys*. 15 Jan 1998, σσ. 349(2):281-9.
46. **Fukuzawa, K, και συν.** Rate constants for quenching singlet oxygen and activities for inhibiting lipid peroxidation of carotenoids and alpha-tocopherol in liposomes. *Lipids*. Aug 1998, σσ. 33(8):751-6.
47. Διατροφή και Μεταβολισμός 2. [συγγρ. βιβλίου] Jack L. Smith, James L. Groff Sareen S. Gropper. s.l.: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασαχλίδης, 2008, σσ. 372-390.
48. **Pietta, PG.** Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*. Jul 2000, σσ. 63(7):1035-42.
49. **Serafini, M, Ghiselli, A και Ferro-Luzzi, A.** In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *Eur J Clin Nutr*. Jan 1996, σσ. 50(1):28-32.
50. **Thomas, SR, Neuzil, J και Stocker, R.** Cosupplementation with coenzyme Q prevents the prooxidant effect of alpha-tocopherol and increases the resistance of LDL to transition metal-dependent oxidation initiation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. May 1996, σσ. 16(5):687-96.
51. **M.Levine.** New Concepts in the Biology and Biochemistry of Ascorbic Acid. *N Engl J Med*. 3 April 1986, σσ. 314:892-902.
52. **Pietri, S, Seguin, JR και Darbigny, P.** Ascorbyl free radical: a noninvasive marker of oxidative stress in human open-heart surgery. *Free Radic Biol Med*. April 1994, σσ. 523-8.
53. **Sareen Gropper, Jack Smith, James Groff.** Υδατοδιαλυτές βιταμίνες: Βιταμίνη C (Ασκορβικό Οξύ). *Διατροφή και Μεταβολισμός 2*. s.l.: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασαχλίδης, 2008.
54. **Koshiishi, I, και συν.** Evaluation of an acidic deproteinization for the measurement of ascorbate and dehydroascorbate in plasma samples. *Clin Chem*. April 1998, σσ. 44(4):863-8.
55. **Grootveld, M και Halliwell, B.** Measurement of allantoin and uric acid in human body fluids. A potential index of free-radical reactions in vivo? *Biochem J*. 1 May 1987, σσ. 243(3):803-8.
56. **Stocker, R, Bowry, V. W. και Frei, B.** Ubiquinol-10 protects human low density lipoprotein more efficiently against lipid peroxidation than does alpha-tocopherol. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1 Mar 1991, σσ. 88(5):1646-1650.
57. **Atanasiu, RL, και συν.** Direct evidence of caeruloplasmin antioxidant properties. *Mol Cell Biochem*. Dec 1998, σσ. 189(1-2):127-35.
58. **Skoumalova, Alice και Hort, Jakub.** Blood markers of oxidative stress in Alzheimer's disease. *J. Cell. Mol. Med*. 2012, σσ. 2291-2300.
59. **Janero, D R.** Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med*. 1990, σσ. 9(6):515-40.
60. **Witko-Sarsat, , V, και συν.** Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int*. May 1996, σσ. 49(5):1304-13.
61. **Giammarioli, S, Filesi, C και Sanzini, E.** Oxidative stress markers: specificity and measurement techniques. *Ann Ist Super Sanita*. 1999, σσ. 35(4):563-76.

62. **McGovern, PE.** *Ancient Wine: The Search for the Origins of Viniculture.* s.l.: Princeton: Princeton Univ Press, 2003.
63. **Fragopoulou, E, Demopoulos, C A και Antonopoulou, S.** Lipid minor constituents in wines. A biochemical approach in the French paradox. *International Journal of Wine Research.* 2009, σσ. 131–143.
64. **Hugh, Johnson.** *Vintage: The Story of Wine .* Toronto, Canada : Simon and Schuster, 1989.
65. **Helsing, E.** Nutrition policies in Europe--the state of the art. *Eur J Clin Nutr.* . 1989, σσ. 57-66.
66. **Nestle, M.** Mediterranean diets: historical and research overview. *Am J Clin Nutr.* Jun 1995, σσ. 1313-1320.
67. **Willett, WC, και συν.** Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr.* Jun 1995, σσ. 1402-1406.
68. **Keys, A, και συν.** The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol.* Dec 1986, σσ. 124(6):903-15.
69. [unesco.org. www.unesco.org. \[Ηλεκτρονικό\] http://www.unesco.org/culture/ich/en/RL/mediterranean-diet-00884.](http://www.unesco.org/culture/ich/en/RL/mediterranean-diet-00884)
70. **Renaud, S και de Lorgeril, M.** Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet.* 20 Jun 1992, σσ. 339(8808):1523-6.
71. Food And Agriculture Organisation of the United Nation, Word Health Organization . *Atlas of global epidemic of health disease and stroke.* [Ηλεκτρονικό] Food and Agriculture Organisation of the United Nations, World He http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/cvd_atlas_29_world_data_table.pdf.
72. **Lippi, G, και συν.** Moderate red wine consumption and cardiovascular disease risk: beyond the "French paradox". *Semin Thromb Hemost.* Feb 2010, σσ. 36(1):59-70.
73. **Ronksley, Paul, και συν.** Association of alcohol consumption with selected cardiovascular disease outcomes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2011.
74. **Albert, CM, και συν.** Moderate alcohol consumption and the risk of sudden cardiac death among US male physicians. *Circulation.* 1999, σσ. 944-950.
75. **Bazzano, LA, και συν.** Alcohol consumption and risk for stroke among Chinese men. *Ann Neurol.* Dec 2007, σσ. 62(6):569-78.
76. **Bazzano, LA, και συν.** Alcohol consumption and risk of coronary heart disease among Chinese men. *Int J Cardiol.* 12 Jun 2009, σσ. 135(1):78-85.
77. **Berberian, KM, και συν.** Alcohol and mortality. Results from the EPOZ (Epidemiologic Study of Cardiovascular Risk Indicators) follow-up study. *Eur J Epidemiol.* 1994, σσ. 10:587-93.
78. **Berger, K, και συν.** Light-to-moderate alcohol consumption and risk of stroke among US male physicians. . *N Engl J Med* . 18 Nov 1999, σσ. 341:1557-64.
79. **Blackwelder, WC, και συν.** Alcohol and mortality: the Honolulu Heart Study. *Am J Med.* 1980, σσ. 68 :164-9.
80. **Boffetta, P και Garfinkel, L.** Alcohol drinking and mortality among men enrolled in an American Cancer Society prospective study. *Epidemiology.* 1990, σσ. 342-8.
81. **Burke, V, και συν.** Alcool intake and incidence of coronary disease in Australian aborigines. *Alcohol.* 2007, σσ. 42:119-24.
82. **Camargo, CA, και συν.** Prospective study of moderate alcohol consumption and mortality in US male physicians. . *Arch Intern Med.* 1997, σσ. 157 :79-85.
83. **Chiuve, SE, και συν.** Primary prevention of stroke by healthy lifestyle. *Circulation* . 2008, σσ. 118:947-54.

84. **Colditz, GA, και συν.** Moderate alcohol and decreased cardiovascular mortality in an elderly cohort. . *Am Heart J* . 1985, σσ. 109:886-9.
85. **Cullen, KJ, Knuiman, MW και Ward, NJ.** Alcohol and mortality in Busselton, Western Australia. . *Am J Epidemiol* . 1993, σσ. 137:242-8.
86. **Deev, A, και συν.** Association of alcohol consumption to morality in middle-aged US and Russian men and women. *Ann Epidemiol* . 1998, σσ. 8:147-53.
87. **Diem, P, και συν.** Effects of alcohol consumption on mortality in patients with type 2 diabetes mellitus. . *Diabetologia* . 2003, σσ. 46:1581-5.
88. **Djousse, L, και συν.** Alcohol consumption and risk of ischemic stroke: the Framingham Study. *Stroke* . 2002, σσ. 33:907-12.
89. **Djousse, L, και συν.** Alcohol consumption and risk of cardiovascular disease and death in women: potential mediating mechanisms. *Circulation* . 2009, σσ. 120:237-44.
90. **Doll, R, και συν.** Mortality in relation to alcohol consumption: a prospective study among male British doctors. . *Int J Epidemiol* . 2005, σσ. 34:199-204.
91. **Donahue, RP, και συν.** Alcohol and hemorrhagic stroke. The Honolulu Heart Program. . *JAMA* . 1986, σσ. 255:2311-4.
92. **Ebbert, JO, και συν.** The association of alcohol consumption with coronary heart disease mortality and cancer incidence varies by smoking history. *J Gen Intern Med*. 2005, σσ. 20: 14-20.
93. **Ebrahim, S, και συν.** Alcohol dehydrogenase type 1C (ADH1C) variants, alcohol consumption traits, HDL-cholesterol and risk of coronary heart disease in women and men: British Women's Heart and Health Study and Caerphilly cohorts. *Atherosclerosis*. 2008, σσ. 196(2):871-8.
94. **Elkind, MS, και συν.** Moderate alcohol consumption reduces risk of ischemic stroke: the Northern Manhattan Study. . *Stroke*. 2006, σσ. 37:13-9.
95. **Friedman, LA και Kimball, AW.** Coronary heart disease mortality and alcohol consumption in Framingham. *Am J Epidemiol*. 1986, σσ. 124:481-9.
96. **Fuchs, CS, και συν.** Alcohol consumption and mortality among women. *N Engl J Med*. 1995, σσ. 332:1245-50.
97. **Fuchs, FD, και συν.** Association between alcoholic beverage consumption and incidence of coronary heart disease in whites and blacks: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *AM J Epidemiol*. 2004, σσ. 160:466-74.
98. **Garfinke, L, Boffetta, P και Stellman, SD.** Garfinkel L, Boffetta P, Stellman SD. Alcohol and breast cancer: a cohort study. *Prev Med* . 1988, σσ. 17:686-93.
99. **Garg, R, Wagener, DK και Madans, JH.** Alcohol consumption and risk of ischemic heart disease in women. . *Arch Intern Med*. 1992, σσ. 153:1211-6.
100. **Gaziano, JM, και συν.** Light-to-moderate alcohol consumption and mortality in the Physicians' Health Study enrollment cohort. *J Am Coll Cardiol*. Jan 2000, σσ. 35:96-105.
101. **Gordon, T και Kannel, WB.** Drinking habits and cardiovascular disease: the Framingham Study. *Am Heart J* . 1983, σσ. 105:667-73.
102. **Gordon, T και Doyle, JT.** Drinking and coronary heart disease: the Albany study. *Am Heart J* . 1985, σσ. 110:331-4.
103. **Gronbaek, M, και συν.** Mortality associated with moderate intakes of wine, beer, or spirits. *BMJ*. 1995, σσ. 310:1165-9.
104. **Gun, RT, και συν.** Tobacco and alcohol related mortality in men: estimates from the Australian cohort of petroleum industry

workers. . *Aust N Z J Public Health*. 2006, σσ. 30:318-24.

105. **Hammar, N, Romelsjo, A και Alfredsson, L.** Alcohol consumption, drinking pattern and acutemyocardial infarction. A case referent study based on the Swedish Twin Register. *J InternMed*. 1997, σσ. 241:125-31.

106. **Hansagi, H, και συν.** Alcohol consumption and stroke mortality. 20-year follow-up of 15,077 men and women. *Stroke*. 1995, σσ. 26:1768-73.

107. **Harriss, LR, και συν.** Alcohol consumption and cardiovascular mortality accounting for possible misclassification of intake: 11-year follow-up of the Melbourne Collaborative Cohort Study. . *Addiction*. 2007, σσ. 102:1574-85.

108. **Hart, CL και Smith, GD.** Alcohol consumption and mortality and hospital admissions in men from the Midspan Collaborative cohort study. *Addiction* . 2008, σσ. 103:1979-86.

109. **Hein, HO, Suadicani, P και Gyntelberg, F.** Alcohol consumption, serum low density lipoprotein cholesterol concentration, and risk of ischaemic heart disease: six year follow up in the Copenhagen male study. *BMJ*. 1996, σσ. 312:736-41.

110. **Ikehara, S, και συν.** Alcohol consumption, social support, and risk of stroke and coronary heart disease among Japanese men: the JPHC Study. *Alcohol Clin Exp Res* . 2009, σσ. 33:1025-32.

111. **Iso, H, και συν.** Alcohol intake and the risk of cardiovascular disease in middle-aged Japanese men. . *Stroke* . 1995, σσ. 26:767-73.

112. **Jakovljevic, B, και συν.** Alcohol consumption and mortality in Serbia: twenty-year follow-up study. *Croat Med J*. 2004, σσ. 45:764-8.

113. **Jamrozik, K, και συν.** Predictors of death and vascular events in the elderly: the Perth Community Stroke Study. *Stroke*. 2000, σσ. 31:863-8.

114. **Jousilahti, P, Rastenyte, D και Tuomilehto, J.** Serum gamma-glutamyl transferase, self-reported alcohol drinking, and the risk of stroke. *Stroke*. 2000, σσ. 31:1851-5.

115. **Kitamura, A, και συν.** Alcohol intake and premature coronary heart disease in urban Japanese men. *Am J Epidemiol* . 1998, σσ. 147:59-65.

116. **Kittner, SJ, και συν.** Alcohol and coronary heart disease in Puerto Rico. . *Am J Epidemiol*. 1983, σσ. 117:538-50.

117. **Kivela, SL, και συν.** Alcohol consumption and mortality in aging or aged Finnish men. *J Clin Epidemiol*. 1989, σσ. 42:61-8.

118. **Kiyohara, Y, και συν.** The impact of alcohol and hypertension on stroke incidence in a general Japanese population. The Hisayama Study. . *Stroke*. 1995, σσ. 26:368-72.

119. **Klatsky, AL, Armstrong, MA και Friedman, GD.** Risk of cardiovascular mortality in alcohol drinkers, ex-drinkers and nondrinkers. *Am J Cardiol*. 1990, σσ. 66:1237-42.

120. —. Red wine, white wine, liquor, beer, and risk for coronary artery disease hospitalization. *Am J Cardiol*. 1997, σσ. 80:416-20.

121. **Klatsky, AL, και συν.** Alcohol drinking and risk of hemorrhagic stroke. *Neuroepidemiology*. 2002, σσ. 21:115-22.

122. **Knoops, KT, και συν.** Mediterranean diet, lifestyle factors, and 10-year mortality in elderly European men and women: the HALE project. *JAMA*. 2004, σσ. 292:1433-9.

123. **Kono, S, και συν.** Alcohol and mortality: a cohort study of male Japanese physicians. *Int J Epidemiol* . 1986, σσ. 15:527-32.

124. **Leppälä, JM, και συν.** Alcohol consumption and stroke incidence in male smokers. *Circulation* . 1999, σσ. 100:1209-14.
125. **Lin, Y, και συν.** Alcohol consumption and mortality among middle-aged and elderly Japanese men and women. *Ann Epidemiol*. 2005, σσ. 15:590-7.
126. **Manttari, M, και συν.** Alcohol and coronary heart disease: the roles of HDL-cholesterol and smoking. *J Intern Med* . 1997, σσ. 241:157-63.
127. **Marques-Vidal, P, και συν.** Alcohol consumption and cardiovascular disease: differential effects in France and Northern Ireland. The PRIME study. . *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* . 2004, σσ. 11:336-43.
128. **Maskarinec, G, Meng, L και Kolonel, LN.** Alcohol intake, body weight, and mortality in a multiethnic prospective cohort. . *Epidemiology*. 1998, σσ. 9:654-61.
129. **Mukamal, KJ, και συν.** Roles of drinking pattern and type of alcohol consumed in coronary heart disease in men. . *N Engl JMed*. 2003, σσ. 348:109-18.
130. **Mukamal, KJ, και συν.** Alcohol use and risk of ischemic stroke among older adults: the cardiovascular health study. *Stroke*. 2005, σσ. 36:1830-4.
131. **Mukamal, KJ, και συν.** Alcohol consumption and risk of coronary heart disease in older adults: the CardiovascularHealth Study. *J Am Geriatr Soc*. 2002, σσ. 54:30-7.
132. **Murray, RP, και συν.** Alcohol volume, drinking pattern, and cardiovascular disease morbidity and mortality: is there a U-shaped function? *Am J Epimidiol*. 2002, σσ. 155:242-8.
133. **Murray, RP, και συν.** Difficulty in demonstrating a risk from drinking pattern in fourteen years of coronary heart disease morbidity and mortality: the Lung Health Study. *Addict Behav*. 2005, σσ. 30:875-87.
134. **Pedersen, JO, και συν.** The combined influence of leisure-time physical activity and weekly alcohol intake on fatal ischaemic heart disease and all-cause mortality. . *Eur Heart J*. 2008, σσ. 29:204-12.
135. **Rehm, JT, και συν.** Alcohol consumption and coronary heart disease morbidity and mortality. *Am J Epidemiol*. 1997, σσ. 146:495-501.
136. **Renaud, SC, και συν.** Wine, beer and mortality in middle-aged men from eastern France. *Arch Intern Med*. 1999, σσ. 159:1865-70.
137. **Salonen, JT, Puska, P και Nissinen, A.** Intake of spirits and beer and risk of myocardial infarction and death—a longitudinal study in Eastern Finland. *J Chronic Dis* . 1983, σσ. 36:533-43.
138. **Sankai, T, και συν.** Prospective study on alcohol intake and risk of subarachnoid hemorrhage among Japanese men and women. . *Alcohol Clin Exp Res*. 2000, σσ. 24:386-9.
139. **Scherr, PA, και συν.** Light to moderate alcohol consumption and mortality in the elderly. *J AmGeriatr Soc* . 1992, σσ. 40:651-7.
140. **Shaper, AG, και συν.** Alcohol and ischaemic heart disease in middle aged British men. *BMJ*. 1987, σσ. 294:733-7.
141. **Simons, LA, και συν.** Alcohol intake and survival in the elderly: a 77month follow-up in the Dubbo study. . *Aust N Z JMed* . 1996, σσ. 26:662-70.
142. **Solomon, CG, και συν.** Moderate alcohol consumption and risk of coronary heart disease among women with type 2 diabetes mellitus. *Circulation*. 2000, σσ. 102:494-9.
143. **Suh, I, και συν.** Alcohol use and mortality from coronary heart disease: the role of high-density lipoprotein Group. *Ann InternMed* . 1992, σσ. 116:881-7.

144. **Suhonen, O, και συν.** Alcohol consumption and sudden coronary death in middle-aged Finnish men. . *Acta Med Scand*. 1987, σσ. 221:335-41.
145. **Thun, MJ, και συν.** Alcohol consumption and mortality among middle-aged and elderly US adults. *N Engl J Med* . 1997, σσ. 337:1705-14.
146. **Tolstrup, J, και συν.** Prospective study of alcohol drinking patterns and coronary heart disease in women and men. . *BMJ*. 2006, σσ. 332:1244-8.
147. **Trevisan, M, και συν.** Drinking pattern and mortality: the Italian Risk Factor and Life Expectancy pooling project. *Ann Epidemiol* . 2001, σσ. 11:312-9.
148. **Truelsen, T, και συν.** Intake of beer, wine, and spirits and risk of stroke: the Copenhagen city heart study. *Stroke*. 1998, σσ. 29:2467-72.
149. **Valmadrid, CT, και συν.** Alcohol intake and the risk of coronary heart disease mortality in persons with older-onset diabetes mellitus. *JAMA*. 1999, σσ. 282:239-46.
150. **Waskiewicz, A, Sygnowska, E και Drygas, W.** Relationship between alcohol consumption and cardiovascular mortality—the Warsaw Pol-MONNICA Project. *Kardiol Pol* . 2004, σσ. 60:552-62.
151. **Wellmann, J, και συν.** Changes in alcohol intake and risk of coronary heart disease and allcause mortality in the MONICA/KORA-Augsburg cohort 1987-97. . *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* . 2004, σσ. 11:48-55.
152. **Wilkins, K.** Moderate alcohol consumption and heart disease. *Health Rep*. σσ. 14:9-24.
153. **Woo, J και Lau, EM.** Risk factors predisposing to stroke in an elderly Chinese population—a longitudinal study. . *Neuroepidemiology*. 1990, σσ. 9:131-4.
154. **Xu, WH, και συν.** Joint effect of cigarette smoking and alcohol consumption on mortality. . *Prev Med*. 2007, σσ. 45:313-9.
155. **Yang, T, και συν.** Alcohol consumption coronary calcium, and coronary heart disease events. . *Am J Cardiol*. 1999, σσ. 84:802-6.
156. **Yuan, JM, και συν.** Follow up study of moderate alcohol intake and mortality among middle aged men in Shanghai, China. *BMJ*. 1997, σσ. 314:18-23.
157. **Zhang, LF, και συν.** Alcohol consumption and incidence of ischemic stroke in male Chinese. . *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* . 2004, σσ. 25:954-7.
158. **Bertelli, AA και Das, DK.** Grapes, wines, resveratrol, and heart health. *J Cardiovasc Pharmacol*. Dec 2009, σσ. 54(6):468-76.
159. **Waterhouse, Andrew L.** Wine Phenolics. *Ann N Y Acad Sci* . May 2002, σσ. 957:21-36.
160. **Fragopoulou, E., Antonopoulou, S. και Demopoulos, C. A.** Biologically active lipids with antiatherogenic properties from white wine and must. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, 50, σσ. 2684–2694.
161. **Fragopoulou, E., και συν.** Structure elucidation of phenolic compounds from red/white wine with antiatherogenic properties. *Biochimica Biophysica Acta*. 2003, 1632, σσ. 90-99.
162. **Fragopoulou, E., και συν.** Separation of biologically active lipids from red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, 48, σσ. 1234–1238.
163. **Fragopoulou, E., και συν.** Biological activity of total lipids from red and white wine/must. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001, 49, σσ. 5186-5193.
164. **Xanthopoulou, Marianna N., και συν.** Antioxidant and anti-inflammatory activity of

red and white wine extracts. *Food Chemistry* . 2010, σσ. 665-672.

165. **Trela, B C και Waterhouse, A L.** Resveratrol: isomeric molar absorptivities and stability. *Resveratrol: isomeric molar absorptivities and stability. J. Agric. Food Chem.* 1996, σσ. 44: 1253–1257.

166. **Price, SF, και συν.** Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *Am. J. Enol. Viticulture.* 1995, σσ. 46: 187–194.

167. *Anthocyanins and Their Variation in Red Wines I. Monomeric Anthocyanins and Their Color Expression. He, Fei, και συν.* 1571-1601, 2012.

168. **Cook, NC και Samman, S.** Review: Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J Nutr Biochem.* 1996, σσ. 7: 66–76.

169. **Ren, W, και συν.** Flavonoids: Promising anticancer agents. *Medicinal Res Rev.* 2003, σσ. 23(4): 519–534.

170. **Hollman, Peter CH.** Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? . *F Sci Food Agri.* 2001, σσ. 81 :842-852.

171. **Zand, RSR, Jenkins, DJA και Diamandis, EP.** Flavonoids and steroid hormone-dependent cancers. *J Chromatogr B.* 2002, σσ. 777: 219–232.

172. **Yao, L H.** Flavonoids in Food and Their Health Benefits. *Plant Foods for Human Nutrition* . 2004, σσ. 59: 113–122.

173. **Xia, EQ.** Biological Activities of Polyphenols from Grapes . *Int. J. Mol. Sci.* . 2010, σσ. 622–646.

174. **Yilmaz, Y. και Toledo, RT.** Major flavonoids in grape seeds and skins: Antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. *J. Agric. Food Chem.* 2004, σσ. 255-260.

175. **Yoshimura, Y, Nakazawa, H και Yamaguchi, F.** Valuation of the NO scavenging activity of procyanidin in grape seed by use of the TMA-PTIO/NOC 7 ESR system. *J. Agric. Food Chem* . 2003, σσ. 6409-6412.

176. **Qian, YP, και συν.** Antioxidant-based lead discovery for cancer chemoprevention: the case of resveratrol. *J. Med. Chem.* 541254, σσ. 1963-1974.

177. **Kuwajerwala, N, και συν.** Resveratrol induces prostate cancer cell entry into S phase and inhibits DNA synthesis. *Cancer Res* . 2002, σσ. 2488-2492.

178. **Appeldoorn, MM, και συν.** Some phenolic compounds increase the nitric oxide level in endothelial cells in vitro. *Food Chem.* 2009, σσ. 7693-7699.

179. **Auger, C, και συν.** Dietary wine phenolics catechin, quercetin, and resveratrol efficiently protect hypercholesterolemic hamsters against aortic fatty streak accumulation. *J. Agric. Food Chem.* 2005, σσ. 2015-2021.

180. **Halliwell, B.** Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic. Res* . 1996, σσ. 57-74.

181. **Fragopoulou, E., Nomikos, T., Karantonis, H.C., Apostolakis, C., Pliakis, E., Samiotaki, M., Panayotou, G. and Antonopoulou, S.** Biological activity of acetylated phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 80-89.

182. **Rodriguez-Vaquero, MJ, Alberto, MR και Manca-de-Nadra, MC.** Rodriguez-Vaquero, MJ; Alberto, MR; Manca-de-Nadra, Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control* . 2007, σσ. 93-101.

183. **Appeldoorn, MM, και συν.** Some phenolic compounds increase the nitric oxide level in endothelial cells in vitro. *Agric. Food Chem.* 2009, σσ. 7693-7699.

184. **Faria, A, και συν.** Procyanidins as antioxidants and tumor cell growth modulators. *J. Agric. Food Chem.* 2006, σσ. 2392-2397.
185. **Falchi, M, και συν.** Falchi, M; Bertelli, A; Scalzo, RL; MorassuComparison of cardioprotective abilities between the flesh and skin of grapes. *J. Agric. Food Chem* . 2006, σσ. 6613-6622.
186. **Poudel, PR, και συν.** PoPhenolic compounds and antioxidant activities of skins and seeds of five wild grapes and two hybrids native to Japan. *J. Food Comp. Anal* . 2008, σσ. 622-625.
187. **Qian, YP, και συν.** CAntioxidant-based lead discovery for cancer chemoprevention: the case of resveratrol. *J. Med. Chem.* 2009, σσ. 1963-1974.
188. **Anastasiadi, M, και συν.** Anastasiadi, M; Chorianopoulos, NG;Antilisterial activities of polyphenol-rich extracts of grapes and vinification byproducts. *J. Agric. Food Chem* . 2009, σσ. 457-463.
189. **Panico, AM, και συν.** Panico, AM; Cardile, V; Avondo, S; Garufi, F; Gentile, B; Pugli The in vitro effect of a lyophilized extract of wine obtained from Jacques grapes on human chondrocytes. *Phytomedicine.* 2006, σσ. 522-526.
190. **Wenzel, U, και συν.** Dietary flavone is a potent apoptosis inducer in human colon carcinoma cells. *Cancer Res.* 2000, σσ. 3823-3831.
191. **Soobrattee, MA, και συν.** Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Soobrattee, MA; Neergheena, VS; Luximon-Rammaa, A; Aruomab, OI; Bahoruna, T. Phenolics as potential an Mut. Res. Fund. Mol. Mech. Mutagen* . 2005, σσ. 200-213.
192. **Mantena, SK, Baliga, MS και Katiyar, SK.** Grape seed proanthocyanidins induce apoptosis and inhibit metastasis of highly metastatic breast carcinoma cells. *Carcinogenesis* . 2006, σσ. 1682-1691.
193. **Bagchi, D, και συν.** Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* . 2000, σσ. 187-197.
194. **Terra, X, και συν.** Terra, X; Montagut, G; Bustos, M; Llopiz, N; Ardevol, A; Blade, C; FernandezGrape-seed procyanidins prevent low-grade inflammation by modulating cytokine expression in rats fed a high-fat diet. *J. Nutr. Biochem* . 2009, σσ. 210-218.
195. **Kulisic-Bilusic, T, και συν.** Kulisic-Bilusic, T; Schnabele, K; Schmoller, I; Dragovic-Uzelac,Antioxidant activity versus cytotoxic and nuclear factor kappa B regulatory activities on HT-29 cells by natural fruit juices. *Eur. Food Res. Technol.* 2009, σσ. 417-424.
196. **Dell Agli, M, και συν.** Dell Agli, M; In vitro inhibition of human cGMP-specific phosphodiesterase-5 by polyphenols from red grapes. *J. Agric. Food Chem* . 2005, σσ. 1960-1965.
197. **Bagchi, D, και συν.** BaAnti-angiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. *Biochemistry* . 2004, σσ. 75-80.
198. **Thtmothe, J, Bonsi, IA και Padilla-Zakour, OI.** Thtmothe, J; Bonsi, IA; Padilla-Zakour, OI. Chemical characterization of red wine grape(Vitis vinifera and Vitis Interspecific Hybrids)and pomace phenolic extracts and their biological activity against Streptococcus mutans. *J. Agric. Food Chem.* 2007, σσ. 10200-10207.
199. **Lazze, MC, και συν.** Lazze, MC; Savio, M; Pizzala, R; Cazza Anthocyanins induce cell cycle perturbations and apoptosis in different human cell lines. *Carcinogenesis.* 2004, σσ. 1427-1433.

200. **Yilmaz, Y και Toledo, RT.** Major flavonoids in grape seeds and skins: Antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. . *J. Agric. Food Chem.* 2004, σσ. 255-260.
201. **Bertiere, MC, και συν.** Time-course, magnitude and nature of the changes induced in HDL by moderate alcohol intake in young non-drinking males. *Atherosclerosis.* 1986, σσ. 61:7-14.
202. **Contaldo, F, και συν.** Short-term effects of moderate alcohol consumption on lipid metabolism and energy balance in normal men. *Metabolism.* 1989, σσ. 38:166-71.
203. **Couzigou, P, και συν.** High density lipoprotein cholesterol and apoprotein A1 in healthy volunteers during long-term moderate alcohol intake. *Ann Nutr Metab.* 1984, σσ. 28:377-84.
204. **Goldberg, DM, και συν.** Wine :does the colour count? *Clin Chim Acta.* 1996, σσ. 246:183-93.
205. **Gotttrand, F, και συν.** Moderate red wine consumption in healthy volunteers reduced plasma clearance of apolipoprotein AII. *Eur J Clin Invest.* 1999, σσ. 29:387-94.
206. **Hagiage, M, και συν.** Effect of a moderate alcohol intake on the lipoproteins of normotriglyceridemic obese subjects compared with normoponderal controls. *Metabolism.* 1992, σσ. 41:856-61.
207. **Hansen, AS, και συν.** Effect of red wine and red grape extract on blood lipids, haemostatic factors, and other risk factors for cardiovascular disease. *Eur J Clin Nutr.* 2005, σσ. 59:449-55.
208. **Joosten, MM, και συν.** Moderate alcohol consumption increases insulin sensitivity and ADIPOQ expression in postmenopausal women: a randomised, crossover trial. *Diabetologia.* 2008, σσ. 51:1375-81.
209. **Naissides, M, και συν.** The effect of chronic consumption of red wine on cardiovascular disease risk factors in postmenopausal women. *Atherosclerosis.* 2006, σσ. 185:438-45.
210. **Schneider, J, και συν.** Lipoprotein fractions, lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase during short-term and long-term uptake of ethanol in healthy subjects. *Atherosclerosis.* 1985, σσ. 57:281-91.
211. **Senault, C, και συν.** Beneficial effects of a moderate consumption of red wine on cellular cholesterol efflux in young men. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2000, σσ. 10:63-9.
212. **Sierksma, A, και συν.** Effect of moderate alcohol consumption on fibrinogen levels in healthy volunteers is discordant with effects on C-reactive protein. *Ann NY Acad Sci.* 2004, σσ. 936:630-3.
213. **Tsang, C, και συν.** The influence of moderate red wine consumption on antioxidant status and indices of oxidative stress associated with CHD in healthy volunteers. *Br J Nutr.* 2005, σσ. 93:233-40.
214. **Van der Gaag, MS, και συν.** Alcohol consumption stimulates early steps in reverse cholesterol transport. *J Lipid Res.* 2001, σσ. 42:2077-83.
215. **Van der Gaag, MS, και συν.** Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity; a diet-controlled, randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis.* 1999, σσ. 147:405-10.
216. **Qin Y, Xia M, Ma J, Hao Y, Liu J, Mou H, Cao L, Ling W.** Anthocyanin supplementation improves serum LDL- and HDL-cholesterol concentrations associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subjects. *Am J Clin Nutr.* Sept 2009, σσ. 90(3):485-92.

217. **Nagasako-Akazome, Y, και συν.** Serum Cholesterol-Lowering Effect of Apple Polyphenols in Healthy Subjects. *J Oleo Sci.* 2005, σσ. 143-151.
218. **Baba S, Osakabe N, Kato Y, Natsume M, Yasuda A, Kido T, Fukuda K, Muto Y, Kondo K.** / Continuous intake of polyphenolic compounds containing cocoa powder reduces LDL oxidative susceptibility and has beneficial effects on plasma HDL-cholesterol concentrations in humans. *Am J Clin Nutr.* Mar 2008, σσ. 85(3):709-17.
219. **Hernández, Á, και συν.** Olive Oil Polyphenols Enhance High-Density Lipoprotein Function in Humans: a randomized controlled trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* Sep 2014, σσ. 34(9):2115-9.
220. **Ruf, JC.** Wine and polyphenols related to platelet aggregation and atherothrombosis. *Drugs Exp Clin Res.* 1999, σσ. 25(2-3):125-31.
221. **Bantle, AE, Thomas, W και Bantle, JP.** Metabolic effects of alcohol in the form of wine in persons with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2008, σσ. 57:241-5.
222. **Hartung, GH, και συν.** Effect of alcohol intake on high-density lipoprotein cholesterol levels in runners and inactive men. *JAMA.* 1986, σσ. 249:747-50.
223. **Retterstol, L, και συν.** A daily glass of red wine: does it affect markers of inflammation? *Alcohol Alcohol.* 2005, σσ. 40:102-5.
224. **Sharpe, PC, και συν.** Effect of red wine consumption on lipoprotein (a) and other risk factors for atherosclerosis. *QJM.* 1995, σσ. 88:101-8.
225. **Cartron, E, και συν.** Red-wine beneficial long-term effect on lipids but not on antioxidant characteristics in plasma in a study comparing three types of wine—description of two O-methylated derivatives of gallic acid in humans. *Free Radic Res.* 2003, σσ. 37:1021-35.
226. **Bantle, AE, Thomas, W και Bantle, JP.** Metabolic Effects of Alcohol in the Form of Wine in Persons with Type 2 Diabetes Mellitus. *Metabolism.* Feb 2008, σσ. 57(2):241-5.
227. **Nagasako-Akazome Y, Kanda T, Ohtake Y, Shimasaki H, Kobayashi T.** (Apple Polyphenols Influence Cholesterol Metabolism in Healthy Subjects with Relatively High Body Mass Index. *J Oleo Sci.* . 2007, σσ. 56(8):417-28.
228. **Kim A, Chiu A, Barone MK, Avino D, Wang F, Coleman CI, Phung OJ.** / Green Tea Catechins Decrease Total and Low-Density Lipoprotein Cholesterol: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Diet Assoc.* . Nov 2011, σσ. 111(11):1720-9.
229. **Hansen, A, Marckmann, P και Dragsted.** Effect of red wine and red grape extract on blood lipids, haemostatic factors and other risk factors for cardiovascular disease. *Eur J Clin Nutr.* 2005, σσ. 59 : 449-455.
230. **Puchois, P, και συν.** Apolipoprotein A-I containing lipoproteins in coronary artery disease. *Atherosclerosis.* Nov 1987, σσ. 68(1-2):35-40.
231. **Kronenberg, F, Trenkwalder, E και Lingenhel, A.** Renovascular arteriovenous differences in Lp[a] plasma concentrations suggest removal of Lp[a] from the renal circulation. *J Lipid Res* 1997. 1997, σσ. 38: 1755-63.
232. **Berg, Kåre.** A New Serum Type System In Man—The Lp System. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1963, σσ. 59:369-82.
233. **Argyrou, Ch., και συν.** Wine and haemostatic system. Platelet aggregation, coagulation, fibrinolysis. *Hellenic Journal of Atherosclerosis.* 2014, σσ. 5(1):37–50.
234. **Pikaar, NA, Wedel, M και van der Beek, EJ.** Effect of moderate alcohol consumption on platelets aggregation, fibrinolysis, and blood lipids. *Metabolism.* 1987, σσ. 36: 538-543.

235. **Pignatelli, P, Lenti, L και Pulcinelli, FM.** Red and white wine differently affect collagen-induced platelet aggregation. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2002, σσ. 32:356–358.
236. **Ciancarelli, MG, Di Massimo, C και De Amicis, D.** Moderate consumption of red wine and human platelet responsiveness. *Thromb Research.* 2011, σσ. 128: 124–129.
237. **Pellegrini, N, Pareti, FI και Stabile, F.** Effects of moderate consumption of red wine on platelet aggregation and haemostatic variables in healthy volunteers. *Eur J Clin Nutr.* 1996, σσ. 50:209–213.
238. **Pace-Asciak, CR, Rounova, O και Hahn, SE.** Wines and grape juices as modulators of platelet aggregation in healthy human subjects. *Clin Chim Acta.* 1995, σσ. 246:163–182.
239. **Mezzano, D, Leighton, F και Strobel, P.** Mediterranean diet, but not red wine, is associated with beneficial changes in primary haemostasis. *Eur J Clin Nutr.* 2003, σσ. 57: 439–446.
240. **Mansvelt, EP, van Velden, DP και Fourie, E.** The in vivo antithrombotic effect of wine consumption on human blood platelets hemostatic factors. *Ann N Y Acad Sci.* 2002, σσ. 957:329–332.
241. **Coimbra SR, Lage SH, Brandizzi L et al.** The action of red wine and purple grape juice on vascular reactivity is independent of plasma lipids in hypercholesterolemic patients. *Braz J Med Biol Res.* 2005, σσ. Coimbra SR, Lage SH, Brandizzi L et al. The action of red wine and purple grape juice on vascu38:1339–1347.
242. **Estruch, R, και συν.** Different effects of red wine and gin consumption on inflammatory biomarkers of atherosclerosis: a prospective randomized crossover trial . Effects of wine on inflammatory markers. *Atherosclerosis.* 2004, σσ. 117–123.
243. **Vázquez-Agell, M, και συν.** Inflammatory markers of atherosclerosis are decreased after moderate consumption of cava (sparkling wine) in men with low cardiovascular risk. *J Nutr.* Oct 2007, σσ. 137(10):2279-84.
244. **Chiva-Blanch G, Urpi-Sarda M, Llorach R et al.** Differential effects of polyphenols and alcohol of red wine on the expression of adhesion molecules and inflammatory cytokines related to atherosclerosis: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr.* 2012, σσ. 95:326-334.
245. **Avellone G, Di Garbo V, Campisi D, De Simone R, Raneli G, Scaglione R, Licata G.** Effects of moderate Sicilian red wine consumption on inflammatory biomarkers of atherosclerosis. *Eur J Clin Nutr.* . Jun 2006, σσ. 60(1):41-7.
246. **Jensen, T, Retterstol, LJ και Sandseta, PM.** Jensen T, Retterstol LJ, Sandseta PM et al. A daily glass of red wine induces a prolonged reduction in plasma viscosity: a randomized controlled trial. *Blood Coag Fibrinol.* 2006, σσ. 17:471–476.
247. **Mezzano, D, και συν.** Complementary effects of Mediterranean diet and moderate red wine intake on haemostatic cardiovascular risk factors. *Eur J Clin Nutr.* Jun 2001, σσ. 55(6):444-51.
248. **van Golde, PM, Hart, HCh και Kraaijenhagen, RJ.** Regular alcohol intake and fibrinolysis. *Netherland J Med.* 2002, σσ. 60:285–288.
249. **Karlsen, A, και συν.** Effects of a daily intake of one glass of red wine on biomarkers of antioxidant status, oxidative stress and inflammation in healthy adults. *ESPEN.* 2007, σσ. Karlsen A, Retterstol L, Laake P, Kjolsrud-Bohn S, Sandvik L, Blomhoff R. Effects of a daily intake of one 2:127-33.
250. **Watzl, B, και συν.** Daily moderate amounts of red wine or alcohol have no effect on the

immune system of healthy men. *Eur J Clin Nutr.* Jan 2004, σσ. 58(1):40-5.

251. **Schrieks, I.C., και συν.** Effect of Red Wine Consumption on Biomarkers of Oxidative Stress. *Alcohol and Alcoholism.* 2013, σσ. 153–159.

252. **Guarda, E, και συν.** Red wine reduces oxidative stress in patients with acute coronary syndrome. *Int J Cardiol.* 15 Sept 2005, σσ. 104(1):35-8.

253. **Nigdikar, SV, και συν.** Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. *Am J Clin Nutr.* 1998, σσ. 68:258–65.

254. **Rajdl, WD, και συν.** Effect of White Wine Consumption on Oxidative Stress Markers and Homocysteine Levels. *Physiol. Res.* 2007, σσ. 56: 203-212.

255. **Micallef, M, Lexis, L και Lewandowski, P.** Red wine consumption increases antioxidant status and decreases oxidative stress in the circulation of both young and old humans. *Nutr J (BioMed Central).* 2007, σ. 6:27.

256. **Addolorato, G, Leggio, L και Ojetti, V.** Effects of short-term moderate alcohol administration on oxidative stress and nutritional status in healthy males. *Appetite.* 2008, σσ. 50:50–6.

257. **Caccetta, RA, Burke, V και Mori, TA.** Red wine polyphenols, in the absence of alcohol, reduce lipid peroxidative stress in smoking subjects. *Free Radic Biol Med.* 2001, σσ. 30:636–42.

258. **Pignatelli, P, Ghisell, i A και Buchetti, B.** Polyphenols synergistically inhibit oxidative stress in subjects given red and white wine. *Atherosclerosis.* 2006, σσ. 188:77–83.

259. **Hartman, TJ, Baer, DJ και Graham, LB.** Moderate alcohol consumption and levels of antioxidant vitamins and isoprostanes in postmenopausal women. *Eur J Clin Nutr.* 2005, σσ. 59:161–8.

260. **Rifici, VA, Schneider, SH και Khachadurian, AK.** Lipoprotein oxidation mediated by J774 murine macrophages is inhibited by individual red wine polyphenols but not by ethanol. *J Nutr.* 2002, σσ. 132:2532–7.

261. **Arendt, BM, Ellinger, S και Kekic.** Single and repeated moderate consumption of native or dealcoholized red wine show different effects on antioxidant parameters in blood and DNA strand breaks in peripheral leukocytes in healthy volunteers: a randomized controlled trial. *JNutr.* 2005, σ. 4:33.

262. **Otaolauruchi, E, και συν.** Repeated red wine consumption and changes on plasma antioxidant capacity and endogenous antioxidants (uric acid and protein thiol groups). *J Agric Food Chem.* 2007, σσ. 55:9713–6.

263. **Madole, M B, Bachewar, N P και Aiyar, M C.** Study of oxidants and antioxidants in patients of acute myocardial infarction. *Adv Biomed Res.* . 2015.

264. **Koza, Y, και συν.** The paradox of uric acid in cardiovascular diseases. *Angiology.* Mar 2014, σσ. 232-3.

265. **Sautin, Y.Y. και Johnson, R.J.** URIC ACID: THE OXIDANT–ANTIOXIDANT PARADOX. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* Jun 2008, σσ. 608-619.

266. **Stelmach, M., και συν.** Hematological Parameters in Adolescents with Hyperuricemia. *Indian Pediatr.* 2014, σσ. 1003-1005.

267. **Luo, M., και συν.** Relationship between red cell distribution width and serum uric acid in patients with untreated essential hypertension. *Sci Rep.* 2014.

268. **Ohtahara, A., Endo, S. και Hisatome, I.** The relationship between the value of hematocrit (Ht) and serum uric acid concentration (sUA) in healthy adult female. *GOUT AND NUCLEIC ACID METABOLISM.* 2005, σσ. 15-19.

269. **Zeng, C., και συν.** Higher blood hematocrit predicts hyperuricemia: a prospective study of 62897 person-years of follow-up. *Scientific Reports* . 2015.

270. **Honggang WANG, 1 Lizhen WANG,2 XIE, και συν.** Association of Serum Uric Acid with Body Mass Index: A Cross-Sectional Study from Jiangsu Province, China. *Iran J Public Health*. Nov 2014, σσ. 1503-1509.

271. **Tanaka, K., και συν.** The relationship between body mass index and uric acid: a study on Japanese adult twins. *Environ Health Prev Med.* . Sep 2015, σσ. 347-353.

272. **Yue, JR, Huang, CQ και Dong, BR.** Association of serum uric acid with body mass index among long-lived Chinese. *Exp Gerontol*. Aug 2012, σσ. 595-600.

273. **Jossa, F, και συν.** Serum uric acid and hypertension: the Olivetti heart study. *Journal of Human Hypertension* . Sep 1994, σσ. 677-681.