ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Αλλαγές σε δείκτες οξειδωτικού στρες μετά από διαιτητική παρέμβαση σε υπερλιπιδαιμικούς ενήλικες

Μιχαηλίδου Κελαϊδή

<u>Τριμελής Επιτροπή</u>:

Νομικός Τζώρτζης, Επιβλέπων Καθηγητής
Μανιός Ιωάννης
Αντωνοπούλου Σμαραγδή

Αθήνα 2006
ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

Αλλαγές σε δείκτες οξειδωτικού στρες μετά από διαιτητική παρέμβαση σε υπερλιπιδαιμικούς ενήλικες

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Επίκουρο καθηγητή **κ. Τζώρτζη Νομικό**, για την πολύτιμη βοήθεια που μου παρείχε, την καθοδήγηση, τη στήριξη και την υπομονή του καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της πτυχιακής μου μελέτης . Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τα μέλη της επιτροπής μου, τον Επίκουρο καθηγητή **κ. Γιάννη Μανιό** για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και την ευκαιρία που μου πρόσφερε να συμμετέχω στα προγράμματά του αποκτώντας έτσι ανεκτίμητες εμπειρίες και την καθηγήτρια **κα. Σμαραγδή Αντωνοπούλου** για τις γνώσεις που μου παρείχε κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Δεν θα μπορούσα όμως να μην ευχαριστήσω την **Μαρία Πετρογιάννη** για την άψογη συνεργασία που είχε μαζί μου και τη βοήθειά της έτσι ώστε να μπορέσω να ολοκληρώσω την εργασία μου, όπως επίσης και τον **Γιώργο Μοσχώνη** ο οποίος με στήριζε όλο το χρονικό διάστημα της συνεργασίας μας στα σχολεία.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω ολόψυχα τους γονείς μου οι οποίοι βρίσκονταν στο πλάι μου όλα αυτά τα χρόνια και δεν σταμάτησαν να με στηρίζουν τόσο ηθικά, όσο και οικονομικά.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ…….2
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ…… ……..3

Α) ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.0 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ…….....6
1.1 Τι είναι οι ελεύθερες ρίζες……..6
1.2 Είδη ελευθέρων ριζών……7
1.2.1 Δραστικές μορφές οξυγόνου ……..7
1.2.2 Δραστικές μορφές αζώτου……7
1.3 Πως δημιουργούνται οι ελεύθερες ρίζες στον οργανισμό και ποιος ο ρόλος του…7
1.4 Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί οργανισμού……..8
1.5 Πως δημιουργείται οξειδωτικό στρες και κάτω από ποιες καταστάσεις……..11
1.6 Δείκτες οξειδωτικού στρες……12
1.6.1 Δείκτες λιπιδικής υπεροξείδωσης……...13
1.6.2 MDA/TBARS……..13

2.0 ΥΠΕΡΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ……16

3.0 ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ……19
3.1 Εξωγενή αντιοξειδωτικά-αντιοξειδωτικά της διατροφής……19
3.1.1 Ποια είναι τα βασικά αντιοξειδωτικά που λαμβάνουμε από τα τρόφιμα και πως λειτουργούν……19
3.1.2 Λοιπά εξωγενή αντιοξειδωτικά……22

4.0 ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ ΜΕ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟ……..23
4.1 Το γάλα……23
4.2 Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα και κίνδυνος για καρδιαγγειακή νόσο……..23
4.3 Παρεμβάσεις με γαλακτοκομικά προϊόντα και συσχέτιση αυτών με λιπίδια του ορού…….24
4.4 Παρεμβάσεις με γάλα εμπλουτισμένο με φυτικές στερόλες και στανόλες……25
4.5 Παρεμβάσεις με γάλα εμπλουτισμένο με ω-3 λιπαρά οξέα και αντιοξειδωτικές βιταμίνες……..……27

Β) ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.0 ΣΚΟΠΟΣ……29

6.0 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ……30
6.1 Πρωτόκολλο παρέμβασης……30
6.1.1 Ομάδες παρέμβασης……..30
6.1.2 Προϊόν……30
6.1.3 Διατροφικές συνεδρίες……31
6.1.4 Μετρήσεις……31
6.1.5. Μέθοδοι και εργαλεία εκτίμησης των αποτελεσμάτων……32

6.2 Προσδιορισμός συστατικών που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ…….32
(Thiobarbituric Acid Reactive Substances, TBARS)
6.2.1 Πειραματική διαδικασία……..32
6.2.2 Στατιστική ανάλυση……34

7.0 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ……35
7.1 Ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού……35
7.2. Κατανομή των TBARS…….36
7.3. Συσχέτιση TBARS με ανθρωπομετρικούς και βιοχημικούς δείκτες στις τρεις φάσεις της παρέμβασης ……....39
7.4. Συσχέτιση TBARS με δείκτες διατροφικής πρόσληψης στις τρεις φάσεις της παρέμβασης……..……43
7.5. Οι μεταβολές των TBARS στις 3 φάσεις της παρέμβασης…….55
7.5.1. Οι μεταβολές των TBARS στον συνολικό πληθυσμό……..55
7.5.2. Οι μεταβολές των TBARS ξεχωριστά σε άνδρες και γυναίκες……56

8.0 ΣΥΖΗΤΗΣΗ……..…58

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ……63

Α) ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.0 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

1.1 Τι είναι οι ελεύθερες ρίζες

Ελεύθερη ρίζα ορίζεται ένα άτομο ή ένα μόριο το οποίο είναι ικανό να υφίσταται ανεξάρτητα για πολύ μικρό χρονικό διάστημα και περιέχει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Η ρίζα υποδηλώνεται με μια τέλεια ή παύλα μετά το στοιχείο (1). Ορισμένες ρίζες είναι ιδιαίτερα δραστικές χημικά και έχουν την ικανότητα να προκαλέσουν ποικίλες καταστροφές στα βιομόρια του οργανισμού που παράγονται. Παραδείγματα τέτοιων ριζών είναι αυτές του υδροξυλίου ($HO^{\cdot}$) και του αλκοξυλίου ($LO^{\cdot}$). Ωστόσο, υπάρχουν και ρίζες λιγότερο ενεργές, οι οποίες είναι σταθερότερες, όπως η ρίζα του μονοξειδίου του αζώτου ($NO^{\cdot}$), της βιταμίνης Ε (τοκοφερόλη), και της βιταμίνης C (δευδροασκορβικό οξύ).(2). Οι αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών περιλαμβάνουν την ανταλλαγή μεμονωμένων ηλεκτρονίων. Η ανταλλαγή αυτή προέρχεται είτε μέσω των αντιδράσεων οξειδοαναγωγής, είτε από ομοιοπολική διάσπαση ενός δεσμού, οπού τα ηλεκτρόνια που αποτελούν τον αρχικό δεσμό, μοιράζονται σε ένα από κάθε μόριο. Αποτέλεσμα αυτών των αντιδράσεων που πραγματοποιούνται, είναι η δημιουργία ολοένα και περισσότερων ριζών και κατ' αυτόν τον τρόπο, προκαλούνται συνεχόμενες αλυσιδωτές αντιδράσεις μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό, αναγεννώντας συνεχώς νέα άτομα ή ενώσεις με ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Η αντίδραση θα λάβει τέλος όταν όλες οι ελεύθερες ρίζες αντιδράσουν προς προϊόντα, τα οποία δεν μπορούν πλέον να παράγουν ελεύθερες ρίζες.(3,4,5). Σχηματικά η διαδικασία παραγωγής ελευθέρων ριζών, η οποία αποτελείται από 3 στάδια, φαίνεται παρακάτω:

Έναρξη: $R^{\cdot}$ (ελεύθερη ρίζα)

Διάδοση: $R^{\cdot} + O_2 \rightarrow ROO^{\cdot}$ (ρίζα υπεροξειδίου)

Τερματισμός: $R^{\cdot} + R^{\cdot} \rightarrow R\text{-}R$

$ROO^{\cdot} + R^{\cdot} \rightarrow ROOR$

$ROO^{\cdot} + ROO^{\cdot} \rightarrow ROOR + O_2$ (αδρανή προϊόντα)

1.2 Είδη ελευθέρων ριζών

1.2.1 Δραστικές μορφές οξυγόνου

Δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS, Reactive Oxygen Species), ονομάζονται δραστικά μόρια που προκύπτουν από το μοριακό οξυγόνο ή εκείνα που μπορούν να μετατρέπονται εύκολα σε δραστικές μορφές και να συμμετέχουν σε τοξικές αντιδράσεις (6). Το υπεροξείδιο ($O_2^{\cdot}$), το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και οι υδροξυλικές ρίζες είναι μερικές από τις τυπικές ενεργές μορφές οξυγόνου. Μερικές από αυτές έχουν ασύζευκτα ηλεκτρόνια και είναι ελεύθερες ρίζες, ενώ άλλες όχι. Στον πίνακα (1) παρουσιάζονται οι ενεργές μορφές οξυγόνου, οι οποίες σχετίζονται με την λιπιδική υπεροξείδωση και το οξειδωτικό στρες (2).

Πίκανας 1: Ενεργές μορφές οξυγόνου

Ενεργές μορφές οξυγόνου

Ρίζες	**Μη-ρίζες**
O_2•- ρίζα υπεροξειδίου	H_2O_2 υπεροξείδιο του υδρογόνου
HO• ρίζα υδροξυλίου	LOOH
HO_2• ρίζα υδρο-υπεροξειδίου	O_3 όζον
L• λιπιδική ρίζα	O_2 μονήρες οξυγόνο
LO_2• ρίζα υπεροξειδίου	HOCl υποχλωριώδες οξύ
LO• ρίζα αλκοξειδίου	
NO_2•	
•NO	
P• πρωτεϊνική ρίζα	

1.2.2 Δραστικές μορφές αζώτου)

Δραστικές μορφές αζώτου (RNS, Reactive Nitrogen Species) ονομάζονται οι ελεύθερες ρίζες που περιέχουν άζωτο. Προέρχονται από το NO ύστερα από αντίδρασή του με το $O2^{-\cdot}$. Η πιο δραστική ρίζα αζώτου είναι η υπεροξυνιτρώδης ρίζα $ONOO^{-\cdot}$.

1.3 Πως δημιουργούνται οι ελεύθερες ρίζες στον οργανισμό και ποιος ο ρόλος του

Στον ανθρώπινο οργανισμό πραγματοποιούνται καθημερινά ποικίλες διεργασίες και αντιδράσεις, οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα την παραγωγή ελευθέρων ριζών. Οι κύριες πηγές παραγωγής ελευθέρων ριζών στο σώμα μας είναι α) η ακτινοβολία (υψηλής ενέργειας, υπέρυθρη και θερμότητα) και β) οι αντιδράσεις οξειδοαναγωγής που καταλύονται είτε από μεταλλικά ιόντα, είτε από ένζυμα. Ωστόσο, ελεύθερες ρίζες μπορούν να παραχθούν και κατά την έκθεση του οργανισμού σε διάφορες ουσίες όπως αιθαλομίχλη, όζον, χημικά, διάφορα φάρμακα και άλλα. (7,2). Οι ελεύθερες ρίζες και γενικά οι ενεργές μορφές οξυγόνου, παίζουν σημαντικό ρόλο στην λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού, ταυτόχρονα όμως, μπορούν να ασκήσουν τοξική επίδραση σε αυτόν. Είναι απαραίτητες για την παραγωγή ενέργειας, τη σύνθεση απαραίτητων συστατικών και τη φαγοκύττωση, μια σημαντική διεργασία του ανοσοποιητικού μας συστήματος. Επίσης, παίζουν ζωτικό ρόλο στην διάδοση σημάτων, απαραίτητη για την επικοινωνία των κυττάρων. Από την άλλη πλευρά όμως, πληθαίνουν τα στοιχεία που αποδεικνύουν ότι οι ελεύθερες ρίζες εμπλέκονται στην παθογένεια πολλών ασθενειών όπως ο καρκίνος, η αθηροσκλήρωση και η γήρανση (2). Οι ελεύθερες ρίζες και οι ROS, μπορούν να προσβάλλουν πρωτεΐνες ζωτικής σημασίας, νουκλεϊκά οξέα του DNA στον πυρήνα των κυττάρων, πολυσακχαρίτες και λιπαρά οξέα και συνεπώς να επηρεάσουν ποικίλες λειτουργίες που πραγματοποιούνται στον οργανισμό του ανθρώπου(7). Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι η υπεροξείδωση των λιποειδών, μια διαδικασία σχετιζόμενη με ελεύθερες ρίζες, η οποία μπορεί να συμβεί είτε ενζυματικά είτε μη-ενζυματικά, προκαλώντας καταστροφή των κυτταρικών μεμβρανών και τροποποίηση της LDL-χοληστερόλης, η οποία αποτελεί το έναυσμα για τη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης (8). Επιπλέον, οι πρωτεΐνες φαίνεται να υφίστανται τροποποιήσεις όταν εκτίθενται σε ελεύθερες ρίζες παραγόμενες από το οξυγόνο. Αλλαγές στον φθορισμό έχουν δείξει πως η οξείδωση των αμινοξέων καταλήγει σε φυσικές μεταβολές τροποποιήσεις, όπως η διάσπαση και η συσσώρευση των ίδιων των πρωτεϊνών (9). Αυτές οι φανερές χωροδιαταξικές αλλαγές κάνουν επίσης τις πρωτεΐνες περισσότερο ευάλωτες στην πρωτεολυτική αποικοδόμηση μέσω των ATP εξαρτώμενων οδών και της ουβικινόνης (10). Συνεπώς, για να μπορέσει ο άνθρωπος όπως επίσης και οι υπόλοιποι ζωντανοί οργανισμοί να

αμυνθούν ενάντια στην καταστροφική επίδραση των ελευθέρων ριζών και των ROS, έχουν αναπτύξει ένα ισχυρό και περίπλοκο σύστημα αντιοξειδωτικών μηχανισμών (11).

1.4 Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί οργανισμού

Οι αερόβιοι οργανισμοί έχουν αναπτύξει πολλούς τύπους αντιοξειδωτικής άμυνας. Ως αντιοξειδωτικό ορίζεται κάθε ουσία η οποία όταν είναι παρούσα σε χαμηλές συγκεντρώσεις, σε σχέση με αυτές των υπο οξείδωση υποστρωμάτων, καθυστερεί ή παρεμποδίζει σημαντικά την οξείδωση αυτών των υποστρωμάτων(12). Τα αντιοξειδωτικά μπορεί να είναι είτε ενδογενή (να παράγονται μέσα στον οργανισμό), είτε εξωγενή και μπορούν να δράσουν με τους εξής τρόπους(13).

(1) απενεργοποιώντας δραστικές μορφές οξυγόνου, είτε χρησιμοποιώντας πρωτεϊνικούς καταλύτες (ένζυμα), είτε με άμεσες χημικές αντιδράσεις
(2) περιορίζοντας την μετατροπή των δραστικών μορφών οξυγόνου
(3) δεσμεύοντας μεταλλικά ιόντα απαραίτητα για τις αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών
(4) διορθώνοντας την καταστροφή που έγινε σε ένα υπόστρωμα
(5) εξαφανίζοντας μόρια τα οποία έχουν καταστραφεί ολοσχερώς και αντικαθιστώντας τα με καινούργια.

Τα ενδογενή ενζυμικά και μη-ενζυμικά συστατικά του αντιοξειδωτικού συστήματος του οργανισμού είναι τα εξής:

- **Γλουταθειόνη (GSH) και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GSH-Px)** : Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης χρησιμοποιείται από τους ιστούς του ανθρώπινου οργανισμού, ως το κύριο ένζυμο που απομακρύνει τα υπεροξείδια που δημιουργούνται. Βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα, τα μιτοχόνδρια και το πλάσμα των κυττάρων και απαιτεί ως συμπαράγοντας το ανόργανο συστατικό σελήνιο (Se). Η GSH-Px μεταφέρει υδρογόνο στο υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) προκειμένου να σχηματιστεί νερό, ενώ για την πραγματοποίηση της αντίδρασης απαιτείται και η γλουταθειόνη στην ανοιγμένη της μορφή (GSH). Η γλουταθειόνη δρα ως υπόστρωμα της υπεροξείδωσης της γλουταθειόνης και η αντίδραση που λαμβάνει χώρα είναι η ακόλουθη:
  $2GSH + H_2O_2 \rightarrow GS\text{-}SG + 2\ H_2O$
- **F-Καταλάση**: Η καταλάση είναι ένα μεγάλο ένζυμο, το οποίο περιέχει αιμικό σίδηρο στα ενεργά τμήματά του. Βρίσκεται κυρίως στα υπεροξεισώματα, αλλά στους ιστούς της καρδιάς μπορεί να βρεθεί και στα μιτοχόνδρια. Η αντίδραση μέσω της οποίας δρα η καταλάση είναι η εξής:

$2H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$

Η καταλάση έχει εκπληκτική ικανότητα στο να καταστρέφει το H_2O_2 και όσον αφορά τα μόρια H_2O_2 που καταστρέφει ανά λεπτό ανά μόριο ενζύμου, είναι ένα από τα πιο ενεργά ένζυμα που γνωρίζουμε. Ωστόσο, η συγγένεια ως προς το H_2O_2 είναι χαμηλή και χρειάζεται υψηλή συγκέντρωση H_2O_2 για να δράσει γρήγορα.

- **<u>Mn, Cu, Zn – υπεροξείδιο της δισμουτάσης (SOD):</u>** Το υπεροξείδιο της δισμουτάσης απαιτεί την ύπαρξη μετάλλων για να μπορέσει να δράσει. Τα μέταλλα συνδέονται στην SOD καταλύοντας την παρακάτω αντίδραση:

  $2O_2^{\cdot -} + 2\ H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$

  Το ένζυμο αυτό βρίσκεται τόσο στο κυτταρόπλασμα, όσο και στα μιτοχόνδρια των κυττάρων. ΤΟ SOD μέσα στα μιτοχόνδρια εξαρτάται από την παρουσία μαγγανίου (Mg), ενώ στο κυτταρόπλασμα απαιτεί την παρουσία χαλκού(Cu) και ψευδαργύρου (Zn).

- **<u>Ουβικινόνη (συνένζυμο Q ανηγμένη μορφή)</u>** : Ένα ακόμη ένζυμο το οποίο είναι παρόν στις μεμβράνες των κυττάρων και λειτουργεί ως αντιοξειδωτικό, σταματώντας τις αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών, είναι η ανηγμένη μορφή του συνενζύμου Q. Υπάρχει μι διαμάχη μεταξύ των επιστημόνων όσον αφορά τη δράση της ουβικινόνης. Η μία εκδοχή είναι η ουβικινόνη να δρα αφαιρώντας υπεροξειδικές ρίζες από μόνη της:

  Λιπίδιο-$O_2^{\cdot}$ +$CoQH_2$ → lipid-OH +$Co_2QH^{\cdot}$.

  Η δεύτερη εκδοχή θέλει το συνένζυμο Q να δρα αναγεννώντας την α-τοκοφερόλη:

  α-τοκοφερόλη$^{\cdot}$ + $COQH_2$ → α-τοκοφερόλη +$CoQH^{\cdot}$

  Ωστόσο υπάρχει και μια τρίτη περίπτωση, να συμβαίνουν και τα δύο μαζί(1).

- **<u>Ουρικό οξύ</u>**: Το ουρικό οξύ δημιουργείται κατά τον καταβολισμό των πουρινών, με την οξείδωση της ξανθίνης ή υποξανθίνης και βρίσκεται στα βιολογικά υγρά του ανθρώπινου οργανισμού σε συγκεντρώσεις 0,3-0,4 mM. Μπορεί να δράσει ως αντιοξειδωτικό σε υδατικά διαλύματα, συμμετέχοντας στην εκκαθάριση ποικίλων ελευθέρων ριζών, μεταξύ των οποίων η ρίζα του υδροξυλίου καθώς και δεσμεύοντας ιόντα Fe και Cu (14). Επίσης στο υγρό που επενδύει το ανώτατο τμήμα του αναπνευστικού μας συστήματος, το ουρικό μπορεί να απενεργοποιήσει εισπνεόμενες ρυπαντικές ουσίες όπως το όζον και το NO_2 , οι οποίες συμβάλλουν στην δημιουργία ελευθέρων ριζών(1) .

- Επιπρόσθετα ενδογενή αντιοξειδωτικά είναι το NADPH, το λιποϊκό οξύ, ορμόνες με αντιοξειδωτική δράση όπως μελατονίνη και DHEA (διυδροεπιανδροστερόνη) και μεταλλοδεσμευτικές πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένης της αλβουμίνης, της σιδηροδεσμευτικής πρωτεΐνης (τρανσφερίνη, σερουροπλασμίνη, λακτοφερίνης) και της αιμοσφαιρίνης (15,16,17).

1.5 Πως δημιουργείται οξειδωτικό στρες και κάτω από ποιες καταστάσεις

Οξειδωτικό στρες είναι η κατάσταση στην οποία σημαντικές ποσότητες ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) και ελευθέρων ριζών, όπως το υπεροξείδιο ($O_2^{\cdot-}$) και η ρίζα του υδροξυλίου ($^{\cdot}OH$), υπερισχύουν έναντι της σωματικής αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού, προκαλώντας κυτταρικές βλάβες(18,19). Συνεπώς το οξειδωτικό στρες μπορεί να οφείλεται (20,1):

i. Στην αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών και ROS
ii. Στην αδυναμία του αντιοξειδωτικού συστήματος να απομακρύνει τις ελεύθερες ρίζες και τις ROS, λόγω μειωμένης πρόσληψης ή παραγωγής αντιοξειδωτικών
iii. Σε συνδυασμό των παραπάνω

Ποικίλοι παράγοντες όπως ο τρόπος ζωής, η διατροφή, το περιβάλλον και η κληρονομικότητα, μπορούν να προκαλέσουν διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των προοξειδωτικών μηχανισμών από τη μια πλευρά και των αντιοξειδωτικών μηχανισμών από την άλλη, εις βάρος του δεύτερου σκέλους. Στον πίνακα (2) συνοψίζονται οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού (20,1). Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι το οξειδωτικό στρες, εμπλέκεται στην παθογένεια πολλών ασθενειών και καταστάσεων, συμπεριλαμβανομένης της γήρανσης, της αθηροσκλήρωσης, του καρκίνου, του καπνίσματος και ασθενειών του αναπνευστικού συστήματος (21,22,23,24,25)

Πίνακας 2: Παράγοντες που επηρεάζουν την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού

ΠΡΟΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ
Γενετικοί Παράγοντες	Γενετικοί Παράγοντες
Δίαιτα • Λιπαρά οξέα ιδιαίτερα PUFA • Δισθενή ιχνοστοιχεία (Cu,Fe) • Προοξειδωτικά συστατικά και φυτοχημικά	Δίαιτα • Αντιοξειδωτικές βιταμίνες (A,C,E) • Αντιοξειδωτικά συστατικά των τροφών και φυτοχημικά • Ιχνοστοιχεία, συστατικά αντιοξειδωτικών ενζύμων (Se,Zn,Cu,Mn,Fe) • Αντιοξειδωτικά της τροφής και συμπληρώματα
Περβάλλον • Ρυπαντικά αέρια • Κάπνισμα • Ακτινοβολία UV	
Αλκοόλ	Αλκοολούχα ποτά (κρασί και άλλα) που περιέχουν αντιοξειδωτικά
Τραυματισμός, ασθένειες και φαρμακευτική αγωγή • Ψυχικό τραύμα, τραυματισμός • Άλλες ασθένειες • Ναρκωτικά και φαρμακευτική αγωγή (θεραπείες με ακτινοβολία και άλλα)	Φυσική δραστηριότητα
Φυσιολογικά στάδια της ζωής και καταστάσεις • Εγκυμοσύνη	

• Γήρανση • Επίπονη άσκηση <u>Στρες</u> • Παθοφυσιολογικό • Συναισθηματικό	

1.6 <u>Δείκτες οξειδωτικού στρες</u>

Οι τρόποι με τους οποίους μπορεί να μετρηθεί το οξειδωτικό στρες είναι 2 :

i. Ο άμεσος, μετρώντας τις συγκεντρώσεις των αντιοξειδωτικών ενδογενών και εξωγενών

ii. Ο έμμεσος, είτε μετρώντας δείκτες οξειδωτικού στρες, είτε μετρώντας συγκεντρώσεις ελευθέρων ριζών.

Στο σχήμα (1) συνοψίζονται οι μέθοδοι μέτρησης του οξειδωτικού στρες.

Σχήμα 1

ΑΜΕΣΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ

Συγκεντρώσεις Αντιοξειδωτικών

Διατροφικά	**Ενδογενή**
Vitamins E, C	GSH
Carotenoids	GSHPx
Flavonoids	SOD
CAT	

Συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα

ORAC (oxygen Radical Absorbance Capacity)

TRAP (Radical Trapping Antioxidant Parameter)

FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma)

TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

ΕΜΜΕΣΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ

ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ

Λιπιδική καταστροφή	**Πρωτεϊνική καταστροφή**	**Καταστροφή του DNA**
Π.χ. 8-ισοπροστάνια Μηλονυλοδιαλδεϋδη 4-HNE Υδρουπεροξείδια των λιπιδίων Υδροκαρβονύλια (αιθάνια, πεντάνια) Αντισώματα για την ox-LDL	Π.χ. Πρωτεϊνικά καρβονύλια Νιτροτυροσίνη	Π.χ. 8-ohdG (8-υδροξυδεοξυγωανοαίνη)

Μετρήσεις ελευθέρων ριζών

ESR (παραμαγνητικός συντονισμός)

Chemiluminescence (χημειοφωταυγεία)

Μέτρηση H_2O_2

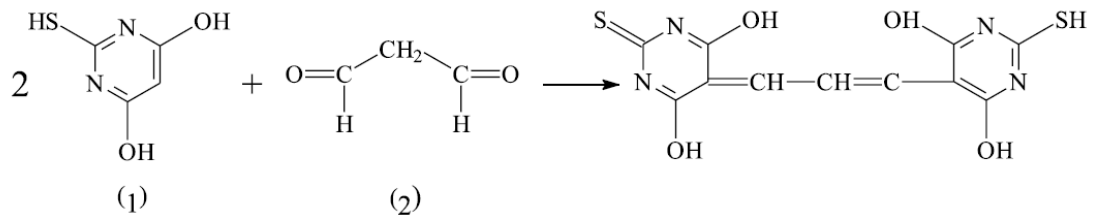
Οι δείκτες οξείδωσης των λιπιδίων είναι από τους πιο συχνά εφαρμοζόμενους στις επιδημιολογικές μελέτες (26). Παρακάτω αναλύεται περαιτέρω ένας από αυτούς τους δείκτες, η MDA/TBARS, ο οποίος χρησιμοποιείται ευρέως για την εκτίμηση της λιπιδικής υπεροξείδωσης σε έναν οργανισμό

1.6.1 Δείκτες λιπιδικής υπεροξείδωσης

Η οξειδωτική καταστροφή σε έναν οργανισμό, μπορεί να ξεκινήσει από τα λιπίδια. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs), είναι περισσότερο ευαίσθητα στη λιπιδική υπεροξείδωση , καθώς η ύπαρξη ενός διπλού δεσμού, χαλαρώνει τους δεσμούς C-H των γειτονικών ατόμων άνθρακα, διευκολύνοντας την αφαίρεση H^+ . Οι ελεύθερες ρίζες όπως η υδροξυλική ($OH^{\cdot}$) και η ρίζα του αλκοξυλίου ($RO^{\cdot}$), ξεκινούν τη λιπιδική υπεροξείδωση στα μιτοχόνδρια τις μικροσωμικές μεμβράνες οι οποίες είναι πλούσιες σε PUFAs. Το γεγονός αυτό μπορεί να μεταβάλλει τις μεμβρανικές ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένης της απενεργοποίησης των μεμβρανοδεσμευτικών πρωτεϊνών και ένζυμων και της διαταραγμένης μεμβρανικής ρευστότητας (27). Τα υπεροξείδια των λιπιδίων μπορούν να τροποποιηθούν περαιτέρω, μέσω αντιδράσεων με μέταλλα (π.χ. Fe και Cu) ή σιδηροδεσμευτικών πρωτεϊνών (π.χ. αιμοσφαιρίνης) (28). Τα προϊόντα που προκύπτουν περιλαμβάνουν ακόρεστες αλδεϋδες (μηλονύλοδιαλδεϋδη-malondialdehyde-MDA και άλλες τοξικές αλδεϋδες), οι οποίες μπορούν να αντιδράσουν με SH- και NH_2- ομάδες πρωτεϊνών, με αλκένια και αλκύλια. Αυτά τα προϊόντα μπορούν να μετατρέψουν τις λειτουργίες των κυττάρων μέσω αναστολής των αναστολέων πρωτεασών (π.χ. αναστολέας α1-πρωτεάσης), ενεργοποιώντας προκολλαγονάσες σε λανθάνουσα μορφή και αντιδρώντας με αραχιδονικό οξύ. Σημαντική είναι η οξείδωση που συμβαίνει στις λιποπρωτείνες του πλάσματος, όπως οι LDL (λιποπρωτείνη χαμηλής πυκνότητας) οι οποίες εμπλέκονται στην παθογένεση της αθηροσκλήρωσης(29). Η οξειδωτική καταστροφή των πολυακόρεστων λιπαρών (PUFAs) των μεμβρανών, οδηγεί στην συσσώρευση των προϊόντων της λιπιδικής υπεροξείδωσης, μερικών των οποίων μπορούν να μετρηθούν ως δείκτες οξειδωτικού στρες, συμπεριλαμβανομένης του F2-ισοπροστανίου, MDA και αλκενίων, αιθανίων, πεντανίων και ισοπρενίου.

1.6.2 MDA/TBARS

Οι Kohn και ο Liversedge (30), ήταν οι πρώτοι που περιέγραψαν την χρωματομετρική αντίδραση του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA) με μια άγνωστη ουσία η οποία σχηματίστηκε κατά την αερόβια επώαση του ομογενοποιημένου ιστού, η οποία αργότερα ταυτοποιήθηκε από τους Patton και Kurtz (31) ως MDA. Στη συνέχεια αυτό το δευτερογενές προϊόν της λιπιδικής υπεροξείδωσης, το TBA έχει υιοθετηθεί ευρέως ως μια ευαίσθητη μέθοδος για την εκτίμηση της λιπιδικής υπεροξείδωσης. Η MDA, παράγεται απο τη διαίρεση των ριζών των υπεροξειδίων, τα οποία είναι αποτέλεσμα της λιπιδικής υπεροξείδωσης και περιέχουν τουλάχιστον δύο διπλούς δεσμούς (18:2, 18:3, 20:4, 22:3, 22:4, 22:5, 22:6). Η αποδόμηση ενός τέτοιου δις-αλλυλικού υπεροξειδίου, μπορεί να καταλυθεί από μέταλλα μετάπτωσης όπως ο σίδηρος ($Fe2^{+}$). Μπορεί επίσης να σχηματισθεί μέσω του μονοπατιού της κυκλοξυγονάσης, με τη διάσπαση του ενός ή του άλλου μισού του PGG_2/H_2 . Το ομόλογο μόριο είναι το 12-υδροξυ-επταδεκατριενοϊκό οξύ (12-HHT). Η διάσπαση αυτή λαμβάνει χώρα μέσω μιας φυσικοχημικής διαδικασίας και μπορεί επίσης να καταλυθεί από τη συνθάση της θρομβοξάνης στα κατάλληλα κύτταρα(32). Η MDA γενικά μπορεί να μετρηθεί σε βιολογικά υγρά (π.χ. σε ούρα, πλάσμα), όπως επίσης και σε απομονωμένα κύτταρα. Ο μηχανισμός της αντίδρασης μέσω της οποίας η MDA παράγεται από τα υπεροξείδια των λιπιδίων έχει περιγραφεί από τον Dahle et al (33). Η MDA αντιδρά παρουσία του TBA για να δημιουργήσουν το μόριο MDA-TBA , ο οποίος πολύ συχνά ποσοτικοποιείται με φασματοφωτόμετρο στα 532nm (34). Οι μετρήσεις αυτές αντανακλούν την υπεροξείδωση και των ω-3, αλλά και των ω-6 λιπαρών οξέων.



Σχήμα 2 : Η αντίδραση του TBA (1) και της MDA (2) η οποία οδηγεί στην παραγωγή του μορίου TBA-MDA

Παρά όμως την απλότητα της συγκεκριμένης μεθόδου, πολλά λάθη μπορεί να δημιουργηθούν κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων μιας δοκιμής TBA. Μια βασική αιτία είναι η αστάθεια που χαρακτηρίζει το μόριο MDA. Η MDA η οποία παράγεται στην ελεύθερη μορφή της *in vivo*, μεταβολίζεται πολύ γρήγορα σε διοξείδιο του άνθρακα και ακετικό οξύ, από την δεϋδρογενάση της αλδεϋδης. Για τον λόγο αυτό, είναι σχεδόν αδύνατο να δημιουργηθεί μια αποδεκτή καμπύλη παλινδρόμησης μόνο με την MDA. Ένα ακόμη μειονέκτημα της μεθόδου με το TBA είναι η άμεση-αντιδραστικότητα της με άλλα συστατικά. Πολλά προϊόντα όπως η ακεταλδεϋδη-

σουκρόζη και τα αναγόμενα σάκχαρα, αντιδρούν με το TBA αποδίδοντας την ίδια χρωστική ουσία με αυτήν που παραλαμβάνεται από την αντίδραση της MDA με το TBA(35). Η εφαρμογή του TBA στα βιολογικά υγρά του ανθρωπίνου οργανισμού, θα μετρήσει επίσης την MDA ως προϊόν διάσπασης των ενδουπεροξειδίων (π.χ. υπεροξείδιο του λινολεϊκού οξέος), τα οποία παράγονται ενζυμικά από την κυκλο-οξυ-γενάση στο μονοπάτι σύνθεσης των προσταγλανδινών (36). Συνεπώς, το ποσοστό των λιπαρών οξέων που προέρχονται από τη διατροφή, επηρεάζει τον προσδιορισμό της MDA. Ωστόσο, πρέπει να τονιστεί ότι το pH της αντίδρασης είναι ο σημαντικότερος παράγοντας που επηρεάζει την αντιδραστικότητα των υπεροξειδίων των λιπαρών οξέων με το TBA (37).

Ο προσδιορισμός της MDA με τη μέθοδο του TBA, συνήθως οδηγεί σε υπερεκτίμηση της καταστροφής που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες. Η απλή μέθοδος TBA, η οποία συμπεριλαμβάνει όλες τις ουσίες που αντιδρούν με το TBA αποδίδωντας προϊόντα το οποία δίνουν απορρόφηση στα 532nm, χρησιμοποιείται ακόμη ευρέως για τη μέτρηση του οξειδωτικού στρες, αλλά είναι δραματικά ατελής και μπορεί να αποδειχθεί παραπλανητική (38). Η MDA μπορεί επίσης να μετρηθεί άμεσα, μέσω της χρήσης HPLC (39), η οποία έχει αποδειχθεί ακριβέστερη σαν μέθοδο, χωρίς όμως να μπορεί να εγγυηθεί κανείς ότι η παρούσα MDA που μετράται με τη μέθοδο αυτή, προκύπτει από διαδικασίες οξείδωσης. Τέλος, το πόσο έντονο και δυνατό είναι το χρώμα το οποίο παράγεται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης του TBA εξαρτάται από τον τύπο και τη δύναμη του οξέος το οποίο χρησιμοποιείται. Εφόσον το κάθε εργαστήρι χρησιμοποιεί διαφορετικές δοκιμές TBA, είναι δύσκολο να συγκρίνουμε αποτελέσματα από τη βιβλιογραφία.

2.0 ΥΠΕΡΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Η αθηροσκλήρωση είναι μια διαδικασία η οποία οδηγεί σε καρδιαγγειακή νόσο (CVD), μια από τις κύριες αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας στις πολιτισμένες κοινωνίες. Η σχέση μεταξύ αυξημένης χοληστερόλης και καρδιαγγειακής νόσου έχει πλήρως τεκμηριωθεί και οι κλινικές

οδηγίες του Διεθνές Παιδαγωγικού Προγράμματος για την χοληστερόλη, για την θεραπεία της υπερχοληστερολαιμίας ταυτοποιούν την LDL ως τον κύριο στόχο θεραπείας (40). Η υπετριγλυκεριδαιμία αυξάνει τον κίνδυνο για στεφανιαία συμβάντα και από κλινικές μελέτες έχει βρεθεί ότι τα υψηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων του ορού αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο (41,42,43,44,45,46). Παρότι η έρευνα έχει επικεντρωθεί στις αγγειακές επιδράσεις της υπερλιπιδαιμίας (π.χ. αθηροσκλήρωση), είναι πλέον αρκετά εμφανή ότι η υπερλιπιδαιμία ασκεί άμεση επίδραση στο μυοκάρδιο, εκτός από τη διαμόρφωση της αθηροσκλήρωσης (45,47). Έχει δειχθεί και από προηγούμενες μελέτες ότι η υπερλιπιδαιμία μετριάζει τις καρδιοπροστατευτικές επιδράσεις της ισχαιμικής προετοιμασίας, μέσω ενός μηχανισμού ανεξάρτητου της αθηροσκλήρωσης και των λοιπών αγγειακών επιπτώσεων της υπερλιπιδαιμίας (47,48,49,50). Επιπρόσθετα, έχει πρόσφατα αποδειχθεί ότι η ήπια υπερχοληστερολαιμία σε συνδυασμό με υπετριγλυκεριδαιμία, οδηγεί σε ήπια συστολική δυσλειτουργία σε απομονωμένα καρδιακά κύτταρα αρουραίων (51) και σε μεταλλάξεις στην έκφραση πολλών γονιδίων υπεύθυνα για ποικίλες λειτουργίες του μυοκαρδίου (52). Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η υπερλιπιδαιμία ασκεί πολύπλοκες επιδράσεις στο μυοκάρδιο.

Αυξημένη παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου και συγκεκριμένα υπεροξειδίων και ελευθέρων ριζών προερχόμενων από τα υπεροξείδια, έχει συσχετισθεί με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία σε πειραματόζωα και υπάρχουν ολοένα και αυξανόμενα στοιχεία που συνδέουν το οξειδωτικό στρες και την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Ένα από τα βασικά ερωτήματα όμως είναι, εάν η δυσλιπιδαιμία συμβάλλει στην αυξημένη παραγωγή ριζών και εάν ναι με ποιον ακριβώς μηχανισμό. Όντως η υπερλιπιδαιμία συνδέεται συχνά με το οξειδωτικό στρες στα αγγεία και το μυοκάρδιο, παρότι ο ακριβής μηχανισμό μίας τέτοιας σχέσης βρίσκεται ακόμα υπο διερεύνηση (47,51,52,53,54). . Παρακάτω αναφέρονται ορισμένες ενδιαφέρουσες μελέτες όσον αφορά το θέμα αυτό, πάνω σε πειραματόζωα και σε ανθρώπους.

Ξεκινώντας από μελέτες η οποίες διεξήχθησαν σε πειραματόζωα, τα αποτελέσματα παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Σε τρωκτικά έχει φανεί ότι η επαγωγή υπερλιπιδαιμίας με τη διατροφή μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένες τιμές MDA (55) και ισοπραστανίων στο πλάσμα (56) αλλά και αυξημένη οξείδωση του DNA, η οποία μπορεί να μειωθεί με παράλληλη μείωση της υπερχοληστερολαιμίας (57). Παράλληλα, στα υπερχοληστερολαιμικά κουνέλια οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί του πλάσματος (επίπεδα γλουταθειόνης, αναγωγάσης γλουταθειόνης, καταλάσης) μειώνονται (58). Επίσης, σε υπερχοληστερολαιμικά πειραματόζωα (κουνέλια, τρωκτικά) έχει φανεί ότι το αρτηριακό τοίχωμα βρίσκεται κάτω από οξειδωτικό στρες λόγω της επαγωγής υπεροξειδικών ανιόντων από τον αγγείο (59), (60), ενώ η μείωση της υπερχοληστερολαιμίας μειώνει ταυτόχρονα το οξειδωτικό στρες του αγγείου αλλά και τους δείκτες φλεγμονής σε αυτό (61). Όσον αφορά την επίδραση της υπερχοληστερολαιμία στο

οξειδωτικό στρες του αγγειακού τοιχώματος έχει φανεί και από μελέτες όπου η χορήγηση αντιοξειδωτικών μέσω της δίαιτας μειώνει το οξειδωτικό στρες και κατ'επέκταση την δυσλειτουργία του αγγείου (62). Σύμφωνα με τους Parker et all , η υπερχοληστερολαιμία, σε συνδυασμό με την εξασθένιση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών του οργανισμού, έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ox-LDL, η οποία με την σειρά της είναι βασικός παράγοντας για το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων και αθηρωματικών πλακών (60). Επιπρόσθετα, σε γενετικά τροποιημένα ποντίκια, τα οποία γίνονται υπερχοληστερολαιμικά λόγω έλλειψης apo-E λιποπρωτείνης (απαραίτητη για το σχηματισμό της HDL), η χορήγηση ενώσεων με αντιοξειδωτική δράση μειώνει τα επίπεδα MDA των LDL λιποπρωτεινών (63). Η μείωση της υπερχληστερολαιμίας σε ποντίκια έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της MDA του πλάσματος (64), ενώ το ίδιο φαίνεται ότι συμβαίνει με τη χορήγηση υποχοληστρολαιμικής αγωγής (ατορβαστατίνη) σε κουνέλια (65). Τέλος, το αυξημένο οξειδωτικό στρες σχετίζεται άμεσα με τη αγγειοσυστολή του αγγειακού τοιχώματος (56).

Μελέτες που έχουν γίνει σε υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς έχουν δείξει ότι η δείκτες του οξειδωτικού στρες είναι αυξημένοι. Συγκεκριμένα ο Wilson et. all μελέτησαν τη σχέση της υπερχοληστερολαιμίας με το οξειδωτικό στρες και την επίδραση αυτών στην ενδοθηλιακή λειτουργία. Πιο συγκεκριμένα, παρατήρησαν ότι η υπερχοληστερολαιμία σχετίζεται με μια φθήνουσα ενδοθηλιοεξαρτώμενη χαλάρωση π.χ. μια εξαφανιζόμενη ενεργότητα NO. Η μεταβαλλόμενη αυτή αγγειοκινητικότητα στην υπερχοληστερολαιμία, εξαρτάται από την αύξηση των επιπέδων της οξειδωμένης LDL, η οποία σε *ex vivo* μελέτες, έχει δειχθεί ότι είναι ικανή να εξασθενήσει την μεταγωγή σημάτων μεταξύ κυττάρων- αποδέκτες του ενδοθηλίου και της παραγωγής NO (66), να παρεμποδίσει τη δραστικότητα της συνθάσης NO (67) και να απενεργοποιήσει την απελευθέρωση NO από τα ενδοθηλιακά κύτταρα(68). Ο τελευταίος μηχανισμός, θα μπορούσε να οδηγήσει σε μια επιταχυνόμενη καταστολή των σχηματισμένων NO μέσω μιας αυξανόμενης υπεροξειδωτικής δραστηριότητας, η οποία είναι υπεύθυνη για την μείωση της διαθεσιμότητας του NO (69,70). Επιπλέον η Sammy Al.Benna και οι συνεργάτες της, προσπάθησαν να αποδείξουν τη σχέση μεταξύ ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, καρδιαγγειακής νόσου και πως το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται στην κατάσταση αυτή. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής, η οποία έγινε σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο, έδειξαν μια συσχέτιση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και των αυξημένων επιπέδων υπεροξειδίων και δεικτών οξειδωτικού στρες στις φλέβες των ασθενών. Η LDL χοληστερόλη, αποδείχτηκε ένας κύριος παράγοντας της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και του οξειδωτικού στρες που βρέθηκε στους ασθενείς (71). Μελέτη που έγινε από τον F.Martino φάνηκε ότι υπερχοληστερολαιμικά παιδιά έχουν αυξημένο οξειδωτικό στρες από νεαρότερη ηλικία και μέσω αυτού του μηχανισμού είναι πιθανόν να αναπτύξουν νωρίς αθηρωματικές αλλοιώσεις (72). Από την άλλη, τα

ερυθροκύτταρα υπερχοληστερολαιμικών ασθενών έχουν εξασθενισμένους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς σε σχέση με με αυτούς νορμοχοληστερολαιμικών ασθενών (73), ενώ υπερλιπιδαιμικοί ασθενείς έχουν αυξημένα επίπεδα λιπιδικών υπεροξειδίων σε σχέση με φυσιολογικούς εθελοντές (74). Ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία έχουν αυξημένα επίπεδα ισοπροστανίων, TBARS και λιπιδικών υπεροξειδίων στον ορό και στα ούρα και το αυξημένο οξειδωτικό στρες των ασθενών αυτών σχετίζεται με δυσχερέστερη ενδοθηλιακή λειτουργία. Ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία έχουν αυξημένα επίπεδα ισοπροστανίων, TBARS και λιπιδικών υπεροξειδίων στον ορό και στα ούρα (75,77), ενώ φάνηκε ότι υπερχοληστερολαιμικοι ασθενείς έχουν και αυξημένες ελεύθερες ρίζες οξυγόνου στα λευκοκύτταρα τους (78).

Από παρεμβάσεις που έχουν γίνει για τη μείωση της χοληστερόλης σε υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα. Μελέτη που πραγματοποιήθηκε από την De Caterina et all φάνηκε ότι η χορήγηση σιμβαστατίνης σε υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς οδήγησε σε μείωση της LDL-C με ταυτόγχρονη μείωση των F2-ισοπροστανίων (79). Ωστόσο από παρέμβαση που έχει γίνει με φυτοστερόλες, ενώ παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της χοληστερόλης, δεν φάνηκε να υπήρξε μεταβολή σε δείκτες οξειδωτικού στρες (80)

3.0 ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

3.1 Εξωγενή αντιοξειδωτικά-αντιοξειδωτικά της διατροφής

3.1.1 Ποια είναι τα βασικά αντιοξειδωτικά που λαμβάνουμε από τα τρόφιμα και πως λειτουργούν

Από τα τέλη του 19^{ου} αιώνα εως και τις αρχες του 20^{ου}, ένα μεγάλο τμήμα ερευνών έχει εξετάσει τα αντιοξειδωτικά συστατικά των τροφίμων, μια αόριστα καθορισμένη ομάδα συστατικών τα οποία χαρακτηρίζονται από την ικανότητά τους να περιορίζουν το οξειδωτικό στρες με το να δρουν μη-ενζυματικά με ένα οξειδωτικές ενώσεις (81). Τα συστατικά αυτά έχουν χρησιμοποιηθεί στην αποθήκευση τροφίμων και των βουλκανισμό των σκουπιδιών, αλλά μόλις πρόσφατα οι βιολόγοι συνειδητοποίησαν την σημαντικότητα των αντιοξειδωτικών στην υγεία, με τις ανάλογες δημοσιεύσεις το 1960για τις βιταμίνες και τα φλαβινοειδή, τις οποίες ακολούθησαν το 1970 έρευνες για το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), τον καρκίνο και το κοινό κρυολόγημα (82). Επίσης αρκετές μελέτες έχουν ασχοληθεί και έχουν μελετήσει τον πιθανό ρόλο των αντιοξειδωτικών της τροφής στην πρόληψη χρόνιων ασθενειών όπως ο καρκίνος (2-6

AR), καρδιαγγειακές ασθένειες (83) ο καταρράκτης και η γήρανση, ασθένειες στην παθογένεια των οποίων εμπλέκεται η οξείδωση των λιπιδίων, των νουκλεϊκών οξέων και των πρωτεϊνών. Παρόλαυτά, οι μελέτες στο συγκεκριμένο ερευνητικό πεδίο δημιούργησαν δεδομένα τα οποία ταυτόχρονα υποστηρίζουν και αμφισβητούν τον ρόλο των αντιοξειδωτικών στην πρόληψη ασθενειών. Τα κύρια αντιοξειδωτικά που λαμβάνουμε από τις τροφές και ο ρόλος τους αναλύονται παρακάτω:

α) <u>Βιταμίνη Ε/ α-τοκοφερόλη :</u>

Η βιταμίνη Ε είναι ένας γενικός όρος ο οποίος αναφέρεται σε 4 διαφορετικές τοκοφερόλες και 4 διαφορετικές τοκοτριενόλες. Η α-τοκοφερόλη είναι η δεσπόζουσα μορφή λόγο της δραστικότητάς της, αλλά και επειδή είναι η μόνη μορφή η οποία εντοπίζεται στο ανθρώπινο πλάσμα (84). Η βιταμίνη Ε εντοπίζεται σε πολλά φυτικά έλαια (π.χ. ηλιέλαιο, ελαιόλαδο), στα αμύγδαλα και στα φουντούκια και συμπληρώματα της βιταμίνης αυτής συμπεριλαμβάνουν είτε τη συνθετική μορφή της α-τοκοφερόλης, είτε τη φυσική της μορφή. Η α-τοκοφερόλη αποτελεί το κύριο μέσω εκκαθάρισης των ελευθέρων ριζών στον οργανισμό. Συγκεκριμένα, οι τοκοφερόλες παρεμποδίζουν τη λιπιδική υπεροξείδωση, καθώς απομακρύνουν ρίζες λιπιδικών υπεροξειδίων πολύ πιο γρήγορα από όσο μπορούν να δράσουν οι ρίζες αυτές στα γειτονικά λιπαρά οξέα της αλυσίδας ή στην μεμβράνη των πρωτεϊνών. Η αντίδραση που πραγματοποιείται είναι η εξής:

α- τοκοφερόλη -λιπίδιο-$O_2^{\cdot}$ → α-τοκοφερόλη. + λιπίδιο-O_2H

Το –OH τμήμα της τοκοφερόλης δίνει το άτομο του υδρογόνου στην υπεροξειδική ρίζα, μετατρέποντάς το σε λιπιδικό υπεροξείδιο. Η διαδικασία αυτή, αφήνει ένα μονήρες ηλεκτρόνιο στο $O^{\cdot}$, το οποίο παράγει μια ρίζα τοκοφερόλης (α-$T^{\cdot}$). Για τον λόγο αυτό η α-τοκοφερόλη αποτελεί αντιοξειδωτικό το οποίο διασπά την αλυσιδωτή αντίδραση των λιπιδικών υπεροξειδίων, ενώ η ίδια μετατρέπεται σε ρίζα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας που έχει όμως μειωμένη ικανότητα να εμπλέκεται σε οξειδωαναγωγικές αντιδράσεις (1). Ωστόσο, η α-$T^{\cdot}$ είναι ακόμη ενεργή. Έχει φανεί ότι η α-$T^{\cdot}$ μπορεί να συμμετάσχει στη λιπιδική υπεροξείδωση της LDL (85,86). Συσσώρευση της α-$T^{\cdot}$ η άλλων αντιοξειδωτικών ριζών μπορεί ουσιαστικά να αποτελέσει ένα από τα αίτια των αντίστροφων αποτελεσμάτων που παρατηρούμε σε τυχαιοποιημένες μελέτες με συμπληρώματα αντιοξειδωτικών. Παρόλαυτά, υπό φυσιολογικές συνθήκες, η α-τοκοφερόλη μπορεί να αναγεννηθεί από την αντίδραση της α-Τ. με το ασκορβικό οξύ (87,88) , αλλά δεν μπορεί να γίνει το αντίστροφο.

β) <u>β-καροτένιο</u>:

Η βιταμίνη Α (ρετινόλη) και ορισμένα καροτενοειδή, κυρίως το β-καροτένιο (πρόδρομος της βιταμίνης Α) και η μη-πρόδρομες της βιταμίνης Α ουσίες λουτείνη και λυκοπένιο, είναι ιδιαίτερα διαδεδομένα στο φυτικό βασίλειο . Το β-καροτένιο είναι λιποδιαλυτή βιταμίνη, η οποία μεταφέρεται μαζί με τη βιταμίνη Ε στο λιπώδες τμήμα των LDL μορίων και βρίσκεται σε πολλά φρούτα και λαχανικά (καρότα, κολοκύθες, ροδάκινο, λάχανο, σπανάκι μπρόκολο). Τα καροτενοειδή έχουν ουσιαστικές ικανότητες εκκαθάρισης και άμεσης εξουδετέρωσης του μονήρες οξυγόνου, είτε σε διάλυμα, είτε στα μεμβρανικά συστήματα(89), ενώ παράλληλα ενισχύουν την αντίσταση της LDL χοληστερόλης ενάντια στην οξείδωση(90,91).

γ) <u>Βιταμίνη C (</u>ασκορβικό οξύ):

Η βιταμίνη C είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη η οποία βρίσκεται στα φρούτα, κυρίως εσπεριδοειδή και στα λαχανικά. Είναι ένας καλός εκκαθαριστής πολλών ελευθέρων ριζών όπως του υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot -}$) και του υδρογόνου, απενεργοποιεί καρκινογόνα συστατικά που περιέχονται στα τρόφιμα και αναγεννά την α-τοκοφερόλη από τη ρίζα της (α-T$^{\cdot}$) στις μεμβράνες. Επίσης μπορεί να προστατέψει τους πνεύμονες από ρυπαντικά αέρια όπως το όζον και τα οξείδια του αζώτου και από τον καπνό του τσιγάρου(1). Όσον αφορά τη δραστικότητα της βιταμίνης C στην οξείδωση της LDL , υπάρχουν επαρκή αποδεικτικά στοιχεία από μελέτες in vitro , ότι η βιταμίνη αυτή παρεμποδίζει αποτελεσματικά την οξείδωση της LDL (92). Το ασκορβικό οξύ προλαμβάνει την οξειδωτική τροποποίηση της LDL, αρχικά εκκαθαρίζοντας ελεύθερες ρίζες και άλλες ενεργές μορφές, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω και ως εκ τούτου προλαμβάνει την αλληλεπίδρασή τους με την LDL. Επιπρόσθετα στο δυναμικό της ως εκκαθαριστής ελευθέρων ριζών, ο Retsky και οι συνεργάτες του (93), έχουν αποδείξει ότι το ασκορβικό οξύ προστατεύει την LDL από την τροποποίηση που διαμεσολαβείτε με τον χαλκό, μειώνοντας την αναγωγή του Cu^{2+} στην LDL (94):

Cu^{2+} + ασκορβικό → Cu^{+} + ασκορβικό$^{\cdot}$

Το ασκορβικό οξύ ως αναγωγικό μέσο, είναι ικανό να ανάγει τα ιόντα σιδήρου διευκολύνοντας έτσι την απορρόφησή του στο επιγάστριο(1):

Fe^{3+} + ασκορβικό → Fe^{2+} + ασκορβικό$^{\cdot}$

Από την άλλη πλευρά, παρουσία του H_2O_2 το ασκορβικό οξύ μπορεί να διευκολύνει την τροποποίηση του OH$^{\cdot}$, τροποποιώντας τον Fe^{2+} και τον Cu^{+}, τα οποία αντιδρούν με το H_2O_2 και δίνουν OH$^{\cdot}$. Μείγματα σιδήρου και ασκορβικού, χρησιμοποιούνται συχνά για να διευκολύνουν την λιπιδική υπεροξείδωση σε απομονωμένες μεμβράνες(1).

δ)<u>Σελήνιο (Se):</u>

Το ιχνοστοιχείο σελήνιο το οποίο εισέρχεται στην τροφική αλυσίδα μέσω των φυτικών ελαίων και του κρέατος, είναι ένα απαραίτητο συστατικό, θεμελιώδους σημασίας για την ανθρώπινη βιολογία . Αυτό έχει γίνει προφανές καθώς νέες έρευνες έχουν δείξει έναν έως τώρα ανυποψίαστο ρόλο του ιχνοστοιχείου αυτού, πολύ σημαντικό για την ανθρώπινη υγεία. Ως σεληνοκυστεϊνη, το 21° αμινοξύ, το σελήνιο είναι ένα συστατικό των σεληνοπρωτεϊνών μερικές από τις οποίες έχουν σημαντικές ενζυμικές λειτουργίες (95). Το σελήνιο δρα επίσης και ως οξειδοαναγωγικό κέντρο με πιο γνωστό παράδειγμα την οξειδοαναγωγική του λειτουργία στην αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου και των καταστροφικών υδροϋπεροξειδίων των λιποπρωτεϊνών και των φωσφολιποειδών, με την σεληνοεξαρτώμενη υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (95,96,97). Αυτή η λειτουργία βοηθά στη διατήρηση της μεμβρανικής ακεραιότητας (97,98), προστατεύει την παραγωγή προστακυκλινών (98) και μειώνει την πιθανότητα διάδοσης της οξειδωτικής καταστροφής σε βιομόρια όπως λιπίδια, λιποπρωτεϊνες και DNA η οποία καταστροφή σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για καταστάσεις όπως αθηροσκλήρωση και καρκίνος (97,98). Να σημειωθεί ότι το σελήνιο εκτός από καταστάσεις οξειδωτικού στρες και φλεγμονής συμμετέχει στις λειτουργίες του ανοσοποιητικού, του θυρεοειδούς, στην αναπαραγωγή (99) και στις συναισθηματικές αλλαγές του ανθρώπου (100,101,102). Επίσης το σελήνιο φαίνεται να παίζει προστατευτικό ρόλο ενάντια στα καρδιαγειακά νοσήματα (98) και τον καρκίνο (103).

στ)<u>Πολυφαινόλες:</u>

Οι πολυφαινόλες των φυτικών τροφών είναι μια πολύπλευρη ομάδα φυτοχημικών με πολλές ενδεχομένως ευεργετικές δράσεις στην πρόληψη ασθενειών. Το ενδιαφέρον στις πολυφαινόλες έχει επικεντρωθεί σε μία ομάδα η οποία αναφέρεται ως φλαβινοειδή, υπάρχει σε όλες τις φυτικές τροφές και ποικίλει δομικά (φλαβονόλες, φλαβόνες, ισοφλαβόνες, φλαβονόνες και ανθοκυανίνες). Ωστόσο, η ακριβής θεραπευτική δράση ατών των συστατικών δεν έχει διευκρινιστεί ακόμη λόγω της έλλειψης γνώσης των σύνθετων οδών απορρόφησης, βιομετατροπής και βιοδιαθεσιμότητά τους. Παρότι πολλαπλές *in vitro* μελέτες έχουν αποφέρει εκπληκτικά αποτελέσματα χρησιμοποιώντας πολυφαινόλες από φυτά, απαιτούνται πολλές ακόμα λεπτομερείς διερευνήσεις για να διεξαχθούν ουσιαστικά αποτελέσματα για *in vivo* καταστάσεις. Γενικώς έχει δειχθεί ότι οι διαιτητικές πολυφαινόλες έχουν ταυτόχρονα αντιοξειδωτική (104,105) όπως επίσης και αντιφλεγμονώδη δράση (104,106). Πιο συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι τα φλαβονοειδή δρουν ενάντια στην οξείδωση της LDL και ότι η αντιοξειδωτική τους ικανότητα σχετίζεται με την χημική δομή τους (107). Πολλές *in vitro* μελέτες προτείνουν ισχυρά ότι οι πολυφαινόλες αυξάνουν την αντίσταση της LDL στην

οξείδωση (108,109,110,). Επιπλέον, από μελέτες παρέμβασης που έχουν γίνει σε ανθρώπους, έχει βρεθεί ότι τα φλαβονοειδή ασκούν ευεργετική επίδραση στην λειτουργία του ενδοθηλίου μειώνοντας την συσσώρευση των αιμοπεταλίων (111,112), λειτουργώντας έτσι αντιθρομβωτικά.

ζ) <u>ω-3 λιπαρά οξέα</u>:

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει μια φαινομενικά ευεργετική επίδραση των ελαίως από ψάρια τα οποία είναι πλούσια σε ω-3πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), στην θνητότητα από καρδιαγγειακά νοσήματα και καρκίνο (113-117). Αυτό το αποτέλεσμα έχει αποδοθεί στην υποτριγλυκεριδαιμική δράση (118) και τις αντισυσσωρευτικές ιδιότητες των μακράς αλύσου ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (εικοσαπεντανοϊκό-EPA : 20:5n-3, δοκοσαεξανοϊκό-DHA: 22:6n-3), τα οποία βρίσκονται σε αφθονία στα ιχθυέλαια. Βραχύχρονη πρόσληψη EPA και DHA έχει αποτελέσματα στην ενσωμάτωσή τους στις λιποπρωτείνες και στα φωσφολιποειδή των μεμβρανών των ερυθροκυττάρων(119,120). Προηγούμενες μελέτες υπέδειξαν ότι αλλαγές στην σύνθεση ή τη διανομή των φωσφολιποειδών σχετίζεται με λειτουργικές μετατροπές στις μεμβράνες των ερυθροκυττάρων όπως επίσης και σε άλλα κύτταρα(121-124). Για παράδειγμα, η λιπιδική υπεροξείδωση στις μεμβράνες, η οποία εξαρτάται από τη σύνθεση των λιπαρών οξέων των μεμβρανών και την αναλογία αντιοξειδωτικών συστατικών (κυρίως βιταμίνης Ε), μαζί με την πρωτεϊνική υπεροξείδωση, οδηγεί στην απώλεια της μεμβρανικής ακεραιότητας και λειτουργίας, όπως συμβαίνει κατά την αιμόλυση. Συνεπώς η αυξημένη ενσωμάτωση των EPA και DHA στις μεμβράνες, η οποία συνεπάγεται από την αυξημένη κατανάλωσή τους, μπορεί να μετατρέψει την ανταπόκριση των ερυθροκυττάρων στις οξειδωτικές απειλές (125). Από μελέτες που έγιναν σε ανθρώπους και κουνέλια, παρατηρήθηκε ότι αυξημένη αναλογία ω-3 λιπαρών οξέων σε μεμβράνες ερυθροκυττάρων, προάγει την λιπιδική υπεροξείδωση αλλά ταυτόχρονα μειώνει την αιμόλυση (126,127). Παρόλαυτά έχει αποδειχθεί ότι τα ω-3 ασκούν ευεργετικές επιδράσεις σε παράγοντες που σχετίζονται με την παθοφυσιολογία της φλεγμονής, δρώντας ως αντιοξειδωτικά. Συγκεκριμένα, τα ω-3 περιορίζουν την κυτταρική καταστροφή, την οξείδωση της LDL και απενεργοποιούν τον μεταβολισμό του αραχιδονικού, καταστάσεις οι οποίες ενεργοποιούνται από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Επιπλέον, περιορίζουν την μετατροπή των εικοσανοειδών η οποία διεγείρεται από τα υπεροξείδια των λιπιδίων.

Κλείνοντας το κεφάλαιο των εξωγενών αντιοξειδωτικών που λαμβάνουμε από την τροφή, αξίζει να σημειωθεί ότι παρότι υπάρχουν πολλά αντιοξειδωτικά σε κάθε ξεχωριστό φυτό, η καταστροφή μιας σύνθετης πορείας για ένα μόνο αντιοξειδωτικό, μπορεί να προκαλέσει τραυματισμό στην μεμβράνη του φυτού(128).Κατ' επέκταση, φαίνεται ότι χρειάζεται ένας

συνδυασμός διαφορετικών αντιοξειδωτικών για να διατηρηθούν τα φυτικά κύτταρα υγιή και να προστατεύονται από το οξειδωτικό στρες. Ως εκ τούτου, πιθανόν να χρειάζεται και ένας συνδυασμός από μια ποικιλία διαφορετικών αντιοξειδωτικών για να προστατευθούν και τα ζωικά κύτταρα από το οξειδωτικό στρες.

3.1.2 Λοιπά εξωγενή αντιοξειδωτικά

Στα εξωγενή αντιοξειδωτικά εντάσσονται και τα διαιτητικά συμπληρώματα με CoQ_{10}, γλουταθειόνη, λιποϊκό οξύ και άλλα, τα οποία δεν παραλαμβάνονται απο τα τρόφιμα αλλα από ειδικά διαιτητικά συμπληρώματα, όπως επίσης και αντιοξειδωτικά που προστίθενται στα επεξεργασμένα τρόφιμα π.χ. BHT, BHA, προπυλογαλλικό οξύ, TBHQ, απόσταγμα από δεντρολίβανο (2).

4.0 ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ ΜΕ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟ

4.1 Το γάλα

Το γάλα είναι ένα πολύπλοκο στη φυσιολογία του υγρό το οποίο παρέχει θρεπτικά και βιοενεργά συστατικά τα οποία διευκολύνουν την προσαρμογή του νεογνού, ενεργοποιώντας την κυτταρική ανάπτυξη και ωρίμανση του πεπτικού συστήματος. Ο αριθμός, η δραστικότητα και η σημασία των βιοενεργών συστατικών του γάλακτος και των προϊόντων του που έχουν υποστεί ζύμωση, είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτήν που πίστευαν παλαιότερα. Τα συστατικά αυτά περιλαμβάνουν συγκεκριμένες βιταμίνες, πρωτεΐνες, βιοενεργά πεπτίδια, ολιγοσακχαρίτες και οργανικά οξέα συμπεριλαμβανομένων και των λιπαρών. Μερικά από αυτά είναι φυσιολογικά συστατικά του γάλατος, ενώ άλλα αναδύονται κατά την διάρκεια της διαδικασίας της πέψης ή της ζύμωσης. Γαλακτοκομικά προϊόντα τα οποία έχουν υποστεί ζύμωση με προβιοτικά βακτήρια μειώνουν την απορρόφηση της χοληστερόλης. Οι πρωτεΐνες του ορού του γάλατος, τα μέσης αλύσου λιπαρά οξέα και ιδιαίτερα το ασβέστιο και άλλα μέταλλα μπορεί να συνεισφέρουν στην ευεργετική επίδραση των γαλακτοκομικών στη σύσταση λίπους και μυϊκού ιστού στον ανθρώπινο οργανισμό. Υπάρχουν ολοένα αυξανόμενα στοιχεία για τον ρόλο που παίζουν οι πρωτεΐνες του γάλακτος στο αίσθημα του κορεσμού, την πρόσληψη τροφής και την νοσογόνο παχυσαρκία. Οι πρωτεΐνες του γάλατος, τα πεπτίδια, το ασβέστιο και υπόλοιπα μέταλλα μπορούν να μειώσουν σε σημαντικό βαθμό και την αρτηριακή πίεση. Τα λιπίδια που εμπεριέχονται στο γάλα αποτελούν μια πληθώρα συστατικών με λειτουργικές ιδιότητες. Για παράδειγμα τα σφιγγολιπίδια και οι ενεργοί μεταβολίτες τους μπορούν να ασκήσουν

αντιμικροβιακή δράση είτε άμεσα είτε κατά τη διάρκεια της πέψης. Συνεπώς το γάλα, ακόμη και μη εμπλουτισμένο με επιπλέον συστατικά, αποτελεί από μόνο του ένα σημαντικό τρόφιμο το οποίο όχι μόνο αποτελεί πηγή ενέργειας για τον οργανισμό, αλλά ασκεί παράλληλα και ευεργετική επίδραση στην σωστή λειτουργία του. (129)

4.2 Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα και κίνδυνος για καρδιαγγειακή νόσο

Η καρδιαγγειακή νόσος (CVD) είναι η κύρια αιτία θανάτου στην Ευρώπη, τις Ηνωμένες Πολιτείες και ενός μεγάλου τμήματος της Ασίας. Μια ποικιλία παραγόντων κινδύνου σχετίζονται με την CVD, συμπεριλαμβανομένων των υψηλών επιπέδων χοληστερόλης , ομοκυστεϊνης πλάσματος, της υπέρτασης, του διαβήτη, των χαμηλών επιπέδων HDL χοληστερόλης και των χαμηλών επιπέδων αντιοξειδωτικών περισσότερο αυτών που προσλαμβάνονται από την δίαιτα(130). Η δίαιτα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της συγκέντρωσης χοληστερόλης πλάσματος (131,132). Από διεθνείς έρευνες παρατηρήθηκε ότι πολλοί πληθυσμοί ενώ ακολουθούσαν δίαιτα υψηλού κινδύνου, τα περιστατικά καρδιαγγειακής νόσου ήταν μηδαμινά. Ανάμεσα σε πολλούς πιθανούς παράγοντες των διαιτών των συγκεκριμένων πληθυσμών, οι οποίοι προκαλούσαν υποχοληστερολαιμία, ταυτοποιήθηκε το γάλα και τα προϊόντα του. Για δεκαετίες επικρατούσε η υπόθεση ότι η πρόσληψη τροφίμων με υψηλή σύσταση ζωικού λίπους συμπεριλαμβανομένων και των λιπαρών του γάλατος, σχετίζεται με υψηλό κίνδυνο για εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου. Η άποψη ότι τα γαλακτοκομικά προϊόντα τα οποία χαρακτηρίζονται από υψηλή σύσταση σε κορεσμένα λιπαρά (SFAs) και χοληστερόλη είναι αθηρογόνα, , πηγάζει από οικολογικές μελέτες (133,134). Συνεπώς, έχει προταθεί η συσχέτιση μεταξύ κατανάλωσης λιπαρών από το γάλα και θνητότητα από CVD (135,136). Επιπροσθέτως, μελέτες έχουν δείξει μείωση της θνητότητας σε πληθυσμούς έπειτα από αλλαγές στη διατροφή και τον τρόπο ζωής. Για παράδειγμα ο χαμηλός δείκτης θνητότητας ο οποίος παρατηρήθηκε σε περιοχή της Αμερικής, αποδόθηκε στην μείωση της πρόσληψης SFAs και χοληστερόλης (από γαλακτοκομικά) και στην αύξηση των φρούτων και λαχανικών, με παράλληλες αλλαγές στον τρόπο ζωής (137). Μερικές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει μια και τη συσχέτιση μεταξύ πρόσληψης γάλακτος και θνητότητα από CVD (138) και έχουν δείξει ότι το πλήρες σε σύγκριση με τα χαμηλό σε λιπαρά γάλα, σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο από καρδιαγγειακή νόσο (139). Αποτελέσματα όμως άλλων μελετών υποστηρίζουν τη συσχέτιση μεταξύ γαλακτοκομικών προϊόντων και θνητότητας από CVD (140-144). Επομένως τα αποτελέσματα της πρόσληψης γάλατος και γαλακτοκομικών προϊόντων στον κίνδυνο για εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσους και του δείκτες της, είναι αντικρουόμενα.

4.3 Παρεμβάσεις με γαλακτοκομικά προϊόντα και συσχέτιση αυτών με λιπίδια του ορού

Ενδιαφέρον στην επίδραση του γάλακτος στις συγκεντρώσεις χοληστερόλης, μελετήθηκε πρώτα στην φυλή των Μασάι της Αφρικής (145). Ο πληθυσμό αυτός καταναλώνει μεγάλες ποσότητες κρέατος, αίματος, όπως έπίσης και γάλατος. Παρά αυτήν την αθηρογεννετική διατροφή, τα περιστατικά με καρδιαγγειακή νόσο στον πληθυσμό ήταν ιδιαίτερα χαμηλά. Το γάλα προτάθηκε ως το τρόφιμο στη διατροφή αυτή, το οποίο τους προστατεύει ενάντια στην CVD. Έπειτα από τις πρώτες αυτές μελέτες στον πληθυσμό των Μασάι, ακολούθησαν και άλλες μερικές από τις οποίες αναφέρονται παρακάτω. Μελέτη με έφηβους Σουηδούς 15 ετών, έδειξε ότι η εκτιμούμενη πρόσληψη λιπαρών οξέων από το γάλα (4:0-14:0), σχετίστηκε σημαντικά αντίστροφα με τις συγκεντρώσεις της χοληστερόλης του ορού και της απολιποπρωτείνης Β (apo-B) στα κορίτσια ($P<0,05$ για όλα) και υπήρξε μία αντίστροφη σχέση μεταξύ της εκτιμούμενης πρόσληψης C 12:0 και apo-B ($P<0,001$) στα αγόρια. Τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίχθηκαν από μια σημαντικά αντίστροφη σχέση μεταξύ των 12:0 και 15:0 στους εστέρες χοληστερόλης του ορού και της συγκέντρωσης χοληστερόλης ορού σε αγόρια και κορίτσια ($P<0,005$ για όλα). Έκπληκτοι από τις συσχετίσεις αυτές οι συγγραφείς, πρότειναν ότι τα κορεσμένα λιπαρά του γάλατος περιέχουν ή σχετίζονται με κάποια συστατικά της δίαιτας ή χαρακτηριστικά της τροφής, τα οποία εξισορροπούν την προβλεπόμενη θετική συσχέτιση μεταξύ SFAs και συγκέντρωσης χοληστερόλης ορού (146). Μια ακόμη μελέτη με 291 άνδρες από τον ίδιο πληθυσμό (62-64 ετών) με ποικίλη ινσουλινοευαισθησία (147), απέδειξε ότι τα προερχόμενα από το γάλα λιπαρά οξέα, σχετίζονταν με ένα καλύτερα προφίλ της LDL. Ο αριθμός των μικρών πυκνών LDL μορίων συσχετίστηκε αρνητικά με την κατανάλωση γαλακτοκομικών, η οποία εκτιμήθηκε από το μερίδιο των προερχόμενων από τα μηρυκαστικά λιπαρά οξέα στον λιπώδη ιστό. Σε αντίθεση με τα παραπάνω αποτελέσματα από μια προοπτική μελέτη 834 γυναικών και 461 ανδρών από την Ιαπωνία (40-79 ετών) (148) έδειξε θετική συσχέτιση μεταξύ κατανάλωσης γαλακτοκομικών και λιπιδίων του ορού (LDL χοληστερόλη:$P<0,001$, HDL:$P<0.05$ και TG:$P<0,001$). Η κατανάλωση γαλακτοκομικών εκτιμήθηκε με ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα γαλακτοκομικά προϊόντα μπορεί να έχουν μη επιθυμητή επίδραση στην υπερχοληστερολαιμία στον πληθυσμό της Ιαπωνίας. Επιπλέον ο Steinmetz και οι συνεργάτες του (149), σύγκριναν την επίδραση του χαμηλού σε λιπαρά γάλατος με αυτήν του πλήρες στην συγκέντρωση της χοληστερόλης, χρησιμοποιώντας έναν διασταυρούμενο σχεδιασμό στον οποίο οι συμμετέχοντες κατανάλωναν δίαιτα σύμφωνα με συστάσεις της AHA. Κάθε συμμετέχοντος

κατανάλωνε 660 Ml γάλατος/ημέρα ως μέρος 2 πειραματικών διαιτών, για 6 εβδομάδες. Δείγματα αίματος παραλαμβάνονταν στην αρχή, στην $3^{η}$ και τέλος στην $6^{η}$ εβδομάδα, για ανάλυση ολικής χοληστερόλης, LDL, HDL και τριγλυκεριδίων (TG). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρξε σημαντική μείωση της ολικής χοληστερόλης στην ομάδα του γάλατος χαμηλού σε λιπαρά, σε σύγκριση με αυτήν που κατανάλωνε το πλήρες. Η ολική και η LDL χοληστερόλη μειώθηκε κατά 0,40mmol/L και0,19 mmol/L αντίστοιχα, έπειτα από 6 εβδομάδες κατανάλωσης γάλατος χαμηλού σε λιπαρά, σε σχέση με τις αρχικές συγκεντρώσεις (baseline). Ωστόσο, από αυτή τη μελέτη δεν μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι το γάλα μειώνει τη συγκέντρωση της χοληστερόλης, καθώς και οι 2 δίαιτες ήταν χαμηλές σε λίπος σε σύγκριση με τις συνήθεις δίαιτες. Ο Golay et al (150), σύγκριναν το ελαφρύ γάλα με το ελαφρύ γάλα από διασφαλισμένες αγελάδες σε 11 άνδρες με αρχικές συγκεντρώσεις χοληστερόλης 7,01mmol/L. Οι συγγραφείς βρήκαν ότι υπήρξε μια σημαντική μείωση στην ολική χοληστερόλη και την LDL όταν το ελαφρύ γάλα από τις διασφαλισμένες αγελάδες καταναλώνονταν σε ποσότητες<0,3-0,5L/ημέρα για 8 εβδομάδες, σε ένα ελεγχόμενο διαιτητικό περιβάλλον. Τέθηκε η υπόθεση ότι τα υψηλά επίπεδα IgG ήταν υπεύθυνα για τη μείωση της χοληστερόλης. Όλες οι παραπάνω μελέτες έχουν καταλήξει ότι το γάλα είτε πλήρες, είτε ελαφρύ, μειώνει την χοληστερόλη του ορού. Κάθε μία προτείνει έναν διαφορετικό μεσολαβητή για τις επιδράσεις αυτές του γάλακτος, καμία όμως δεν επιχείρησε να δείξει ποιο συστατικό στο γάλα είναι αυτό που προκαλεί την υποχοληστερολαιμική αυτή δράση.

4.4 <u>Παρεμβάσεις με γάλα εμπλουτισμένο με φυτικές στερόλες και στανόλες</u>

Στην μελέτη των Plana et al μελετήθηκε η επίδραση ενός γάλατος, το οποίο είχε υποστεί ζύμωση και ήταν εμπλουτισμένων με φυτοστερόλες, στα επίπεδα της LDL χοληστερόλης 40 υπερχοληστερολαιμικών ασθενών. Τόσο στην ομάδα ελέγχου (control group, n=43), όσο και στην ομάδα του γάλατος (n=40), δόθηκαν οδηγίες για σωστή διατροφή και η παρέμβαση διήρκησε 42 ημέρες. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν μείωση της LDL κατά 10,6% στην ομάδα των φυτοστερολών, σε σύγκριση με αυτά της ομάδας ελέγχου, όπως επίσης και μείωση των συγκεντρώσεων των τριγλυκαιριδίων κατά 14%, ενώ η HDL παρέμεινε ανεπηρέαστη (151). Πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή μελέτη στην Ιταλία, παρακολούθησε την επίδραση εμπλουτισμένου με φυτοστερόλες γάλατος τόσο στα λιπίδια του αίματος, στις στερόλες, όπως επίσης και σε δείκτες οξειδωτικού στρες (8-ισοπροστάνη), σε υπερχοληστερολαιμικούς ενήλικες. Η μια ομάδα (n=60) λάμβανε 1,6g φυτοστερολών εμπλουτισμένων σε γάλα

καθημερινά, ενώ η ομάδα ελέγχου (n=56) λάμβανε ένα συνηθισμένο γάλα (Placebo). Έπειτα από 6 εβδομάδες κατανάλωσης του σκευάσματος, η LDL χοληστερόλη μειώθηκε από 166±2,0 στα 147,7± 2,8 mg/dl (P=0.01). Μια σημαντική μείωση παρατηρήθηκε στην ολική χοληστερόλη από 263,5±2,6 στα 231±3,2 mg/dl (P=0,01). Υπήρξε μεγαλύτερη μείωση της LDL χοληστερόλης σε υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς οι οποίοι είχαν υψηλότερη LDL στην αρχή της μελέτης. Επίσης παρατηρήθηκε μείωση του 8-ισοπροστανίου του πλάσματος στου ασθενείς που λάμβαναν το γάλα με τις φυτοστερόλες (από 43,07±1,78 στο38,04±1,14) αλλά όχι σε αυτούς με το placebo. Τα επίπεδα της καμπεστερόλης και της β-σιτοστερόλης του ορού δεν επηρεάστηκαν από την κατανάλωση φυτοστερολών (152). Μια ακόμη παρόμοια μελέτη διεξήχθη από τον Peter M. Clifton και τους συνεργάτες του, όπου τα άτομα κατανάλωναν 300ml/ημέρα placebo ή γάλα με εστέρες φυτοστερολών (PsteE-γάλα), είτε μόνο του, είτε σε συνδυασμό με 25g/ημέρα PsteE-spread. Στην μελέτη συμμετείχαν 39 άτομα (21 άνδρες και 18 γυναίκες) και η παρέμβαση διήρκησε 3 εβδομάδες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τόσο το PsteE-γάλα όσο και το PsteE-spread ήταν το ίδιο αποτελεσματικά στη μείωση της ολικής και LDL χοληστερόλης κατά 6% και 8-10% σε σύγκριση με το placebo. Δεν παρατηρήθηκε επιπλέον μείωση της χοληστερόλης από τον συνδυασμό του γάλατος με το spread (4g φυτοστερολών/ημέρα). Επίσης, στην μελέτη αυτή μετρήθηκαν και συγκεντρώσεις βιταμίνης C, ρετινόλης, λουτεϊνης, α-τοκοφερόλης και λυκοπενίου, οι οποίες δεν υπέστησαν αλλαγές μετά την παρέμβαση (153). Μια ενδιαφέρουσα μελέτη με γάλα εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες, είναι αυτή του B.Hansel et al. Τα άτομα (n=124)που επιλέχτηκαν για αυτή την μελέτη είχαν μέτρια υπερχοληστερολαιμία, 130≤LDL≤190mg/dl και κατανάλωναν 2 μερίδες του προϊόντος αυτού στο ίδιο γεύμα για 6 εβδομάδες. Τα άτομα χωρίστηκαν σε 2 ομάδες, σε μία ελέγχου και αυτή του γάλατος χαμηλού σε λιπαρά εμπλουτισμένο με 0,8g φυτοστερολών/ μερίδα. Κατά τη διάρκεια της παρέμβασης έγιναν μετρήσεις στις συγκεντρώσεις της οξειδωμένης LDL , του β-καροτένιου, της β-σιτοστερόλης, της καμπεστερόλης και της c-αντιδρώσας πρωτεΐνης. Στο τέλος της παρέμβασης, παρατηρήθηκε μείωση της LDL χοληστερόλης κατά 9,5% και 7,8% έπειτα από 3 και 6 εβδομάδες αντίστοιχα, στο γκρουπ των 1,6 g φυτοστερολών/ημέρα, σε σχέση με το γκρουπ ελέγχου, ενώ δεν υπήρξε καμία μεταβολή στις συγκεντρώσεις των τριγλυκεριδίων και της HDL. Επιπλέον, δεν υπήρξε καμία μεταβολή της συγκέντρωσης του β-καροτένιου, σε αντίθεση με αυτήν της οξειδωμένης LDL η οποία μειώθηκε στο γκρουπ των φυτοστερολών. Συνεπώς φάνηκε από την μελέτη αυτή, ότι η πρόσληψη φυτοστερολών έχει υποχοληστερολαιμική δράση αλλά δεν έχει ουσιαστική επίδραση στου δείκτες οξειδωτικού στρες (80).

4.5 Παρεμβάσεις με γάλα εμπλουτισμένο με ω-3 λιπαρά οξέα και αντιοξειδωτικές βιταμίνες

Υπάρχουν πολλές μελέτες οι οποίες προτείνουν την ευεργετική επίδραση των ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (ω-3 PUFAs) και του ελαϊκού οξέος στην υγεία, συμπεριλαμβανομένης και της μείωσης του κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο. Ο σκοπός της μελέτης του L.Baro και των συνεργατών του, ήταν να εκτιμηθεί η επίδραση ημι-αποβουτυρωμένου γάλατος, εμπλουτισμένου με ω-3 λιπαρά οξέα, ολεϊκό οξύ και βιταμίνες Ε, Β6 και φυλλικό οξύ, σε παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο. Οι εθελοντές ήταν 33 και τους δόθηκαν 500 ml/ημέρα ημι-αποβουτυρωμένου γάλατος για 4 εβδομάδες και έπειτα 500 ml/ημέρα γάλατος εμπλουτισμένου με ω-3 για επιπλέον 8 εβδομάδες. Οι λιποπρωτείνες του πλάσματος και της LDL μετρήθηκαν στην αρχή (baseline), έπειτα από 4,8 και 12 εβδομάδες. Στο τέλος της μελέτης παρατηρήθηκε ότι η κατανάλωση του εμπλουτισμένου γάλατος παρήγαγε μια σημαντική μείωση της ολικής και LDL χοληστερόλης πλάσματος, συνοδευόμενη με μείωση της ομοκυστείνης πλάσματος. Η ικανότητα οξείδωσης της LDL και η συγκέντρωση της βιταμίνης Ε, παρέμειναν οι ίδιες κατά τη διάρκεια της έρευνας. Επιπλέον παρατηρήθηκε μια σημαντική μείωση στα επίπεδα πλάσματος του VCAM-1 και μια αύξηση στη συγκέντρωση φυλλικού οξέος πλάσματος. Το γάλα φαίνεται να αποτελεί ένα αρκετά δραστικό φορέα για την απορρόφηση λίπους καθώς τα λιπαρά του, διασκορπίζονται σε πολύ μικρά σωματίδια και μπορούν να απορροφηθούν πολύ πιο εύκολα από τα μεγάλα. Για τον λόγο αυτό, αναφέρουν οι συγγραφείς ότι χρησιμοποίησαν τα γάλα, ένα καθημερινό ρόφημα, ως μεταφορέα των συμπληρωματικών PUFAs, MUFAs και βιταμινών, στην προσπάθεια να αυξήσουν την πρόσληψη αυτών και να μελετήσουν περαιτέρω τις επιδράσεις τους σε παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου σε υγιείς εθελοντές. Η καθημερινή πρόσληψη ω-3λιπαρών οξέων και ελαϊκού οξέος, μέσω του αποβουτυρωμένου γάλατος, με την προσθήκη φυλλικού και βιταμινών της ομάδας Β σε αυτό, φαίνεται να έχει επιθυμητά αποτελέσματα στα λιπίδια του ορού, όχι τόσο όμως σε δείκτες οξειδωτικού στρες (154). Οι F.Visioli et al , μελέτησαν την επίδραση κατανάλωσης ω-3 λιπαρών σε αγελαδινό γάλα, σε λιπιδαιμικούς δείκτες υγειών ενηλίκων. Στην παρέμβαση συμμετείχαν 8 νορμολιπιδαιμικοί εθελοντές , οι οποίοι κατανάλωναν περιστασιακά αποβουτυρωμένο γάλα και δεν κατανάλωναν καθόλου ψάρι κατά τη διάρκεια της παρέμβασης. Για ένα μήνα κατανάλωναν 500 ml ημι-αποβουτυρωμένου γάλατος καθημερινά και έπειτα μετέβησαν στην κατανάλωση 500ml/ημέρα γάλατος εμπλουτισμένο με 400 mg ω-3 λιπαρών (300 mg EPA και DHA και 15 mg βιταμίνης Ε) ανά 500 ml, για επιπλέον 6 εβδομάδες. Δεν παρατηρήθηκε καμία αλλαγή στου λιπιδαιμικούς δείκτες τον πρώτο μήνα, ενώ εντοπίσθηκε αύξησης του EPA και DHA του πλάσματος στην $3^{η}$ και $6^{η}$ εβδομάδα κατανάλωσης του εμπλουτισμένου γάλατος. Η συγκέντρωση των τριγλυκαιριδίων (TG) μειώθηκε κατά 19%, ενώ

αυτή της HDL χοληστερόλης αυξήθηκε κατά 19% στο τέλος της 6η εβδομάδας. Η βιταμίνη Ε πλάσματος αυξήθηκε κατά 21%, ενώ η ευαισθησία του πλάσματος στην οξείδωση δεν επηρεάστηκε καθόλου κατά τη διάρκεια της παρέμβασης. Συμπερασματικά, η κατανάλωση γάλατος εμπλουτισμένο με μικρές ποσότητες EPA και DHA σε υγιείς εθελοντές οδήγησε σε αυξήσεις των ω-3 λιπαρών και βιταμίνης Ε του πλάσματος και σχετιζόμενες ευεργετικές αλλαγές στην HDL και TG. Συνεπώς, παρατηρείται ότι ο εμπλουτισμός γάλατος με ω-3και αντιοξειδωτικές βιταμίνες βοηθά στην βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ, αλλά δεν αποδίδει κανένα ουσιαστικό αποτέλεσμα σε δείκτες οξειδωτικού στρες.(155)

Β) ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.0 ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός της μελέτης που διεξήχθη ήταν να εξετάσει κατά πόσο ένα τρίμηνο συμβουλευτικό πρόγραμμα για την διατροφή και τον τρόπο ζωής, μόνο του ή σε συνδυασμό με την χρήση γάλατος εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες, ω-3, ω-6 λιπαρά οξέα και αντιοξειδωτικές βιταμίνες, μπορεί να έχει διαφορετικού μεγέθους αποτελέσματα στα επίπεδα των TBARS πλάσματος. Απώτερος σκοπός της μελέτης ήταν αν βρεθεί κατά πόσο αλλαγές στους βιοχημικούς δείκτες ύστερα από την παρέμβαση μπορούν να συσχετιστούν με αλλαγές σε ένα δείκτη λιπιδικής υπεροξείδωσης όπως είναι τα TBARS.

6.0 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

6.1 Πρωτόκολλο παρέμβασης

6.1.1 Ομάδες παρέμβασης

Η στρατολόγηση των ατόμων ξεκίνησε τον Νοέμβριο του 2008. Οι εξετάσεις διαλογής έγιναν σε 340 άτομα. Τα άτομα επιλέχθηκαν με βάση τα παρακάτω περιληπτικά κριτήρια: ηλικία 40-60 ετών, BMI<31kg/m^2, ολική χοληστερόλη>200mg/dl, καμία φαρμακευτική αγωγή για την μείωση των λιπιδίων πλάσματος, μη ύπαρξη διαβήτη, φυσιολογική λειτουργία θυρεοειδούς και

καμία μεταβολική δυσλειτουργία εκτός από την υπερλιπιδαιμία, καμία φαρμακευτική αγωγή η οποία μπορεί να επηρεάσει τον μεταβολισμό των λιποειδών και μη ύπαρξη ανάγκης για τέτοια φαρμακευτική αγωγή. Η μελέτη εγκρίθηκε από την επιτροπή βιοηθικής του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου και όλα τα άτομα έδωσαν γραπτή συγκατάθεση. Έπειτα από τις αρχικές μετρήσεις, ένα δείγμα των 108 ατόμων που εμφάνισαν ήπια υπερχοληστερολαιμία (40-60 ετών) τυχαιοποιήθηκαν στην ομάδα παρέμβασης με το εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες γάλα (PhG.: n=40), σε μια ομάδα με γάλα placebo (PG: n=37) και στη ομάδα ελέγχου (CG: n=31). Οι εθελοντές κατανάλωναν 3 μερίδες γάλατος είτε του Placebo, είτε του εμπλουτισμένου με φυτοστερόλες (2.25g φυτικές στερόλες /ημέρα). Επίσης, οι εθελοντές της PHG και της PG παρακολούθησαν εβδομαδιαίες συνεδρίες εστιαζόμενες σε θέματα διατροφικής συμπεριφοράς και άσκησης.

6.1.2 Προϊόν

Στην κλινική αυτή μελέτη, το γάλα το οποίο δόθηκε στους εθελοντές ήταν εμπλουτισμένο με τα παρακάτω συστατικά

Συστατικά	250ml γάλα	%RDA 250ml	100ml γάλα	%RDA 100ml	RDAs	Μονάδα
Φυτοστερόλες	0.83		0.33			g
Πολυακόρεστα λιπαρα • Λιονολεϊκό οξύ • Λινολενικό οξύ	0.8 • 0.7 • 0.1	6.36% 9.09%	0.33 • 0.3 • 0.03	2.7% 2.27%	• 11 (DRIs) • 1.1 (DRIs)	g g g
Μαγνήσιο	36.6	12.2%	14.6	4.9%	300	mg
Σελήνιο	41.2		16.5		55 (DRIs)	μg
Βιτ A	185.1	23.1%	74	9.3%	800	μg
Βιτ C	66.3	110.4%	26.5	44.2%	60	mg
Βιτ E	13.1	131.3%	5.3	52.5%	10	mg
Βιτ B6	4.2	208.4%	1.7	83.3%	2	mg
Βιτ B12	4.2	420.9%	1.7	168.4%	1	μg
Φυλλικό οξύ	166.9	83.4%	66.7	33.4%	200	μg

6.1.3 Διατροφικές συνεδρίες

Οι διατροφικές συνεδρίες βασίστηκαν στο "Μοντέλο Πίστης Υγείας" και το "Υπερθεωρητικό μοντέλο και Στάδια της Ζωής " .

Αρ. Συνεδρίας	Αναλυτικό Περιεχόμενο Συνεδριών
4th εβδομάδα Φεβρουαρίου	• Τι είναι η καρδιαγγειακή νόσος; • Επιδημιολογία της καρδιαγγειακής νόσου • Τρόποι για να μειώσεις τους παράγοντες κινδύνου
1st εβδομάδα Μαρτίου	• Οδηγίες για ισορροπημένη διατροφή. • Μακροθρεπτικά συστατικά (γενική εισαγωγή) • Ομάδες τροφίμων
2nd εβδομάδα Μαρτίου	• Ημερήσιες Ενεργειακές Ανάγκες • Σχεδιασμός γευμάτων
3rd εβδομάδα Μαρτίου	• Οδηγίες για ισορροπημένη διατροφή. • Εστίαση στα λιπίδια (κορεσμένα, PUFA, MUFA) • Νηστεία (οφέλη, υγιεινές επιλογές).
2nd εβδομάδα Απριλίου	• Οδηγίες για Φυσική Δραστηριότητα (ένταση και διάρκεια). • Ισορροπημένο εβδομαδιαίο διαιτητικό πλάνο για άνδρες και γυναίκες
4th εβδομάδα Απριλίου	• Ετικέτες τροφίμων • Συντηρητικά
2nd εβδομάδα Μαΐου	• Ανασκόπηση

6.1.4 Μετρήσεις

Κατά τη διάρκεια της μελέτης έγιναν οι παρακάτω μετρήσεις:

Κατά την φάση διαλογής: α) ιατρικό ιστορικό β) αρτηριακή πίεση γ) βάρος και ύψος δ)ολική χοληστερόλη, γλυκόζη, τριγλυκερίδια

Κατά την έναρξη της παρέμβασης (baseline), την 6η εβδομάδα (follow up 1) και την 12η εβδομάδα (follow up 2): α) εξετάσεις αίματος β)αρτηριακή πίεση γ)κλινική εξέταση δ) BIA ε)Διαιτητική εκτίμηση και εκτίμηση φυσικής δραστηριότητας στ) βάρος, BMI, περιφέρεια μέσης και ισχίου και δερματοπτυχές. Επίσης μετρήθηκαν οι βιοχημικοί δείκτες : ολική χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη, γλυκόζη, τριγλυκερίδια(TAG), apo-A, apo-B, CRP, SGPT, SGOT, ALT, Κρεατινίνη, θειροειδικές ορμόνες.

6.1.5. Μέθοδοι και εργαλεία εκτίμησης των αποτελεσμάτων

Οι διατροφικές πληροφορίες συλλέχθηκαν με μία τριήμερη ανάκληση 24ώρου που έγινε στους εθελοντές (2 καθημερινές και 1 ημέρα από το Σαββατοκύριακο) και τα στοιχεία της διατροφικής τους πρόσληψης αναλύθηκαν με το Nutritionist V diet analysis λογισμικό. Η φυσική δραστηριότητα εκτιμήθηκε με ένα τρίημερο ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότης, ενώ οι βιοχημικές εξετάσεις αναλύθηκαν σε εργαστήρια.

6.2 Προσδιορισμός συστατικών που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ (Thiobarbituric Acid Reactive Substances, TBARS)

6.2.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΔΙΚΑΣΙΑ

Όργανα

- Πιπέτες 1-10, 10-100, 100-1000μL
- Φυγόκεντρος
- Θερμοστατούμενο υδρόλουτρο

Αναλώσιμα

- Tips κίτρινα, μπλε
- Eppendorfs

Στερεά αντιδραστήρια

- 1,1,3,3- τετραμεθοξυπροπάνιο (1,1,3,3-tetramethoxypropane, TMP ,Aldrich, 10838)
- Βουτυλομένοϋδροξυτολουόλιο (Butylatedhydroxytoluene, BHT)
- Θειβαρβιτουρικό οξύ (Thiobarbituric acid, TBA)

Διαλύτες

- Φωσφορικό οξύ
- Βουτανόλη

Διαλύματα

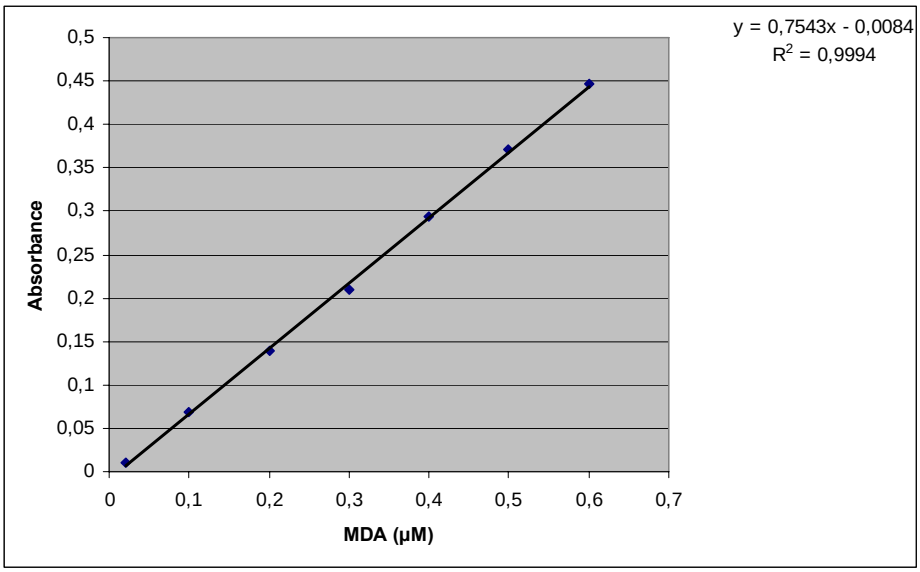
- HCL 0.01 M: 250μL HCL σε 250ml απιονισμένο νερό
- NaOH 0.1 N
- BHT (5μM): 0,0055g σε 5 ml μεθανόλη
- Φωσφορικό οξύ 0,2 M
- TBA 0.11M: 0.0793 g σε 5 ml NαOH 0,1N
- Πρότυπο διάλυμα MDA 200μM: Υδρολύονται 0,672 ml TMP se 20 ml 0.01M για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου. Το διάλυμα MDA που προκύπτει έχει συγκέντρωση 200μM.

Αναλυτική Πορεία

- Σε eppendorfs σωλήνες προστίθενται:
  - 100μL ορού ή 200μL πρότυπο διάλυμα TMP ή αποσταγμένο νερό (τυφλό). Στην περίπτωση του ορού, συμπλήρωση του όγκου μέχρι τα 200μL με νερό.
  - 25μL BHT (5μM)
  - 200μL φωσφορικό οξύ 0,2M (Μετά την προσθήκη του φωσφορικού γίνεται vortex)
  - 25μL TBA 0,11M
- Έντονη ανάδευση και παραμονή στους 90 ^{0}C για 60 min.
- Αμέσως μετά την θέρμανση τοποθέτηση των σωλήνων στο ψυγείο (4^{0}C) για 10 min.
- Μετά την ψύξη, προσθήκη 500 μL βουτανόλης, έντονη ανάδευση και φυγοκέντρηση σε 12000 rpm για 10 min ώστε να διαχωριστούν οι δύο φάσεις.
- Παραλαβή της βουτανολικής φάσης (πάνω φάση, 450μL) και μεταφοράς της σε eppendorfs
- Φυγοκέντρηση σε 12000rpm για 10 min για πλήρη απομάκρυνση της πρωτεΐνης από την βουτανολική φάση.
- Παραλαβή της βουτανολικής φάσης (πάνω φάση, 400μL) και μεταφορά της σε κυψελίδες φωτομέτρου.
- Μέτρηση της απορρόφησης στα 535 nm.

Σε κάθε ημέρα ανάλυσης γινόταν καμπύλη αναφοράς με πρότυπα διαλύματα MDA συγκεντρώσεων 0,02, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 μM και αναλύονταν περίπου 20-50 δείγματα.

Τόσο τα πρότυπα διαλύματα, όσο και τα άγνωστα αναλύονταν εις διπλούν. Μια κλασική καμπύλη αναφοράς που προέκυπτε απο αυτές της αναλύσεις φαίνεται στο παρακάτω σχήμα.



Σχήμα 3: Τυπική καμπύλη αναφοράς MDA

6.2.2 Στατιστική ανάλυση

Ο έλεγχος κανονικότητας της κατανομής τόσο των TBARS, όσο και του logTBARS πραγματοποιήθηκε με τη δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσες τιμές ± τυπική απόκλιση. Οι ποιοτικές-κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτες ή σχετικές (%) συχνότητες. Οι συσχετίσεις μεταξύ συνεχών και κατηγορικών μεταβλητών έγιναν με το Student's t-test ή με ανάλυση διακύμανσης (ANOVA). Εξαιτίας των πολλαπλών συγκρίσεων χρησιμοποιήθηκε η διόρθωση κατά Bonferroni, προκειμένου να ερμηνευτεί η αύξηση του σφάλματος τύπου I. Οι έλεγχοι μεταξύ των κατηγορικών μεταβλητών έγιναν με τη χρήση του κριτηρίου X2. Συσχετίσεις μεταξύ των συνεχών μεταβλητών έγιναν με τη χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson r ή Spearman. Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση εφαρμόστηκε για να ελεγχθεί η συσχέτιση ανάμεσα στα TBARS και διάφορους ανθρωπομετρικούς και βιοχημικούς δείκτες, ελέγχοντας για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες. Όλες οι αναφερόμενες τιμές πιθανοτήτων (p) βασίζονται σε αμφίπλευρους ελέγχους και συγκρίνονται στο επίπεδο σημαντικότητας του 5%. Για όλους τους στατιστικούς υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS έκδοση 12.0 (Statistical Package for social sciences, SPSS Inc., Chicago, Illinois, U.S.A.).

7.0 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

7.1 Ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού

Η κατανομή των διάφορων ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών των εθελοντών, στην αρχή της παρέμβασης παρουσιάζεται στον πίνακα 3.

Πίνακας 3: Ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού στην αρχή της παρέμβασης (baseline)

	Συνολικός Πληθυσμός	**Γυναίκες**	**Άνδρες**	**P**
Ηλικία (έτη)	48,3±8,7 (n=150)	51,4±8,8 (n=49)	46,9±7,9 (n=59)	**0,006**
Βάρος(Kg)	79±14,2 (108)	69,2±9,3 (n=49)	87,1±12,4 (n=59)	**0,012**
ΔΜΣ (Kg/m^2)	28,2±3,7 (n=108)	27,2±3,9 (n=49)	29±3,5 (n=59)	**0,000**
Περιφέρεια μέσης (cm)	91,5±12,2 (n=108)	83,6±10,5 (n=49)	98±9,3 (n=59)	**0,000**
CRP mg/dl	2,7±2,5 (n=108)	2,5±2,1 (n=48)	2,9±2,7 (n=60)	0,346
Ομοκυστείνη (μMol/l)	12,5±3,8 (n=108)	10,3±2,2 (n=49)	14,1±3,9 (n=59)	**0,000**
Ινσουλίνη μUI/ml	11,1±6,0 (n=108	10,0±5 (n=48)	12±6,6 (n=60)	0,082
Γλυκόζη (mg/dl)	105±10,8 (108)	106,3±10,4 (n=48)	96,4±10,5 (n=61)	0,493
Ολική χοληστερόλη	251,6±31,6 (n=109)	254,7±32,9 (n=49)	249,2±30,7 (n=59)	0,377

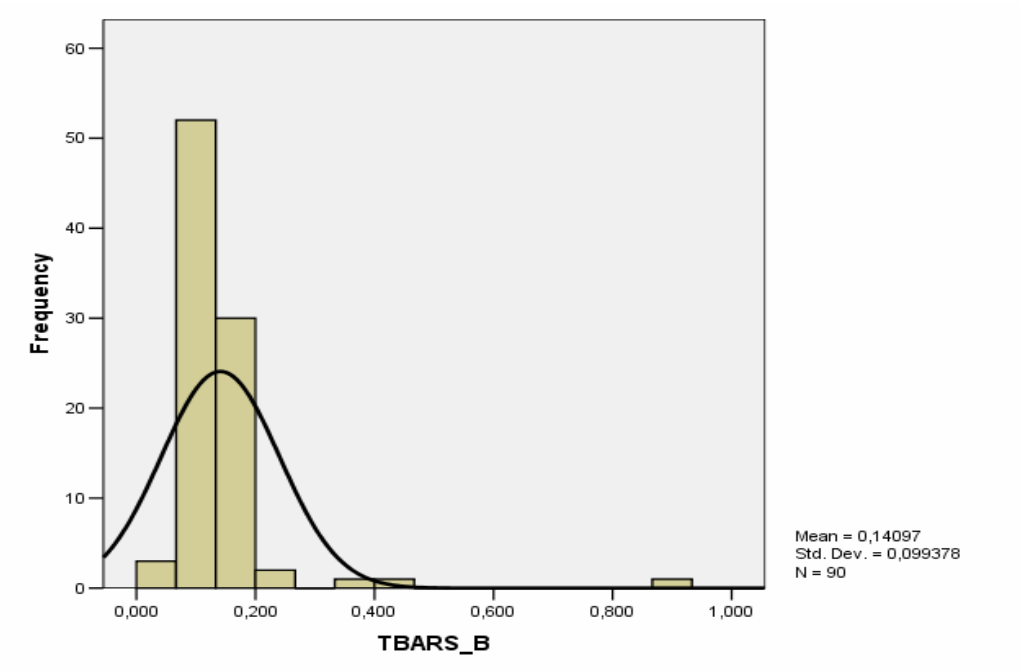
(mg/dl)				
HDL -C(mg/dl)	54,9±15,7 (n=109)	62,8±14,6 (n=48)	48,7±13,8 (n=61)	**0,000**
LDL -C (mg/dl)	171,9±29,3 (n=109)	169±30 (n=48)	174±28,8 (n=61)	0,352
TAG (mg/dl)	123,1±47,4 (n=109)	113,8±45,6 (n=48)	130,3±47,9 (n=61)	0,071
Apo-A (mg/dl)	169,4±29 (n=109)	182,3±25,1 (n=48)	159,2±27,9 (n=61)	**0,000**
Apo-B (mg/dl)	117,7±20,9 (n=109)	112±20,7 (n=48)	122±20,1 (n=61)	**0,015**
ΣΑΠ (mmHg)	131,6±19 (n=150)	125,1±20,6 (n=69)	137,1±15,7 (n=81)	**0,000**
ΔΑΠ (mmHg)	82,9±10,5 (n=150)	80,4±10,8 (n=69)	85,±9,9 (n=81)	**0,000**
TAC (nmol/μl)	50,4±3,6 (108)	50,3±3,7 (n=48)	50,5±3,5 (n=60)	0,823
TBARS (nmol/100μl)	0,14±0,099 (n=91)	0,113±0,036 (n=40)	0,162±0,124 (n=51)	**0,018**

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα, ο πληθυσμός ο οποίος συμμετείχε στην παρέμβαση, έχει αυξημένο ΔΜΣ, γύρω στο 28 Kg/m^2 (είναι συνεπώς υπέρβαρος) και αυξημένη περιφέρεια μέσης. Όπως θα το περιμέναμε, εφόσον αυτό ήταν το βασικό κριτήριο για την επιλογή του, ο πληθυσμός είναι υπερχοληστερολαιμικός με αυξημένη ολική και LDL χοληστερόλη (>200mg/dl και >160mg/dl αντίστοιχα), ενώ η HDL είναι οριακά χαμηλή (<60 mg/dl). Όσον αφορά τις υπόλοιπες βιοχημικές αναλύσεις, φαίνονται να είναι εντός των φυσιολογικών ορίων. Ο πληθυσμός μας είναι δηλαδή νορμογλυκαιμικός και έχει φυσιολογικά επίπεδα TAG και αρτηριακής πίεσης. Παράλληλα, παρατηρούμε ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών, τόσο στα ανθρωπομετρικά (ηλικία, βάρος, ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης), όσο και στα βιοχημικά χαρακτηριστικά (ΣΑΠ, ΔΑΠ, HDL, Apo-A, Apo-B, ομοκυστεΐνη). Η διαφορά των TBARS ανάμεσα στα 2 φύλα, είναι επίσης στατιστικά σημαντική, με τους άνδρες να εμφανίζουν πιο αυξημένα επίπεδα σε σύγκριση με αυτά των γυναικών.

7.2. <u>Κατανομή των TBARS</u>

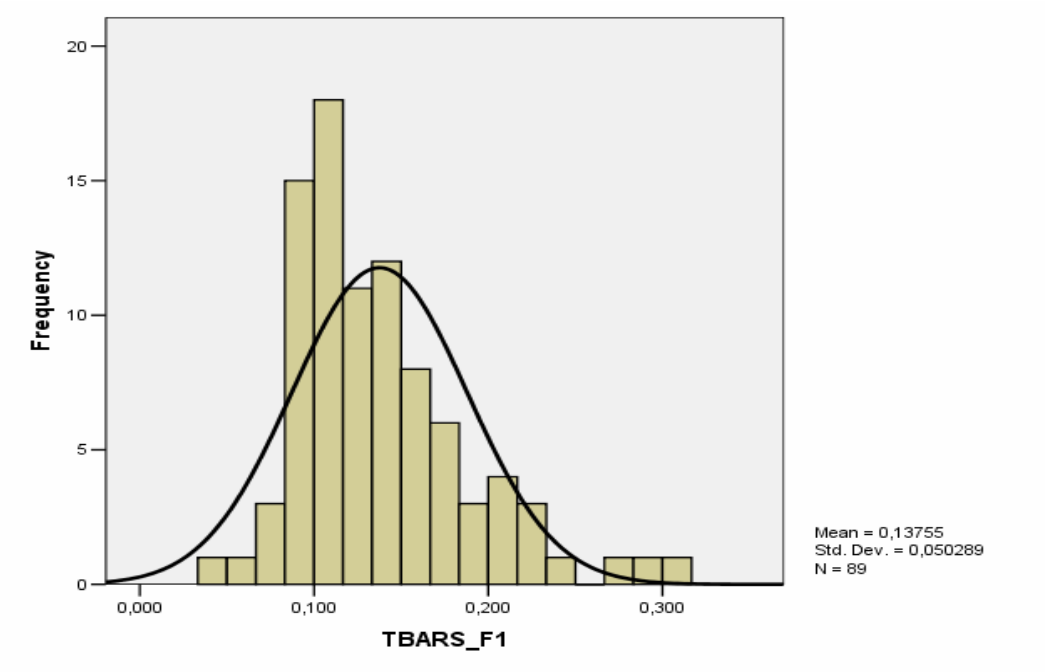
Προκειμένου να προχωρήσουμε σε περαιτέρω στατιστική ανάλυση των δεδομένων της παρέμβασης αυτής, έγινε έλεγχος της κανονικότητας των TBARS. Ο έλεγχος της κανονικότητας έγινε με 2 τρόπους. Πρώτα χρησιμοποιήθηκε το τεστ Kolmogorov- Smirnov, με το οποίο βρέθηκε ότι οι τιμές των TBARS δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή (P=0,000<0,05) στην αρχική φάση της παρέμβασης (baseline). Αντίθετα, οι μετρήσεις των τιμών που πραγματοποιήθηκαν ένα και τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1 και follow up2 αντίστοιχα) ακολουθούν κανονική κατανομή (P=0,0246 και P=0,058 αντίστοιχα). Το αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνονται και από τα ιστογράμματα κατανομής των τιμών των TBARS στα σχήματα (4), (5) και (6) που παρουσιάζονται παρακάτω.

Histogram (1)



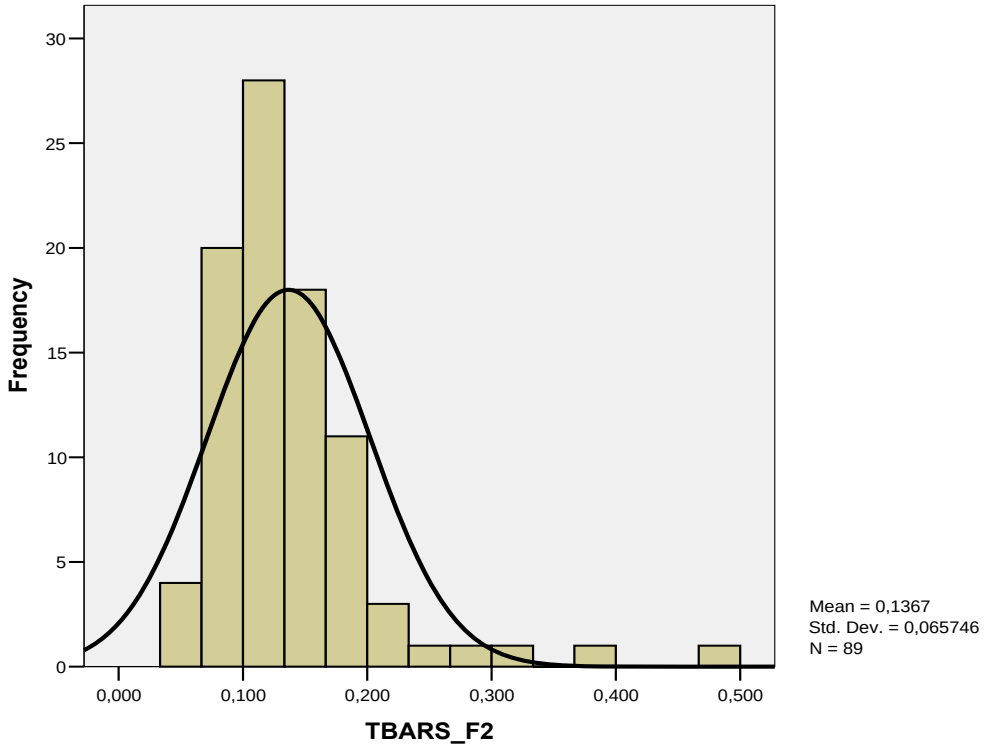
Σχήμα 4 : Η κατανομή των TBARS στην αρχική φάση της παρέμβασης (baseline)

Histogram (2)



Σχήμα 5 : Η κατανομή των TBARS ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1)

Histogram (3)



Σχήμα 6 : Η κατανομή των TBARS τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2)

7.3. <u>Συσχέτιση TBARS με ανθρωπομετρικούς και βιοχημικούς δείκτες στις τρεις φάσεις της παρέμβασης</u>

Στη συνέχεια συσχετίστηκαν τα επίπεδα των TBARS, στο συνολικό πληθυσμό και ξεχωριστά σε άνδρες και γυναίκες, με τα επίπεδα των βιοχημικών δεικτών στις τρεις φάσεις της παρέμβασης. Επειδή στην πρώτη φάση της παρέμβασης τα TBARS δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή έγινε χρήση του συντελεστή Spearman για την εύρεση στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων, ενώ στις δυο επόμενες φάσεις της παρέμβασης χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson.

Πίνακας 4: Συσχέτιση ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών με τα TBARS στην αρχή της παρέμβασης (baseline)

TBARS nmol/100μL			
	Συνολικός Πληθυσμός	**Γυναίκες**	**Άνδρες**
Βάρος(Kg)	**ρ=0,412, P=0,000 (n=91)**	**ρ=0,481, P=0,002 (n=40)**	ρ=0,162, P=0,256 (n=51)
ΔΜΣ(Kg/m^2)	**ρ=0,314, P=0,002 (n=91)**	**ρ=0,481, P=0,002 (n=40)**	ρ=0,016, P=0,910 (n=51)
CRP mg/dl	ρ=0,165, P=0,117 (n=91)	**ρ=0,318, P=0,046 (n=40)**	ρ=0,102, P=0,474 (n=51)
Ομοκυστείνη (μMol/l)	**ρ=0,278, P=0,008 (n=91)**	ρ=0,144, P=0,376 (n=40)	ρ=-0,044, P=0,760 (n=51)
Ινσουλίνη μUI/ml	ρ=0,123, P=0,244 (n=91)	ρ=0,235, P=0,145 (n=40)	ρ=-0,012, P=0,934 (n=51)
Γλυκόζη (mg/dl)	ρ=0,102, P=0,336 (n=91)	ρ=0,088, P=0,590 (n=40)	ρ=0,075, P=0,599 (n=51)
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	ρ=-0,064, P=0,547 (n=91)	ρ=-0,096, P=0,558 (n=40)	ρ=-0,076, P=0,597 (n=51)
HDL -C(mg/dl)	ρ=-0,059, P=0,581 (n=91)	ρ=0,089, P=0,583 (n=40)	ρ=0,099,P=0,490 (n=51)
LDL -C (mg/dl)	ρ=-0,027, P=0,800 (n=91)	ρ=-0,227, P=0,160 (n=40)	ρ=0,026, P=0,855 (n=51)
TAG (mg/dl)	ρ=0,009, P=0,993 (n=91)	ρ=0,188, P=0,246 (n=40)	ρ=-0,185, P=0,195 (n=51)
Apo-A (mg/dl)	ρ=-0,037, P=0,725 (n=91)	ρ=0,155, P=0,339 (n=40)	ρ=0,109, P=0,448 (n=51)
Apo-B (mg/dl)	ρ=0,051, P=0,633 (n=91)	ρ=-0,121, P=0,457 (n=40)	ρ=-0,019, P=0,894 (n=51)

ΣΑΠ (mmHg)	**ρ=0,254, P=0,015 (n=91)**	**ρ=0,343, P=0,030 (n=40)**	ρ=-0,109, P=0,448 (n=51)
ΔΑΠ (mmHg)	**ρ=0,251, P=0,041 (n=91)**	ρ=0,252, P=0,117 (n=40)	ρ=0,069, P=0,630 (n=51)
TAC (nmol/μl)	ρ=0,119, P=0,264 (n=91)	ρ=0,286, P=0,078 (n=39)	ρ=-0,065, P=0,651 (n=51)
Καροτενοειδή (mg/dl)	ρ=-0,09, P=0,396 (n=91)	ρ=-0,199, P=0,219 (n=40)	ρ=0,101, P=0,481 (n=51)

Όσον αφορά τις συσχετίσεις στην αρχή της παρέμβασης (baseline), παρατηρούμε ότι το βάρος και ο ΔΜΣ, έχουν στατιστικά σημαντική, θετική συσχέτιση με τα TBARS τόσο στο συνολικό πληθυσμό, όσο και στον γυναικείο. Η CRP έχει στατιστικά σημαντική, θετική συσχέτιση με τα TBARS, μόνο στον γυναικείο πληθυσμό, ενώ η ομοκυστεϊνη σχετίζεται θετικά με μόνο στον συνολικό πληθυσμό. Η ΣΑΠ εμφανίζει θετική συσχέτιση με την συγκέντρωση των TBARS τόσο στον συνολικό, όσο και στον γυναικείο πληθυσμό, σε αντίθεση με την ΔΑΠ η οποία συσχετίζεται θετικά με τα TBARS μόνο στον συνολικό πληθυσμό.

Με ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης και χρησιμοποιώντας ως συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, το φύλο και το ΔΜΣ, βρέθηκε ότι η στατιστική σημαντικότητα στη συσχέτηση TBARS με ομοκυστεϊνη ή την πίεση (ΣΑΠ) εξαφανίζεται όπως φαίνεται και απο τους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5 : Γραμμική παλινδρόμηση μεταξύ TBARS και ομοκυστεϊνης με συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, το φύλο και τον ΔΜΣ

	TBARS		
	B	**S.E.**	**P**
Ηλικία	-0,002	0,001	0,086
Φύλο	0,056	0,025	0,027
ΔΜΣ	0,001	0,003	0,756
Ομοκυστεϊνη	-0,004	0,003	0,183

Πίνακας 6 : Γραμμική παλινδρόμηση μεταξύ TBARS και της ΣΑΠ με συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, το φύλο και τον ΔΜΣ

	TBARS		
	B	S.E.	P
Ηλικία	-0,002	0,001	0,072
Φύλο	0,030	0,023	0,189
ΔΜΣ	0,001	0,003	0,801
ΣΑΠ	0,001	0,001	0,299

Πίνακας 7: Συσχέτιση ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών με τα TBARS ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1)

TBARS nmol/100μL			
	Συνολικός Πληθυσμός	**Γυναίκες**	**Άνδρες**
Βάρος(Kg)	ρ=0,276, P=0,092 (n=89)	**ρ=0,0443, P=0,005 (n=39)**	ρ=0,064, P=0,658 (n=50)
ΔΜΣ (Kg/m^2)	ρ=0,180, P=0,092 (n=89)	ρ=0,237, P=0,147 (n=39)	ρ=0,075, P=0,605 (n=50)
CRP mg/dl	ρ= 0,103, P=0,339 (n=89)	ρ=0,229, P=0,160 (n=39)	ρ=0,000, P=0,999 (n=50)
Ομοκυστείνη (μMol/l)	ρ= 0,048, P=0,655 (n=88)	ρ=0,194, P=0,237 (n=39)	ρ=-0.131 P=0,371 (n=50)
Ινσουλίνη μUI/ml	ρ= 0,146, P=0,172	ρ= 0,260, P=0,110	ρ=0,032, P=0,825

	(n=89)	(n=39)	(n=50)
Γλυκόζη (mg/dl)	ρ= 0,200, P=0,061 (n=89)	ρ=0,191, P=0,245 (n=39)	ρ=0,155, P=0,283 (n=50)
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	ρ= 0,043, P=0,691 (n=89)	ρ=-0,046, P=0,781 (n=39)	ρ=0,157, P=0,276 (n=50)
HDL χοληστερόλη (mg/dl)	ρ=-0,045, P=0,676 (n=89)	ρ=0,002, P=0,992 (n=39)	ρ=0,046, P=0,753 (n=50)
LDL χοληστερόλη (mg/dl)	ρ= 0,029, P=0,788 (n=89)	ρ=0,002, P=0,992 (n=39)	ρ=0,038, P=0,792 (n=50)
TAG (mg/dl)	ρ= 0,101, P=0,347 (n=89)	ρ= -0,130, P=0,429 (n=39)	ρ=0,226, P=0,114 (n=50)
Apo-A (mg/dl)	ρ= -0,064, P=0,552 (n=89)	ρ=-0,108, P=0,511 (n=39)	ρ=0,080, P=0,580 (n=50)
Apo-B (mg/dl)	ρ=0,112 , P=0,296 (n=89)	ρ=0,019, P=0,910 (n=39)	ρ=0,157, P=0,275 (n=50)
ΣΑΠ (mmHg)	ρ=0,049, P=0,654 (n=89)	ρ=0,228, P=0,075 (n=39)	**ρ=-0,329, P=0,020 (n=50)**
ΔΑΠ (mmHg)	ρ= 0,176, P=0,099 (n=89)	ρ=-0,039, P=0,812 (n=39)	ρ=-0,187, P=0,194 (n=50)
TAC (nmol/μl)	ρ=-0,012, P=0,908 (n=89)	ρ=0,031, P=0,850 (n=39)	ρ=-0,030, P=0,834 (n=50)
Καροτενοειδή (mg/dl)	ρ=-0,197, P=0,065 (n=89)	ρ=-0,236, P=0,148 (n=39)	ρ=-0,054, P=0,711 (n=50)

Όσον αφορά τις συσχετίσεις στην δεύτερη φάση της παρέμβασης (follow up 1), παρατηρούμε ότι ένα μήνα μετά από την έναρξη της παρέμβασης, δεν βρέθηκαν αρκετές στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των TBARS και βιοχημικών και ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών του πληθυσμού. Τα επίπεδα των TBARS φαίνεται να αυξάνονται καθώς αυξάνεται το βάρος των γυναικών του πληθυσμού και καθώς μειώνεται η ΣΑΠ στον ανδρικό πληθυσμό. Επίσης, οι συγκεντρώσεις των TBARS παρατηρείται ότι αυξάνονται καθώς

μειώνονται αυτές των καροτενοειδών, ωστόσο η συσχέτιση αυτή μπορεί να χαρακτηριστεί οριακά στατιστικά σημαντική. Οριακά σημαντικές είναι και οι θετικές συσχετίσεις του βάρους, του ΔΜΣ, της γλυκόζης και της ΔΑΠ με τα TBARS στον γενικό πληθυσμό, καθώς και η θετική συσχέτιση που παρατηρείται μεταξύ της ΣΑΠ και των TBARS στις γυναίκες.

Πίνακας 8: Συσχέτιση ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών με τα TBARS τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2)

TBARS nmol/100μL			
	Συνολικός Πληθυσμός	**Γυναίκες**	**Άνδρες**
Βάρος(Kg)	ρ=0,0172, P=0,106 (n=89)	ρ=0,272, P=0,094 (n=39)	ρ=-0,121, P=0,405 (n=50)
ΔΜΣ (Kg/m^2)	ρ=0,017, P=0,877 (n=89)	**ρ=0,341, P=0,034 (n=39)**	ρ=-0,252, P=0,077 (n=50)
CRP mg/dl	ρ=-0,019, P=0,863 (n=89)	ρ=0,239, P=0,143 (n=39)	ρ=-0,168, P=0,244 (n=50)
Ομοκυστείνη (μMol/l)	ρ=0,052, P=0,682 (n=89)	ρ=-0,142, P=0,387 (n=39)	ρ=-0,153, P=0,289 (n=50)
Ινσουλίνη μUI/ml	ρ=-0,052, P=0,627 (n=89)	ρ=0,081, P=0,624 (n=39)	ρ=-0,178, P=0,217 (n=50)
Γλυκόζη (mg/dl)	ρ=0,100, P=0,349 (n=89)	ρ=0,099, P=0,549 (n=39)	ρ=0,049, P=0,736 (n=50)
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	ρ=-0,110, P=0,304 (n=89)	ρ=-0,153, P=0,353 (n=39)	ρ=-0,047, P=0,748 (n=50)
HDL-C (mg/dl)	ρ=-0,136, P=0,203 (n=89)	ρ=0,007, P=0,968 (n=39)	ρ=-0,013, P=0,930 (n=50)
LDL-C(mg/dl)	ρ=-0,037, P=0,734 (n=89)	ρ=-0,194, P=0,236 (n=39)	ρ=0,030, P=0,836 (n=50)
TAG (mg/dl)	ρ=-0,051, P=0,634	ρ=0,111, P=0,503	ρ=-0,189, P=0,188

	(n=89)	(n=39)	(n=50)
Apo-A (mg/dl)	ρ=-0,138, P=0,196 (n=89)	ρ=0,112, P=0,496 (n=39)	ρ=-0,066, P=0,647 (n=50)
Apo-B (mg/dl)	ρ=-0,020, P=0,854 (n=89)	ρ=-0,172, P=0,296 (n=39)	ρ=-0,022, P=0,882 (n=50)
ΣΑΠ (mmHg)	ρ=0,069, P=0,519 (n=89)	ρ=0,064, P=0,698 (n=39)	ρ=-0,065, P=0,652 (n=50)
ΔΑΠ (mmHg)	ρ=0,082, P=0,447 (n=89)	ρ=-0,024, P=0,884 (n=39)	ρ=0,038, P=0,791 (n=50)
TAC (nmol/μl)	ρ=-0,062, P=0,563 (n=89)	ρ=-0,293, P=0,070 (n=39)	ρ=0,000, P=0,998 (n=50)
Καροτενοειδή (mg/dl)	ρ=-0,092, P=0,390 (n=89)	ρ=0,019, P=0,910 (n=39)	ρ=-0,001, P=0,996 (n=50)

Οι συσχετίσεις οι οποίες έγιναν τρεις μήνες μετά από την έναρξη τις παρέμβασης και παρουσιάζονται στο πίνακα 8, έδειξαν ότι η μοναδική στατιστικά σημαντική συσχέτιση η οποία βρέθηκε είναι η θετική συσχέτιση του ΔΜΣ των γυναικών με τις συγκεντρώσεις των TBARS. Ωστόσο, οριακά στατιστικά σημαντικές βρέθηκαν οι συσχετίσεις του βάρους με τα TBARS η οποία είναι θετική, όπως επίσης και της TAC (συνολική αντιοξειδωτική ικανοτητα η οποία στις γυναίκες φαίνεται ότι όσο αυξάνεται, τόσο μειώνονται τα επίπεδα των TBARS.

7.4. <u>Συσχέτιση TBARS με δείκτες διατροφικής πρόσληψης στις τρεις φάσεις της παρέμβασης</u>

Τοιουτοτρόπως, συσχετίστηκαν και τα επίπεδα των TBARS, στο συνολικό πληθυσμό και ξεχωριστά σε άνδρες και γυναίκες, με δείκτες διατροφικής πρόσληψης, στις τρεις φάσεις της παρέμβασης. Επειδή στην πρώτη φάση της παρέμβασης τα TBARS δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή έγινε χρήση του συντελεστή Spearman για την εύρεση στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων, ενώ στις δυο επόμενες φάσεις της παρέμβασης χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson

Πίνακας 9: Συσχέτιση διατροφικής πρόσληψης με τα TBARS στην αρχή της παρέμβασης (baseline)

TBARS nmol/100μL			
	Συνολικός Πληθυσμός	**Γυναίκες**	**Άνδρες**
Ενέργεια (kcal)	ρ=-0,053 P=0,619 (n=92)	ρ=-0,203 P=0,203 (n=41)	ρ=-0,059 P=0,681 (n=51)
Πρωτεΐνη (g)	ρ=-0,144 P=0,170 (n=92)	ρ=-0,278 P=0,078 (n=41)	ρ=-0,140 P=0,327 (n=51)
Υδατάνθρακες(g)	ρ=0,003 P=0,975 (n=92)	ρ=-0,091 P=0,570 (n=41)	ρ=0,018 P=0,901 (n=51)
Λίπος (g)	ρ=-0,092 P=0,381 (n=92)	ρ=-0,170 P=0,287 (n=41)	ρ=-0,093 P=0,517 (n=51)
Αλκοόλ (g)	ρ=-0,061 P=0,563 (n=92)	ρ=0,069 P=0,667 (n=41)	ρ=-0,204 P=0,152 (n=51)
Χοληστερόλη (mg)	ρ=-0,159 P=0,131 (n=92)	ρ=-0,256 P=0,107 (n=41)	ρ=-0,051 P=0,725 (n=51)
SFA (g)	ρ=-0,018 P=0,868 (n=92)	ρ=-0,026 P=0,872 (n=41)	ρ=-0,047 P=0,743 (n=51)
MUFA (g)	ρ=-0,091 P=0,389 (n=92)	ρ=-0,192 P=0,229 (n=41)	ρ=-0,089 P=0,535 (n=51)
PUFA (g)	**ρ=-0,214 P=0,041 (n=92)**	**ρ=-0,353 P=0,023 (n=41)**	ρ=-0,116 P=0,417 (n=51)
Ολεϊκό οξύ (g)	ρ=-0,095 P=0,370 (n=92)	ρ=-0,174 P=0,277 (n=41)	ρ=-0,107 P=0,457 (n=51)
Λινολεϊκό οξύ (g)	**ρ=-0,201 P=0,054 (n=92)**	**ρ=-0,407 P=0,008 (n=41)**	ρ=-0091 P=0,525 (n=51)
Λινολενικό οξύ (g)	ρ=-0,141 P=0,180 (n=92)	P=-0,137 P=0,391 (n=41)	ρ=-0,161 P=0,259 (n=51)
EPA (g)	**ρ=-0,299 P=0,004 (n=92)**	**ρ=-0,335 P=0,032 (n=41)**	ρ=-0,261 P=0,065 (n=51)
DHA (g)	**ρ=-0,314 P=0,002 (n=92)**	**ρ=-0,305 P=0,052 (n=41)**	ρ=-0,225 P=0,071 (n=51)

Νάτριο (mg)	ρ=-0,040 P=0,703 (n=92)	ρ=-0,021 P=0,942 (n=41)	ρ=-0,101 P=0,480 (n=51)
Κάλιο (mg)	ρ=0,010 P=0,927 (n=92)	ρ=0,081 P=0,616 (n=41)	ρ=-0,037 P=0,795 (n=51)
Βιταμίνη A (RE)	ρ=-0,002 P=0,986 (n=92)	ρ=0,137 P=0,393 (n=41)	ρ=-0,064 P=0,655 (n=51)
Βιταμίνη A (IU)	ρ=0,013 P=0,899 (n=92)	ρ=0,120 P=0,445 (n=41)	ρ=-0,021 P=0,883 (n=51)
Β-καροτένιο (μg)	ρ=0,036 P=0,734 (n=92)	ρ=0,139 P=0,386 (n=41)	ρ=-0,021 P=0,886 (n=51)
Βιταμίνη C (mg)	ρ=0,053 P=0,613 (n=92)	ρ=0,142 P=0,376 (n=41)	ρ=-0,037 P=0,795 (n=51)
Ασβέστιο (mg)	ρ=0,084 P=0,425 (n=92)	ρ=0,028 P=0,861 (n=41)	ρ=0,078 P=0,588 (n=51)
Σίδηρος (mg)	ρ=0,025 P=0,815 (n=92)	ρ=-0,008 P=0,959 (n=41)	ρ=-0,028 P=0,847 (n=51)
Βιταμίνη D (IU)	ρ=-0,074 P=0,485 (n=92)	ρ=-0,271 P=0,087 (n=41)	ρ=0,169 P=0,237 (n=51)
Βιταμίνη E (IU)	ρ=-0,172 P=0,100 (n=92)	ρ=-0,117 P=0,465 (n=41)	ρ=-0,183 P=0,200 (n=51)
Α-τοκοφερόλη (mg)	ρ=-0,120 P=0,254 (n=92)	ρ=-0,226 P=0,155 (n=41)	ρ=-0,080 P=0,575 (n=51)
Θειαμίνη (mg)	ρ=0,136 P=0,197 (n=92)	ρ=0,211 P=0,186 (n=41)	ρ=0,049 P=0,732 (n=51)
Ριβοφλαβίνη (mg)	ρ=0,033 P=0,756 (n=92)	ρ=-0,007 P=0,965 (n=41)	ρ=0,065 P=0,649 (n=51)
Νιασίνη (mg)	ρ=-0,179 P=0,088 (n=92)	**ρ=-0,330 P=0,035 (n=41)**	ρ=-0,092 P=0,521 (n=51)
Πυριδοξύνη/Βιτ.6 (mg)	ρ=-0,064 P=0,542 (n=92)	ρ=-0,002 P=0,988 (n=41)	ρ=-0,148 P=0,300 (n=51)
Φυλλικό οξύ (μg)	ρ=0,045 P=0,670 (n=92)	ρ=0,099 P=0,536 (n=41)	ρ=-0,023 P=0,872 (n=51)
Κοβαλαμίνη/Βιτ.Β12 (mg)	ρ=0,046 P=0,663 (n=92)	ρ=-0,037 P=0,820 (n=41)	ρ=0,036 P=0,804 (n=51)

Βιταμίνη Κ (μg)	ρ=0,054 P=0,609 (n=92)	ρ=0,108 P=0,503 (n=41)	ρ=0,055 P=0,703 (n=51)
Φωσφόρος(mg)	ρ=0,039 P=0,711 (n=92)	ρ=0,043 P=0,787 (n=41)	ρ=-0,027 P=0,850 (n=51)
Ιώδιο(μg)	ρ=-0,09 P=0,931 (n=92)	ρ=-0,114 P=0,478 (n=41)	ρ=0,072 P=0,616 (n=51)
Μαγνήσιο (mg)	ρ=0,070 P=0,505 (n=92)	ρ=0,053 P=0,741 (n=41)	ρ=0,052 P=0,718 (n=51)
Ψευδάργυρος (mg)	ρ=-0,049 P=0,644 (n=92)	ρ=-0,237 P=0,135 (n=41)	ρ=-0,045 P=0,753 (n=51)
Χαλκός (mg)	ρ=0,074 P=0,482 (n=92)	ρ=0,136 P=0,398 (n=41)	ρ=-0,016 P=0,909 (n=51)
Μαγγάνιο (mg)	ρ=0,069 P=0,511 (n=92)	ρ=0,162 P=0,312 (n=41)	ρ=-0,047 P=0,742 (n=51)
Σελήνιο (mg)	ρ=-0,098 P=0,354 (n=92)	ρ=-0,221 P=0,166 (n=41)	ρ=-0,023 P=0,875 (n=51)
Φθόριο (μg)	ρ=-0,116 P=0,269 (n=92)	ρ=0,074 P=0,644 (n=41)	ρ=-0,174 P=0,223 (n=51)
Χρώμιο(mg)	ρ=-0,024 P=0,802 (n=92)	ρ=0,211 P=0,185 (n=41)	ρ=-0,200 P=0,160 (n=51)
Μόλυβδος (μg)	ρ=0,010 P=0,926 (n=92)	ρ=-0,030 P=0,854 (n=41)	ρ=0,146 P=0,308 (n=51)
Διαιτιτικές Ίνες (g)	ρ=-0,008 P=0,943 (n=92)	ρ=0,001 P=0,995 (n=41)	ρ=-0,064 P=0,657 (n=51)
Υδατοδιαλυτές Δ.Ι. (g)	ρ=0,034 P=0,749 (n=92)	ρ=0,219 P=0,169 (n=41)	ρ=-0,023 P=0,872 (n=51)
Μη υδατοδιαλυτές Δ.Ι. (g)	ρ=0,051 P=0,630 (n=92)	ρ=0,248 P=0,117 (n=41)	ρ=-0,108 P=0,450 (n=51)
Ακατέργαστες Δ.Ι. (g)	ρ=0,043 P=0,687 (n=92)	ρ=0,227 P=0,154 (n=41)	ρ=-0,049 P=0,731 (n=51)
Ζάχαρη (g)	ρ=-0097 P=0,355 (n=92)	ρ=-0,114 P=0,477 (n=41)	ρ=-0,042 P=0,769 (n=51)
Γλυκόζη (g)	ρ=0,009 P=0,929 (n=92)	ρ=0,092 P=0,567 (n=41)	ρ=-0,067 P=0,641 (n=51)

Γαλακτόζη (g)	ρ=-0,062 P=0,560 (n=92)	ρ=0,044 P=0,783 (n=41)	ρ=-0,055 P=0,699 (n=51)
Φρουκτόζη (g)	ρ=-0,006 P=0,957 (n=92)	ρ=-0,033 P=0,837 (n=41)	ρ=0,001 P=0,995 (n=51)
Σουκρόζη (g)	ρ=-0,165 P=0,117 (n=92)	ρ=-0,168 P=0,293 (n=41)	ρ=-0,059 P=0,682 (n=51)
Λακτόζη (g)	ρ=0,000 P=0,998 (n=92)	ρ=0,008 P=0,959 (n=41)	ρ=0,087 P=0,544 (n=51)
Μαλτόζη (g)	ρ=-0,020 P=0,853 (n=92)	ρ=-0,170 P=0,287 (n=41)	ρ=0,078 P=0,584 (n=51)
Καφεΐνη (g)	ρ=-0,009 P=0,932 (n=92)	ρ=-0,080 P=0,619 (n=41)	ρ=0,104 P=0,467 (n=51)
Ισοδύναμα Αμύλου	ρ=-0,033 P=0,753 (n=92)	ρ=-0,130 P=0,416 (n=41)	ρ=-0,118 P=0,409 (n=51)
Ισοδύναμα Φρούτου	ρ=-0,075 P=0,475 (n=92)	ρ=-0,190 P=0,235 (n=41)	ρ=0,057 P=0,692 (n=51)
Ισοδύναμα άλλων Υδατανθράκων	ρ=0,003 P=0,981 (n=92)	ρ=0,022 P=0,889 (n=41)	ρ=0,020 P=0,890 (n=51)
Ισοδύναμα Γάλατος 1%	**ρ=0,215 P=0,039 (n=92)**	ρ=0,034 P=0,833 (n=41)	**ρ=0,370 P=0,008 (n=51)**
Ισοδύναμα Γάλατος 2%	ρ=-0,084 P=0,426 (n=92)	ρ=-0,112 P=0,486 (n=41)	ρ=-0,043 P=0,766 (n=51)
Ισοδύναμα Γάλατος πλήρες	ρ=0,154 P=0,143 (n=92)	P=0,267 P=0,092 (n=41)	ρ=0,107 P=0,454 (n=51)
Ισοδύναμα Λαχανικών	ρ=0,093 P=0,377 (n=92)	**ρ=0,353 P=0,024** (n=41)	ρ=-0,138 P=0,333 (n=51)
Ισοδύναμα Τ.Α. Κρέατος	ρ=-0,139 P=0,196 (n=92)	ρ=-0,182 P=0,255 (n=41)	ρ=-0,062 P=0,664 (n=51)
Ισοδύναμα Χ.Λ. Κρέατος	ρ=0,006 P=0,957 (n=92)	ρ=-0,003 P=0,986 (n=41)	ρ=-0,097 P=0,498 (n=51)
Ισοδύναμα Μ.Λ. Κρέατος	**ρ=-0,214 P=0,041 (n=92)**	**ρ=-0,353 P=0,024 (n=41)**	ρ=-0,119 P=0,407 (n=51)
Ισοδύναμα Υ.Λ. Κρέατος	ρ=-0,011 P=0,917 (n=92)	ρ=-0,130 P=0,418 (n=41)	ρ=0,091 P=0,526 (n=51)

Ισοδύναμα Κρέατος Συνολικά	**ρ=-0,242 P=0,020 (n=92)**	**ρ=-0,428 P=0,005 (n=41)**	ρ=-0,146 P=0,307 (n=51)
Ισοδύναμα Λίπους	ρ=-0,054 P=0,611 (n=92)	ρ=0,023 P=0,887 (n=41)	ρ=-0,164 P=0,251 (n=51)

Στον πίνακα 9, βλέπουμε ότι όσο μειώνονται οι προσλαμβανόμενες ποσότητες των PUFA, του λινολεϊκού οξέος, του EPA και του DHA , τόσο αυξάνονται τα TBARS στον συνολικό και γυναικείο πληθυσμό (στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις), στους άνδρες οι αρνητικές συσχετίσεις των EPA και PUFA με τα TBARS είναι οριακά σημαντικές. Επίσης, η πρόσληψη νιασίνης μέσω της διατροφής, φαίνεται να συσχετίζεται σημαντικά, αρνητικά όμως με τα TBARS , ενώ η κατανάλωση λαχανικών θετικά , στον γυναικείο πληθυσμό. Η κατανάλωση γάλατος 1% έχει στατιστικά σημαντική, θετική συσχέτιση με τα TBARS τόσο στον συνολικό πληθυσμό , όσο και στον ανδρικό πληθυσμό, ενώ στον γυναικείο πληθυσμό παρατηρείται οριακά σημαντική, αρνητική συσχέτιση της κατανάλωση πλήρες γάλατος και TBARS . Τέλος, τόσο η προσλαμβανόμενη ποσότητα μετρίου λίπους κρέατος, όσο και η συνολική προσλαμβανόμενη ποσότητα κρέατος, σχετίζεται αρνητικά με τα TBARS στον συνολικό και ανδρικό πληθυσμό . Όσον αφορά τη βιταμίνη Ε και τη νιασίνη, φαίνεται να υπάρχει οριακά σημαντική, αρνητική συσχέτιση αυτών με τα επίπεδα των TBARS στον συνολικό πληθυσμό, ενώ το ίδιο παρατηρείται και με τη βιταμίνη D στις γυναίκες.

Με ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης και χρησιμοποιώντας ως συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, το φύλο και το ΔΜΣ, βρέθηκε ότι η στατιστική σημαντικότητα στη συσχέτιση TBARS με ομοκυστεϊνη ή την πίεση (ΣΑΠ) εξαφανίζεται όπως φαίνεται και απο τους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 10 : Γραμμική παλινδρόμηση μεταξύ TBARS και PUFA με συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, το φύλο και τον ΔΜΣ

	TBARS		
	B	**S.E.**	**P**
Ηλικία	-0,002	0,001	0,204
Φύλο	0,015	0,023	0,496
ΔΜΣ	0,004	0,003	0,184
PUFA	-0,002	0,002	0,384

Πίνακας 11 : Γραμμική παλινδρόμηση μεταξύ TBARS και EPA με συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, το φύλο και τον ΔΜΣ

	TBARS		
	B	**S.E.**	**P**
Ηλικία	-0,001	0,001	0,243
Φύλο	0,013	0,022	0,553
ΔΜΣ	0,004	0,003	0,178
EPA	-0,009	0,059	0,878

Πίνακας 12 : Γραμμική παλινδρόμηση μεταξύ TBARS και DHA με συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, το φύλο και τον ΔΜΣ

	TBARS		
	B	**S.E.**	**P**
Ηλικία	-0,001	0,001	0,258
Φύλο	0,013	0,022	0,569
ΔΜΣ	0,004	0,003	0,176
DHA	-0,010	0,040	0,862

Πίνακας 13: Συσχέτιση διατροφικής πρόσληψης με τα TBARS ένα μήνα μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 1)

TBARS nmol/100μL			
	Συνολικός Πληθυσμός	**Γυναίκες**	**Άνδρες**
Ενέργεια (kcal)	ρ=-0,081 P=0,447 (n=90)	ρ=-0,222 P=0,169 (n=40)	ρ=0,107 P=0,459 (n=50)

Πρωτεΐνη (g)	ρ=-0,046 P=0,669 (n=90)	ρ=-0,088 P=0,589 (n=40)	ρ=0,019 P=0,898 (n=50)
Υδατάνθρακες(g)	ρ=-0,018 P=0,864 (n=90)	ρ=0,034 P=0,834 (n=40)	ρ=-0,077 P=0,596 (n=50)
Λίπος (g)	ρ=-0,151 P=0,156 (n=90)	**ρ=-0,310 P=0,051 (n=40)**	ρ=0,087 P=0,546 (n=50)
Αλκοόλ (g)	ρ=0,049 P=0,649 (n=90)	ρ=-0,293 P=0,067 (n=40)	**ρ=0,301 P=0,034 (n=50)**
Χοληστερόλη (mg)	ρ=-0,110 P=0,302 (n=90)	ρ=-0,270 P=0,093 (n=40)	ρ=0,117 P=0,420 (n=50)
SFA (g)	ρ=-0,145 P=0,171 (n=90)	**ρ=-0,311 P=0,051 (n=40)**	ρ=0,117 P=0,220 (n=50)
MUFA (g)	ρ=-0,144 P=0,176 (n=90)	ρ=0,292 P=0,067 (n=40)	ρ=0,047 P=0,748 (n=50)
PUFA (g)	ρ=-0,063 P=0,552 (n=90)	ρ=-0,210 P=0,193 (n=40)	ρ=0,067 P=0,646 (n=50)
Ολεϊκό οξύ (g)	ρ=-0,124 P=- (n=90)	ρ=-0,259 P=0,107 (n=40)	ρ=0,043 P=0,769 (n=50)
Λινολεϊκό οξύ (g)	ρ=-0,129 P=0,226 (n=90)	ρ=-0,204 P=0,206 (n=40)	ρ=-0,115 P=0,425 (n=50)
Λινολενικό οξύ (g)	ρ=0,039 P=0,718 (n=90)	ρ=0,024 P=0,883 (n=40)	ρ=0,078 P=0,592 (n=50)
EPA (g)	ρ=0,099 P=0,356 (n=90)	ρ=0,027 P=0,868 (n=40)	ρ=0,228 P=0,112 (n=50)
DHA (g)	ρ=0,063 P=0,557 (n=90)	ρ=-0,084 P=0,604 (n=40)	ρ=0,204 P=0,156 (n=50)
Νάτριο (mg)	ρ=-0,036 P=0,735 (n=90)	ρ=-0,062 P=0,705 (n=40)	ρ=-0,002 P=0,987 (n=50)
Κάλιο (mg)	ρ=0,088 P=0,410 (n=90)	ρ=0,171 P=0,290 (n=40)	ρ=-0,034 P=0,815 (n=50)
Βιταμίνη Α (RE)	ρ=0,025 P=0,818 (n=90)	ρ=0,068 P=0,677 (n=40)	ρ=-0,074 P=0,607 (n=50)
Βιταμίνη Α (IU)	ρ=0,104 P=0,331 (n=90)	ρ=0,142 P=0,383 (n=40)	ρ=0,024 P=0,867 (n=50)

Β-καροτένιο (μg)	ρ=0,127 P=0,231 (n=90)	ρ=0,156 P=0,337 (n=40)	ρ=0,010 P=0,946 (n=50)
Βιταμίνη C (mg)	ρ=0,087 P=0,414 (n=90)	ρ=0,191 P=0,238 (n=40)	ρ=-0,190 P=0,186 (n=50)
Ασβέστιο (mg)	ρ=-0,172 P=0,106 (n=90)	ρ=-0,181 P=0,263 (n=40)	ρ=-0,171 P=0,236 (n=50)
Σίδηρος (mg)	ρ=-0,009 P=0,932 (n=90)	ρ=-0,075 P=0,646 (n=40)	ρ=0,089 P=0,539 (n=50)
Βιταμίνη D (IU)	ρ=-0,138 P=0,195 (n=90)	ρ=-0,168 P=0,299 (n=40)	ρ=-0,107 P=0,459 (n=50)
Βιταμίνη E (IU)	ρ=0,060 P=0,572 (n=90)	ρ=-0,010 P=0,951 (n=40)	ρ=0,144 P=0,318 (n=50)
Α-τοκοφερόλη (mg)	ρ=-0,096 P=0,370 (n=90)	ρ=-0,151 P=0,352 (n=40)	ρ=-0,037 P=0,798 (n=50)
Θειαμίνη (mg)	ρ=-0,076 P=0,478 (n=90)	ρ=-0,109 P=0,503 (n=40)	ρ=-0,053 P=0,714 (n=50)
Ριβοφλαβίνη (mg)	ρ=-0,116 P=0,300 (n=90)	ρ=-0,160 P=0,323 (n=40)	ρ=-0,010 P=0,947 (n=50)
Νιασίνη (mg)	ρ=0,089 P=0,404 (n=90)	ρ=0,154 P=0,342 (n=40)	ρ=0,130 P=0,370 (n=50)
Πυριδοξύνη/Βιτ.6 (mg)	ρ=-0,134 P=0,209 (n=90)	ρ=-0,105 P=0,518 (n=40)	ρ=-0,219 P=0,127 (n=50)
Φυλλικό οξύ (μg)	ρ=-0,126 P=0,238 (n=90)	ρ=-0,124 P=0,446 (n=40)	ρ=-0,147 P=0,309 (n=50)
Κοβαλαμίνη/Βιτ.Β12 (mg)	ρ=-0,108 P=0,309 (n=90)	ρ=-0,094 P=0,563 (n=40)	ρ=-0,163 P=0,258 (n=50)
Βιταμίνη K (μg)	ρ=0,066 P=0,536 (n=90)	ρ=0,104 P=0,524 (n=40)	ρ=-0,025 P=0,862 (n=50)
Φωσφόρος(mg)	ρ=-0,147 P=0,166 (n=90)	ρ=-0,168 P=0,301 (n=40)	ρ=-0,136 P=0,345 (n=50)
Ιώδιο(μg)	ρ=-0,122 P=0,252 (n=90)	ρ=-0,090 P=0,579 (n=40)	ρ=-0,218 P=0,129 (n=50)
Μαγνήσιο (mg)	ρ=-0,038 P=0,720 (n=90)	ρ=-0,025 P=0,880 (n=40)	ρ=-0,057 P=0,693 (n=50)

Ψευδάργυρος (mg)	**ρ=-0,206 P=0,051 (n=90)**	**ρ=-0,367 P=0,020 (n=40)**	ρ=-0,101 P=0,486 (n=50)
Χαλκός (mg)	ρ=-0,013 P=0,900 (n=90)	ρ=0,035 P=0,831 (n=40)	ρ=-0,051 P=0,725 (n=50)
Μαγγάνιο (mg)	ρ=-0,080 P=0,445 (n=90)	ρ=-0,006 P=0,972 (n=40)	ρ=-0,193 P=0,180 (n=50)
Σελήνιο (mg)	ρ=0,035 P=0,746 (n=90)	ρ=-0,140 P=0,390 (n=40)	ρ=0,128 P=0,375 (n=50)
Φθόριο (μg)	ρ=0,006 P=0,954 (n=90)	ρ=0,037 P=0,820 (n=40)	ρ=-0,075 P=0,606 (n=50)
Χρώμιο(mg)	ρ=0,033 P=0,757 (n=90)	ρ=0,271 P=0,091 (n=40)	ρ=-0,115 P=0,426 (n=50)
Μόλυβδος (μg)	ρ=-0,039 P=0,718 (n=90)	ρ=0,060 P=0,713 (n=40)	ρ=-0,275 P=0,053 (n=50)
Διαιτητικές Ίνες (g)	ρ=0,059 P=0,579 (n=90)	ρ=0,261 P=0,104 (n=40)	ρ=-0,066 P=0,647 (n=50)
Υδατοδιαλυτές Δ.Ι. (g)	ρ=0,048 P=0,655 (n=90)	ρ=0,253 P=0,115 (n=40)	**ρ=-0,280 P=0,049 (n=50)**
Μη υδατοδιαλυτές Δ.Ι. (g)	ρ=-0,044 P=0,679 (n=90)	ρ=0,065 P=0,691 (n=40)	ρ=-0,165 P=0,254 (n=50)
Ακατέργαστες Δ.Ι. (g)	ρ=-0,061 P=0,570 (n=90)	ρ=-0,130 P=0,424 (n=40)	ρ=-0,093 P=0,520 (n=50)
Ζάχαρη (g)	ρ=-0,016 P=0,883 (n=90)	ρ=0,082 P=0,616 (n=40)	ρ=-0,204 P=0,154 (n=50)
Γλυκόζη (g)	ρ=0,199 P=0,061 (n=90)	**ρ=0,395 P=0,012 (n=40)**	ρ=-0,167 P=0,246 (n=50)
Γαλακτόζη (g)	ρ=-0,084 P=0,433 (n=90)	ρ=-0,180 P=0,267 (n=40)	ρ=0,196 P=0,172 (n=50)
Φρουκτόζη (g)	ρ=0,193 P=0,068 (n=90)	**ρ=0,451 P=0,003 (n=40)**	ρ=-0,149 P=0,303 (n=50)
Σουκρόζη (g)	ρ=-0,097 P=0,363 (n=90)	ρ=-0,058 P=0,722 (n=40)	ρ=-0,215 P=0,133 (n=50)
Λακτόζη (g)	ρ=-0,171 P=0,106 (n=90)	ρ=-0,201 P=0,213 (n=40)	ρ=-0,139 P=0,337 (n=50)

Μαλτόζη (g)	ρ=-0,009 P=0,933 (n=90)	ρ=0,121 P=0,457 (n=40)	ρ=-0,201 P=0,163 (n=50)
Καφεΐνη (g)	ρ=0,048 P=0,654 (n=90)	ρ=0,063 P=0,699 (n=40)	ρ=0,025 P=0,862 (n=50)
Ισοδύναμα Αμύλου	ρ=-0,052 P=0,629 (n=90)	ρ=-0,106 P=0,516 (n=40)	ρ=-0,013 P=0,928 (n=50)
Ισοδύναμα Φρούτου	ρ=0,178 P=0,094 (n=90)	**ρ=0,378 P=0,016 (n=40)**	ρ=-0,104 P=0,473 (n=50)
Ισοδύναμα άλλων Υδατανθράκων	ρ=-0,016 P=0,879 (n=90)	ρ=-0,138 P=0,397 (n=40)	ρ=0,181 P=0,208 (n=50)
Ισοδύναμα Γάλατος 1%	ρ=0,031 P=0,775 (n=90)	**ρ=- P=0,000 (n=40)**	ρ=0,077 P=0,593 (n=50)
Ισοδύναμα Γάλατος 2%	ρ=-0,082 P=0,440 (n=90)	ρ=-0,053 P=0,744 (n=40)	ρ=-0,172 P=0,232 (n=50)
Ισοδύναμα Γάλατος πλήρες	ρ=-0,118 P=0,268 (n=90)	ρ=-0,118 P=0,470 (n=40)	ρ=-0,151 P=0,297 (n=50)
Ισοδύναμα Λαχανικών	ρ=0,105 P=0,325 (n=90)	ρ=0,132 P=0,417 (n=40)	ρ=0,119 P=0,412 (n=50)
Ισοδύναμα Τ.Α. Κρέατος	ρ=0,068 P=0,526 (n=90)	ρ=0,162 P=0,317 (n=40)	ρ=0,025 P=0,862 (n=50)
Ισοδύναμα Χ.Λ. Κρέατος	ρ=-0,014 P=0,897 (n=90)	ρ=-0,011 P=0,949 (n=40)	ρ=-0,014 P=0,924 (n=50)
Ισοδύναμα Μ.Λ. Κρέατος	ρ=-0,080 P=0,451 (n=90)	ρ=-0,193 P=0,233 (n=40)	ρ=0,033 P=0,819 (n=50)
Ισοδύναμα Υ.Λ. Κρέατος	ρ=0,021 P=0,841 (n=90)	ρ=-0,193 P=0,234 (n=40)	ρ=0,189 P=0,189 (n=50)
Ισοδύναμα Κρέατος Συνολικά	ρ=0,016 P=0,885 (n=90)	ρ=-0,070 P=0,669 (n=40)	ρ=0,149 P=0,302 (n=50)
Ισοδύναμα Λίπους	ρ=-0,138 P=0,196 (n=90)	**ρ=-0,343 P=0,030 (n=40)**	ρ=0,137 P=0,342 (n=50)

Κατά τη δεύτερη φάση της παρέμβασης οι περισσότερες στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις παρατηρήθηκαν στις γυναίκες. Πιο συγκεκριμένα στις γυναίκες, η πρόσληψη λίπους φαίνεται να συσχετίζεται αρνητικά με τα TBARS το ίδιο και η πρόσληψη SFA. Από την άλλη η πρόσληψη

γλυκόζης συσχετίζεται θετικά με τις συγκεντρώσεις των TBARS, όπως επίσης η πρόσληψη φρουκτόζης, φρούτων και γάλατος 1%. Η κατανάλωση ισοδυνάμων από την ομάδα του λίπους φαίνεται να σχετίζεται αρνητικά, αλλά επίσης στατιστικά σημαντικά, με τα TBARS στον γυναικείο πληθυσμό. Όσον αφορά την πρόσληψη ψευδαργύρου, εμφανίζει στατιστικά σημαντική, αρνητική συσχέτιση στον συνολικό και τον ανδρικό πληθυσμό. Τέλος, οι υδροδιαλυτές διαιτητικές ίνες σχετίζονται αρνητικά αλλά σημαντικά με τα TBARS στον ανδρικό πληθυσμό. Ωστόσο, υπάρχουν και οριακά στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις της φρουκτόζης και των φρούτων με τα TBARS, τα οποία αυξάνονται παράλληλα με την αύξηση των δυο προηγούμενων στο συνολικό πληθυσμό. Τέλος υπάρχει μια θετική οριακή συσχέτιση της κατανάλωσης χρωμίου με τα TBARS στις γυναίκες του πληθυσμού.

Πίνακας 14: Συσχέτιση διατροφικής πρόσληψης με τα TBARS τρεις μήνες μετά την έναρξη της παρέμβασης (follow up 2)

TBARS nmol/100μL			
	Συνολικός Πληθυσμός	**Γυναίκες**	**Άνδρες**
Ενέργεια (kcal)	ρ=-0,046, P=0,666 (n=90)	ρ=-0,242, P=0,133 (n=40)	ρ=-0,031, P=0,829 (n=50)
Πρωτεΐνη (g)	ρ=0,015, P=0,892 (n=90)	ρ=-0,098, P=0,546 (n=40)	ρ=0,011, P=0,939 (n=50)
Υδατάνθρακες(g)	ρ=-0,123, P=0,249 (n=90)	ρ=-0,217, P=0,178 (n=40)	ρ=-0,131, P=0,365 (n=50)
Λίπος (g)	P-0,030=, P=0,779 (n=90)	ρ=-0,189, P=0,242 (n=40)	ρ=0,002, P=0,988 (n=50)
Αλκοόλ (g)	ρ=0,036, P=0,735 (n=90)	ρ=-0,093, P=0,569	ρ=0,024, P=0,870 (n=50)

		(n=40)	
Χοληστερόλη (mg)	ρ=-0,053, P=0,620 (n=90)	**ρ=-0,328, P=0,039 (n=40)**	ρ=0,024, P=0,868 (n=50)
SFA (g)	ρ=-0,035, P=0,742 (n=90)	ρ=-0,162, P=0,318 (n=40)	ρ=0,019, P=0,895 (n=50)
MUFA (g)	ρ=0,029, P=0,785 (n=90)	ρ=-0,082, P=0,615 (n=40)	ρ=0,043, P=0,765 (n=50)
PUFA (g)	ρ=-0,112, P=0,294 (n=90)	ρ=-0,077, P=0,637 (n=40)	ρ=-0,177, P=0,219 (n=50)
Ολεϊκό οξύ (g)	ρ=0,043, P=0,685 (n=90)	ρ=-0,087, P=0,594 (n=40)	ρ=0,078, P=0,589 (n=50)
Λινολεϊκό οξύ (g)	ρ=-0,075, P=0,485 (n=90)	ρ=-0,043, P=0,791 (n=40)	ρ=-0,134, P=0,354 (n=50)
Λινολενικό οξύ (g)	ρ=-0,044, P=0,684 (n=90)	ρ=0,041, P=0,804 (n=40)	ρ=-0,174, P=0,227 (n=50)
EPA (g)	ρ=-0,090, P=0,397 (n=90)	ρ=-0,078, P=0,630 (n=40)	ρ=-0,123, P=0,394 (n=50)
DHA (g)	ρ=-0,079, P=0,458 (n=90)	ρ=-0,075, P=0,644 (n=40)	ρ=-0,106, P=0,466 (n=50)
Νάτριο (mg)	ρ=-0,046, P=0,667 (n=90)	ρ=-0,098, P=0,548 (n=40)	ρ=-0,049, P=0,734 (n=50)
Κάλιο (mg)	ρ=0,014, P=0,898 (n=90)	ρ=0,035, P=0,803 (n=40)	ρ=-0,023, P=0,871 (n=50)

Βιταμίνη Α (RE)	ρ=-0,187, P=0,115 (n=90)	ρ=-0,089, P=0,587 (n=40)	ρ=-0,228, P=0,112 (n=50)
Βιταμίνη Α (IU)	ρ=-0,114, P=0,283 (n=90)	ρ=-0,033, P=0,839 (n=40)	ρ=-0,180, P=0,211 (n=50)
Β-καροτένιο (μg)	ρ=-0,113, P=0,290 (n=90)	ρ=-0,006, P=0,971 (n=40)	ρ=-0,218, P=0,129 (n=50)
Βιταμίνη C (mg)	ρ=-0,116, P=0,275 (n=90)	ρ=-0,038, P=0,816 (n=40)	ρ=-0,180, P=0,211 (n=50)
Ασβέστιο (mg)	ρ=-0,001, P=0,991 (n=90)	ρ=-0,015, P=0,925 (n=40)	ρ=-0,015, P=0,916 (n=50)
Σίδηρος (mg)	ρ=-0,102, P=0,340 (n=90)	ρ=-0,209, P=0,196 (n=40)	ρ=-0,128, P=0,375 (n=50)
Βιταμίνη D (IU)	ρ=-0,137, P=0,198 (n=90)	ρ=-0,189, P=0,244 (n=40)	ρ=-0,060, P=0,680 (n=50)
Βιταμίνη Ε (IU)	ρ=-0,134, P=0,207 (n=90)	ρ=-0,159, P=0,327 (n=40)	ρ=-0,093, P=0,519 (n=50)
Α-τοκοφερόλη (mg)	ρ=-0,017, P=0,875 (n=90)	ρ=-0,041, P=0,801 (n=40)	ρ=-0,051, P=0,724 (n=50)
Θειαμίνη (mg)	ρ=-0,131, P=0,217 (n=90)	ρ=-0,086, P=0,599 (n=40)	ρ=-0,197, P=0,169 (n=50)
Ριβοφλαβίνη (mg)	ρ=-0,003, P=0,978 (n=90)	ρ=-0,069, P=0,673 (n=40)	ρ=0,001, P=0,993 (n=50)
Νιασίνη (mg)	ρ=-0,023, P=0,827	ρ=-0,157,	ρ=-0,034,

	(n=90)	P=0,332 (n=40)	P=0,817 (n=50)
Πυριδοξύνη/Βιτ.6 (mg)	ρ=-0,125, P=0,240 (n=90)	ρ=-0,006, P=0,973 (n=40)	ρ=-0,243, P=0,089 (n=50)
Φυλλικό οξύ (μg)	ρ=-0,142, P=0,181 (n=90)	ρ=0,001, P=0,995 (n=40)	**ρ=-0,302, P=0,033 (n=50)**
Κοβαλαμίνη/Βιτ.Β12 (mg)	ρ=-0,002, P=0,988 (n=90)	ρ=-0,025, P=0,876 (n=40)	ρ=-0,004, P=0,979 (n=50)
Βιταμίνη Κ (μg)	ρ=-0,009, P=0,936 (n=90)	ρ=-0,110, P=0,499 (n=40)	ρ=-0,066, P=0,650 (n=50)
Φωσφόρος(mg)	ρ=0,026, P=0,808 (n=90)	ρ=0,062, P=0,702 (n=40)	ρ=-0,010, P=0,944 (n=50)
Ιώδιο(μg)	ρ=-0,134, P=0,209 (n=90)	ρ=-0,054, P=0,742 (n=40)	ρ=-0,197, P=0,170 (n=50)
Μαγνήσιο (mg)	ρ=-0,016, P=0,885 (n=90)	ρ=-0,122, P=0,453 (n=40)	ρ=-0,018, P=0,902 (n=50)
Ψευδάργυρος (mg)	ρ=0,020, P=0,853 (n=90)	ρ=-0,192, P=0,235 (n=40)	ρ=0,084, P=0,562 (n=50)
Χαλκός (mg)	ρ=-0,013, P=0,900 (n=90)	ρ=-0,068, P=0,676 (n=40)	ρ=-0,062, P=0,667 (n=50)
Μαγγάνιο (mg)	ρ=0,013, P=0,900 (n=90)	ρ=0,049, P=0,762 (n=40)	ρ=-0,052, P=0,720 (n=50)
Σελήνιο (mg)	ρ=0,041, P=0,701 (n=90)	ρ=-0,081, P=0,618	ρ=0,083, P=0,565 (n=50)

		(n=40)	
Φθόριο (μg)	ρ=0,044, P=0,678 (n=90)	ρ=-0,081, P=0,620 (n=40)	ρ=0,060, P=0,680 (n=50)
Χρώμιο(mg)	ρ=-0,120, P=0,261 (n=90)	ρ=-0,100, P=0,539 (n=40)	ρ=-0,140, P=0,331 (n=50)
Μόλυβδος (μg)	ρ=-0,075, P=0,480 (n=90)	ρ=-0,004, P=0,978 (n=40)	ρ=-0,157, P=0,275 (n=50)
Διαιτητικές Ίνες (g)	ρ=0,033, P=0,757 (n=90)	ρ=0,156, P=0,337 (n=40)	ρ=-0,051, P=0,724 (n=50)
Υδατοδιαλυτές Δ.Ι. (g)	ρ=-0,177, P=0,096 (n=90)	ρ=-0,169, P=0,297 (n=40)	ρ=-0,181, P=0,207 (n=50)
Μη υδατοδιαλυτές Δ.Ι. (g)	ρ=-0,009, P=0,935 (n=90)	ρ=0,159, P=0,327 (n=40)	ρ=-0,098, P=0,499 (n=50)
Ακατέργαστες Δ.Ι. (g)	ρ=-0,063, P=0,557 (n=90)	ρ=-0,035, P=0,831 (n=40)	ρ=-0,104, P=0,474 (n=50)
Ζάχαρη (g)	ρ=-0,061, P=0,568 (n=90)	ρ=-0,122, P=0,454 (n=40)	ρ=-0,047, P=0,747 (n=50)
Γλυκόζη (g)	ρ=0,052, P=0,624 (n=90)	ρ=0,068, P=0,678 (n=40)	ρ=0,025, P=0,861 (n=50)=
Γαλακτόζη (g)	**ρ=0,209, P=0,048 (n=90)**	ρ=-0,181, P=0,265 (n=40)	**ρ=0,443, P=0,001 (n=50)**
Φρουκτόζη (g)	ρ=0,055, P=0,607 (n=90)	ρ=0,007, P=0,964 (n=40)	ρ=0,069, P=0,635 (n=50)
Σουκρόζη (g)	ρ=-0,117, P=0,273 (n=90)	ρ=-0,118, P=0,470	ρ=-0,128, P=0,375

		(n=40)	(n=50)
Λακτόζη (g)	ρ=-0,096, P=0,367 (n=90)	ρ=-0,070, P=0,670 (n=40)	ρ=-0,108, P=0,454 (n=50)
Μαλτόζη (g)	ρ=-0,078, P=0,464 (n=90)	ρ=-0,021, P=0,898 (n=40)	ρ=-0,128, P=0,375 (n=50)
Καφεΐνη (g)	ρ=0,049, P=0,645 (n=90)	ρ=-0,109, P=0,503 (n=40)	ρ=0,065, P=0,655 (n=50)
Ισοδύναμα Αμύλου	ρ=-0,120, P=0,260 (n=90)	ρ=-0,135, P=0,407 (n=40)	ρ=-0,177, P=0,220 (n=50)
Ισοδύναμα Φρούτου	ρ=0,046, P=0,664 (n=90)	ρ=0,122, P=0,454 (n=40)	ρ=0,005, P=0,975 (n=50)
Ισοδύναμα άλλων Υδατανθράκων	ρ=-0,062, P=0,562 (n=90)	ρ=-0,243, P=0,130 (n=40)	ρ=-0,019, P=0,896 (n=50)
Ισοδύναμα Γάλατος 1%	ρ=0,025, P=0,817 (n=90)	ρ=0,035, P=0,831 (n=40)	ρ=0,025, P=0,864 (n=50)
Ισοδύναμα Γάλατος 2%	ρ=0,104, P=0,328 (n=90)	ρ=0,157, P=0,334 (n=40)	ρ=0,078, P=0,592 (n=50)
Ισοδύναμα Γάλατος πλήρες	ρ=-0,055, P=0,609 (n=90)	ρ=0,049, P=0,762 (n=40)	ρ=-0,064, P=0,661
Ισοδύναμα Λαχανικών	ρ=-0,071, P=0,504 (n=90)	ρ=0,002, P=0,991 (n=40)	ρ=-0,155, P=0,281 (n=50)
Ισοδύναμα Τ.Α. Κρέατος	ρ=0,042, P=0,696 (n=90)	ρ=0,265, P=0,099 (n=40)	ρ=0,018, P=0,901 (n=50)
Ισοδύναμα Χ.Λ. Κρέατος	ρ=-0,013, P=0,906 (n=90)	ρ=-0,206, P=0,201 (n=40)	ρ=0,020, P=0,888 (n=50)
Ισοδύναμα Μ.Λ. Κρέατος	ρ=-0,017, P=0,872 (n=90)	ρ=-0,129, P=0,427	ρ=0,029, P=0,842 (n=50)

		(n=40)	
Ισοδύναμα Υ.Λ. Κρέατος	ρ=-0,072, P=0,501 (n=90)	ρ=-0,145, P=0,373 (n=40)	ρ=-0,008, P=0,958 (n=50)
Ισοδύναμα Κρέατος Συνολικά	ρ=0,027, P=0,797 (n=90)	ρ=-0,067, P=0,681 (n=40)	ρ=0,026, P=0,857 (n=50)
Ισοδύναμα Λίπους	ρ=0,008, P=0,939 (n=90)	ρ=-0,084, P=0,605 (n=40)	ρ=-0,012, P=0,937 (n=50)

Σε αυτήν τη φάση της παρέμβασης δεν βρέθηκαν αρκετές στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις. Αρνητική αλλά στατιστικά σημαντική, είναι η συσχέτιση την προσλαμβανόμενης από τη διατροφή χοληστερόλης με τα TBARS στις γυναίκες του δείγματος , όπως επίσης και η συσχέτιση του φυλλικού οξέος με τα TBARS στους άνδρες του δείγματος . Επιπλέον παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική, θετική συσχέτιση της γαλακτόζης με τα TBARS τόσο στο συνολικό, όσο και στον ανδρικό πληθυσμό . Οριακά σημαντικές είναι οι αρνητικές συσχετίσεις της πυριδοξύνης με τα TBARS στους άνδρες και οι υδατοδιαλυτές διαιτητικές ίνες με τα TBARS στο συνολικό πληθυσμό.

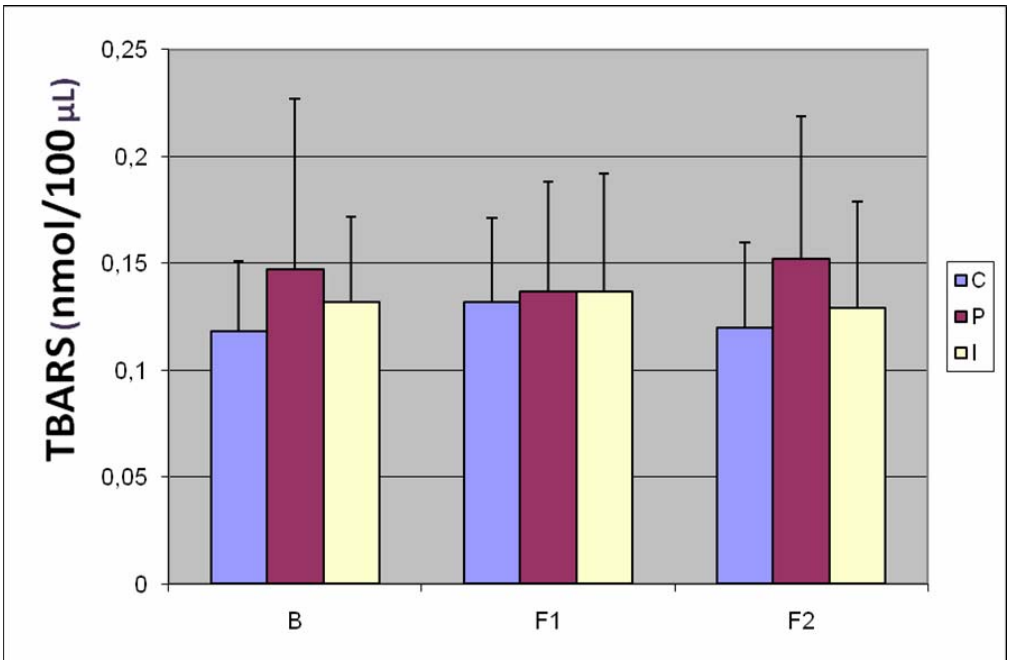
7.5. <u>Οι μεταβολές των TBARS στις 3 φάσεις της παρέμβασης</u>

7.5.1. <u>Οι μεταβολές των TBARS στον συνολικό πληθυσμό</u>

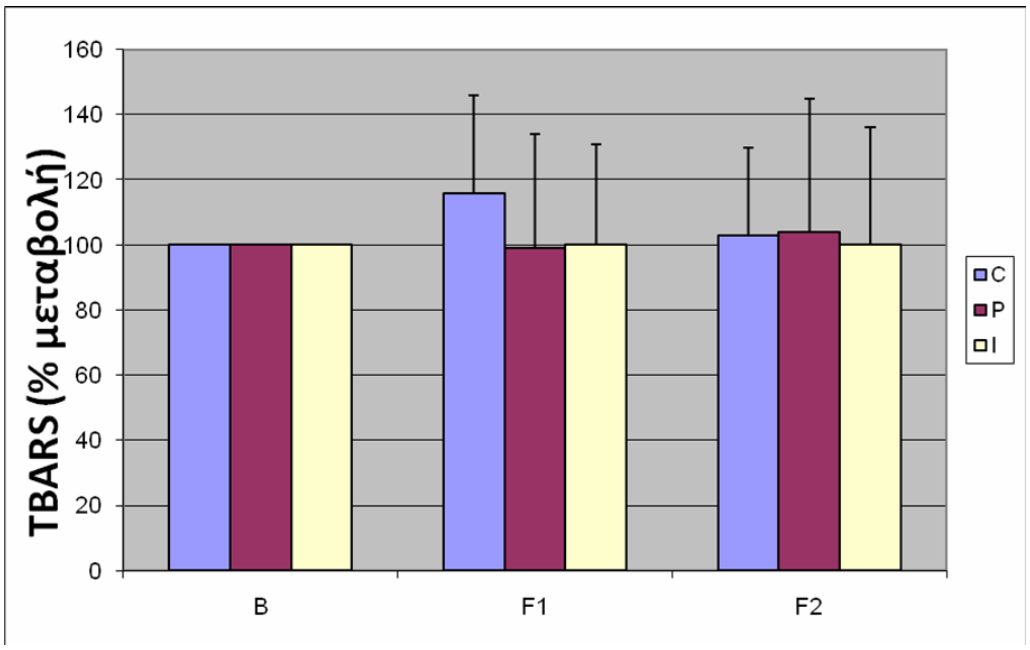
Η στατιστική ανάλυση με τη μέθοδο RM-ANOVA, έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα των TBARS με την πάροδο του χρόνου και στις τρεις ομάδες της παρέμβασης. Παράλληλα, η παρέμβαση με το εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες γάλα (ομάδα παρέμβασης), δεν διαφοροποίησε τη μεταβολή των επιπέδων των TBARS σε σχέση με τα άλλα δύο γκρουπ (ομάδα ελέγχου και ομάδα placebo). Επιπρόσθετα, οι συσχετίσεις αυτές δεν επηρεάστηκαν με την προσθήκη των συγχυτικών παραγόντων ηλικία, φύλο και BMI. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνονται από τα παρακάτω διαγράμματα (σχήματα 7και 8).

Πίνακας 15 : Μεταβολές των απόλυτων τιμών και % μεταβολές των TBARS στο συνολικό πληθυσμό

TBARS nmol/100 μL	**Baseline** Mean (SD)	**Follow up 1** Mean (SD)	**Follow up 1 Μεταβολή %** Mean	**Follow up 2** Mean (SD)	**Follow up 2 Μεταβολή %** Mean
Ομάδα ελέγχου	0,118 (0,033)	0,132 (0,039)	+16 (-41 έως 114)	0,12 (0,04)	+3 (-51 έως 54)
Ομάδα placebo	0,147 (0,08)	0,137 (0,051)	-1 (-37 έως 155)	0,152 (0,067)	+4 (-55 έως 128)
Ομάδα παρέμβασης	0,132 (0,04)	0,137 (0,055)	0 (-46 έως 570)	0,129 (0,05)	- (-50 έως 97)



Σχήμα 7 :Η μεταβολή των απόλυτων τιμών των TBARS στις τρεις φάσεις της παρέμβασης και στις τρεις ομάδες της παρέμβασης



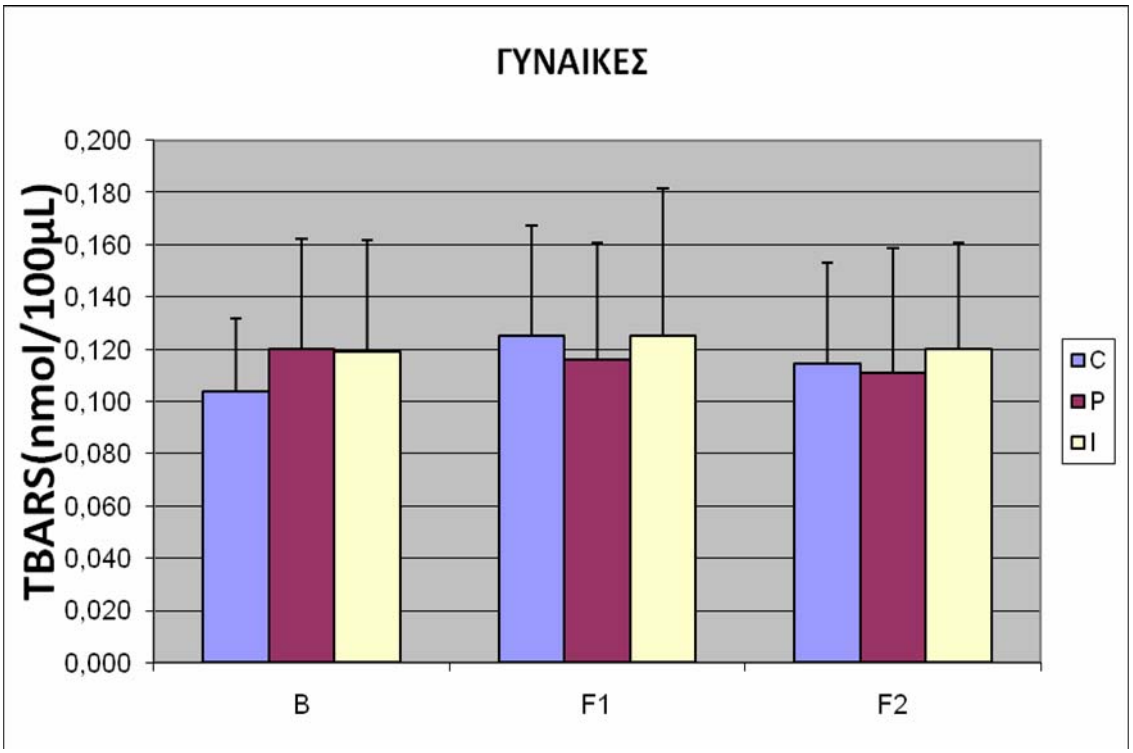
Σχήμα 8 : Η % μεταβολή των TBARS στις τρεις φάσεις της παρέμβασης και στις τρεις ομάδες της παρέμβασης

7.5.2. Οι μεταβολές των TBARS ξεχωριστά σε άνδρες και γυναίκες

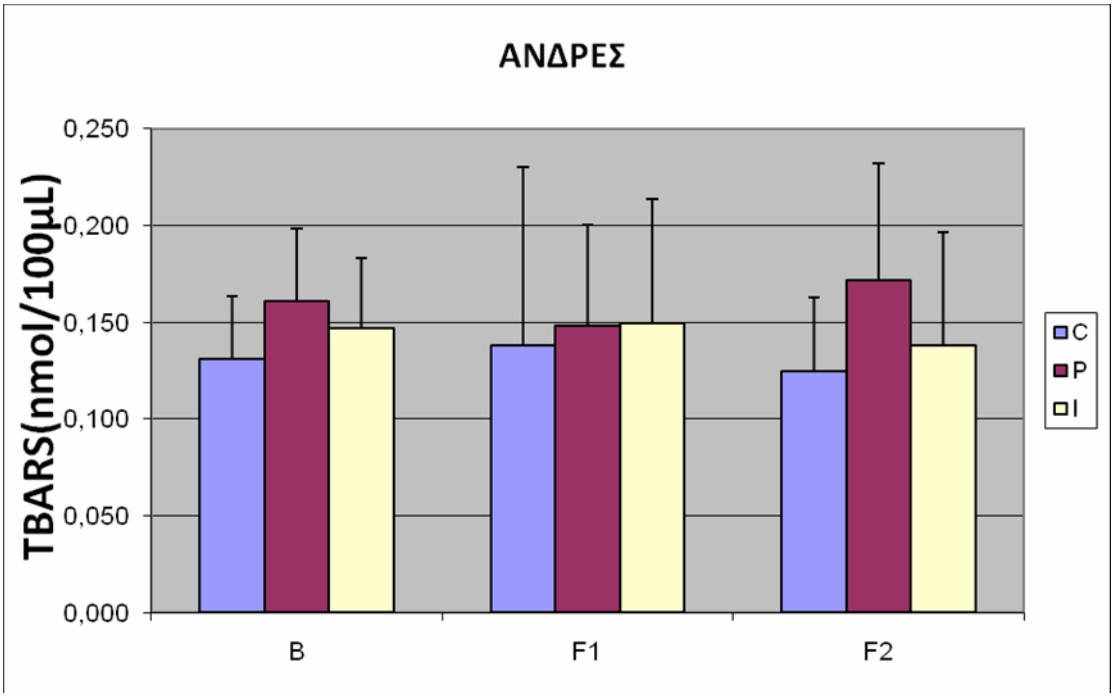
Πίνακας 16 : Μεταβολές των απόλυτων τιμών των TBARS σε γυναίκες και άνδρες ξεχωριστά

TBARS nmol/100 μL	**Baseline** Mean (SD)	**Follow up 1** Mean (SD)	**Follow up 2** Mean (SD)
Ομάδα ελέγχου γυναίκες	0,104 (0,028)	0,125 (0,042)	0,115 (0,043)
άνδρες	0,131 (0,033)	0,138 (0,038)	0,125 (0,037)
Ομάδα placebo γυναίκες	0,120 (0,042)	0,116 (0,045)	0,111 (0,057)
άνδρες	0,161 (0,092)	0,148 (0,052)	0,172 (0,064)
Ομάδα παρέμβασης γυναίκες	0,119 (0,039)	0,125 (0,048)	0,120 (0,040)

άνδρες	0,147 (0,039)	0,150 (0,060)	0,138 (0,059)



Σχήμα 9 : Η μεταβολή των TBARS στις τρεις φάσεις της παρέμβασης και στις τρεις ομάδες της παρέμβασης, στον γυναικείο πληθυσμό του δείγματος



Σχήμα 10 : Η μεταβολή των TBARS στις τρεις φάσεις της παρέμβασης και στις τρεις ομάδες της παρέμβασης, στον ανδρικό πληθυσμό του δείγματος

8.0 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η αθηροσκλήρωση είναι μια φλεγμονώδης διαδικασία, η οποία σχετίζεται τόσο με την αυξημένη χοληστερόλη του πλάσματος, όσο και με την παχυσαρκία και οδηγεί στην εγκατάσταση CVD, μια από τις κύριες αιτίες νοσηρότητας στις πολιτισμένες κοινωνίες. Συγκεκριμένα, η αυξημένη συγκέντρωση της LDL χοληστερόλης στο πλάσμα, αποτελεί τον κυριότερο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου, καθώς η οξειδωμένη μορφή της LDL, δρα ως βασικός παράγοντας στη δημιουργία αθηροματικής πλάκας (αθηρογένεση). Διαιτητικές παρεμβάσεις με στόχο τη μείωση της χοληστερόλης και κατά συνέπεια του καρδιαγγειακού κινδύνου, έχουν αποκτήσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια. Οι φυτικές στερόλες και στανόλες, βασικά συστατικά της κυτταρικής μεμβράνης των φυτών, χρησιμοποιούνται ευρέως σε τέτοιου είδους παρεμβάσεις, ιδιαίτερα μέσω της προσθήκης αυτών σε γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα, βελτιώνοντας σημαντικά το λιπιδαιμικό προφίλ, με τη μείωση της LDL χοληστερόλης. Μια παρόμοια διαιτητική παρέμβαση με γάλα εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες, είναι και αυτή η οποία μελετάται στην παρούσα πτυχιακή μελέτη.

Η παρούσα μελέτη επικεντρώθηκε στη μέτρηση του ενός δείκτη λιπιδικής υπεροξείδωσης, του MDA, στο πλάσμα των εθελοντών με υπερχοληστερολαιμία και στη μεταβολή αυτού κατά την πορεία της παρέμβασης. Όσον αφορά τη δυσλιπιδαιμία, γνωρίζουμε ότι συμβάλλει στην εμφάνιση οξειδωτικού στρες στα αγγεία και το μυοκάρδιο, παρότι ο ακριβής μηχανισμός μιας τέτοιας σχέσης δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί (47,48,49,50,51). Σε μελέτη που έγινε σε ασθενείς με εγκατεστημένη CVD παρατηρήθηκε ότι τα αυξημένα επίπεδα των TBARS σχετίζονται με μια αύξηση του κινδύνου εξάπλωσης της CVD, όμως αυτή η επίδραση των TBARS δεν παρέμεινε σημαντική έπειτα από την προσθήκη γλυκόζης ως συγχυτικό παράγοντα (75). Επιπλέον, ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία έχουν αυξημένα επίπεδα ισοπροστανίων, TBARS και λιπιδικών υπεροξειδίων στον ορό και στα ούρα (75,77) και το αυξημένο οξειδωτικό στρες των ασθενών αυτών σχετίζεται με δυσχερέστερη ενδοθηλιακή λειτουργία. Είναι λοιπόν προφανές ότι η υπερχοληστερολαιμία επάγει οξειδωτικό στρες και αυτός είναι ένας τρόπος μέσω του οποίου μπορεί να οδηγήσει σε καρδιαγγειακές παθήσεις. Είναι επίσης προφανές ότι η πιθανή μείωση του οξειδωτικού στρες με μείωση της δυσλιπιδαιμίας μπορεί να είναι ένας μηχανισμός μέσω του οποίου το βελτιωμένο λιπιδαιμικό προφιλ οδηγεί σε μειωμένο κίνδυνο καρδιαγγειακών παθήσεων.

Ο δείκτης που χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση της λιπιδικής υπεροξείδωσης στο πλάσμα των εθελοντών που συμμετείχαν στη παρέμβαση, ήταν οι ουσίες που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ (μέθοδος των TBARS). Το κύριο προϊόν λιπιδικής υπεροξείδωσης που αντιδρά με θειοβαρβιτουρικό οξύ είναι η μηλονυλοδιαλδεύδη, συνεπώς τα TBARS είναι ένας έμμεσος τρόπος προσδιορισμού της. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ευρέως καθώς είναι ένας γρήγορος εύκολος και φθηνός τρόπος για την εκτίμηση της λιπιδικής υπεροξείδωσης. Ωστόσο, η συγκεκριμένη μέθοδος δεν είναι αρκετά αξιόπιστη λόγω της αστάθειας του μορίου της MDA που μετράται και της υπερεκτίμησης της λιπιδικής υπεροξείδωσης που συμβαίνει στο πλάσμα, καθώς το TBA μπορεί εκτός από την MDA να αντιδράσει και με άλλες ουσίες, επηρεάζοντας έτσι τα αποτελέσματα. Επιπλέον, η μέθοδος αυτή είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη και η αξιοπιστία της επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία και το pH (37). Συμπερασματικά όμως, η μέθοδος των TBARS είναι κατάλληλη για κλινικές μελέτες, με μεγάλο αριθμό δειγμάτων.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις που έγιναν στα δείγματα της παρέμβασης, παρατηρούμε ότι όντως ο συνολικός πληθυσμός είναι υπερχοληστερολαιμικός και κατάλληλα επιλεγμένος, χωρίς να εμφανίζει άλλα βιοχημικά παθολογικά ευρήματα. Όπως φαίνεται και στον πίνακα 3, υπάρχουν αρκετές στατιστικά σημαντικές διαφορές στα ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά μεταξύ ανδρών και γυναικών. Το βάρος, ο ΔΜΣ, η περιφέρεια μέσης και η ομοκυστείνη, είναι αυξημένα στους άνδρες. Επιπλέον, οι άνδρες εμφανίζουν και

αυξημένα επίπεδα ΣΑΠ, ΔΑΠ, LDL-C και apo-B σε σύγκριση με τις γυναίκες. Οι γυναίκες από την άλλη, έχουν αυξημένη HDL-C και apo-A.

Παράλληλα, στην μελέτη μας τα επίπεδα TBARS στους περχοληστερολαιμικούς ασθενείς πριν την παρέμβαση ήταν 1,40 nmol/mL και είναι συγκρίσιμα αν και λίγο χαμηλότερα με τα επίπεδα TBARS υπερχοληστερολαιμικών ασθενών άλλων μελετών. Συγκεκριμένα, σε πληθυσμούς υερχοληστερολαιμικών σε Βραζιλία(156), Κορέα (157) και Ιαπωνία (158) οι αντίστοιχες τιμές TBARS ήταν 1,82, 1,98 και 3,3 nmol/mL χωρίς να διαφέρουν σημαντικά οι τιμές ολικής και LDL χοληστερόλης των πληθυσμών αυτών απο τις δικές μας. Οι ελαφρώς χαμηλότερες τιμές των TBARS είναι πιθανόν να οφείλονται στην υιοθέτηση διατροφής πιο κοντά στο Μεσογειακό πρότυπο και την κατανάλωση περισσότερων αντιοξειδωτικών απο τον δικό μας πληθυσμό.

Επίσης, στο δικό μας πληθυσμό παρατηρείται μια στατιστικά σημαντική αύξηση των TBARS στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες. Παρόμοιες μελέτες δίνουν αντικρουόμενα αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, μελέτη που έγινε σε γυναίκες και άνδρες άνω των 59 ετών έδειξε ότι οι γυναίκες είχαν υψηλότερα επίπεδα καροτενοειδών, TBARS και βιταμίνης Ε (159). Επιπλέον, από μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε υγιείς ανθρώπους, φάνηκε οι συγκεντρώσεις της MDA και των TBARS στο πλάσμα των ανδρών ήταν περισσότερο αυξημένες σε σύγκριση με αυτά των γυναικών, όμως η συσχέτιση αυτή χάθηκε έπειτα από πρόσληψη μιας μείξης αντιοξειδωτικών (160). Όσον αφορά τη δικιά μας μελέτη τα βιοχημικά χαρακτηριστικά (ανδρών, γυναικών) που θα μπορούσαν να εξηγήσουν αυτή τη διαφορά είναι οι αυξημένες τιμές ΔΜΣ, ομοκυστεϊνης, πίεσης και LDL-C που εμφανίζουν οι άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες καθώς και τα μειωμένα επίπεδα HDL-C. Όπως θα αναλυθεί και παρακάτω τόσο η ομοκυστεϊνη, ο ΔΜΣ όσο και τα επίπεδα χοληστερόλης σχετίζονται θετικά με λιπιδική υπεροξείδωση. Παράλληλα, δεδομένου ότι η HDL λιποπρωτεϊνες έχουν αντιοξειδωτική δράση, τα χαμηλότερα επίπεδά τους στους άνδρες είναι πιθανόν να συνεισφέρουν στη μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος. (161). Η έμμηνος ρύση δεν φαίνεται να επηρεάζει τα επίπεδα των TBARS όπως φαίνεται απο παλαιότερη μελέτη(162).

Όσον αφορά τις συσχετίσεις TBARS και των άλλων βιοχημικών δεικτών που εμφανίζονται στον πληθυσμό μας το πρώτο που πρέπει να τονιστεί είναι ότι οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις δεν διατηρούνται και στα τρεια στάδια της μελέτης. Επίσης, οι συσχετίσεις αυτές χάνονται όταν ως συγχυτικοί παράγοντες χρησιμοποιηθούν η ηλικία, το φύλο και ο ΔΜΣ. Αυτό οφείλεται αφενός στο ότι ο αριθμός του πληθυσμού μας δεν είναι ιδιαίτερα μεγάλος για συγχρονική μελέτη και αφετέρου ότι είναι αρκετά ομοιογενής όσον αφορά τα βιοχημικά χαρακτηριστικά του. Ωστόσο, παρατηρώντας τις συσχετίσεις ειδικά στην πρώτη φάση της παρέμβασης (baseline) μπορούν να παρατηρηθούν κάποιες τάσεις. Συγκεκριμένα, βλέπουμε ότι το BMI και το βάρος, συσχετίζεται θετικά με τα TBARS στον συνολικό και γυναικείο

πληθυσμό στην αρχή της παρέμβασης. Από μελέτη που έγινε σε διαβητικούς ασθενείς, στους οποίους εφάρμοσαν δίαιτα χαμηλού θερμιδικού περιεχομένου, παρατηρήθηκε ότι όσο μειωνόταν το BMI του δείγματος (και κατά συνέπεια το βάρος), τόσο μειώνονταν τα επίπεδα των TBARS (163). Η συσχέτιση αυτή επιβεβαιώνεται και από μελέτη στην οποία συγκρίθηκαν παχύσαρκοι με φυσιολογικού βάρους άνθρωποι και φάνηκε ότι όσο μεγαλύτερο ήταν το BMI, τόσο μεγαλύτερα ήταν και τα επίπεδα των TBARS στο πλάσμα των δειγμάτων (164).

Όσον αφορά την ομοκυστεϊνη, φαίνεται ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωσή της στο πλάσμα, τόσο αυξάνονται και τα επίπεδα των TBARS σε αυτό. Η υπερομοκυστεϊνεμία γενικώς αποτελεί έναν παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη CVD, παρότι ο ακριβής μηχανισμός της δεν είναι ακόμη ξεκάθαρος. Μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε προ- και μετεμυνοπαυσιακές γυναίκες και σε ενήλικους και ανήλικους άνδρες έδειξε ότι η ομοκυστεϊνη σχετίζεται θετικά με τα επίπεδα MDA στο πλάσμα μόνο όμως στους νεαρούς άνδρες (165). Μια ακόμη μελέτη η οποία έγινε σε άνδρες έδειξε ότι η αυξημένη ομοκυστεϊνη νηστείας σχετίζεται με αυξημένη *in vivo* λιπιδική υπεροξείδωση (166), ενώ μια άλλη που έγινε σε υγιή άνθρωπο προτείνει ότι η ομοκυστεϊνη προάγει την οξείδωση της LDL καταλυόμενη από τον σίδηρο, υποδηλώνοντας τον ρόλο της στην ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης (167). Επιπλέον, στα αποτελέσματά μας, υπάρχει θετική συσχέτιση αρτηριακής πίεσης (ΣΑΠ και ΔΑΠ) με τα TBARS, κάτι που φαίνεται τόσο από την μελέτη του Uzun et all, στην οποία συμμετείχαν ενήλικες με αυξημένη αρτηριακή πίεση (ΣΑΠ και ΔΑΠ) και άλλοι με φυσιολογική και βρέθηκε ότι όσο αυξάνεται η ΣΑΠ και η ΔΑΠ, τόσο αυξάνονται και τα επίπεδα των TBARS(168), όσο και από αυτήν του Konukoglu. Η δεύτερη μελέτη έγινε σε παχύσαρκους και μη ενήλικους με ή χωρίς υπέρταση και φάνηκε ότι τα επίπεδα των TBARS στο πλάσμα ήταν σημαντικά αυξημένα στους μη-παχύσαρκους, υπερτασικούς ενήλικες σε σχέση με τους μη-παχύσαρκους νορμοτασικούς (169).

Προχωρώντας στα αποτελέσματα, παρατηρούμε και μια οριακά στατιστικά σημαντική, αρνητική συσχέτιση των καροτενοειδών (πρώιμες μορφές της Βιταμίνης Α), με τα επίπεδα των TBARS. Από μελέτη που έγινε σε λεπρούς και φυσιολογικούς ενήλικες, φάνηκε επίσης αρνητική συσχέτιση των TBARS με τα επίπεδα βιταμίνης Α στο πλάσμα των εθελοντών, δηλαδή όσο αυξάνονται τα επίπεδα βιταμίνης Α στο πλάσμα, τόσο μειώνονται αυτά των TBARS (170). Η σχέση των καροτενοειδών και της MDA μελετήθηκε και από τους Dixon et all όπου τα αποτελέσματά τους παρείχαν στοιχεία τα οποία υποστηρίζουν τις ευεργετικές επιδράσεις των καροτενοειδών στην πρόληψη της λιπιδικής υπεροξείδωσης στα κύτταρα. Πρόλαυτά, χρειάζονται περαιτέρω έρευνες για την έυρεση του ακριβή μηχανισμού μέσω του οποίου τα καροτενοειδή προλαμβάνουν τη λιπιδική υπεροξείδωση και τι ποσότητα απαιτείται για τη δράση τους αυτή (171). Τέλος, παρατηρούμε θετικές συσχετίσεις των απολιποπρωτεϊνών Α και Β (apo-A, apo-B) με τα TBARS, όπως παρατηρείτε και στην μελέτη των Hiroyuki Oka et all η

οποία έγινε σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο (172). Παραδόξως, ενώ θα περιμέναμε το TAC (Total Antioxidant Capacity, Συνολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα) να σχετίζεται αρνητικά με τα TBARS, δεν βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση στην πάροδο της παρέμβασης. Αυτό συμβαίνει διότι τα επίπεδα MDA στον οργανισμό δεν επηρεάζονται μόνο από την ισορροπία των αντιοξειδωτικών και οξειδωτικών παραγόντων, αλλά και από την ύπαρξη υποστρώματος λιπιδικής υπεροξείδωσης (λιποπρωτεϊνες). Το TAC αντιπροσωπεύει την ύπαρξη αντιοξειδωτικής ικανότητας στο πλάσμα η οποία από μόνη της δεν μπορεί από μόνη της να εξηγήσει τα επίπεδα MDA.

Όσον αφορά τις συσχετίσεις TBARS με τη διατροφική πρόσληψη των εθελοντών μπορούν να γίνουν οι ίδιες γενικές παρατηρήσεις που έγιναν και για τις συσχετίσεις των TBARS με τα βιοχημικά δεδομένα δηλαδή, ότι δεν είναι ιδιαίτερα ισχυρές και δεν διατηρούνται και στα τρια στάδια της παρέμβασης. Ωστόσο μπορούμε να παρατηρήσουμε μια στατιστικά σημαντική, αρνητική συσχέτιση του λινολεϊκού οξέος, του EPA, του DHA και γενικότερα των πολυακόρεστων λιπαρών οξέως (PUFA) με τα TBARS στην αρχή της μελέτης. Οι μελέτες για τις επιδράσεις των μακράς αλύσου PUFA (EPA, DHA, λινολεϊκού οξέως) στο οξειδωτικό στρες είναι αντικρουόμενες. Ορισμένες έρευνες δείχνουν ότι τα PUFA προάγουν τη λιπιδική υπεροξείδωση με έναν συγκεκριμένο μηχανισμό. Συγκεκριμένα, μελέτη που έγινε σε εθελοντές, φανέρωση μια σημαντική αύξηση των TBARS έπειτα από κατανάλωση δίαιτας υψηλή σε PUFA, ενώ τα TBARS μειώθηκαν έπειτα από κατανάλωση δίαιτας χαμηλής σε PUFA (173). Σε μια ακόμη μελέτη, ερευνήθηκαν οι μεταβολές της MDA, των TBARS και των F2-ισοπροστανίων στο πλάσμα μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, έπειτα από κατανάλωση συμπληρωμάτων πλούσια σε ολεϊκό, λινολεϊκό οξύ καθώς και σε DHA και EPA. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι με την κατανάλωση του ιχθυελαίου δεν υπήρξε αύξηση της λιπιδικής υπεροξείδωσης, παρότι τα επίπεδα των TBARS ήταν μεγαλύτερα στο ηλιέλαιο (174). Ωστόσο, απο άλλες μελέτες, φαίνεται ότι τα PUFA ασκούν ευεργετικές επιδράσεις στην παθοφυσιολογία της φλεγμονής, περιορίζοντας την κυτταρική καταστροφή και την οξείδωση της LDL χοληστερόλης, δρώντας ως αντιοξειδωτικά. Όντως σε μελέτη όπου συγκρίθηκε δίαιτα χαμηλή σε λίπος 30/12:8:3 (%ποσοστό της συνολικής ενέργειας/κορεσμένα λιπαρά:μονοακόρεστα:πολυακόρεστα) με δίαιτα της AHA (American Heart Association) τύπου 32/10:8:8, παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων TBARS κατά τη διάρκεια της AHA δίαιτας και αύξησή τους κατά τη διάρκεια της δίαιτας χαμηλής σε λιπαρά (175). Παρατηρήθηκε επίσης και μια θετική συσχέτιση του αλκοόλ και των TBARS στους άνδρες. Κάτι παρόμοιο φάνηκε και σε μελέτη που έγινε σε ενήλικες άνδρες και γυναίκες και παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση της κατανάλωσης αλκοόλ και των TBARS του πλάσματος (176). Παράλληλα στην αρχή της μελέτης εμφανίστηκε και μια αξιοσημείωτη αρνητική συσχέτιση μεταξύ των TBARS και της

πρόσληψης κρέατος. Αν και αυτό είναι φαινομενικά παράδοξο, εν μέρη θα μπορούσε να εξηγηθεί απο το γεγονός ότι αυξημένη κατανάλωση κρέατος οδηγεί σε αυξημένη διαιτητική πρόσληψη σεληνίου όπως έχει φανεί απο πειράματα της ερευνητικής ομάδας στη μελέτη ΑΤΤΙΚΗ (177). Το σελήνιο ως συστατικό υπεροξειδασών μπορεί να αναστείλει τη λιπιδική υπεροξείδωση

Παρά ταύτα, αυτό που μας ενδιαφέρει περισσότερο στην παρούσα πτυχιακή μελέτη είναι το κατά πόσο και εάν μεταβλήθηκαν τα επίπεδα MDA των εθελοντών κατά τη διάρκεια της παρέμβασης, έπειτα από τη μείωση της χοληστερόλης των εθελοντών. Από την εξαγωγή των αποτελεσμάτων δεν φάνηκε να μεταβλήθηκαν σημαντικά τα επίπεδα των TBARS κατά τη διάρκεια της παρέμβασης σε κανένα από τα τρια γκρουπ τόσο στα συνολικό πληθυσμό, όσο μεταξύ ανδρών και γυναικών. Με τα μέχρι τώρα δεδομένα η κύρια αξιοσημείωτη αλλαγή όσον αφορά τους βιοχημικούς δείκτες είναι η αυξημένη μείωση της ολικής και LDL χοληστερόλης στην ομάδα παρέμβασης σε σχέση με τα άλλα δυο γκρουπ, κατά 28% και 24% αντίστοιχα (αδημοσίευτα αποτελέσματα). Πιθανόν αυτή η μείωση της χοληστερόλης να μην είναι ικανή απο μόνη της να επηρεάσει τη λιπιδική υπεροξείδωση και συνεπώς τα επίπεδα TBARS στο πλάσμα. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν φανεί και από άλλες μελέτες με διατροφικές παρεμβάσεις όπως αυτή του Davies et all. Η παρέμβαση αυτή έγινε σε γυναίκες και άνδρες και μελετήθηκε η επίδραση του τσαγιού στα επίπεδα χοληστερόλης εφόσον ακολουθείται μετρίως χαμηλή σε λίπος δίαιτα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κατανάλωση τσαγιού μειώνει την ολική και LDL χοληστερόλη, αλλά δεν επηρεάζει την αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος και κατά συνέπεια τα επίπεδα της λιπιδικής υπεροξείδωσης (178). Επίσης, παρέμβαση που έγινε σε υπερχοληστερολαιμικούς ενήλικες με γάλα εμπλουτισμένο με φυτοστερόλες, φάνηκε να μειώνει σημαντικά τα επίπεδα της χοληστερόλης, αλλά να μην επηρεάζει ουσιαστικά τους δείκτες οξειδωτικού στρες. Σε αντίθεση με τα παραπάνω, πολλές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί μελετώντας την υπερχοληστερολαιμική δράση φαρμάκων και ειδικότερα στατινών, έχουν δείξει ότι παράλληλα με τη μείωση της χοληστερόλης μειώνονται και δείκτες οξειδωτικού στρες. Για παράδειγμα, θεραπεία που έγινε με πραβαστατίνη (5mg 2 φορές/ημέρα), παρήγαγε σημαντική μείωση των επιπέδων των λιπιδίων του πλάσματος, αλλά για την ουσιαστική μείωση της χοληστερόλης και των TBARS χρειάζονται τουλάχιστον 8 εβδομάδες θεραπείας (179). Παρόμοια θεραπεία με σιμβαστατίνη προκαλεί παράλληλα με τη μείωση της χοληστερόλης και μείωση του οξειδωτικού στρες, το οποίο δεν μειώνεται περαιτέρω με την προσθήκη βιτ. Ε (180). Ωστόσο οι μελέτες αυτές μειώνουν πολύ περισσότερο τη χοληστερόλη σε σχέση με τις διατροφικές παρεμβάσεις, ενώ δεν πρέπει να αποκλειστεί και άμεση επίδραση των στατινών στο οξειδωτικό στρες ανεξαρτήτως των υπολιπιδαιμικών τους ιδιοτήτων δεδομένου ότι είναι φάρμακα με πλειοτροπικές δράσεις.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(1)Gutteridge John M. C., Halliwell Barry, Antioxidants in nutrition, health and disease, New York : Oxford University Press 1994

(2)Pappas Andreas M., Antioxidant status, diet, nutrition, and health, Noriko Noguchi, Ph.D. and Niki, Ph.D, Chemistry of Active Oxygen Species and Antioxidants, CRC Press c1999

(3)Lili Ji. In Garret W.T., Kirkrndall D.T. Free Radicals and antioxidant in exercise and sports Exercise and Sport Science, Lipincott Williams and Wilkins Publishers,Philadelphia 299-317 , 2000

(4)Halliwell B., Gutteridge J.M.C Free radicals in biology and medicine, Clarenden Press, Oxford, 1985.

(5)Jekins R.R Free radical chemistry:relationship to exercise, Sports Med 5:156-170 , 1988

(6)Stocker, R, Bowry, V. and Frei B.Pra.Natl.Acad.Sci. USA 88, 1646-1650

(7)Halliwell B., Gutteridge J.M.C Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine:some problems and concepts, Arch Biophem Biophys, 246:501-14, 1986

(8)Francisco J. Romero, Francisco Bosch-Morell, Maria J.Romero, Enrique J. Jareflo, Lipid Peroxidation Products and Antioxidants in Human Disease, Department of Physiology, School of Medicine and Dentistry, University of Valencia, Valencia, Spain

(9)Griffith HR, Unsworth J, Blake DR, Lunee J. Free radicals in chemistry, pathology and medicine London, Richeline, 439-54, 1988

(10)Davies KJA. Protein modification by oxidants and the role of proteolytic enzymes, Biochem Soc Trans, 21:346-53, 1993

(11),Adreas M. Papas, PH.D. , Antioxidant status, Diet, Nutrition and Health, Determinations of antioxidant status in humans, Health and nutrition Eastman chemical company, Kingsport, Tennessee, USA

(12)Halliwell B, Antioxidants: the basics – what they are and how to evaluate them. Adv Pharmacol 38:3–20 , 1997

(13)Gutteridge JM, Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. Chem–Biol Interactions 91:133–140, 1994

(14)Maria L. Urso, Priscilla M. Clarkson. Oxidative stress exercise and antioxidant supplementation, Toxicology, 2003

(15) Paglia DE and Valentine WN, Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med 70:158–169,1967

(16)Abbe MR, Automated assay of SOD in blood. Clin Chem 19:175–180 (1986).

(17)Aebi H, Catalase in vitro. Methods Enzymol 105:121–126, 1984

(18)Davies KJ,Oxidative stress: the paradox of aerobic life. Biochem Soc Symp 61:1–31 , 1995

(19)Sies, H.. Oxidative stress. Introductory remarks. In: Oxidative stress (Sies, H., ed.), Academic Press London p1-8, 1985

(20)Moller P, Wallin H, Knudsen LE. Oxidative stress associated with exercise, physchological stress and lifestyle factors. Chem-Biol Inter 102:17-3, 1996

(21)Ames B and Shigenaga MK, Oxidants are a major contributor to aging. Ann NY Acad Sci 663:85–96 , 1992

(22)Esterbauer H, Schmidt R and Hayn M, Relationships amongoxidation of low density lipoprotein, antioxidant protection and atheroschlerosis. Adv Pharmacol 38:425–455 , 1997

(23)Cheeseman KH, Lipid peroxidation and cancer, in DNA and Free Radicals, ed. By Halliwell B and Aruoma OI. New York and London: Ellis Horwood, pp. 109–144 , 1993

(24)Morrow JD, Frei B, Longmire AW, Gaziano JM, Lynch SM, Shyr Y, et al, Increase in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. N Engl J Med 332:1198–1203 , 1995

(25)Wood LG, Garg ML, Simpson JL, Mori TA, Croft KD,Wark PAB, et al, Induced sputum 8-isoprostane concentrations in inflammatory airway diseases. Am J Respir Crit Care Med 171:426–430 , 2005

(26)Susan T. Mayne, Antioxidant Nutrients and Chronic Disease: Use of Biomarkers of Exposure and Oxidative Stress Status in Epidemiologic Research, J Nutr, 133:933-940, 2003

(27)Chapple I, Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory disease. J Clin Periodontol 24:287–296, 1997

(28)Repine JE, Bast A and Lankhorst I, Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. Oxidative Stress Study Group. Am J Resp Crit Care Med 156:341–357 , 1997

(29)Ridker PM, Brown NJ, Vaughan DE, Harrison DG and Mehta JL, Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. Circulation 109:IV-6–IV-19, 2004

(30)Kohn, H. I., and Liversedge, M. J. Pharmacol. Exp. Ther. 82, 292-300, 1944

(31)Patton, S., and Kurtz, G. W. J. Dniry Sci. 34, 669-674, 1951

(32)M. Hecker, M. Haurand, V. Ullrich, U. Diczfalusy, S. Hammarström: Products, kinetics and substrate specificity of homogeneous thromboxane synthetase from human platelets: Development of a novel enzyme assay. Arch Biochem Biophys. 254, 124–135, 1987

(33)Dahle, L. K., Hill, E. G., and Holman, R. T. Arch. Biochem. Biophys. 98, 2.53-260, 1962

(34)Pincemail J, Defraigne JO and Limet R, Oxidative stress in clinical situations – fact or fiction? Eur J Anaesthesiol 13:219–234 , 1996

(35)Gutteridge, J.M., Thiobarbituric acid-reactivity following iron-dependent free-radical damage to amino acids and carbohydrates. FEBS Lett. 128 (2), 343–346, 1981

(36)Watanabe, K., Yamamoto, S., Hayaishi, O., Reactions of prostaglandin endoperoxides with prostaglandin I synthetase solubilized from rabbit aorta microsomes. Biochem. Biophys. Res. Commun. 87 (1), 192–199, 1979

(37)Yagi, K. Biochem. Med. 15, 212-216, 1976

(38)Halliwell, B., Chirico, S., Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. Am. J. Clin. Nutr. 57 (Suppl. 5), 715S–724, 1993

(39)Young IS and Trimble ER, Measurement of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography with fluorometric detection. Ann Clin Biochem 28:504–508, 1991

(40)Szapary PO, Rader DJ. The triglyceride-high-density lipoprotein axis: an important target of therapy? Am Heart J;148:211–21, 2004

(41)Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A. Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. Am J Cardiol , 77:1179–84, 1996

(42)Brewer Jr HB. Hypertriglyceridemia: changes in the plasma lipoproteins associated with an increased risk of cardiovascular disease. Am J Cardiol , 83:3F–12F, 1999

(43)Carmena R, Duriez P, Fruchart JC. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. Circulation, 109:III2–7, 2004

(44)] Fruchart JC, Nierman MC, Stroes ES, Kastelein JJ, Duriez P. New risk factors for atherosclerosis and patient risk assessment. Circulation, 109:III15–9, 2004

(45)Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. J Cardiovasc Risk , 3:213–9, 1996

(46)Yarnell JW, Patterson CC, Sweetnam PM, Thomas HF, Bainton D, Elwood PC, et al. Do total and high density lipoprotein cholesterol and triglycerides act independently in the prediction of ischemic heart disease? Ten-year follow-up of Caerphilly and Speedwell Cohorts. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 21:1340–5, 2001

(47)Ferdinandy P. Myocardial ischaemia/reperfusion injury and preconditioning: effects of hypercholesterolaemia/hyperlipidaemia. Br J Pharmacol;138:283–5, 2003

(48)Ferdinandy P, Szilvassy Z, Baxter GF. Adaptation to myocardial stress in disease states: is preconditioning a healthy heart phenomenon? Trends Pharmacol Sci, 19:223–9, 1998

(49)Ferdinandy P, Szilvassy Z, Horvath LI, Csont T, Csonka C, Nagy E, et al. Loss of pacing-induced preconditioning in rat hearts: role of nitric oxide and cholesterol-enriched diet. J Mol Cell Cardiol, 29:3321–33, 1997

(50)Szilvassy Z, Ferdinandy P, Szilvassy J, Nagy I, Karcsu S, Lonovics J, et al. The loss of pacing-induced preconditioning in atherosclerotic rabbits: role of hypercholesterolaemia. J Mol Cell Cardiol, 27:2559–69, 1995

(51)Onody A, Csonka C, Giricz Z, Ferdinandy P. Hyperlipidemia induced by a cholesterol-rich diet leads to enhanced peroxynitrite formation in rat hearts. Cardiovasc Res;58:663–70, 2003

(52)Puskas LG, Nagy ZB, Giricz Z, Onody A, Csonka C, Kitajka K, et al. Cholesterol diet-induced hyperlipidemia influences gene expression pattern of rat hearts: a DNA microarray study. FEBS Lett;562:99–104, 2004

(53)Giricz Z, Lalu MM, Csonka C, Bencsik P, Schulz R, Ferdinandy P. Hyperlipidemia attenuates the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning: role of matrix metalloproteinase-2 inhibition. J Pharmacol Exp Ther;316:154–61, 2006

(54)Szilvassy Z, Csont T, Pali T, Droy-Lefaix MT, Ferdinandy P. Nitric oxide, peroxynitrite and cGMP in atherosclerosis-induced hypertension in rabbits: beneficial effects of cicletanine. J Vasc Res, 38:39–46, 2001

(55)Kubow S, Vitamin E inhibits fish oil-induced hyperlipidemia and tissue lipid peroxidation in hamsters, Lipids, Volume 31, Number,p 839-847, 1996

(56)Wilson SH, Enhanced coronary vasoconstriction to oxidative stress product, 8-epi-prostaglandinF2 alpha, in experimental hypercholesterolemia, Cardiovascular Research, 44(3):601-607, 1999

(57)Martinet W, Oxidative DNA damage and repair in experimental atherosclerosis are reversed by dietary lipid lowering, Circulation Research. 2001;88:733, 2001

(58)Hsu HC, Effects of fish oil and vitamin E on the antioxidant defense system in diet-induced hypercholesterolemic rabbits, Prostaglandins & Other Lipid Mediators, V.66,no.2,200, 2001

(59)Mugge A, Vascular release of superoxide radicals is enhanced in hypercholesterolemic rabbits, journal of cardiovascular pharmacology, vol. 24, , pp. 994-998, 1994

(60)Parker RA, Relation of vascular oxidative stress, alpha-tocopherol, and hypercholesterolemia to early atherosclerosis in hamsters, Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 15(3):349-58, 1995

(61)Aikawa M, Lipid lowering reduces oxidative stress and endothelial cell activation in rabbit atheroma, Circulation.,106:1390, 2002

(62)Keaney JF, Dietary probucol preserves endothelial function in cholesterol-fed rabbits by limiting vascular oxidative stress and superoxide generation, J Clin Invest 95(6): 2520–2529, 1995

(63)Hayek T, Antiatherosclerotic and antioxidative effects of captopril in apolipoprotein E-deficient mice, journal of cardiovascular pharmacology, ol. 31, pp. 540-544, 1998

(64)Mateos R, Determination of malondialdehyde (MDA) by high-performance liquid chromatography in serum and liver as a biomarker for oxidative stress. Application to a rat model for hypercholesterolemia and evaluation of the effect of diets rich in phenolic antioxidants from fruits, J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci., 15;827(1):76-82, 2005

(65)Bolayirli IM, Effects of atorvastatin therapy on hypercholesterolemic rabbits with respect to oxidative stress, nitric oxide pathway and homocysteine, Life Sci. 20;81(2):121-7, 2007

(66)Mangin EL, Kugiyama K, Nguy JH, Kerns SA, Henry PD. Effects of lysolipids and oxidatively modified low density lipoprotein onendothelium-dependent relaxation of rabbit aorta. Circ Res, 72:161–166, 1993

(67)Liao JK, Shin WS, Lee WY, Clark SL. Oxidized low-density lipoprotein decreases the expression of endothelial nitric oxide synthase. J Biol Chem, 270:319–324, 1995

(68)Chin JH, Azhar S, Hoffman BB. Inactivation of endothelial derived relaxing factor by oxidized lipoproteins. J Clin Invest , 89:10–18, 1992

(69)Mathew V, Cannan CR, Miller VM et al. Enhanced vasoconstrictionand attenuated basal nitric oxide activity in experimental hyper- corcholesterolemia. Circulation;96:1930–1936, 1997

(70)Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. J Clin Invest , 91:2546–2551, 1993

(71)Al-Benna S, Hamilton CA, McClure JD, Rogers PN, Berg GA, Ford I, Delles C, Dominiczak AF. Low-density lipoprotein cholesterol determines oxidative stress and endothelial dysfunction in saphenous veins from patients with coronary artery disease, Arterioscler Thromb Vasc Biol., 26(1):218-23, 2006

(72)Francesco Martino, MD, Pasquale Pignatelli, MD, Eliana Martino, MD, Francesco Morrone, MD, Roberto Carnevale, PHD, Serena Di Santo, Early Increase of Oxidative Stress and Soluble CD40L in Children With Hypercholesterolemia, JACC Vol. 49, No. 19, 1974–81, 2007

(73)Simon E, Erythrocyte antioxidant status in asymptomatic hypercholesterolemic men, Atherosclerosis, Volume 138, Number 2, pp. 375-381(7), 1998

(74)Kinoshita M, Age-related increases in plasma phosphatidylcholine hydroperoxide concentrations in control subjects and patients with hyperlipidemia, Clinical Chemistry. ;46:822-828, 2000

(75)Oquoqho A, Increased plasma, serum and urinary 8-epi-prostaglandin F2 alpha in heterozygous hypercholesterolemia, Wiener klinische Wochenschrift ;111(3):113-8, 1999

(76)Nourooz-Zadeh J, Measures of oxidative stress in heterozygous familial hypercholesterolaemia, Atherosclerosis, Volume 156, Issue 2, Pages 435-441

(77)Kawano H, Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is improved by L-arginine administration: possible role of oxidative stress, Atherosclerosis, Volume 161, Number 2, April 2002 , pp. 375-380(6), 2001

(78)Eid HMReactive oxygen species generation by leukocytes in populations at risk for atherosclerotic disease), Scand J Clin Lab Invest. 2002;62(6):431-9, , 2002

(79)De Caterina R, Low-density lipoprotein level reduction by the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A inhibitor simvastatin is accompanied by a related reduction of F2-isoprostane formation in hypercholesterolemic subjects: no further effect of vitamin E.), Circulation. 12;106(20):2543-9, 2002

(80)Boris Hansel, Catherine Nicolle, Florent Lalanne, Franc¸oise Tondu, Taous Lassel, Yves Donazzolo, Effect of low-fat, fermented milk enriched with plant sterols on serum lipid profile and oxidative stress in moderate hypercholesterolemia, Am J Clin Nutr, 86:790–6, 2007

(81)Rune Blomhoff. Dietary antioxidants and cardiovascular disease, Current opinion on Lipidology; 16(1):47-54, 2005

(82)E. Cameron and L. Pauling, Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: prolongation of survival times in terminal human cancer, Proc Natl Acad Sci U S A 73, pp. 3685–3689, 1976

(83)H.E. Seifried, D.E. Anderson, J.A. Milner and P. Greenwald, Reactive oxygen species and dietary antioxidants: double-edged swords?. In: H. Panglossi, Editor, New developments in antioxidant research, Nova Science Publishers Inc., Hauppauge (NY), pp. 1–25, 2006

(84)Institute of Medicine. National Academy of Sciences, Food and Nutrition Board, Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. National Academy Press, Washington, D.C, 2000

(85)Upston JM, Terentis AC, Stocker R. Tocopherol-mediated peroxidation of lipoproteins: implications for vitamin E as a potential antiatherogenic supplement, FASEB J, 13:977–994, 1999

(86)Thomas SR, Stocker R. Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation: implications for atherosclerosis. Free Radic Biol Med, 28:1795–1805, 2000

(87)Buettner GR. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. Arch Biochem Biophys , 300:535–543, 1993

(88)Packer L, Weber SU, Rimbach G. Molecular aspects of alpha-tocotrienol antioxidant action and cell signalling. J Nutr, 131:369S–373S, 2001

(89)Frei, B., Kim, M. C. And Ames, B.N. Proc.Natl.Acad.Sci USA, 4879-4883, 1987

(90)Y. Levy, H. Zaltsberg and A. Ben-Amotz et al., Dietary supplementation of a natural isomer mixture of β-carotene inhibits oxidation of LDL derived from patients with diabetes mellitus, Ann Nutr Metab 44, pp. 54–60, 2000

(91)J.E. Upritchard, W.H. Sutherland and J.I. Mann, Effect of supplementation with tomato juice, Vitamins E and C on LDL oxidation and products of inflammatory activity in type 2 diabetes, Diab Care 23, pp. 733–738, 2000

(92)A. Martin and B. Frei, Both intracellular and extracellular Vitamin C inhibit atherogenic modification of LDL by human vascular endothelial cells, Arterioscler Thromb Vasc Biol 17, pp. 1583–1590, 1997

(93)K.L. Retsky, M.W. Freeman and B. Frei, Ascorbic acid oxidation product(s) protect human low density lipoprotein against atherogenic modification: anti-rather than prooxidant activity of Vitamin C in the presence of transition metal ions, J Biol Chem 268, pp. 1304–1309, 1993

(94)D. Harats, S. Chevion and M. Nahir et al., Citrus fruit supplementation reduces lipoprotein oxidation in young men ingesting a diet high in saturated fat: presumptive evidence for an interaction between Vitamins C and E in vivo, Am J Clin Nutr 67, pp. 240–245, 1998

(95)Sunde RA. Selenium. In: O'Dell BL, Sunde RA, eds. Handbook of nutritionally essential mineral elements. New York: Marcel Dekker Inc, 493–556, 1997

(96)2 Allan CB, Lacourciere GM, Stadtman TC. Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. Ann Rev Nutr , 19: 1–16, 1999

(97)Diplock AT. Antioxidants and disease prevention. Mol Aspects Med, 15: 293–376, 1994

(98)Nıve J. Selenium as a risk factor for cardiovascular diseases. J Cardiovasc Riskk, 3: 42–47, 1996

(99)Underwood EJ. Trace elements in human and animal nutrition. 4th Edn. New York: Academic Press, 303–45, 1977

(100)Hawkes WC, Hornbostel L. Effects of dietary selenium on mood in healthy men living in a metabolic research unit. Biol Psychiatry, 39: 121–28, 1996

(101)43 Finley JW, Penland JG. Adequacy or deprivation of dietary selenium in healthy men: clinical and psychological findings. J Trace Elem Exp Med, 11: 11–27, 1998

(102)Benton D, Cook R. Selenium supplementation improves mood in a double-blind crossover trial. Biol Psychiatry, 29: 1092–98, 1991

(103)Clark LC, Cantor KP, Allaway WH. Selenium in forage crops and cancer mortality in US counties. Arch Environ Health, 46: 37–42, 1991

(104)Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. Anticancer Res. 23:363–398, 2003

(105)Pervaiz S. Resveratrol: from grapevines to mammalian biology. FASEB J. 14:1975–1985, 2003

(106)Culpitt SV, Rogers DF, Fenwick PS, et al. Inhibition by redwine extract, resveratrol, of cytokine release by alveolar macrophages in COPD. Thorax. 58:942–946, 2003

(107)C.A. Rice-Evans, N.J. Miller and G. Paganga, Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, Free Radic Biol Med 20, pp. 933–956, 1996

(108)N.K. Andrikopoulos, A.C. Kaliora and A.N. Assimopoulou et al., Inhibitory activity of minor polyphenolic and non-polyphenolic constituents of olive oil against in vitro low-density lipoprotein oxidation, J Med Food 5, pp. 1–7, 2002

(109)R. Kacimi, J.S. Karliner and F. Koudssi et al., Expression and regulation of adhesion molecules in cardiac cells by cytokines: response to acute hypoxia, Circ Res 82, pp. 576–586, 1998

(110)T. Kurosawa, F. Itoh and A. Nozaki et al., Suppressive effects of cacao liquor polyphenols (CLP) on LDL oxidation and the development of atherosclerosis in Kurosawa and Kusanagi-hypercholesterolemic rabbits, Atherosclerosis 179, pp. 1–9, 2005

(111)K.J. Murphy, A.K. Chronopoulos and I. Singh et al., Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (Theobroma cacao) inhibit platelet function, Am J Clin Nutr 77, pp. 1466–1473, 2003

(112)A.J. Innes, G. Kennedy and M. McLaren et al., Dark chocolate inhibits platelet aggregation in healthy volunteers, Platelets 14, pp. 325–327, 2003

(113)Lands W. W. M., "Fish and Human Health," Academic Press, Orlando, 1980

(114)Kromhout D., Bosschieter E. B., de Lezenne Coulander C., N. Engl. J. Med., 312, 1205—1209 , 1985

(115)Kromhout D, Bosschieter EB, De Lezenne Coulander C. The inverse relationship between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. N Engl J Med, 312:1205–9, 1985

(116)Knapp HR. Dietary fatty acids in human thrombosis and hemostasis. Am J Clin Nutr, 65(suppl):1687S–98S, 1997 Daviglus ML, Stamler J, Orencia AJ, et al. Fish consumption and the 30-year risk of fatal myocardial infarction. N Engl J Med, 336:1046–53, 1997

(117)Bougnoux P. n_3 Polyunsaturated fatty acids and cancer. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2:121–6, 1999

(118)Harris WS. Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans: a critical review. J Lipid Res, 30:785–807, 1989

(119)Vidgren HM, Ågren JJ, Schwab U, Rissanen T, Hänninen O, Uusitupa MIJ. Incorporation of n_3 fatty acids into plasma lipid fractions, and erythrocyte membranes and platelets during dietary supplementation with fish, fish oil, and docosahexaenoic acid-rich oil among healthy young men. Lipids, 32:697–705, 1997

(120)Prisco D, Filippini M, Francalanci I, et al. Effect of n_3 polyunsaturated fatty acid intake on phospholipid fatty acid composition in plasma and erythrocytes. Am J Clin Nutr,63:925–32, 1996

(121)Woodcock BE, Smith E, Lambert WH, et al. Beneficial effect of fish oil on blood viscosity in peripheral vascular disease. Br Med J (Clin Res Ed),288:592–4, 1984

(122)Zicha J, Kunes J, Devynck MA. Abnormalities of membrane function and lipid metabolism in hypertension: a review. Am J Hypertens, 12:315–31, 1999

(123)Bruckner G, Webb P, Greenwell L, Chow C, Richardson D. Fish oil increases peripheral capillary blood cell velocity in humans. Atherosclerosis, 66:237–45, 1987

(124)Brenner RR. Effect of unsaturated acids on membrane structure and enzyme kinetics. Prog Lipid Res, 23:69–96, 1984.

(125)Garrido A, Garrido F, Guerra R, Valenzuela A. Ingestion of high doses of fish oil increases the susceptibility of cellular membranes to the induction of oxidative stress. Lipids, 24:833–5, 1989

(126)Hiramatsu K, Arimori S. Increased superoxide production by mononuclear cells of patients with hypertriglyceridemia and diabetes.Diabetes, 37:832–7, 1988

(127)Van den Berg JJM, De Fouw NJ, Kuypers FA, Roelofsen B, Houtsmuller UMT, Op den Kamp JAF. Increased n_3 polyunsaturated fatty acid content of red blood cells from fish oil-fed rabbits increases in vitro lipid peroxidation, but decreases hemolysis. Free Radic Biol Med, 11:393–9, 1991

(128)Yagr, K. A sample fluorometrrc assay for lipoperoxrde m blood plasma Blochem Med 15,212-216, 1976

(129)Ebringer L, Ferencík M, Krajcovic J. Beneficial health effects of milk and fermented dairy products--review..Institute of Cell Biology, Faculty of Science, Comenius University, 842 15, Bratislava, Slovakia

(130)Lusis A J. 'Atherosclerosis' Nature, 407: 233–241, 2000

(131)Committee on Medical Aspects of Food Policy. Diet and cardiovascular disease: report of the panel on diet in relation to cardiovascular disease. London: Department of Health and Social Subjects, Her Majesty's Stationery Office, Reports on Health and Social Subjects, 28:1–32, 1984

(132)World Health Organization. Prevention of coronary heart disease: report of a WHO expert committee. World Health Organ Tech Rep Ser, 678, 1982

(133)Keys A. Coronary heart disease in seven countries. Circulation, 41:1– 211, 1970

(134)Kagan A, Harris BR, WinkelsteinWJr, et al. Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California: demographic, physical, dietary and biochemical characteristics. J Chron Dis, 27:345–364, 1974 Turpeinen O. Effect of cholesterol-lowering diet on mortality from coronary heart disease and other causes, 59:1–7, 1979

(135)Artaud-Wild SM, Connor SL, Sexton G, et al. Differences in coronary mortality can be explained by differences in cholesterol and saturated fat intakes in 40 countries but not in France and Finland. A paradox. 88:2771–2779, 1993

(136)Pietinen P, Vartiainen E, Seppanen R, et al. Changes in diet in Finland from 1972 to 1992: impact on coronary heart disease risk. Prev Med, 25:243–250, 1996

(137)Appleby PN, Thorogood M, Mann JI, et al. The Oxford vegetarian study: an overview. Am J Clin Nutr, 70 (3 Suppl.):525S–531S, 1999

(138)Menotti A, Kromhout D, Blackburn H, et al. Food intake patterns and 25-year mortality from coronary heart disease: cross-cultural correlations in the Seven Countries Study.The Seven Countries Study Research Group. Eur J Epidemiol, 15:507–515, 1999

(139)Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, et al. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. Am J Clin Nutr, 70:1001–1008, 1999

(140)Gramenzi A, Gentile A, Fasoli M, et al. Association between certain foods and risk of acute myocardial infarction in women. BMJ, 300:771–773, 1990

(141)Van der Vijver LP, van der Waal MA, Weterings KG, et al. Calcium intake and 28-year cardiovascular and coronary heart disease mortality in Dutch civil servants. Int J Epidemiol, 21:36–39, 1992

(142)Abbott RD, Curb JD, Rodriguez BL, et al. Effect of dietary calcium and milk consumption on risk of thromboembolic stroke in older middle-aged men. The Honolulu Heart Program. Stroke, 27:813–818, 1996

(143)Bostick RM, Kushi LH, Wu Y, et al. Relation of calcium, vitamin D, and dairy food intake to ischemic heart disease mortality among postmenopausal women. Am J Epidemiol, 149:151–161, 1999

(144)Iso H, Stampfer MJ, Manson JE, et al. Prospective study of calcium, potassium, and magnesium intake and risk of stroke in women. Stroke,30:1772–1779, 1999

(145)Mann GV. Studies of a surfactant and cholesteremia in the Maasai. Am J Clin Nutr, 27:464–9, 1974

(146)Samuelson G, Bratteby LE, Mohsen R, et al. Dietary fat intake in healthy adolescents: inverse relationships between the estimated intake of saturated fatty acids and serum cholesterol. Br J Nutr, 85:333–341, 2001

(147)Sjogren P, Rosell M, Skoglund-Andersson C, et al. Milk-derived fatty acids are associated with a more favorable LDL particle size distribution in healthy men. J Nutr, 134:1729–1735, 2004

(148)Chi D, Nakano M, Yamamoto K. Milk and milk products consumption in relationship to serum lipid levels: a community-based study of middle-aged and older population in Japan. Cent Eur J Public Health, 12:84–87, 2004

(149)Steinmetz KA, Childs MT, Stimson C, et al. Effect of consumption of whole milk and skim milk on blood lipid profiles in healthy men.Am J Clin Nutr, 59:612–8, 1994

(150)Golay A, Ferrara JM, Felber J-P, Schneider H. Cholesterol-lowering effect of skim milk from immunized cows in hypercholesterolemic patients. Am J Clin Nutr, 52:1014–9, 1990

(151)Nuria Plana, Catherine Nicolle, Raimon Ferre Jordi, Camps Rosa Cos Jesus, Villoria Luis Masana on behalf of the DANACOL group. Plant sterol-enriched fermented milk enhances the attainment of LDL-cholesterol goal in hypercholesterolemic subjects Eur J Nutr , 47:32–39, 2008

(152)E. Mannarino a, M. Pirro a, C. Cortese b, G. Lupattelli a, D. Siepi Effects of a phytosterol-enriched dairy product on lipids, sterols and 8-isoprostane in hypercholesterolemic patients: A multicenter Italian study a,Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases 19, 84e90, 2009

(153)Manny Noakes Peter M. Clifton Anne M. E. Doornbos Elke A. Trautwein Plant sterol ester-enriched milk and yoghurt effectively reduce serum cholesterol in modestlyhypercholesterolemic subjects Eur J Nutr 44 : 214–222, 2005

(154)L. Barol , J. Fonllal , J. L. Pen , n-3 Fatty acids plus oleic acid and vitamin supplemented milk consumption reduces total and LDL cholesterol, homocysteine and levels of endothelial adhesion molecules in healthy humansClinical Nutrition, 22(2): 175–182, 2003

(155)Fransesco Visioliu, Patrizia Rise. Very low intakes of n-3 fatty acids incorporatted into bovine milk reduse plasma TAG and increase HDL-C concentrationsin healthy subjects, Institute of Pharmacological Sciences, Vol. 41, No. 5, 2000

(156). UJ. Jung, H. J. Kim, J. S. Lee,Naringin supplementation lowers plasma lipids and enhances erythrocyte antioxidant enzyme activities in hypercholesterolemic subjects, Clinical Nutrition 22(6): 561–568, 2003

(157)Liliana P. Bricarello Comparison Between the Effects of Soy Milk and Non-Fat Cow Milk on Lipid Profile and Lipid Peroxidation in Patients With Primary Hypercholesterolemia, Nutrition 20:200 –204, 2004

(158)Sakabe K, Fukuda N, Wakayama K, Nada T, Shinohara H, Tamura Y Effects of atorvastatin therapy on the low-density lipoprotein subfraction, remnant-like particles cholesterol, and oxidized low-density lipoprotein within 2 weeks in hypercholesterolemic patients. Circ J.;67(10):866-70, 2003

(159)Berr C, Coudray C, Bonithon-Kopp C, Roussel AM, Mainard F, Alperovitch A, Demographic and cardiovascular risk factors in relation to antioxidant status: the EVA Study. Int J Vitam Nutr Res. 68(1):26-35, 1998

(160)Actis-Goretta L, Carrasquedo F, Fraga CG, The regular supplementation with an antioxidant mixture decreases oxidative stress in healthy humans. Gender effect, Clin Chim Acta,349(1-2):97-103, 2004

(161)Florentin M, Liberopoulos EN, Wierzbicki AS, Mikhailidis DP Multiple actions of high-density lipoprotein. Curr Opin Cardiol,23(4):370-8, 2008

(162)Elhadd TA, Neary R, Abdu TA, Kennedy G, Hill A, McLaren M. Influence of the hormonal changes during the normal menstrual cycle in healthy young women on soluble adhesion molecules, plasma homocysteine, free radical markers and lipoprotein fractions. Int Angiol.22(3):222-8, 2003

(163)J.Skhra, M. Kunesova, J. Hilgertova, H. Weiserova, J. Krizova, E., Short-Term Very Low Calory Diet Reduces Oxidative Stress in Obese Type 2 Diabetic Patients ,Third Department of Internal Medicine and Laboratory for Endocrinology and Metabolism, Physiol. Res. 54: 33-39, 2005

(164)SO Olusi, Obesity is an independent risk factor for plasma lipidperoxidation and depletion of erythrocyte cytoprotectic enzymes in humans, International Journal of Obesity 26, 1159–1164, 2002

(165)Robert W. Powers, Plasma Homocysteine and Malondialdehyde Are Correlated in an Age-andGender-Specific Manner Metabolism, Vol 51, No 11 , pp 1433-1438, 2002

(166)Voutilainen S, Morrow JD, Roberts LJ 2nd, Alfthan G, Alho H, Nyyssönen K, Salonen JT, Enhanced in vivo lipid peroxidation at elevated plasma total homocysteine levels. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 19(5):1263-6, 1999

(167)Hirano K, Ogihara T, Miki M, Yasuda H, Tamai H, Kawamura N, Mino M, Homocysteine induces iron-catalyzed lipid peroxidation of low-density lipoprotein that is prevented by alpha-tocopherol.: Free Radic Res. 21(5):267-76, 1994

(168)H Uzun, Y Karter, S Aydin, Oxidative stress in white coat hypertension; role of paraoxonase Journal of Human Hypertension 18, 523–528, 2004

(169)Konukoğlu D, Serin O, Ercan M, Turhan MS. Plasma homocysteine levels in obese and non-obese subjects with or without hypertension; its relationship with oxidative stress and copper. Clin Biochem., 36(5):405-8, 2003

(170)Emerson S. LIMA, Ivete de A. ROLAND. Vitamin A and lipid peroxidation in patients with different forms of leprosy, Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo 49(4):211-214, 2007

(171)Dixon ZR, Shie FS, Warden BA, Burri BJ, Neidlinger TR The effect of a low carotenoid diet on malondialdehyde-thiobarbituric acid (MDA-TBA) concentrations in women: a placebo-controlled double-blind study. J Am Coll Nutr. Feb;17(1):54-8, 1998

(172)Hiroyuki Oka, Satoshi Ikeda, Seiji Koga, Yoshiyuki Miyahara, Shigeru Kohno. Atorvastatin induces associated reductions in platelet P-selectin, oxidized low-density lipoprotein, and interleukin-6 in patients with coronary artery diseases, Heart Vessels 23:249–256, 2008

(173)Jenkinson A, Franklin MF, Wahle K, Duthie GG, Dietary intakes of polyunsaturated fatty acids and indices of oxidative stress in human volunteers, Eur J Clin Nutr.53(7):523-8, 1999

(174)Higdon JV, Liu J, Du SH, Morrow JD. Supplementation of postmenopausal women with fish oil rich in eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid is not associated with greater in vivo lipid peroxidation compared with oils rich in oleate and linoleate as assessed by plasma malondialdehyde and F(2)-isoprostanes. Am J Clin Nutr;72(3):714-22, . 2000

(175)Sarkkinen ES, Uusitupa MI, Nyyssönen K, Parviainen M, Penttilä.Effects of two low-fat diets, high and low in polyunsaturated fatty acids, on plasma lipid peroxides and serum vitamin E levels in free-living hypercholesterolaemic men. Eur J Clin Nutr. 47(9):623-301993

(176)Berr C, Coudray C, Bonithon-Kopp C, Roussel AM, Mainard F, Alperovitch Demographic and cardiovascular risk factors in relation to antioxidant status: the EVA Study. Int J Vitam Nutr Res, 68(1):26-35, 1998

(177)Letsiou, S., Nomikos, T., Fragopoulou, E., Panagiotakos, D., Antonopoulou, S., Pergantis, S., Pitsavos, C., and Stefanadis, Serum selenium levels and its relation to socio-demographic, lifestyle and dietary characteristics in healthy adults: the Attica study
FEBS Journal, 275 (Suppl. 1), 376, 2008

(178). Davies MJ, Judd JT, Baer DJ, Clevidence BA, Paul DR, Edwards AJ, Wiseman SA, Muesing RA, Chen SC Black tea consumption reduces total and LDL cholesterol in mildly hypercholesterolemic adults. J Nutr. Oct;133(10):3298S-3302S, 2003

(179)Chen MF, Hsu HC, Lee YT.Short-term treatment with low-dose pravastatin attenuates oxidative susceptibility of low-density lipoprotein in hypercholesterolemic patients. Cardiovasc Drugs Ther.;11(6):787-93, 1997

(180)De Caterina R, Cipollone F, Filardo FP, Zimarino M, Bernini W, Lazzerini G. Low-density lipoprotein level reduction by the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A inhibitor simvastatin is accompanied by a related reduction of F2-isoprostane formation in hypercholesterolemic subjects: no further effect of vitamin E. Circulation. 12,106(20):2543-9, 2002