



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων

Πτυχιακή Εργασία

«Αξιολόγηση μακρο- και μικρο- συστατικών φυτικών ελαίων κατά τη διατροφική παρέμβαση σε ζωικό πρότυπο αθηρογένεσης: Προσδιορισμός δεικτών οξειδωσης σε βιολογικά δείγματα.»

Δημητρίου Μαρία (Α.Μ. 20908)



Τριμελής Επιτροπή:

Χίου Αντωνία (Επιβλέπουσα-Επίκουρη Καθηγήτρια Χ.Π)

Καλιώρα Ανδριάννα (Λέκτορας Χ.Π)

Νομικός Τζώρτζης (Επίκουρος Καθηγητής Χ.Π)

-Αθήνα 2013-



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων

Πτυχιακή Εργασία

«Αξιολόγηση μακρο- και μικρο- συστατικών φυτικών ελαίων κατά τη διατροφική παρέμβαση σε ζωικό πρότυπο αθηρογένεσης: Προσδιορισμός δεικτών οξειδωσης σε βιολογικά δείγματα.»

Δημητρίου Μαρία (Α.Μ. 20908)

Τριμελής Επιτροπή:

Χίου Αντωνία (Επιβλέπουσα-Επίκουρη Καθηγήτρια Χ.Π)

Καλιώρα Ανδριάννα (Λέκτορας Χ.Π)

Νομικός Τζώρτζης (Επίκουρος Καθηγητής Χ.Π)

-Αθήνα 2013-

Στους γονείς μου, Μενέλαο και Ροδοθέα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου υπό την επίβλεψη της Επίκουρης Καθηγήτριας, Κ. Αντωνίας Χίου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα Κ. Αντωνία Χίου για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα. Ακόμη θα ήθελα να την ευχαριστήσω για τη καθοδήγηση και τις συμβουλές τις καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας, για τις γνώσεις που μου μετέδωσε ως καθηγήτριά μου στη διάρκεια της φοίτησής μου και για τη διόρθωση της γραπτής μου εργασίας.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στην υποψήφια διδάκτορα Κ. Αγγελική Κατσαρού για την καθοδήγηση, την πολύτιμη βοήθεια της και τις συμβουλές τις καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας.

Με το πέρας της πτυχιακής μου εργασίας, ευχαριστίες οφείλω στην Λέκτορα Κ. Ανδριάννα Καλιώρα και στον Επίκουρο Καθηγητή Κ. Τζώρτζη Νομικό για τη συμμετοχή τους στην Τριμελή Συμβουλευτική Επιτροπή, για τη μετάδοση εργαστηριακών και θεωρητικών γνώσεων κατά τη διάρκεια της φοίτησής μου και για τις υποδείξεις τους με τις οποίες συνέβαλαν καθοριστικά στην επιτυχή ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας.

Ακόμη, ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στη φαρμακευτική εταιρεία ELPEN για τη διάθεση του εργαστηριακού εξοπλισμού και τη φιλοξενία των πειραματοζώων, στον Κ. Απόστολο Παπαλόη, Δρ. Βιολόγο και Διευθυντή του Ερευνητικού τμήματος καθώς και το προσωπικό της εταιρίας για την πολύτιμη βοήθειά τους.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Διευθυντή του Εργαστηρίου Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων Κ. Βάϊο Καραθάνο και τον Επίκουρο Καθηγητή Κ. Νικόλαο Καλογερόπουλο για την υποστήριξη και τις γνώσεις που μου μετέδωσαν καθ' όλη τη διάρκεια της φοίτησής τους, καθώς και όλα τα μέλη του εργαστηρίου που με τη φιλική διάθεση και τη ζεστή ατμόσφαιρα που δημιούργησαν με βοήθησαν σημαντικά καθ' όλη τη διάρκεια της πτυχιακής μου εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω με όλη μου την καρδιά τους γονείς μου για την αγάπη τους, την υπομονή τους και την υποστήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια και σε κάθε μου βήμα, καθώς και τον Χαράλαμπο Μ. για την συμπαράστασή του καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της πτυχιακής μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα, κοινό χαρακτηριστικό των οποίων αποτελεί η αθηροσκληρωτική διαδικασία, αποτελούν μία από τις κυριότερες αιτίες θανάτου παγκοσμίως. Η ευεργετική επίδραση της κατανάλωσης ελαιολάδου έναντι της εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων έχει καταγραφεί σε πληθώρα επιδημιολογικών μελετών και κλινικών δοκιμών, ενώ παράλληλα έχει επιβεβαιωθεί σε μελέτες με ζωικά πρότυπα αθηρογένεσης. Μέχρι πρόσφατα, η καρδιοπροστατευτική δράση του ελαιολάδου αποδιδόταν αποκλειστικά στο ελαϊκό οξύ. Εντούτοις, σειρά μελετών υποδυκνείει ότι οι ευεργετικές επιδράσεις του ελαιολάδου οφείλονται πιθανά και στα αντιοξειδωτικά μικροσυστατικά του.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας ήταν να γίνει συγκριτική αξιολόγηση της επίδρασης των μακρο- και μικρο-συστατικών ελαιολάδου σε ζωικό πρότυπο δυσλιπιδαιμίας.

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε 64 αρσενικούς αρουραίους τύπου Wistar που κατηγοριοποιήθηκαν τυχαία σε 8 ισάριθμες ομάδες. Στα ζωικά αυτά πρότυπα αναπτύχθηκε διατροφικά δυσλιπιδαιμία με χρήση χοληστερόλης και μελετήθηκε η επίδραση της κατανάλωσης ελαίου σε δείκτες οξειδωσης και φλεγμονής. Τα έλαια που επιλέχθηκαν προς μελέτη διέφεραν μεταξύ τους ως προς το προφίλ των λιπαρών οξέων και ως προς την παρουσία ή μη βιοδραστικών μικροσυστατικών (φαινολικών συστατικών). Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν παρθένο ελαιόλαδο, ηλιέλαιο και ηλιέλαιο υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ, καθώς και τροποποιημένα έλαια, εμπλουτισμένα ή απογυμνωμένα από μικροσυστατικά. Η διατροφική παρέμβαση διήρκεσε 2 μήνες. Αξιολογήθηκαν τα επίπεδα του παράγοντα νέκρωσης όγκων α (TNF- α) και της μηλονικής διαλδεΰδης (MDA) σε δύο ιστούς, ήπαρ και καρδιά. Στην περίπτωση του ήπατος διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση ελαίων οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων TNF- α και MDA συγκριτικά με τη δυσλιπιδαιμική ομάδα (αρνητικού ελέγχου). Ανάλογη συμπεριφορά παρουσιάστηκε και στην περίπτωση του ιστού της καρδιάς. Επιπλέον όμως, στον ιστό της καρδιάς διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων του TNF- α στην ομάδα που ελάμβανε ηλιέλαιο εμπλουτισμένο με βιοδραστικά συστατικά και των επιπέδων της MDA στις ομάδες που ελάμβαναν ελαιόλαδο και εμπλουτισμένο ηλιέλαιο. Συμπερασματικά, στη μελέτη αυτή επιβεβαιώθηκε ότι τα φαινολικά συστατικά εμφανίζουν αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες καταστέλλοντας την αθηροσκληρωτική διαδικασία και προστατεύοντας, κατά συνέπεια, από τα καρδιαγγειακά νοσήματα.

SUMMARY

Cardiovascular disease, a common feature of which is the atherosclerotic process, is one of the leading causes of death worldwide. The beneficial effect of olive oil consumption against cardiovascular disease has been recorded in numerous epidemiological studies and clinical trials, and has also been confirmed in studies using animal models of atherogenesis. Until recently, the cardioprotective effect of the oil was attributed solely to the oleic acid. However, a number of studies address the beneficial effects of olive oil, potentially, to the antioxidant minor components.

The aim of this thesis was to make a comparative assessment of the impact of major and minor components of olive oil in an animal model of dyslipidemia.

The study was conducted on 64 male Wistar rats that were randomly separated into 8 groups of equal number. In these animal models, dyslipidemia was developed using dietary cholesterol and the effect of oil consumption in oxidation and inflammation markers was studied. The oils selected for the study differed in the fatty acid profile and on the presence or absence of bioactive minor components (phenolic compounds). Specifically, virgin olive oil, sunflower oil and sunflower oil high in oleic acid, and modified oils, enriched or stripped from minor components were used. The dietary intervention lasted two months. The levels of tumor necrosis factor α (TNF- α) and malondialdehyde (MDA) in two tissues, liver and heart, were assessed. In the case of the liver was found that the administration of oil resulted in a statistically significant reduction in TNF- α and MDA compared to dyslipidemic group (negative control). Similar behavior was presented in the case of heart tissue. But in addition, to the heart tissue, statistically significant reduction was showed in the levels of TNF- α in the group receiving sunflower oil enriched with bioactive ingredients and levels of MDA in the groups receiving olive oil and enriched sunflower oil. In conclusion, this study confirmed that the phenolic compounds have antioxidant and anti-inflammatory properties by suppressing the atherosclerotic process and protecting therefore by cardiovascular diseases.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΜΕΡΟΣ Α: ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ	11
1.1. ΓΕΝΙΚΑ	11
1.2. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΚΑΙ ΜΥΘΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	11
1.3. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΠΑΓΚΟΣΜΙΩΣ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΕΛΛΑΔΙΚΟ ΧΩΡΟ	12
1.4. ΜΑΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ	14
1.5. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ	15
1.6. ΤΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ	17
1.6.1. ΓΕΝΙΚΑ	17
1.6.2. ΜΑΚΡΟΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	17
1.6.3. ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	28
1.6.3.1. ΣΑΠΩΝΟΠΟΙΗΣΙΜΟ ΚΛΑΣΜΑ	19
1.6.3.2. ΜΗ ΣΑΠΩΝΟΠΟΙΗΣΙΜΟ ΚΛΑΣΜΑ	20
1.6.3.2.1. Βιταμίνη Ε-Τοκοφερόλες	20
1.6.3.2.2. Υδρογονάνθρακες-Σκουαλένιο	21
1.6.3.2.3. Τριτερπενοειδή συστατικά	22
1.6.3.2.4. Στερόλες	22
1.6.3.2.5. Χρωστικές ουσίες	22
1.6.3.2.6. Πτητικά συστατικά	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΛΛΑ ΕΛΑΙΑ-ΣΠΟΡΕΛΑΙΑ	24
2.1. ΓΕΝΙΚΑ	24
2.2. ΗΛΙΕΛΑΙΟ	25
2.3. ΗΛΙΕΛΑΙΟ ΥΨΗΛΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΕΛΑΙΚΟ ΟΞΥ	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Η ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ	29
3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	29
3.2. ΕΠΙΣΗΜΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ	30
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	35
4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	35
4.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ: ΠΑΓΚΟΣΜΙΩΣ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΕΛΛΑΔΙΚΟ ΧΩΡΟ	36
4.3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ	38
4.4. Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗΣ	41

4.5. ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	45
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	48
5.1. Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ	48
5.2. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ	48
5.3. ΤΟ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ	49
5.4. ΤΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ	51
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΟΙ ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ	52
6.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	52
6.2. ΚΑΡΔΙΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ-ΑΝΤΙΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	52
6.3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	56
6.4. ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ	58
6.5. ΑΝΤΙΥΠΕΡΤΑΣΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	59
6.6. ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	60
6.7. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ	62
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	63
7.1. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	63
7.2. ΠΗΓΕΣ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ	66
7.3. ΟΙ ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ	66
7.3.1. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ	66
7.3.2. ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ	68
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ	69
8.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	69
8.2. ΚΑΡΔΙΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ-ΑΝΤΙΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	69
8.3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	71
8.4. ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ	73
8.5. ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	74
8.6. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ	75

ΜΕΡΟΣ Α: ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

1.1. ΓΕΝΙΚΑ

Το ελαιόλαδο είναι η κύρια πηγή λίπους στη Μεσογειακή Διατροφή. Παράγεται από τους καρπούς -οι γνωστές δρύπες- του ελαιόδεντρου, *Olea europaea*, το οποίο κυριαρχεί στις περιοχές της Μεσογείου και της Μ. Ασίας (μεταξύ του 30^{ου} και 45^{ου} παράλληλου)[1]. Το ελαιόλαδο παράγεται από τον καρπό της *Olea europaea* αποκλειστικά με φυσικές μεθόδους (σύνθλιψη, μάλαξη, πίεση φυγοκέντρωση) χωρίς προσθήκη συντηρητικών (χρώματος ή αρώματος) ή οποιαδήποτε περαιτέρω χημική επεξεργασία[2].



Εικόνα 1-1: Ο ελαιόκαρπος και το ελαιόλαδο

1.2. ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΚΑΙ ΜΥΘΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Το ελαιόδεντρο ανήκει στα πιο γνωστά δέντρα τα οποία καλλιεργούνταν από την αρχαιότητα. Φαίνεται ότι το ελαιόδεντρο καλλιεργείται εδώ και 5000-6000 χρόνια, ήδη από την εποχή του χαλκού. Αγγειογραφίες, κουκούτσια ελιάς και κομμάτια ξύλου σε αρχαίους τάφους αποτελούν αρχαιολογικά ευρήματα τα οποία υποδηλώνουν ότι η καλλιέργεια της ελιάς ξεκίνησε, πιθανά, από την ανατολική Μεσογειακή ακτή, τις σημερινές περιοχές δηλαδή της Νότιας Τουρκίας, της Συρίας, του Λιβάνου, της Παλαιστίνης και του Ισραήλ. Ακόμη, έχουν βρεθεί μολόπετρες, λεκάνες μετάγγισης, δοχεία αποθήκευσης, τοιχογραφίες και αρχαία γραπτά κείμενα που φανερώνουν την έλευση της ελιάς στην Ελλάδα, την Αίγυπτο και τη Δυτική Τουρκία. Πήλινα αγγεία στο παλάτι της Κνωσού στην Κρήτη δείχνουν ότι το εμπόριο του ελαιολάδου είχε ξεκινήσει πιθανά από το 1700 π.Χ[3].

Μέσω της ελληνικής μυθολογίας και της Παλαιάς Διαθήκης διαφαίνεται η αξία της ελιάς, η οποία συνδέεται με το κοινωνικό και θρησκευτικό χώρο. Ένας από τους γνωστότερους και πιο αντιπροσωπευτικούς μύθους της ελληνικής μυθολογίας που ξετυλίγεται γύρω από την ελιά είναι αυτός της διαμάχης ανάμεσα στο Θεό Ποσειδώνα, Θεό των θαλασσών και των σεισμών, και στη Θεά Αθηνά, Θεά της

σοφίας για την περιοχή της Αθήνας. Στο μύθο αυτό κέρδισε η Θεά Αθηνά, η οποία έλαβε ως δώρο την ελιά, το οποίο θεωρήθηκε πολυτιμότερο από το αλάτι που έλαβε ως δώρο ο Θεός Ποσειδώνας. Επιπλέον, η Παλαιά Διαθήκη διηγείται μια ιστορία που καταδεικνύει την σπουδαιότητα του ελαιόδεντρου. Την ιστορία του Νώε ο οποίος άφησε ελεύθερο ένα περιστέρι κι εκείνο γύρισε πίσω κρατώντας ένα κλαδί ελιάς, σύμβολο της υποχώρησης των νερών και της αποκατάστασης της ειρηνικής σχέσης ανάμεσα στο Θεό και τους ανθρώπους[4].

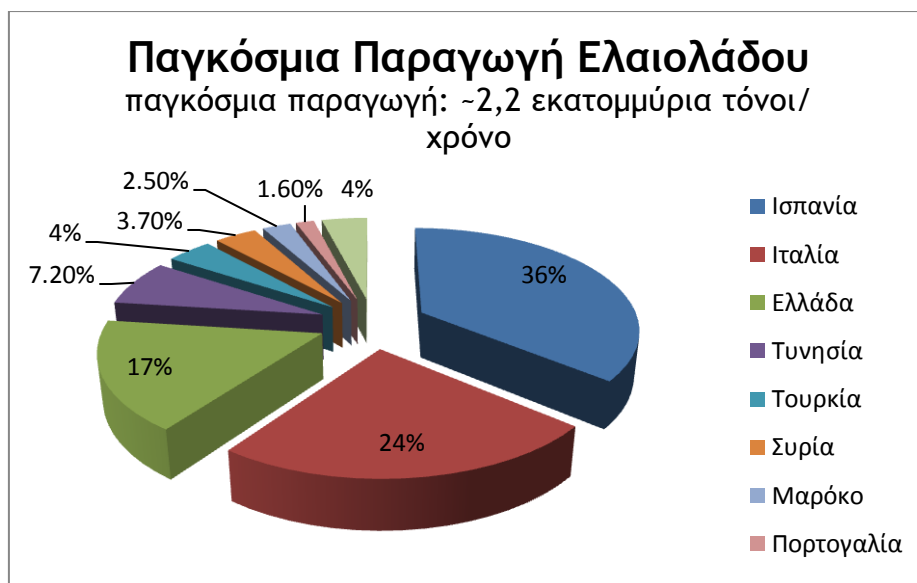
Στους Αρχαίους Χρόνους, η ελιά θεωρούνταν σύμβολο Ειρήνης και Φιλίας μεταξύ των εθνών. Χαρακτηριστικό της σπουδαιότητάς της αποτελεί το γεγονός ότι στους Αρχαίους Ολυμπιακούς Αγώνες οι αθλητές αλείφονταν με ελαιόλαδο, ενώ οι νικητές λάμβαναν ως έπαθλο φύλλα και κλαδιά ελιάς (κότινος)[4]. Το ελαιόλαδο χρησιμοποιούνταν πρωταρχικά ως καύσιμο για φωτισμό, για θρησκευτικούς λόγους και για τον καθαγιασμό των νεκρών[3]. Ιστορικά τα προϊόντα του ελαιόδεντρου, *Olea europaea*, στα οποία ανήκει και το ελαιόλαδο, χρησιμοποιούνταν ως θρεπτικά συστατικά, μαλακτικά, καθαρτικά, ηρεμιστικά, τονωτικά και αφροδισιακά. Ενώ παραδοσιακά αυτά τα προϊόντα χρησιμοποιούνταν για τη θεραπεία συγκεκριμένων παθήσεων, στις οποίες συμπεριλαμβάνονται οι κολικοί, η αλωπέκια, η παράλυση, οι ρευματοειδείς πόνοι, η ισχιαλγία και η υπέρταση[1].



Εικόνα 1-2. Αρχαϊκή Αγγειογραφία 530-510π.Χ., Βρετανικό Μουσείο
Μάζεμα ελιάς, Ο Ηρακλής με τον κένταυρο Φόλο

1.3. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΠΑΓΚΟΣΜΙΩΣ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΕΛΛΑΔΙΚΟ ΧΩΡΟ

Η παραγωγή ελαιολάδου παγκοσμίως είναι περίπου 2.000.000 τόνοι/ έτος. Στις Μεσογειακές χώρες παράγεται περισσότερο από το 95% της ετήσιας αυτής ποσότητας, με το 75% να προέρχεται από χώρες της Ευρωπαϊκής ένωσης (κυρίως Ισπανία, Ιταλία και Ελλάδα). Η παραγωγή ελαιολάδου έχει ξεκινήσει να κερδίζει έδαφος και σε χώρες που παραδοσιακά δεν παρήγαγαν όπως οι ΗΠΑ, ο Καναδάς, η Νότια Αμερική, η Αυστραλία και η Ιαπωνία[5].



ΕΙΚΟΝΑ 1-3. Η παγκόσμια παραγωγή ελαιολάδου (1997-2000). [3]

ΕΛΛΑΔΑ

ΠΕΡΙΟΔΟΣ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ (σε τόνους)
1999 / 2000	408375
2000 / 2001	434946
2001 / 2002	381620
2002 / 2003	376184
2003 / 2004	333720
2004 / 2005	411983

ΠΙΝΑΚΑΣ 1-1. Εγχώρια παραγωγή ελαιολάδου κατά την περίοδο 1999/2000 - 2004/2005 (Ε.Σ.Υ.Ε)

Νομοί	ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ (σε τόνους)					
	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Σύνολο Ελλάδας	408375	434946	381620	376184	333720	411983
Αιτωλοακαρνανίας	10863	9.385	13702	9160	8830	12075
Εύβοιας	8409	7.552	4690	6324	4221	5593
Φθιώτιδας	13198	11.855	12042	10159	10788	15662
Αχαΐας	17145	17.113	13103	17093	13617	16585
Ηλείας	23504	16.463	16561	3600	14277	16380

Λακωνίας	19218	30.078	21092	24943	19217	16070
Μεσσηνίας	43183	73113	35195	55649	34508	51815
Ζακύνθου	7773	7400	15783	17411	7964	12145
Κέρκυρας	15381	17106	10949	11032	5142	19549
Μαγνησίας	14030	1778	5255	7474	2268	6959
Χαλκιδικής	8893	5227	2141	2571	3544	4675
Δωδεκανήσου	3032	2806	2352	2334	3491	3095
Λέσβου	4475	24961	2494	29529	5987	12097
Ηρακλείου	69015	64780	74298	10485	72269	68338
Λασιθίου	21183	21145	15678	24908	16054	16039
Ρεθύμνου	38676	36493	38993	36574	28314	29323
Χανίων	32779	33.360	39813	43465	37484	55776

ΠΙΝΑΚΑΣ 1-2. Παραγωγή ελαιολάδου σε διάφορους νομούς κατά τα έτη 2000-2005 (Ε.Σ.Υ.Ε)

1.4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Το ελαιόλαδο βρίσκεται με τη μορφή μικρών σταγόνων στο χυμοτόπιο των κυττάρων του ελαιόκαρπου και σε μικρότερο ποσοστό στο κολλοειδές σύστημα του κυτταροπλάσματος των κυττάρων, στο επικάρπιο και στο ενδοσπέρμιο. Για να παραχθεί το ελαιόλαδο από την ελιά χρησιμοποιείται το νερό σε πολλά στάδια της παραγωγικής διαδικασίας (πλύσιμο, άλεση, αραίωση και τελικός διαχωρισμός)[4].

Αρχικά, οι ελιές συγκεντρώνονται σε σακιά ή καλάθια. Για να παραχθεί ελαιόλαδο υψηλής ποιότητας θα πρέπει, κατά τη συλλογή, το δέρμα του ελαιόκαρπου να παραμείνει ανέπαφο και η σοδειά να επεξεργάζεται μέσα στο πρώτο 24ωρο, διαφορετικά προκαλούνται αλλοιώσεις λόγω του βάρους των υπερκείμενων καρπών και του κακού αερισμού[3],[6]. Το πρώτο στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας αποτελεί ο διαχωρισμός των φύλλων της ελιάς και το πλύσιμο με νερό για την απομάκρυνση τυχόν ξένων σωματιδίων (σκόνη, χώμα κ.τ.λ.) που θα μπορούσαν να αλλοιώσουν το άρωμα και τη γεύση του ελαιόλαδου[4],[6]. Στη συνέχεια, ακολουθεί η άλεση ώστε να σπάσουν τα κύτταρα του ελαιόκαρπου και να απελευθερωθεί το ελαιόλαδο. Παλαιότερα, το στάδιο αυτό πραγματοποιούνταν με τις μυλόπετρες, σήμερα χρησιμοποιούνται μεταλλικοί σπαστήρες (σφυρόμυλοι ή οδοντικοί δίσκοι), οι οποίοι διαθέτουν ένα ή δύο κόσκινα

(σίτες) με τα οποία είναι δυνατό να ρυθμιστεί το μέγεθος της λειοτρίβησης του ελαιόκαρπου[3],[4],[7].

Κατά τη διαδικασία της άλεσης παράγεται η ελαιοζύμη, η οποία έπειτα υποβάλλεται σε θερμομάλαξη. Η ελαιοζύμη αναδεύεται για 30-60 λεπτά σε θερμοκρασία 26,6-30° C. Η διαδικασία αυτή συμβάλλει στη συγκόλληση των μικρών σταγονιδίων ελαιολάδου, που έχουν δημιουργηθεί κατά την άλεση, σε μεγαλύτερες σταγόνες και στο διαχωρισμό της φάσης του ελαίου από τη φάση του νερού[4].

Στο τελικό στάδιο, η εξαγωγή του ελαιολάδου μπορεί να γίνει με τρεις τρόπους: με πίεση, με φυγοκέντρωση (φυγοκεντρικοί διαχωριστές γνωστοί ως “decanters”) ή με εκλεκτικό φιλτράρισμα (διύλιση). Η πίεση (με πρέσες) αποτελεί την παραδοσιακή μέθοδο εξαγωγής ελαιολάδου. Αυτή η μέθοδος περιλαμβάνει την εφαρμογή πίεσης σε στοιβαγμένα φίλτρα καθένα από τα οποία καλύπτεται με μισή ίντσα (1,25 εκατοστά) ελαιοζύμης τα οποία εναλλάσσονται με μεταλλικούς δίσκους. Στη συνέχεια, μια κεντρική κοίλη ακίδα επιτρέπει στο ελαιόλαδο και στο νερό (χυμός ελιάς) που εξάγονται να πηγαίνουν προς διαφορετικές κατευθύνσεις. Αυτή η μέθοδος έχει εγκαταλειφθεί και στη θέση της χρησιμοποιούνται οι φυγοκεντρικοί διαχωριστήρες, οι δύο φάσεων και οι τριών φάσεων. Οι φυγοκεντρικοί διαχωριστές δύο φάσεων χρησιμοποιήθηκαν για πρώτη φορά στις αρχές της δεκαετίας του '90, σ' αυτούς δεν προστίθεται νερό οπότε έχουν την ικανότητα να διαχωρίσουν το ελαιόλαδο από τα στερεά όχι όμως και από τα υγρά (φυτικά υγρά, νερό - χυμός ελιάς). Στους φυγοκεντρικούς διαχωριστές τριών φάσεων προστίθεται νερό και το ελαιόλαδο διαχωρίζεται τόσο από τα στερεά όσο και από το νερό. Τέλος, το εκλεκτικό φιλτράρισμα αποτελεί την πιο σύγχρονη μέθοδο εξαγωγής ελαιολάδου. Βασίζεται στην αρχή ότι η ελαιοζύμη περιέχει ελαιόλαδο, στερεά και νερό και ότι μόνο το ελαιόλαδο μπορεί να παρασυρθεί από το μέταλλο (λόγω διαφοράς στα ειδικά βάρη). Το μηχάνημα διαθέτει λεπίδες που βυθίζονται μέσα στην ελαιοζύμη και επιτρέπουν στο ελαιόλαδο να στάζει συνεχώς σε ξεχωριστά δοχεία. Το πρώτο ελαιόλαδο που εξάγεται είναι το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο υψηλής ποιότητας[3],[6].

1.5. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

✓ Παρθένα ελαιόλαδα: Το ελαιόλαδο που λαμβάνεται από τον καρπό της ελιάς με μηχανικές μεθόδους ή άλλες φυσικές κατεργασίες που δεν προκαλούν αλλοίωση στο έλαιο. Υφίσταται μόνο πλύση, μετάγγιση, φυγοκέντρωση και διήθηση. Τα παρθένα ελαιόλαδα κατατάσσονται αποκλειστικά στις ακόλουθες κατηγορίες:

- Εξαιρετικά Παρθένο Ελαιόλαδο: Το παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, δεν

υπερβαίνει το 0,8%. Τα υπόλοιπα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή.

- Παρθένο Ελαιόλαδο: Το παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει τα 2g ανά 100g (2%). Τα υπόλοιπα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή[8],[9].

- Ελαιόλαδο Λαμπάντε: Το παρθένο ελαιόλαδο του οποίου η περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, υπερβαίνει τα 2g ανά 100g (>2%). Τα υπόλοιπα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή.

- ✓ Εξευγενισμένο Ελαιόλαδο: Το ελαιόλαδο που προκύπτει από τον εξευγενισμό του παρθένου ελαιολάδου. Η περιεκτικότητά του σε ελεύθερα λιπαρά οξέα (οξύτητα), εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει τα 0,3g ανά 100g (<0,3%). Τα υπόλοιπα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή[10].

- ✓ Ελαιόλαδο αποτελούμενο από εξευγενισμένα και παρθένα ελαιόλαδα: Το ελαιόλαδο που προκύπτει από ανάμειξη εξευγενισμένου και παρθένων ελαιολάδων, εκτός από το ελαιόλαδο Λαμπάντε. Η περιεκτικότητά του σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, εκφραζόμενη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 1g ανά 100g. Τα υπόλοιπα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή [8],[9],[10].

- ✓ Ακατέργαστο πυρηνέλαιο: Το έλαιο που λαμβάνεται από τους πυρήνα της ελιάς αφού υποστεί επεξεργασία με διαλύτες ή φυσικά μέσα ή το έλαιο που αντιστοιχεί σε ελαιόλαδο Λαμπάντε (με εξαίρεση ορισμένα χαρακτηριστικά).

- ✓ Εξευγενισμένο πυρηνέλαιο: Το έλαιο που προκύπτει από τον εξευγενισμό του ακατέργαστου πυρηνελαίου. Η περιεκτικότητά του σε ελεύθερα λιπαρά οξέα δεν υπερβαίνει τα 0,3g ανά 100g (<0,3%). Τα υπόλοιπα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή.

- ✓ Πυρηνέλαιο: Το έλαιο που προκύπτει από ανάμειξη εξευγενισμένου πυρηνελαίου και παρθένων ελαιολάδων, εκτός από το ελαιόλαδο Λαμπάντε. Η περιεκτικότητά του σε ελεύθερα λιπαρά οξέα δεν υπερβαίνει το 1g ανά 100g (<1%). Τα υπόλοιπα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του είναι σύμφωνα με τα προβλεπόμενα για την κατηγορία αυτή[10].

1.6. ΤΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

1.6.1. ΓΕΝΙΚΑ

Το παρθένο ελαιόλαδο αποτελείται από μακροσυστατικά και μικροσυστατικά. Τα μακροσυστατικά του, στα οποία ανήκουν οι τριακυλογλυκερόλες λιπαρών οξέων, αποτελούν το 98-99% του βάρους του[11],[12]. Τα μικροσυστατικά του ελαιολάδου αποτελούν το 1-2% του συνολικού περιεχομένου. Αυτά κατηγοριοποιούνται σε δύο τύπους, το μη σαπωνοποιήσιμο (μη πολικό) κλάσμα και το υδατοδιαλυτό (πολικό) κλάσμα. Στο μη σαπωνοποιήσιμο ανήκουν το σκουαλένιο, άλλα τριτερπένια, οι στερόλες, οι τοκοφερόλες και οι χρωστικές ουσίες, ενώ στο υδατοδιαλυτό τα φαινολικά συστατικά[12].

1.6.2. ΜΑΚΡΟΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Στο παρθένο ελαιόλαδο, τα λιπαρά οξέα περιέχονται κυρίως με τη μορφή των τριγλυκεριδίων (τριάκυλογλυκερολών), τα οποία αποτελούν εστέρες λιπαρών οξέων με γλυκερόλη[13]. Τα τριγλυκερίδια που περιέχονται σε υψηλότερο ποσοστό στο παρθένο ελαιόλαδο είναι επτά, η τριελαΐνη (OOO), η 1-παλμίτυλο-2,3-διελαΐνη (POO), η 1,2-διελαΐλο-3-λινελαΐνη (OOL), η 1-παλμίτυλο-2-ελαΐλο-λινελαΐνη (POL), η 1-στεατυλο-2,3-διλινελαΐνη (SLL), η 1-στεατυλο-2,3-διελαΐνη (SOO) και η 1,2-διπαλμιτυλο-3-ελαΐνη (PPO). Τα συστατικά αυτά αποτελούν περίπου το 90% του συνόλου των τριγλυκεριδίων του παρθένου ελαιολάδου. Σε μικρότερο ποσοστό περιέχονται άλλα τριγλυκερίδια όπως η 1,2-διλινελαΐλο-3-ελαΐνη (LLO) και η τριπαλμιτίνη (PPP). Η περιεκτικότητα του ελαιολάδου στα κύρια τριγλυκερίδια είναι: OOO (28-58%), POO (14,69-27,65%), OOL (13-17%), POL (5,48-6,36%), SOO (5-6%) και PPO (1-4%) [13],[14],[15].

Στο παρθένο ελαιόλαδο περιέχονται ακόμη διγλυκερίδια σε ποσοστό 1-3%, τα οποία προκύπτουν από την ατελή βιοσύνθεση ή από την ενζυμική υδρόλυση των τριγλυκεριδίων. Αυτά είναι είτε 1,2-διγλυκερίδια είτε 1,3-διγλυκερίδια. Στο εξευγενισμένο ελαιόλαδο, τα διγλυκερίδια περιέχονται σε υψηλότερο ποσοστό της τάξης του 4-5%, ενώ στο πυρηνέλαιο το ποσοστό τους αγγίζει το 15-20%[16]. Στο ελαιόλαδο περιέχονται και μονογλυκερίδια κυρίως από ελαϊκό, λινελαϊκό και παλμιτικό λιπαρό οξύ[17].

Τα λιπαρά οξέα των τριάκυλογλυκερολών του ελαιολάδου περιέχουν 14 με 20 άτομα άνθρακα (C) και είναι τόσο κορεσμένα όσο και ακόρεστα (κυρίως μονοακόρεστα αλλά και πολυακόρεστα)[18]. Το ελαιόλαδο περιέχει μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, με κύριο εκπρόσωπο το ελαϊκό οξύ σε ποσοστό 55-83%, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, με κύριο εκπρόσωπο το λινελαϊκό οξύ σε ποσοστό 4-

20%, και κορεσμένα λιπαρά οξέα σε ποσοστό 8-14%[12]. Στο ελαϊκό οξύ αποδίδεται η μοναδικότητα του ελαιολάδου καθώς τα σπορέλαια, στην πλειοψηφία τους, περιέχουν πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Το ελαϊκό οξύ καθιστά το ελαιολάδο πιο ανθεκτικό σε οξειδώσεις συγκριτικά με τα σπορέλαια και αυξάνει τη «διάρκεια ζωής του» στο ράφι. Παράλληλα, αρκετές ευεργετικές ιδιότητες του ελαιολάδου για την υγεία των ανθρώπων έχουν αποδοθεί στο ελαϊκό οξύ[1].

Λιπαρό οξύ	Αριθμός ατόμων άνθρακα	Εύρος (%)
Παλμικό	C16:0	7.5–20.0
Παλμιτελαϊκό	C16:1	0.3–3.5
Στεατικό	C18:0	0.5–5.0
Ελαϊκό	C18:1	55.0–83.0
Λινολαϊκό	C18:2	3.5–21.0
Λινολενικό	C18:3	<1.0
Αραχιδονικό	C20:0	<0.6
Εικοσενοϊκό	C20:1	<0.4

Πίνακας 1-3. Το επιτρεπόμενο εύρος λιπαρών οξέων στο εξαιρετικά παρθένο ελαιολάδο.[18]

Στο παρθένο ελαιολάδο περιέχονται και γλυκεροφωσφολιπίδια ή απλά φωσφολιπίδια. Η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε φωσφολιπίδια είναι χαμηλή και κυμαίνεται μεταξύ 21-124mg/kg. Τα κύρια φωσφολιπίδια που περιέχονται στο ελαιολάδο είναι φωσφατιδυλοχολίνη, φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη, φωσφατιδυλο-ϊνositόλη και φωσφατιδυλοσερίνη[19]. Τέλος, στο ελαιολάδο περιέχονται μικρές ποσότητες από εστέρες κηρών (εστέρες αλειφατικών αλκοολών με λιπαρά οξέα). Οι κηροί βρίσκονται στο δέρμα της ελιάς και επιτελούν ποικίλες λειτουργίες, όπως το να συμβάλουν στη διατήρηση του νερού στα κύτταρα της ελιάς και το να προστατεύουν τον καρπό από παθογόνους μικροοργανισμούς[20].

1.6.3. ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Το 1-2% του συνολικού βάρους του παρθένου ελαιολάδου αποτελείται από τα μικροσυστατικά, στα οποία περιλαμβάνονται περισσότερα από 230 συστατικά[11]. Το περιεχόμενο του ελαιολάδου σε μικροσυστατικά εξαρτάται από αρκετούς περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η ποικιλία, το κλίμα, η ωριμότητα της σοδειάς και το σύστημα παραγωγής[21]. Τα μικροσυστατικά χωρίζονται σε δυο κατηγορίες, το μη σαπωνοποιήσιμο (μη πολικό) κλάσμα και το σαπωνοποιήσιμο (υδατοδιαλυτό-πολικό) κλάσμα[12].

Μικροθρεπτικά συστατικά	Συγκέντρωση mg/100g ελαιολάδου
Τερπενικά συστατικά	100-350
Στερόλες	100-250
Υδρογονάνθρακες	
Σκουαλένιο	150-800
Καροτένια	0.5-1
Φαινολικά συστατικά	5-100
Αλειφατικές αλκοόλες	10-70
Τοκοφερόλες	0.5-30
Εστέρες	10-20
Αλδεΐδες και κετόνες	4-8
Χλωροφύλλες	0.1-2

ΠΙΝΑΚΑ 1.4. Μικροθρεπτικά Συστατικά Παρθένου Ελαιολάδου [22]

1.6.3.1. ΣΑΠΩΝΟΠΟΙΗΣΙΜΟ ΚΛΑΣΜΑ

Στο σαπωνοποίησιμο (υδατοδιαλυτό-πολικό) κλάσμα συγκαταλέγονται τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου. Τα τελευταία χρόνια υπάρχει αυξημένο ενδιαφέρον γύρω από τα συγκεκριμένα συστατικά[21]. Τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου αποτελούν ένα ετερογενές μίγμα πολλών επιμέρους συστατικών, καθένα από τα οποία διαφέρει στα χημικά χαρακτηριστικά και επιδρά σε διαφορετικό βαθμό στην ποιότητα του ελαιολάδου. Το ελαιολάδο περιέχει απλές φαινόλες (αλκοόλες), όπως η τυροσόλη και η υδροxyτυροσόλη, ενώ είναι πιθανό να περιέχει οξικό άλας της τυροσόλης και της υδροxyτυροσόλης και γλυκοζίτες της υδροxyτυροσόλης. Επιπλέον το ελαιολάδο περιέχει φαινολικά οξέα όπως το βενζοϊκό (C6-C1), το κινναμικό (C6-C3), το καφεϊκό, το βανιλλικό, το συριγγικό, το *p*-κουμαρικό, το *o*-κουμαρικό, το σιναπικό και το *p*-υδροxyβενζοϊκό οξύ[11]. Το ελαιολάδο ακόμη περιέχει τη διαλδεϋδική μορφή του ελενολικού οξέος [23] συνδεδεμένη με υδροxyτυροσόλη ή τυροσόλη, δηλαδή η 3,4-(διυδροxyφαινυλ)-αιθανόλη (3,4-DHPEA-EDA) και (p-υδροxyφαινυλ)-αιθανόλη (p-HPEA-EDA). Επίσης μπορεί να περιέχει λιγκστρόσιδιο, και άγλυκες μορφές της ολεωρωπαΐνης του λιγκστροσιδίου[11],[21]. Επιπρόσθετα, στα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου περιλαμβάνονται και φλαβονοειδή, όπως λουτεολίνη, απιγενίνη, ταξιφολίνη. Τέλος, στα φαινολικά συστατικά ανήκουν και οι λιγνάνες και τα υδροxy-ισοχρωμάνια, όπως η (+)-πευκορητινόλη, η (+)-1-ακετοxyπευκορητινόλη, η (+)-1-υδροxyπευκορητινόλη, 1-φαινυλ-6,7-διυδροxyισοχρωμάνιο και η 1-(3-μεθοxy-4-υδροxy)φαινυλ-6,7-διυδροxyισοχρωμάνιο[11]. Τα κύρια φαινολικά συστατικά του

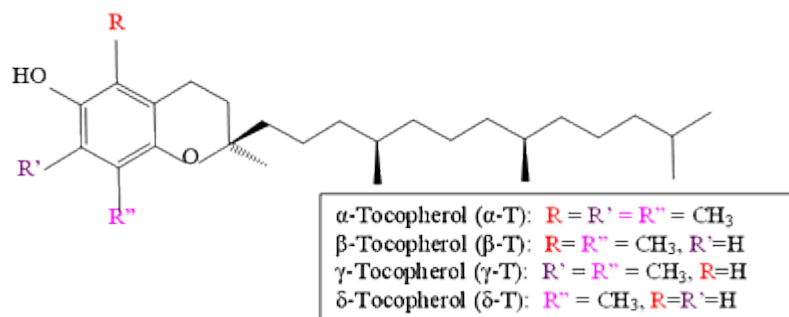
ελαιολάδου είναι η τυροσόλη, η υδροxyτυροσόλη[24]. Πρέπει να σημειωθεί ακόμη ότι η τυροσόλη, η υδροxyτυροσόλη και τα παράγωγά τους συνιστούν το 90% του συνόλου των φαινολικών συστατικών του ελαιολάδου. Το περιεχόμενο του ελαιολάδου σε φαινολικά συστατικά κυμαίνεται συνήθως μεταξύ 150-350mg/kg. Το παρθένο ελαιολάδο περιέχει μεγαλύτερο ποσό φαινολικών συστατικών σε σύγκριση με άλλα έλαια διότι το 80% αυτών χάνεται κατά τη διαδικασία του εξευγενισμού[21].

1.6.3.2. ΜΗ ΣΑΠΩΝΟΠΟΙΗΣΙΜΟ ΚΛΑΣΜΑ

Το μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα του ελαιολάδου, που ορίζεται ως το κλάσμα που εξάγεται με διαλύτες μετά από σαπωνοποίηση του ελαιολάδου, είναι πλούσιο σε μικροσυστατικά με ευεργετικές ιδιότητες[25]. Σ' αυτό ανήκουν οι υδρογονάνθρακες, οι τοκοφερόλες, το σκουαλένιο, τα τερπενικά συστατικά, οι στερόλες, οι χρωστικές ουσίες, όπως χλωροφύλλες, β-καροτένιο και φαιοφυτίνες και τα πτητικά συστατικά[25],[21].

1.6.3.2.1. Βιταμίνη Ε-Τοκοφερόλες

Η βιταμίνη Ε είναι λιποδιαλυτή βιταμίνη και ισχυρό αντιοξειδωτικό[26]. Αποτελείται από 2 κατηγορίες ενώσεων, καθεμία από τις οποίες συνίσταται από 4 ισομορφές. Αυτές είναι οι τοκοφερόλες (α,β,γ,δ-, κορεσμένα ανάλογα) και οι τοκοτριενόλες (ακόρεστα ανάλογα)[27]. Το ελαιολάδο περιέχει κυρίως α-τοκοφερόλη σε ποσοστό 60-92%, β-τοκοφερόλη, γ-τοκοφερόλη σε ποσοστό 6-9% και μικρές ποσότητες δ-τοκοφερόλης[28],[26]. Το μόριο της τοκοφερόλης, η οποία είναι ελεύθερη αλκοόλη, αποτελείται από έναν υδροxυλιωμένο δακτύλιο (δακτύλιο χρωμανόλης) και μια ισοπρενοειδή πλευρική αλυσίδα με 15 άτομα άνθρακα που περιέχει μόνο απλούς δεσμούς (κορεσμένη αλυσίδα)[27],[29].



ΕΙΚΟΝΑ 1-5. Η δομή των τοκοφερολών.[26]

Η βιταμίνη Ε δε συντίθεται στον ανθρώπινο οργανισμό, αλλά προσλαμβάνεται αποκλειστικά μέσω της διατροφής. Συντίθεται μόνο στα φυτά και

γι' αυτό η κύρια πηγή πρόσληψής της είναι τα φυτικά προϊόντα. Τα πράσινα φυτά περιέχουν μεγαλύτερη ποσότητα βιταμίνης E από τα κίτρινα, καθώς η α-τοκοφερόλη βρίσκεται στους χλωροπλάστες των φυτικών κυττάρων, ενώ η καλύτερη πηγή είναι τα φυτικά έλαια[29].

Έλαια	Χαρακτηριστικό	Συνολικό ποσό τοκοφερολών
Αραβοσιτέλαιο	Εξευγενισμένο	829±23
Έλαιο σπόρου σταφυλιού	Εξευγενισμένο	121±6
Λιναρόσπορος	Ψυχρής έκθλιψης	367±8
Ελαιόλαδο	Εξαιρετικά παρθένο	177±3
Φυστικέλαιο	Εξευγενισμένο	226±4
Ελαιοκράμβη	Εξευγενισμένο	468±28
Ελαιοκράμβη	Ψυχρής έκθλιψης	434±9
Σογιέλαιο	Εξευγενισμένο	829±12
Ηλιέλαιο	Εξευγενισμένο	609±11
Ηλιέλαιο	Ψυχρής έκθλιψης	535±8

ΠΙΝΑΚΑΣ 1-6. Ενδεικτικό περιεχόμενο φυτικών ελαίων σε τοκοφερόλη όπως προσδιορίστηκε με HPLC (mg/kg).[26]

Όπως φαίνεται από τον πίνακα η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε βιταμίνη E είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με τα υπόλοιπα έλαια, διαθέτει όμως τον υψηλότερο βιολογικό δείκτη (λόγος της βιταμίνης E προς τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα), που είναι περίπου 1,5. Αυτό σημαίνει ότι τα τριγλυκερίδια του ελαιολάδου προστατεύονται καλύτερα από τη βιταμίνη E σε σύγκριση με τα άλλα έλαια[30]. Η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη βιταμίνης E είναι 15μg για τους ενήλικες[31].

1.6.3.2.2. Υδρογονάνθρακες-Σκουαλένιο

Οι υδρογονάνθρακες εμπεριέχονται στο μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα του ελαιολάδου. Θεωρούνται ενδογενή συστατικά των φυτών και σχηματίζονται μέσω της αποκαρβοξυλίωσης των μακράς-αλύσου λιπαρών οξέων[32]. Το σκουαλένιο αποτελεί το 85-90% αυτών, η περιεκτικότητά του στο ελαιόλαδο κυμαίνεται μεταξύ 200-700mg/100g (0,7%)[33],[34]. Είναι ένας ακόρεστος αλειφατικός πολυπρενοειδής υδρογονάνθρακας και συμμετέχει στη βιοσύνθεση της χοληστερόλης [1],[32]. Οι διαφορές στα επίπεδα του σκουαλενίου στο εξαιρετικά παρθένο και στο εξευγενισμένο ελαιόλαδο είναι μικρές-το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο περιέχει μεγαλύτερες ποσότητες[1]. Στον ανθρώπινο οργανισμό, το σκουαλένιο απορροφάται σε ποσοστό 60% και αποθηκεύεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο

δέρμα (είναι κύριο συστατικό των λιπιδίων του δέρματος). Το σκουαλένιο δεν είναι ευαίσθητο στην υπεροξειδωση και φαίνεται να προστατεύει το δέρμα από την υπεροξειδωση των λιπιδίων κατά την έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία ή άλλους παράγοντες που θα μπορούσαν να προκαλέσουν οξειδωτική βλάβη[35].

1.6.3.2.3. Τριτερπενοειδή συστατικά

Τα τέσσερα τριτερπένια που βρίσκονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο ελαιόλαδο είναι τα ολεανολικό και μασλινικό οξύ, η ερυθροδιόλη και η ουβαόλη. Τα τριτερπενικά συναντώνται κυρίως στο δέρμα των φρούτων, γι' αυτό και η συγκέντρωσή τους είναι 10 φορές υψηλότερη στο πυρηνέλαιο σε σύγκριση με τα υπόλοιπα έλαια[21].

1.6.3.2.4. Στερόλες

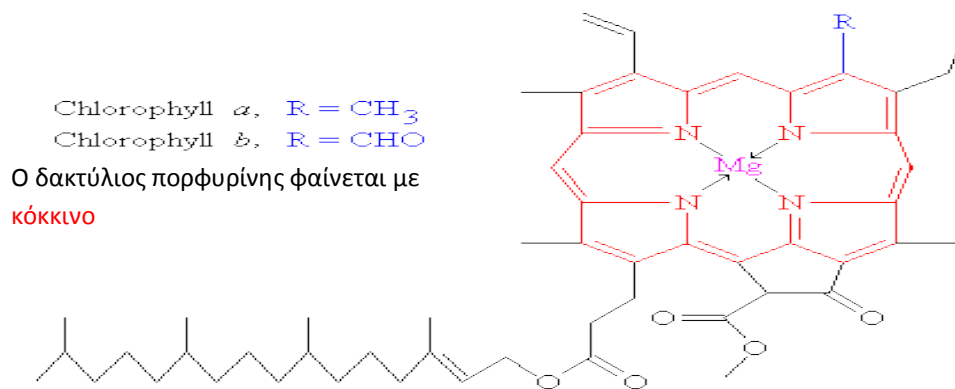
Το περιεχόμενο και η σύνθεση του ελαιολάδου σε στερόλες ποικίλει ανάλογα με τις αγρονομικές και κλιματικές συνθήκες. Το ακατέργαστο παρθένο ελαιόλαδο περιέχει κυρίως σιτοστερόλη σε ποσοστό 90%. Η περιεκτικότητα μάλιστα του ελαιολάδου σε φυτοστερόλες αποτελεί κριτήριο για τις διάφορες κατηγορίες ελαιολάδου, π.χ. εξαιρετικά παρθένο, παρθένο και εξευγενισμένο[36].

Έλαιο	mg στερόλης/kg ελαίου				
	Χοληστερόλη	Στιγμαστερόλη	β-Σιτοστερόλη	Σιτοστανόλη	Φουκοστερόλη
Παρθένο ελαιόλαδο	2.0	5.3	666.8	4.4	95.0
Εξευγενισμένο ελαιόλαδο	2.0	7.0	898.3	7.7	74.5
Πυρηνέλαιο	2.6	20.8	2266.2	38.9	119.7
Ακατέργαστο πυρηνέλαιο	2.9	27.8	2972.3	44.9	170.9

ΠΙΝΑΚΑΣ 1-6. Περιεκτικότητα διαφορετικών ελαιολάδων σε στερόλες (mg kg⁻¹).[36]

1.6.3.2.5. Χρωστικές

Οι καταναλωτές ενδιαφέρονται πρωτίστως για την εξωτερική εμφάνιση ενός τροφίμου (χρώμα, υφή), δηλαδή τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Το χρώμα του ελαιολάδου οφείλεται σε δυο φυσικές χρωστικές που περιέχει το έλαιο, τις χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή. Στις χλωροφύλλες οφείλεται το πράσινο χρώμα και στα καροτενοειδή το κίτρινο. Τα καροτενοειδή και οι χλωροφύλλες περιέχονται στο ελαιόλαδο σε ποσότητα περίπου 0,5-10mg/kg (ο λόγος της χλωροφύλλης προς τα καροτενοειδή είναι περίπου 1)[21],[37].



ΕΙΚΟΝΑ 1-7. Η Δομή των χλωροφυλλών

1.6.3.2.6. Πτητικά συστατικά

Τα πτητικά συστατικά είναι σημαντικά συστατικά για το ελαιόλαδο διότι συνδέονται με την ποιότητα και τη νοθεία του ελαίου. Πολλά πτητικά συστατικά συνεισφέρουν στο άρωμα του ελαιολάδου και προέρχονται κυρίως από οξείδωση των λιπαρών οξέων,[38] όπως π.χ. κορεσμένες αλδεΐδες (C7-C12, κυρίως C10). Στα πτητικά συστατικά του ελαιολάδου συμπεριλαμβάνονται αλειφατικοί και αρωματικοί υδρογονάνθρακες, αλειφατικές και τριτερπενικές αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, αιθέρες, εστέρες, παράγωγα φουρανίου και θειοφαινίου. Ακόμη, σε σημαντικά ποσοστά περιέχονται η εξανάλη, η τρανς-2-εξανάλη, η 1-εξανόλη και η 3-μέθυλοβουτανόλη. Τέλος, φαινολικά συστατικά, όπως η υδροξυτυροσόλη, η τυροσόλη, το καφεϊκό οξύ, το κουμαρικό οξύ και το *p*-υδροξυβενζοϊκό οξύ προσδίδουν άρωμα στο ελαιόλαδο[39].

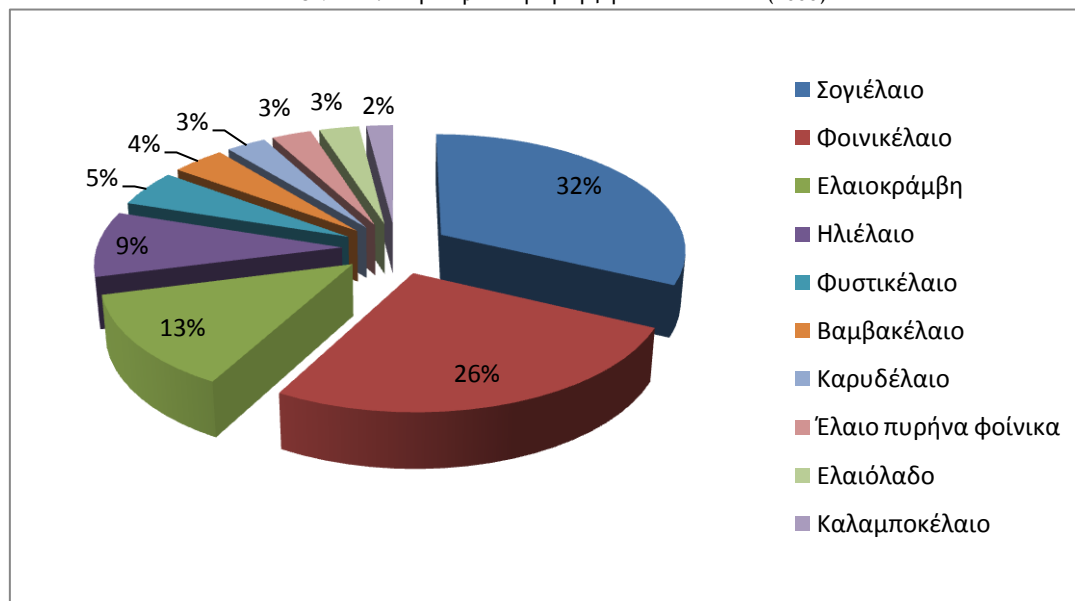
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΛΛΑ ΕΛΑΙΑ-ΣΠΟΡΕΛΑΙΑ

2.1. ΓΕΝΙΚΑ

Τα φυτικά έλαια και σπορέλαια είναι παγκοσμίως διαδεδομένα κυρίως λόγω του οικονομικού οφέλους που προσφέρουν καθώς χρησιμοποιούνται σε βιομηχανικά προϊόντα και παράγονται από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Αποτελούνται κυρίως από τριακυλογλυκερόλες σε ποσοστό 95-98% και από σύμπλεγμα μικροσυστατικών σε ποσοστό 2-5%[40]. Τα φυτικά έλαια περιέχουν κατά κύριο λόγο ακόρεστα λιπαρά οξέα (τόσο μονοακόρεστα όσο και πολυακόρεστα) ως συστατικά των τριγλυκεριδίων τους και είναι κατά το πλείστον υγρά σε θερμοκρασία δωματίου. Εξαιρέση αποτελούν τα επονομαζόμενα τροπικά έλαια, όπως το φοινικέλαιο, το πυρηνέλαιο του φοίνικα και τα έλαια καρύδας, τα οποία ενώ είναι πλούσια σε κορεσμένα λιπαρά οξέα, παραμένουν συχνά υγρά σε θερμοκρασία δωματίου λόγω του υψηλού ποσοστού βραχείας αλύσου λιπαρών οξέων που περιέχουν[41].

Η παγκόσμια παραγωγή των φυτικών ελαίων έχει αυξηθεί τις τελευταίες δεκαετίες. Όπως αποτυπώνεται, κατά προσέγγιση, στο παρακάτω διάγραμμα η μεγαλύτερη αύξηση έχει σημειωθεί στην παραγωγή του φοινικέλαιου η οποία αντιπροσωπεύει το 27-30% της παγκόσμιας παραγωγής. Ακολουθούν, στη συνέχεια, το σογιέλαιο (32%), η ελαιοκράμβη (13%) και το ηλιέλαιο (9%). Αντίθετα, η παγκόσμια παραγωγή του ελαιολάδου είναι μόλις 3%[42].

ΕΙΚΟΝΑ 1-7. Παγκόσμια παραγωγή φυτικών ελαίων (2000)



ΕΛΑΙΑ						
Λιπαρό οξύ	Σογιέλαιο	Ηλιέλαιο	Βαμβακέλαιο	Αραβοσιτέλαιο	Σησαμέλαιο	Ελαιόλαδο
8:0	-	-	-	-	-	-
10:0	-	-	-	-	-	-
12:0	-	-	-	Ίχνη	-	-
14:0	0.1	0.1	0.6	Ίχνη	Ίχνη	-
16:0	11.3	5.6	23.8	13.8	9.8	9.9
16:1	0.1	6.0	0.6	0.5	Ίχνη	0.6
18:0	4.5	4.3	3.2	2.8	4.9	2.6
18:1	24.0	38.3	17.8	26.2	41.4	79.9
18:2	51.0	50.9	53.5	55.2	43.4	6.2
18:3	7.7	0.3	-	1.1	0.2	0.7
20:0	0.5	-	0.1	0.2	0.2	0.4
20:1	0.3	Ίχνη	-	-	-	-
20:4	-	-	-	-	-	-
22:1	-	-	-	-	-	-

ΠΙΝΑΚΑΣ 1-7. % Αναλογία λιπαρών οξέων που βρίσκονται στα τριγλυκερίδια των φυτικών ελαίων.[43]

2.2. ΗΛΙΕΛΑΙΟ

Το φυτό ηλιοτρόπιο από το οποίο προέρχεται το ηλιέλαιο με ψυχρή πίεση, ευδοκιμεί σε ήπια κλίματα (εύκρατα προς ζεστά, θερμοκρασίες 20-25°C) κυρίως στην Αμερική, στην Ελλάδα (κυρίως στον Έβρο) και στην Κίνα. Το ηλιέλαιο (το έλαιο του ηλιοτροπίου), όπως όλα τα υπόλοιπα έλαια, αποτελείται κατά 98-99% από τριακυλογλυκερόλες, ενώ περιέχει σε πολύ μικρό ποσοστό (1-2%) φωσφολιπίδια, τοκοφερόλες, στερόλες και εστέρες (μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα). Τα τριγλυκερίδια του ηλιέλαιου αποτελούνται κυρίως από ακόρεστα λιπαρά οξέα (κυρίως πολυακόρεστα, αλλά και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα), ενώ τα κορεσμένα λιπαρά οξέα δεν ξεπερνούν το 15%. Το λινελαϊκό είναι το πολυακόρεστο λιπαρό οξύ (ω-6) που βρίσκεται σε μεγαλύτερη αφθονία στο ηλιέλαιο[44].

Λιπαρά οξέα	Ηλιέλαιο
C6:0 (Καπροϊκό οξύ)	ND

C8:0 (Καπρυλικό οξύ)	ND
C10:0 (Καπρικό οξύ)	ND
C12:0 (Λαυρικό οξύ)	ND-0.1
C14:0 (Μυριστικό οξύ)	ND-0.2
C16:0 (Παλμιτικό οξύ)	2.0-7.6
C16:1 (Παλμιτελαϊκό οξύ)	ND-0.3
C17:0 (Μαργαρικό οξύ)	ND-0.2
C17:1 (Επταδεκενοϊκό οξύ)	ND-0.1
C18:0 (Στεατικό οξύ)	1.0-6.5
C18:1 (Ελαϊκό οξύ)	14-39.4
C18:2 (Λινελαϊκό οξύ)	48.3-74.0
C18:3 (Λινολενικό οξύ)	ND-0.3
C20:0 (Αραχιδικό οξύ)	0.1-0.5
C20:1 (Εικοσενοϊκό οξύ)	ND-0.3
C20:2 (Εικοσαδιενοϊκό οξύ)	ND
C22:0 (Βεχενικό οξύ)	0.3-1.5
C22:1 (Ερουκικό οξύ)	ND-0.3
C24:0 (Λιγνοκηρικό οξύ)	ND-0.5
C24:1 (Εικοσιτετρανοϊκό οξύ)	ND
ND (Not Detectable-Μη ανιχνεύσιμη (προσδιορίζεται ως <0.05%))	

ΠΙΝΑΚΑΣ 1-8. Μέση περιεκτικότητα του ηλιελαίου σε λιπαρά οξέα-Codex Standard για φυτικά έλαια (εκφραζόμενη ως επί % συνολικών λιπαρών οξέων).[45]

Το ηλιέλαιο περιέχει, ακόμη, φωσφολιπίδια σε ποσοστό 0,5-1,2%. Επιπλέον, το ηλιέλαιο περιέχει τοκοφερόλες **Το ηλιέλαιο δεν περιέχει φαινολικά συστατικά.**[44]
Το περιεχόμενο του ηλιελαίου σε τοκοφερόλες φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Τοκοφερόλες	Περιεκτικότητα (mg/kg-ppm)
α-τοκοφερόλη	403-935
β-τοκοφερόλη	ND-45
γ-τοκοφερόλη	ND-34
δ-τοκοφερόλη	ND-7.0
α-τοκοτριενόλη	ND
γ-τοκοτριενόλη	ND
δ-τοκοτριενόλη	ND
Ολικές	440-1520
ND (Not Detectable-Μη ανιχνεύσιμη)	

(προσδιορίζεται ως <0.05%)

ΠΙΝΑΚΑΣ 1-9. Μέση περιεκτικότητα του ηλιελαίου σε βιταμίνη Ε (τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες). [44],[45]

Το ηλιέλαιο περιέχει ακόμη στερόλες, κυρίως β-σιτοστερόλη (56,2-65,0%) και Δ7-στιγμαστερόλη (7,0-24,0%). Τέλος, στο μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα περιλαμβάνονται ακόμη αλειφατικά συστατικά (100mg/100g ελαίου), τερπενοειδή - σκουαλένιο (15-20mg/100g ελαίου) καθώς και καροτενοειδή και χλωροφύλλες σε πολύ μικρό ποσοστό[44].

2.3. ΗΛΙΕΛΑΙΟ ΥΨΗΛΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΕΛΑΙΚΟ ΟΞΥ

Οι σπόροι του ηλιοτροπίου υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ παράχθηκαν μέσω γενετικής τροποποίησης των σπόρων του ηλιοτροπίου με την μεταλλαξογόνο ουσία θειικό διμεθύλιο. Η παραγωγή ξεκίνησε από τη Ρωσία από τον Κ.Ι. Salvaton. Το εμπόριο των γενετικά τροποποιημένων σπόρων ξεκίνησε το 1984 στην Αμερική. Η εταιρία “Lubrizol” παρήγαγε το αντίστοιχο έλαιο, το ηλιέλαιο υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ (HOSO).

Η περιεκτικότητα του HOSO σε ελαϊκό οξύ φτάνει 75-90,7%, ενώ περιέχει ακόμη τοκοφερόλες και στερόλες. Οι κύριες στερόλες που περιέχει το ηλιέλαιο υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ είναι η β-σιτοστερόλη (42-70%) και η Δ7-στιγμαστερόλη (6,5-24%).

Λιπαρά οξέα	HOSO
C6:0 (Καπροϊκό οξύ)	ND
C8:0 (Καπρυλικό οξύ)	ND
C10:0 (Καπρικό οξύ)	ND
C12:0 (Λαυρικό οξύ)	ND
C14:0 (Μυριστικό οξύ)	ND-0.1
C16:0 (Παλμιτικό οξύ)	2.6-5.0
C16:1 (Παλμιτελαϊκό οξύ)	ND-0.1
C17:0 (Μαργαρικό οξύ)	ND-0.1
C17:1 (Επταδεκενοϊκό οξύ)	ND-0.1
C18:0 (Στεατικό οξύ)	2.9-6.2
C18:1 (Ελαϊκό οξύ)	75-90.7
C18:2 (Λινελαϊκό οξύ)	2.1-17.0
C18:3 (Λινολενικό οξύ)	ND-0.3
C20:0 (Αραχιδικό οξύ)	0.2-0.5
C20:1 (Εικοσενοϊκό οξύ)	0.1-0.5

C20:2 (Εικοσαδιενοϊκό οξύ)	ND
C22:0 (Βεχενικό οξύ)	0.5-1.6
C22:1 (Ερουκικό οξύ)	ND-0.3
C24:0 (Λιγνοκηρικό οξύ)	ND-0.5
C24:1 (Εικοσιτετρανοϊκό οξύ)	ND
ND (Not Detectable-Μη ανιχνεύσιμη (προσδιορίζεται ως <0.05%))	

ΠΙΝΑΚΑΣ 1-10. Μέση περιεκτικότητα του HOSO σε λιπαρά οξέα-Codex Standard για φυτικά έλαια (εκφραζόμενη ως επί % συνολικών λιπαρών οξέων). [45]

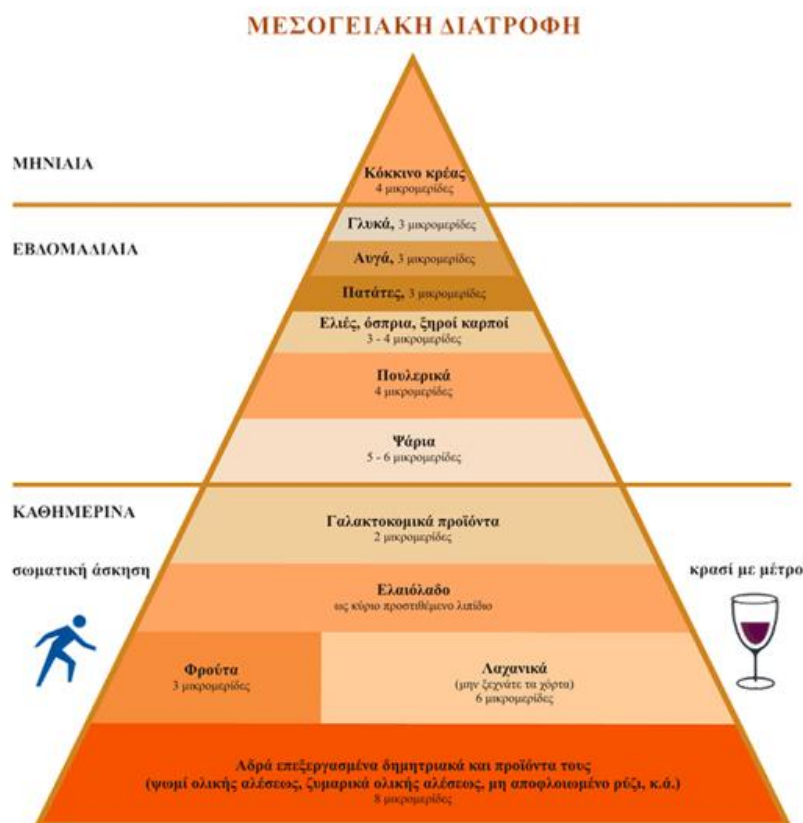
Τοκοφερόλες	Περιεκτικότητα (mg/kg-ppm)
α-τοκοφερόλη	400-1090
β-τοκοφερόλη	10.0-35
γ-τοκοφερόλη	3.0-30
δ-τοκοφερόλη	ND-17
α-τοκοτριενόλη	ND
γ-τοκοτριενόλη	ND
γ-τοκοτριενόλη	ND
Ολικές	450-1120
ND (Not Detectable-Μη ανιχνεύσιμη (προσδιορίζεται ως <0.05%))	

ΠΙΝΑΚΑΣ 1-11. Μέση περιεκτικότητα του ηλιελαίου σε βιταμίνη Ε (τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες). [44]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Μεσογειακή διατροφή αναφέρεται στο διατροφικό πρότυπο που εφαρμόζεται στις χώρες γύρω από τη Μεσόγειο Θάλασσα[46]. Για επιστημονικούς σκοπούς, ο όρος αναφέρεται στη διατροφή των Μεσογειακών περιοχών, στις αρχές της δεκαετίας του '60, όπου παραδοσιακά καλλιεργούνταν το ελαιόδεντρο και το ελαιόλαδο αποτελούσε την κύρια πηγή διατροφικού λίπους[46],[47]. Το Μεσογειακό Διατροφικό Πρότυπο συνηθίζεται να αποτυπώνεται με τη μορφή Πυραμίδας, η βάση της οποίας περιλαμβάνει τρόφιμα που καταναλώνονται συχνά και η κορυφή της τρόφιμα που καταναλώνονται σπάνια[48].



ΕΙΚΟΝΑ 3-1. Μεσογειακή Πυραμίδα Διατροφής

Η Μεσογειακή Διατροφή περιλαμβάνει την καθημερινή κατανάλωση μη επεξεργασμένων δημητριακών (όπως ολικής άλεσης ψωμί, ζυμαρικά, ρύζι-8 μικρομερίδες/ ημέρα), λαχανικών (2-3 μικρομερίδες/ ημέρα) και φρούτων (4-6 μικρομερίδες/ ημέρα). Το ελαιόλαδο αποτελεί την κύρια ημερήσια πηγή διαιτητικού λίπους. Επιπλέον, η Μεσογειακή Διατροφή περιλαμβάνει τη μέτρια κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων (γάλα, γιαούρτι-2 μικρομερίδες/ ημέρα). Σε μηνιαία βάση, μέσω του διατροφικού προτύπου συστήνεται η κατανάλωση πατάτας (4-5

μικρομερίδες/ εβδομάδα), ψαριού (4-5 μικρομερίδες/ εβδομάδα), ελιών, οσπρίων και ξηρών καρπών (>4 μικρομερίδες/ εβδομάδα). Πιο σπάνια συστήνονται τα πουλικά, τα αυγά και τα γλυκά (1-3 μικρομερίδες/ εβδομάδα). Επιπροσθέτως, το Πρότυπο περιλαμβάνει τη μηνιαία κατανάλωση κόκκινου κρέατος και προϊόντων του (4-5 μικρομερίδες/ μήνα). Τέλος, η Μεσογειακή Διατροφή συστήνει τη μέτρια κατανάλωση κρασιού (1-2 κρασοπότηρα/ ημέρα) μαζί με τα γεύματα[46],[48].

Το συνολικό περιεχόμενο της Μεσογειακής Διατροφής σε λίπος είναι υψηλό (γύρω στο 40% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης) στην Ελλάδα ή μέτριο (γύρω στο 30% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης) στην Ιταλία. Παρ' όλα αυτά όμως, το ποσοστό των μονοακόρεστων προς τα κορεσμένα λιπαρά οξέα είναι περίπου 2, δηλαδή πολύ υψηλότερο σε σχέση με άλλες περιοχές συμπεριλαμβανομένων της Βόρειας Ευρώπης και της Βόρειας Αμερικής[48]. Το Μεσογειακό Πρότυπο Διατροφής δηλαδή, χαρακτηρίζεται από χαμηλές προσλήψεις κορεσμένων λιπαρών οξέων και διαιτητικής χοληστερόλης. Από την άλλη πλευρά, χαρακτηρίζεται από υψηλό περιεχόμενο θρεπτικών συστατικών όπως σύνθετων υδατανθράκων, φυτικών ινών, ακόρεστων λιπαρών οξέων (κυρίως μονοακόρεστων), βιταμινών και ιχνο-στοιχείων[46]. Το Πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής λοιπόν λόγω του ιδιαίτερου προφίλ λιπαρών οξέων και των μικροθρεπτικών συστατικών έχει συνδεθεί με χαμηλά ποσοστά χρόνιων νοσημάτων και αυξημένα ποσοστά προσδόκιμου επιβίωσης σε πολλές επιδημιολογικές μελέτες σε όλο τον κόσμο[46],[47],[48].

3.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Ο Ancel Keys ήταν ο πρώτος που το 1950 ενδιαφέρθηκε για τη δημόσια υγεία και παρατήρησε τη συσχέτιση της Μεσογειακής Διατροφής με τα χαμηλά ποσοστά στεφανιαίας νόσου. Οι παρατηρήσεις του έθεσαν τις βάσεις για την πρώτη μεγάλη μελέτη σχετικά με το Μεσογειακό Πρότυπο Διατροφής, «τη Μελέτη των 7 Χωρών»[47],[49]. Η «Μελέτη των 7 χωρών» ξεκίνησε το 1957 [47] και περιελάμβανε 7 χώρες, (τις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, τη Φινλανδία, την Ολλανδία, την Ελλάδα, την Ιταλία, τη Γιουγκοσλαβία και την Ιαπωνία). Στη μελέτη συμμετείχαν 12763 άνδρες ηλικίας 40-59 ετών χωρισμένοι σε 16 ομάδες[50]. Μετά από 10 χρόνια παρακολούθησης, οι κάτοικοι της Κρήτης εμφάνιζαν τα χαμηλότερα ποσοστά καρδιαγγειακής νόσου και θανάτων από καρδιαγγειακά σε σύγκριση με τους κατοίκους όλων των υπόλοιπων περιοχών[47]. Ακόμη και μετά από 25 χρόνια παρακολούθησης, τα χαμηλότερα ποσοστά θανάτων από καρδιαγγειακά παρατηρήθηκαν στην Κρήτη, μια περιοχή που ακολουθεί τη Μεσογειακή Διατροφή και χαρακτηρίζεται από υψηλή κατανάλωση ελαιολάδου[50]. Τέλος, μετά από 40 χρόνια

παρακολούθησης επιβεβαιώθηκε ότι η Μεσογειακή Διατροφή αυξάνει το προσδόκιμο όριο ζωής. Και αυτό διότι, στις ομάδες της Κέρκυρας και της Κρήτης, που ακολουθούσαν ένα πρότυπο διατροφής κοντά στο Μεσογειακό, βρισκόταν εν ζωή ένα ποσοστό ανθρώπων γύρω στο 13% και 15% αντίστοιχα, ενώ, αντίθετα, στις υπόλοιπες περιοχές είχαν αποβιώσει όλοι οι εθελοντές[47],[51].

Επιπλέον, μια άλλη μελέτη που επιβεβαιώνει τα θετικά οφέλη της Μεσογειακής Διατροφής είναι η «Ευρωπαϊκή Προοπτική Μελέτη για τον Καρκίνο και τη Διατροφή» (EPIC Study). Η μελέτη αυτή διεξήχθη σε 23 ερευνητικά κέντρα σε 10 Ευρωπαϊκές χώρες και αποτελούνταν από 521448 εθελοντές. Η ελληνική ομάδα της μελέτης αποτελούνταν από 20343 εθελοντές 20-86 ετών, οι οποίοι παρακολούθηθηκαν για 5 χρόνια (1994-1999). Μέσα από μελέτες στην ομάδα αυτή φάνηκε ότι η προσκόλληση στη Μεσογειακή Διατροφή συσχετίζεται αρνητικά με τη συστολική και διαστολική πίεση. Η ευεργετική αυτή δράση αποδόθηκε πιθανόν στο υψηλό περιεχόμενο της διατροφής σε φρούτα, λαχανικά, ελαιόλαδο, βιταμίνες και ιχνοστοιχεία[52]. Η υιοθέτηση της Μεσογειακής Διατροφής φάνηκε ακόμη να μειώνει τον κίνδυνο για καρδιαγγειακό επεισόδιο κατά 33% σε άνδρες και γυναίκες[47]. Παράλληλα, στήθηκε ένα πρωτόκολλο μέσα στη μελέτη EPIC για να ελεγχθεί κατά πόσο η Μεσογειακή Διατροφή επιδρά στον κίνδυνο για σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Αυτό περιελάμβανε 2 ομάδες, μία ομάδα 11994 ατόμων που έπασχαν από σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και μία υποομάδα 15798 εθελοντών (επιλέχθηκαν από το σύνολο των 8 ομάδων της μελέτης, δηλαδή 340234 άτομα). Από τη μελέτη φάνηκε ότι οι εθελοντές με μεγαλύτερη προσκόλληση στη Μεσογειακή Διατροφή (υψηλότερο σκορ) είχαν 12% μικρότερο κίνδυνο να αναπτύξουν σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2[53]. Τελευταία δεδομένα από την EPIC δείχνουν ότι η υιοθέτηση του Μεσογειακού προτύπου συσχετίζεται αρνητικά με την κεντρικού τύπου παχυσαρκία (όχι με τον δείκτη μάζας σώματος), ενώ ακόμη συσχετίζεται με μειωμένη περιφέρεια μέσης. Φαίνεται λοιπόν ότι η Μεσογειακή διατροφή έχει ευεργετικό ρόλο στο μεταβολικό σύνδρομο[54].

Η «Lyon Diet Heart Study» είναι μία ακόμη τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη, διπλά τυφλή μελέτη (κλινική δοκιμή) που αποδεικνύει τα ευεργετικά οφέλη της Μεσογειακής Διατροφής στην υγεία. Στη μελέτη συμμετείχαν 605 ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η πειραματική ομάδα ακολούθησε μια Μεσογειακού τύπου διατροφή σύμφωνα με τις συστάσεις της Αμερικανικής Καρδιολογικής Εταιρείας (AHA-Step 1), ενώ η ομάδα ελέγχου ακολούθησε τη Μεσογειακή διατροφή χωρίς να της δοθεί καμία οδηγία[55]. Μετά από 27 και 46 μήνες παρακολούθησης, η Μεσογειακή Διατροφή φάνηκε να έχει περισσότερα ευεργετικά αποτελέσματα

καθώς μείωσε τα ποσοστά στεφανιαίων επεισοδίων (73%) και τη συνολική θνησιμότητα (70%)[56].

Επιπλέον, η «ΑΤΤΙΣ» είναι μία προοπτική μελέτη που σχεδιάστηκε τα έτη 2001-2002. Σ' αυτή συμμετείχαν 3042 (τυχαίο δείγμα) εθελοντές, 1514 άνδρες και 1528 γυναίκες, από την περιφέρεια της Αττικής και την υπόλοιπη Ελλάδα. Η μελέτη έδειξε ότι το 39,8% των εθελοντών που δεν ακολουθούσαν το Μεσογειακό πρότυπο διατροφής εμφάνιζαν δεκαετή κίνδυνο στεφανιαίας νόσου μεγαλύτερο του 10%[47]. Ακόμη, η μελέτη έδειξε ότι η Μεσογειακή Διατροφή αυξάνει τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού. Συγκεκριμένα, ο μεγαλύτερος βαθμός προσκόλλησης στη Μεσογειακή Διατροφή συσχετίστηκε θετικά με αυξημένα επίπεδα συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας. Οι εθελοντές που ήταν περισσότερο προσκολλημένοι στην Μεσογειακή Διατροφή (υψηλό σκορ) είχαν κατά μέσο όρο 11% υψηλότερη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα και 19% χαμηλότερη οξειδωμένη LDL χοληστερόλη σε σύγκριση με τους εθελοντές που ακολουθούσαν μια δυτικού τύπου διατροφή[57]. Το εύρημα αυτό επιβεβαίωσε και μία ακόμη επεμβατική, πολύ-κεντρική και τυχαιοποιημένη μελέτη που διεξήχθη στην Ισπανία, η «PREDIMED». Η μελέτη αποτελούταν από 7447 εθελοντές σε υψηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο, που συγκεντρώθηκαν τα έτη 2003-2009. Οι εθελοντές χωρίστηκαν τυχαία σε 3 ομάδες: ομάδα Μεσογειακής Διατροφής εμπλουτισμένη σε παρθένο ελαιόλαδο, ομάδα Μεσογειακής Διατροφής εμπλουτισμένη σε ξηρούς καρπούς και ομάδα χαμηλού λίπους. Από τους εθελοντές επιλέχθηκαν τυχαία οι 564 με υψηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο και σ' αυτούς πραγματοποιήθηκε παρέμβαση για 1 χρόνο. Μετά τον 1 χρόνο, οι ομάδες στις οποίες είχε γίνει παρέμβαση με Μεσογειακή Διατροφή είχαν αυξήσει τα επίπεδα ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος[58]. Η μελέτη «PREDIMED» έδειξε ακόμη ότι η Μεσογειακή Διατροφή εμπλουτισμένη με παρθένο ελαιόλαδο ή ξηρούς καρπούς μείωσε τη συχνότητα των μείζονων καρδιαγγειακών επεισοδίων[59]. Τέλος, συλλέχθηκαν 772 ασυμπτωματικά άτομα ηλικίας 55-80 ετών σε υψηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο και ακολούθησαν τα παραπάνω 3 διατροφικά σχήματα για 3 μήνες. Οι εθελοντές που ελάμβαναν Μεσογειακή Διατροφή εμπλουτισμένη είτε σε παρθένο ελαιόλαδο είτε σε ξηρούς καρπούς είχαν μειωμένα επίπεδα γλυκόζης ορού, μειωμένη συστολική αρτηριακή πίεση και μειωμένο λόγο χοληστερόλης προς HDL[60].

Παράλληλα, μια ακόμη μεγάλη μελέτη που επιβεβαιώνει τα θετικά οφέλη της Μεσογειακής Διατροφής στη δημόσια υγεία είναι το «HALE project». Η μελέτη διεξήχθη τα έτη 1988-2000 και περιελάμβανε εθελοντές από την «Έρευνα στην Ευρώπη για τη Διατροφή και οι Ηλικιωμένοι» (SENECA) και από τις μελέτες της

Φινλανδίας, της Ιταλίας, της Ολλανδίας για τους ηλικιωμένους (FINE). Η μελέτη περιείχε 1507 υγιείς άνδρες και 832 γυναίκες ηλικίας 50-70 ετών, από 11 Ευρωπαϊκές χώρες. Οι εθελοντές συγκεντρώθηκαν από το 1988 έως το 1991. Μετά από 10 χρόνια παρακολούθησης φάνηκε ότι οι άνδρες και οι γυναίκες ηλικίας 70-90 ετών που είχαν υιοθετήσει τη Μεσογειακή Διατροφή, ήταν μη καπνιστές (ή είχαν σταματήσει το κάπνισμα για περισσότερο από 15 χρόνια), ήταν σωματικά δραστήριοι και κατανάλωναν μέτριο αλκοόλ, είχαν χαμηλότερα ποσοστά θνησιμότητας από όλες τις αιτίες (καρδιαγγειακά, στεφανιαία νόσος, καρκίνος) κατά 50% σε σχέση με αυτούς που δεν είχαν τα συγκεκριμένα χαρακτηριστικά[61].

Τέλος, αρκετές μετα-αναλύσεις και ανασκοπήσεις έχουν επιβεβαιώσει τα οφέλη της Μεσογειακής Διατροφής στη δημόσια υγεία. Ενδεικτικά θα αναφερθούν μερικές από αυτές. Αρχικά, η μετα-ανάλυση του Francesco Sofi και των συνεργατών του (2008) που περιελάμβανε 12 μελέτες σχετικές με τη Μεσογειακή Διατροφή, τις χρόνιες νόσους και τη θνησιμότητα, έδειξε ότι αύξηση του σκορ προσκόλλησης στη Μεσογειακή Διατροφή κατά 2 βαθμούς συσχετιζόταν σημαντικά με μείωση του κινδύνου θνησιμότητας από οποιαδήποτε αιτία (8 μελέτες) καθώς και με μειωμένη επίπτωση της νόσου Parkinson και Alzheimer (3 μελέτες). Έδειξε, ακόμη, ότι ο υψηλότερος βαθμός προσκόλλησης στη Μεσογειακή Διατροφή σχετιζόταν σημαντικά με μειωμένο κίνδυνο θνησιμότητας από καρδιαγγειακά νοσήματα (4 μελέτες). Επιπλέον, η υιοθέτηση της Μεσογειακής Διατροφής συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο και μειωμένη θνησιμότητα από καρκίνο (6 μελέτες)[62].

Στη συνέχεια, μια νεότερη ανασκόπηση και μετα-ανάλυση του Sofi και των συνεργατών του (2010), στην οποία συμπεριλήφθηκαν 7 μελέτες που δεν περιέχονταν στην προηγούμενη, επιβεβαίωσε ότι η υιοθέτηση της Μεσογειακής Διατροφής ασκούσε σημαντική προστατευτική δράση ενάντια σε χρόνιες εκφυλιστικές νόσους. Συγκεκριμένα, μια αύξηση στο βαθμό προσκόλλησης στη Μεσογειακή Διατροφή κατά 2 μονάδες συσχετίστηκε με μείωση των θανάτων απ' όλες τις αιτίες κατά 8%, με μείωση των περιστατικών και/ή των θανάτων από καρδιαγγειακά και αγγειακά εγκεφαλικά κατά 10%, με μείωση των περιστατικών και των θανάτων από νεοπλασματικές νόσους κατά 6% και με μείωση των νευροεκφυλιστικών νόσων κατά 13%[63].

Τέλος, μια ακόμη μετα-ανάλυση που είναι σημαντικό να αναφερθεί είναι αυτή που συσχέτισε τη Μεσογειακή Διατροφή με το μεταβολικό σύνδρομο. Η μετα-ανάλυση συμπεριέλαβε 50 μελέτες στις οποίες συμμετείχαν 534.906 εθελοντές από την Ελλάδα (Αθήνα, Ιωάννινα) και την Ιταλία (Νάπολη). Μέσω της μετα-ανάλυσης φάνηκε ότι η Μεσογειακή Διατροφή επιδρά θετικά όχι μόνο στο μεταβολικό

σύνδρομο αλλά και στα μεμονωμένα συστατικά του συνδρόμου, όπως η περιφέρεια μέσης, τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης, τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων, τα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης και το μεταβολισμό της γλυκόζης. Ακόμη, η μετα-ανάλυση μέσω των αποτελεσμάτων μελετών παρατήρησης και κλινικών δοκιμών επιβεβαίωσε ότι η Μεσογειακή Διατροφή συσχετίζεται αρνητικά με την κεντρικού τύπου παχυσαρκία, που αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα του μεταβολικού συνδρόμου (επιβεβαιώνονται και τα αποτελέσματα της EPIC)[64].

Συμπερασματικά, οι διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι το διατροφικό πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα, νεοπλασματικές νόσους, παχυσαρκία, μεταβολικό σύνδρομο, σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και υπέρταση[54]. Η Μεσογειακή Διατροφή έχει γίνει, λοιπόν, ένα πρότυπο διατροφής παρά το υψηλό περιεχόμενό της σε λίπος, γεγονός το οποίο μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τελικά δεν παίζει τόσο ρόλο η ποσότητα αλλά η ποιότητα του λίπους που καταναλώνεται. Και εφόσον το ελαιόλαδο αποτελεί την κύρια πηγή λίπους της Μεσογειακής Διατροφής, αποδίδοντας παράλληλα και τις περισσότερες θερμίδες, τα συστατικά και οι βιολογικές τους ιδιότητες έχουν διεγείρει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας[22].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι η κύρια αιτία θανάτου για άνδρες ηλικίας 35-55 ετών και μία από τις σημαντικότερες αιτίες θανάτου για τις γυναίκες στις χώρες που ακολουθούν τον Δυτικό τρόπο ζωής. Αποτελούν πολυπαραγοντικά νοσήματα για την αντιμετώπιση των οποίων απαιτείται να ληφθούν υπ' όψιν όλοι οι παράγοντες κινδύνου που συσχετίζονται με αυτά. Στα νοσήματα αυτά περιλαμβάνεται ένας μεγάλος αριθμός ασθενειών όπως η στεφανιαία νόσος, η συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, οι αγγειακές παθήσεις του εγκεφάλου και των νεφρών, η περιφερική αγγειακή νόσος, οι συγγενείς ανωμαλίες της καρδιάς και η μολυσματική καρδιακή νόσος[65].

Η στεφανιαία νόσος αποτελεί τη σοβαρότερη των καρδιαγγειακών νοσημάτων και μπορεί να χωριστεί σε δύο κατηγορίες, τη στηθάγχη και το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η στηθάγχη χαρακτηρίζεται από οπισθοστερνική δυσφορία που εκδηλώνεται ως καύσος, πόνος ή πίεση (βάρος). Η στηθάγχη έχει δύο μορφές, την ασταθή και τη σταθερή. Η σταθερή στηθάγχη εκδηλώνεται σε καταστάσεις κατά τις οποίες αυξάνονται οι ανάγκες της καρδιάς σε οξυγόνο όπως άσκηση, κάπνισμα, άγχος. Η ασταθής στηθάγχη εκδηλώνεται ακόμη και κατά την ελαφρά φυσική δραστηριότητα ή την ξεκούραση και αποτελεί μια ενδιάμεση κατάσταση μεταξύ της σταθερής στηθάγχης και του εμφράγματος του μυοκαρδίου.

Η αθηροσκλήρωση αποτελεί την κύρια ασθένεια των αρτηριών και τον σημαντικότερο παράγοντα κινδύνου για την εκδήλωση κάποιου καρδιαγγειακού νοσήματος. Η αθηρογένεση χαρακτηρίζεται από την εναπόθεση πλάκας ανομοιογενούς σύστασης στην επιφάνεια του αρτηριακού τοιχώματος και ξεκινά από μικρή ηλικία. Η χρόνια εναπόθεση πλάκας οδηγεί προοδευτικά σε στένωση των αγγείων, η οποία όταν συμβεί σε καρδιακές αρτηρίες προκαλείται έμφραγμα του μυοκαρδίου καθώς παρεμποδίζεται η ροή του αίματος προς τον καρδιακό μυ. Κατ' αντιστοιχία, αν προκληθεί στένωση των περιφερικών αγγείων, παρακωλύεται η κυκλοφορία του αίματος με αποτέλεσμα να προκληθεί γάγγραινα. Ενώ, αν αποφράξουν οι αρτηρίες του εγκεφάλου προκαλείται αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο καθώς τα αιμοφόρα αγγεία αδυνατούν να τροφοδοτήσουν τον εγκέφαλο[66].

4.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ: ΠΑΓΚΟΣΜΙΩΣ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΕΛΛΑΔΙΚΟ ΧΩΡΟ

Διεθνή Δεδομένα

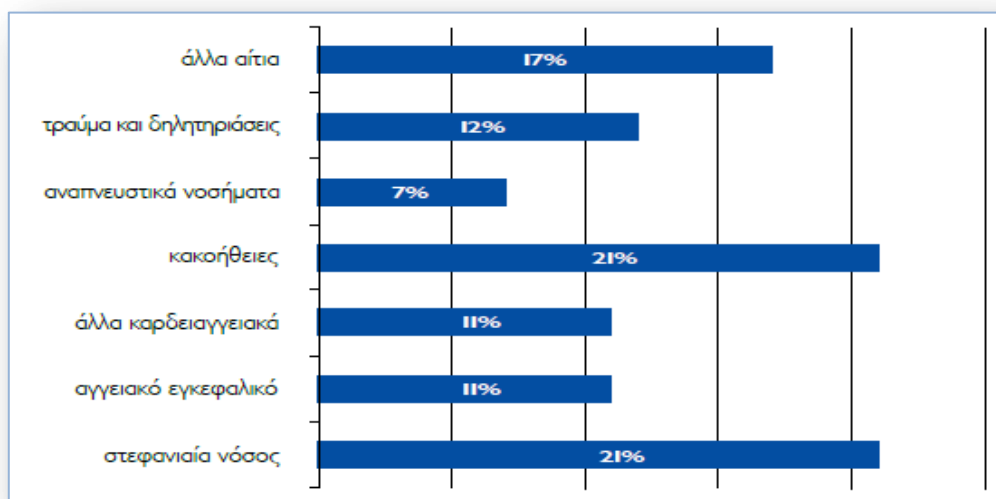
Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν την κύρια αιτία θανάτων σε παγκόσμιο επίπεδο. Μέχρι το 2005, οι θάνατοι από καρδιαγγειακά νοσήματα (στεφανιαία νόσος, έμφραγμα, ρευματική καρδιακή νόσο) είχαν αυξηθεί παγκοσμίως στα 17.5 εκατομμύρια, ενώ το 1990 ήταν 14.4 εκατομμύρια[65]. Αν και τα καρδιαγγειακά θεωρούνται νοσήματα του Δυτικού κόσμου[67], εντούτοις σύμφωνα με τον ΠΟΥ (Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, 2009), περισσότερο από το 80% των θανάτων συνέβησαν σε χώρες μέτριου και χαμηλού εισοδήματος. Από τα 17.5 εκατομμύρια, 7.6 εκατομμύρια θάνατοι οφείλονταν σε στεφανιαία νόσο και 5.7 εκατομμύρια σε έμφραγμα. Σύμφωνα με τον ΠΟΥ, εκτιμάται ότι μέχρι το 2015 οι θάνατοι από καρδιαγγειακά θα φτάσουν τα 20 εκατομμύρια (30% των θανάτων παγκοσμίως) ενώ μέχρι το 2030, τα 23.3 εκατομμύρια παγκοσμίως[65].



ΕΙΚΟΝΑ 4-1. Κύριες αιτίες θανάτων (συμπεριλαμβανομένων των καρδιαγγειακών) παγκοσμίως, 2005. [68]

Στην Ευρώπη, τα καρδιαγγειακά αποτελούν την σημαντικότερη αιτία θνητότητας προκαλώντας περισσότερους από 2 εκατομμύρια θανάτους στις περιοχές της Ευρωπαϊκής ένωσης. Το 50% αυτών οφείλεται σε στεφανιαία νόσο και το 1/3 σε αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια[69].

ΕΙΚΟΝΑ 4-2. Προτυποποιημένη θνητότητα ανάλογα με τον αιτιολογικό παράγοντα στην Ε.Ε. [69]

**Επιδημιολογικά δεδομένα στον Ελλαδικό χώρο**

Κατά τη δεκαετία του '60, η θνητότητα στην Ελλάδα από καρδιαγγειακά και νοσήματα του κυκλοφορικού ήταν η χαμηλότερη στην Ευρώπη. Την περίοδο, όμως, 1970-2004, η θνησιμότητα από ισχαιμική καρδιοπάθεια αυξήθηκε κατά 27.8%, ενώ στις άλλες Ευρωπαϊκές χώρες μειώθηκε μεταξύ 42-69.3%[69].

Χώρα	Θάνατοι ανά 100000 κατοίκους
Αυστρία (2006)	107.7
Βέλγιο (1997)	82.1
Γαλλία (2004)	41.6
Γερμανία (2004)	110.1
Δανία (2001)	111.5
Ελλάδα (2006)	76.3
Ιταλία (2005)	56.3
Ισπανία (2002)	72.4
Μ. Βρετανία (2005)	106.1
Νορβηγία (2005)	79.1
Ολλανδία (2004)	64.0
Πορτογαλία (2004)	56.9
Σουηδία (2004)	104.6
Φινλανδία (2005)	142.0

Πίνακας 4-1.: Προτυποποιημένη θνησιμότητα από ισχαιμική καρδιοπάθεια στο σύνολο του πληθυσμού, σε διάφορες ευρωπαϊκές χώρες. [69]

4.3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Ως «παράγοντες κινδύνου» αναφέρονται εκείνα τα χαρακτηριστικά που προωθούν τη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης και προδιαθέτουν την εμφάνιση κάποιου καρδιαγγειακού νοσήματος. Διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, στους μη τροποποιήσιμους και στους τροποποιήσιμους παράγοντες[66]. Οι μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν την ηλικία, το φύλο, τη γενετική προδιάθεση, το ατομικό και οικογενειακό ιστορικό, το χαμηλό οικονομικό και μορφωτικό επίπεδο, τους ψυχολογικούς παράγοντες και άλλους παράγοντες (π.χ. αυξημένη ομοκυστεΐνη). Στους τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου από την άλλη περιλαμβάνονται οι συμπεριφοριστικοί και οι μεταβολικοί. Σημαντικό επιστημονικό εύρημα αποτελεί το γεγονός ότι οι συμπεριφοριστικοί και μεταβολικοί παράγοντες κινδύνου κατέχουν ρόλο κλειδί στην αιτιολογία της αθηροσκλήρωσης και επομένως μπορούν να έχουν θέση, ως έναν βαθμό, στην πρόληψη και αντιμετώπιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων[68].

Συμπεριφοριστικοί παράγοντες κινδύνου

Οι συμπεριφοριστικοί παράγοντες κινδύνου αποτελούν τα χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής που συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου. Σ' αυτούς ανήκουν το κάπνισμα, η έλλειψη φυσικής δραστηριότητας, η κατάχρηση αλκοόλ[68] και η μη ισορροπημένη διατροφή. Η διατροφή συσχετίζεται ισχυρά με την καρδιαγγειακή νόσο διότι επηρεάζει μεταβολικούς παράγοντες κινδύνου όπως τα επίπεδα λιπιδίων, την αρτηριακή πίεση και το σωματικό βάρος[66].

Μεταβολικοί παράγοντες κινδύνου

Σ' αυτούς ανήκουν η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, η διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη (ο σακχαρώδης διαβήτης) και η παχυσαρκία[66].

✓ Υπέρταση: Η αυξημένη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση του αίματος αυξάνουν το έργο της καρδιάς με άμεσο αποτέλεσμα να την επιβαρύνουν και να αποτελούν παράγοντα κινδύνου για εμφράγματα του μυοκαρδίου, αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, καρδιακή ανεπάρκεια, περιφερική αγγειακή νόσο, νεφρική ανεπάρκεια και τύφλωση[66],[68]. Συνίσταται τα επίπεδα της αρτηριακής πίεσης του αίματος να είναι 140/90 mmHg, ενώ για τα διαβητικά άτομα και τους νεφροπαθείς ασθενείς τα επιθυμητά επίπεδα είναι ακόμη πιο χαμηλά (διαστολική<80mmHg)[66].

✓ Δυσλιπιδαιμία: Η δυσλιπιδαιμία αποτελεί παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα και εκδηλώνεται με αυξημένα επίπεδα λιποπρωτεϊνών

στον ορό του αίματος. Ως δυσλιπιδαιμία ορίζονται τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης, της LDL χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων και της απολιποπρωτεΐνης Β πάνω από την 90^η εκατοστιαία θέση ή τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης και της απολιποπρωτεΐνης Α κάτω από την 10^η εκατοστιαία θέση στο γενικό πληθυσμό[70]. Υπάρχει ισχυρά θετική συσχέτιση μεταξύ της ολικής και της LDL χοληστερόλης με τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων[66]. Η LDL χοληστερόλη εναποτίθεται στα τοιχώματα των αρτηριών και προωθεί την αθηροσκληρωτική διαδικασία[68]. Αντίθετα η συσχέτιση με την HDL χοληστερόλη είναι ισχυρά αρνητική, διότι η HDL απομακρύνει τη χοληστερόλη από τα περιφερικά αγγεία και την επιστρέφει στο ήπαρ[66],[68].

✓ Διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη (σακχαρώδης διαβήτης): Η αντίσταση στην ινσουλίνη, η διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη και η υπερινσουλιναιμία αποτελούν παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο. Εκτός αυτού, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 και 2 αυξάνει τον κίνδυνο για στεφανιαία νόσο, αγγειακά εγκεφαλικά και περιφερική αγγειοπάθεια. Ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου, ιδιαίτερα για τις γυναίκες, διότι περιορίζει την προστασία που ασκούν στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες τα οιστρογόνα[66]. Σε διαβητικά άτομα ο κίνδυνος για την εμφάνιση καρδιαγγειακού επεισοδίου είναι 2 με 3 φορές υψηλότερος σε σύγκριση με τον υγιή πληθυσμό, ενώ για της γυναίκες με σακχαρώδη διαβήτη ο κίνδυνος είναι ακόμη υψηλότερος. Πρέπει ακόμη να σημειωθεί ότι η θνησιμότητα των διαβητικών ατόμων από καρδιαγγειακά κυμαίνεται στο 60%[68]. Ο αυξημένος κίνδυνος των διαβητικών ατόμων για καρδιαγγειακά αποδίδεται στα κοινά μεταβολικά μονοπάτια μεταξύ της αντίστασης στην ινσουλίνη και της αθηροσκλήρωσης που οδηγούν σε αύξηση γλυκόζης και ελεύθερων λιπαρών οξέων και σε απελευθέρωση προφλεγμονωδών ουσιών, προθρομβωτικών ουσιών και κιτοκινών[71]. Παράλληλα, αποδίδεται και στην αρνητική επίδραση του διαταραγμένου μεταβολισμού των υδατανθράκων σε άλλους παράγοντες κινδύνου όπως η υπέρταση και η δυσλιπιδαιμία[66].

✓ Παχυσαρκία: Έχει αποδειχθεί μέσα από μελέτες ότι ο δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) συσχετίζεται θετικά με την καρδιαγγειακή νόσο. Αυτό πιθανόν εξηγείται από το γεγονός ότι το αυξημένο σωματικό βάρος, και ιδιαίτερα η κεντρικού τύπου παχυσαρκία, επιδρά αρνητικά στους υπόλοιπους παράγοντες κινδύνου (υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη). Έχει βρεθεί ακόμη ότι άτομα με φυσιολογικό βάρος ($\Delta\text{Μ}\Sigma=18.5\text{-}24.9\text{kg/m}^2$) εμφανίζουν το μικρότερο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Στα παχύσαρκα άτομα, λοιπόν, η απώλεια βάρους θεωρείται πρωταρχικής σημασίας και μια απώλεια της τάξης του 0,5-1kg/εβδομάδα θεωρείται ασφαλής[66].

Νεότεροι παράγοντες κινδύνου

Πέρα από τους τροποποιήσιμους και μη τροποποιήσιμους παράγοντες που προδιαθέτουν σε καρδιαγγειακά νοσήματα, τα τελευταία χρόνια έχει διατυπωθεί η άποψη ότι υπάρχουν κάποιοι επιπλέον παράγοντες κινδύνου. Σ' αυτούς ανήκει η υπερτροφία της αριστερής κοιλίας, η αύξηση δηλαδή της μάζας της κοιλίας ($>130\text{g/m}^2$ επιφάνειας σώματος για τους άνδρες και $>100\text{g/m}^2$ για τις γυναίκες). Η αριστερή κοιλία αυξάνει σε μέγεθος μετά από χρόνια φόρτιση που οφείλεται σε αύξηση του όγκου ή της πίεσης. Η υπερτροφία της αριστερής κοιλίας αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου, ενώ προδιαθεσικοί παράγοντες για την αύξηση της μάζας της κοιλίας αποτελούν η ηλικία, η υπέρταση και το αυξημένο σωματικό βάρος[66]. Επιπλέον, παράγοντα κινδύνου αποτελεί η αυξημένη ομοκυστεΐνη στο αίμα (υπερομοκυστεϊναιμία). Ο μηχανισμός δράσης όμως δεν έχει ακόμη ξεκαθαριστεί και ο τρόπος με τον οποίο η αυξημένη ομοκυστεΐνη προδιαθέτει σε αθηροσκληρωτική αγγειακή νόσο αποτελεί αμφιλεγόμενο ζήτημα. Επειδή όμως η υπερομοκυστεϊναιμία οφείλεται και σε διάφορους διατροφικούς παράγοντες όπως η έλλειψη βιταμίνης B12, B6 και φυλλικού οξέος, θεωρείται ότι μπορεί να προληφθεί με τη συμπληρωματική χορήγηση αυτών των συστατικών[72].

Η δυσλιπιδαιμία, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, αποτελεί έναν από τους τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου στην εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου. Στα πλαίσια της δυσλιπιδαιμίας, ένας ακόμη παράγοντας που σύμφωνα με τα νέα δεδομένα προδιαθέτει σε καρδιαγγειακά, είναι η υπερτριγλυκεριδαιμία. Ο ρόλος της στη διαδικασία της αθηρογένεσης δεν είναι ακόμη ξεκάθαρος, ωστόσο μια μετα-ανάλυση 17 προοπτικών μελετών καθώς και η Copenhagen Male Study έδειξαν ότι συνιστά ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου[66].

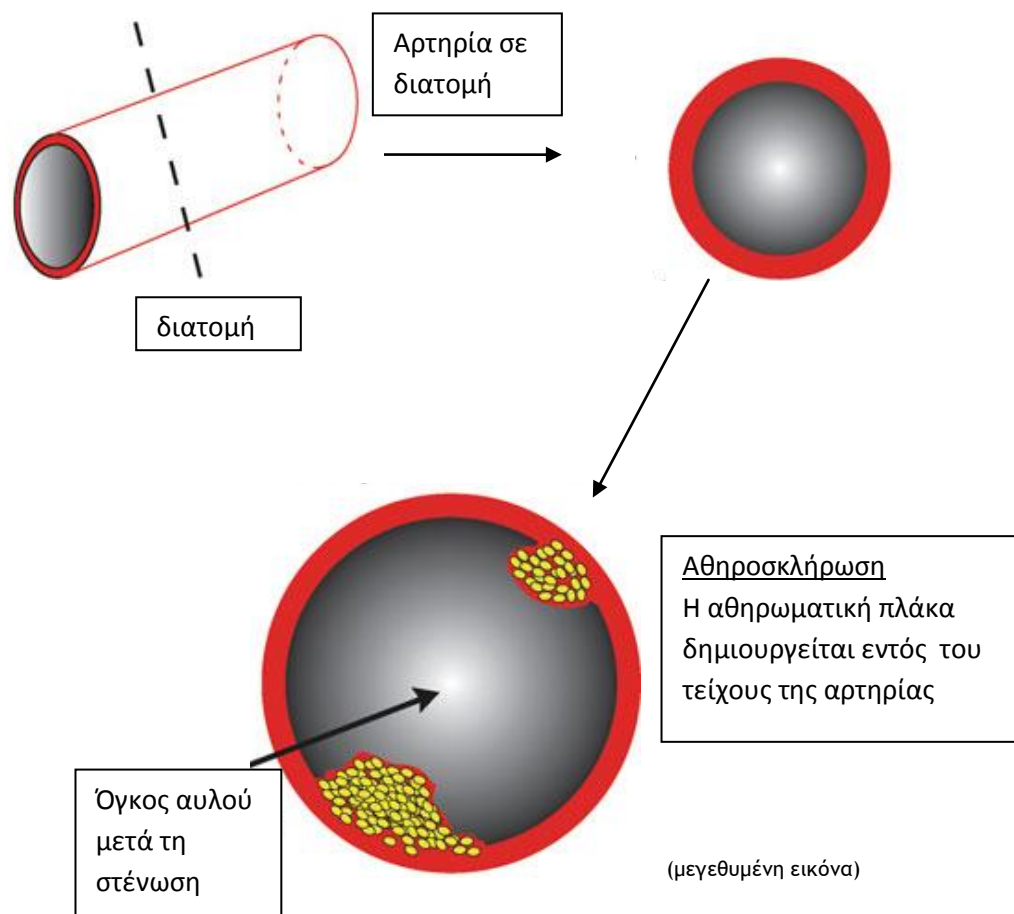
Επιπρόσθετα, άλλοι παράγοντες κινδύνου είναι η φλεγμονή, η αθηρωμάτωση και το οξειδωτικό στρες. Η αθηρωμάτωση, όπως αναφέρθηκε και στην παράγραφο 4.1, αποτελεί μία από τις κύριες αιτίες για την εμφάνιση καρδιαγγειακού νοσήματος καθώς ξεκινά με το σχηματισμό πλάκας στο εσωτερικό του αγγειακού τοιχώματος και μπορεί να εξελιχθεί σε θρόμβο και να οδηγήσει σε απόφραξη των αγγείων με άμεσο αποτέλεσμα το περιφερικό και εγκεφαλικό αγγειακό επεισόδιο[66]. Επίσης, υπάρχουν αρκετά δεδομένα από μελέτες ότι διάφοροι φλεγμονώδεις παράγοντες, και κυρίως η C αντιδρώσα πρωτεΐνη, αποτελούν ισχυρό προγνωστικό παράγοντα καρδιαγγειακής νόσου, περιφερικών αγγειακών και εγκεφαλικών επεισοδίων. Ακόμη, στη διαδικασία αυτή εμπλέκονται και οι λοιμώδεις παράγοντες που προδιαθέτουν σε φλεγμονή κατά τη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης, ενώ, είναι πιθανό να αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης

καρδιαγγειακού νοσήματος. Όσον αφορά το οξειδωτικό στρες, η οξειδωμένη LDL χοληστερόλη επιδρά ισχυρά στην εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου καθώς συμμετέχει στην διαδικασία της αθηρογένεσης, όπως θα περιγραφεί στην επόμενη ενότητα[72].

Τέλος, η λιποπρωτεΐνη Α έχει αποδειχθεί (από 2 μεγάλες μετα-αναλύσεις) ότι αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα καρδιαγγειακής νόσου. Η λιποπρωτεΐνη Α είναι μια τροποποιημένη μορφή της LDL που έχει παρόμοια δομή με το πλασμινογόνο. Ο μηχανισμός με τον οποίο η λιποπρωτεΐνη Α συμβάλλει στην εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου ξεκινάει με τη συμμετοχή της λιποπρωτεΐνης στη διαδικασία της αθηρογένεσης όπως θα αναλυθεί παρακάτω[70].

4.4. Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΘΗΡΟΓΕΝΕΣΗΣ

Η αθηρογένεση ή αθηροσκλήρωση είναι η κύρια αιτία εκδήλωσης καρδιαγγειακών νοσημάτων, όπως η ισχαιμική καρδιακή νόσος, το εγκεφαλικό επεισόδιο και η γάγγραινα, τα οποία μπορούν να οδηγήσουν ακόμη και στο θάνατο. Η πιο επικρατής υπόθεση για την αιτιολογία της αθηροσκλήρωσης είναι εκείνη που προϋποθέτει ότι η διαδικασία ξεκινά ως απάντηση στον τραυματισμό του ενδοθηλίου λόγω σωματικού στρες, έκθεσης σε τοξίνες όπως η οξειδωμένη χοληστερόλη ή έκθεσης σε λοιμώδεις παράγοντες. Η διαδικασία της αθηρογένεσης αναπτύσσεται σε 3 στάδια: 1)δυσλειτουργία αγγειακού ενδοθηλίου, 2)στιβάδα λίπους και 3)σχηματισμός ινώδους δομής[73].



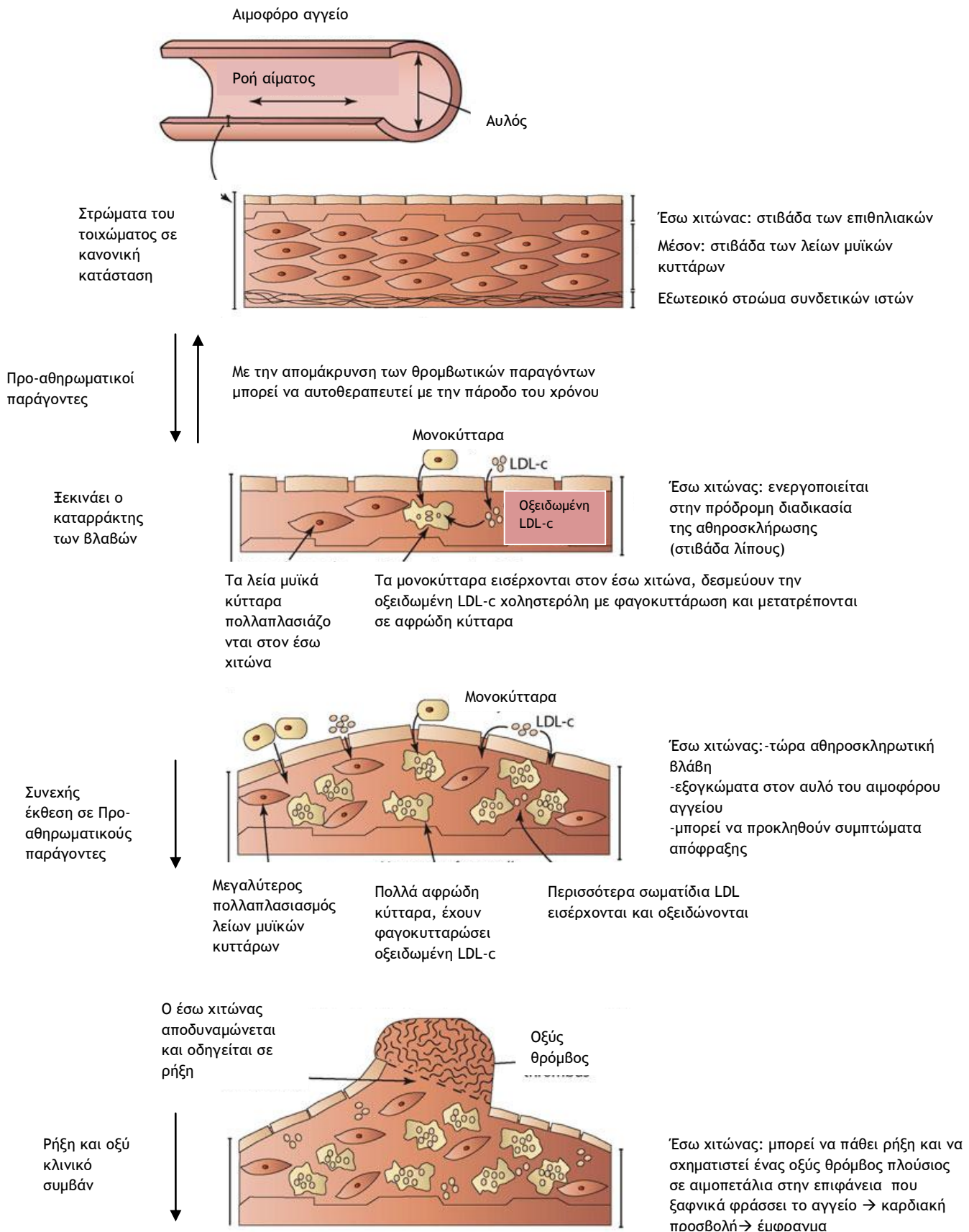
ΕΙΚΟΝΑ 4-4. Η αρτηρία στην οποία έχει ξεκινήσει η διαδικασία της αθηρογένεσης. Που δημιουργείται πραγματικά η αθηρωματική πλάκα. [67]

Η αθηροσκληρωτική διαδικασία ξεκινά με τον τραυματισμό του ενδοθηλίου, ο οποίος ενεργοποιεί αντισταθμιστικούς μηχανισμούς που μεταβάλλουν την ομοιόσταση του αγγειακού περιβάλλοντος. Για παράδειγμα, στην περιοχή προσελκύονται λευκοκύτταρα και αιμοπετάλια τα οποία απελευθερώνουν κυτοκίνες, αγγειοδραστικούς παράγοντες και παράγοντες ανάπτυξης καθιστώντας το περιβάλλον προπηκτικό[74]. Την κύρια αιτία τραυματισμού των ενδοθηλιακών κυττάρων του έσω χιτώνα του αγγείου αποτελεί η έκθεση σε προθρομβωτικούς παράγοντες, όπως η οξειδωμένη LDL χοληστερόλη μέσω της δημιουργίας ελεύθερων ριζών[75]. Οι προθρομβωτικοί αυτοί παράγοντες διεγείρουν την παραγωγή μορίων προσκόλλησης όπως το μόριο προσκόλλησης αγγειακού κυττάρου-1 (VCAM-1) από τα ενδοθηλιακά κύτταρα[76]. Ο τραυματισμός του ενδοθηλίου, λοιπόν, ενεργοποιεί αντιρροπιστικούς μηχανισμούς, διεγείρεται δηλαδή το ανοσοποιητικό σύστημα και προσελκύονται στην περιοχή μονοκύτταρα, Τ-λεμφοκύτταρα και αιμοπετάλια. Παράλληλα, ο έσω χιτώνας υπό τη δράση των προθρομβωτικών παραγόντων και την αδυναμία των αμυντικών μηχανισμών να αντιμετωπίσουν το πρόβλημα, χάνει την ακεραιότητά του με αποτέλεσμα τα

λεμφοκύτταρα και τα μονοκύτταρα να εισέρχονται στο εσωτερικό τοίχωμα του αγγείου[77]. Επιπλέον, τα λευκοκύτταρα που συγκεντρώνονται στην περιοχή απελευθερώνουν την μονοκυτταρική χημειοελκτική πρωτεΐνη 1 (MCP-1) αυξάνοντας τον φλεγμονώδη καταρράκτη και προσελκύοντας περισσότερα λευκοκύτταρα αλλά και λεία μυϊκά κύτταρα (ενισχύοντας και τον πολλαπλασιασμό τους)[76].

Τα μονοκύτταρα που συγκεντρώνονται στο εσωτερικό τοίχωμα του αγγείου απελευθερώνουν επιπλέον κυτοκίνες και ενισχύουν τόσο την προσέλκυση μορίων LDL χοληστερόλης όσο και την οξείδωση αυτών[76]. Τα μονοκύτταρα δεσμεύουν τα LDL σωματίδια και λιποπρωτεΐνη α (η οποία ενισχύει και την εναπόθεση χοληστερόλης στην αθηρωματική πλάκα)[70] και διαφοροποιούνται σε μακροφάγα, τα οποία μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα[77]. Τα αφρώδη κύτταρα μαζί με τα T-λεμφοκύτταρα απελευθερώνουν διαμεσολαβητές που ενισχύουν τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων, τα οποία δεσμεύουν επίσης LDL σωματίδια και μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. Αυτοί οι τρεις τύποι κυττάρων αποτελούν το στάδιο της στιβάδας λίπους[73]. Σ' αυτό το στάδιο, η διαδικασία είναι αναστρέψιμη[77]. Η διαδικασία, έπειτα, συνεχίζεται με το σχηματισμό της ινώδους δομής που αποτελείται από λεία μυϊκά κύτταρα και κολλαγόνο. Παράλληλα, τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα αρχίζουν να πεθαίνουν σχηματίζοντας τον νεκρωτικό πυρήνα κάτω από την ινώδη δομή. Αφού σχηματιστεί η αθηρωματική πλάκα, το πάχος της συνεχίζει να αυξάνεται καθώς τα λευκοκύτταρα και τα σωματίδια λιπιδίων εισέρχονται εντός της πλάκας[77]. Οι αθηρωματικές πλάκες που έχουν δημιουργηθεί σε διάφορα σημεία των αγγείων, αυξάνονται σε μέγεθος, ενώνονται και καταστρέφουν τα κυτταρικά τοιχώματα. Στη συνέχεια, ο οργανισμός αναπτύσσει αμυντικούς μηχανισμούς ώστε να ανταπεξέλθει σ' αυτόν τον τραυματισμό, εναποθέτοντας ινωδογόνο και ασβέστιο με αποτέλεσμα να δημιουργείται θρόμβος[66]. Αν ο θρόμβος είναι αρκετά μεγάλος αποφράσσει τον αυλό του αγγείου με αποτέλεσμα να συμβεί κάποιο καρδιαγγειακό επεισόδιο, όπως εγκεφαλικό αγγειακό επεισόδιο, περιφερικό αγγειακό επεισόδιο ή έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η ρήξη των αθηρωματικών πλακών ευθύνεται τουλάχιστον για το 50% των ξαφνικών καρδιακών και εγκεφαλικών επεισοδίων, για τα οποία τα προειδοποιητικά σήματα είναι σπάνια και οι συνέπειες πολλές φορές καταστροφικές[77].

ΕΙΚΟΝΑ 4-5. Η διαδικασία της αθηροσκλήρωσης [67]



4.5. ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες, τα ευρήματα πολλών μελετών επιβεβαιώνουν τη σχέση ανάμεσα στη διατροφή και τον κίνδυνο καρδιαγγειακών νοσημάτων. Πιο συγκεκριμένα, δεδομένα από επιδημιολογικές, πειραματικές και κλινικές δοκιμές δείχνουν ότι υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στη διατροφή και τα θρεπτικά συστατικά με τα επίπεδα των λιπιδίων του αίματος, την αρτηριακή πίεση και τη στεφανιαία νόσο[78]. Τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι πολυπαραγοντικά και για να αντιμετωπιστούν απαιτείται να ληφθούν υπ' όψιν όλοι οι παράγοντες κινδύνου. Η υγιεινοδιαιτητική αγωγή διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην αντιμετώπιση των διαταραχών των λιπιδίων. Συγκεκριμένα, συστήνεται απώλεια σωματικού βάρους σε παχύσαρκους ασθενείς, αύξηση της φυσικής δραστηριότητας και κατάλληλη διαιτητική παρέμβαση ανάλογα με την κάθε περίπτωση, όπως θα αναλυθεί παρακάτω[66]. Στην παράγραφο αυτή θα αναλυθεί η διαιτητική παρέμβαση σύμφωνα με το πρόγραμμα ATP III (Adults Treatment Panel III), ενώ εναλλακτικό τρόπο αντιμετώπισης αποτελεί η κρητική Μεσογειακή Διατροφή όπως αναλύθηκε στο κεφάλαιο 3.

Σύμφωνα με το πρόγραμμα ATP III, τα επίπεδα των λιπιδίων του αίματος (mg/dl) ταξινομούνται στις παρακάτω κατηγορίες[79]:

1)LDL χοληστερόλη: πρωταρχικός στόχος της θεραπείας

<100→ ιδανικά

100-129→ σχεδόν ιδανικά/λίγο πιο πάνω από τα ιδανικά

130-159→ οριακά αυξημένα

160-189→ αυξημένα

>=190→ πολύ αυξημένα

2)Ολική χοληστερόλη

<200→ ιδανικά

200-239→ οριακά αυξημένα

>=240→ αυξημένα

3)HDL χοληστερόλη

<40→ χαμηλά

>60→ υψηλά

4)Τριγλυκερίδια

<150→ ιδανικά

150-199→ οριακά αυξημένα

200-499→ υπερτριγλυκεριδαιμία

>500→ βαριά υπερτριγλυκεριδαιμία

Το πρόγραμμα θεραπείας ATP III θέτει υπό πλήρη έλεγχο τις λιποπρωτεΐνες του ορού (ολική χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη και τριγλυκερίδια) συστήνοντας αλλαγές του τρόπου ζωής. Εκτός από την υπερχοληστερολαιμία (με στόχο τη μείωση της οποίας ξεκίνησε το Εθνικό Πρόγραμμα Εκπαίδευσης για τη Χοληστερόλη στην Αμερική-NCEP), υπάρχουν διάφορες μορφές δυσλιπιδαιμίας που απαιτούν διαιτητική φροντίδα:

✓ Αυξημένα επίπεδα ολικής και LDL χοληστερόλης (με φυσιολογικά επίπεδα HDL χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων):

1. Μείωση της πρόσληψης κορεσμένου λίπους.
2. Αντικατάσταση μέρους των κορεσμένων λιπαρών οξέων με μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λαμβάνοντας υπ' όψιν τη θερμιδική πρόσληψη και το βάρος του ασθενούς.
3. Αύξηση της πρόσληψης διαλυτών φυτικών ινών (φρούτα, λαχανικά, όσπρια).
4. Χαμηλή πρόσληψη διαιτητικής χοληστερόλης[66].

✓ Υπερτριγλυκεριδαιμία:

1. Απώλεια βάρους σε παχύσαρκους ασθενείς-πρωταρχικός στόχος (μέσω της μείωσης θερμίδων, ολικού και κορεσμένου λίπους).
2. Περιορισμός απλών υδατανθράκων-αντικατάσταση με σύνθετους.
3. Μείωση ή παύση κατανάλωσης αλκοόλ.

✓ Αυξημένα επίπεδα ολικής και LDL χοληστερόλης καθώς και τριγλυκεριδίων:

1. Απώλεια βάρους σε παχύσαρκους ασθενείς-πρωταρχικός στόχος (μέσω της μείωσης θερμίδων, ολικού και κορεσμένου λίπους).
2. Αντικατάσταση μέρους των κορεσμένων λιπαρών οξέων με μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λαμβάνοντας υπ' όψιν τη θερμιδική πρόσληψη και το βάρος του ασθενούς.
3. Περιορισμός απλών υδατανθράκων-αντικατάσταση με σύνθετους.
4. Μείωση ή παύση κατανάλωσης αλκοόλ.
5. Μέτρια πρόσληψη διαιτητικής χοληστερόλης.

✓ Χαμηλά επίπεδα HDL χοληστερόλης:

1. Αύξηση της αερόβιας άσκησης.
2. Μέτρια πρόσληψη οινοπνεύματος (1-2 ποτήρια/ ημέρα).
3. Επιβεβαίωση ότι η πρόσληψη λίπους είναι μέτρια και αντικατάσταση μέρους του κορεσμένου λίπους με μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα[66].

Όλες αυτές οι συστάσεις συνοψίζονται στην δίαιτα TLC (Therapeutic Lifestyle Changes):

- ❖ Συνολική πρόσληψη λίπους: 25-35% της συνολικής ημερήσιας θερμιδικής πρόσληψης (συμπεριλαμβανομένων και των θερμίδων από τα κορεσμένα λιπαρά οξέα)
- ❖ Κορεσμένα λιπαρά οξέα: <7% της συνολικής ημερήσιας θερμιδικής πρόσληψης
- ❖ Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα: έως 20% της συνολικής ημερήσιας θερμιδικής πρόσληψης
- ❖ Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα: έως 10% της συνολικής ημερήσιας θερμιδικής πρόσληψης
- ❖ Διαιτητική χοληστερόλη: <200mg/ ημέρα
- ❖ Υδατάνθρακες: 50-60% της συνολικής ημερήσιας θερμιδικής πρόσληψης
- ❖ Πρωτεΐνη: έως 15% της συνολικής ημερήσιας θερμιδικής πρόσληψης
- ❖ Επιλογές για τη μείωση της LDL χοληστερόλης:
 - Φυτικές στερόλες και στανόλες: 2g/ ημέρα
 - Διαλυτές φυτικές ίνες: 10-25g/ ημέρα
- ❖ Νάτριο: έως 2300mg/ ημέρα [80]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

5.1. Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ

Χημικά, κάθε συστατικό που μπορεί να προσλάβει ηλεκτρόνια, συμπεριλαμβανομένου του οξυγόνου, ονομάζεται οξειδωτικό ή οξειδωτικό μέσο. Αντίθετα, κάθε συστατικό που προσφέρει ηλεκτρόνια ονομάζεται αναγωγικό ή αναγωγικό μέσο. Ο όρος οξείδωση αναφέρεται στη χημική αντίδραση κατά την οποία λαμβάνει χώρα μεταφορά ηλεκτρονίων από ένα αναγωγικό σ' ένα οξειδωτικό μέσο[81]. Κατά την οξειδωτική διαδικασία παράγονται ελεύθερες ρίζες, οι οποίες είναι ηλεκτρικά φορτισμένα μόρια, που αναζητούν και δεσμεύουν ηλεκτρόνια ώστε να αποκτήσουν ουδέτερο φορτίο. Παρά το γεγονός ότι κατά την αρχική αντίδραση οι ελεύθερες ρίζες εξουδετερώνονται, σχηματίζονται συνεχώς νέες ελεύθερες ρίζες κατά τη διαδικασία με αποτέλεσμα μια αλυσιδωτή αντίδραση[82]. Τα υποστρώματα για την οξείδωση μπορεί να είναι κρίσιμα βιολογικά μόρια, όπως πρωτεΐνες, λιπίδια, υδατάνθρακες και νουκλεϊκά οξέα. Η οξειδωτική αυτή τροποποίηση μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγή της γονιδιακής έκφρασης και σε φλεγμονώδη απάντηση[83].

Για την προστασία των κυττάρων και των οργανικών συστημάτων από τις ελεύθερες ρίζες, το ανθρώπινο σώμα έχει αναπτύξει ένα σύνθετο αντιοξειδωτικό σύστημα. Αντιοξειδωτικά είναι τα μόρια τα οποία είναι ικανά να σταθεροποιούν ή να απενεργοποιούν ελεύθερες ρίζες πριν επιτεθούν στα κύτταρα[82]. Ο οργανισμός πρέπει να ελέγχει συνεχώς την ισορροπία ανάμεσα στα προ-οξειδωτικά και τα αντιοξειδωτικά. Κι αυτό διότι η ισορροπία αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική για τη διατήρηση των ζωτικών κυτταρικών και βιοχημικών διεργασιών[81]. Στο σύνθετο αντιοξειδωτικό σύστημα του οργανισμού ανήκουν ενζυμικά συστήματα με κυριότερα την υπεροξειδική δισμουτάση, την καταλάση, την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, αλλά και μη ενζυμικά συστήματα με κυριότερα τη γλουταθειόνη, τη χολερυθρίνη, τα οιστρογόνα, το συνένζυμο Q, τη μελανίνη, τη μελατονίνη, το ουρικό οξύ, την α-τοκοφερόλη και το λιποϊκό οξύ[83].

5.2. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

Τα αντιοξειδωτικά ταξινομούνται σε δύο κύριες κατηγορίες: στα κύρια ή φυσικά αντιοξειδωτικά και στα δευτερεύοντα ή συνθετικά αντιοξειδωτικά.

Τα κύρια ή φυσικά αντιοξειδωτικά δρουν «σπάζοντας» την αλυσιδωτή αντίδραση και μετατρέποντας τις ενδιάμεσες ελεύθερες ρίζες σε πιο σταθερά προϊόντα. Σ' αυτήν την κατηγορία ανήκουν τα ακόλουθα αντιοξειδωτικά:

- Μέταλλα: σελήνιο, χαλκός, σίδηρος, ψευδάργυρος και μαγγάνιο. Είναι συμπαράγοντες των ενζύμων των αντιοξειδωτικών. Η έλλειψή τους επηρεάζει το μεταβολισμό πολλών μακρομορίων όπως των υδατανθράκων.

- Βιταμίνες: Σ' αυτές ανήκουν η βιταμίνη C, η βιταμίνη E και βιταμίνες του συμπλέγματος B.

- Φυτοχημικά: Σ' αυτά ανήκουν φαινολικά συστατικά (φλαβονοειδή, κατεχίνες κλπ), καροτενοειδή (β-καροτένιο, λυκοπένιο, ζεαξανθίνη).

Τα δευτερεύοντα ή συνθετικά αντιοξειδωτικά οξειδώνονται τα ίδια και σταματούν την αλυσιδωτή αντίδραση. Σ' αυτήν την κατηγορία ανήκουν τα ακόλουθα αντιοξειδωτικά:

- Η Βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA)
- Το Βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT)
- Ο γαλλικός προπυλεστέρας (PG) και ο μέταλλο-χηλικός παράγοντας (EDTA)
- Η τριτοταγής βούτυλο-υδροκινόνη (TBHQ)

Οι κύριες πηγές των αντιοξειδωτικών είναι τα φρούτα, τα λαχανικά, οι ξηροί καρποί, οι σπόροι, καθώς και κάποια κρέατα, πουλερικά και ψάρια[84].

5.3. ΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Αρχικά ο Sies περιέγραψε το οξειδωτικό στρες ως μια διαταραχή στην ισορροπία των προ-οξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών, υπέρ των πρώτων. Ο ορισμός αυτός εξελίχθηκε και πλέον ο όρος «οξειδωτικό στρες» αναφέρεται σε ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών, εξαιτίας των οξειδωτικών, που μπορεί δυνητικά να οδηγήσει σε βλάβη. Αυτό σημαίνει ότι το οξειδωτικό στρες εμφανίζεται αν η αυξημένη παραγωγή οξειδωτικών συνδυαστεί με την απώλεια αντιοξειδωτικών και/ή με τη συγκέντρωση των οξειδωμένων μορφών των αντιοξειδωτικών[74]. Το οξειδωτικό στρες μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτική βλάβη και φαίνεται να συνδέεται με πολλές ασθένειες, κυρίως καρκίνο, καρδιαγγειακά νοσήματα και φλεγμονώδεις διαταραχές[83].

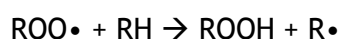
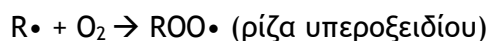
Οι οξειδωτικές συνθήκες μέσα στο κύτταρο είναι η κινητήρια δύναμη που οδηγεί σε βιοχημικές διεργασίες. Όταν το εσωτερικό περιβάλλον του κυττάρου βρίσκεται σε ηρεμία, οι αναγωγικές αντιδράσεις πραγματοποιούνται με πολύ υψηλή συχνότητα. Αντιθέτως, το περιβάλλον γίνεται ολοένα και πιο οξειδωμένο κατά τη διάρκεια του πολλαπλασιασμού και της ενεργοποίησης των κυτταρικών βιοχημικών διεργασιών μέχρι την απόπτωση και τη νέκρωση. Σε αυτά τα τελικά στάδια, το κυτταρικό περιβάλλον έχει πλέον οξειδωθεί σε πολύ υψηλά επίπεδα[81].

Οι ενεργές μορφές του οξυγόνου (ROS) και οι ενεργές μορφές του αζώτου (RNS, όπως για παράδειγμα το μονοξείδιο του αζώτου, NO•) έχουν διττό ρόλο καθώς είναι απαραίτητες για το κύτταρο, μπορούν όμως να οδηγήσουν και σε οξειδωτική βλάβη[85]. Οι ROS/RNS διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε πολλές φυσιολογικές διεργασίες του ανθρώπινου οργανισμού, όπως στην ενεργοποίηση των γονιδίων, στην κυτταρική ανάπτυξη, στην άμυνα ενάντια σε βακτήρια και ιούς (παρέχονται από ουδετερόφιλα-μακροφάγα) και στη διαστολή των αιμοφόρων αγγείων. Συμμετέχουν ακόμη στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, αποτελούν μεσολαβητές στη σύνθεση σημαντικών μακρομορίων όπως προσταγλανδινών, συμβάλλουν στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, ενώ αποτελούν παράλληλα μόρια-σήματα για το ίδιο το κύτταρο καθώς και μεταξύ των κυττάρων. Γίνεται, λοιπόν, κατανοητό ότι οι ROS/RNS παίρνουν μέρος σε πολλές βιολογικές διεργασίες όπως η μετάλλαξη, η καρκινογένεση, η γήρανση και η φλεγμονή[81]. Οι ROS/RNS παράγονται από αυστηρά ρυθμισμένα ένζυμα όπως οι ισομορφές της οξειδάσης του NAD(P)H και η συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου (NOS) αντίστοιχα. Τα ευεργετικά οφέλη τους εμφανίζονται όταν οι ROS/RNS βρίσκονται σε μικρές ή μέτριες συγκεντρώσεις και περιλαμβάνουν την άμυνα ενάντια σε λοιμώδεις παράγοντες και την ενεργοποίηση της μιτογονικής απόκρισης. Από την άλλη πλευρά, η υπερβολική παραγωγή αυτών των ενεργών μορφών μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες και συνδέεται με φθορά και γήρανση του οργανισμού[85].

Η διαδικασία παραγωγής ελεύθερων ριζών ακολουθεί την παρακάτω διαδικασία:

1) Δημιουργία ελεύθερης ρίζας R•. Η δημιουργία υποβοηθάται από εξωτερικούς παράγοντες όπως η υψηλή θερμοκρασία, η ιονίζουσα ακτινοβολία, η υπεριώδης ακτινοβολία και χημικοί παράγοντες όπως τα μεταλλικά ιόντα, οι ελεύθερες ρίζες και οι μεταλλοπρωτεΐνες.

2) Διάδοση. Οι ελεύθερες ρίζες που έχουν δημιουργηθεί στο αρχικό στάδιο αντιδρούν με οξυγόνο δημιουργώντας νέες διαφορετικές ελεύθερες ρίζες. Οι αντιδράσεις των ελεύθερων ριζών χαρακτηρίζονται αλυσιδωτές δημιουργώντας συνεχώς νέες ελεύθερες ρίζες.



3) Τερματισμός. Η αλυσιδωτή αντίδραση σταματά όταν όλες οι ελεύθερες ρίζες αντιδράσουν προς αδρανή προϊόντα, προϊόντα τα οποία δεν παράγουν πλέον νέες ελεύθερες ρίζες[83].

5.4. ΤΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Στα αντιοξειδωτικά του ελαιολάδου συγκαταλέγονται η βιταμίνη Ε (τοκοφερόλες), τα καροτενοειδή και τα φαινολικά συστατικά[86].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΟΙ ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ**6.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Τα τελευταία χρόνια τέθηκε ως στόχος η επίτευξη της δημόσιας υγείας με αποτέλεσμα να αυξηθεί το ενδιαφέρον του κοινού για τα συστατικά της τροφής που μπορούν να συμβάλλουν προς την κατεύθυνση αυτή, αλλά και για τα συστατικά που θεωρούνται επιβλαβή. Το ενδιαφέρον τους αυξήθηκε, πρωτίστως, για τα λίπη και τα έλαια εξαιτίας των προβλημάτων που προκαλούν, κυρίως παχυσαρκία στις δυτικού τύπου κοινωνίες. Από τις πρώτες κατευθυντήριες οδηγίες που δόθηκαν ήταν η αντικατάσταση μέρους των κορεσμένων λιπαρών οξέων με πολυακόρεστα και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα[87].

Το ελαιόλαδο είναι μια πλούσια πηγή μονοακόρεστων λιπαρών οξέων. Στις Μεσογειακές περιοχές όπου αποτελεί την κύρια πηγή λίπους της διατροφής, τα ποσοστά χρόνιων νοσημάτων είναι μειωμένα[87]. Όπως προαναφέρθηκε και στην παράγραφο 1.2, παραδοσιακά, το ελαιόλαδο χρησιμοποιούνταν για την αντιμετώπιση των κολικών, της αλωπécιας, της παράλυσης, των ρευματοειδών πόνων, της ισχιαλγίας και της υπέρτασης[1].

Το ελαιόλαδο είναι γνωστό σήμερα ότι προστατεύει ενάντια σε χρόνια νοσήματα. Πιο συγκεκριμένα, βελτιώνει τους παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα, όπως τα λιπίδια του αίματος, την αρτηριακή πίεση, το μεταβολισμό της γλυκόζης και την αθηρωμάτωση. Παράλληλα, βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία, ενώ εμφανίζει αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητες[88].

Τα ευεργετικά οφέλη του ελαιολάδου για την υγεία, ως προϊόν στο σύνολό του, θα αναλυθούν στο κεφάλαιο αυτό, ενώ τα ευεργετικά οφέλη των μικροσυστατικών του, συγκεκριμένα των φαινολικών συστατικών του, θα αναλυθούν στο κεφάλαιο 7.

6.2. ΚΑΡΔΙΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ-ΑΝΤΙΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Πολλές υποθέσεις έχουν διατυπωθεί κατά καιρούς σχετικά με την ανάπτυξη της καρδιαγγειακής νόσου με την υπόθεση που περιγράφει τα λιπίδια ως υπεύθυνα για τα καρδιαγγειακά νοσήματα μέσω του σχηματισμού της αθηρωματικής πλάκας να κεντρίζει το περισσότερο ενδιαφέρον[89]. Πολλές μελέτες έχουν αποδείξει ότι το ελαιόλαδο, που αποτελεί τη βάση της Μεσογειακής Διατροφής, εμφανίζει προστατευτική δράση ενάντια στη καρδιαγγειακή νόσο με διάφορους τρόπους, για τους οποίους θα γίνει λόγος στη συγκεκριμένη παράγραφο (ή παρακάτω).

Αρκετές μελέτες ασθενών-μαρτύρων έχουν δείξει ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση του ελαιολάδου και την εμφάνιση εμφράγματος του μυοκαρδίου. Σε μια μελέτη στον ελληνικό πληθυσμό (1048 ασθενείς και 748 μάρτυρες), η αποκλειστική κατανάλωση ελαιολάδου συσχετίστηκε με 47% χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης οξέος στεφανιαίου συνδρόμου. Παράλληλα, σε άτομα σε υψηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο, παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση ελαιολάδου και την αύξηση του πάχους των καρωτίδων (παράγοντας κινδύνου για καρωτιδική αθηροσκλήρωση). Μια κλινική μελέτη σε ασυμπτωματικούς ασθενείς σε υψηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο έδειξε τα ίδια αποτελέσματα, καθώς σ' εκείνους με πάχος καρωτίδων πάνω από 0,9mm η κατανάλωση ελαιολάδου για έναν χρόνο οδήγησε σε σημαντική μείωση του πάχους των καρωτίδων[73]. Παρ' όλα αυτά, δεν υπάρχουν δοκιμές πρωτογενούς πρόληψης που να αξιολογούν τη συσχέτιση ανάμεσα στην υιοθέτηση της πλούσιας σε ελαιόλαδο Μεσογειακής Διατροφής με την συχνότητα εμφάνισης του πρώτου συμβάντος ισχαιμικής καρδιοπάθειας. Στο πλαίσιο αυτό αξίζει να αναφερθεί η νοσοκομειακή μελέτη ασθενών-μαρτύρων (171 ασθενείς με πρώτο έμφραγμα του μυοκαρδίου και 171 υγιείς) του πανεπιστημίου της Ναβάρα που οργανώθηκε με σκοπό να αξιολογηθεί ο ρόλος του ελαιολάδου στην πρωτογενή πρόληψη της στεφανιαίας νόσου και στην πιθανή μείωση του κινδύνου εμφάνισης του πρώτου οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου. Η μελέτη έδειξε, παρά τους περιορισμούς των μελετών ασθενών-μαρτύρων, ότι το ελαιόλαδο μπορεί να μειώσει ουσιαστικά τον κίνδυνο στεφανιαίας νόσου. Προς αυτήν την κατεύθυνση υπάρχει ακόμη μια σημαντική προοπτική μελέτη στην οποία βρέθηκε ότι η πλούσια σε ελαιόλαδο Μεσογειακή Διατροφή εμφανίζει προστατευτική δράση ενάντια στη θνησιμότητα από ισχαιμική καρδιοπάθεια (ως έκβαση λήφθηκαν υπ' όψιν τα θανατηφόρα περιστατικά από στεφανιαία επεισόδια)[90]. Επιπλέον, αρκετές επιδημιολογικές μελέτες, με πρώτη τη μελέτη των Επτά Χωρών, έχουν δείξει ότι η Μεσογειακή Διατροφή προστατεύει από την ανάπτυξη της στεφανιαίας νόσου και αυτό φαίνεται να αποδίδεται στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες του ελαιολάδου[1, 90], οι οποίες θα αναλυθούν στην παράγραφο 6.3. Παρ' όλα αυτά, σε έναν μικρό αριθμό ασθενών με αγγειογραφικά τεκμηριωμένη στεφανιαία νόσο και φυσιολογικά επίπεδα λιπιδίων αίματος, η κλινική δοκιμή που πραγματοποιήθηκε με χρήση 6g ιχθυελαίου ή κάψουλων ελαιολάδου για 28 μήνες δεν έδειξε βελτίωση της νόσου[73]. Επίσης, σε μια ελληνική μελέτη ασθενών-μαρτύρων δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση ελαιολάδου και στον κίνδυνο στεφανιαίας νόσου, ενώ δύο ακόμη ιταλικές μελέτες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχει

συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση ελαιολάδου και στο μη-θανατηφόρο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου[90].

Από μελέτες σε διάφορα ζωικά πρότυπα έχουν επιβεβαιωθεί επίσης οι αντιαθηρωματικές ιδιότητες του ελαιολάδου. Σε μια μελέτη με αρσενικούς αρουραίους τύπου Wistar, η χορήγηση 10%w/v ελαιολάδου μείωσε τις αθηρωματικές βλάβες στην αορτή σε αντίθεση με το ηλιέλαιο και το ιχθυέλαιο. Παράλληλα, σε μια δεύτερη μελέτη με υπερτασικούς αρουραίους τύπου Wistar-Kyoto φάνηκε ότι μόνο η χρόνια χορήγηση ελαιολάδου μπόρεσε να τροποποιήσει την αγγειακή απόκριση της αορτής σε σύγκριση με το ηλιέλαιο υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ[73].

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η υπόθεση των λιπιδίων εξηγεί τη διαδικασία ανάπτυξης των καρδιαγγειακών νοσημάτων, ενώ παράλληλα η δυσλιπιδαιμία αποτελεί παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα. Γι' αυτούς του λόγους, στο σημείο αυτό κρίνεται σημαντικό να γίνει αναφορά στην επίδραση του ελαιολάδου στα επίπεδα των λιπιδίων του αίματος.

Αν και η διαιτητική χοληστερόλη και τα κορεσμένα λιπαρά οξέα αποτελούν τα συστατικά που καθορίζουν πρωταρχικά τα επίπεδα της χοληστερόλης του ορού, ο ρόλος του διαιτητικού λίπους στην διαδικασία της αθηρογένεσης παραμένει αμφιλεγόμενος και συγκεχυμένος. Ως κατευθυντήρια οδηγία δίδεται η αντικατάσταση των κορεσμένων λιπαρών οξέων και γι' αυτό, συχνά στη βιβλιογραφία τίθεται το ερώτημα αν πρέπει να γίνεται αυτή η αντικατάσταση[89]. Οι μελέτες του Keys et al. και του Hegsted et al. έχουν δείξει ότι τα κορεσμένα λιπαρά οξέα αυξάνουν την ολική και την LDL χοληστερόλη, τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFAs) έχουν ουδέτερη δράση όταν υποκαθιστούν υδατάνθρακες και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) μειώνουν την ολική και την LDL χοληστερόλη. Αρκετές επιδημιολογικές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει αυτά τα ευρήματα τονίζοντας ότι η αυξημένη πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων συσχετίζεται θετικά με τον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Επιπρόσθετα, έχουν δείξει ότι τα PUFAs μειώνουν σε μεγάλο βαθμό τον κίνδυνο αυτό σε αντίθεση με τα MUFAs, τα οποία μειώνουν τον κίνδυνο σε πολύ μικρότερο βαθμό[91]. Ωστόσο, στη μετα-ανάλυση 14 μελετών του Gardner (1983-1994) φάνηκε ότι η αντικατάσταση των κορεσμένων λιπαρών οξέων με έλαια πλούσια σε MUFAs και PUFAs επέφερε παρόμοια αποτελέσματα, δηλαδή μείωση στην ολική, στην LDL και στην HDL χοληστερόλη[12].

Γίνεται φανερό ότι παρά τον όγκο των δεδομένων που υπάρχουν στη βιβλιογραφία, τόσο η επίδραση των MUFAs στα λιπίδια του αίματος όσο και ο βέλτιστος τρόπος αντικατάστασης των κορεσμένων λιπαρών οξέων δεν έχει ακόμη ξεκαθαριστεί στο μέγιστο βαθμό. Το 1985, οι Mattson και Grundy επιβεβαίωσαν για πρώτη φορά ότι τα MUFAs είναι εξίσου αποτελεσματικά με τα PUFAs στο να μειώνουν την LDL χοληστερόλη, παρατήρησαν όμως, ότι σε αντίθεση με τα MUFAs, τα PUFAs μείωναν και την HDL χοληστερόλη[92]. Σε μια μετα-ανάλυση της Conas το 2009, τονίστηκε επίσης ότι το ελαιόλαδο δεν έχει μόνο την ικανότητα να μειώνει την ολική και την LDL χοληστερόλη αλλά και να αυξάνει την HDL χοληστερόλη. Αρκετές μελέτες έχουν παράλληλα επιβεβαιώσει ότι το ελαιόλαδο αυξάνει την HDL χοληστερόλη σε πρωτόκολλα στα οποία συνέκριναν την επίδραση των MUFAs και των PUFAs στα λιπίδια του αίματος και στα οποία, ενώ τα MUFAs μείωναν λιγότερο την LDL χοληστερόλη σε σύγκριση με τα PUFAs, εμφάνιζαν εντούτοις μια ισχυρότερη θετική επίδραση στην HDL χοληστερόλη[93].

Στη μελέτη EUROLIVE, μια τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη κλινική δοκιμή (διάρκειας 3 εβδομάδων-χορήγηση 3 ελαιολάδων με διαφορετικό πολυφαινολικό περιεχόμενο διαδοχικά/εβδομάδα) στην οποία συμμετείχαν 200 άνδρες Ευρωπαίοι, φάνηκε ότι μια δόση 25ml ελαιολάδου/ημέρα μπορεί να αλλάξει τη σύσταση των LDL σωματιδίων σε λιπαρά οξέα αυξάνοντας την περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ καθώς και τα ποσοστά MUFA/PUFA και ελαϊκό οξύ/λινελαϊκό οξύ. Επίσης, φάνηκε ότι αυτή η ημερήσια δόση αυξάνει την HDL χοληστερόλη, ενώ παράλληλα μειώνει τα ποσοστά της ολικής/HDL χοληστερόλης και της LDL/HDL χοληστερόλης. Στη μελέτη «Framingham Offspring» παρατηρήθηκε ότι τα ποσοστά αυτά αποτελούν λιπιδαιμικές παραμέτρους για την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου. Μπορεί, λοιπόν, να διατυπωθεί μέσω της μελέτης «EUROLIVE» ότι η κατανάλωση 25ml ελαιολάδου πλούσιο σε MUFAs/ημέρα μειώνει σημαντικά τον καρδιαγγειακό κίνδυνο[94].

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω, οι περισσότερες μελέτες έχουν επιβεβαιώσει ότι το ελαιόλαδο που είναι πλούσιο σε MUFAs αυξάνει την HDL χοληστερόλη σε σύγκριση με τα PUFAs, τα οποία την μειώνουν, ενώ κάποιες όπως η μετα-ανάλυση των Mensink και Katar τόνισαν ότι η επίδραση των δυο τύπων ελαίων στα επίπεδα της HDL χοληστερόλης ήταν παρόμοια[92]. Παράλληλα, συγκεχυμένη κρίνεται η επίδραση του ελαιολάδου στην ολική και LDL χοληστερόλη. Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, σε αρκετές μελέτες φαίνεται ότι τα MUFAs είναι εξίσου αποτελεσματικά με τα PUFAs, ενώ σε άλλες όπως στην μετα-ανάλυση του Mensink (1989) φαίνεται ότι το λινελαϊκό οξύ είναι πιο αποτελεσματικό από το ελαϊκό οξύ στη μείωση της LDL χοληστερόλης[95]. Τα ευεργετικά οφέλη, όμως, των

MUFAs στα λιπίδια του αίματος έχουν επιβεβαιωθεί από πολλές μελέτες μεταξύ των οποίων και η κλινική μελέτη του Fito, με υγιείς εθελοντές, ο οποίος έδειξε ότι τα MUFAs του ελαιολάδου οδηγούν σε μείωση της LDL χοληστερόλης[96].

Σε μια άλλη μελέτη, συγκρίθηκε μια δίαιτα υψηλή σε λίπος (40% της συνολικής προσλαμβανόμενης ενέργειας), πλούσια σε MUFAs αλλά φτωχή σε κορεσμένα λιπαρά οξέα, με μια δίαιτα φτωχή σε λίπος αλλά πλούσια σε υδατάνθρακες. Οι δυο δίαιτες μείωσαν εξίσου τη χοληστερόλη, μόνο η πρώτη όμως δε μείωσε την HDL χοληστερόλη και δεν αύξησε τα τριγλυκερίδια. Τόσο το είδος του λίπους όσο και οι ποσότητες επηρεάζουν τελικά τη μεταγευματική λιπαιμία και υπεργλυκαιμία που αποτελούν παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακό νόσημα. Η κατανάλωση 25ml ελαιολάδου την ημέρα, όπως δείχθηκε και στη μελέτη «EUROLIVE», είναι μια ιδανική ποσότητα που δεν προάγει την μεταγευματική λιπαιμία, αντίθετα δόσεις 40-50ml ελαιολάδου αυξάνουν τη μεταγευματική λιπαιμία[93].

6.3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Η οξείδωση της LDL χοληστερόλης είναι η κύρια διαδικασία για την ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης, την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων και γενικότερα χρόνιων νοσημάτων. Τελευταία, μάλιστα, έχει επικρατήσει η άποψη ότι η οξειδωμένη LDL χοληστερόλη είναι περισσότερο καταστροφική για τις αρτηρίες σε σύγκριση με την LDL χοληστερόλη. Μέσα από μελέτες έχει βρεθεί ότι ο τύπος του ελαίου που καταναλώνεται μπορεί να τροποποιήσει την ευαισθησία της LDL χοληστερόλης στην οξείδωση με αποτέλεσμα να αποτελεί βασικό συντελεστή στη διαδικασία της οξείδωσης[97]. Παραδοσιακά, οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του ελαιολάδου αποδίδονταν στην υψηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ, καθώς εμπλουτίζονται μ' αυτό οι λιποπρωτεΐνες και οι κυτταρικές μεμβράνες με αποτέλεσμα να προστατεύονται από την οξείδωση. Το ελαιόλαδο περιέχει όμως και αρκετά μικροσυστατικά με αντιοξειδωτικές ιδιότητες, κυρίως πολυφαινόλες[54], που θα αναλυθούν στα επόμενα δύο κεφάλαια.

Αρχικά, στη διασταυρούμενη τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή («μελέτη της Ιερουσαλήμ»), στην οποία συμμετείχαν 26 υγιείς μαθητές, οι οποίοι μοιράστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες (δίαιτα υψηλή σε MUFAs-δίαιτα υψηλή σε PUFAs, εναλλαγή ομάδων στις 12 εβδομάδες για άλλες 12), βρέθηκε ότι η τάση για υπεροξείδωση των λιποειδών ήταν μεγαλύτερη στη δίαιτα πλούσια σε PUFAs, ενώ στη δίαιτα πλούσια σε MUFAs η ευαισθησία της LDL στην οξείδωση ήταν μικρότερη[98]. Πρέπει να σημειωθεί ότι έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες οι οποίες επιβεβαιώνουν ότι η

πλούσια σε ελαϊκό οξύ LDL χοληστερόλη (προκύπτει από δίαιτα υψηλή σε MUFAs) είναι λιγότερο ευαίσθητη στην οξειδωση σε σύγκριση με την πλούσια σε λινελαϊκό οξύ LDL χοληστερόλη (προκύπτει από δίαιτα πλούσια σε PUFA). Παράλληλα, συγκριτικά με δίαιτες πλούσιες σε υδατάνθρακες, οι δίαιτες που είναι πλούσιες σε MUFAs εμφάνιζαν συγκρίσιμα ή περισσότερο προστατευτικά αποτελέσματα όσον αφορά στην οξειδωση της LDL χοληστερόλης[93]. Εκτός αυτού, ένας επιπλέον παράγοντας που επηρεάζει την οξειδωση της LDL χοληστερόλης είναι το μέγεθος των LDL μορίων. Τα μικρά και πυκνά μόρια LDL είναι περισσότερο επιρρεπή στην οξειδωση και εισέρχονται ευκολότερα στην αρτηρία σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα μόρια LDL, ενώ το μέγεθος επηρεάζεται από τη διαιτητική πρόσληψη λίπους. Δίαιτες χαμηλές σε λίπος οδηγούν σε μείωση του μέσου μεγέθους των LDL μορίων, σε αντίθεση με δίαιτες υψηλές σε λίπος που οδηγούν σε αύξηση αυτού. Παράλληλα, από μελέτες έχει φανεί ότι δίαιτες πλούσιες σε ελαιόλαδο αυξάνουν το μέγεθος των LDL μορίων, ενώ δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες και PUFA το μειώνουν[97].

Ακόμη, αρκετές μελέτες σε ζωικά πρότυπα-αρουραίους έχουν επιβεβαιώσει τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες του ελαιολάδου. Σε μια μελέτη με αρσενικούς Sprague-Dawley αρουραίους, φάνηκε ότι το ελαιόλαδο εμφανίζει ισχυρότερες αντιοξειδωτικές ιδιότητες σε σύγκριση με το ιχθυέλαιο και το αραβοσιτέλαιο. Συγκεκριμένα, στις ομάδες ιχθυελαίου και αραβοσιτελαίου παρατηρήθηκε αύξηση στην παραγωγή NO (προοξειδωτικό ή/και αντιοξειδωτικό) και O_2^- από τα μακροφάγα προκαλούμενη από την 12-μυριστική-13-οξική φορφόλη (PMA- ενεργοποιητής του NF-κΒ, παράγοντας όγκων σε ποντίκια), ενώ στην ομάδα του ελαιολάδου παρατηρήθηκε μόνο αύξηση στην παραγωγή NO[99]. Παράλληλα μια ακόμη μελέτη σε αρουραίους τύπου Wistar, επιβεβαίωσε την αντιοξειδωτική δράση του ελαιολάδου. Στη μελέτη αυτή επιχειρήθηκαν να ελεγχθούν τα ευεργετικά οφέλη του ελαιολάδου κατά της οξειδωτικής βλάβης του ήπατος που προκλήθηκε με το 2,4-δichλωροφαινοξοξικό οξύ. Μέσα από την πειραματική δοκιμή φάνηκε ότι το ελαιόλαδο και τα εκχυλίσματα του προστατεύουν τον ηπατικό ιστό από την οξειδωση, ενώ παράλληλα διατηρούν σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις τα ένζυμα-δείκτες του ορού και τις δραστηριότητες των αντιοξειδωτικών ενζύμων του ήπατος[100]. Τέλος, σε μια ακόμη μελέτη με αρουραίους τύπου Wistar που ακολούθησαν αθηρογόνο δίαιτα (1% χοληστερόλη), διερευνήθηκαν οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του ελαιολάδου. Μέσα από τη μελέτη φάνηκε ότι το παρθένο ελαιόλαδο, και σε μικρότερο βαθμό το ελαιόλαδο λαμπάντε, επηρέασε θετικά το μεταβολισμό των

λιπιδίων και την αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος, αποτέλεσμα το οποίο ήταν περισσότερο εμφανές στις ομάδες που τρέφονταν με χοληστερόλη[101].

6.4. ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ

Η φλεγμονή είναι μια διαδικασία συνυφασμένη με την οξειδωση. Συγκεκριμένα, οι ελεύθερες ρίζες, εκτός του ότι προδιαθέτουν σε οξειδωτική βλάβη, ενεργοποιούν επίσης προ- και αντιοξειδωτικές κυτοκίνες[93]. Ενώ παράλληλα, η φλεγμονώδης απάντηση θεωρείται τμήμα στην ανάπτυξη και εξέλιξη της διαδικασίας της αθηροσκλήρωσης[87]. Δεδομένα από διάφορες μελέτες επιβεβαιώνουν ότι τόσο τα μακροσυστατικά όσο και τα μικροσυστατικά του ελαιολάδου εμφανίζουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και ενισχύουν τη λειτουργία του ενδοθηλίου. Σε υγιείς εθελοντές, η επαγόμενη από την LDL προσκόλληση των μονοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ένα από τα πρώτα στάδια δημιουργίας της αθηρωματικής πλάκας, ήταν χαμηλότερη μετά την κατανάλωση MUFAs, σε σύγκριση με την κατανάλωση κορεσμένων και PUFAs[93]. Επιπλέον, σε ανθρώπους, η πλούσια σε ελαϊκό οξύ LDL μείωσε τη χημειοταξία των μονοκυττάρων (52%) και την προσκόλληση των μονοκυττάρων (77%) μετά από έκθεση σε οξειδωτικό στρες, σε σύγκριση με την πλούσια σε λινελαϊκό οξύ LDL. Παράλληλα, σε μια κλινική δοκιμή 2 μηνών, παρατηρήθηκε ότι σε υγιείς εθελοντές μειώθηκε η έκφραση του ICAM-1 από τα περιφερικά μονοπύρρηνα κύτταρα του αίματος μετά την κατανάλωση δίαιτας υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ. Επίσης, σε μια προοπτική μελέτη του Esposito που διήρκεσε 2 χρόνια, φάνηκε ότι η παρέμβαση με μια Μεσογειακού τύπου Διατροφή δεν βελτίωσε μόνο το λιπιδαιμικό προφίλ αλλά βελτίωσε επιπλέον την ενδοθηλιακή λειτουργία και τα επίπεδα των αγγειακών αντιοξειδωτικών δεικτών[12]. Γενικά, αντιφλεγμονώδεις παράγοντες όπως η C αντιδρώσα πρωτεΐνη και η IL-6 και κυτταρικά μόρια προσκόλλησης όπως ο ICAM-1, έχει παρατηρηθεί ότι μειώνονται τόσο μετά από μικρής διάρκειας (3 μήνες) όσο και μετά από μακροπρόθεσμη (2 χρόνια) υιοθέτηση δίαιτας υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ, όπως η Μεσογειακή Διατροφή[93].

Πέρα από τις κλινικές δοκιμές και τις παρεμβάσεις σε ανθρώπους, αρκετές μελέτες σε ζωικά πρότυπα και σε κυτταρικές σειρές έχουν επιβεβαιώσει τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες του ελαιολάδου. Από μελέτες έχει φανεί ότι δίαιτες υψηλές σε MUFAs επηρεάζουν την αμυντική ικανότητα των ζωικών προτύπων καταστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό των λευκοκυττάρων[87], τη δραστηριότητα των φυσικών φονικών κυττάρων και την έκφραση των υποδοχέων της ιντερλευκίνης 2 (IL-2) και της τρανσφερίνης[12]. Επιπλέον, μελέτες σε ζωικά πρότυπα, έχουν δείξει ότι μια δίαιτα πλούσια σε ελαιολάδο μπορεί να μειώσει την έκφραση

υποδοχέων-καθαριστών για τα μακροφάγα μειώνοντας κατ' επέκταση το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων[87]. Εκτός αυτών, όσον αφορά στις κυτταρικές σειρές, σε καλλιεργημένα ενδοθηλιακά κυτταρικά πρότυπα, το ελαϊκό οξύ έχει φανεί ότι αναστέλλει την έκφραση των επιπέδων του VCAM-1 στο mRNA, την προσκόλληση των μονοκυττάρων και έναν βασικό παράγοντα μεταγραφής, τον πυρηνικό παράγοντα κB (NF-κB)[12]. Τέλος, μελέτες σε ανθρώπινα, ενδοθηλιακά κύτταρα ομφαλικής φλέβας έχουν δείξει ότι το ελαϊκό οξύ καταστέλλει την έκφραση των μορίων προσκόλλησης[87].

Οι ευεργετικές ιδιότητες του ελαιολάδου έχουν επιβεβαιωθεί και σε φλεγμονώδεις νόσους όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα[87]. Η ρευματοειδής αρθρίτιδα είναι ένα νόσημα που χαρακτηρίζεται από χρόνια φλεγμονή των αρθρώσεων, στο οποίο το αρχικό αυτοάνοσο ερέθισμα οφείλεται σε διάφορους μηχανισμούς, στους οποίους περιλαμβάνονται και οι δραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS). Οι ROS καταστρέφουν το υαλουρονικό οξύ και αποδομούν το κολλαγόνο, τις πρωτεογλυκάνες και οξειδώνουν τα λιπαρά οξέα των μεμβρανών. Στο αρθρικό υγρό συγκεντρώνονται μακροφάγα, ουδετερόφιλα και ένζυμα που παράγουν ελεύθερες ρίζες με αποτέλεσμα να αυξάνονται τα επίπεδα των ROS και να αυξάνεται ή να επιτείνεται η φλεγμονή. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του ελαιολάδου έχουν φανεί να μειώνουν την φλεγμονή αυτή[1].

6.5. ΑΝΤΙΥΠΕΡΤΑΣΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Μέσα από μελέτες έχει φανεί ότι σε περιοχές όπου ο πληθυσμός έχει υιοθετήσει τη Μεσογειακή Διατροφή, τα ποσοστά υπέρτασης είναι μειωμένα. Έχει σημειωθεί, μάλιστα, ότι η προσκόλληση στη Μεσογειακή Διατροφή συσχετίζεται αρνητικά με τη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση. Παράλληλα, διάφορες επιδημιολογικές μελέτες επιβεβαιώνουν τα ευεργετικά οφέλη του ελαιολάδου στην αρτηριακή πίεση. Τα αντιϋπερτασικά οφέλη του ελαιολάδου έχουν επιβεβαιωθεί από μελέτες σε 3 Μεσογειακές χώρες (Ελλάδα, Ισπανία, Ιταλία), όπου η κατανάλωση MUFAs ή ελαιολάδου εμφάνιζε θετικά αποτελέσματα στην αρτηριακή πίεση, εν αντιθέσει με μελέτες σε άλλες μη Μεσογειακές χώρες, όπου τα αποτελέσματα ήταν μηδαμινά ή αρνητικά[94]. Επιπλέον, σε μια Ισπανική μελέτη, που πραγματοποιήθηκε σε υπερτασικές γυναίκες, συγκρίθηκαν τα οφέλη του ελαιολάδου με τα οφέλη του ηλιελαίου υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ (ίδια περιεκτικότητα σε MUFAs), το καθένα χορηγούμενο για 4 εβδομάδες. Με το πέρας των 4 εβδομάδων, παρατηρήθηκε ότι η διατροφή με ελαιόλαδο είχε μειώσει τόσο τη συστολική όσο και τη διαστολική αρτηριακή πίεση κατά 8mm Hg, ενώ η κατανάλωση του ηλιελαίου δεν

τις επηρεάσει σημαντικά[102]. Παράλληλα, τα αντιϋπερτασικά οφέλη του ελαιολάδου επιβεβαιώθηκαν από μία ακόμη διπλά τυφλή, τυχαιοποιημένη, διασταυρούμενη κλινική δοκιμή του Ferrara et al. Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 23 εθελοντές (10 άνδρες και 13 γυναίκες) με ήπια έως μέτρια υπέρταση, οι 11 απ' αυτούς ακολούθησαν μια διατροφή πλούσια σε MUFAs (ελαιόλαδο) και οι υπόλοιποι 12 μια διατροφή πλούσια σε PUFAs (ηλιέλαιο) για 6 μήνες και στη συνέχεια άλλαξαν ομάδες για τους υπόλοιπους 6 μήνες. Στη διάρκεια του πρώτου έτους η παρακολούθηση γινόταν κάθε 2 μήνες. Η μελέτη έδειξε ότι η ημερήσια δόση του αντιϋπερτασικού φαρμάκου είχε μειωθεί κατά 48% με τη δίαιτα πλούσια σε MUFAs και μόλις 4% με τη δίαιτα πλούσια σε PUFAs. Παράλληλα, 8 από τους εθελοντές που ακολούθησαν τη διατροφή πλούσια σε MUFAs ρύθμισαν την αρτηριακή τους πίεση χωρίς φάρμακο[103].

Αρκετές μελέτες σε ζωικά πρότυπα έχουν επίσης επιβεβαιώσει τα αντιϋπερτασικά οφέλη του ελαιολάδου. Σε μια παλιά μελέτη του Blankenship φάνηκε ότι οι αρουραίοι που κατανάλωναν μια δίαιτα πλούσια σε ελαιόλαδο παρήγαγαν μεγαλύτερες ποσότητες προστακυκλίνης, ουσία η οποία δρα ως αγγειοδιασταλτικό και μειώνει την αρτηριακή πίεση, από την αορτή[104]. Σε μια άλλη μελέτη του Giliani et al. φάνηκε ότι η ενδοφλέβια χορήγηση εκχυλίσματος ελαιολάδου μείωσε τη συστολική, τη διαστολική και τη μέση αρτηριακή πίεση σε νορμοτασικούς αρουραίους[1]. Επιπλέον, μια μελέτη σε αυθόρμητα υπερτασικούς αρουραίους τύπου Wistar-Kyoto, φάνηκε ότι η κατανάλωση ελαιολάδου οδήγησε σε αυξημένη χαλάρωση ως απόκριση στην ακετυλοχολίνη, γεγονός το οποίο δείχνει ότι το ελαιόλαδο μπορεί να μετριάσει την αγγειακή απόκριση της αορτής του αρουραίου[102].

6.6. ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Τα δεδομένα από διάφορες μελέτες υποστηρίζουν ότι η κατανάλωση ελαιολάδου προστατεύει ενάντια στον καρκίνο, αλλά δεν είναι ξεκάθαρο ποια συστατικά ευθύνονται γι' αυτό. Παλαιότερα, το σημαντικότερο συστατικό θεωρούταν το ελαϊκό οξύ. Νεότερα δεδομένα αποδίδουν στα φαινολικά συστατικά και στο σκουαλένιο χημειοπροστατευτικές ιδιότητες[88]. Στο διεθνές συνέδριο για τις ευεργετικές ιδιότητες του ελαιολάδου στην υγεία που διεξήχθη στην Ισπανία το 2004, δόθηκε έμφαση στη σχέση του ελαιολάδου με τον καρκίνο. Συγκεκριμένα, αναφέρθηκε ότι το 80% των καρκίνων συσχετίζονται με τον τρόπο ζωής, ενώ η διατροφή και ιδιαίτερα τα λιπαρά οξέα είναι οι βασικοί αιτιολογικοί παράγοντες. Αρκετές επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι σε Μεσογειακές χώρες (Ισπανία,

Ελλάδα, Ιταλία) όπου το ελαιόλαδο είναι η κύρια πηγή λίπους της διατροφής, τα ποσοστά καρκίνων, ιδιαίτερα του μαστού, του παχέος εντέρου και του δέρματος, είναι μειωμένα, ενώ πειραματικές μελέτες σε ζώα έχουν δείξει παρόμοια αποτελέσματα[88]. Συγκεκριμένα, δίαιτες πλούσιες σε ελαιόλαδο παρουσίασαν αντικαρκινική δράση σε αρουραίους, ενώ μια μετα-ανάλυση 97 μελετών σε τρωκτικά έδειξε ότι οι χημειοπροστατευτικές ιδιότητες δεν οφείλονται αποκλειστικά στα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, αλλά και σε κάποια μικροσυστατικά του ελαιολάδου[102]. Το ελαιόλαδο περιέχει αρκετά αντιοξειδωτικά και επομένως πιθανοί μηχανισμοί με τους οποίους προστατεύει από τον καρκίνο είναι η προστασία του DNA από οξείδωση ή θραύση του κλώνου[88]. Στο διεθνές συνέδριο που πραγματοποιήθηκε ξανά το 2008 στην Ισπανία δόθηκε έμφαση στο γεγονός ότι αρκετές προοπτικές αλλά και μελέτες ασθενών-μαρτύρων έδειξαν ότι η κατανάλωση ελαιικού οξέος και ελαιολάδου συσχετίζονται με μείωση των καρκίνων (κόλον, μαστού και προστάτη). Ενώ, τονίστηκε επιπλέον ότι τα ευεργετικά οφέλη του ελαιολάδου ενάντια στον καρκίνο μεγιστοποιούνται αν η κατανάλωση ξεκινήσει πριν από την εφηβεία και συνεχιστεί καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής[54]. Ακόμη, σε μια συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση 19 μελετών παρατήρησης (13.800 ασθενείς και 23.340 μάρτυρες) βρέθηκε ότι τα άτομα τα οποία δήλωναν υψηλή κατανάλωση ελαιολάδου εμφάνισαν 34% μικρότερο κίνδυνο να νοσήσουν από οποιοδήποτε τύπο καρκίνου, ιδιαίτερα καρκίνο του μαστού και του γαστρεντερικού συστήματος[105].

Σε μελέτη της Trichoroulou et al. εκτιμήθηκε ότι περίπου το 25% των καρκίνων του κόλον, το 15% των καρκίνων του μαστού και το 10% των καρκίνων του προστάτη, του παγκρέατος και του ενδομητρίου θα μπορούσε να προληφθεί στις Δυτικού τύπου κοινωνίες με υιοθέτηση της κρητικής Μεσογειακής Διατροφής[102]. Όσον αφορά στον καρκίνο του μαστού, αρκετές μελέτες επιβεβαιώνουν μια αρνητική συσχέτιση με την κατανάλωση ελαιολάδου. Σε αντίθεση έρχονται τα αποτελέσματα της ανασκόπησης του «World Cancer Research Fund Report», στην οποία δεν επιβεβαιώθηκε καμιά συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση μονοακόρεστων λιπαρών οξέων και την εμφάνιση καρκίνου[87].

Όσον αφορά τον καρκίνο του κόλον, σε μια πληθυσμιακή μελέτη 28 χωρών σε 4 ηπείρους φάνηκε ότι η κατανάλωση ελαιολάδου συσχετίζεται αρνητικά με την εμφάνιση καρκίνου του παχέος εντέρου. Οι 21 από τις 28 χώρες όμως δεν ήταν χώρες που κατανάλωναν ελαιόλαδο, ενώ παράλληλα τα ποσοστά καρκίνων στην Ιταλία και την Ισπανία ήταν τα υψηλότερα της Ευρώπης παρόλο που κατανάλωναν ελαιόλαδο[106]. Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν *in vitro* καθώς και σε εθελοντές

επιβεβαίωσαν την ικανότητα του ελαιόλαδου να μειώνει τον κίνδυνο για την εμφάνιση καρκίνου του παχέος εντέρου[102]. Για παράδειγμα, τα πρωτεϊνούχα τρόφιμα (κρέας, ψάρι, αυγά) όταν τηγανίζονται παράγουν καρκινογόνες ετεροκυκλικές αμίνες (HCA's). Οι HCA's έχει αποδειχθεί ότι επάγουν καρκίνο του μαστού, του παχέος εντέρου και του παγκρέατος σε αρουραίους. Βάση αυτών των στοιχείων, ο Galeone et al. χρησιμοποίησε δεδομένα από μια πολυεθνική μελέτη ασθενών-μαρτύρων και σύγκρινε το ελαιόλαδο με τα άλλα έλαια καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι το τηγανητό ελαιόλαδο προστατεύει ενάντια στον καρκίνο του παχέος εντέρου, όπως συμβαίνει και με το ωμό ελαιόλαδο[1].

6.7. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

Το ελαιόλαδο χαρακτηρίζεται και από αντιμικροβιακές ιδιότητες λόγω των αντιοξειδωτικών και κυρίως των φαινολικών συστατικών που περιέχει. Από μια πρόσφατη μελέτη του Romero βρέθηκε ότι το ελαιόλαδο εμφανίζει αντιβακτηριδιακή δράση ενάντια στο ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού, που αποτελεί κύρια αιτία του γαστρικού έλκους και προδιαθέτει σε καρκίνους του γαστρεντερικού συστήματος. Προτείνεται, όμως, το ελαιόλαδο να χρησιμοποιείται ως προληπτικό και όχι ως μέσο αντιμετώπισης καθώς η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών που απαιτείται ώστε να εξοντωθεί το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού είναι πολύ μεγαλύτερη σε σύγκριση με αυτή των αντιβιοτικών. Επειδή αυτή η μελέτη πραγματοποιήθηκε *in vitro*, απαιτείται η διεξαγωγή κλινικών δοκιμών ώστε να ελεγχθούν αντίστοιχα αποτελέσματα και στον ανθρώπινο οργανισμό[1].

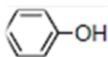
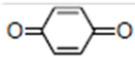
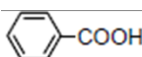
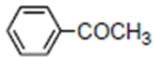
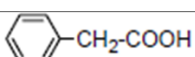
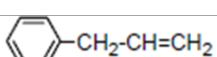
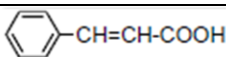
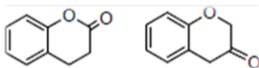
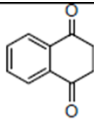
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

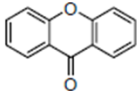
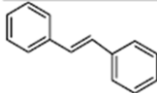
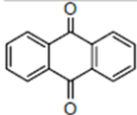
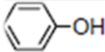
7.1. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Οι φαινολικές ενώσεις ή πολυφαινόλες, όπως αναφέρονται στη βιβλιογραφία χάριν απλούστευσης, συνιστούν μία από τις πιο πολυάριθμες ομάδες φυσικών συστατικών[107]. Αποτελούν δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών και περιλαμβάνουν έναν τουλάχιστον αρωματικό δακτύλιο που φέρει μία ή περισσότερες ομάδες υδροξυλίου[108]. Όπως ανέφερα και παραπάνω ο όρος φαινολικές ενώσεις ταυτίζεται με τον όρο πολυφαινόλες στη βιβλιογραφία και χρησιμοποιείται στην εν λόγω πτυχική για λόγους απλούστευσης. Οι πολυφαινόλες ταξινομούνται ανάλογα με την πηγή προέλευσης, τις βιολογικές λειτουργίες και τη χημική δομή[107].

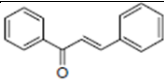
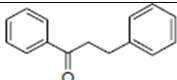
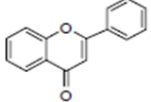
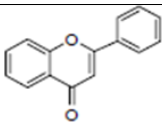
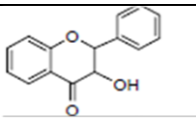
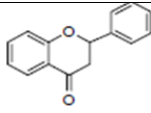
Σύμφωνα με τον Harborne, οι πολυφαινόλες κατατάσσονται ανάλογα με τη βασική χημική τους δομή σε 10 κατηγορίες. Στις απλές φαινόλες (τυροσόλη, υδροxyτυροσόλη), στις βενζοκινόνες, στα φαινολικά οξέα (συριγγικό, γαλλικό, σιναπικό, βανιλλικό-[107]), στις ακετοφαινόλες, στα φαινυλοξικά οξέα, στα υδρόxyκιννωναμικά οξέα, στα φαινυλοπροπανοειδή, στις κουμαρίνες και ισοκουμαρίνες, στις χρωμόνες, στις ναφθοκινόνες, στις ξανθόνες, στα στιλβένια, στις ανθρακινόνες, τα φλαβονοειδή, τις λιγνάνες, τις νεολιγνάνες και τις λιγνίνες. Τα φλαβονοειδή αποτελούν την πιο σημαντική ομάδα των πολυφαινολών, η οποία χωρίζεται περαιτέρω σε 13 υποκατηγορίες με περισσότερα από 5000 μέλη. Σ' αυτές ανήκουν οι χαλκονες, οι διϋδροχαλκόνες, οι χρυσόνες, οι φλαβόνες, οι φλαβονόλες, οι διϋδροφλαβόνες, οι φλαβονόνες, οι φλαβανόλες, οι φλαβονοδιόλες, οι ανθοκυανίδες, τα ισοφλαβονοειδή και προανθοκυανίδες ή συμπυκνωμένες ταννίνες[109].

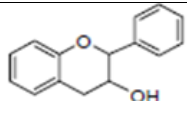
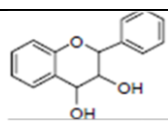
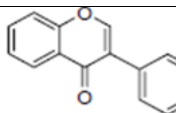
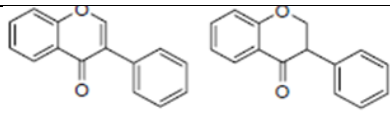
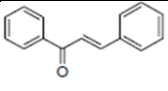
Οι πολυφαινόλες συναντώνται στα τρόφιμα σε ελεύθερη μορφή, αλλά και συζευγμένες με σάκχαρα (κυρίως γλυκόζη), μονοσακχαρίτες, δισακχαρίτες και ολιγοσακχαρίτες. Η βασική δομή των πολυφαινολών μπορεί ακόμη να είναι συνδεδεμένη με άλλα συστατικά, όπως αμίνες, οργανικά οξέα, καρβοξυλικά οξέα και άλλες πολυφαινόλες[110].

Κατηγορία	Βασικός Σκελετός	Βασική Δομή
Απλές φαινόλες	C_6	
Βενζοκινόνες	C_6	
Φαινολικά οξέα	C_6-C_1	
Ακετοφαινόλες	C_6-C_2	
Φαινυλοξικά οξέα	C_6-C_2	
Φαινυλοπροπανοειδή	C_6-C_3	
Υδροξυ(κινναμωμικά) οξέα	C_6-C_3	
Κουμαρίνες, ισοκουμαρίνες	C_6-C_3	
Χρωμόνες	C_6-C_3	
Ναφθοκινόνες	C_6-C_4	

Ξανθόνες	$C_6-C_1-C_6$	
Στιλβένια	$C_6-C_2-C_6$	
Ανθρακινόνες	$C_6-C_2-C_6$	
Φλαβονοειδή	$C_6-C_3-C_6$	Βλέπε πίνακα παρακάτω...
Λιγνάνες, νεολιγνάνες	$(C_6-C_3)_2$	
Λιγνίνες	$(C_6-C_3)_n$	

Πίνακας 7-1. Οι κυριότερες τάξεις φαινολικών ενώσεων, κατά Harborne. [109]

Φλαβονοειδές	Βασική Δομή
Χαλκόνες	
Διϋδροχαλκόνες	
Χρυσόνες	
Φλαβόνες	
Φλαβονόλες	
Διϋδροφλαβονόλες	
Φλαβανόνες	

Φλαβανόλες	
Φλαβανοδιόλες	
Ανθοκυανιδίνες	
Ισοφλαβονοειδή	
Διφλαβονοειδή, προανθοκυανιδίνες ή συμπυκνωμένες ταννίνες	

Πίνακας 7-2. Κατάταξη φλαβονοειδών. [109]

7.2. ΠΗΓΕΣ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ

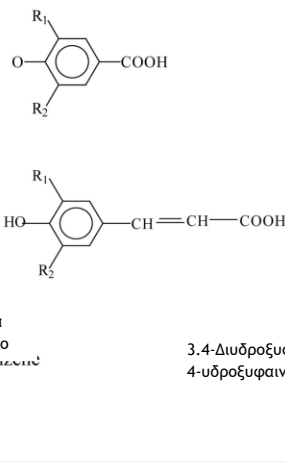
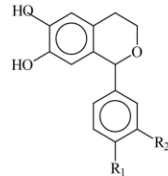
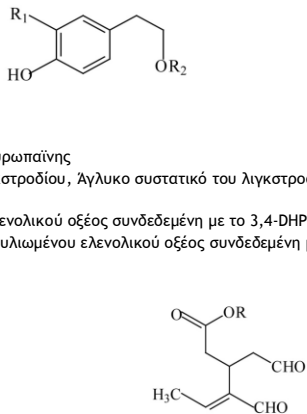
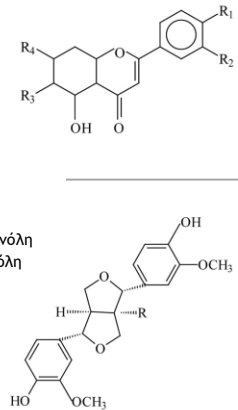
Οι πολυφαινόλες βρίσκονται σε όλα τα φυτικά τρόφιμα, τα επίπεδα τους όμως στη καθημερινή διατροφή ποικίλλουν ανάλογα με το είδος και την ποσότητα των φυτικών τροφίμων που καταναλώνονται[111]. Πλούσιες πηγές πολυφαινολών αποτελούν τα φρούτα, τα λαχανικά, τα προϊόντα ολικής άλεσης, τα δημητριακά, τα όσπρια και οι ξηροί καρποί[107]. Οι πολυφαινόλες περιέχονται ακόμη σε ποτά και ροφήματα, όπως το κόκκινο κρασί, το τσάι, το ελαιόλαδο καθώς επίσης στο κακάο και τη σοκολάτα. Η περιεκτικότητα βέβαια των τροφίμων σε πολυφαινόλες εξαρτάται από γενετικούς (είδος, ποικιλία) και περιβαλλοντικούς παράγοντες[111].

7.3. ΟΙ ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

7.3.1. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

Οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν το υδατοδιαλυτό κλάσμα των μικροσυστατικών του ελαιολάδου[112]. Οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου αποτελούν ένα ετερογενές μίγμα συστατικών τα οποία διαφέρουν ως προς τις χημικές τους ιδιότητες και τις επιδράσεις τους στην ποιότητα του ελαιολάδου. Στον πίνακα που ακολουθεί φαίνονται οι δομές των κύριων φαινολικών ενώσεων του ελαιολάδου.

ΕΙΚΟΝΑ 7-2: τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου. [11]

Τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου		
Φαινολικά οξέα Παράγωγα Βενζοϊκού οξέος Γαλλικό οξύ Γεντισικό οξύ Βενζοϊκό οξύ Βανιλικό οξύ Πρωτοκατεχικό οξύ p-Υδροξυβενζοϊκό οξύ Συριγγικό οξύ Παράγωγα σινναμικού οξέος Καφεϊκό οξύ p-Κουμαρικό οξύ o-Κουμαρικό οξύ Φερουλικό οξύ Κινναμικό οξύ, Σινναπικό οξύ Άλλα φαινολικά οξέα και παράγωγα 4-(Ακετοξυαιθυλ)-1,2-διϋδροξυβενζόλιο 3,4-Διϋδροξυφαινυλοξικό οξύ 4-υδροξυφαινυλοξικό οξύ		Υδροξυ-ισοχρωμάνια 1-φαινυλ-6,7-διϋδροξυισοχρωμάνιο 1-(3-μεθοξυ-4-ϋδροξυ)φαινυλ-6,7-διϋδροξυισοχρωμάνιο 
Φαινολικές αλκοόλες Τυροσόλη (p-HPEA) Υδροξυτυροσόλη (p-DHPEA) Σεκοϊριδοειδή Ελευρωπαΐνη Διαλδεϋδική μορφή του άγλυκου συστατικού της ελευρωπαΐνης Διαλδεϋδική μορφή του άγλυκου συστατικού του λιγκστροδίου, Άγλυκο συστατικό του λιγκστροδίου Άγλυκο συστατικό της ελευρωπαΐνης (3,4-DHPEA-EA) Διαλδεϋδική μορφή του αποκαρβοξυμεθυλιωμένου ελενολικού οξέος συνδεδεμένη με το 3,4-DHPEA (3,4-DHPEA-EDA), Διαλδεϋδική μορφή του αποκαρβοξυμεθυλιωμένου ελενολικού οξέος συνδεδεμένη με το p-HPEA (p-HPEA-EDA)	 Dialdehydic forms of secoiridoids derivatives	Φλαβονοειδή Φλαβόνες Απιγενίνη Λουτεολίνη Φλαβονόλη (+)-Ταξιφολίνη Λιγνάνες (+)-πευκορητινόλη (+)-1-ακετοξυπευκορητινόλη (+)-1-ϋδροξυπευκορητινόλη 

Ως προς τις βιολογικές τους ιδιότητες, οι πολυφαινόλες κατατάσσονται στις παρακάτω κατηγορίες: τις απλές φαινόλες, τις λιγνάνες, τα φλαβονοειδή και τα σεκοϊριδοειδή[22].

ΠΙΝΑΚΑΣ 7-2.: ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΒΑΣΗ ΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΟΥΣ. [22]

ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ			
Απλές φαινόλες	Λιγνάνες	Φλαβονοειδή	Σεκοϊριδοειδή
Υδροξυτυροσόλη Τυροσόλη Βανιλικό οξύ Βανιλίνη p-Κουμαρικό οξύ Φερουλικό οξύ 4-αιθυλφαινόλη	Πευκορητινόλη 1-Ακετοξυπευκορητινόλη	Απιγενίνη Λουτεολίνη	Διμεθυλοελευρωπαΐνη Ελενολικό οξύ Λιγκστροσίδιο

7.3.2. ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ

Το πολυφαινολικό περιεχόμενο του ελαιολάδου ποικίλλει από 800mg/kg μέχρι 1g/kg, με το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο να περιέχει μεγαλύτερες ποσότητες από το εξευγενισμένο[113].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΤΟΥ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ

8.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η υιοθέτηση της Μεσογειακής Διατροφής σχετίζεται με μειωμένη νοσηρότητα και θνησιμότητα κυρίως από καρδιαγγειακά νοσήματα και διάφορους τύπους καρκίνου. Αυτές οι ευεργετικές ιδιότητες έχουν αποδοθεί στην κατανάλωση ελαιολάδου, το οποίο αποτελεί βασικό στοιχείο αυτού του διατροφικού προτύπου. Ιστορικά, οι ευεργετικές ιδιότητες του ελαιολάδου στην υγεία αποδίδονταν στο υψηλό ποσοστό ΜUFAs που περιέχει και συγκεκριμένα στο ελαϊκό οξύ. Παρ' όλα αυτά όμως, άλλα σπορέλαια πλούσια σε ΜUFAs (ηλιέλαιο, σογιέλαιο, ελαιοκράμβη), δεν είναι αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση χρόνιων νοσημάτων. Η ανωτερότητα του ελαιολάδου έναντι των υπόλοιπων σπορελαίων οφείλεται και στα μικροσυστατικά, κυρίως στα πολυφαινολικά συστατικά, που περιέχει. Μέσα από μελέτες έχει φανεί ότι τα πολυφαινολικά συστατικά του ελαιολάδου εμφανίζουν ευεργετικά αποτελέσματα στην ανάπτυξη χρόνιων νοσημάτων[114].

8.2. ΚΑΡΔΙΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ-ΑΝΤΙΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Όπως προαναφέρθηκε, το ελαιόλαδο εμφανίζει ισχυρή καρδιοπροστατευτική και αντιαθηρωματική δράση. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η δράση αυτή δεν οφείλεται αποκλειστικά στο ελαϊκό οξύ που περιέχει αλλά και στα μικροσυστατικά του, κυρίως στις πολυφαινόλες[115]. Τα λιπίδια του αίματος, όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 4.3, αποτελούν παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη καρδιαγγειακών νοσημάτων. Μέσα από μελέτες έχει φανεί ότι οι πολυφαινόλες επιδρούν θετικά στον παράγοντα αυτόν εκδηλώνοντας καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες. Συγκεκριμένα, οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου έχουν φανεί να τροποποιούν θετικά τα ποσοστά της LDL και της HDL χοληστερόλης. Σε μια ελεγχόμενη κλινική δοκιμή με 200 υγιείς άνδρες εθελοντές, φάνηκε ότι το ποσοστό της ολικής προς την HDL χοληστερόλη μειώνεται γραμμικά σε σχέση με το πολυφαινολικό περιεχόμενο του ελαιολάδου. Επιπλέον, σε 2 κλινικές δοκιμές φάνηκε ότι το πλούσιο σε πολυφαινόλες ελαιόλαδο αυξάνει την HDL χοληστερόλη σε ποσοστό μεταξύ 5.1%-6.7% με δόσοεξαρτώμενο τρόπο[114]. Παράλληλα, μια μελέτη του Gimeno et al με 16 υγιείς εθελοντές, έδειξε ότι η καθημερινή κατανάλωση (για μία εβδομάδα) ελαιολάδου υψηλής περιεκτικότητας σε πολυφαινόλες μειώνει σημαντικά την LDL χοληστερόλη[96]. Αντίθετα, τρεις κλινικές δοκιμές έδειξαν ότι οι πολυφαινόλες δεν επηρεάζουν το λιπιδαιμικό προφίλ, εύρημα

που οφειλόταν στη μικρή διάρκεια της παρέμβασης και στο γεγονός ότι οι εθελοντές έπασχαν από δυσλιπιδαιμία και περιφερική αγγειακή νόσο[114].

Εκτός αυτών, και μελέτες *in vitro* έχουν επιβεβαιώσει τις καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες των πολυφαινόλων. Συγκεκριμένα, μια μελέτη σε αρουραίους έδειξε ότι το πλούσιο σε πολυφαινόλες παρθένο ελαιόλαδο μειώνει την ολική, την LDL χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια στο πλάσμα. Ενώ παράλληλα, μια ακόμη μελέτη σε αρουραίους επιβεβαίωσε ότι η χορήγηση παρθένου ελαιολάδου συγκριτικά με τη χορήγηση ηλιελαίου αυξάνει σημαντικά την HDL χοληστερόλη[114].

Ένας πιθανός μηχανισμός με τον οποίο οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου μειώνουν τη συγκέντρωση της χοληστερόλης στο αίμα φαίνεται να είναι μέσω της μείωσης της δραστηριότητας της αναγωγάσης του 3-υδροξυ-3-μεθυλόγλουταρύλο συνενζύμου άλφα ((HMG)-CoA). Η χοληστερόλη του πλάσματος ρυθμίζεται μέσω του ενζύμου αυτού που εμπλέκεται στη βιοσύνθεση της χοληστερόλης. Ουσίες (όπως οι στατίνες) οι οποίες αναστέλλουν τη δράση της αναγωγάσης του (HMG)-CoA φαίνεται να μειώνουν αποτελεσματικά τη χοληστερόλη στο αίμα. Ο μηχανισμός αυτός έχει επιβεβαιωθεί μέσα από μελέτες σε αρουραίους, στις οποίες έχει φανεί ότι οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου μειώνουν σημαντικά τη δράση της αναγωγάσης του (HMG)-CoA στα μιτοχόνδρια του ήπατος επιδρώντας κατ' αυτόν τον τρόπο στο μεταβολισμό της χοληστερόλης[116].

Από μελέτες σε επίμυες έχει φανεί ότι η υδροξυτυροσώλη, κύρια πολυφαινόλη του ελαιολάδου, μειώνει την μεταγευματική λιπαιμία οδηγώντας σε υποχοληστερολαιμία. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι μειώνει την ολική, την LDL χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια, ενώ αυξάνει την HDL χοληστερόλη και την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος[115]. Οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου επιδρούν, ακόμη, θετικά στο ενδοθήλιο. Η αθηρογένεση, όπως έχει περιγραφεί, είναι αποτέλεσμα προσκόλλησης λευκοκυττάρων, λεμφοκυττάρων και μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο μέσω μορίων προσκόλλησης, όπως είναι ο VCAM-1. Σε μελέτη του Carluccio et al, φάνηκε ότι η υδροξυτυροσώλη και η ελεωρωπαΐνη μειώνουν την έκφραση του VCAM-1, που επάγεται από την ομοκυστεΐνη, αλλά και την προσκόλληση των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο, επιδρώντας στα αρχικά στάδια της αθηρογένεσης[117],[118].

8.3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 5, η συσσώρευση ελεύθερων ριζών μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτική βλάβη κρίσιμων βιομορίων όπως λιπιδίων και DNA, αυξάνοντας τον κίνδυνο για εμφάνιση χρόνιων νοσημάτων όπως αθηροσκλήρωσης, καρκίνου, καρδιαγγειακών, χρόνιας φλεγμονής, εμφράγματος και νευρο-εκφυλιστικών νοσημάτων. Αρκετές *in vivo* και *in vitro* μελέτες έχουν δείξει ότι οι πολυφαινόλες του παρθένου ελαιολάδου εκδηλώνουν ευεργετικά οφέλη ενάντια στην οξειδωτική βλάβη των λιπιδίων και του DNA και γενικότερα ενάντια στο οξειδωτικό στρες[119]. Τα ο-διφαινολικά συστατικά όπως, η υδροξυτυροσώλη, η αποκαρβοξυμεθυλιωμένη μορφή του άγλυκου συστατικού της ελευρωπαΐνης και το άγλυκο συστατικό της ελευρωπαΐνης είναι τα ισχυρότερα αντιοξειδωτικά, που προλαμβάνουν την οξείδωση της α-τοκοφερόλης. Αντίθετα, η συμβολή των μονοφαινολών όπως η τυροσώλη και το λιγκστρόδιο, είναι φτωχή. Όσον αφορά στα φλαβονοειδή, η λουτεολίνη εμφανίζει δράση όμοια με αυτή της υδροξυτυροσώλης, ενώ η απιγενίνη δεν εμφανίζει αντιοξειδωτική δράση[120].

Οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου ασκούν την αντιοξειδωτική τους δράση με διάφορους τρόπους. Σε οξειδωτικά συστήματα μπορούν να δεσμεύουν μέταλλα μεταπτώσεως όπως Fe και Cu, τα οποία μπορούν να δημιουργήσουν χηλικά σύμπλοκα, προλαμβάνοντας μ' αυτόν τον τρόπο τη δημιουργία ριζών υδροξυλίου σε υψηλές συγκεντρώσεις. Όμως, η σημαντικότερη αντιοξειδωτική τους δράση σχετίζεται με την ικανότητα παγίδευσης ελεύθερων ριζών σπάζοντας τις αλυσιδωτές αντιδράσεις που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των ο-διφαινολικών συστατικών σχετίζονται με την ικανότητά τους σχηματίζουν ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου μεταξύ του υδροξυλίου και των φαινοξυλικών ριζών[116].

Μελέτες σε ανθρώπους έχουν επιβεβαιώσει τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των πολυφαινολών του ελαιολάδου στην υγεία. Αρχικά, σε μια ελεγχόμενη, τυχαιοποιημένη, διασταυρούμενη κλινική δοκιμή στην οποία συμμετείχαν 40 άνδρες με σταθερή στεφανιαία νόσο, φάνηκε ότι η χορήγηση παρθένου ελαιολάδου με υψηλό περιεχόμενο πολυφαινολών σχετίζεται με μειωμένα επίπεδα οξειδωμένης LDL χοληστερόλης, υπεροξειδίων λιπιδίων και αυξημένα επίπεδα δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης[121]. Ακόμη, σε μια μελέτη με 16 υγιείς εθελοντές φάνηκε ότι η κατανάλωση 25ml ελαιολάδου καθημερινά αυξάνει την αντίσταση της LDL χοληστερόλης στην οξείδωση καθώς αυτή εμπλουτίζεται σε ελαϊκό οξύ και αντιοξειδωτικά[96]. Μια μεγάλη μελέτη που επιβεβαιώνει τα ευρήματα αυτά είναι η μελέτη «EUROLIVE», η οποία ήταν μια ελεγχόμενη,

τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή στην οποία συμμετείχαν 200 υγιείς εθελοντές στους οποίους χορηγούνταν 25ml ελαιολάδου καθημερινά. Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 3 κοινοί τύποι ελαιολάδου με διαφορετικό πολυφαινολικό περιεχόμενο. Πρόσφατα αποτελέσματα της μελέτης επιβεβαιώνουν τα ευεργετικά οφέλη των πολυφαινολών ενάντια στην οξείδωση της LDL χοληστερόλης[94]. Τα αποτελέσματα έχουν δείξει επίσης ότι υπάρχει δόσοεξαρτώμενη σχέση ανάμεσα στην αύξηση της κατανάλωσης πολυφαινολών και στην οξειδωμένη LDL χοληστερόλη, στα συζευγμένα διένια του πλάσματος και στα 3-υδροξυ λιπαρά οξέα. Τα ευρήματα μάλιστα της μελέτης «EUROLIVE» επιβεβαιώνουν τον ισχυρισμό του EFSA (Ευρωπαϊκός Οργανισμός για την Ασφάλεια των Τροφίμων), σύμφωνα με τον οποίο η καθημερινή χορήγηση 5mg πολυφαινολών ελαιολάδου προλαμβάνουν την οξείδωση της LDL χοληστερόλης[122]. Παράλληλα, ο Weinbrenner το 2004, στη δική του ελεγχόμενη, διπλά-τυφλή, τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή με 12 εθελοντές, στους οποίους χορήγησε 3 είδη ελαιολάδου με χαμηλό, μέτριο και υψηλό περιεχόμενο σε πολυφαινόλες, επιβεβαίωσε τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες αυτών. Το πολυφαινολικό περιεχόμενο του ελαιολάδου φάνηκε ότι μεταβάλλει το οξειδωτικό/αντιοξειδωτικό προφίλ των εθελοντών καθώς αύξησε το περιεχόμενο του πλάσματος και των ούρων σε τυροσόλη και υδροξυτυροσόλη με δόσοεξαρτώμενο τρόπο[123].

Πολλές μελέτες σε ανθρώπους και σε ζωικά πρότυπα έχουν δείξει ότι ο βαθμός οξείδωσης της LDL χοληστερόλης μειώνεται καθώς αυξάνεται το περιεχόμενο του ελαιολάδου σε πολυφαινόλες. Ωστόσο, τρεις μελέτες σε ανθρώπους έχουν δείξει ότι το ελαιόλαδο με υψηλό περιεχόμενο σε πολυφαινόλες δε μειώνει την LDL χοληστερόλη[114]. Ενώ παράλληλα, μελέτες σε ανθρώπους έχουν δείξει ότι η κατανάλωση ελαιολάδου πλούσιου σε πολυφαινόλες μειώνει την οξειδωτική βλάβη του DNA περισσότερο από 30%[119].

Μελέτες, επίσης, σε ζωικά πρότυπα ή *in vitro* έχουν επιβεβαιώσει τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των πολυφαινολών. Συγκεκριμένα, *in vitro* μελέτες έχουν δείξει ότι οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου μειώνουν την οξειδωτική βλάβη στο αίμα, τους νεφρούς και το έντερο[119]. Παράλληλα, σε μελέτη με αρουραίους, η χορήγηση πάστας ελιάς πλούσιας σε υδροξυτυροσόλη φάνηκε να μειώνει τα επίπεδα της ισοπροσάνης F2 και το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από το παθητικό κάπνισμα. Τέλος, από άλλες μελέτες σε ζωικά πρότυπα έχει φανεί ότι η χορήγηση ελαιολάδου με υψηλή περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες αυξάνει τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος[114].

8.4. ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ

Είναι πλέον ευρύτερα γνωστό ότι η παθοφυσιολογία διάφορων νοσημάτων όπως του καρκίνου, των καρδιαγγειακών, της αρθρίτιδας και των νευροεκφυλιστικών νόσων συνδέεται με χρόνια φλεγμονή. Μέσα από *in vivo* και *in vitro* μελέτες έχει επιβεβαιωθεί ότι οι πολυφαινόλες ασκούν σημαντική αντιφλεγμονώδη δράση.[119] Ο βασικός μηχανισμός της αντιφλεγμονώδους δράσης τους μπορεί να περιλαμβάνει την απενεργοποίηση ενζύμων που σχετίζονται με τη φλεγμονή όπως των κυκλοξυγονασών (COX-1 και COX-2) και της λιποξυγενάσης (LOX)[116]. Σε μελέτες σε ανθρώπους έχει διαπιστωθεί ότι η χορήγηση ελαιολάδου υψηλής περιεκτικότητας σε πολυφαινόλες ή μεμονωμένων πολυφαινολών σχετίζεται με μείωση της θρομβοξάνης B2 (TXB2) και των λευκοτριενίων B4 (LTB4), που αποτελούν προφλεγμονώδους παράγοντες. Παράλληλα, σε μια ακόμη *in vivo* μελέτη βρέθηκε ότι η κατανάλωση παρθένου ελαιολάδου πλούσιου σε πολυφαινόλες μειώνει τις συγκεντρώσεις παραγόντων φλεγμονής, όπως η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)[114]. Σε τυχαίοποιημένη, κλινική δοκιμή της Κωνσταντινίδου et al βρέθηκε ότι η κατανάλωση ελαιολάδου με 328mg πολυφαινόλες/kg vs 50mg/kg διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην απορρύθμιση γονιδίων φλεγμονωδών παραγόντων που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση[124].

Όπως, και προαναφέρθηκε, και σε *in vitro* μελέτες, έχουν επιβεβαιωθεί οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες των πολυφαινολών του ελαιολάδου. Συγκεκριμένα, σε ζωικό πρότυπο φλεγμονής έχει φανεί ότι η υδροξυτυροσώλη περιορίζει την έκφραση του TNF-α και της ιντερλευκίνης-1 βήτα (IL-1b), που αποτελούν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες. Ενώ, παράλληλα, έχει δειχθεί ότι η ελαιοκανθάλη ακολουθεί το ίδιο μηχανιστικό αντιφλεγμονώδες μονοπάτι με την ιβουπροφαίνη, που είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο[119]. Επιπλέον, σε μια ακόμη μελέτη με αρσενικούς αρουραίους τύπου Wistar βρέθηκε ότι η χορήγηση ελαιολάδου με υψηλό περιεχόμενο πολυφαινολών κοντά σε εκείνο του παρθένου ελαιολάδου εμφανίζει προστατευτικά αποτελέσματα ενάντια στη φλεγμονή και επαυξάνει την δράση της φαρμακευτικής αγωγής[125]. Εκτός αυτού, μελέτη σε κυτταρική σειρά μονοκυττάρων έδειξε ότι το άγλυκο συστατικό της ελευρωπαΐνης αναστέλλει την έκφραση της μητρικής μεταλλοπρωτεΐνης 9 (MMP-9), επαγόμενη από τον TNF-α, που έχει ενοχοποιηθεί για διάφορα νοσήματα όπως καρδιαγγειακά και καρκίνος. Παράλληλα σε μια μελέτη σε ανθρώπινα μονοκύτταρα (THP-1 κύτταρα) επιβεβαιώθηκαν οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες των πολυφαινολών καθώς φάνηκε ότι η υδροξυτυροσώλη μειώνει τη έκφραση της iNOS, της COX-2 και του

TNF- α [119]. Τέλος, μια μελέτη σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα ομφαλικής φλέβας έδειξε ότι η ελευρωπαΐνη και η υδροξυτυροσώλη εμποδίζουν την έκφραση του VCAM-1 και την προσκόλληση των μονοκυττάρων.[23]

8.5. ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Στη βιβλιογραφία, έχουν μελετηθεί εκτενώς και οι αντικαρκινικές ιδιότητες των πολυφαινολών του ελαιολάδου. Όπως προαναφέρθηκε, ελαιολάδα με μέτριο προς υψηλό περιεχόμενο σε πολυφαινόλες εκδηλώνουν μεταγευματική αντιοξειδωτική δράση σε μελέτες *in vivo*. Σύμφωνα με αυτές τις παρατηρήσεις, ο Sotiroudis σε άρθρο του αναφέρει ότι οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου μπορούν να αποτελέσουν δείκτες σε επιδημιολογικές μελέτες για την πρόληψη του καρκίνου μέσω της διατροφής και την προαγωγή της υγείας[126]. Σε μια μελέτη σε ανθρώπινα κύτταρα αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου επιβεβαιώθηκαν οι αντικαρκινικές ιδιότητες των πολυφαινολών καθώς φάνηκε ότι η τυροσώλη, η υδροξυτυροσώλη και διάφορα σεκοϊριδοειδή, συμπεριλαμβανομένης της ελευρωπαΐνης, εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και προστατεύουν το παχύ έντερο. Ο μηχανισμός δράσης τους ξεκινάει με το «μπλοκάρισμα» της φάσης G2/M του κυτταρικού κύκλου, το οποίο επιτυγχάνεται μέσω της αναστολής της p38/CREB σηματοδότησης, η οποία συνεπάγεται μείωση στην έκφραση των COX-2 πρωτεϊνών[127].

Επιπλέον, σ' ένα ακόμη άρθρο για τα συστατικά του ελαιολάδου τονίζονται τα ευεργετικά οφέλη των πολυφαινολών ενάντια στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Συγκεκριμένα, τονίζεται ότι η υδροξυτυροσώλη μπορεί να μειώσει τη λεμφοκυτταρική απόκριση αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό και επάγοντας την απόπτωση. Παράλληλα, σε μεταστατικό στάδιο, η υδροξυτυροσώλη έχει την ιδιότητα να εμποδίζει τη δράση των ενζύμων της λιποξυγενάσης (LOX), τα οποία σχηματίζουν διάφορους μεταβολίτες στο μονοπάτι του αραχιδονικού οξέος που ενισχύουν την ογκογένεση. Οι δράσεις αυτές είναι ιδιαίτερα σημαντικές για την πρόληψη του καρκίνου του παχέος εντέρου[128]. Επίσης, σε μια ανασκόπηση της Tripoli, επιβεβαιώθηκε ότι οι λιγνάνες που αποτελούν συστατικό των πολυφαινολών του ελαιολάδου εμφανίζουν αντικαρκινικές ιδιότητες ενάντια σε διάφορους τύπους καρκίνου, όπως του δέρματος, του μαστού, του παχέος εντέρου και του πνεύμονα[116].

8.6. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

Οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου έχει φανεί ότι διαθέτουν και αντιμικροβιακές ιδιότητες. Πολλά φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου όπως, η διαλδεϋδική μορφή του αποκαρβοξυμεθυλιωμένου άγλυκου συστατικού της ελευρωπαΐνης, η ελαιοκανθάλη, η υδροξυτυροσόλη και η τυροσόλη, εμφανίζουν προστατευτική δράση ενάντια σε διάφορα είδη βακτηρίων που είναι υπεύθυνα για γαστρεντερικές και αναπνευστικές λοιμώξεις, όπως έχει δειχθεί σε μελέτες *in vitro*, ενάντια όμως και σε ευεργετικά βακτήρια όπως ο *Lactobacillus acidophilus* και το *Bifidobacterium bifidum*. Πρόσφατα, διεξήχθη και μια μελέτη για τις αντιμικροβιακές ιδιότητες των πολυφαινολών του ελαιολάδου ενάντια σε τρία είδη παθογόνων βακτηρίων, την *Escherichia coli* O157:H7, την *Listeria monocytogenes* και τη *Salmonella enteritidis*, όπου διαπιστώθηκε η συνεργιστική δράση των πολυφαινολών[119]. Ακόμη, σε μια ανασκόπηση της Tripoli τονίζεται ότι η ελευρωπαΐνη και τα προϊόντα υδρόλυσης της, η τυροσόλη και η υδροξυτυροσόλη, έχουν την ιδιότητα να σταματούν την ανάπτυξη και την παραγωγή της εντεροτοξίνης B του *Staphylococcus aureus*, την ανάπτυξη της *Salmonella enteritidis* καθώς επίσης τη βλάστηση και την ανάπτυξη των σπορίων του *Bacillus cereus*. Επιπλέον, η ελευρωπαΐνη, το p-υδροξυβενζοϊκό, το βανιλλικό και το p-κουμαρικό οξύ έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν τελείως την ανάπτυξη της *Klebsiella pneumonia*. Παράλληλα, η υδροξυτυροσόλη έχει φανεί να είναι ισχυρά τοξική ενάντια στην *Pseudomonas syringae* pv *savastanoi* και στο *Corynebacterium michiganense*, ενώ η τυροσόλη έχει φανεί ότι δρα ως μυκοτοξίνη. Αν και δεν είναι πλήρως κατανοητός ο μηχανισμός με τον οποίο δρουν οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου ενάντια στους μικροοργανισμούς, η δράση τους αυτή οφείλεται στην παρουσία της ορθοδιφαινολικής δομής (κατεχόλης)[116].

ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός της συγκεκριμένης πτυχιακής εργασίας είναι να διευκρινιστεί αν και σε ποιο βαθμό οι ευεργετικές επιδράσεις του ελαιολάδου στην υγεία οφείλονται στα μονοακόρεστα λιπαρά ή στα μικροσυστατικά του. Για να γίνει αυτή η αξιολόγηση, η κατανάλωση ελαιολάδου θα συγκριθεί με την κατανάλωση άλλων ελαίων (σπορελαίων - ηλιέλαιο, ηλιέλαιο υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ), που διαφέρουν τόσο στην περιεκτικότητα του ελαϊκού οξέος όσο και των μικροσυστατικών (αντιοξειδωτικών).

Οι τελικοί στόχοι της εργασίας είναι:

- ✓ Η ανάδειξη του ελαιολάδου ως ισχυρού καρδιοπροστατευτικού παράγοντα της Μεσογειακής Διατροφής
- ✓ Η διευκρίνιση του ρόλου των επιμέρους συστατικών
- ✓ Η διερεύνηση της συνεργιστικής δράσης μεταξύ μακρο- και μικρο-συστατικών



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ ΚΑΙ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ

10.1. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Χρησιμοποιήθηκαν τρία είδη ελαίων που είναι διαθέσιμα στο εμπόριο:

- ✓ Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο
- ✓ Ηλιέλαιο
- ✓ Ηλιέλαιο υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ

Τα τρία έλαια χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτη ύλη για την παρασκευή τριών νέων ελαίων με τροποποιημένο περιεχόμενο σε μικροσυστατικά (προσθήκη ή απομάκρυνση ανάλογα με την περίπτωση). Η παρασκευή αυτών των ελαίων έγινε στο πλαίσιο της διδακτορικής διατριβής της κας Κατσαρού Αγγελικής, υποψήφιας διδάκτορος του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας - Διατροφής. Για την παρασκευή τους χρησιμοποιήθηκαν κλασσικές μέθοδοι απομόνωσης βιοδραστικών συστατικών από τα έλαια και κατάλληλη κατεργασία για τον εμπλουτισμό των τροποποιημένων ελαίων. Καθώς τα έλαια προορίζονταν για τη σίτιση μεγάλου αριθμού ζωικών προτύπων και αποτελώντας το βασικό άξονα της διατροφικής παρέμβασης η διαδικασία της απομόνωσης βιοδραστικών συστατικών και η παρασκευή των τροποποιημένων ελαίων γινόταν αφενός με χρήση μεγάλων ποσοτήτων ελαίων και αφετέρου τουλάχιστον σε εβδομαδιαία βάση. Επί συνόλου έλαβαν χώρα περισσότερες από 20 διαδικασίες απομόνωσης βιοδραστικών συστατικών και παρασκευής τροποποιημένων ελαίων. Μεγάλος όγκος αυτών των διαδικασιών πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας.

10.2. IN VIVO ΜΕΛΕΤΗ

10.2.1. ΤΟ ΖΩΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ: ΕΠΙΜΥΕΣ ΤΥΠΟΥ WISTAR

Οι επίμυες αποτελούν τα πιο κοινά σπονδυλωτά στη βιοϊατρική έρευνα, μετά τα μύες. Αποτελούν ζώα ανθεκτικά στην αθηροσκλήρωση κι αυτό διότι η HDL αποτελεί το 80%, περίπου, της συνολικής χοληστερόλης του πλάσματός τους ενώ η CETP (πρωτεΐνη μεταφοράς χοληστερυλικών εστέρων και τριγλυκεριδίων μεταξύ των λιποπρωτεϊνών) απουσιάζει. Παράλληλα, η μεταφορά χοληστερόλης στα χολικά οξέα είναι πολύ αποτελεσματική[129]. Μέχρι σήμερα έχουν αναπτυχθεί 200 τροποποιημένα γενετικά στελέχη, ενώ 50 υπάρχουν καταγεγραμμένα σε αρχεία. Τα πρώτα στελέχη του ζωικού προτύπου που χρησιμοποιήθηκαν σε πειραματική διαδικασία αναπτύχθηκαν στο Ινστιτούτο «Wistar» στη Φιλαδέλφεια της Αμερικής. Από τότε η ονομασία «Wistar» υιοθετήθηκε και σήμερα χρησιμοποιείται για να περιγράψει το αλφικό στέλεχος των επίμυων που είναι πολύ διαδεδομένο στον

ερευνητικό χώρο[130]. Στην πειραματική πορεία της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκαν 64 υγιείς, αρσενικοί επίμυες τύπου Wistar με αρχικό βάρος 150-200g και ηλικία 2 μηνών. Τα ζωικά πρότυπα στεγάστηκαν στο Πειραματικό - Ερευνητικό Κέντρο της Φαρμακευτικής Βιομηχανίας ΕΛΠΕΝ, η οποία προμηθεύεται τα ζώα από το Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ.



Εικόνα 10-1. Ο επίμυς τύπου Wistar (Wistar Rat)

10.2.2. ΟΙ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΔΙΑΒΙΩΣΗΣ

Οι συνθήκες διαβίωσης (στέγασης και φροντίδας) των ζώων εργαστηρίου ήταν ελεγχόμενες και σύμφωνα με τις οδηγίες της επιτροπής της 18^{ης} Ιουνίου 2007 στις Βρυξέλλες, όπως αυτή δημοσιεύεται στην επίσημη εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Οι επίμυες τύπου Wistar στεγάζονταν σε χώρο με θερμοκρασία 20° C έως 24° C, σχετική υγρασία 50-60% και επαρκή φυσικό αερισμό. Επιπλέον, στο χώρο στέγασης υπήρχε θετική πίεση έτσι ώστε ο αέρας να ωθείται πάντα προς τα έξω και συνεπώς να αποφεύγονται οι μολύνσεις. Ενώ επειδή δεν υπήρχε φυσικός φωτισμός, εξασφαλιζόταν εναλλαγή 12 ωρών φωτός - 12 ωρών σκότους με τη βοήθεια ελεγχόμενου τεχνικού φωτισμού. Όσον αφορά το θόρυβο, δεν αποτελούσε στρεσογόνο παράγοντα καθώς ο χώρος στον οποίο διαβιούσαν τα ζώα στεγαζόταν σε μονάδες με κατάλληλη ηχητική μόνωση και παράλληλα, είχε τέτοια διαρρύθμιση διαδρόμων ώστε δεν επηρεαζόταν το ακουστικό περιβάλλον των επίμυων. Υπάρχει εντούτοις η πιθανότητα, τα τεχνικά συστήματα που βρίσκονταν στο θάλαμο στέγασης των ζωικών προτύπων να παρήγαγαν κάποιους ήχους (θορύβους) σε χαμηλές, όμως, συχνότητες. Οι επίμυες αναπτύχθηκαν σε ανοξείδωτα κελιά.

Στα ζωικά πρότυπα της έρευνας χορηγούταν χονδραλεσμένη (ακατέργαστη) τροφή με τη μορφή μικρών ραβδίσκων μέσω μιας ταΐστρας. Αποτελεί μια

τυποποιημένη τροφή για το εργαστηρίου με συγκεκριμένη σύσταση μακρο- και μικροθρεπτικών συστατικών (Vergerio Mangimi srl, Italy). Η παροχή νερού στους επίμυες γινόταν μέσω μίας ποτίστρας σε κάθε κελί. Η πρόσβαση όλων των ζωικών προτύπων τόσο στην τροφή, όσο και στο νερό, ήταν απρόσκοπτη (*ad libidum*).

Ελάμβανε χώρα τακτικός καθαρισμός των κελιών των επίμυων με σκοπό να αποφευχθεί οποιαδήποτε αίτιο θα μπορούσε να καταστεί στρεσογόνο για τα ζώα, ενώ σε καθημερινή βάση καθαριζόταν και το δωμάτιο στέγασης. Επιπλέον, η επιθεώρηση και ο έλεγχος των συνθηκών διαβίωσης ελάμβανε χώρα καθημερινά από κτηνίατρο και κατάλληλα εκπαιδευμένο προσωπικό.

10.2.3. ΤΟ ΖΩΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΔΥΣΛΙΠΙΔΑΙΜΙΑΣ

Η επαγωγή δυσλιπιδαιμίας στους επίμυες επήλθε με χοληστερόλη υψηλής καθαρότητας (Sigma-Aldrich). Η χοληστερόλη προστέθηκε εξωγενώς στην τροφή.

10.2.4. ΣΧΕΔΙΑΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ

Χρησιμοποιήθηκαν 64 επίμυες οι οποίοι κατηγοριοποιήθηκαν τυχαία σε 8 ομάδες, καθεμία από τις οποίες αποτελούταν από 8 ζώα. Η ομάδα Α συνίσταται από υγιείς μάρτυρες (control) ενώ η ομάδα Β αντιστοιχεί στο ζωικό πρότυπο της δυσλιπιδαιμίας (negative control). Οι υπόλοιπες ομάδες (C, D, E, F, G, H) λάμβαναν δυσλιπιδαιμική δίαιτα και ταυτόχρονα ένα από τα έλαια της μελέτης. Η τροφή ανανεωνόταν δύο φορές την εβδομάδα η τροφή. Στο τέλος της παρέμβασης ακολούθησε η ευθανασία των ζώων (Παράγραφος 10.2.5).

10.2.5. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ-ΕΥΘΑΝΑΣΙΑ

Αντιδραστήρια & Όργανα

- ◆ Κεταμίνη (Imalgene), ξυλαζίνη (Sedaxylan), δολεθάλη (Vetoquinol)
- ◆ Φυσιολογικός ορός
- ◆ Αποστειρωμένα χειρουργικά εργαλεία: χειρουργικές λαβίδες, οφθαλμικά κυρτά ψαλίδια, νυστέρια μιας χρήσης (No 21)
- ◆ Αναλώσιμα μιας χρήσης: σύριγγες χωρητικότητας 1 ml, γάζες
- ◆ Σωλήνες Eppendorf χωρητικότητας 1.5 ml
- ◆ Ψυχόμενη φυγόκεντρος (Eppendorf centrifuge 5810R)
- ◆ Υπερκατάψυξη (-80° C)
- ◆ Υγρό άζωτο (-196° C)

Αναλυτική πορεία

Πριν γίνει η αναισθησία, προηγήθηκε καταγραφή του σωματικού βάρους όλων των ζώων. Η αναισθησία πραγματοποιήθηκε με ενδομυϊκή έγχυση διαλύματος κεταμίνης/ ξυλαζίνης (100 mg/kg και 20 mg/kg σωματικού βάρους, αντίστοιχα) σε φυσιολογικό ορό. Η δράση του αναισθητικού επιβεβαιώθηκε ασκώντας πίεση στα άκρα του ζώου με τη βοήθεια χειρουργικής λαβίδας. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε τομή στη θωρακική κοιλότητα και έγινε αμέσως παραλαβή αίματος από την κοιλιακή αορτή. Ακολούθησε ευθανασία χορηγώντας δολεθάλη στον ίδιο καθετήρα (0.6 mg/kg σωματικού βάρους). Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε τομή στην περιτοναϊκή κοιλότητα και συλλέχθηκαν οι ιστοί, οι οποίοι τοποθετήθηκαν προσωρινά σε υγρό άζωτο και στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν στην υπερκατάψυξη (-80° C).

10.2.6. ΚΩΔΙΚΑΣ ΒΙΟΗΘΙΚΗΣ

Η οδηγία 86/609/ΕΟΚ που συνεκτιμά μεταξύ άλλων η Σύσταση της Επιτροπής, στοχεύει στην προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς και άλλους επιστημονικούς σκοπούς ώστε να εξασφαλίζεται η ελαχιστοποίηση του πόνου, της ταλαιπωρίας, της αγωνίας ή της μόνιμης βλάβης που ενδέχεται να υποστούν, συνεπεία των διαδικασιών των οποίων αποτελούν το αντικείμενο. Το ερευνητικό πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε ήταν σύμφωνο με την οδηγία 86/609/ΕΟΚ καθώς και με το προεδρικό διάταγμα υπ' αριθμόν 160 ενώ εγκρίθηκε από την Κτηνιατρική Υπηρεσία της Νομαρχίας Αθηνών.

Οποιαδήποτε πειραματική διαδικασία ή απλή μετακίνηση εντός του χώρου στέγασης των ζωικών προτύπων, πραγματοποιήθηκε μόνο με κατάλληλη ένδυση που περιλάμβανε ειδική στολή, ποδονάρια, μάσκα, σκουφάκι και γάντια.

10.2.7. ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

10.2.7.α. ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΙΣΤΩΝ

Αντιδραστήρια & Όργανα

- ◆ Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PBS) 20 mM, pH 7.4 (Fisher scientific)
- ◆ BHT 0.5 M σε ακετονιτρίλιο p.a. (Merck, Aldrich, SDS)
- ◆ Δοκιμαστικοί σωλήνες χωρητικότητας 10 mL με μπλε βιδωτό πώμα
- ◆ Σωλήνες Eppendorf χωρητικότητας 1.5 ml
- ◆ Αυτόματες πιπέτες (1 - 10, 10 - 100, 100 - 1000 μ L)
- ◆ Tips
- ◆ Αναδευτήρας Vortex (Velp Scientifica)
- ◆ Ομογενοποιητής (Ultra-Turrax, IKA-Labortechnik)
- ◆ Ψυχόμενη φυγόκεντρος (Eppendorf Centrifuge 5810R)
- ◆ Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (0.0000 g)

Αναλυτική πορεία

Οι ιστοί ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες χωρητικότητας 10mL που περιείχαν PBS (3g ιστού/10mL PBS για το ήπαρ και 3,5g ιστού/10mL PBS για την καρδιά) και BHT (10 μ L/mL ομογενοποιημένου ιστού). Το BHT χρησιμοποιείται για αναστολή της αυτοοξειδωσης του δείγματος κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης. Η ομογενοποίηση πραγματοποιήθηκε σε ομογενοποιητή και διήρκεσε περίπου 30 sec για τον κάθε ιστό. Ακολούθησε έντονη ανάδευση σε vortex και φυγοκέντρωση στις 3000 rcf στους 4°C για 15 λεπτά. Μέσω της διαδικασίας αυτής έγινε παραλαβή του εκχυλίσματος των ιστών. Το υπερκείμενο συλλέχθηκε σε eppendorfs και φυλάχθηκε σε βαθειά κατάψυξη (-80° C).

10.2.7.β. ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΚΑΤΑ BRADFORD ΣΕ ΙΣΤΟ

Αντιδραστήρια & Όργανα

- ◆ Αντιδραστήριο Bradford (Sigma)
- ◆ Πρότυπο διάλυμα αλβουμίνης ορού μόσχου (BSA) σε PBS 20 mM, pH 7.4 (1 mg/mL) (Merck)
- ◆ Σωλήνες Eppendorf χωρητικότητας 1.5 ml

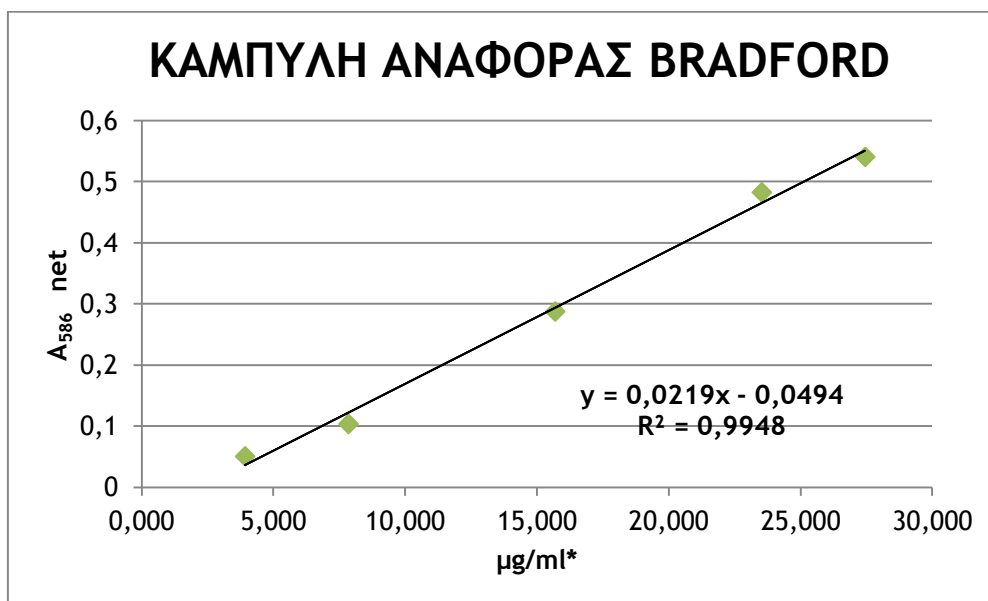
- ◆ Αυτόματες πιπέτες (1 - 10, 10 - 100, 100 - 1000 μL)
- ◆ Πολυκάναλη πιπέτα (50 - 200 μL)
- ◆ Tips
- ◆ Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων
- ◆ Αναδευτήρας Vortex (Velp Scientifica)
- ◆ Μικροπλάκα πολυστυρενίου ELISA, υψηλής δεσμευτικής ικανότητας, 96 βοθρίων
- ◆ Φωτόμετρο ELISA (Power Wave X52, BioTek)

Αρχή της μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στην αντίδραση της χρωστικής "Coomassie Brilliant Blue G-250" με πρωτεΐνες, δημιουργώντας ένα σταθερό χρωμοφόρο σύμπλοκο πρωτεΐνης-χρωστικής το οποίο εμφανίζει μέγιστη απορρόφηση στα 595 nm.

Αναλυτική πορεία

Τα εκχυλίσματα των ιστών αραιώθηκαν κατάλληλα με διάλυμα PBS. Έπειτα, σε κάθε θέση της μικροπλάκας ELISA προστέθηκαν 250 μL αντιδραστηρίου Bradford και 5 μL εκχυλίσματος. Για το τυφλό (blank) χρησιμοποιήθηκαν 5 μL PBS. Τα δείγματα παρέμειναν σε ηρεμία για 5 λεπτά, απουσία φωτός, και ακολούθησε φωτομέτρηση στα 595 nm. Οι απορροφήσεις ανάχθηκαν σε μg πρωτεΐνης/mL εκχυλίσματος (ομογενοποιημάτος), σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

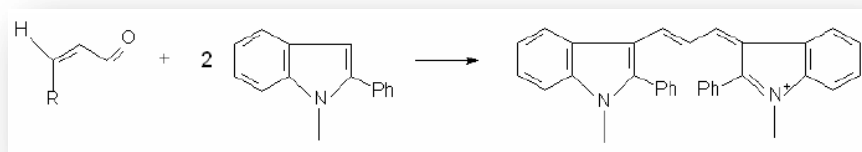


ΕΙΚΟΝΑ 10-2. ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ (BRADFORD)

Αντιδραστήρια & Όργανα

- Εξειδικευμένο ELISA kit για τη μέτρηση της MDA
- Ακετονιτρίλιο p.a. (Merck, Aldrich, SDS)
- Πυκνό (37%) υδροχλωρικό οξύ (HCl) (Sigma-Aldrich, Merck)
- Απιονισμένο νερό
- Σωλήνες Eppendorf χωρητικότητας 1.5 mL
- Αυτόματες πιπέτες (1 - 10, 10 - 100, 100 - 1000 µL)
- Tips
- Αναδευτήρας Vortex (Velp Scientifica)
- Υδρόλουτρο (Memmert WB)
- Απλή φυγόκεντρος (Eppendorf Centrifuge 5417C)
- Μικροπλάκα πολυστυρενίου ELISA, υψηλής δεσμευτικής ικανότητας, 96 βοθρίων
- Φωτόμετρο ELISA (Power Wave X52, BioTek)

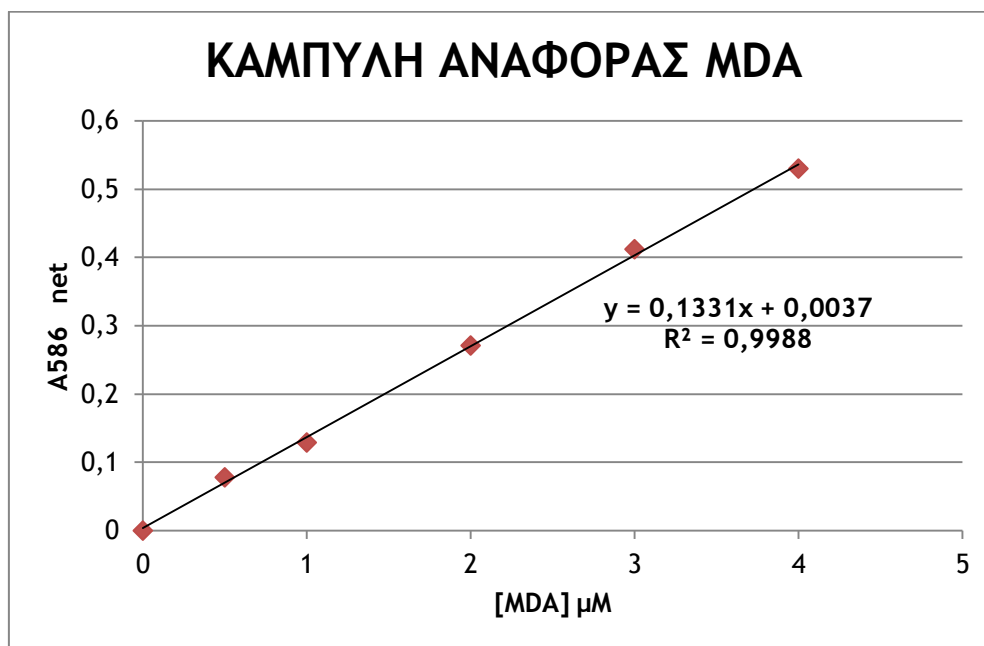
Η δοκιμασία στηρίζεται στην αντίδραση του Ν-μεθυλο-2-φαινυλινδολίου με τη μηλονική διαλδεΰδη, κατά την οποία παράγεται έγχρωμο προϊόν. (Εικόνα 11-3). Το προϊόν της αντίδρασης απορροφά στα 586 nm.



84

Αναλυτική πορεία

Τα επίπεδα της MDA στο ήπαρ και την καρδιά μετρήθηκαν σε φασματοφωτόμετρο σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρείας. Αρχικά, προετοιμάστηκαν όλα τα αντιδραστήρια, τα πρότυπα, τα δείγματα ελέγχου και τα προς μέτρηση δείγματα (εκχυλίσματα ιστών). Σε δοκιμαστικό σωλήνα πολυπροπυλενίου προστέθηκαν 200 μL δείγματος και 650 μL αντιδραστηρίου (N-μεθυλ-2-φαινυλινδόλιο σε ακετονιτρίλιο). Για το τυφλό χρησιμοποιήθηκαν 650 μL ακετονιτρίλιου. Ακολούθησε ήπια ανάδευση σε vortex και προσθήκη 150 μL HCl (12 N). Μετά από ισχυρή ανάδευση, τα δείγματα επώαστηκαν στους 45°C για 60 λεπτά. Μετά το τέλος της επώασης πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση στις 15000 rcf στους 20°C για 15 min και έγινε παραλαβή της υπερκείμενης στιβάδας. Σε αυτήν μετρήθηκε η απορρόφηση στα 586 nm. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε $\mu\text{mol}/\text{mg}$ ολικής πρωτεΐνης, σύμφωνα με την καμπύλη αναφοράς.



ΕΙΚΟΝΑ 10-4. ΠΡΟΤΥΠΗ ΚΑΜΠΥΛΗ (MDA)

10.2.7.δ. ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΝΕΚΡΩΣΗΣ ΟΓΚΩΝ - ΑΛΦΑ (TNF-alpha) ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ

Αντιδραστήρια & Όργανα

- ◆ Εξειδικευμένο Elisa kit για τη μέτρηση του TNF-alpha
- ◆ Απιονισμένο νερό
- ◆ Falcon χωρητικότητας 50 mL
- ◆ Στατό

- ◆ Σωλήνες Eppendorf χωρητικότητας 1.5 mL
- ◆ Ογκομετρικός κύλινδρος χωρητικότητας 1000 mL
- ◆ Αυτόματες πιπέτες (1 - 10, 10 - 100, 100 - 1000 μ L)
- ◆ Πολυκάναλη πιπέτα (50 - 200 μ L)
- ◆ Tips
- ◆ Πλαστικά, λευκά μπανάκια
- ◆ Γυάλινη λεκάνη (για ξεπλύματα)
- ◆ Μικροπλάκα πολυστυρενίου ELISA 96 βοθρίων
- ◆ Φωτόμετρο ELISA (Power Wave X52, BioTek)

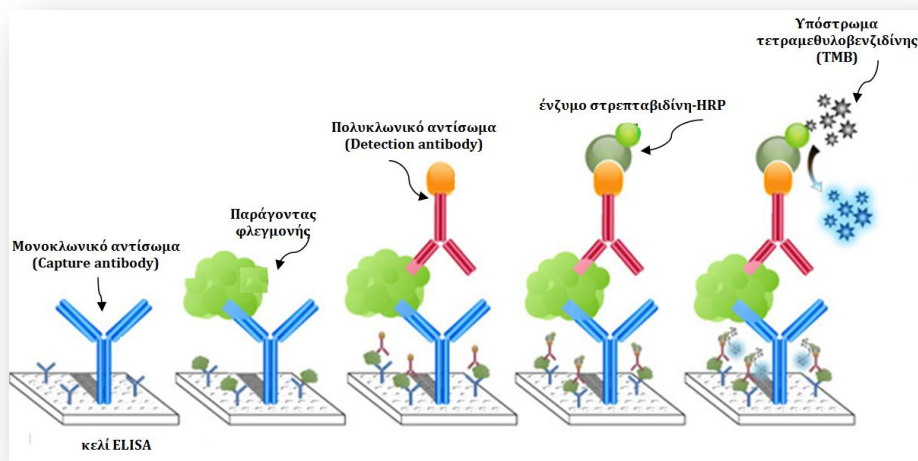
Αρχή της μεθόδου

Ο παράγοντας φλεγμονής TNF- α προσδένεται, αρχικά, σε μονοκλωνικό αντίσωμα (Capture antibody). Ακολουθεί προσθήκη πολυκλωνικού αντισώματος (Detection antibody) που ανιχνεύει τον προσδεμένο παράγοντα στο μονοκλωνικό αντίσωμα και συνδέεται με αυτόν. Στη συνέχεια, αφού προηγηθεί πλύσιμο για απομάκρυνση των μη επιθυμητών πρωτεϊνών, προστίθεται ένζυμο-υπόστρωμα το οποίο θα προσδεθεί στο πολυκλωνικό αντίσωμα και θα λάβει χώρα χρωματομετρική αντίδραση. Το προϊόν της αντίδρασης απορροφά στα 450 nm.

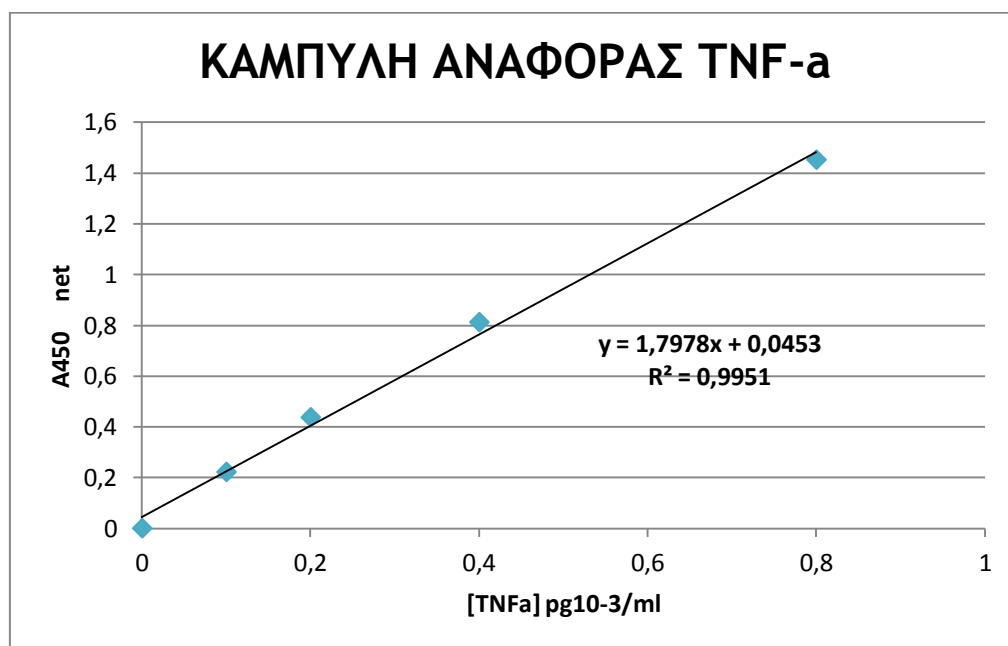
Αναλυτική πορεία

Τα επίπεδα του παράγοντα φλεγμονής TNF- α στα δείγματα ιστού (ήπαρ και καρδιά) μετρήθηκαν σε ELISA φωτόμετρο με την εφαρμογή εξειδικευμένου sandwich kit και σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρείας. Αρχικά, όλα τα αντιδραστήρια (εκτός από το Substrate Solution και το Stop Solution) και οι ιστοί αφέθηκαν να ξεπαγώσουν και να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου. Κατά την αναμονή προετοιμάστηκαν το control και τα standard. Στη συνέχεια, έγινε vortex στους ιστούς που είχαν ξεπαγώσει. Στη συνέχεια, έγινε προσθήκη 50 μ L Assay Diluent σε κάθε πηγαδάκι, ενώ ακολούθησε προσθήκη 50 μ L από κάθε δείγμα, standard και από τα control με ταυτόχρονη καλή ανάδευση (pipetting). Το plate καλύφθηκε με διαφανή μεμβράνη και έγινε επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα, απομακρύνθηκε το υπερκείμενο και η μικροπλάκα ξεπλύθηκε 3 φορές με το Wash Buffer. Ακολούθως, έγινε προσθήκη 100 μ L Conjugate σε κάθε πηγαδάκι και ακολούθησε επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Κατά την αναμονή αυτή, αφέθηκαν να ξεπαγώσουν τα αντιδραστήρια Substrate Solution και το Stop Solution. Μετά το τέλος των 2 ωρών, απομακρύνθηκε ξανά το υπερκείμενο

και η μικροπλάκα ξεπλύθηκε 3 φορές με το Wash Buffer. Έπειτα, προστέθηκαν 100 μL Substrate Solution σε κάθε πηγαδάκι και ακολούθησε επώαση για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου (κατά την επώαση το plate πρέπει να προστατεύεται από το φως). Τέλος, έγινε προσθήκη 100 μL Stop Solution με ταυτόχρονη καλή ανάδευση (pipetting) και μετρήθηκε η απορρόφηση του προϊόντος στα 450 nm σε φωτόμετρο ELISA. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε pg/mg ολικής πρωτεΐνης, σύμφωνα με τη καμπύλη αναφοράς.



Εικόνα 10-5. Αρχή μεθόδου του sandwich ELISA kit. Μετά την προσθήκη του υποστρώματος TMB, το προϊόν της αντίδρασης χρωματίζεται μπλε, όπως φαίνεται και στην εικόνα. Ακολουθεί προσθήκη H_2SO_4 για τον τερματισμό της αντίδρασης (το συγκεκριμένο βήμα δεν απεικονίζεται στο σχήμα), και το χρώμα μετατρέπεται σε κίτρινο. Αυτό είναι που απορροφά στα 450 nm.



ΕΙΚΟΝΑ 10-6. ΠΡΟΤΥΠΗ ΚΑΜΠΥΛΗ (TNF-alpha)

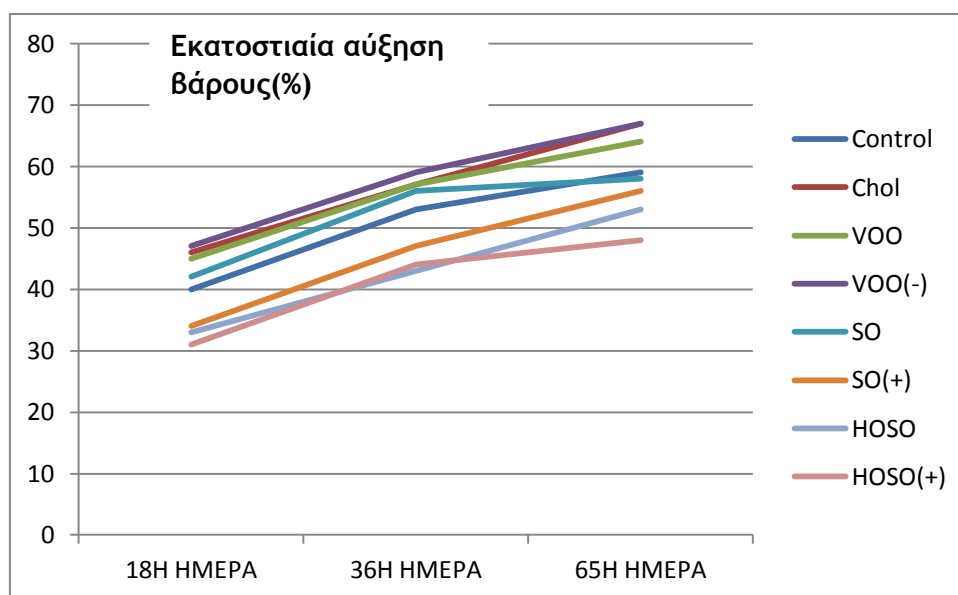
10.3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο SPSS, version 20.00 (SPSS Inc, Chicago, IL). Όλες οι δοκιμασίες είναι διπλής κατεύθυνσης (two-sided). Λόγω κανονικής κατανομής του πληθυσμού (Kolmogorov-Smirnov test), οι συγκρίσεις κατά ζεύγη θα γίνουν με ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (one-way ANOVA) χρησιμοποιώντας το Bonferroni test (≤ 7 ομάδες σύγκρισης) ή το Tukey test (≥ 7 ομάδες σύγκρισης). Η τιμή $p\text{-value} \leq 0.05$ έχει καθοριστεί σαν επίπεδο στατιστικά σημαντικής διαφοράς.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

11.1. ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗ ΣΕ ΖΩΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ

Οι εκατοστιαίες μεταβολές που παρατηρήθηκαν στο σωματικό βάρος των πειραματόζων από την αρχή μέχρι το πέρας της παρέμβασης φαίνονται στην εικόνα 13.1. Όπως φαίνεται τα ζώα παρουσίασαν ομαλή εξέλιξη στο βάρος τους με ανάλογη συμπεριφορά μεταξύ των ομάδων.



ΕΙΚΟΝΑ 11-1. Η ΕΚΑΤΟΣΤΙΑΙΑ ΑΥΞΗΣΗ ΤΩΝ ΒΑΡΩΝ (ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ) ΤΩΝ ΖΩΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΟ ΑΡΧΙΚΟ ΒΑΡΟΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗΣ.

11.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΚΤΩΝ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΗΠΑΤΟΣ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΣ ΤΩΝ ΖΩΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ

Τα επίπεδα του δείκτη φλεγμονής TNF-alpha, προσδιορίστηκαν στο συγκεκριμένο πείραμα σε ELISA φωτόμετρο μετά την εφαρμογή συγκεκριμένου sandwich kit (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Αποτελεί μια ευαίσθητη μέθοδο ανίχνευσης πρωτεϊνών (σύνδεση αντιγόνου-αντισώματος). Τα επίπεδα του δείκτη οξειδωσης, MDA, προσδιορίστηκαν με τη χρήση εξειδικευμένου MDA kit που βασίζεται σε παραγωγή σταθερού χρωμοφόρου μορίου και στη μέτρηση σε ELISA φωτόμετρο.

Καθ' όλη τη διάρκεια των χειρισμών και των μετρήσεων, οι ιστοί φυλάσσονταν στον πάγο ώστε να αποφεύγεται η οξειδωση και κατ' επέκταση η καταστροφή του ιστού.

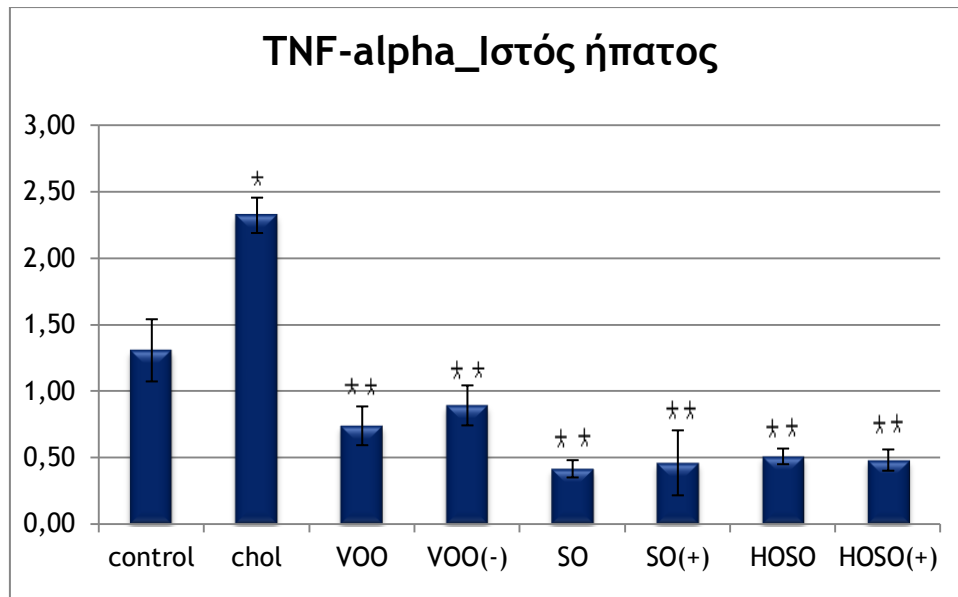


ΕΙΚΟΝΑ 11-2. Πλάκα μικροτιτλοδότησης ELISA (96 θέσεων)- 8 σειρές και 12 στήλες.

11.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ TNF-alpha ΣΕ ΙΣΤΟ ΗΠΑΤΟΣ ΤΩΝ ΖΩΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ

Στον ιστό του ήπατος που απομονώθηκε απ' όλα τα ζωικά πρότυπα (64) όλων των πειραματικών ομάδων, μετά την ευθανασία, προσδιορίστηκε ο δείκτης φλεγμονής TNF-alpha, με τη μέθοδο της sandwich-ELISA. Η φλεγμονή, που προκαλείται από ενεργές μορφές οξυγόνου και κυτοκίνες, είναι ένα κοινό χαρακτηριστικό των περισσότερων χρόνιων νοσημάτων. Ανάμεσα στις κυτοκίνες που επάγουν τη φλεγμονή, συγκαταλέγεται και ο TNF-alpha, που αποτελεί προφλεγμονώδη κυτοκίνη μιας ευρύτερης ομάδας κυτοκινών. Ο TNF-alpha παράγεται από πολλούς τύπους κυττάρων, κυρίως από μονοκύτταρα και μακροφάγα, ενώ η έκκρισή του αυξάνεται όταν υπάρχει χρόνια φλεγμονή στο λιπώδη ιστό[131]. Ο TNF-alpha έχει ενοχοποιηθεί ότι εμπλέκεται στην παθογένεια των καρδιαγγειακών νοσημάτων, της αθηροσκλήρωσης, του εμφράγματος του μυοκαρδίου, της καρδιακής ανεπάρκειας, της μυοκαρδίτιδας και της δυσλειτουργίας του αγγειακού ενδοθηλίου[132].

Στον σχήμα 11-3, φαίνονται οι μέσες τιμές του TNF-alpha στον ιστό του ήπατος κάθε πειραματικής ομάδας των ζωικών προτύπων, καθώς και η σύγκριση όλων των ομάδων με τη Β (αθηρογονική δίαιτα).

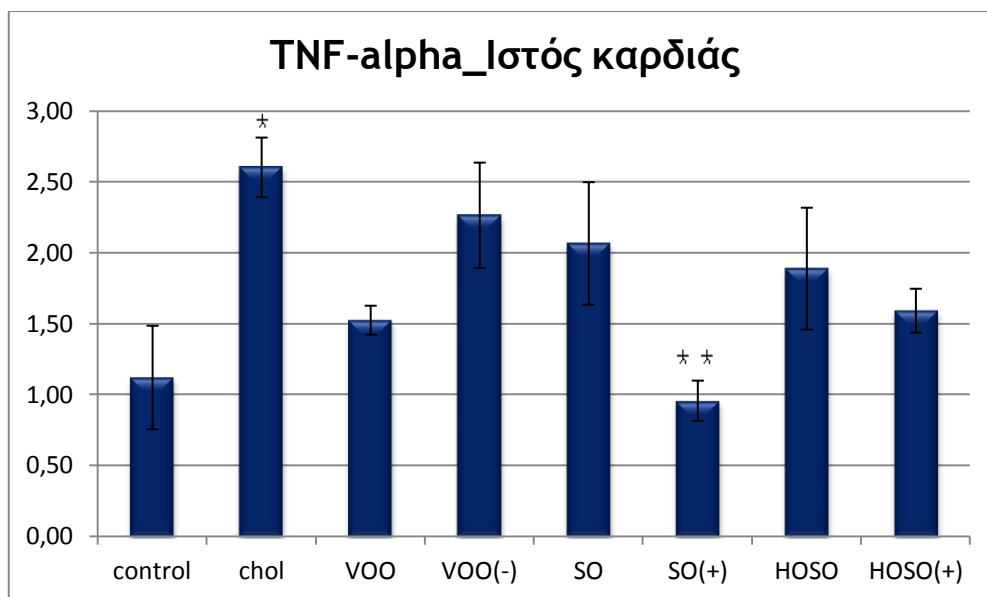


ΕΙΚΟΝΑ 13-3. ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΟΥ TNF-alpha ΣΤΟΝ ΙΣΤΟ ΗΠΑΤΟΣ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ

11.4. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ TNF-alpha ΣΕ ΙΣΤΟ ΚΑΡΔΙΑΣ ΤΩΝ ΖΩΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ

Στον ιστό της καρδιάς που απομονώθηκε απ' όλα τα ζωικά πρότυπα (64) όλων των πειραματικών ομάδων, μετά την ευθανασία, προσδιορίστηκε ο δείκτης φλεγμονής, TNF-alpha, με τη μέθοδο της sandwich-ELISA.

Στο σχήμα 11-4, φαίνονται οι μέσες τιμές του TNF-alpha στον ιστό της καρδιάς κάθε πειραματικής ομάδας των ζωικών προτύπων, καθώς και η σύγκριση όλων των ομάδων με τη Β (αθηρογονική δίαιτα).

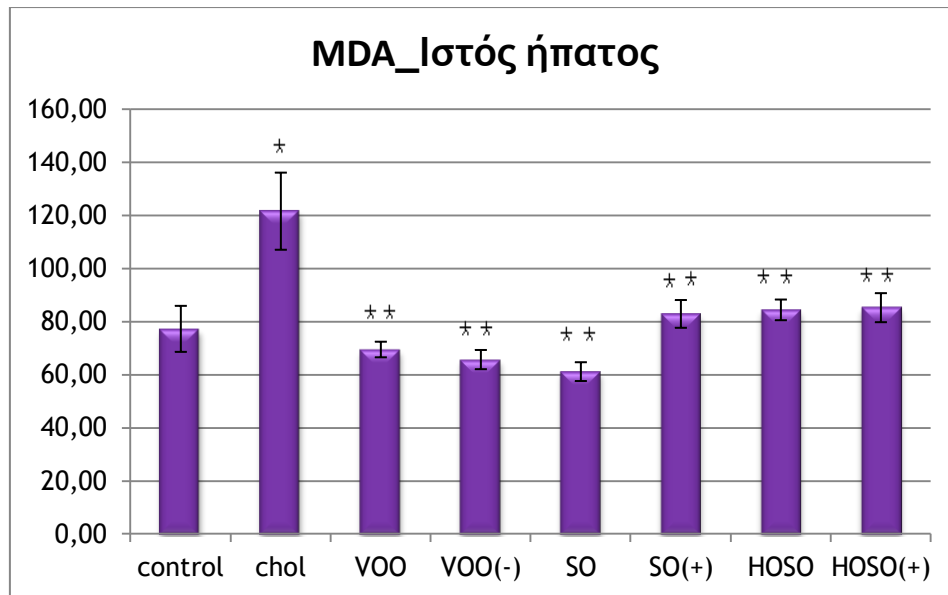


ΕΙΚΟΝΑ 11-4. ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΟΥ TNF-alpha ΣΤΟΝ ΙΣΤΟ ΚΑΡΔΙΑΣ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ

11.5. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ MDA ΣΕ ΙΣΤΟ ΗΠΑΤΟΣ ΤΩΝ ΖΩΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ

Στον ιστό του ήπατος που απομονώθηκε απ' όλα τα ζωικά πρότυπα (64) όλων των πειραματικών ομάδων, μετά την ευθανασία, προσδιορίστηκε και ο δείκτης οξειδωσης, MDA, με εξειδικευμένο ELISA kit. Το οξειδωτικό στρες, όπως αναφέρθηκε και στην παράγραφο 5.3, είναι η ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων σε κυτταρικό επίπεδο. Αποτέλεσμα αυτής της ανισορροπίας είναι η οξειδωτική καταστροφή των μακρομορίων, η καταστροφή των ιστών ακόμη και ο κυτταρικός θάνατος[133]. Παράδειγμα αυτών αποτελεί και η υπεροξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, η οποία συνιστά έναν μηχανισμό βλάβης σε φυτικά και ζωικά κύτταρα και χρησιμοποιείται ως δείκτης οξειδωτικού στρες σε κύτταρα και ιστούς. Τα υπεροξειδία των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων είναι ασταθή και αποσυντίθενται σε μια πολύπλοκη σειρά ενώσεων. Σ' αυτές τις ενώσεις περιλαμβάνονται ενώσεις καρβονυλίου, με κύρια την μηλονική διαλδεΰδη. Επομένως, η MDA χρησιμοποιείται τελικά ευρέως ως δείκτης οξειδωτικού στρες[134].

Στο σχήμα 11-5, φαίνονται οι μέσες τιμές της MDA στον ιστό του ήπατος κάθε πειραματικής ομάδας των ζωικών προτύπων, καθώς και η σύγκριση όλων των ομάδων με τη Β (αθηρογονική δίαιτα).

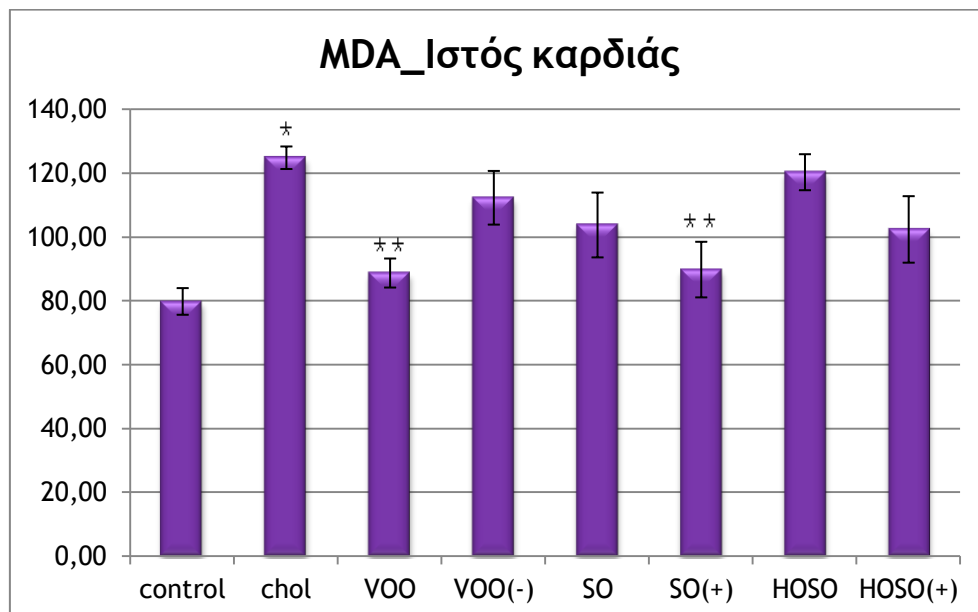


ΕΙΚΟΝΑ 11-5. ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΗΣ MDA ΣΤΟΝ ΙΣΤΟ ΗΠΑΤΟΣ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ

11.6. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ MDA ΣΕ ΙΣΤΟ ΚΑΡΔΙΑΣ ΤΩΝ ΖΩΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ

Στον ιστό της καρδιάς που απομονώθηκε απ' όλα τα ζωικά πρότυπα (64) όλων των πειραματικών ομάδων, μετά την ευθανασία, προσδιορίστηκε και ο δείκτης οξειδωσης, MDA, με εξειδικευμένο ELISA kit.

Στο σχήμα 11-6, φαίνονται οι μέσες τιμές της MDA στον ιστό της καρδιάς κάθε πειραματικής ομάδας των ζωικών προτύπων, καθώς και η σύγκριση όλων των ομάδων με τη Β (αθηρογονική δίαιτα).



ΕΙΚΟΝΑ 11-6. ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΗΣ MDA ΣΤΟΝ ΙΣΤΟ ΚΑΡΔΙΑΣ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 14: ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν μία από τις σημαντικότερες αιτίες θανάτου στις αναπτυγμένες χώρες, συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας. Κοινό παρονομαστή των καρδιαγγειακών νοσημάτων αποτελεί η αθηροσκλήρωση που είναι η κύρια ασθένεια των αρτηριών. Μέσα από μελέτες έχει επιβεβαιωθεί ότι η Μεσογειακή διατροφή ασκεί σημαντική καρδιοπροστατευτική και αντιαθηρωματική δράση, η οποία οφείλεται μεταξύ άλλων στην κατανάλωση ελαιολάδου. Μέχρι πρόσφατα, οι ευεργετικές αυτές ιδιότητες του ελαιολάδου αποδίδονταν αποκλειστικά στην υψηλή περιεκτικότητά του σε ελαϊκό οξύ. Τελευταίες μελέτες, όμως, έχουν δείξει ότι και άλλα, ήσσονα συστατικά, του ελαιολάδου ευθύνονται επίσης για τις δράσεις αυτές.

Το εν λόγω πείραμα πραγματοποιήθηκε σε επίμυες τύπου Wistar, στους οποίους χορηγήθηκαν έλαια με διαφορετικό προφίλ λιπαρών οξέων και περιεχόμενο σε ήσσονα βιοδραστικά συστατικά. Όλα τα ζώα παρουσίασαν αύξηση του σωματικού τους βάρους γεγονός το οποίο αποδεικνύει την προσαρμογή τους στην κατανάλωση της νέας τροφής (Πίνακας 13-1). Επιπλέον, παρ' όλο που τα ζώα κάποιων ομάδων κατανάλωναν έλαια (υπερθερμιδική δίαιτα), δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην εκατοστιαία αύξηση του βάρους ανάμεσα στις ομάδες. Το γεγονός αυτό αποδεικνύει ότι το ζωικό πρότυπο διαθέτει ρυθμιστικό μηχανισμό με τον οποίο ελέγχει και προσαρμόζει την ενεργειακή του πρόσληψη.

Όσον αφορά στις μετρήσεις των βιολογικών δεικτών, TNF-alpha και MDA, στον ιστό ήπατος και καρδιάς των ζωικών προτύπων αξίζει να σημειωθούν τα ακόλουθα: Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.001$) στα επίπεδα του TNF-alpha στον ιστό ήπατος μεταξύ της ομάδας των υγιών επίμυων (ομάδα A-control) και της ομάδας που ελάμβανε χοληστερόλη (ομάδα B), όπου ήταν αυξημένα (*). Το ίδιο ισχύει για τα επίπεδα του TNF-alpha στον ιστό καρδιάς, καθώς και για τα επίπεδα της MDA στους ιστούς ήπατος και καρδιάς των πειραματοζώων. Αυτό αποδεικνύει ότι δημιουργήθηκε το ζωικό πρότυπο δυσλιπιδαιμίας.

Στα ζωικά πρότυπα η σύγχρονη πρόσληψη μέσω της τροφής των ελαίων της μελέτης κατέδειξε ότι τα επίπεδα του TNF-alpha και της MDA στον ιστό ήπατος ήταν στατιστικά σημαντικά μειωμένα στις ομάδες C, D, E, F, G και H (**) σε σχέση με την ομάδα B. Παράλληλα, τα επίπεδα του TNF-alpha στον ιστό καρδιάς βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά μειωμένα στην ομάδα F (**) σε σχέση με την ομάδα B, ενώ τα επίπεδα της MDA στον ιστό καρδιάς βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά μειωμένα στις ομάδες C και F (**) σε σχέση με την ομάδα B.

Όσον αφορά στα επίπεδα του TNF- α στον ιστό ήπατος, παρατηρήθηκε ότι στην ομάδα που ελάμβανε απογυμνωμένο ελαιόλαδο η μείωση των επιπέδων του TNF- α ήταν μικρότερη σε σύγκριση με αυτή στις ομάδες με την παρέμβαση του ηλιελαίου εμπλουτισμένου σε φαινολικά συστατικά και του ηλιελαίου υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ εμπλουτισμένου με φαινολικά συστατικά, αλλά όχι στατιστικά σημαντική ($p=0.452$ και $p=0.476$, αντίστοιχα). Επιπλέον, όσον αφορά στα επίπεδα του TNF- α στον ιστό καρδιάς, παρατηρήθηκε ότι η χορήγηση ελαίων πλούσιων σε βιοδραστικά συστατικά, οδήγησε σε μείωση στα επίπεδα του TNF- α στην ομάδα με την παρέμβαση του ηλιελαίου εμπλουτισμένου σε φαινολικά συστατικά και μάλιστα στατιστικά σημαντικά ($p=0.010$) σε σχέση με την αθηρογονική ομάδα (ομάδα B). Εκτός αυτού, παρατηρήθηκε ότι στην ομάδα με την παρέμβαση του ελαιολάδου η μείωση των επιπέδων του TNF- α ήταν μεγάλη και μάλιστα μεγαλύτερη από αυτήν του ηλιελαίου, αλλά όχι στατιστικά σημαντική ($p=0.913$). Παράλληλα, όσον αφορά στα επίπεδα της MDA στους ιστούς ήπατος και καρδιάς, στο ήπαρ παρατηρήθηκε ότι στις ομάδες των πειραματοζώων που λάμβαναν έλαια πλούσια σε βιοδραστικά συστατικά (ομάδες C, F και H), τα επίπεδα της MDA μειώθηκαν στατιστικά σημαντικά ($p=0.000$, $p=0.007$ και $p=0.013$, αντίστοιχα) σε σχέση με την ομάδα B. Στην καρδιά, τέλος, παρατηρήθηκε ότι η χορήγηση φαινολικών συστατικών στις ομάδες C και F συνέβαλε στη στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της MDA ($p=0.016$ και $p=0.043$, αντίστοιχα) σε σχέση με την ομάδα B, ενώ παράλληλα στην ομάδα με την παρέμβαση του ελαιολάδου η μείωση των επιπέδων της MDA ήταν μεγάλη και μάλιστα μεγαλύτερη από αυτήν του ηλιελαίου, αλλά όχι στατιστικά σημαντική ($p=0.831$).

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι τα φαινολικά συστατικά μπορούν να συμβάλουν στη μείωση των επιπέδων του TNF- α στους ιστούς ήπατος και καρδιάς των πειραματοζώων. Αυτά τα ευρήματα έρχονται σε συμφωνία με μια μελέτη των Bitler et al (2005) στην οποία το υδατικό κλάσμα φρούτου ελιάς (περιέχον τουλάχιστον 6% φαινολικά συστατικά) μείωσε τα επίπεδα του TNF- α σε ορό μυών BALB/c. Επιπλέον, συμφωνούν με μελέτη των Gong et al (2009) η οποία πραγματοποιήθηκε σε επίμυες Sprague-Dawley και έδειξε ότι παρασκεύασμα περιέχον υδροξυτυροσώλη (22%) και άλλα φαινολικά συστατικά (4%) μειώνει τα επίπεδα του TNF- α σε μυϊκό ιστό αρουραίων. Οι Martinez-Dominguez et al (2000) πραγματοποίησαν μελέτη σε επίμυες τύπου Wistar, με σκοπό να εξετάσουν τις επιδράσεις του παρθένου ελαιολάδου στην οξεία και χρόνια φλεγμονή, καθώς και να προσδιορίσουν την επίδραση εμπλουτισμού του με φαινολικά συστατικά. Η μελέτη έδειξε ότι το παρθένο ελαιόλαδο με υψηλότερο περιεχόμενο σε φαινολικά

συστατικά (παρόμοιο με αυτό του εξαιρετικά παρθένου ελαιολάδου) μπορεί να μειώσει τη φλεγμονή πιο αποτελεσματικά σε σύγκριση με έλαια πλούσια σε ελαϊκό οξύ (ηλιέλαιο υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ) και έλαια πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (ιχθυέλαιο), ενώ παράλληλα ο εμπλουτισμός επαύξησε το αποτέλεσμα της ινδομεθακίνης (φάρμακο για την αρθρίτιδα).

Σχετικά με την επίδραση στην MDA στους ιστούς ήπατος και καρδιάς των πειραματοζώων σημειώνονται τα ακόλουθα: Σε μελέτη των Fki et al (2005), η οποία πραγματοποιήθηκε σε επίμυες τύπου Wistar, δείχθηκε ότι το φαινολικό εκχύλισμα από πράσινες και μαύρες ελιές μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της MDA στο ήπαρ, την καρδιά και τους νεφρούς. Παράλληλα, μελέτη των Gonzalez-Santiago et al (2006) έδειξε ότι η χορήγηση υδροξυτυροσόλης βελτίωσε την αντιοξειδωτική κατάσταση, τα επίπεδα της MDA στο πλάσμα και το μέγεθος των αθηροσκληρωτικών βλαβών σε υπερλιπαιμικά κουνέλια. Ακόμη, μια κλινική δοκιμή των Masella et al (2001) επιβεβαίωσε τα ευεργετικά οφέλη των φαινολικών συστατικών στα επίπεδα της MDA. Στη μελέτη αυτή φάνηκε ότι τα φαινολικά συστατικά του παρθένου ελαιολάδου μπορούν να μειώσουν τα επίπεδα της MDA στο πλάσμα και τα επίπεδα της οξειδωμένης LDL χοληστερόλης σε υπερλιπιδαιμικούς ασθενείς.

Στην παρούσα μελέτη υπήρξαν ενδείξεις ότι το φαινολικό περιεχόμενο των ελαίων μπορεί να προκαλεί μείωση των επιπέδων της MDA στον ιστό ήπατος και καρδιάς. Παρότι απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για την αποσαφήνιση του ρόλου τους είναι πιθανό τα φαινολικά συστατικά να επιδρούν στην αθηροσκληρωτική διαδικασία και στα καρδιαγγειακά και μέσω της αντιοξειδωτικής τους δράσης. Η δράση αυτή των φαινολικών συστατικών έχει επιβεβαιωθεί από αρκετές μελέτες, μελέτες με ζωικά πρότυπα και κλινικές δοκιμές. Κλινικές δοκιμές όπως αυτές των Weinbrenner et al (2004), Fito et al (2005), Cicero et al (2008) και Castaner et al (2011) έχουν επιβεβαιώσει ότι τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση μειώνοντας κατά κύριο λόγο τα επίπεδα της οξειδωμένης LDL χοληστερόλης. Τέλος από μελέτες σε επίμυες, όπως η μελέτη των Ebaid et al (2010) και Jacomelli et al (2010), φάνηκε ότι τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου ασκούν αντιοξειδωτική δράση βελτιώνοντας το οξειδωτικό στρες από το έμφραγμα σε φυσιολογικές συνθήκες σίτισης και μειώνοντας τα επίπεδα της MDA στο πλάσμα και στο ήπαρ, αντίστοιχα. Τέλος, μια ακόμη μελέτη που επιβεβαιώνει ότι τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου μειώνουν τα επίπεδα τόσο του TNF- α όσο και της MDA είναι η μελέτη των Wang et al (2008). Στη μελέτη αυτή, στην οποία προκλήθηκε πειραματική αθηροσκλήρωση σε κουνέλια, φάνηκε ότι το εκχύλισμα

των φύλλων ελιάς μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της MDA και του TNF-alpha αναστέλλοντας τη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης.

Συμπερασματικά, λοιπόν, η εν λόγω πτυχιακή, όπως πολλές πειραματικές και κλινικές μελέτες, επιβεβαίωσε το γεγονός ότι τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου εκλύουν αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητες μειώνοντας τα επίπεδα του TNF-alpha και της MDA στους ιστούς ήπατος και καρδιάς. Γενικά, αποδείχτηκε ότι τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου μπορούν να βελτιώσουν, σε κάποιες ομάδες, τα επίπεδα οξειδωτικού στρες και φλεγμονής που προκαλούνται από την χορήγηση αθηρογονικής δίαιτας, ενώ δρουν πιο αποτελεσματικά στον ιστό της καρδιάς. Υπάρχει η τάση να αναδειχθούν οι ευεργετικές ιδιότητες των φαινολικών συστατικών και υπάρχουν περιθώρια βελτίωσης μέσω των αναλύσεων και άλλων δεικτών οξείδωσης και φλεγμονής που θα πραγματοποιηθούν.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Waterman, E. and B. Lockwood, *Active components and clinical applications of olive oil*. Altern Med Rev, 2007. 12(4): p. 331-42.
2. ΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ Μια εκπαιδευτική προσέγγιση. 2007 [cited 2013, 17/05]; http://reader.ekt.gr/bookReader/show/index.php?lib=EDULLL&item=1195&bitstream=1195_01#page/1/mode/2up.
3. Vossen, P., *Olive Oil: History, Production, and Characteristics of the World's Classic Oils*. HortScience, 2007. 42(5): p. 1093-1100.
4. Kapellakis, I.E., Tsagarakis, K. P., Crowther, J. C., , *Olive oil history, production and by-product management*. Rev Environ Sci Biotechnol, 2008. 7: p. 1-26.
5. Visioli, F., A. Poli, and C. Gall, *Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil*. Med Res Rev, 2002. 22(1): p. 65-75.
6. ΤΕΛΙΚΟ ΠΑΡΑΔΟΤΕΟ ΦΑΣΗΣ 1 (Μελέτη για τη δυνατότητα διάθεσης των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων τριών φάσεων του προγράμματος του κανονισμού (ΕΚ) 2080/2005). 2007 [cited 2013, 17/05]; Available from: www.eleourgiki.gr/docs/year1/drasi_ajj4/phase1.doc.
7. Uceda, M., Jimenez, A. Beltran, G., *Trends in olive oil production*. grasas y aceites, 2006. 57(1): p. 25-31.
8. <http://www.enzolifesciences.com>.
9. Κανόνες Εμπορίας & Επισήμανσης ελαιολάδου. 2012; Available from: www.epixeiro.gr/attachments/article/2711/F21655-odigos_elaiolado.pdf.
10. Γενική Γραμματεία Εμπορίου-Βασικές Έννοιες Ποιοτικές Κατηγορίες Ελαιολάδου.
11. Carrasco-Pancorbo, A., et al., *Analytical determination of polyphenols in olive oils*. J Sep Sci, 2005. 28(9-10): p. 837-58.
12. Covas, M.I., *Olive oil and the cardiovascular system*. Pharmacol Res, 2007. 55(3): p. 175-86.
13. Guerfel, M., et al., *Triacylglycerols Composition and Volatile Compounds of Virgin Olive Oil from Chemlali Cultivar: Comparison among Different Planting Densities*. The Scientific World Journal, 2011. 2012: p. 1-6.
14. Oueslati, I., et al., *Sterol, Triterpenic Dialcohol, and Triacylglycerol Compounds of Extra Virgin Olive Oils from Some Tunisian Varieties Grown in the Region of Tataouine*. Food Sci Tech Int, 2009. 15(1): p. 5-13.
15. OLLIVIER, D., et al., *Triacylglycerol and Fatty Acid Compositions of French Virgin Olive Oils. Characterization by Chemometrics*. J. Agri. Food Chem, 2003. 51(19): p. 5723-5731.

16. Fronimaki, P., et al., *Determination of the diglyceride content in greek virgin olive oils and some commercial olive oils by employing (31)P NMR spectroscopy*. J Agric Food Chem, 2002. **50**(8): p. 2207-13.
17. Shahidi, F., *Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Olive Oil, Chapter 7, Sixth Edition*. 2005.
18. *Chemistry and quality of olive oil-NSW Department of Primary Industries*. 2006.
19. Hatzakis, E., et al., *Determination of phospholipids in olive oil by 31P NMR spectroscopy*. J Agric Food Chem, 2008. **56**(15): p. 6232-40.
20. Amelio, M., *Chemical-physical characteristics of olive oils*. 2003: p. 1-26.
21. Covas, M., et al. , *Minor Components of Olive Oil: Evidence to Date of Health Benefits in Humans*. Nutrition Reviews, 2006. **64**(10): p. S20-S30.
22. Guillen, N., et al., *Knowledge of the biological actions of extra virgin olive oil gained from mice lacking apolipoprotein E*. Rev Esp Cardiol, 2009. **62**(3): p. 294-304.
23. Carluccio, M., et al., *Olive Oil and Red Wine Antioxidant Polyphenols Inhibit Endothelial Activation: Antiatherogenic Properties of Mediterranean Diet Phytochemicals*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003. **23**(622-629).
24. Murkovic, M., et al., *Analysis of minor components in olive oil*. J Biochem Biophys Methods, 2004. **61**(1-2): p. 155-60.
25. Fidalgo, S.S., et al., *Dietary unsaponifiable fraction from extra virgin olive oil supplementation attenuates acute ulcerative colitis in mice*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2013. **48**: p. 572-581.
26. Gliszczynska-Swiglo, A., et al., *TOCOPHEROL CONTENT IN EDIBLE PLANT OILS*. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2007. **57**(4(A)): p. 157-161.
27. Aggarwal, B.B., et al., *Tocotrienols, the Vitamin E of the 21st Century: It's Potential Against Cancer and Other Chronic Diseases*. Biochem Pharmacol, 2010. **80**(11): p. 1613-1631.
28. MATTHÄUS, B., ÖZCAN, M.M., *Determination of Fatty Acid, Tocopherol, Sterol Contents and 1,2- and 1,3-Diacylglycerols in Four Different Virgin Olive Oil*. J Food Process Technol, 2011. **2**(4): p. 1-4.
29. Nagy, K., et al., *Comprehensive analysis of vitamin E constituents in human plasma by liquid chromatography-mass spectrometry*. Anal Chem, 2007. **79**(18): p. 7087-96.
30. Ανδρικόπουλος, Ν.Κ., *Σημειώσεις Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων*. Vol. Τόμος 1. Κεφάλαια θεωρίας. 1999, Αθήνα.
31. Ματάλα, Α.Λ., Γιαννακούλια, Μ., *Εισαγωγή στη Διατροφή του Ανθρώπου*. 2007, Αθήνα: Παρισιάνου Α.Ε. 450.

32. Cherif, A.O., *Screening and Profiling of Hydrocarbon Components and Squalene in Developing Tunisian Cultivars and Wild Arachis hypogaea L. Species*. J Am Oil Chem Soc, 2013: p. 1-12.
33. Kalogeropoulos, N. and N.K. Andrikopoulos, *Squalene in oils and fats from domestic and commercial fryings of potatoes*. Int J Food Sci Nutr, 2004. **55**(2): p. 125-9.
34. Lanzon, A., et al., *The Hydrocarbon Fraction of Virgin Olive Oil and Changes Resulting from Refining*. J Am Oil Chem Soc, 1994. **71**(3): p. 285-291.
35. Gregory, S.K., *Squalene And Its Potential Clinical Uses*. Altern Med Rev, 1999. **4**(1): p. 29-36.
36. Canabate-Diaz, B., et al., *Separation and determination of sterols in olive oil by HPLC-MS*. Food Chemistry, 2007. **102**: p. 593-598.
37. Gandul-Rojas, B., et al., *Use of Chlorophyll and Carotenoid Pigment Composition to Determine Authenticity of Virgin Olive Oil*. J Am Oil Chem Soc, 2000. **77**(8): p. 853-858.
38. Kalua, C.M., et al., *Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review*. Food Chemistry, 2005. **100**: p. 273-286.
39. Kiritsakis, A.K., *Flavor Components of Olive Oil—A Review*. J Am Oil Chem Soc, 1998. **75**: p. 673-681.
40. Aluyor, E.O., et al., *Chromatographic analysis of vegetable oils: A review*. Sci. Res. Essays, 2009. **4**(4): p. 191-197.
41. CABALLERO, B., et al., *Encyclopedia of Human Nutrition Vol.4 SECOND EDITION*. 2005, ELSEVIER: Oxford, UK.
42. Rosillo-Calle, F., et al., *A GLOBAL OVERVIEW OF VEGETABLE OILS, WITH REFERENCE TO BIODIESEL*. 2009: p. 1-89.
43. Μπόσκου, Δ., *Χημεία Τροφίμων*. 2004, Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Γαρταγάνη.
44. Grompone, M.A., *Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Sunflower Oil, Chapter 14, Sixth Edition*. 2005.
45. Warner, K., et al. *COMPOSITIONS OF SUNFLOWER, NUSUN (MID-OLEIC SUNFLOWER) AND HIGH-OLEIC SUNFLOWER OILS*. Available from: http://www.sunflowernsa.com/uploads/resources/51/warner_.pdf.
46. Wahrburg, U., et al., *Mediterranean diet, olive oil and health*. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 2002. **104**: p. 698-705.
47. Panagiotakos, D.B. *The Mediterranean diet* Available from: http://www.aka.fi/Tiedostot/Tietysti_kuvat/Tapahtumat/ESOF%202012/ESOF2012_MedDiet%20and%20CVD.pdf.

48. Panagiotakos, D.B., C. Pitsavos, and C. Stefanadis, *Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2006. **16**(8): p. 559-68.
49. Keys, A., *Mediterranean diet and public health: personal reflections*. Am J Clin Nutr, 1995. **61**(6 Suppl): p. 1321S-1323S.
50. Menotti, A., et al., *Food intake patterns and 25-year mortality from coronary heart disease: Cross-cultural correlations in the Seven Countries Study*. European Journal of Epidemiology, 1999. **15**: p. 507-515.
51. Pitsavos, C., et al., *Forty-year follow-up of coronary heart disease mortality and its predictors: the Corfu cohort of the seven countries study*. Prev Cardiol, 2003. **6**(3): p. 155-60.
52. Psaltopoulou, T., et al., *Olive oil, the Mediterranean diet, and arterial blood pressure: the Greek European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study*. Am J Clin Nutr, 2004. **80**: p. 1012-1018.
53. *Mediterranean Diet and Type2Diabetes Risk in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC) Study THE INTERACT PROJECT*. DIABETES CARE, 2011. **34**: p. 1913-1918.
54. Lopez-Miranda, J., et al., *Olive oil and health: Summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaen and Cordoba (Spain) 2008*. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases, 2008. **20**: p. 284-294.
55. Kris-Etherton, P., et al., *AHA Science Advisory: Lyon Diet Heart Study. Benefits of a Mediterranean-style, National Cholesterol Education Program/American Heart Association Step I Dietary Pattern on Cardiovascular Disease*. Circulation, 2001. **103**(13): p. 1823-5.
56. de Lorgeril, M., et al., *Mediterranean Diet, Traditional Risk Factors, and the Rate of Cardiovascular Complications After Myocardial Infarction-Final Report of the Lyon Diet Heart Study*. Journal of the American Heart Association, 1998;99: p. 779-785.
57. Pitsavos, C., et al., *Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study*. Am J Clin Nutr, 2005. **82**: p. 694-699.
58. Zamora-Ros, R., et al., *Mediterranean diet and non enzymatic antioxidant capacity in the PREDIMED study: Evidence for a mechanism of antioxidant tuning*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2013.
59. Estruch, R., et al., *Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet*. N Engl J Med, 2013. **368**(14): p. 1279-90.
60. Estruch, R., et al., *Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial*. Ann Intern Med, 2006. **145**(1): p. 1-11.

61. Knoops, K.T., et al., *Mediterranean diet, lifestyle factors, and 10-year mortality in elderly European men and women: the HALE project*. JAMA, 2004. **292**(12): p. 1433-9.
62. Sofi, F., et al., *Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis*. BMJ, 2008. **337**: p. a1344.
63. Sofi, F., et al., *Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis*. Am J Clin Nutr, 2010. **92**(5): p. 1189-96.
64. Kastorini, C.M., et al., *The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals*. J Am Coll Cardiol, 2011. **57**(11): p. 1299-313.
65. Fuster, V., Bridget, B.K., *Promoting Cardiovascular Health in the Developing World-A Critical Challenge to Achieve Global Health*. 2010, Washington, D.C.: THE NATIONAL ACADEMIES PRESS.
66. Ζαμπέλας, Α., *Κλινική διαιτολογία & διατροφή με στοιχεία παθολογίας Τόμος 1*. 2007, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης.
67. Zacharias, E., *The Mediterranean Diet: A Clinician's Guide for Patient Care-Chapter 4 Cardiovascular Diseases*. 2012, USA: Springer.
68. WHO, W.H.F., World Stroke Organization, *Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control*. 2011.
69. *Εθνικό Σχέδιο Δράσης για τα Καρδιαγγειακά Νοσήματα*. Υπουργείο Υγείας & Κοινωνικής Αλληλεγγύης. 2008-2012, Αθήνα.
70. Fakhrzadeh, H., Tabatabaei-Malazy, O., *Dyslipidemia - From Prevention to Treatment, Chapter 15, Dyslipidemia and Cardiovascular Disease, Prof. Roya Kelishadi (Ed.)*. 2012.
71. Bloomgarden, Z.T., *Insulin resistance, dyslipidemia, and cardiovascular disease*. Diabetes Care, 2007. **30**(8): p. 2164-70.
72. Maas, R. and R.H. Boger, *Old and new cardiovascular risk factors: from unresolved issues to new opportunities*. Atheroscler Suppl, 2003. **4**(4): p. 5-17.
73. Lou-Bonafonte, J.M., et al., *Efficacy of bioactive compounds from extra virgin olive oil to modulate atherosclerosis development*. Mol. Nutr. Food Res., 2012. **56**: p. 1043-1057.
74. Stocker, R., Keaney, J.F., *Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis*. Physiol Rev, 2004. **84**: p. 1381-1478.
75. Li, D. and J.L. Mehta, *Oxidized LDL, a critical factor in atherogenesis*. Cardiovasc Res, 2005. **68**(3): p. 353-4.
76. Crowther, M.A., *Pathogenesis of atherosclerosis*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2005: p. 436-41.

77. Davis, N.E., *Atherosclerosis--an inflammatory process*. J Insur Med, 2005. **37**(1): p. 72-5.
78. Van Horn, L., et al., *The Evidence for Dietary Prevention and Treatment of Cardiovascular Disease*. Journal of the AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2008. **108**: p. 287-331.
79. Health, N.I.o. *ATP III Guidelines At-A-Glance Quick Desk Reference*. 2001.
80. Health, N.I.o., *Y O U R G U I D E T O Lowering Your Cholesterol With TLC*. 2005.
81. Kohen, R., Nyska, A., *Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification*. TOXICOLOGIC PATHOLOGY, 2002. **30**(6): p. 620-650.
82. Kaliora, A.C., G.V. Dedoussis, and H. Schmidt, *Dietary antioxidants in preventing atherogenesis*. Atherosclerosis, 2006. **187**(1): p. 1-17.
83. Laguerre, M., J. Lecomte, and P. Villeneuve, *Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges*. Prog Lipid Res, 2007. **46**(5): p. 244-82.
84. Hamid, A.A., et al., *Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications*. Afr. J. Pure Appl. Chem., 2010. **4**(8): p. 142-151.
85. Valko, M., et al., *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*. Int J Biochem Cell Biol, 2007. **39**(1): p. 44-84.
86. OIL, I.O.C.-A.I.O.; Available from: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/89-the-antioxidant-properties-of-the-olive-oil>.
87. Harwood, J.L., Yaqoob, P., *Nutritional and health aspects of olive oil*. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 2002. **104**: p. 685-697.
88. Perez-Jimenez, F., et al., *International conference on the healthy effect of virgin olive oil*. Eur J Clin Invest, 2005. **35**(7): p. 421-4.
89. Alarcon de la Lastra, C., et al., *Mediterranean diet and health: biological importance of olive oil*. Curr Pharm Des, 2001. **7**(10): p. 933-50.
90. Ruiz-Canelaa, M., Martínez-González, M.A., *Olive oil in the primary prevention of cardiovascular disease*. Maturitas, 2010.
91. Kris-Etherton, P., et al., *Summary of the scientific conference on dietary fatty acids and cardiovascular health: conference summary from the nutrition committee of the American Heart Association*. Circulation, 2001. **103**(7): p. 1034-9.
92. Gardner, C.D., Kraemer, H.C., *Monounsaturated versus polyunsaturated dietary fat and serum lipids: A Meta-Analysis*. Stanford University-Technical Report, 1994.

93. Covas, M.I., V. Konstantinidou, and M. Fito, *Olive oil and cardiovascular health*. J Cardiovasc Pharmacol, 2009. **54**(6): p. 477-82.
94. Cicero, A.F.G., et al., *Changes in LDL Fatty Acid Composition as a Response to Olive Oil Treatment Are Inversely Related to Lipid Oxidative Damage: The EUROLIVE Study*. JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF NUTRITION, 2008. **27**(2): p. 314-320.
95. Mensink, R.P. and M.B. Katan, *Effect of a diet enriched with monounsaturated or polyunsaturated fatty acids on levels of low-density and high-density lipoprotein cholesterol in healthy women and men*. N Engl J Med, 1989. **321**(7): p. 436-41.
96. Gimeno, E., et al., *Effect of ingestion of virgin olive oil on human lowdensity lipoprotein composition*. European Journal of Clinical Nutrition, 2002. **56**: p. 114-120.
97. Fito, M.e.a., *Olive oil and oxidative stress*. Mol. Nutr. Food Res., 2007. **51**: p. 1215-1224.
98. Berry, E.M., et al., *Effects of diets rich in monounsaturated fatty acids on plasma lipoproteins--the Jerusalem Nutrition Study: high MUFAs vs high PUFAs*. Am J Clin Nutr, 1991. **53**(4): p. 899-907.
99. Moreno, J.J., et al., *Olive Oil Decreases both Oxidative Stress and the Production of Arachidonic Acid Metabolites by the Prostaglandin G/H Synthase Pathway in Rat Macrophages*. J. Nutr., 2001. **131**: p. 2145-2149.
100. Nakbi, A., et al., *Effects of olive oil and its fractions on oxidative stress and the liver's fatty acid composition in 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid-treated rats*. Nutr Metab (Lond), 2010. **7**: p. 80.
101. Gorinstein, S., et al., *Olive oils improve lipid metabolism and increase antioxidant potential in rats fed diets containing cholesterol*. J Agric Food Chem, 2002. **50**(21): p. 6102-8.
102. Stark, A.H., et al., *Olive Oil as a Functional Food: Epidemiology and Nutritional Approaches*. Nutrition Reviews, 2002. **60**(6): p. 170-176.
103. Ferrara, L.A., et al., *Olive oil and reduced need for antihypertensive medications*. Arch Intern Med, 2000. **160**(6): p. 837-42.
104. Blankenship, J.W., et al., *Uniqueness of dietary olive oil in stimulating aortic prostacyclin production in post-weanling rats*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 1989. **36**(1): p. 31-4.
105. Psaltopoulou, T., et al., *Olive oil intake is inversely related to cancer prevalence: a systematic review and a metaanalysis of 13800 patients and 23340 controls in 19 observational studies*. Lipids in Health and Disease, 2011. **10**(127): p. 1-16.
106. Stoneham, M., et al., *Olive oil, diet and colorectal cancer: an ecological study and a hypothesis*. J Epidemiol Community Health, 2000. **54**(10): p. 756-60.

107. Tsao, R., *Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols*. Nutrients, 2010. 2(12): p. 1231-46.
108. Han, X., et al., *Dietary Polyphenols and Their Biological Significance*. Int. J. Mol. Sci., 2007. 8(950-988).
109. Bravo, L., *Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance*. Nutrition Reviews, 1998. 56(11): p. 317-333.
110. Zern, T.L. and M.L. Fernandez, *Cardioprotective effects of dietary polyphenols*. J Nutr, 2005. 135(10): p. 2291-4.
111. Kris-Etherton, P., et al., *Bioactive Compounds in Foods: Their Role in the Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer*. Am J Med., 2002. 113(9B): p. 71S-88S.
112. Servili, M., et al., *Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil*. Journal of Chromatography A, 2004. 1054: p. 113-127.
113. Tuck, K.L. and P.J. Hayball, *Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects*. J Nutr Biochem, 2002. 13(11): p. 636-644.
114. Cicerale, S., et al., *Chemistry and health of olive oil phenolics*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2009. 49(3): p. 218-36.
115. Granados-Principal, S., et al., *Hydroxytyrosol: from laboratory investigations to future clinical trials*. Nutrition Reviews, 2010. 68(4): p. 191-206.
116. Tripoli, E., et al., *The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health*. Nutr Res Rev, 2005. 18(1): p. 98-112.
117. Cordova, A.C., B.J. Sumpio, and B.E. Sumpio, *Perfecting the plate: adding cardioprotective compounds to the diet*. J Am Coll Surg, 2012. 214(1): p. 97-114.
118. Omar, S.H., *Cardioprotective and neuroprotective roles of oleuropein in olive*. Saudi Pharmaceutical Journal, 2010. 18: p. 111-121.
119. Cicerale, S., L.J. Lucas, and R.S. Keast, *Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil*. Curr Opin Biotechnol, 2012. 23(2): p. 129-35.
120. EL Riachy, M., et al., *Hydrophilic antioxidants of virgin olive oil. Part 1: Hydrophilic phenols: A key factor for virgin olive oil quality*. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 2011. 113: p. 678-691.
121. Fito, M., et al., *Antioxidant effect of virgin olive oil in patients with stable coronary heart disease: a randomized, crossover, controlled, clinical trial*. Atherosclerosis, 2005. 181(1): p. 149-58.

122. Covas, M.I., *Relationship of Olive Oil Polyphenols and Oxidation Biomarkers*. J. Nutr., 2011. **141**: p. 2256.
123. Weinbrenner, T., et al., *Olive oils high in phenolic compounds modulate oxidative/antioxidative status in men*. J Nutr, 2004. **134**(9): p. 2314-21.
124. Konstantinidou, V., et al., *In vivo nutrigenomic effects of virgin olive oil polyphenols within the frame of the Mediterranean diet: a randomized controlled trial*. The FASEB Journal, 2010. **24**: p. 2547-2557.
125. Martínez-Domínguez, E., et al., *Protective effects upon experimental inflammation models of a polyphenol-supplemented virgin olive oil diet*. Inflamm. res., 2001. **50**: p. 102-106.
126. Sotiroudis, T.G., Kyrtopoulos, S.A., *Anticarcinogenic compounds of olive oil and related biomarkers*. Eur J Nutr, 2008. **47**(Suppl 2): p. 69-72.
127. Corona, G., et al., *Inhibition of p38/CREB phosphorylation and COX-2 expression by olive oil polyphenols underlies their anti-proliferative effects*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2007. **362**: p. 606-611.
128. Yumi, Z.H., et al., *Components of Olive Oil and Chemoprevention of Colorectal Cancer*. Nutrition Reviews, 2005. **63**(11): p. 374-386.
129. Fernandez, M.L., et al., *Hamsters and Guinea Pigs Differ in Their Plasma Lipoprotein Cholesterol Distribution when Fed Diets Varying in Animal Protein, Soluble Fiber, or Cholesterol Content*. J.Nutr., 1999. **129**: p. 1323-1332.
130. van Zutphen, L.F., Beynen, A.C., *Principles of Laboratory Animal Science, Revised Edition*. 2001: Elsevier.
131. Kawaguchi, K., et al., *Effects of antioxidant polyphenols on TNF-alpha-related diseases*. Curr Top Med Chem., 2011. **11**(14): p. 1767-1779.
132. Bradley, J.R., *TNF-mediated inflammatory disease*. J Pathol, 2008. **214**(2): p. 149-60.
133. Lykkesfeldt, J., *Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking*. Clinica Chimica Acta, 2007. **380**: p. 50-58.
134. *BIOXYTECH MDA-586*. http://www.oxisresearch.com/product_details_new.html?ProductSelector=21044.