

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ:
ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΤΗΣ
ΠΑΝΟΥ ΙΟΥΛΙΑΣ

ΤΙΤΛΟΣ:
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ
ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΩΝ
ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ
(ΕΦΗΒΩΝ - ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΩΝ)

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

κ. ΑΝΔΡΙΚΟΠΟΥΛΟΣ
κ. ΠΟΛΥΧΡΟΝΟΠΟΥΛΟΣ
κ. ΜΠΟΣΚΟΥ (επιβλέπων)

Αθήνα,
Ιούνιος 2004

ΠΤΥ
ΠΑΝ

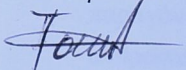
Οι συγγραφείς και ο επιβλέπων της πτυχιακής διατριβής αυτής επιτρέπουν τη μελέτη και αντιγραφή του περιεχομένου της μόνο σε προσωπικό επίπεδο. Κάθε άλλη χρήση περιορίζεται από το δικαίωμα της πνευματικής ιδιοκτησίας και την υποχρέωση να γίνεται αναφορά της πηγής όταν παραθέτονται αποσπάσματα της διατριβής.

Αυθεντικά αντίγραφα φέρουν την υπογραφή των συγγραφέων και του επιβλέποντος

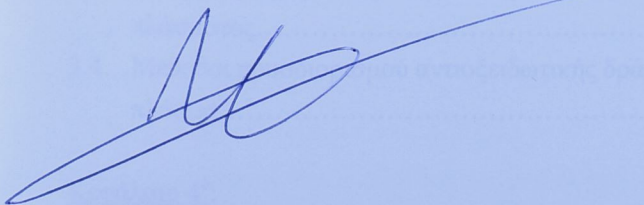
Οι συγγραφείς

Πάνου Ιουλία

Ο επιβλέπων



Δρ. Μπόσκου Γεώργιος



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ:

Πρόλογος.....	σελ: 1
Περίληψη.....	σελ: 3
Summary.....	σελ: 4

Κεφάλαιο 1^ο:

Εισαγωγή

1.1. Αντιοξειδωτικές ουσίες – Γενικές πληροφορίες.....	σελ: 5
1.2. Πηγές αντιοξειδωτικών.....	σελ: 6
1.3. Πολυφαινόλες.....	σελ: 9
1.3.α.Χαρακτηριστικές πολυφαινόλες τροφίμων.....	σελ: 15

Κεφάλαιο 2^ο:

2.1. Μεταβολισμός και βιοδιαθεσιμότητα αντιοξειδωτικών.....	σελ: 28
2.2. Μεταβολισμός και βιοδιαθεσιμότητα πολυφαινολών.....	σελ: 49
2.2.α.Μεταβολισμός και βιοδιαθεσιμότητα φαινολικών συστατικών ελιάς και ελαιολάδου.....	σελ: 58

Κεφάλαιο 3^ο:

3.1. Μηχανισμοί δράσης οξειδωτικών παραγόντων στον ανθρώπινο οργανισμό.....	σελ: 63
3.2. Άμυνα του ανθρώπινου οργανισμού εναντίων των οξειδωτικών παραγόντων - μηχανισμοί δράσης αντιοξειδωτικών ουσιών στο ανθρώπινο πλάσμα.....	σελ: 71
3.3. Επίδραση της ηλικίας στην αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος.....	σελ: 89
3.4. Μέθοδοι προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης στο ανθρώπινο πλάσμα.....	σελ: 94

Κεφάλαιο 4^ο:

Επιδημιολογικά δεδομένα.....	σελ: 107
------------------------------	----------

Κεφάλαιο 5^ο:

Συμπεράσματα.....	σελ: 119
-------------------	----------

Αναφορές – Βιβλιογραφία.....	σελ: 123
------------------------------	----------

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του 4^{ου} έτους φοίτησης στο τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Αντικείμενο της συγκεκριμένης μελέτης αποτελεί η αντιοξειδωτική ικανότητα του ανθρώπινου πλάσματος.

Τα αντιοξειδωτικά και οι μηχανισμοί δράσης τους έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον των επιστημόνων για πολλές δεκαετίες., ενώ αφορούν πολλούς κλάδους της επιστήμης, όπως είναι η Χημεία, η Ιατρική, η Διατροφή και η τεχνολογία τροφίμων. Αρχικά, αυτές οι αντιοξειδωτικοί παράγοντες αξιοποιήθηκαν στη βιομηχανία τροφίμων, ως πρόσθετα των τροφών λιπαρής φύσης, για τη διατήρηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους. Ωστόσο, επιδημιολογικές παρατηρήσεις, που υποστηρίζουν ότι η αυξημένη πρόσληψη φρούτων και λαχανικών, ελαιολάδου, τσαγιού, και η μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού, τροφών πλούσιων σε αντιοξειδωτικά συστατικά, σχετίζεται με τη μειωμένη επίπτωση διαφόρων χρόνιων εκφυλιστικών νοσημάτων, όπως είναι ο καρκίνος, η στεφανιαία νόσος, ο διαβήτης, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η νόσος Alzheimer και το AIDS, στους πληθυσμούς εμφάνιζαν τα παραπάνω χαρακτηριστικά στη δίαιτά τους, ώθησε το ερευνητικό ενδιαφέρον στη μελέτη της δράσης των αντιοξειδωτικών στην πρόληψη των παραπάνω ασθενειών. Συνεχώς, λοιπόν, ανακαλύπτονται νέα δεδομένα για τη συμβολή των αντιοξειδωτικών στην υγεία του ανθρώπου, γεγονός που εδραιώνει τον πολύ βασικό ρόλο τους.

Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι στις ασθένειες που προαναφέρθηκαν, η βάση των οποίων έγκειται στη δημιουργία ελεύθερων ριζών και άλλων ενεργών μορίων μέσα στον οργανισμό, είναι περισσότερο επιρρεπείς οι ηλικιωμένοι σε σχέση με τα άτομα των άλλων ηλικιακών ομάδων, η συγκεκριμένη πτυχιακή έρευνα επικεντρώθηκε στη μελέτη της αντιοξειδωτικής «δύναμης» του πλάσματος των ηλικιωμένων και στη διερεύνηση του ρόλου της αυξημένης πρόσληψης διαιτητικών αντιοξειδωτικών στα άτομα αυτά. Από όλα τα είδη αντιοξειδωτικών, ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στις πολυφαινόλες, κυρίως στα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου.

Για την εύρεση των δεδομένων που υπάρχουν σχετικά με το θέμα που οικειοποιείται η μελέτη αυτή έγινε ανασκόπηση της υπάρχουσας βιβλιογραφίας, καθώς και αναζήτηση στο διαδίκτυο πρόσφατων ερευνών και στατιστικών δεδομένων.

Τέλος, νοιώθω ότι θα έπρεπε να απευθυνθούν ευχαριστίες στον επιβλέποντα καθηγητή κ. Μπόσκου Γεώργιο, ο οποίος καθ' όλη τη διάρκεια του έτους στάθηκε πρόθυμος να βοηθήσει, να συμβουλευθεί και να καθοδηγήσει, όπου έκρινε σκόπιμο, την πορεία της εργασίας μου.

Πάνου Ιουλία

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα πτυχιακή μελέτη έγινε ανασκόπηση της υπάρχουσας βιβλιογραφίας και έρευνας σχετικά με την αντιοξειδωτική ικανότητα του ανθρώπινου πλάσματος. Το ενδιαφέρον επικεντρώθηκε σε δυο ηλικιακές ομάδες, τους ηλικιωμένους και τους εφήβους. Για τους τελευταίους, όμως, βρέθηκαν πολύ περιορισμένα δεδομένα. Επίσης, ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στις πολυφαινόλες, κυρίως τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου. Ακόμα, στα κείμενα έγινε μια σύντομη αναφορά στις μεθόδους μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος. Τέλος, έγινε ανασκόπηση των πρόσφατων επιδημιολογικών δεδομένων που υπάρχουν σχετικά με την κατανάλωση τροφών πλούσιων σε αντιοξειδωτικά και την υγεία. Από τη συγκεκριμένη μελέτη προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα: Η αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος είναι το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης διαφόρων ενδογενών (ένζυμα και άλλοι παράγοντες) και διατροφικών παραγόντων. Οι παράγοντες αυτοί εμπλέκονται σε συστήματα που προλαμβάνουν ή αντιμετωπίζουν την οξειδωτική καταστροφή που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες και άλλα ενεργά μόρια. Τα μόρια αυτά σχηματίζονται μέσω διαφόρων διεργασιών από το O_2 και το N_2 . Όσον αφορά στην απορρόφηση των διαιτητικών αντιοξειδωτικών, από την οποία εξαρτάται, έως ένα βαθμό, η αντιοξειδωτική τους δύναμη, αυτή είναι σχεδόν πλήρης για όλα, με εξαίρεση τις πολυφαινόλες. Οι τελευταίες εμφανίζουν φτωχή βιοδιαθεσιμότητα. Ωστόσο, η αντιοξειδωτική δράση τους είναι πολύ ισχυρή. Η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος επηρεάζεται, επίσης, από την ηλικία. Βρέθηκε ότι αυτή είναι πολύ αυξημένη κατά την πρώιμη παιδική ηλικία, αυξημένη σε υγιείς εφήβους, ενώ σημαντικά μειωμένη κατά τη γήρανση. Τέλος, τα ευρήματα των επιδημιολογικών ερευνών που μελετήθηκαν αποδεικνύουν τη σημαντική συμβολή των αντιοξειδωτικών στην πρόληψη του καρκίνου, της στεφανιαίας νόσου και στην προστασία από τις επιπτώσεις της ρευματοειδούς αρθρίτιδας.

SUMMARY

In this study, current bibliography that is relative to plasma antioxidant capacity was reviewed. Much attention was paid to two age groups, the old age and adolescence, as well as polyphenols, mainly those contained in olive oil. In addition, the methods which plasma antioxidant capacity is measured with are briefly described in the text. The study came to the below conclusions: Plasma antioxidant capacity is the effect of various endogenous (enzymes and other factors) and dietary factors interactions. These factors take part in systems, which protect the organism by oxidative destruction. Oxidative destruction is induced by free radicals and other reactive species, which are formed by O_2 and N_2 . As regards absorbtion of dietary antioxidants, which affects, to some extent, their antioxidant power, this almost comes near to 100%. Polyphenols are an exception to this. Their bioavailability is poor. However, their antioxidant power is very powerful. Notably, this is very increased in childhood, high in adolescence, albeit low in the old age. In the end, the epidimiologic studies proved that contribution of antioxidants in prevention of cancer, cardiovascular disease and reumatoid arthritis is major.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1ο:

ΕΙΣΑΓΩΓΗ:

1.1. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ –ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ:

Τι είναι τα αντιοξειδωτικά:

Τα αντιοξειδωτικά σχετίζονται τόσο με την τεχνολογία τροφίμων, όσο και με τις επιστήμες υγείας. Αν και, συχνά, οι ουσίες αυτές προστίθενται στα τρόφιμα ως σταθεροποιητικά και βελτιωτικά γεύσης, αρκετά μεγάλο ενδιαφέρον έχει εκφραστεί σχετικά με το ρόλο τους ως θεραπευτικούς παράγοντες. Επίσης, τα αντιοξειδωτικά είναι σημαντικά συστατικά των φρούτων και των λαχανικών, καθώς και μερικών άλλων τροφίμων και αφεψημάτων (καφές, τσάι, κρασί). Πρόκειται για συστατικά τα οποία, όταν βρίσκονται στα τρόφιμα ή στο σώμα, σε μικρές, κατά κανόνα, συγκεντρώσεις σε σχέση με ένα ευαίσθητο στην οξείδωση υπόστρωμα, καθυστερούν ή παρεμποδίζουν την οξείδωση αυτού του υποστρώματος, σε σημαντικό βαθμό.

Ποιος είναι ο ρόλος των αντιοξειδωτικών:

Σπουδαίος είναι ο ρόλος των αντιοξειδωτικών ουσιών στη βιομηχανία τροφίμων. Οι ουσίες αυτές προστίθενται τόσο στα λίπη, όσο και στα τρόφιμα που περιέχουν λιπαρή ύλη με σκοπό να επιβραδύνουν την οξείδωσή τους, η οποία δημιουργεί προβλήματα στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων αυτών. Έτσι, η προσθήκη των αντιοξειδωτικών καθιστά τα τρόφιμα εύληπτα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Η ιδιότητα αυτή των αντιοξειδωτικών δεν περιορίζεται μόνο στη συντήρηση των λιπαρών τροφίμων, αλλά αξιοποιείται για τη διατήρηση και άλλων τροφίμων τα οποία είναι επιρρεπή στις συνέπειες της οξείδωσης, όπως είναι τα φρούτα και τα λαχανικά. Για παράδειγμα, για την παρεμπόδιση της οξειδωτικής αμαύρωσης σε ορισμένα φρούτα ή λαχανικά γίνεται προσθήκη ασκορβικού οξέος. Το ασκορβικό οξύ δρα αναγωγικά, εμποδίζοντας με αυτόν τον τρόπο την οξείδωση των διφαινολών προς κινόνες, αντίδραση η οποία ευθύνεται για την αμαύρωση που λαμβάνει χώρα στα τρόφιμα αυτά και η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αλλοίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους.

Ως πρόσθετα τροφίμων, τα αντιοξειδωτικά πρέπει να πληρούν τις παρακάτω προϋποθέσεις:

- Να είναι αποτελεσματικά σε πολύ μικρή περιεκτικότητα.
- Να μην έχουν καμία βλαβερή επίδραση στην υγεία του ανθρώπου.
- Να μην προσδίνουν στο τρόφιμο δυσάρεστη οσμή ή γεύση.

- Να είναι, έστω και ελάχιστα, λιποδιαλυτά.
 - Να είναι όσο το δυνατό περισσότερο σταθερά, στα διάφορα στάδια επεξεργασίας των τροφίμων
- (Μπόσκου, 1997)

Έχοντας, επίσης, την ικανότητα να καταστρέφουν τις ελεύθερες ρίζες, οι οποίες προκαλούν αστάθεια στους διάφορους ζωικούς ιστούς, τα αντιοξειδωτικά θεωρούνται ότι παίζουν πολύ βασικό ρόλο στην προστασία του ανθρώπινου οργανισμού από διάφορες εκφυλιστικές ασθένειες, όπως είναι τα καρδιαγγειακά νοσήματα, διάφορες μορφές καρκίνου, ασθένειες που σχετίζονται με το νευρικό και το ανοσοποιητικό σύστημα, κ.τ.λ.

Όλα τα παραπάνω δικαιολογούν το γεγονός ότι τα αντιοξειδωτικά κερδίζουν ολοένα και περισσότερο το ενδιαφέρον τόσο των επιστημόνων υγείας, όσο και των τεχνολόγων τροφίμων, οι οποίοι μελετούν τους μηχανισμούς δράσης των ουσιών αυτών στα τρόφιμα αλλά και στους ζωντανούς οργανισμούς, με σκοπό τη διαλεύκανση των αρχών που τους διέπει, την καλύτερη κατανόηση του φαινομένου της *συνέργειας* (synergism) μεταξύ διαφόρων αντιοξειδωτικών συστατικών, καθώς, επίσης, και την ανακάλυψη νέων ουσιών, συστατικών ή παραγόντων που εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση.

1.2. ΠΗΓΕΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ:

Όσον αφορά στην προέλευση των αντιοξειδωτικών, αυτά θα μπορούσαν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες:

Φυσικά αντιοξειδωτικά, τα οποία είναι συστατικά των φυσικών τροφίμων. Σημαντικές πηγές αυτής της ομάδας αντιοξειδωτικών ουσιών αποτελούν τα φρούτα και τα λαχανικά. Παραδείγματα τέτοιων ουσιών αποτελούν η βιταμίνη E, η βιταμίνη C, τα καροτενοειδή, το σελήνιο, καθώς και οι πολυφαινόλες.

Ενδογενή αντιοξειδωτικά, τα οποία αποτελούν τη φυσική άμυνα των ζωντανών οργανισμών απέναντι στις οξειδωτικές διαδικασίες που συμβαίνουν για διάφορους λόγους σε αυτούς. Τα ενδογενή αντιοξειδωτικά διακρίνονται περαιτέρω σε:

- ❖ *Ενδογενείς αμυντικούς παράγοντες*, όπως είναι διάφορες πρωτεΐνες (π.χ. η γλουταθειόνη) και
- ❖ *Αντιοξειδωτικά ένζυμα*, όπως είναι η δισμουτάση του υπεροξειδίου.

Συνθετικά αντιοξειδωτικά.

Παρακάτω, παρατίθενται ενδεικτικά μερικές καλές πηγές φυσικών αντιοξειδωτικών ουσιών:

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ	ΠΗΓΕΣ
Φλαβόνες & Φλαβονόλες	κρεμμύδια, πράσινα λαχανικά, τσάι, μήλα
Χλωρογενικό οξύ	καφές, καρότα, πατάτες
Φερουλικό οξύ	δημητριακά, μονοκοτυλήδονα λαχανικά, παντζάρια
Κατεχίνες	τσάι, μήλα, σταφύλια (& κρασί), σοκολάτα
Ισοφλαβόνες	όσπρια (κυρίως σόγια & μαύρα φασόλια)
Λιγνάνες	δημητριακά
β-Καροτένιο	κολοκύθα
Κρυπτοξανθίνες	κόκκινη πιπεριά, κολοκύθα
Λουτεΐνη	σπανάκι & άλλα φυλλώδη λαχανικά, καλαμπόκι
Λυκοπένιο	τομάτες, καρπούζι
Βιταμίνη C	πορτοκάλια, μαύρες σταφίδες, μάνγκο, μπρόκολο, σπανάκι, πιπεριά, φράουλες
Βιταμίνη E	φυτικά έλαια, αβοκάντο, καρύδια, σπόροι & ολικής αλέσεως δημητριακά
Σελήνιο	δημητριακά ολικής αλέσεως, θαλασσίνα, άπαχο κρέας, εντόσθια ζώων
Μαγνήσιο	ξηροί καρποί, σύκα, κακάο, καφές, τσάι, θαλασσίνα, όσπρια, δημητριακά ολικής αλέσεως
Ψευδάργυρος	θαλασσίνα, άπαχο κρέας, γάλα, σύκα, μανιτάρια, ξηροί καρποί
Χαλκός	Εντόσθια, κακάο, όσπρια, δημητριακά ολικής αλέσεως

(Stalh, 2002, Monsen, 2000, Mahan, 2000)

Πιν. 1.1: Μερικά παραδείγματα πλούσιων πηγών των διαφόρων ειδών αντιοξειδωτικών

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, εκτός από τα φυσικά αντιοξειδωτικά, τα οποία συναντώνται, κατά κύριο λόγο, στα φρούτα, στα λαχανικά και στα ολικής αλέσεως δημητριακά, αλλά και σε φυτικά έλαια καθώς και, σε μικρότερο βαθμό βέβαια, ζωικής προέλευσης τρόφιμα, υπάρχουν και τα συνθετικά αντιοξειδωτικά. Τα πιο ευρέως διαδεδομένα από αυτά είναι:

- Η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA), η οποία αποτελεί μίγμα δυο ισομερών, της 2-τρι-βουτυλο-4-μεθοξυφαινόλης και της 3-τρι-βουτυλο-4-μεθοξυφαινόλης.
- Το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT), δηλαδή η 2,6-δι-τρι-βουτυλο-παρακρεσόλη.
- Η δι- ή τρι-βουτυλο-υδροκινόνη (TBHQ).
- Ο προπυλικός εστέρας του γαλλικού οξέος (PG).

Η χρήση αυτών των αντιοξειδωτικών ξεκίνησε περίπου εξήντα χρόνια πριν, οπότε η BHA και, στη συνέχεια, αλκυλ-εστέρες του γαλλικού οξέος επιδέχτηκαν την πρώτη έγκριση. Στη συνέχεια, όμως, ανακαλύφθηκαν και άλλα αντιοξειδωτικά, τα οποία έχουν την ιδιότητα να απενεργοποιούν μεταλλικά ιόντα, όπως ο χαλκός και ο σίδηρος, και να εμποδίζουν με αυτόν τον τρόπο τις προ-οξειδωτικές ικανότητες των μετάλλων αυτών. Τέτοια συνθετικά αντιοξειδωτικά είναι:

- το κιτρικό οξύ (CA).
- το αιθυλεν-διαμιν-τετρ-ασετικό οξύ (EDTA)
- και τα πολυφωσφορικά άλατα ή παράγωγα.

Αυτά τα αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται μόνα τους ή σε συνδυασμό και έχουν, έως ένα βαθμό περιορίσει τη χρήση των πρώτων. Εξάλλου, πρόσφατα, εκφράστηκε ιδιαίτερη ανησυχία για το πόσο ασφαλή είναι τα συνθετικά αντιοξειδωτικά, εξαιτίας της πιθανότητας να εμφανίζουν καρκινογόνο δράση. Το αποτέλεσμα ήταν να εκτοπιστεί η BHA από τη λίστα των GRAS (*Generally Recognized As Safe*), ενώ η χρήση της TBHQ γίνεται πλέον με αρκετή προκατάληψη και επιφυλακτικότητα, σε μερικές χώρες.

Εκτός βέβαια από τα συνθετικά αντιοξειδωτικά, υπάρχουν και εμπορικές μορφές αντιοξειδωτικών σε ειδικά σκευάσματα. Τέτοια σκευάσματα περιλαμβάνουν:

- Τοκοφερόλες, οι οποίες προέρχονται από εδώδιμα λίπη και έλαια, όπως είναι το λίπος της σόγιας (τοκοφερόλες) ή το λίπος από κόκκο ρυζιού ή κριθαριού (τοκοτριενόλες), αναμεμιγμένες με λεκιθίνη ή άλλα φωσφολιπίδια και ασκορβικό οξύ, με τα οποία εμφανίζει ισχυρή συνέργεια.
- Εκχυλίσματα καρυκευμάτων, βοτάνων και άλλα εκχυλίσματα, τα οποία περιέχουν συστατικά με αντιοξειδωτικές ιδιότητες, όπως είναι η καρνοσόλη, το καρνοσικό οξύ, η ροζμαρινοδιφαινόλη, το ροζμαρινικό οξύ, η ροζμανόλη και η ροζμαρινοκινόλη. Συχνά χρησιμοποιούνται, για παράδειγμα εκχυλίσματα χαμομηλιού και δενδρολίβανου για την προσθήκη σε λιπαρές τροφές.
- Εκχυλίσματα τσαγιού, τα οποία περιέχουν κατεχίνες, συστατικά με αντιοξειδωτική δράση.
- Καροτενοειδή, κυρίως β -καροτένιο, τα οποία μπορούν να παραχθούν, σε εμπορική μορφή από τροφές όπως το καρότο.

Το γεγονός ότι τα συνθετικά αντιοξειδωτικά, ως πρόσθετα τροφίμων, δεν παρέχουν στους καταναλωτές την ασφάλεια που θα ήθελαν να νοιώθουν σχετικά με την τροφή που προσλαμβάνουν, υπάρχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον από τη βιομηχανία τροφίμων και επιθυμία από τη μεριά των καταναλωτών να αντικατασταθούν τα συνθετικά από αντιοξειδωτικά φυσικής προέλευσης. Αυτό, ταυτόχρονα, κάνει επιτακτική την ανάγκη για επιπλέον έρευνα που αφορά στο πεδίο των αντιοξειδωτικών ώστε να διευκρινιστεί ο ακριβής ρόλος τους και μηχανισμός δράσης τους.

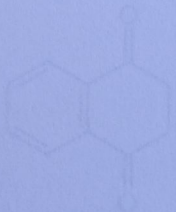
Τα ενδογενή αντιοξειδωτικά θα περιγραφούν αναλυτικά παρακάτω, στο κεφάλαιο 3.2.

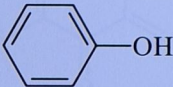
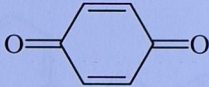
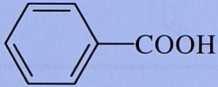
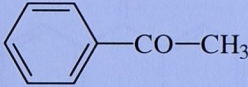
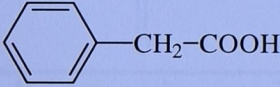
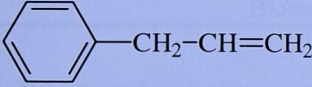
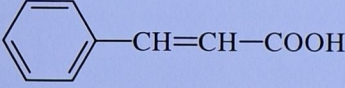
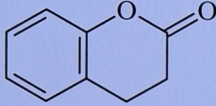
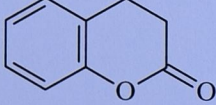
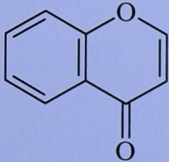
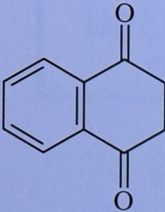
1.3. ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ:

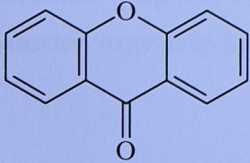
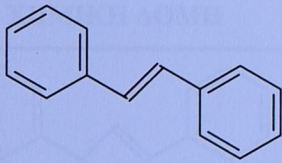
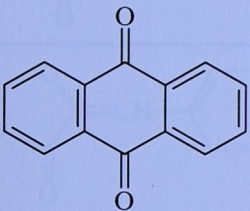
Με τον όρο «πολυφαινόλες» νοείται μια μεγάλη ομάδα ενώσεων με ένα ή περισσότερα υδροξύλια (OH^-) απ' ευθείας συνδεδεμένα σε έναν ή περισσότερους αρωματικούς ή και ετεροκυκλικούς δακτύλιους (Χίου, 2003). Αποτελούν μια ομάδα από περίπλοκες χημικές ενώσεις που είναι παρούσες στα περισσότερα φυτά και φυτικής προέλευσης τρόφιμα. Έτσι, αποτελούν συστατικά της ανθρώπινης διατροφής. Η πολυπλοκότητά τους αυτή καθιστά την ανάλυσή τους στα τρόφιμα δύσκολη.

Τα τελευταία χρόνια, οι πολυφαινόλες κερδίζουν, συνεχώς, το ενδιαφέρον των ερευνητών και των επιστημόνων υγείας, καθώς και των τεχνολόγων τροφίμων για διάφορους λόγους. Αποτελέσματα επιδημιολογικών ερευνών έχουν δείξει ότι υπάρχει σχέση μεταξύ της κατανάλωσης τροφίμων ή αφεψημάτων πλούσιων σε πολυφαινόλες και της πρόληψης ποικίλων εκφυλιστικών ασθενειών. Η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών έχει αποδειχτεί ότι λειτουργεί προστατευτικά εναντίον διαφόρων μορφών καρκίνου (Steinmetz και Potter, 1996). Μπορεί επίσης, να προλάβει την εμφάνιση εγκεφαλικού επεισοδίου (Ness και Powles, 1997), ενώ η μέτρια κατανάλωση κρασιού πιθανόν να προλαμβάνει την εκδήλωση στεφανιαίας νόσου (Criqui και Ringel, 1994). Επιπλέον, η κατανάλωση τσαγιού έχει βρεθεί από μερικές έρευνες ότι μπορεί να προστατεύσει εναντίον της ανάπτυξης νεοπλασματικών ασθενειών και στεφανιαίας νόσου (Tijburg, 1997). Τέλος, και η κατανάλωση σόγιας έχει βρεθεί ότι μπορεί να επιδράσει προστατευτικά εναντίον του καρκίνου του μαστού και την οστεοπόρωση σε γυναίκες (Adlercreutz και Mazur, 1997).

Οι πολυφαινόλες είναι αναγωγικοί παράγοντες και, μαζί με τα άλλα αντιοξειδωτικά, όπως είναι η βιταμίνη C, η βιταμίνη E και τα καροτενοειδή, θεωρείται ότι παρέχουν κάποιας μορφής προστασία στον οργανισμό από το οξειδωτικό στρες. Ωστόσο, η ποικιλοπλοκότητα της χημικής δομής τους τις καθιστά διαφορετικές από τα υπόλοιπα αντιοξειδωτικά. Η δομή τους μπορεί να ποικίλει, από απλή (π.χ. φαινολικά οξέα) έως αρκετά πολύπλοκη (π.χ. ταννίνες) (Χίου, 2003). Παρακάτω, παρατίθενται οι βασικές κατηγορίες των πολυφαινολικών ενώσεων, η χημική τους δομή και μερικά παραδείγματα:



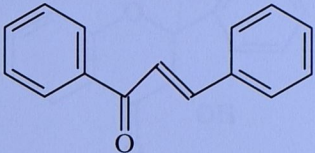
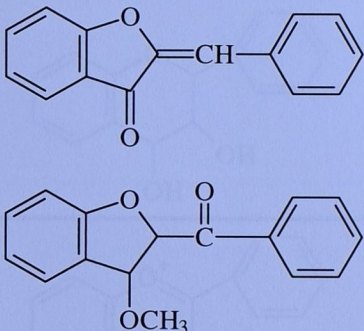
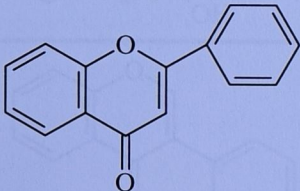
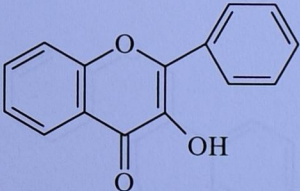
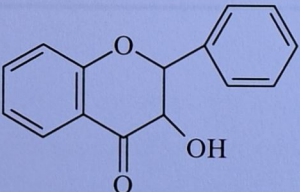
ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΗΣ	ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ	ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ
Απλές φαινόλες		Τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη
Βενζοκινόνες		
Φαινολικά οφέα		Γαλλικό, συριγγικό, βανιλλικό
Ακετοφαινόνες		Λιγότερο συχνά στα φυτά
Φαινυλοξικά οξέα		
Φαινυλοπροπανοειδή		
(Υδροξυ)κιναμμωμικά οξέα		Φερουλικό, καφεϊκό, σιναπικό, κουμαρικό
Κουμαρίνες, Ισοκουμαρίνες	 	Συνήθως ως γλυκοζίτες
Χρωμόνες		
Ναφθοκινόνες		

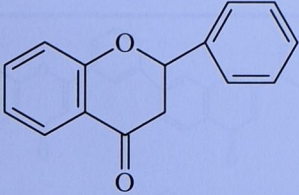
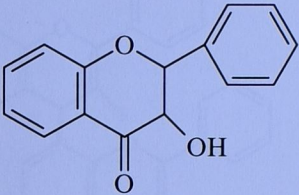
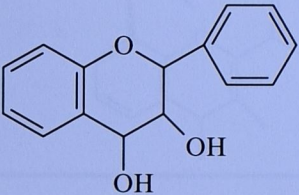
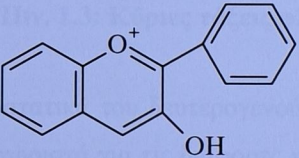
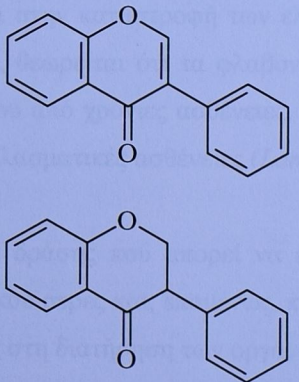
Ξανθόνες		
Στιλβένια		Ρεσβερατρόλη
Ανθρακινόνες		Εμοδίνη
Λιγνάνες, νεολιγνάνες, λιγνίνες		
Φλαβονοειδή	Βλέπε Πίνακα 1.3	

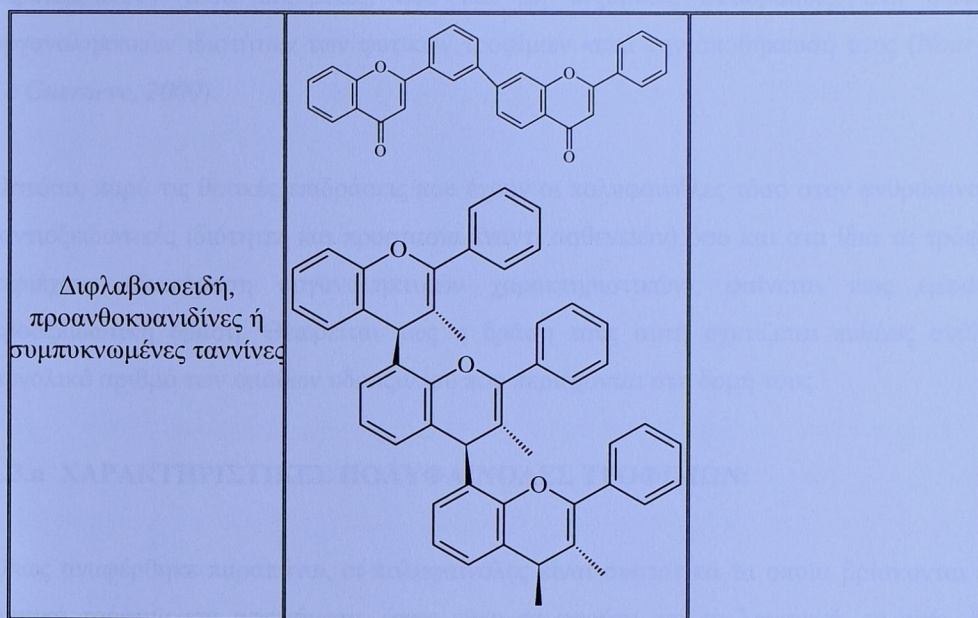
(Harborne, 1994)

Πιν. 1.2: Κύριες τάξεις πολυφαινολικών ενώσεων

Τα φλαβονοειδή θεωρούνται ότι αποτελούν την πιο πολυπληθή ομάδα, μεταξύ των διαφόρων κατηγοριών των πολυφαινολικών ενώσεων, στην ανθρώπινη διατροφή. Μπορούν να ταξινομηθούν σε δέκα υποκατηγορίες:

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΟΥΣ	ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ	ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ
Χαλκόνες		
Χρυσόνες		
Φλαβόνες		Απιγενίνη, λουτεολίνη, διοσμίνη Ο-γλυκοζίτες & C- γλυκοζίτες
Φλαβονόλες		Κερκετίνη, μυρισετίνη Συνήθως ως Ο-γλυκοζίτες
Διϋδροφλαβονόλες		

Φλαβανόνες		Ναριγγενίνη, εσπεριδίνη
Φλαβανόλες		
Φλαβανοδιόλες		
Ανθοκυανιδίνες		Πελαργονιδίνη, δελφινιδίνη
Ισοφλαβονοειδή		Γενιστεΐνη



(Harborne, 1994)

Πιν. 1.3: Κύριες τάξεις φλαβονοειδών

Τα φλαβονοειδή αποτελούν συστατικά του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών και έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί ξεχωριστά για τις διάφορες κατηγορίες τους έχουν αποδείξει ότι αυτά είναι αποτελεσματικά απέναντι στην καταστροφή των ελεύθερων ριζών και την απενεργοποίηση μεταλλικών ιόντων. Επομένως, θεωρείται ότι τα φλαβονοειδή παίζουν βασικό ρόλο όσον αφορά στην προστασία του οργανισμού από χρόνιες ασθένειες, όπως είναι η στεφανιαία νόσος (Leenen, 2002, Visioli, 2000) και οι νεοπλασματικές ασθένειες (Lambert, 2003).

Επιπλέον της προστατευτικής δράσης που μπορεί να έχουν οι πολυφαινόλες στον ανθρώπινο οργανισμό έναντι του οξειδωτικού στρες και, επομένως, και των χρόνιων εκφυλιστικών ασθενειών, σπουδαία είναι η συμβολή τους στη διατήρηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των φυτικής προέλευσης τροφίμων και, άρα, σχετίζονται άμεσα με την ποιότητα των τροφίμων. Ο ρόλος των φαινολικών συστατικών στη χημεία των φυτικών τροφίμων έχει απασχολήσει από παλιά τους ερευνητές (Singleton και Esau, 1969, Peynaud, 1984). Έχει αποδειχτεί ότι τα φαινολικά συστατικά των φυτικών τροφίμων ευθύνονται για το χρώμα ή τη γεύση τους. Για παράδειγμα, οι ανθοκυανίνες προσδίδουν το κόκκινο, μπλε ή μοβ χρώμα των φρούτων και των λαχανικών που τις περιέχουν, ενώ οι φλαβονόλες και οι ταννίνες είναι υπεύθυνες, έως ένα βαθμό, για τη γεύση και την οξύτητα. Πλέον, θεωρείται ότι τα φαινολικά αυτά συστατικά συμβάλλουν, με διάφορους μηχανισμούς που

περιλαμβάνουν τόσο ενζυμικές, όσο και μη ενζυμικές αντιδράσεις, στη διατήρηση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων των φυτικών τροφίμων κατά την αποθήκευσή τους (*Nour-Eddine και Le Guerneve, 2000*).

Ωστόσο, παρά τις θετικές επιδράσεις που έχουν οι πολυφαινόλες τόσο στον ανθρώπινο οργανισμό (αντιοξειδωτικές ιδιότητες και προστασία έναντι ασθενειών) όσο και στα ίδια τα τρόφιμα που τις περιέχουν (διατήρηση οργανοληπτικών χαρακτηριστικών), φαίνεται πως εμφανίζουν και προοξειδωτική δράση. Θεωρείται πως η δράση τους αυτή σχετίζεται ευθέως ανάλογα με το συνολικό αριθμό των ομάδων υδροξυλίου που περιέχονται στη δομή τους.

1.3.α ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΕΣ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ:

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι πολυφαινόλες είναι συστατικά τα οποία βρίσκονται σε διάφορα φυσικά τρόφιμα και αφεγήματα, όπως είναι τα φρούτα και τα λαχανικά, το τσάι, ο καφές, το κακάο, η σοκολάτα, το κρασί, τα δημητριακά και τα φυτικά έλαια. Όλες οι τάξεις των φαινολικών συστατικών, όπως αυτές κατηγοριοποιήθηκαν στην προηγούμενη ενότητα, δε βρίσκονται απαραίτητα σε όλα τα τρόφιμα. Μάλιστα, ειδικές ομάδες πολυφαινολών απαντώνται σε μεγάλες ποσότητες σε συγκεκριμένα τρόφιμα, έτσι ώστε να αποτελούν χαρακτηριστικό γνώρισμα αυτών. Σε αυτό το κεφάλαιο θα γίνει μια συνοπτική περιγραφή των φαινολικών συστατικών τα οποία απαντώνται στα τρόφιμα.

- Πολυφαινόλες τσαγιού:

Το τσάι αποτελεί ένα «ασυνήθιστο» τρόφιμο. Δεν ανήκει στην κατηγορία των φρούτων ή των λαχανικών και περιέχει μικρή ποσότητα θρεπτικών συστατικών, αλλά είναι πλούσιο σε φλαβονοειδή (ειδική κατηγορία πολυφαινολών) (*Balentine, 1997*). Το τσάι προέρχεται από το βράσιμο των ξηρών φύλλων του φυτού *Camelia sinensis*, της οικογένειας *Theaceae*, με νερό. Καταναλώνεται ευρέως σε όλο τον κόσμο και, ως αφέψημα, έρχεται δεύτερο σε κατανάλωση μετά το νερό (*Lee, 2002*). Εκτός από το ευχάριστο άρωμα και τη γεύση, η κατανάλωση του τσαγιού, εξαιτίας των φλαβονοειδών που περιέχει, έχει σχετιστεί με πολλές θετικές επιδράσεις στην υγεία, όπως είναι η πρόληψη του καρκίνου, των καρδιαγγειακών νοσημάτων και του καταρράκτη (*Lambert, 2003*).

Οι κύριες πολυφαινόλες του τσαγιού είναι οι παρακάτω:

A) Κατεχίνες, οι οποίες ανήκουν στην κατηγορία των φλαβονολών (βλέπε ενότητα 1.3). Οι κατεχίνες που περιέχονται στο τσάι είναι οι (-)-επικατεχίνη (EC), (-)-3-γαλλική-επικατεχίνη (ECG), (-)-επιγαλλοκατεχίνη (EGC) και (-)-3-γαλλική επιγαλλοκατεχίνη (EGCG), με την τελευταία να αποτελεί και το βασικό συστατικό.

B) Θεαφλαβίνες (TF) και θεαρουμπιγίνες (TR), που ανήκουν στην κατηγορία των φλαβονολών. Αυτές οι δυο ομάδες παράγονται κατά τη διάρκεια της παρασκευής του μαύρου τσαγιού. Επομένως, δεν απαντώνται στο πράσινο τσάι. Πρόκειται για ετερογενείς ενώσεις με μεγάλο βαθμό πολυμερισμού οι οποίες είναι δύσκολο να αναλυθούν.

Ένα τυπικό φλιτζάνι τσαγιού (200mL) περιέχει 166–193mg πολυφαινόλων συνολικά. Συγκεκριμένα, 24–40mg κατεχινών, 8–15mg φλαβονολών και φλαβονών, περίπου 85mg θεαρουμπιγκινών και 7–15mg θεαφλαβινών. Στο πράσινο τσάι, οι κατεχίνες αντιπροσωπεύουν το 80–90% των πολυφαινολικών φλαβονοειδών, ενώ υπάρχει και μια μικρή ποσότητα φλαβονολών (καμπεφερόλη, κερκετίνη και γλυκοζίτες μυρικετίνης) σε ποσοστό μικρότερο του 10%. Αυτές οι φλαβονόλες σχηματίζουν πολύπλοκα προϊόντα, τις θεαφλαβίνες και τις θεαρουμπιγίνες, κατά την παρασκευή του μαύρου τσαγιού. Η περιεκτικότητα του μαύρου τσαγιού σε κατεχίνες είναι μόνο 20–30%, ενώ οι θεαφλαβίνες και θεαρουμπιγκίνες περιέχονται σε ποσοστό ~10 και 50–60%, αντίστοιχα (Riemersma, 2001).

- Πολυφαινόλες κακάο και σκούρας σοκολάτας:

Ως προς την περιεκτικότητά τους σε πολυφαινόλες, τα δυο αυτά τρόφιμα θα μπορούσαν να θεωρηθούν παρεμφερή του τσαγιού. Έχει βρεθεί ότι συγκεκριμένοι τύποι κακάο και σοκολάτας μπορούν να αποτελέσουν σημαντικές πηγές φλαβονοειδών. Τα κύρια φαινολικά συστατικά που περιέχονται σε αυτά είναι:

A) Προκυανιδίνες. Πρόκειται, κατά κύριο λόγο για ολιγομερή φλαβονοειδή, ενώ, λιγότερο συχνά, μπορούν να υπάρχουν και ως μονομερή φλαβαν-3-όλης. Τα συστατικά αυτά στον καρπό του κακάο (*Theobroma cacao*) συνιστούν το 12-18% του ξηρού βάρους του, ποσοστό αρκετά μεγάλο.

B) Κατεχίνες. Οι κατεχίνες ανήκουν στην κατηγορία των φλαβονολών και περιέχονται, επίσης, σε μεγάλες ποσότητες στο τσάι, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Η μέση περιεκτικότητα της σκούρας σοκολάτας σε κατεχίνες είναι 0,535mg/g, 4 φορές μεγαλύτερη από αυτή του τσαγιού (139mg/L). Σε ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα του ολλανδικού πληθυσμού βρέθηκε ότι η κατανάλωση σοκολάτας συνέβαλε στο 20% της πρόσληψης κατεχινών ενώ το τσάι στο 55%. Σε νεότερες ηλικιακές ομάδες, όπου η κατανάλωση σοκολάτας, πιθανόν, είναι προτιμότερη από το τσάι, και σε χώρες όπου το τσάι καταναλώνεται σε μικρές ποσότητες, αυτή μπορεί να αποτελεί σημαντικότερη

πηγή κατεχινών και των oligομερών τους, των προκυανιδινών. Επομένως, το κακάο και σοκολάτα, μπορούν να συμβάλλουν, σε μεγάλο ποσοστό, στην πρόσληψη διαιτητικών φλαβονοειδών, σε συνδυασμό με το τσάι (Wan, 2001).

Πρόσφατες μελέτες έχουν αποδείξει ότι η κατανάλωση σοκολάτας και κακάο μπορεί να επιφέρει οφέλη στην υγεία, τα οποία σχετίζονται με την προστασία εναντίον της αθηροσκληρωτικής διαδικασίας. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι εκχυλίσματα από σκόνη κακάο και σοκολάτας έχουν ισχυρή ανασταλτική δράση κατά της οξειδωσης της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (Low Density Lipoprotein, LDL). Επιπλέον, οι πολυφαινόλες της σοκολάτας έχει αποδειχτεί ότι συμβάλλουν στη ρύθμιση των ανοσολογικών λειτουργιών του οργανισμού (Sanbongi, 1997).

- Πολυφαινόλες κρασιού:

Πρόκειται για ένα ποτό το οποίο καταναλώνεται εδώ και πολλούς αιώνες, κυρίως από τους μεσογειακούς λαούς. Προέρχεται από το χυμό του σταφυλιού (*Vitis vinifera*) ύστερα από ειδικές ενζυμικές κατεργασίες, οι οποίες συμβαίνουν φυσικά. Το κρασί φημίζεται από παλιά για το ευχάριστο συναίσθημα που προκαλεί η πόση του. Επιπλέον, οι επιδράσεις του στην υγεία έχουν αποτελέσει, εδώ και αιώνες, αμφιλεγόμενο θέμα. Έχει θεωρηθεί ως διεγερτικό, ορεκτικό, ακόμα και αναλγητικό για πολλούς πόνους του σώματος. Από την άλλη μεριά, η αυξημένη κατανάλωση κρασιού μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές δυσλειτουργίες, όπως είναι το σύνδρομο Wernicke-Korsakov, η μυοκαρδιοπάθεια, η κίρρωση ήπατος και μερικοί τύποι καρκίνου (Wiel, 2001).

Το κρασί περιέχει περισσότερα από 500 συστατικά, μερικά από τα οποία προέρχονται από τον καρπό του σταφυλιού και άλλα αποτελούν μεταβολικά παραπροϊόντα της ζύμωσης κατά τη διάρκεια παραγωγής του (Soleas, 1997). Τα περισσότερα από αυτά περιέχονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις, αλλά μερικά σε συγκεντρώσεις πάνω από 100mg/L. Σε αυτά περιλαμβάνονται το νερό, αλκοόλες, οργανικά οξέα, σάκχαρα και γλυκερόλη. Ωστόσο, πολύ σημαντικά για τις ευεργετικές ιδιότητες, σχετικά με την υγεία, που προσδίδουν στο κρασί είναι και οι πολυφαινόλες που περιέχονται σε αυτό. Πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η μικρή έως μέτρια κατανάλωση κρασιού σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου (Kannel, 1996, Rimm, 1996). Πιο πρόσφατα δεδομένα έχουν δείξει χαμηλότερο κίνδυνο εγκεφαλικού ή ισχαιμικού επεισοδίου σε άνδρες με μέτρια κατανάλωση κρασιού (Berger, 1999). Αυτές οι παρατηρήσεις συνιστούν ότι το αλκοόλ μπορεί να έχει κάποια προστατευτική επίδραση εναντίον της αθηροσκλήρωσης, μέσω αναστολής της οξειδωσης της LDL, της καταστροφής των ελεύθερων ριζών και της μετατροπής του μεταβολισμού των εικοσανοειδών. Ωστόσο, η αιθανόλη που

περιέχεται στο κρασί δεν εμφανίζει από μόνη της αυτές τις ιδιότητες. Επομένως, οι προστατευτικές του επιδράσεις αποδίδονται στην παρουσία των φλαβονοειδών (Howard, 2002, Shanmuganayagam, 2002). Άλλες θετικές επιδράσεις που θεωρείται ότι μπορεί να έχει η κατανάλωση κρασιού, εξαιτίας των πολυφαινολών που περιέχει, είναι η προστασία εναντίον διαφόρων μορφών καρκίνου και η μείωση των διαφόρων εκδηλώσεων του γήρατος (Wiel, 2001).

Οι πολυφαινόλες του κρασιού διακρίνονται σε δυο κατηγορίες,

- τα φλαβονοειδή και
- τα μη φλαβονοειδή.

Τα κυριότερα φλαβονοειδή που περιέχονται στο κρασί είναι τα παρακάτω:

A) Φλαβονόλες. Το κρασί είναι πλούσια πηγή κερκετίνης, καμπεφερόλης και μυρισετίνης.

B) Φλαβαν-3-όλες. Από αυτή την κατηγορία πολυφαινολών, στο κρασί απαντώνται οι κατεχίνη, επικατεχίνη και ταννίνες.

Γ) Ανθοκυανίνες (κυανίνη).

Τα φλαβονοειδή απαντώνται είτε στην ελεύθερη μορφή τους, είτε ως πολυμερή με σάκχαρα (γλυκοζίτες), άλλα φλαβονοειδή και μη φλαβονοειδή.

Τα μη φλαβονοειδή του κρασιού είναι φαινόλες με ένα μόνο αρωματικό δακτύλιο στο μόριό τους. Είναι:

A) είτε **παράγωγα των υδροξυκιναμμομικών οξέων** (καφεϊκό οξύ, π-κουμαρικό οξύ) και των **υδροξυβενζοϊκών οξέων** (γαλλικό οξύ)

B) είτε **στιλβένια** και **γλυκοζίτες στιλβενίων**, με την τρανς- ρεσβερατρόλη να αποτελεί τον πιο γνωστό αντιπρόσωπο των τελευταίων. Αυτή ανήκει στην κατηγορία των πολυμερών που ονομάζονται **βινιφερίνες**, συστατικά που έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την ανάπτυξη μυκητιάσεων.

(Wiel, 2001)

Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται οι περιεκτικότητες στα διάφορα φαινολικά συστατικά του κόκκινου και λευκού κρασιού:

ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΑΣΙ (mg/L)	ΛΕΥΚΟ ΚΡΑΣΙ (mg/L)
Κατεχίνη	191,3	34,9
Γαλλικό οξύ	95,0	6,8
Επικατεχίνη	82,0	21,2
Ρουτίνη	9,1	0,0
Μυρκετίνη	8,5	0,0
Κερκετίνη	7,7	0,0
Καφεϊκό οξύ	7,1	2,8

(Teissedre, 1996)

Πιν. 1.4: Μέση περιεκτικότητα του κόκκινου και του λευκού κρασιού στα διάφορα φαινολικά συστατικά

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται πως το κόκκινο κρασί περιέχει, γενικότερα, μεγαλύτερες ποσότητες πολυφαινολών σε σχέση με το λευκό κρασί. Μεταξύ αυτών, η κατεχίνη είναι το συστατικό που περιέχεται και στους δυο τύπους κρασιού σε μεγαλύτερη ποσότητα, ενώ το καφεϊκό οξύ παρουσιάζει τη μικρότερη συγκέντρωση.

• Φαινολικά συστατικά ελιάς και ελαιολάδου:

Το ελαιόλαδο αποτελεί χυμό που προέρχεται από την ελιά, κυρίως τη Μεσογειακή *Olea europea*, φυτό που ανήκει στην οικογένεια *Oleaceae spp.* Παραλαμβάνεται από τον ελαιόκαρπο με επεξεργασία που περιλαμβάνει απλή σύνθλιψη του, χωρίς τη μεσολάβηση χημικών διαλυτών. Η μέθοδος παραλαβής του ελαιολάδου είναι σχεδόν μοναδική. Ο χυμός της ελιάς είναι σχεδόν ο μόνος που καταναλώνεται χωρίς να δέχεται περαιτέρω εξευγενισμό. Αυτό του δίνει την ιδιότητα να διατηρεί τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ελαιοκάρπου, το άρωμα και την ελαφρά πικρή γεύση του (Gutierrez-Rozales, 2003).

Τα τελευταία χρόνια, ένα μεγάλο μέρος του ερευνητικού ενδιαφέροντος έχει στραφεί στη μελέτη της ελιάς / ελαιολάδου και των συστατικών τους. Το γεγονός αυτό είναι συνέπεια του ότι επιδημιολογικές έρευνες έχουν αποδείξει ότι στις μεσογειακές χώρες, όπου η κατανάλωση ελαιολάδου αποτελεί, παραδοσιακά, τη σημαντικότερη πηγή προσλαμβανόμενου λίπους, η συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι σχετικά περιορισμένη, συγκρινόμενη με τις αντίστοιχες συχνότητες πολλών χωρών της Βόρειας Ευρώπης (Willett, 1995, Hertog, 1995, Rosche, 1998). Επιπλέον των θετικών επιπτώσεων που έχουν τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα στη

συγκέντρωση της ολικής χοληστερόλης του αίματος, μελέτες σε ζώα και έρευνες που έχουν διεξαχθεί *in vitro* έχουν δείξει ότι η υψηλή συγκέντρωση φαινολικών συστατικών στην ελιά και στο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο μπορούν επίσης να συμβάλλουν στην «υγιή» φύση της μεσογειακής διαίτας (Caruso, 1999, Coni, 2000).

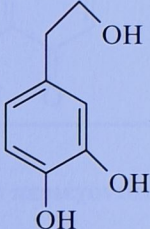
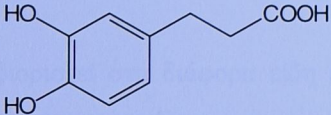
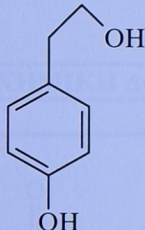
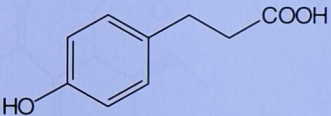
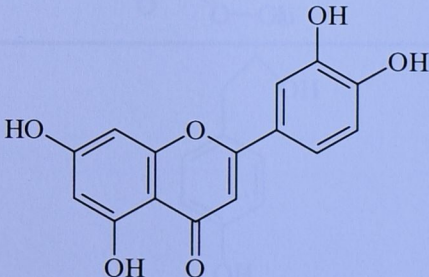
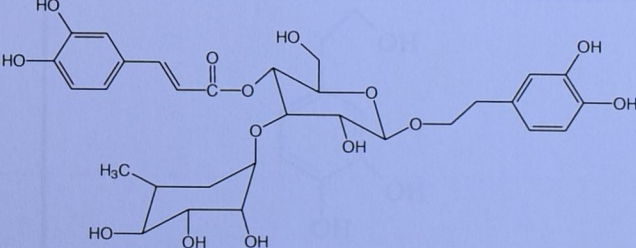
Ποια η σύσταση της ελιάς και του ελαιολάδου σε φαινολικά συστατικά:

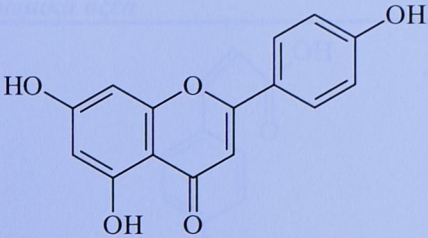
Η ελιά και το ελαιόλαδο είναι πηγές θρεπτικών συστατικών, όπως της βιταμίνης E, και λιπαρών οξέων, η διερεύνηση του ρόλου των οποίων δεν αποτελεί αντικείμενο αυτής της ενότητας, αλλά όπως αναφέρθηκε παραπάνω, είναι, επίσης, πλούσιο σε φαινολικά συστατικά, ιδιαίτερα στο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, αυτό, δηλαδή, που παραλαμβάνεται απ' ευθείας από πίεση σύνθλιψη του ελαιοκάρπου, χωρίς άλλη επεξεργασία. Ωστόσο, η περιεκτικότητά του, καθώς και το είδος των φαινολικών συστατικών που περιέχονται, δε φαίνεται να είναι πάντα τα ίδια.

Πρώτα από όλα, σκόπιμο είναι να αναφερθεί ότι η σύσταση του ελαιολάδου σε φαινολικά συστατικά διαφέρει από αυτήν του φυτού της ελιάς. Αυτό οφείλεται σε διάφορες χημικές και ενζυμικές αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, με αποτέλεσμα το ελαιόλαδο να περιέχει φαινολικά συστατικά μικρότερου μοριακού βάρους από αυτά της ελιάς (Pirisi, 2000).

Διαφορές, όμως, υπάρχουν και μεταξύ διαφόρων ειδών ελαιολάδου, επειδή δρουν σε αυτό διάφοροι περιβαλλοντικοί παράγοντες, αλλά και παράγοντες που σχετίζονται με τον τρόπο παραλαβής του (Medaglia, 1996, Boskou, 2000). Εκτός από τα παραπάνω, έχει απασχολήσει, επίσης, τους ερευνητές το αν υπάρχουν διαφορές στη φαινολική σύσταση μεταξύ των διαφόρων ποικιλιών του ελαιολάδου. Ωστόσο, δεν έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες οι οποίες να διερευνούν σε βάθος την επίδραση της ποικιλίας της ελιάς από την οποία προέρχεται το ελαιόλαδο στη σύνθεση του φαινολικού προφίλ. Μεταξύ αυτών που έχουν γίνει, μέχρι σήμερα, έχει βρεθεί ότι, σε γενικές γραμμές, δεν υπάρχουν ιδιαίτερες διαφορές ανάμεσα στις διάφορα είδη ελιάς (Pirisi, 2000).

Τα κυριότερα φαινολικά συστατικά της ελιάς και οι βασικές τους δομές φαίνονται παρακάτω:

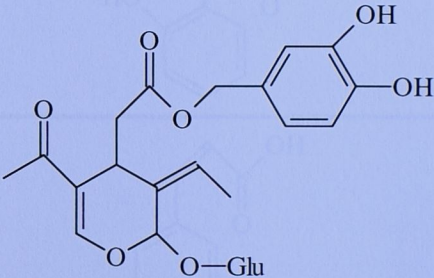
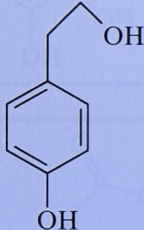
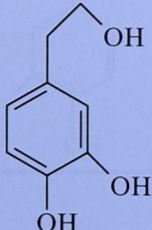
ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΣΥΣΤΑΤΙΚΟ	ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ
Υδροξυτυροσόλη	
Διϋδροξυκαφεϊκό οξύ	
Τυροσόλη	
Φλωρετικό οξύ	
Λουτεολίνη	
Ακτεοζίδη	

Απιγενίνη	
-----------	--

(Owen, 2003)

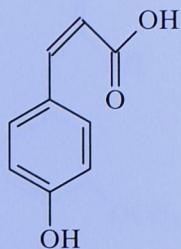
Πιν. 1.5: Τα κυριότερα φαινολικά συστατικά που περιέχονται στην ελιά

Τα κυριότερα φαινολικά συστατικά που έχουν προσδιοριστεί στα διάφορα είδη ελαιολάδου με διάφορες μεθόδους και οι βασικές τους δομές παρουσιάζονται παρακάτω:

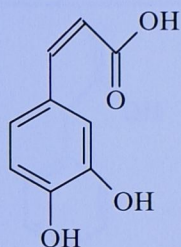
ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΣΥΣΤΑΤΙΚΟ	ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ
<i>Βασικά συστατικά</i>	
Ολευρωπαΐνη	
Τυροσόλη	
υδροξυτυροσόλη	

Υδροξυκινναμωμικά οξέα

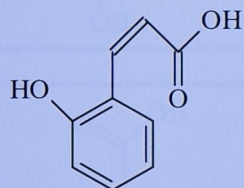
π-Κουμαρικό οξύ



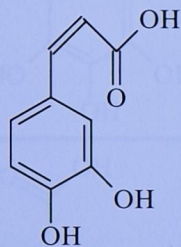
Φερουλικό οξύ



ο-Κουμαρικό οξύ

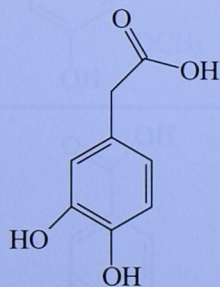


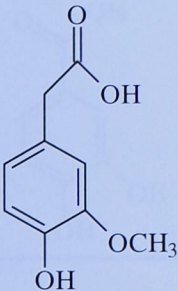
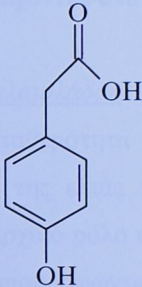
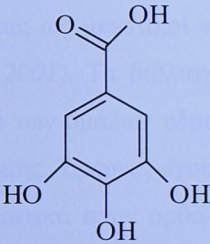
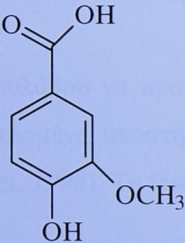
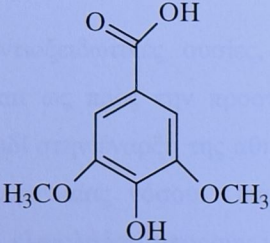
Καφεϊκό οξύ

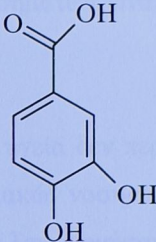


Υδροξυφαινολοξικά οξέα

3,4-Υδροξυφαινολοξικό οξύ



Ομοβανιλλικό οξύ	
π-Υδροξυφαινυλοξικό οξύ	
<i>Υδροξυβενζοϊκά οξέα</i>	
Γαλλικό οξύ	
Βανιλλικό οξύ	
Συριγγικό οξύ	

Πρωτοκατεχουϊκό οξύ	
----------------------------	---

(Pellegrini, 2001)

Πιν. 1.6: Τα κυριότερα φαινολικά συστατικά που περιέχονται στο ελαιόλαδο

Ποιος είναι ο ρόλος των φαινολικών συστατικών της ελιάς και του ελαιολάδου:

Οι πολυφαινόλες θεωρούνται, γενικά, ότι συμβάλλουν στη σταθερότητα των ιστών που τις περιέχουν. Το ίδιο συμβαίνει και με τα φαινολικά συστατικά της ελιάς και του ελαιολάδου (Mateos, 2003). Τα φλαβονοειδή, για παράδειγμα, παίζουν πρωταρχικό ρόλο στο να αντιστρέφουν τα αποτελέσματα της επίδρασης υπερβολικής έντασης φωτός, απορροφώντας στην περιοχή του υπεριώδους (Dixon και Paiva, 1995). Επιπλέον, τα φαινολικά συστατικά έχουν την ιδιότητα να προστατεύουν από τις συνέπειες της οξείδωσης, λειτουργώντας ως μειωτικοί παράγοντες, δότες πρωτονίων και καταστολείς του μονήρους οξυγόνου (Tovar, 2001). Τα βιβλιογραφικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι η επίδραση αυτή είναι ανάλογη του αριθμού των ομάδων υδροξυλίου (OH) που είναι συνδεδεμένες στο βασικό δακτύλιο της χημικής τους δομής. Έρευνες έχουν αποδείξει ότι η αυξημένη περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε φαινολικά συστατικά στην ορθο-διφαινολική τους δομή αυξάνουν τη σταθερότητα του ελαιολάδου, καθώς οι ορθο-διφαινόλες παρουσιάζουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση (Grunaro, 1998, Mateos, 2003).

Εκτός από την ιδιότητα των φαινολικών συστατικών του ελαιολάδου να προστατεύουν από τις συνέπειες της οξείδωσης στο ίδιο το ελαιόλαδο, πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν ότι αυτή η συμβολή μπορεί να επεκταθεί και στους ζωικούς ιστούς (Noroozi, 1998). Το ίδιο συμβαίνει και για τα φαινολικά συστατικά της ελιάς (Owen, 2003)

Έχοντας, λοιπόν, την ικανότητα να λειτουργούν ως αντιοξειδωτικές ουσίες, τα φαινολικά συστατικά της ελιάς και του ελαιολάδου μελετήθηκαν και ως προς την προστατευτική τους επίδραση στην οξείδωση της LDL, η οποία παίζει ρόλο-κλειδί στην έναρξη της αθηροσκλήρωσης, και κατά συνέπεια, και στην πιθανότητα εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, στην υπόθεση ότι τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου μπορούν να συμβάλλουν στην αναστολή της οξείδωσης της LDL οδήγησαν τα ευρήματα επιδημιολογικών ερευνών που επέδειξαν ότι οι μεσογειακές χώρες, όπου η κατανάλωση ελαιολάδου αποτελεί τη βασικότερη πηγή

πρόσληψης λίπους, η συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι πολύ μικρή (Keys, 1986, Steinberg, 1989, Willet, 1995, Roche, 1998).

Ωστόσο, ο ρόλος των φαινολικών συστατικών στην ανθρώπινη υγεία δεν περιορίζεται αναστολή της οξείδωσης της LDL, και, συνεπώς, στην εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων, αλλά υπάρχουν ενδείξεις ότι τα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου μπορούν να λειτουργήσουν ως:

- ❖ Αντιμικροβιακοί παράγοντες,
- ❖ Υπογλυκαιμικοί παράγοντες,

(Bisignano, 1999)

Ακόμα, έχει βρεθεί ότι μπορεί να έχουν κάποια επίδραση:

- ❖ στη λειτουργία των αιμοπεταλίων και, γενικότερα στην πήξη του αίματος, καθώς και στην ανοσολογική απόκριση του οργανισμού (Andrikopoulos, 2002, Rianne, 2002) και
- ❖ στην πρόληψη της καρκινογένεσης από τις συνέπειες των ετεροκυκλικών αμινών που δημιουργούνται κατά το μαγείρεμα (Monti, 2001).

Τέλος, τα φαινολικά συστατικά που περιέχονται στην ελιά και στο ελαιόλαδο ευθύνονται για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους και, κυρίως, για τη γεύση και το άρωμα. Έτσι, τα φαινολικά συστατικά θεωρείται ότι είναι αυτά που προσδίδουν την πικρή γεύση στην ελιά ή στο ελαιόλαδο. Έχει βρεθεί ότι υπεύθυνη, κατά κύριο λόγο, για την πικρή-πικάντικη γεύση του ελαιολάδου είναι η ολεωρωπαΐνη, είτε στη γλυκοσυλιωμένη είτε στη μη γλυκοσυλιωμένη μορφή της, καθώς και τα παράγωγα της υδρόλυσής της (τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη) (Rosales, 2003). Πιο συγκεκριμένα, θεωρείται ότι τα παραπάνω φαινολικά συστατικά σχετίζονται, κυρίως, με την πικάντικη γεύση (γεύση πιπεριού), ενώ άλλα, όπως το κινναμωμικό και το φαινολικό οξύ είναι αυτά που αφήνουν τη χαρακτηριστική πικρή γεύση στο πίσω μέρος της γλώσσας (Visioli, 2001).

Συνοψίζοντας, από όλα τα παραπάνω, φαίνεται πως οι πολυφαινόλες αποτελούν μια πολυπληθή και ετερογενή κατηγορία διαιτητικών συστατικών. Απαντώνται σε όλα τα τρόφιμα και έλαια φυτικής προέλευσης, καθώς και σε αφεψήματα, όπως η σοκολάτα, το τσάι, ο καφές, το κακάο. Σημαντική πηγή πολυφαινολών, τέλος, είναι και το κρασί. Πρέπει να αναφερθεί, επίσης, ότι διάφορες κατηγορίες πολυφαινολών που υπάρχουν σε συγκεκριμένα τρόφιμα, σε μεγάλες ποσότητες, και οι οποίες θεωρούνται χαρακτηριστικές για τα τρόφιμα αυτά μπορούν να είναι παρούσες και σε άλλα τρόφιμα, αλλά σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Για παράδειγμα, οι ανθοκυανίνες, που απαντώνται στο κρασί, υπάρχουν και σε διάφορα φρούτα, όπως είναι τα μούρα και οι σταφίδες. Τα τελευταία χρόνια, οι πολυφαινόλες, ως συστατικά, έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον των επιστημόνων, εξαιτίας

της ισχυρής αντιοξειδωτικής δράσης που έχουν επιδείξει *in vitro* και *in vivo*. Σημαντικές επιδράσεις είναι η προστασία έναντι των καρδιαγγειακών νοσημάτων, μερικών μορφών καρκίνου και των συνεπειών του γήρατος.

Αναγκαία για την κατανόηση της σχέσης μεταξύ της πρόσληψης πολυφαινολών και άλλων αντιοξειδωτικών και των θετικών επιδράσεών τους στην υγεία είναι η γνώση των μεταβολικών σταδίων που ακολουθούν στον οργανισμό τα συστατικά αυτά και η βιοδιαθεσιμότητά τους, τα οποία αναλύονται στο παρακάτω κεφάλαιο.

- Κατανάλωση
- Γενοτύποι που συμβάλλουν στο μεταφορτικό στάδιο
- Απορρόφηση
- Κετανόση

Στη συνέχεια αναλύονται οι μεταβολικά στάδια που τα φυτικά αντιοξειδωτικά:

Βιταμίνη C

Η βιταμίνη C είναι ένα μικρό διαλυτό στο νερό. Το προϊόν οξείδωσής της, η ασκορβασκίνη, οξείδωσις, οξειδωτική δράση βιταμίνη. Απορροφείται μέσα από συστηματικό αγγείο του λεπτού στον εντερικό σωλήνα. Μετασχηματίζεται στο αίμα και μπορεί να απορροφηθεί μέσα των νεφρών. Όπως συμβαίνει με όλες τις υδατοδιαλυτές βιταμίνες, η μεταφορά διαμέσου του εντερικού αγγείου μικρά ως είναι ναυτιο-επιδράμενη, εξαρτώμενη από τη συγγένισή της (παραγωγή μεγάλων ποσών βιταμίνης) ή ενάντια, έρποντας για τη βιοδιαθεσιμότητά της βιταμίνης οι ανθρώπους, οπότε από τη μεταμόρφωση διαφόρων οξείδων που πρέπει να απορροφάται, είναι ότι η απορρόφηση του είναι, παρ'ότι, ως 80% για μια δόση 100mg, γεγονός που δείχνει ότι η απορρόφηση του είναι σχεδόν πλήρης (Menzies, 1993). Ακόμα απορροφείται, η βιταμίνη μετατρέπεται στους ιστούς μέσα μεταφορών υγρούς ή η γαλακτική ουσία (Weick, 1993, Βασιλάκη, 1995). Οι πράσινοι λαχανοφάγοι σε φυσιολογική κατάσταση βιταμίνης (20-150mg/24h) που οι τελευταίοι σε μη φυσιολογική κατάσταση. Υψηλότερα επίπεδα βιταμίνης C αποθηκεύονται στη συκώτι (30-40mg/100g ιστού), στον εγκέφαλο, στο σπλήν, στο αίμα, στο ήπαρ και στα μύα (10-30/100g ιστού) (Hornig, 1973). Πολλά είναι προσβεβλημένων διαβητο-απορροφικό οξείδω (DHAA) για το αποθηκεύονται ως απορροφικά. Κάθε κυτταρικός τύπος όπου συμβαίνει μεταφορά DHAA διατηρούνται την ενέργειά τους, οξείδωσις. Ωστόσο, τα ανθρώπινα γαστρεντερικά

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2ο:

2.1. ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΒΙΟΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ:

Προκειμένου να γίνουν κατανοητοί οι μηχανισμοί δράσης των διαιτητικών αντιοξειδωτικών, καθώς και ο ρόλος τους στην πρόληψη των διαφόρων ασθενειών, είναι απαραίτητη η γνώση των παραγόντων που εμπλέκονται στην απελευθέρωσή τους από τα τρόφιμα που περιέχονται, στην απορρόφηση και στη μεταβολική τύχη τους μέσα στον οργανισμό (*Cadenas και Packer, 2002*). Η πορεία μέσα στο σώμα ενός αντιοξειδωτικού συστατικού που λαμβάνεται με την τροφή μπορεί να περιγραφεί από τα ακόλουθα στάδια:

- Κατανάλωση
- Γεγονότα που συμβαίνουν στο γαστρεντερικό αυλό
- Απορρόφηση
- Κατανομή

Στη συνέχεια, αναλύονται τα μεταβολικά στάδια για καθένα από τα φυσικά αντιοξειδωτικά:

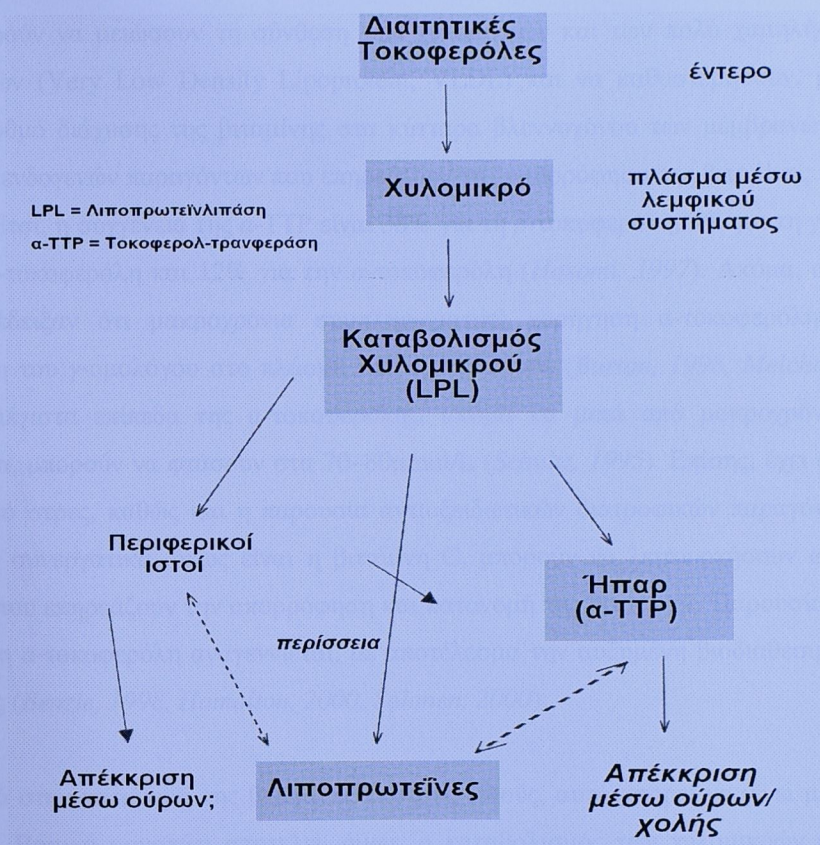
Βιταμίνη C:

Η Βιταμίνη C είναι ένα μικρό υδατοδιαλυτό μόριο. Το προϊόν οξείδωσής της, το δεϋδροασκορβικό οξύ, εμφανίζει, επίσης, δράση βιταμίνης. Απορροφάται μέσω ενός συστήματος ενεργού μεταφοράς που βρίσκεται στον εντερικό σωλήνα. Μεταφέρεται στο αίμα και μπορεί να επαναρροφηθεί μέσω των νεφρών. Όπως συμβαίνει με όλες τις υδατοδιαλυτές βιταμίνες, η μεταφορά διαμέσου του εντερικού τοιχώματος μπορεί να είναι νατριο-εξαρτώμενη, εξαρτώμενη από τη συγκέντρωση (παρουσία χαμηλών επιπέδων βιταμίνης) ή ενεργός. Έρευνες για τη βιοδιαθεσιμότητα της βιταμίνης σε ανθρώπους, ύστερα από την κατανάλωση διαφόρων διαίτων που περιείχαν ασκορβικό οξύ, έδειξαν ότι η απορρόφησή του φτάνει, περίπου, το 80% για μια δόση 100mg, γεγονός που δείχνει ότι η απορρόφησή του είναι σχεδόν πλήρης (*Mangels, 1993*). Αφότου απορροφηθεί, η βιταμίνη μεταφέρεται στους ιστούς μέσω μεταφορέων υψηλής ή χαμηλής συγγένειας (*Welch, 1993, Bergsten, 1995*). Οι πρώτοι λειτουργούν σε φυσιολογικά επίπεδα βιταμίνης (20–150μmol/L), ενώ οι τελευταίοι σε μη φυσιολογικά επίπεδα. Υψηλότερα επίπεδα βιταμίνης C αποθηκεύονται στα επινεφρίδια (30–400mg/100g ιστού), στον εγκέφαλο, στο σπλήνα, στο πάγκρεας, στο ήπαρ και στα μάτια (10–50/100g ιστού) (*Hornig, 1975*). Πολλοί ιστοί προσλαμβάνουν δεϋδροασκορβικό οξύ (DHAA) και το αποθηκεύουν ως ασκορβικό. Κάθε κυτταρικός τύπος όπου συμβαίνει μεταφορά DHAA συγκεντρώνει την αναγμένη μορφή, ενδοκυτταρικά. Ωστόσο, τα ανθρώπινα ερυθροκύτταρα

μεταφέρουν τόσο την αναγμένη, όσο και την οξειδωμένη μορφή (May, 1995). Η μετατροπή του DHAA στην αναγμένη του μορφή μπορεί να συμβεί με ενζυμικούς (θειολτρανφεράση, πρωτεϊνική δισουλφιδική ισομεράση και 3-αλφα-υδροξυστεροειδική δεϋδρογονάση) ή μη ενζυμικούς μηχανισμούς (γλουταθειόνη). Η αναγωγή του DHAA εξαρτάται άμεσα από τα επίπεδα της γλουταθειόνης και του NADPH. Επίσης, μπορεί υδρολυθεί σχηματίζοντας δικετογουλονικό οξύ. Αυτή η αντίδραση είναι μη αναστρέψιμη. Ο μεταβολισμός του τελευταίου δεν είναι καλά γνωστός, αλλά μεταβολικά του προϊόντα είναι το οξαλικό, το θρεονικό, η ξυλόζη, το ξυλονικό οξύ και λυξονικό οξύ (Stallh, 2002). Το ασκορβικό υπόκειται σε νεφρική επαναρρόφηση και απέκκριση και διαπερνά το σπείραμα με αυτή τη μορφή. Είναι πιθανό ότι τα ασκορβικό επαναπροσροφάται ενεργά στα νεφρικά σωληνάκια, μέσω μιας πρωτεΐνης-μεταφορέα, αλλά τέτοια πρωτεΐνη δεν έχει ακόμα απομονωθεί. Η περίσσεια βιταμίνης C απεκκρίνεται στα ούρα. Το ασκορβικό οξύ απεκκρίνεται στα ούρα σε προσλαμβανόμενες δόσεις πάνω από 100mg/ημερησίως (Padayatty και Levine, 2001).

Βιταμίνη E:

Η βιταμίνη E είναι γενικός όρος για μια σειρά τοκοφερολών και τοκοτριενολών (α -, β -, γ - και δ -ομόλογα), με τις πρώτες να παρουσιάζουν βιολογική δράση. Τα χημικά είδη της βιταμίνης E είναι μόρια λιποδιαλυτά. Η απελευθέρωσή τους από τα λίπη και έλαια είναι ευκολότερη από τους ξηρούς καρπούς και τους σπόρους, η πέψη των οποίων μπορεί να είναι δύσκολη. Ως λιποδιαλυτά μόρια, η απορρόφηση των τοκοφερολών και τοκοτριενολών ακολουθεί αυτή των λιπιδίων. Δηλαδή, γαλακτοποίηση και ανάμιξη σε χυλομικρά, τα οποία μεταφέρονται μέσω ενός ήρεμου υδατικού στρώματος και προσλαμβάνονται από τα εντεροκύτταρα με παθητική διάχυση (βλέπε σχήμα 2.1). Το λεπτό έντερο παίζει πρωταρχικό ρόλο στην απορρόφησή τους.



(Stahl, 2002)

Σχ. 2.1: Σχηματική παρουσίαση της μεταβολικής πορείας των τοκοφερολών στο ανθρώπινο σώμα

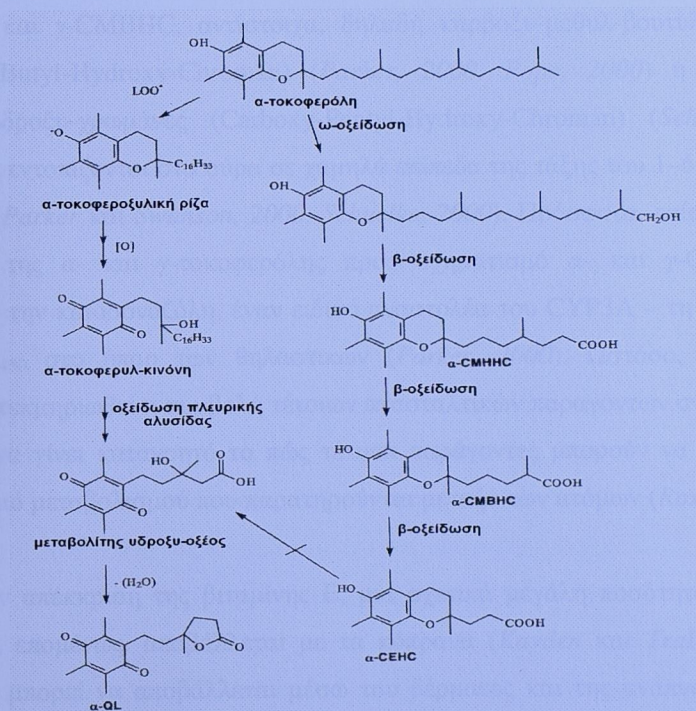
Τα επίπεδα α-τοκοφερόλης στο πλάσμα ή στον ορό είναι τυπικά γύρω στα 20–35 μmol/L. Οι συγκεντρώσεις της γ-τοκοφερόλης φτάνουν περίπου το 5–15% αυτής της α-τοκοφερόλης, ενώ η συγκέντρωση της γ-τοκοτριενόλης παραμένει κάτω από το 1 μmol/L, ακόμα και μετά από χορήγηση συμπληρώματος (Hayes, 1993, Byrne, 2000). Ο ακριβής βαθμός απορρόφησης της βιταμίνης Ε δεν είναι γνωστός. Σε πειραματικές συνθήκες, έχουν αναφερθεί απορροφήσεις της βιταμίνης που κυμαίνονται από 25–75%, ανάλογα με τις συνθήκες του πειράματος (Cohn, 1997). Εφόσον η απορρόφησή της γίνεται με παθητική διάχυση, το ποσοστό απορρόφησης πιθανόν να μειώνεται με αύξηση της προσλαμβανόμενης δόσης. Ωστόσο, δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα που να υποστηρίζουν την άποψη αυτή. Επιπλέον, ο τύπος του λίπους στο οποίο περιέχεται η βιταμίνη όταν βρεθεί στο γαστρεντερικό αυλό φαίνεται πως επηρεάζει την απορρόφησή της. Έτσι, έχει βρεθεί ότι η απορρόφηση είναι πολύ μεγαλύτερη παρουσία μέσης αλύσου τριγλυκεριδίων (Gallo-Tores, 1980). Ακόμα, υψηλές προσλήψεις πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Poly-Unsaturated Fatty Acid,

PUFA) μπορούν να μειώσουν τη σύνθεση των χυλομικρών και των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (Very Low Density Lipoprotein, VLDL) και να καθυστερήσουν, με αυτόν τον τρόπο, το ρυθμό διάχυσης της βιταμίνης στα κύτταρα βλεννογόνου των μεμβρανών (Fu, 1998). Μεταξύ των ενδογενών παραγόντων που επηρεάζουν την απορρόφηση της βιταμίνης είναι η δράση της α -TTP. Έτσι, η συγγένεια της α -TTP είναι 38% για τη β -τοκοφερόλη, 9% για τη γ -τοκοφερόλη, 2% για τη δ -τοκοφερόλη και 12% για την α -τοκοφερόλη (Hosomi, 1997). Ακόμα, αποτελέσματα ερευνών επέδειξαν ότι μακροχρόνια συμπληρωματική χορήγηση α -τοκοφερόλης μείωσε τη συγκέντρωση του γ -ομολόγου στο πλάσμα και στους ιστούς (Burton, 1998, Melchert και Pabel, 1998). Τα μέγιστα επίπεδα της α -τοκοφερόλης, ακόμα και μετά από μακροχρόνια χορήγηση 800mg/ημέρα, μπορούν να φτάσουν στα 70–80μmol/L (Schultz, 1995). Επίσης, έχει αναφερθεί ότι το οξειδωτικό στρες, καθώς και η παρουσία αντιοξειδωτικών διατροφικών παραγόντων, με τους οποίους δρα συνεργατικά, όπως είναι η βιταμίνη C, μπορούν να λειτουργήσουν ως ξεχωριστοί παράγοντες που επηρεάζουν την απορρόφηση και κατανομή της βιταμίνης. Παρουσία βιταμίνης C, η οξειδωμένη α -τοκοφερόλη αναγεννιέται, με αποτέλεσμα την αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα της α -τοκοφερόλης (Benzie, 1998, Hamolton, 2000, Salonen, 2000).

Όσον αφορά στην κατανομή της βιταμίνης E στους ιστούς, αυτή μπορεί να γίνει μέσω ποικίλων μηχανισμών. Βασικό μονοπάτι αποτελεί, όμως, ο καταβολισμός των χυλομικρών (βλέπε σχήμα 2.2). Το γεγονός αυτό μπορεί να ευθύνεται για τη χαμηλή συγκέντρωση της γ -τοκοφερόλης στο πλάσμα (10–20%) και τα σχετικά υψηλά επίπεδά της στους ιστούς (20–50%). Η γ -τοκοφερόλη έχει εντοπιστεί στο λιπώδη ιστό, στις φλέβες και στο δέρμα (Ohrvall, 1994, Burton, 1998). Έρευνες σχετικές με την α -τοκοφερόλη έχουν αποδείξει ότι η πρόσληψή της από τους ιστούς διαφέρει. Γενικά, η πρόσληψη είναι γρηγορότερη στους πνεύμονες, στο ήπαρ, στο σπλήνα, στους νεφρούς και στα ερυθροκύτταρα, ενώ πιο αργή στον εγκέφαλο, στο λιπώδη ιστό και στο νωτιαίο μυελό (Burton και Traber, 1990). Η πλειοψηφία των α -τοκοφερολών βρίσκεται στο λιπώδη ιστό και στα επινεφρίδια (Drevon, 1991). Σε διακυτταρικό επίπεδο, έχουν βρεθεί πρωτεΐνες οι οποίες είναι ικανές να δεσμεύουν την α -τοκοφερόλη και, επομένως, διευκολύνουν τη μεταφορά της, ενδοκυτταρικά. Υψηλότερες συγκεντρώσεις α -τοκοφερόλης απαντώνται στα μιτοχόνδρια σχετικά με τις αντίστοιχες στο κυτοσόλιο (Bjorneboe, 1988). Πρόσφατα, απομονώθηκε μια πρωτεΐνη σχετιζόμενη με την α -τοκοφερόλη (Tocopherol Associated Protein, TAP) σε ήπαρ βοδιού (Stocker, 1999), ενώ ταυτοποιήθηκε ένα ανθρώπινο γονίδιο ομόλογο αυτού της TAP. Ανάλυση της ακολουθίας της πρωτεΐνης την κατατάσσει σε μια οικογένεια υδρόφοβων δεσμευουσών πρωτεϊνών. Ανθρώπινη TAP κλωνοποιήθηκε σε *Escherichia coli* και εκτιμήθηκε η ειδικότητα της πρωτεΐνης για τους ιστούς (Zimmer, 2000). Παρά το γεγονός ότι βρέθηκε πως το ήπαρ, ο προστάτης και

νευρικοί ιστοί έχουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις ΤΑΡ, ευρεία κατανομή αυτής βρέθηκε στους ανθρώπινους ιστούς.

Αν και λίγα είναι γνωστά για το μεταβολισμό της βιταμίνης Ε, φαίνεται πως πολλοί παράγοντες σχετίζονται με αυτόν. Ο βαθμός οξειδωτικού στρες στο οποίο υπόκειται ένας ιστός είναι πιθανό να επηρεάζει τα επίπεδα της α -τοκοφερόλης, είτε μέσω αξιοποίησης της βιταμίνης ως αντιοξειδωτικό, είτε γιατί το οξειδωτικό στρες μπορεί να επιδράσει στους ενδοκυτταρικούς και εξωκυτταρικούς μηχανισμούς που βοηθούν στη ρύθμιση της ροής της βιταμίνης μέσα και έξω από τους ιστούς. Στο παρακάτω σχήμα παρουσιάζονται, συνοπτικά, τα μεταβολικά στάδια της α -τοκοφερόλης:



(Stahl, 2002)

Σχ. 2.2: Σχηματική παρουσίαση των αντιδράσεων μεταβολισμού και των παραγόμενων μεταβολιτών της α -τοκοφερόλης

Στο παραπάνω σχήμα φαίνεται πως υπάρχουν δυο βασικοί τύποι μεταβολιτών της α -τοκοφερόλης. Αυτοί που προκύπτουν από τη λειτουργία της ως αντιοξειδωτικό και εκείνοι που αποτελούν συνέπεια μη οξειδωτικών μεταβολικών μονοπατιών (Pore, 2000). Το οξειδωτικό στρες έχει ως αποτέλεσμα το άνοιγμα του υδροξυχρωμανικού δακτυλίου και την παραγωγή κινονο-λακτόνης

(Quinon-Lactone, QL), ενώ η συντόμευση της πλευρικής αλυσίδας στο μόρια της τοκοφερόλης, αφήνοντας ανέπαφο τον υδροξυχρωμανικό ακτύλιο, καταλήγει στο σχηματισμό των υδατοδιαλυτών καρβοξυ-αιθυλ-υδροξυ-χρωμανών (Carboxy-Ethyl-Hydroxy-Chroman, CEHC). Αυτοί οι μεταβολίτες σχηματίζονται από την α -, γ - και δ -τοκοφερόλη, καθώς και την α - και γ -τοκοτριενόλη (Chiku, 1984, Swanson, 1999, Lodge, 2001) και έχουν εντοπιστεί στο αίμα και στα ούρα. Συνήθως οι συγκεντρώσεις του α -CEHC στα ούρα και στο αίμα είναι χαμηλές σε υγιή άτομα και αυξάνονται στα ούρα μόνο μετά από πολύ υψηλά επίπεδα α -τοκοφερόλης, της τάξης των 30–50 μ M, τα οποία δύσκολα επιτυγχάνονται με διαιτητική πρόσληψη μόνο (Schultz, 1995). Πρόσφατα, εντοπίστηκαν νέοι μεταβολίτες της βιταμίνης στα ούρα, οι οποίοι αποδείχτηκε ότι αποτελούν άμεσους πρόδρομους των α - και γ -CEHC, κατά τη β -οξείδωση της αλυσίδας του μορίου. Αυτοί ονομάστηκαν α - και γ -CMBHC, αντίστοιχα, δηλαδή καρβοξυ-μεθυλ-βουτυλ-υδροξυ-χρωμάνες (Carboxy-Methyl-Butyl-Hydroxy-Chroman) (Parker, 2000, Pope, 2000) ή α -CPHC, δηλαδή καρβοξυ-πεντυλ-υδροξυ-χρωμάνες (Carboxy-Pentyl-Hydroxy-Chroman) (Schuelke, 2000). Οι μεταβολίτες αυτοί εντοπίζονται στα ούρα σε χαμηλά επίπεδα της τάξης του 1–6% των αντίστοιχων επιπέδων CEHC (Parker και Swanson, 2000, Schuelke, 2000). Πρόσφατα, επίσης, ανακαλύφθηκε ότι η οξείδωση της α - και γ -τοκοφερόλης προς σχηματισμό α - και γ -CEHC, αντίστοιχα, αναστέλλεται από την κετοσυναζόλη, έναν ειδικό αναστολέα του CYP3A – τη βασική ομάδα των κυτοχρωμάτων P₄₅₀ στο ήπαρ των θηλαστικών (Parker, 2000). Ωστόσο, περαιτέρω έρευνα χρειάζεται για να τεκμηριωθεί η συμβολή τέτοιων ανασταλτικών παραγόντων στο μεταβολισμό της βιταμίνης E και να γίνει κατανοητό το πώς τέτοιοι παράγοντες μπορούν να ευθύνονται για τις διαφορές στο βαθμό μεταβολισμού που παρατηρούνται μεταξύ των ατόμων (Roxborough, 2000).

Όσον αφορά στην απέκκριση της βιταμίνης E, μια σχετικά μεγάλη ποσότητα του 30–70% δεν απορροφάται και, επομένως, αποβάλλεται με τα κόπρανα (Kayden και Traber, 1993). Επίσης, κάποια ποσότητα μπορεί να αποβάλλεται μέσω του δέρματος και της αναπνοής (Rustow, 1993, Thiele, 1998). Τέλος, περίπου το 50% της διαιτητικής πρόσληψης γ -τοκοφερόλης μεταβολίζεται σε γ -CEHC και απεκκρίνεται στα ούρα (Swanson, 1999), ενώ η απέκκριση του α -CEHC φαίνεται πως αντιπροσωπεύει μόνο το 1% περίπου της ποσότητας που προσλαμβάνεται.

Καροτενοειδή:

Τα καροτενοειδή αποτελούν ευρέως διαδεδομένες χρωστικές του φυτικού και ζωικού βασιλείου. Στους φυτικούς ιστούς η συγκέντρωσή τους εξαρτάται από τις συνθήκες καλλιέργειας, κυρίως την έκθεση στο φως και την παροχή αζώτου. Οι κύριες τάξεις καροτενοειδών στα φυτικά τρόφιμα, γαλακτοκομικά προϊόντα και κρέατα είναι το α -, β -καροτένιο, η λουτεΐνη, το λυκοπένιο, η β -

κρυπτοξανθίνη και η ζεαξανθίνη. Αυτά, φυσιολογικά, υπάρχουν στην all-trans-μορφή και τα υδροξυ-καροτενοειδή σε ελεύθερη μορφή. Όπως και η βιταμίνη E, είναι λιποδιαλυτά μόρια. Επομένως, η απορρόφησή τους ακολουθεί την ίδια πορεία, ενώ οι παράγοντες που την επηρεάζουν είναι ίδιοι με τους αντίστοιχους για τη βιταμίνη E. Επιπλέον, η ποικιλότητα της μορφής τους έχει κάποιον αντίκτυπο στο βαθμό στον οποίο αυτά είναι βιοδιαθέσιμα. Έτσι, στα φυτικά τρόφιμα μπορούν να αποτελούν μέρος του φωτοσυνθετικού μηχανισμού (πράσινα φυλλώδη λαχανικά), να είναι διαλυμένα σε λιπώδη σταγονίδια (φρούτα) ή δεσμευμένα σε ημικρυσταλλικές μεμβράνες (καρότο, τομάτα) (Castenmiller και West, 1998, Hof, 1998). Αυτές οι διαφορές επηρεάζουν άμεσα την απορρόφησή τους και εξηγούν την υψηλότερη απορρόφηση του β-καροτένιου από φρούτα πορτοκαλί χρώματος (Pee, 1998). Για τον ίδιο λόγο η κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν καροτενοειδή σε ένα γεύμα αυξάνεται με ταυτόχρονη υψηλή πρόσληψη λίπους (Roodenburg, 2000). Η χημική δομή των καροτενοειδών ασκεί μικρότερη επίδραση στην απορρόφησή τους από την αντίστοιχη της τοποθεσίας τους στο φυτικό ιστό. Έτσι, οι εστέρες των καροτενοειδών με λιπαρά οξέα, όπως είναι η λουτεΐνη και η κρυπτοξανθίνη που περιέχονται σε μερικά φρούτα (π.χ. ροδάκινα και παπάγια), υδρολύονται στον εντερικό αυλό πριν την πρόσληψη από τα κύτταρα του βλεννογόνου, πιθανόν από την υδρολάση του καρβοξυλικού εστέρα που εκκρίνεται από το πάγκρεας. Η εστεροποίηση δεν επηρεάζει το βαθμό απορρόφησης εκτός εάν η παρουσία λίπους είναι περιορισμένη (Roodenburg, 2000). Αντίθετα, η επεξεργασία των τροφίμων φαίνεται να παίζει πρωταρχικό ρόλο στη βιοδιαθεσιμότητα των καροτενοειδών. Έτσι, κατά το μαγείρεμα φυτικών τροφίμων που περιέχουν καροτενοειδή, αυτά μεταφέρονται στη λιπιδική φάση (π.χ. μαγείρεμα παρουσία ελαίου) ή αποκόπτονται από τη βασική κυτταρική δομή του φυτού (π.χ. κατά το μύσημα). Οι κατεργασίες αυτές διευκολύνουν την απορρόφηση (Stahl, 2002). Ακόμα, η οξύτητα του στομάχου μπορεί να επηρεάσει την απορρόφησή τους, προκαλώντας αλλαγές στην ποσότητα των cis/trans ισομερών, όπως έχει αποδειχτεί για το λυκοπένιο (Re, 2001). Η παρουσία φυτικών ινών σε μεγάλες ποσότητες μπορεί να μειώσει την απορρόφηση των καροτενοειδών (Riedl, 1999), ενώ, τέλος, έχει αναφερθεί και ανταγωνισμός στην απορρόφηση μερικών καροτενοειδών, ιδιαίτερα μεταξύ του β-καροτένιου και των οξοκαροτενοειδών, όπως είναι η λουτεΐνη και η κανθαξανθίνη (Paetau, 1997, Berg και Vliet, 1998).

Σχετικά με την ιστική κατανομή των καροτενοειδών, ποικίλες συγκεντρώσεις έχουν αναφερθεί σε διάφορους ιστούς. Έχει βρεθεί ότι το β-καροτένιο συσσωρεύεται στο ήπαρ, στους αναπαραγωγικούς ιστούς και αδένες, με τρόπο ο οποίος εξαρτάται από την πρόσληψη των λιποπρωτεϊνών χαμηλής και υψηλής πυκνότητας (LDL και HDL, αντίστοιχα), ενώ οι υψηλότερες συγκεντρώσεις λυκοπενίου εντοπίζονται στους όρχεις και στους αδένες των επινεφριδίων (Clinton,

(*Khachik, 1997*). Επίσης, έχουν ταυτοποιηθεί δυο προϊόντα αφυδρογόνωσης της λουτεΐνης. Η κεντρική διάσπαση του λυκοπενίου δε φαίνεται να αποτελεί σημαντικό μονοπάτι για το μεταβολισμό του, καθώς παράγει μόνο μικρές ποσότητες ακυλο-ρετινόλης (*Stahl, 2000*). Τέλος, στους ανθρώπους, τα καροτενοειδή απεκκρίνονται μέσω της χολής. Οι συγκεντρώσεις στη χολή αντανακλούν τα επίπεδά τους στο πλάσμα. Ωστόσο, αυτή δε φαίνεται να αποτελεί την κύρια πορεία απέκκρισης των καροτενοειδών. Έχει βρεθεί ότι η ημερήσια απέκκριση β-καροτενίου μέσω της χολής αντιστοιχεί μόνο στο 1% της συγκέντρωσής του στο πλάσμα, χωρίς να υπάρχει κάποια ένδειξη ότι δεν επαναπροσροφάται επαρκώς, μέσω αυτής της πορείας (*Leo, 1995*).

Σελήνιο (Se):

Η ποσότητα σεληνίου που περιέχεται στα διάφορα τρόφιμα μπορεί να διαφέρει σημαντικά, ανάλογα με τις μεθόδους παραγωγής και τις περιοχές όπου καλλιεργούνται οι φυτικές πηγές ή εκτρέφονται τα ζώα (*Wichtel, 1998*). Η απορρόφησή του εξαρτάται, σε μεγάλο βαθμό, από την ποσότητα του στοιχείου που βρίσκεται στην προσλαμβανόμενη τροφή. Ωστόσο, και ο τύπος του Se στη δίαιτα μπορεί να επηρεάσει το βαθμό και τους μηχανισμούς απορρόφησής του. Έτσι, σε πειράματα που έχουν διεξαχθεί σε ζώα, έχει βρεθεί ότι πάνω από το 90% του μετά σεληνίου άλατος της μεθειονίνης (Se-μεθειονίνη) απορροφάται από μια ποικιλία τροφίμων. Ακόμα, η Se-μεθειονίνη έχει αποδειχτεί ότι απορροφάται μέσω ενεργού μεταφοράς, ενώ η αναγμένη μορφή του Se μέσω παθητικής διάχυσης (*Sunde, 1997*). Όσον αφορά στην κατανομή του ιχνοστοιχείου στους ανθρώπινους ιστούς, τα περιορισμένα δεδομένα που υπάρχουν δείχνουν ότι αυτή είναι παρόμοια με την αντίστοιχη στα ζώα. Έτσι, οι υψηλότερες συγκεντρώσεις εντοπίζονται στο ήπαρ και στους νεφρούς. Χαμηλότερα επίπεδα συσσωρεύονται στο σπλήνα, στο πάγκρεας, στο αίμα, στο πλάσμα, στα ερυθροκύτταρα, στο σκελετικό, μυϊκό και λιπώδη ιστό. Μετά την αποθήκευσή του στους ιστούς, δεν είναι καλά γνωστό, πως αυτό επηρεάζει την έκφραση των ειδικών σεληνοπρωτεϊνών στους ιστούς αυτούς. Φαίνεται, πάντως πως διάφοροι μηχανισμοί εμπλέκονται στη μετατροπή του οργανικού Se στις ανόργανες μορφές που απαντώνται στις σεληνοπρωτεΐνες (*Arthur, 1999*). Η σελινική ρίζα πιθανόν μετατρέπεται σε σεληνώδη ρίζα, η οποία, στη συνέχεια, μεταβολίζεται με αναγωγικές διαδικασίες. Η σεληνώδης ρίζα αντιδρά γρήγορα με τη γλουταθειόνη προς σχηματισμό σελινο-διγλουταθειόνης. Αυτό το συστατικό μπορεί να αναχθεί, περαιτέρω, και η προκύπτουσα σεληνώδης ρίζα να μεθυλωθεί προς σχηματισμό διμεθυλ-σεληνώδους ρίζας και του ιόντος τριμεθυλο-σεληνίου. Η σεληνώδης ρίζα που σχηματίζεται από το παραπάνω μεταβολικό μονοπάτι μπορεί να είναι μια από τις πηγές σεληνίου για το φωσφορικό σελήνιο που παράγεται από τη συνθετάση του φωσφορικού σεληνίου στη σύνθεση των πρωτεϊνών. Τέλος, η απέκκριση του Se εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως είναι η προσλαμβανόμενη ποσότητα, ο τύπος της διαίτας

1998). Στα στοματικά κύτταρα, το β -καροτένιο και το λυκοπένιο είναι τα κύρια καροτενοειδή (Peng, 1994). Το λυκοπένιο και το β -καροτένιο, επίσης, συσσωρεύονται στο δέρμα (Ribaya – Mercado, 1995, Stahl, 2000), αλλά τα επίπεδά τους μειώνονται μετά από έκθεση στην υπεριώδη (UV) ακτινοβολία (Faulks, 1998). Τέλος, και τα ερυθροκύτταρα, τα λευκοκύτταρα και οι κυτταρικές μεμβράνες περιέχουν καροτενοειδή. Έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα λυκοπενίου λεμφοκυττάρων σχετίζονται με τις συγκεντρώσεις στο πλάσμα, καθώς και με την αντίσταση των λεμφοκυττάρων στο οξειδωτικό στρες που προκαλείται από το υπεροξείδιο του υδρογόνου (Porrini και Riso, 2000).

Τέλος, σημαντική είναι μεταβολική πορεία των καροτενοειδών, από αυτήν θα προκύψουν ρετινοειδή συστατικά. Η διάσπαση των καροτενοειδών της προβιταμίνης Α σε ρετινοειδή συμβαίνει, κυρίως, στα εντεροκύτταρα και, σε μικρότερο βαθμό, στο ήπαρ και σε άλλους ιστούς. Η υπάρχουσα γνώση, όμως, για το μεταβολισμό και την απέκκριση των καροτενοειδών είναι ανεπαρκής. Ένα μεταβολικό μονοπάτι περιλαμβάνει τη διάσπαση της πολυενικής αλυσίδας από τη β -καροτενιο-15,15'-οξυγενάση, η οποία θα οδηγούσε σε δυο μόρια ρετινάλης (Goodman και Olson, 1996). Άλλη αντίδραση που βρέθηκε να συμβαίνει, *in vitro*, είναι η κεντρική διάσπαση, η οποία οδηγεί σε από-καροτενάλες (Wang, 1991). Πρόσφατα, τρεις ομάδες ερευνητών ανέφεραν την απομόνωση και την ταυτοποίηση μιας β -καροτενιο-15,15'-οξυγενάσης (Lintig και Vogt, 2000, Wyss, 2000, Redmond, 2001). Οι ερευνητές αυτοί υποστήριξαν ότι πρόκειται για ένα κυτοσολικό ένζυμο, όχι μεμβρανοδεσμευόμενο, το οποίο καταλύει ειδικά την κεντρική διάσπαση και για να δράσει απαιτεί δισθενή σίδηρο. Επιπλέον, χαρακτηρίστηκε και ένα άλλο ένζυμο το οποίο καταλύει τη μη συμμετρική διάσπαση του β -καροτενίου, ειδικά, στον 9', 10' διπλό δεσμό (Kiefer, 2001). Ακόμα, μη ενζυμική κεντρική οξείδωση είναι πιθανό να συμβαίνει, σε κάποιο βαθμό, υπό συνθήκες οξειδωτικού στρες. Ωστόσο, ένα μέρος των καροτενοειδών που εισέρχονται στο εντεροκύτταρο δεν μετασχηματίζεται. Έχει εκτιμηθεί ότι το 20–75% του β -καροτενίου διασπάται και η διάσπαση αυτή είναι δοσοεξαρτώμενη (Vliet, 1996). Πιο πρόσφατα, έχουν αναφερθεί νέα δεδομένα για τη βιομετατροπή του β -καροτενίου από έρευνες που χρησιμοποίησαν τεχνικές ισοτόπων (Tang, 2000, Lieshout, 2001). Συγκεκριμένα, οι Tang *et al.* βρήκαν ότι 3,8mg β -καροτενίου σε έλαιο χρειάστηκαν για το σχηματισμό 1 mg ρετινόλης (25% βιομετατροπή) και οι Lieshout *et al.*, χρησιμοποιώντας ^{13}C -επισημασμένο β -καροτένιο, απέδειξαν ότι η διάσπαση του έφτανε το 39% (1mg από 2,4mg β -καροτενίου σε έλαιο). Από την άλλη πλευρά, οι πληροφορίες για το μεταβολισμό τα καροτενοειδή τα οποία δεν ανήκουν στην κατηγορία αυτών που συνθέτουν την προβιταμίνη Α είναι πολύ περιορισμένες. Δυο μεταβολίτες λυκοπενίου έχουν εντοπιστεί στον ορό, ένα στερεοϊσομερές μίγμα 2,6-κυκλολυκοπενιο-1,5-εποξειδίων, πιθανόν, προϊόντα οξείδωσης

από την οποία το σελήνιο απορροφάται και ο απορροφούμενος τύπος Se. Ύστερα από πολύ υψηλή πρόσληψη, η οποία πλησιάζει τα τοξικά επίπεδα, μεγάλη ποσότητα σεληνίου μπορεί να εκπνευστεί ως πτητικά συστατικά (π.χ. διμεθυλο-σεληνώσης ρίζα και διμεθυλο-δι-σεληνώσης ρίζα), ενώ στα ούρα, έχει εντοπιστεί ιόν τριμεθυλο-σεληνίου (Sunde, 1997).

Μαγνήσιο (Mg):

Η απορρόφηση του μαγνησίου λαμβάνει χώρα σε όλο το μήκος του λεπτού εντέρου, κυρίως, όμως, στο δωδεκαδάκτυλο και στον ειλέο. Δυο είναι οι πιθανοί μηχανισμοί απορρόφησής του, (α) μέσω μεταφορέα (διαδικασία που υφίσταται κορεσμό σε χαμηλά επίπεδα πρόσληψης διαιτητικού Mg) και (β) με απλή διάχυση (συμμετέχει σε αυξημένη πρόσληψη Mg). Σε φυσιολογικά επίπεδα διαιτητικής πρόσληψης, απορροφάται το 35–65% του Mg. Η απορρόφησή του είναι καλύτερη όταν τα επίπεδά του στο σώμα είναι μειωμένα και όταν η διαιτητική πρόσληψη είναι χαμηλή. Επιπλέον, η απορρόφηση αυτού του συστατικού επηρεάζεται θετικά από τη βιταμίνη D και τη λακτόζη, ενώ οι φυτικές ίνες επιδρούν αρνητικά, αλλά σε μικρό βαθμό. Η συγκέντρωση του Mg στο πλάσμα είναι 0,65–1,20mmol/L, ενώ η ενδοκυττάρια συγκέντρωση 8–10mmol/l. Σε φυσιολογικές συνθήκες, μικρές ποσότητες Mg απεκκρίνονται μέσω των ούρων, της τάξης του 3–5% της ποσότητας που διηθείται στους νεφρούς. Επίσης, κάποια ποσότητα δεν απορροφάται και αποβάλλεται μέσω των κοπράνων (Συντώσης, 2002).

Ψευδάργυρος (Zn):

Για να απορροφηθεί ο Zn πρέπει να υδρολυθεί από τα περισσότερα αμινοξέα και νουκλεϊκά οξέα. Η διαδικασία αυτή γίνεται από τις πρωτεάσες και νουκλεάσες στο στομάχι και στο λεπτό έντερο. Επίσης, το οξύ του στομάχου μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την απορρόφησή του. Η νήστιδα αποτελεί το σημαντικότερο σημείο απορρόφησης του Zn. Αυτή γίνεται μέσω μεταφορέα και είναι περισσότερο αποδοτική όταν η διαιτητική πρόσληψη είναι χαμηλή. Σε υψηλά επίπεδα πρόσληψης είναι πιθανό να συμβεί και παθητική διάχυση. Μελέτες έχουν δείξει ότι η απορρόφησή του κυμαίνεται στο 12-59%. Ο τρόπος με τον οποίο απορροφάται είναι αβέβαιος. Μπορεί να περάσει την ψυκτροειδή παρυφή ως ιόν ή τμήμα χηλικής ένωσης. Τα περισσότερα στοιχεία δείχνουν ότι απορροφάται ως σύμπλεγμα με μόρια-συνδέτες που προέρχονται από εξωγενείς πηγές. Μόρια-συνδέτες που διευκολύνουν την απορρόφησή του είναι το κιτρικό οξύ, το πικολινικό οξύ, κάποια αμινοξέα, η γλουταθειόνη και προϊόντα της πέψης των πρωτεϊνών, ενώ το οξαλικό, το φυτικό οξύ, οι φυτικές ίνες, το φολικό οξύ και δισθενή κατιόντα, όπως είναι ο Fe^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , είναι αναστολείς της απορρόφησης. Η μετακίνηση του Zn μέσα στα εντεροκύτταρα δεν είναι απόλυτα γνωστή διαδικασία, αλλά πιθανόν να εμπλέκεται μια πρωτεΐνη που είναι πλούσια σε κυστεΐνη

(Cystein-Rich Intestinal Protein, CRIP). Από το εντεροκύτταρο ο Zn εισέρχεται στην πυλαία κυκλοφορία και μεταφέρεται στο αίμα συνδεδεμένος, κυρίως, με αλβουμίνη. Ο μηχανισμός πρόσληψης Zn από τους ιστούς είναι άγνωστος. Έχουν προταθεί πολλαπλά συστήματα μεταφοράς. Ένα από αυτά σχετίζεται με τη χρήση αμινοξέων. Ο Zn αποθηκεύεται σε πολλά όργανα, κυρίως στο ήπαρ, τους νεφρούς, τους μύες, το δέρμα και τα οστά. Απεκκρίνεται από το σώμα μέσω του γαστρεντερικού σωλήνα, των νεφρών και του δέρματος. Η κύρια οδός αποβολής είναι με τα κόπρανα. Ενδογενής Zn εισέρχεται στο γαστρεντερικό σωλήνα με τη μορφή μεταλλοπρωτεϊνών, οι οποίες εκκρίνονται από τους σιελογόνους αδένες, τον εντερικό βλεννογόνο, το πάγκρεας και το ήπαρ. Επίσης, ενδογενής Zn εισέρχεται στο γαστρεντερικό σωλήνα από κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου που αποπύπτουν στον εντερικό αυλό και, πιθανόν, από εντεροκύτταρα που επιτρέπουν την κίνησή του και προς τις δυο κατευθύνσεις. Επιπλέον, η πλειοψηφία του Zn που φιλτράρεται από τους νεφρούς επαναρροφάται. Έτσι, μια μικρή μόνο ποσότητα αποβάλλεται απεκκρίνεται στα ούρα, της τάξης των 0,3–0,7mg/ημέρα. Ο Zn που εμφανίζεται στα ούρα πιθανόν να προέρχεται από το μικρό ποσοστό που σχηματίζει σύμπλεγμα με την ιστιδίνη και την κυστεΐνη στο πλάσμα. Τέλος, οι ημερήσιες απώλειες από το δέρμα είναι 0,7–1,0mg, ως αποτέλεσμα απολέπισης και εφίδρωσης (Συντώσης, 2002).

Χαλκός (Cu):

Ο Cu βρίσκεται στο σώμα στη μονοσθενή(Cu^{1+}) ή στη δισθενή του (Cu^{2+}) μορφή. Στα τρόφιμα είναι συνδεδεμένος με οργανικές ενώσεις, κυρίως αμινοξέα πρωτεϊνών. Έτσι, απαιτείται απελευθέρωση πριν την απορρόφησή του, διαδικασία που επιτυγχάνεται στο στομάχι με τη δράση του υδροχλωρικού οξέος και της πεψίνης. Αυτή μπορεί να συνεχιστεί και στο λεπτό έντερο από τη δράση πρωτεολυτικών ενζύμων. Ο Cu απορροφάται σε όλο το λεπτό έντερο και στο δωδεκαδάκτυλο, ενώ και το στομάχι φαίνεται να έχει απορροφητική ικανότητα, αν και μικρή. Οι μηχανισμοί απορρόφησής του από την ψυκτροειδή παρυφή του επιθηλιακού κυττάρου δεν είναι πλήρως κατανοητή. Το πιο πιθανό είναι να συνδέεται με μόρια στον εντερικό αυλό, τα οποία επάγουν την απορρόφησή του ή είναι απαραίτητα για την πρόσδεσή του σε υποδοχείς στην ψυκτροειδή παρυφή των εντεροκυττάρων. Όπως και για το Mg, υπάρχουν δυο μηχανισμοί απορρόφησης του Cu, ενεργός μεταφορά και παθητική διάχυση. Στο εντερικό κύτταρο, μπορεί είτε να αποθηκευτεί, είτε να μεταφερθεί προς τη βασεοπλευρική μεμβράνη και να απελευθερωθεί στο αίμα. Η αποθήκευσή του γίνεται στη μεταλλοθειονίνη, ενώ η ενδοκυττάρια μεταφορά του δεν έχει απόλυτα διευκρινιστεί, αλλά πιθανοί μεταφορείς είναι η γλουταθειονίνη και κάποια αμινοξέα. Συνήθως, το 30–50% του διαιτητικού Cu απορροφάται από το γαστρεντερικό σωλήνα, για φυσιολογικές προσλήψεις, ενώ αυξάνεται όταν η πρόσληψη είναι χαμηλή. Παράγοντες που

διευκολύνουν την απορρόφησή του είναι τα αμινοξέα, κυρίως η ιστιδίνη, που ενός συστήματος μεταφοράς αμινοξέων. Επίσης, κάποια οργανικά οξέα, όπως το κιτρικό, το γλυκονικό, το γαλακτικό, το οξικό και το μηλονικό οξύ λειτουργούν ως μόρια-συνδέτες και βελτιώνουν την απορρόφησή του. Από την άλλη μεριά, μέσω διαφόρων μηχανισμών, υψηλές προσλήψεις Zn, ασβεστίου (Ca) και η βιταμίνης C μπορούν να επιδράσουν αρνητικά στην απορρόφησή του. Ο Cu μεταφέρεται από το εντεροκύτταρο στο ήπαρ, μέσω της πυλαίας κυκλοφορίας, συνδεδεμένος στην αλβουμίνη. Μερικές ποσότητες μεταφέρονται συνδεδεμένες με αμινοξέα, όπως η ιστιδίνη και η κυστεΐνη. Δεσμεύεται στο ήπαρ, αλλά μπορεί να απελευθερωθεί και στη συστηματική κυκλοφορία και να μεταφερθεί και σε άλλους ιστούς, ενώ μπορεί να συμβεί και η αντίστροφη πορεία. Στο ήπαρ και στο αίμα, ο περισσότερος Cu είναι δεσμευμένος με την πρωτεΐνη σερουλοπλασμίνη. Η συγκέντρωσή του στο αίμα υπόκειται σε ρύθμιση και η δέσμευσή του από μεταφορικές πρωτεΐνες αποτελεί σημείο ρύθμισης του μεταβολισμού του. Εκτός από το ήπαρ, άλλοι ιστοί που περιέχουν Cu είναι οι νεφροί, τα οστά, οι μύες, το δέρμα, ο εγκέφαλος, το έντερο, η καρδιά, ο σπλήνας, τα νύχια. Ο προσλαμβανόμενος Cu αποβάλλεται από το σώμα μέσω των κοπράνων, των ούρων ή του ιδρώτα. Ο περισσότερος Cu που έχει απορροφηθεί (~2mg) εκκρίνεται από το ήπαρ στη χολή και αποβάλλεται με τα κόπρανα. Μικρή ποσότητα (10–50μg) αποβάλλεται μέσω των νεφρών στα ούρα. Επίσης, μικρές ποσότητες χάνονται με τον ιδρώτα και την απολέπιση (50–100μg), ενώ ίχνη χάνονται κατά την έμμηνο ροή στις γυναίκες (Συντώσης, 2002).

2.2. ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΒΙΟΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ:

Γενικά για τη βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών:

Οι βιολογικές ιδιότητες των πολυφαινολών εξαρτώνται από τη βιοδιαθεσιμότητά τους. Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενα κεφάλαια, ο ρόλος των πολυφαινολών στην πρόληψη διαφόρων χρόνιων εκφυλιστικών νοσημάτων είναι πολύ σημαντικός. Ωστόσο, η ποσότητα και το είδος των φαινολικών συστατικών που προσλαμβάνονται με τις τροφές δεν είναι πάντα αυτή που φτάνει στο αίμα και στους διάφορους ιστούς του ανθρώπινου οργανισμού και η οποία ασκεί την προστατευτική αυτή δράση. Για το λόγο αυτό, η κατανόηση των μηχανισμών που συμμετέχουν στο μεταβολισμό των πολυφαινολών αντικατοπτρίζει ένα πολύ σημαντικό κομμάτι της γνώσης για τη σημασία των πολυφαινολών στην υγεία του ανθρώπου. Παρά το γεγονός αυτό, δεν υπάρχουν, μέχρι σήμερα, αρκετές έρευνες με αντικείμενο τη μελέτη της βιοδιαθεσιμότητάς τους σε ανθρώπους και, επομένως, οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στα μεταβολικά στάδια στο ανθρώπινο σώμα μετά την κατανάλωση τροφών πλούσιων σε φαινολικά συστατικά δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Οι περισσότερες πληροφορίες για το θέμα αυτό βασίζονται είτε σε αποτελέσματα από μετρήσεις που έχουν γίνει σε ζώα, είτε από τη διεξαγωγή πειραμάτων *in vitro*.

Έμμεση απόδειξη της απορρόφησης των πολυφαινολών μέσω του εντερικού φραγμού είναι η αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος μετά την κατανάλωση τροφίμων πλούσιων σε πολυφαινόλες. Αυτό έχει παρατηρηθεί για μια μεγάλη σειρά τροφίμων, όπως είναι το τσάι (Serafini, 1996, Hof, 1997), το κόκκινο κρασί (Maxwell, 1994, Fuhrman, 1995, Whitehead, 1995, Duthie, 1998, Serafini, 1998), η μαύρη σταφίδα και ο χυμός μήλου (Young, 1999). Περισσότερο άμεσες αποδείξεις σχετικά με τη βιοδιαθεσιμότητα λίγων φαινολικών συστατικών έχουν αποκτηθεί μέσω της μέτρησης των συγκεντρώσεών τους στο πλάσμα και τα ούρα μετά την κατανάλωση είτε απλών συστατικών είτε τροφίμων με γνωστή περιεκτικότητα για τα συγκεκριμένα συστατικά.

Η χημική δομή των πολυφαινολών προσδιορίζει το ρυθμό και την έκταση της εντερικής απορρόφησης καθώς και τη φύση των μεταβολιτών τους που κυκλοφορούν στο πλάσμα. Οι λίγες έρευνες που υπάρχουν σχετικά με τη βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών στους ανθρώπους δείχνουν ότι οι ποσότητες των πολυφαινολών που εκκρίνονται άθικτες στα ούρα ποικίλουν μεταξύ των διαφόρων φαινολικών συστατικών. Έτσι, έχει βρεθεί πως οι ποσότητες που απεκκρίνονται στα ούρα είναι ιδιαίτερα χαμηλές για την κερκετίνη και τη ρουτίνη, ένα γλυκοζίτη της κερκετίνης (0,3–1,4%), αλλά αγγίζουν υψηλότερες τιμές όταν πρόκειται για τις κατεχίνες του πράσινου τσαγιού, τις ισοφλαβόνες της σόγιας, τις φλαβονόνες των εσπεριδοειδών ή τις ανθοκυανίνες του κόκκινου

κρασιού (3–26%). Από όλες τις πολυφαινόλες που έχουν χρησιμοποιηθεί σε έρευνες, την υψηλότερη τιμή απέκκρισης λαμβάνει το καφεϊκό οξύ (27%), ενώ τις χαμηλότερες τιμές οι θεαφλαβίνες του τσαγιού (0,0006%) (Mulder, 2001). Επιπλέον, ποικιλομορφία παρουσιάζουν οι τιμές των πολυφαινολών που απεκκρίνονται στα ούρα μεταξύ διαφορετικών ατόμων. Για παράδειγμα, ανάλογα με το άτομο, το ποσοστό της ναριγγενίνης που εντοπίζεται στα ούρα μετά την κατανάλωση χυμού από γκρέιπφρουτ μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ του 5–57% (Fuhr και Kummert, 1995).

Ένα μεγάλο μέρος των πολυφαινολών που φτάνουν στο στόμαχο (75–99%) δεν εντοπίζεται στα ούρα (π.χ. σχεδόν μηδενική απέκκριση). Αυτό, όμως, δεν αποδίδεται στη χημική διάσπασή τους στον αυλό του γαστρεντερικού. Διάφορα φαινολικά συστατικά, όπως το καφεϊκό οξύ και γλυκοζίτες της κερκετίνης, έχει βρεθεί ότι είναι σταθερά στο γαστρικό και εντερικό πολτό (Gee, 1998, Olthof, 2001). Σε άλλη έρευνα, η οποία εξέτασε τη σταθερότητα των προανθοκυανιδινών στον ανθρώπινο οργανισμό, μέσω περιοδικής δειγματοληψίας γαστρικού χυμού μετά την κατανάλωση πλούσιας σε προανθοκυανιδίνες σοκολάτας, βρέθηκε ότι αυτές δε διασπάστηκαν στις όξινες συνθήκες του στομάχου (Rios, 2002). Άλλη πιθανή εξήγηση για τη μη απέκκριση των πολυφαινολών αυτών στα ούρα είναι η απέκκρισή τους στη χολή (Donovan, 2000). Όμως, χρειάζονται αρκετές έρευνες ακόμα για την εκτίμηση της χολικής απέκκρισης των πολυφαινολών στον άνθρωπο. Επίσης, πολύ λίγες μετρήσεις είναι διαθέσιμες σχετικά με την απορρόφηση των πολυφαινολών, γενικότερα, στους ανθρώπους. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε εθελοντές, οι οποίοι είχαν υποβληθεί σε ειλεοστομία, βρέθηκε ότι, μετά την κατανάλωση κρεμμυδιών, η μισή ποσότητα των γλυκοζιτών κερκετίνης που περιέχεται σε αυτά απορροφήθηκε από το λεπτό έντερο (Hollman, 1995). Ακόμα, το επίπεδο απορρόφησης της ρουτίνης, ενός ραμνογλυκοζίτη της κερκετίνης αντιστοιχούσε στο 1/3–1/2 αυτού του γλυκοζίτη της κερκετίνης και χρειάστηκε απογλυκοζυλίωση από την εντερική χλωρίδα, πριν την απορρόφησή του στο παχύ έντερο (Hollman, 1997).

Οι ίδιες έρευνες έχουν, επίσης, δείξει ότι οι συγκεντρώσεις των φλαβονοειδών που φτάνουν άθικτα στο ανθρώπινο πλάσμα δεν ξεπερνούν το 1μM, όταν οι ποσότητες των πολυφαινολών που καταναλώνονται δεν ξεπερνούν τη συνήθη ποσότητα που προσλαμβάνεται φυσιολογικά με την τροφή. Αυτές οι μέγιστες συγκεντρώσεις εμφανίζονται, συνήθως, 1–2 ώρες μετά την πρόσληψη (Kivits, 1997, Aziz, 1998), εκτός από τις πολυφαινόλες που απορροφώνται μόνο μετά τη μερική διάσπασή τους από τη βακτηριακή χλωρίδα του κόλον. Για παράδειγμα, κατά την πρόσληψη ρουτίνης, η μέγιστη συγκέντρωση της κερκετίνης στο πλάσμα εμφανίζεται 9 ώρες μετά (Hollman,

1997). Για τα περισσότερα φλαβονοειδή που απορροφώνται από το λεπτό έντερο, αφού λάβουν τη μέγιστη τιμή τους στο πλάσμα, στη συνέχεια, τα επίπεδά τους μειώνονται με γρήγορο ρυθμό (1–2 ώρες). Αυτή η γρήγορη απέκκριση διευκολύνεται από τη σύζευξη της αγλυκόνης με θεικές και γλυκουρονιδικές ομάδες, όπως θα περιγραφεί παρακάτω. Η περίοδος αυτή της μείωσης της συγκέντρωσης στο πλάσμα είναι πολύ μεγαλύτερη για την ίδια την κερκετίνη (24 ώρες) (Hollman, 1997). Αυτή η βραδεία μείωση μπορεί, πιθανόν, να αποδοθεί στην υψηλή συγγένεια της κερκετίνης με την αλβουμίνη του πλάσματος (Dangles, 2000).

Παρακάτω, αναλύονται οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στα διάφορα μεταβολικά στάδια που ακολουθούν οι πολυφαινόλες μετά την πρόσληψή τους, καθώς και οι παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητά τους.

Μεταβολικά στάδια πολυφαινολών και παράγοντες που τα επηρεάζουν:

Οι πολυφαινόλες απαντώνται στα διάφορα τρόφιμα και αφεψήματα σε διάφορους χημικούς τύπους, οι οποίοι προσδιορίζουν την απορρόφησή τους από τον εντερικό φραγμό. Επιπλέον, η χημική δομή είναι αυτή που επηρεάζει τις αντιδράσεις σύζευξης με μεθυλικές, θεικές ή γλυκουρονιδικές ομάδες, καθώς και τη φύση και τις ποσότητες των μεταβολιτών που σχηματίζονται και οι οποίοι απορροφώνται από τη μικροβιακή χλωρίδα του κόλον. Η κατανόηση των παραγόντων που επηρεάζουν την απορρόφηση και μεταβολισμό των πολυφαινολών είναι πρωταρχικής σημασίας για τον προσδιορισμό εκείνων που απορροφώνται καλύτερα και που οδηγούν στο σχηματισμό γνωστών δραστικών μεταβολιτών.

Εντερική απορρόφηση:

Γλυκοσυλίωση:

Συγκεκριμένες τάξεις πολυφαινολών, όπως είναι οι φλαβονόλες, οι ισοφλαβόνες, οι φλαβόνες και οι ανθοκυανίνες, υπάρχουν, συχνά, στη γλυκοσυλιωμένη μορφή τους. Εξαιρέση αποτελούν οι κατεχίνες και οι προανθοκυανιδίνες, από τις τάξεις των φλαβονοειδών. Ο δεσμευμένος σακχαρίτης είναι, συνήθως, γλυκόζη ή ραμνόζη, αλλά μπορεί, επίσης, να είναι γαλακτόζη, αραβινόζη, ξυλόζη, γλυκουρονικό οξύ ή άλλα σάκχαρα (Harborne, 1994). Ο αριθμός των σακχαριτών είναι, κατά κύριο λόγο, ένας, αλλά κάποιες φορές, δυο ή τρεις σακχαρίτες είναι δεσμευμένοι στο βασικό σκελετό της πολυφαινόλης. Επιπλέον, αυτός μπορεί να βρίσκεται σε διάφορες θέσεις υποκατάστασης ενωμένος με το μόριο της πολυφαινόλης. Υπάρχει περίπτωση οι σακχαρίτες να είναι περαιτέρω δεσμευμένοι, για παράδειγμα με μια ομάδα μηλονικού οξέος. Η γλυκοσυλίωση επηρεάζει τις χημικές, φυσιολογικές και βιολογικές ιδιότητες της πολυφαινόλης. Για παράδειγμα,

οι συντελεστές κατανομής (partition coefficients) μετρούν τη σχετική συγγένεια ενός συστατικού με την υγρή ή την οργανική φάση και είναι σημαντικοί γιατί προσδιορίζουν το εάν ένα συστατικό διαπεράσει παθητικά μια βιολογική μεμβράνη και πως αυτό μπορεί να κατανεμηθεί στο κύτταρο. Η φλαβονόλη κερκετίνη έχει συντελεστή κατανομής (σε οκτανόλη/νερό) $1,2 \pm 0,1$, ενώ για ένα γλυκοζίτη, το κερκετινο-3-O-ραμνογλυκοζίτη η τιμή του συντελεστή κατανομής είναι μικρότερη, $0,37 \pm 0,06$. Η χαμηλότερη αυτή τιμή για το ραμνογλυκοζίτη δείχνει ότι είναι περισσότερο υδρόφιλος (Brown, 1998).

Για τις γλυκοσυλιωμένες πολυφαινόλες, η γνώση της επιρροής που ασκεί στην παθητική διάχυση η φύση της πλευράς του μορίου που έρχεται σε επαφή με τη βιολογική μεμβράνη υποδεικνύει ότι η απομάκρυνση του υδρόφιλου μέρους, συνήθως, είναι απαραίτητη για να μπορέσει να επέλθει παθητική διάχυση του μορίου διαμέσου της λιπιδικής μεμβράνης του εντέρου. Πρόσφατες έρευνες σε ανθρώπινα εντερικά κύτταρα της σειράς Caco-2 έδειξαν απουσία απορρόφησης των γλυκοζιτών κερκετίνης (Walgren, 2000). Το εύρημα αυτό οδήγησε τους ίδιους ερευνητές να μελετήσουν ξανά την απορρόφηση των γλυκοζιτών κερκετίνης σε ασθενείς με ειλεοστομία, στους οποίους εντόπισαν ούτε κερκετινο-4'-μονογλυκοζίτη, ούτε κερκετινο-3,4'-διγλυκοζίτη στα υγρά της στομίας. Οι ερευνητές βρήκαν ότι και οι δυο γλυκοζίτες υδρολύονταν αποτελεσματικά στο ανθρώπινο έντερο προς σχηματισμό της αγλυκόνης, η οποία, στη συνέχεια, απορροφήθηκε (Walle, 2000). Η ακριβής τοποθεσία όπου λαμβάνει χώρα αυτή η υδρόλυση δεν είναι γνωστή. Από τα παραπάνω, φαίνεται πως το πρώτο βήμα του μεταβολισμού θα έπρεπε να είναι η απομάκρυνση του σακχαρίτη από το μόριο της πολυφαινόλης με τη βοήθεια ειδικών ενζύμων (γλυκοσιδάσες). Οι δράσεις των γλυκοσιδασών μπορούν να λάβουν χώρα είτε στην ίδια την τροφή από την εκεί παρουσία αυτών των ενζύμων (ενδογενή ένζυμα ή πρόσθετα κατά τις διαδικασίες παρασκευής του τροφίμου), είτε στα κύτταρα του βλεννογόνου του γαστρεντερικού συστήματος, είτε στο κόλον, μετά την έκκρισή τους από τη μικροβιακή του χλωρίδα.

Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα των παραπάνω ερευνών, οι οποίες υποστηρίζουν την ανάγκη υδρόλυσης των γλυκοσυλιωμένων πολυφαινολών από τα ειδικά ένζυμα είναι δυνατή η απορρόφηση, έρχονται τα δεδομένα της μελέτης που διεξήχθη από τους Milbury *et al.* (2002). Η ομάδα των ερευνητών αυτών εξέτασε τη βιοδιαθεσιμότητα γλυκοζιτών των ανθοκυανινών από ώριμα μούρα σε τέσσερις ηλικιωμένες γυναίκες (67 ± 4 ετών) και βρήκε ότι τα φαινολικά αυτά συστατικά, τα οποία έχουν παρόμοια χημική δομή με την κερκετίνη, απορροφώνται στη γλυκοζυλιωμένη μορφή τους. Συγκεκριμένα, η μέγιστη συγκέντρωση των κυανιδινο-3-γλυκοζίτη

και κυανιδινο-3-σαμβουβιοζίτη που βρέθηκε στο πλάσμα των γυναικών έφτανε, κατά μέσο όρο, συνολικά, τα 97,4 nmol/L. Σύμφωνα με τα παραπάνω είναι τα αποτελέσματα άλλης έρευνας, που πραγματοποιήθηκε σε ανθρώπους, η οποία έδειξε ότι οι γλυκοζίτες κερκετίνης απορροφώνται σε αυτή τη μορφή γρήγορα, εάν ο γλυκοζίτης βρίσκεται στις θέσεις 3' ή 4' και υποθέτει ότι αυτό γίνεται μέσω ενός Na-γλυκόζης συμεταφορέα. Στην έρευνα αυτή αποδείχτηκε ότι το 50% των προσλαμβανόμενων γλυκοζιτών κερκετίνης απορροφήθηκαν στο λεπτό έντερο και, κατόπιν, μεταβολίστηκαν στο ήπαρ σε συστατικά, όπως η ισοραμνετίνη, με το υπόλοιπο 50%, πιθανόν, να μεταβολίζεται από την εντερική μικροχλωρίδα και να απορροφάται ως αγλυκόνη ή άλλους φαινολικούς μεταβολίτες (*Olthof, 2001*). Η ίδια υπόθεση για τη μεσολάβηση Na-γλυκόζο-εξαρτώμενων μεταφορέων, προκειμένου να επιτευχθεί η απορρόφηση των γλυκοζιτών πολυφαινόλων, έγινε και από τους *Aziz et al. (1998)*. Επιπλέον, σε έρευνα στην οποία εξετάστηκε η βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινόλων που βρίσκονται σε χυμό από μαύρη σταφίδα (πλούσιος σε ανθοκυανίνες, φλαβονόλες και υδροξυ-κινναμωμικά οξέα), γλυκοζίτες ανθοκυανινών εντοπίστηκαν στο πλάσμα και στα ούρα. Συγκεκριμένα, εξετάστηκαν οι δελφινιδινο-3-γλυκοζίτης, δελφινιδινο-3-ρουτινοζίτης, κυανιδινο-3-γλυκοζίτης και κυανιδινο-3-ρουτινοζίτης, των οποίων η συγκέντρωση στο πλάσμα βρέθηκε ότι κυμαίνεται μεταξύ των τιμών 0–128,6nmol/L, ενώ η απομάκρυνσή τους από τα ούρα ήταν μικρή (0,007–0,133% της προσλαμβανόμενης ποσότητας) και επήλθε γρήγορα μετά την πρόσληψη του χυμού (μέγιστη απέκκριση στα ούρα 1 ώρα μετά την κατανάλωση του χυμού) (*Rechner, 2002*). Τέλος, την απορρόφηση των γλυκοζιτών ανθοκυανινών σε αυτή τη μορφή τους υποστηρίζουν τα αποτελέσματα και άλλων πέντε ερευνών που πραγματοποιήθηκαν σε ανθρώπους. Κατά τις δυο πρώτες, χορηγήθηκαν στους εθελοντές απλοί γλυκοζίτες ανθοκυανινών και εκχυλίσματα από μούρα ή κρασί, αντίστοιχα (*Lapidot, 1998, Bub, 2001*), ενώ στις άλλες χρησιμοποιήθηκαν ανθοκυανίνες από μαύρη σταφίδα (*Miyazawa, 1999, Matsumoto, 2001, Cao, 2001*). Και στις πέντε αυτές έρευνες αποδείχτηκε η απορρόφηση των γλυκοζιτών και η γρήγορη απομάκρυνσή τους μέσω των ούρων.

Μη ενζυμική απογλυκοσυλίωση στο ανθρώπινο σώμα, για παράδειγμα στις όξινες συνθήκες του στομάχου δε συμβαίνει (*Gee, 1998*). Επομένως, η απορρόφηση των πολυφαινόλων ελέγχεται από την ύπαρξη ειδικών ενζύμων και την κατανομή τους κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα. Τα ανθρώπινα κύτταρα εκφράζουν μερικές β-γλυκοσιδάσες, αλλά η έκφραση αυτή είναι ειδική για κάθε ιστό και, συχνά, ρυθμίζεται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης. Οι πολυφαινόλες που έχουν συνδεδεμένο στο μόριό τους γλυκόζη (ή, πιθανόν, αραβινόζη ή ξυλόζη) είναι πιθανά υποστρώματα για ενδογενή ανθρώπινα ένζυμα. Η δεσμευμένη στο μόριο πολυφαινόλης ραμνόζη δεν αποτελεί

υπόστρωμα για τις ανθρώπινες β -γλυκοσιδάσες και, επομένως, αποδεδειγμένο μόνο με τη δράση α-ραμνογλυκοσιδάσων που παράγονται από βακτήρια του κόλον.

Σε έρευνες που πραγματοποιήθηκαν σχετικά με τη δράση διαφόρων ανθρώπινων και ζωικών ιστών σε γλυκοζίτες πολυφαινολών φάνηκαν τα παρακάτω:

- Σε εκχυλίσματα ελεύθερων κυττάρων ανθρώπινου ήπατος και λεπτού εντέρου, δε γίνεται υδρόλυση των ραμνοσιδάσων. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι στους ιστούς αυτούς δε μεταβολίζονται ούτε απορροφώνται οι ραμνοζίτες.

- Σε αντίθεση με την παραπάνω παρατήρηση, βρέθηκε ότι αυτό δεν ισχύει για τους ιστούς των αρουραίων, αν και η υδρόλυση λαμβάνει χώρα σε μικρή έκταση.

Αυτή η διαφορά είναι αξιοσημείωτη και πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν διεξάγονται συμπεράσματα για το μεταβολισμό των πολυφαινολών.

- Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι το ανθρώπινο λεπτό έντερο υδρολύει τον κερκετινο-3-O-γλυκοζίτη, ενώ το ήπαρ όχι. Αυτό αποδίδεται στην παρουσία γαλακτάσης φλωριζίνου υδρολάσης (Lactase Phlorisin Hydrolase / LPH), μια β -γλυκοσιδάση, στην εξωτερική πλευρά επιθηλιακής μεμβράνης. Η δράση αυτού του ενζύμου δεν προαπαιτεί την απορρόφηση του γλυκοζίτη της πολυφαινόλης στα επιθηλιακά κύτταρα του λεπτού εντέρου.

(Day, 2000)

Ωστόσο, η διευκόλυνση της απορρόφησης του γλυκοζίτη της κερκετίνης από την LPH δεν έχει παρατηρηθεί για άλλα φλαβονοειδή, όπως είναι η ναριγγενίνη (Felgines, 2000) και η φλωριζίνη (Crespy, 2001).

- Η δράση των εκχυλισμάτων του ηπατικού ιστού και μερικών του λεπτού εντέρου αποδίδεται στην κυτοσολική β -γλυκοσιδάση (CBG), ένα υδατοδιαλυτό ένζυμο που υπάρχει σε πολλούς ιστούς. Η CBG που εκχυλίστηκε από ήπαρ γουρουνιού επέδειξε την ίδια ειδικότητα όπως προέκυψε από τις αντίστοιχες μελέτες σε ανθρώπινους ιστούς (Lambert, 1999), δηλαδή καμία δράση απέναντι στον κερκετινο-3-O-γλυκοζίτη.

Τα αποτελέσματα των παραπάνω ερευνών συμφωνούν απόλυτα με αυτά έρευνας που διεξήχθη σε εθελοντές, στους οποίους χορηγήθηκαν απλά παράγωγα κερκετίνης. Ο κερκετινο-3-O-ραμνογλυκοζίτης απορροφήθηκε με βραδύτερο ρυθμό από το κερκετινο-4'-O-γλυκοζίτη (μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα σε 6 ώρες και σε λιγότερο από ½ ώρα, αντίστοιχα), όπως αναμενόταν, εάν ο γλυκοζίτης απορροφάται στο λεπτό έντερο μετά από υδρόλυση από τη CBG ή την LPH και ο ραμνοζίτης απορροφάται μόνο μετά από υδρόλυση, αργότερα, από τις ραμνοσιδάσες των

βακτηρίων του κόλον. Επιπλέον, η ποσότητα των μεταβολιτών που εντοπίστηκαν αντικατοπτρίζει την πολύ μικρότερη απορρόφηση του ραμνογλυκοζίτη σε σχέση με το γλυκοζίτη (η βιοδιαθεσιμότητα του ρουτινοζίτη αντιστοιχούσε μόνο στο 20% αυτής του γλυκοζίτη). Ωστόσο, ο χρόνος ημίσειας ζωής ήταν παρόμοιος και για τα δυο συστατικά (20–30 ώρες) (Hollman., 1999). Επίσης, έχει βρεθεί ότι η κερκετίνη των κρεμμυδιών, που βρίσκεται, κυρίως, σε γλυκοσυλιωμένη μορφή, είναι περισσότερο βιοδιαθέσιμη από τη αυτή που περιέχεται στο τσάι ή στο κρασί, κατά κύριο λόγο, ως ρουτινοζίτης (de Vries, 2001).

Συμπερασματικά, από τις παραπάνω έρευνες, γίνεται φανερό ότι η απογλυκοσυλίωση των γλυκοσυλιωμένων πολυφαινόλων δεν είναι πάντα απαραίτητη για την απορρόφησή τους μέσω του εντερικού φραγμού. Αυτό έχει επιβεβαιωθεί από πειράματα που έχουν πραγματοποιηθεί σε αρουραίους και έχει μελετηθεί από έρευνες σε ανθρώπους., αλλά τα αποτελέσματα των δευτέρων είναι αντιφατικά. Επομένως, περαιτέρω μελέτη πάνω στο θέμα αυτό είναι αναγκαία. Επιπλέον, έχει υποτεθεί από τους ερευνητές ότι η απορρόφηση των γλυκοσυλιωμένων πολυφαινόλων πιθανόν να γίνεται με διευκολυνόμενη μεταφορά, μέσω ενός Na-γλυκοζοεξαρτώμενο μεταφορέα. Τέλος, για τις πολυφαινόλες για την απορρόφηση των οποίων απαιτείται η υδρόλυση, θεωρείται ότι, κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα, υπάρχουν ειδικά ένζυμα, οι β-γλυκοσιδάσες, τα οποία επιτελούν τη διαδικασία αυτή. Όσον αφορά στους ανθρώπους, όμως, δεν ισχύει το ίδιο για τους ραμνογλυκοζίτες πολυφαινόλων. Η απομάκρυνση του ραμνογλυκοζίτη στα μόρια αυτά γίνεται με τη βοήθεια ραμνογλυκοσιδασών που παράγονται από βακτήρια του κόλον. Ωστόσο, σε αρουραίους έχει βρεθεί ότι αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί από ενδογενή ειδικά ένζυμα.

Ακυλίωση:

Οι φλαβανόνες, όπως είναι η (-)-επικατεχίνη, απαντώνται συχνά στην ακυλιωμένη μορφή τους, κυρίως ως γαλλικό οξύ. Η ακυλίωση, όμως, προκαλεί μόνο μια μικρή αλλαγή στους συντελεστές κατανομής των φλαβανολών και, επομένως, δεν επηρεάζει τη βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινόλων τόσο δραματικά όσο η γλυκοζυλίωση. Οι φλαβανόλες φαίνεται πως διαπερνούν τις βιολογικές μεμβράνες και απορροφώνται χωρίς υδρόλυση ή κάποια άλλη αντίδραση αποδέσμευσης. Σε μια έρευνα βρέθηκε ότι η φλαβανόλη (-)-γαλλόυλο- επιγαλλοκατεχίνη υπέστη αντιδράσεις απομάκρυνσης του γαλλικού οξέος στο ανθρώπινο σάλιο (Yang, 1999). Ωστόσο, σε άλλη μελέτη, κατά την οποία δόθηκε πράσινο τσάι σε ανθρώπους, τα επίπεδα της επιγαλλοκατεχίνης και της γαλλόυλο- επιγαλλοκατεχίνης ήταν 0,2–2% της ποσότητας που καταναλώθηκε (2–3 φλιτζάνια τσαγιού), ανάλογα με το άτομο, αλλά δε βρέθηκε κάποια διαφορά μεταξύ των γαλακτοσυλιωμένων και μη γαλακτοσυλιωμένων πολυφαινόλων (Nakagawa, 1997). Παρόμοια αποτελέσματα

προέκυψαν από πιο πρόσφατη μελέτη η οποία εξέτασε τη βιοδιαθεσιμότητα των κατεχινών σε οκτώ υγιή ενήλικα άτομα (5 άνδρες και 3 γυναίκες), βάρους 45–85Kg, μετά την κατανάλωση πράσινου τσαγιού (εκχύλισμα 20mg ξηρών φύλλων *Camelia sinensis* σε 500mL νερό). Σε αυτήν, βρέθηκε ότι η μέγιστη συγκέντρωση της γαλλόυλο-επιγαλλοκατεχίνης (EGCG) στο πλάσμα ήταν μόλις 77,9ng/L, ενώ δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στα επίπεδα πλάσματος των ακυλιωμένων και μη ακυλιωμένων κατεχινών (η μέγιστη συγκέντρωση πλάσματος των γαλλόυλο-επιγαλλοκατεχίνη, γαλλόυλο-επικατεχίνη και επικατεχίνη ήταν 77,9ng/L, 223,4ng/L και 124,03ng/L, αντίστοιχα (Lee, 2002). Σε συμφωνία με τις παραπάνω έρευνες βρίσκονται και άλλες δυο που μελέτησαν τη βιοδιαθεσιμότητα των κατεχινών του τσαγιού σε ανθρώπους και οι οποίες απέδειξαν ότι μικρό ποσοστό των προσλαμβανόμενων κατεχινών εντοπίζεται στο πλάσμα (Yang, 1998, Ghaw, 2001).

Επομένως, φαίνεται πως η ακυλίωση των πολυφαινολών δεν επηρεάζει σημαντικά τη βιοδιαθεσιμότητά τους. Αυτό έχει τεκμηριωθεί από έρευνες που έχουν μελετήσει τη βιοδιαθεσιμότητα των κατεχινών του τσαγιού, *in vivo*. Οι κατεχίνες αποτελούν χαρακτηριστική ομάδα πολυφαινολών που απαντάται στην ακυλιωμένη μορφή της, κυρίως με γαλλικό οξύ. Επίσης, έχει βρεθεί ότι η βιοδιαθεσιμότητα της τάξης αυτής των πολυφαινολών είναι σχετικά φτωχή, ενώ το μικρό ποσοστό που απορροφάται φαίνεται πως απεκκρίνεται, κατά κύριο λόγο, μέσω της χολής στο κόλον (Chen, 1997). Το γεγονός αυτό πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν διεξάγονται πειράματα *in vitro* σε συνθήκες *in vivo*.

Εστεροποίηση:

Τα υδροξυ-κινναμμοϊικά οξέα, όπως είναι το φερουλικό οξύ και το καφεϊκό οξύ, μπορούν συχνά να εστεροποιηθούν με σάκχαρα, οργανικά οξέα ή λιπίδια (Herrmann, 1989). Τα συστατικά αυτά απαντώνται σε μεγάλες ποσότητες στα φρούτα, τα λαχανικά, τον καφέ, το κρασί και το ελαιόλαδο (Huang, 1986, , Herrmann, 1989, , Macheix, 1990, Salunkhe, 1990, Peleg, 1991, Shahidi, 1995). Για παράδειγμα, το χλωρογενικό οξύ (5'-καφεοϋλ-κινινικό οξύ) είναι εστέρας καφεϊκού οξέος συνδεδεμένο με κινινικό οξύ. Το συστατικό αυτό απαντάται σε μεγάλες ποσότητες στον καφέ, και σε μικρότερες ποσότητες σε φρούτα και λαχανικά (Clifford, 1999). Η εστεροποίηση του φερουλικού οξέος γίνεται με γαλλικό οξύ (Scalbert, 2002). Αυτοί οι εστέρες έχουν αξιοσημείωτες επιδράσεις στις χημικές, φυσιολογικές και βιολογικές ιδιότητες των πολυφαινολών. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα υδροξυ-κινναμμοϊικά, τα οποία είναι αποτέλεσμα φυσικής εστεροποίησης (Macheix, 1990), δεν διασπώνται στα βασικά τους οξέα στις όξινες συνθήκες του στομάχου (π.χ. το χλωρογενικό οξύ είναι σταθερό σε pH=2, που είναι το pH του στομάχου) (Rechner, 2001), ούτε στο λεπτό έντερο από την εκεί παρουσία ειδικών ενζύμων (Plumb, 1999), αλλά στο κόλον, από τη

δράση εστερασών που παράγονται από τη βακτηριακή χλωρίδα (Scheline, 1991, Plumb, 1999). Παρόμοια, το φερουλικό οξύ και άλλα υδροξυ-κιναμμωμικά οξέα που είναι δεσμευμένα στα φυτικά κυτταρικά τοιχώματα δεν απελευθερώνονται από ανθρώπινα ενδογενή ένζυμα, αλλά χρειάζονται αποδέσμευση από ένζυμα, όπως οι ξυλανάσες και οι εστεράσες που εκκρίνονται από βακτήρια του κόλον (Kroon, 1996). Έτσι, έχει βρεθεί ότι, στους ανθρώπους, η εντερική απορρόφηση για το καφεϊκό οξύ φτάνει το 95% της ποσότητας που προσλαμβάνεται, ενώ το χλωρογενικό οξύ απορροφάται μόνο κατά το 33 %. Επίσης, η απέκκριση του μη μεταβολισμένου χλωρογενικού οξέος δεν ξεπερνά το 3% (Olthof, 2001). Τα αποτελέσματα, όμως, της παραπάνω μελέτης είναι αμφισβητήσιμα. Συγκεκριμένα, χορηγήθηκε σε εθελοντές 1g χλωρογενικού οξέος, ποσότητα η οποία ξεπερνά κατά δέκα φορές εκείνη που βρίσκεται σε 1 φλιτζάνι καφέ. Επιπλέον, σε αυτή, δεν πραγματοποιήθηκαν άμεσες μετρήσεις, αλλά η ποσότητα του χλωρογενικού οξέος που απορροφήθηκε υπολογίστηκε μέσω της διαφοράς της ποσότητας που καταναλώθηκε μείων εκείνη που απεκκρίθηκε σε ειλεοστομικά υγρά ασθενών χωρίς κόλον. Επομένως, δεν μπορεί να αποκλεισθεί το γεγονός ότι μέρος του οξέος αυτού μπορεί να χάθηκε κατά μήκος του γαστρεντερικού αυλού. Ακόμα, σε έρευνα, κατά την οποία εξετάστηκε η απορρόφηση των φαινολικών οξέων σε ανθρώπους μετά την κατανάλωση καφέ, εντοπίστηκε στο πλάσμα των εθελοντών αυξημένη ποσότητα καφεϊκού οξέος μια ώρα μετά την κατανάλωση, ενώ δε βρέθηκε καθόλου αδιάσπαστο χλωρογενικό οξύ (ωστόσο, δεν αποκλείστηκε το ενδεχόμενο ύπαρξης ιχνών χλωρογενικού οξέος). Η γρήγορη εμφάνιση του καφεϊκού οξέος στην κυκλοφορία, οδήγησε τους ερευνητές στην υπόθεση δυο πιθανών μηχανισμών απορρόφησης:

- Το χλωρογενικό οξύ διασπάστηκε και απελευθερώθηκε καφεϊκό οξύ από ενδογενείς εστεράσες, οι οποίες είναι κατανεμημένες σε όλο το μήκος του λεπτού και του παχέος εντέρου και είναι παρούσες και στα κύτταρα του βλεννογόνου και στον αυλό. Την παρουσία ενδογενών εστερασών ικανών να υδρολύουν τους υδροξυ-κιναμμωμικούς εστέρες έχει πρόσφατα περιγράψει και άλλη έρευνα, που πραγματοποίησε μετρήσεις και σε ανθρώπους και σε αρουραίους (Andreason, 2001).
- Δεύτερος πιθανός μηχανισμός θεωρήθηκε ότι είναι η απορρόφηση του χλωρογενικού οξέος σε αυτή τη μορφή και η γρήγορη υδρόλυση και μεταβολισμός του στο πλάσμα. Όμως, η παρούσα γνώση για την απορρόφηση των υδροξυ-κιναμμωμικών οξέων δεν υποστηρίζει την υπόθεση αυτή. Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής βρίσκονται τα δεδομένα προγενέστερων μελετών που πραγματοποιήθηκαν σε αρουραίους. Συγκεκριμένα, μετά την από του στόματος χορήγηση χλωρογενικού οξέος, εντοπίστηκε στο πλάσμα καφεϊκό οξύ, αλλά όχι χλωρογενικό (Camarasa, 1988, Azuma, 2000). Επιπλέον, χλωρογενικό οξύ δεν εντοπίστηκε στα ούρα (Booth, 1957). Τέλος, έχει βρεθεί ότι, μετά την πρόσληψη χλωρογενικού οξέος από φρούτα, εμφανίζονται μεταβολίτες καφεϊκού οξέος στα ούρα, αλλά όχι χλωρογενικό οξύ (Bourne, 1998).

Συνοψίζοντας, τα δεδομένα που υπάρχουν μέχρι σήμερα όσον αφορά στην απορρόφηση των υδροξυ-κιναμμομικών οξέων φαίνεται πως είναι αντιφατικά. Οι περισσότερες έρευνες υποστηρίζουν πως για την απορρόφηση των υδροξυ-κιναμμομικών εστέρων είναι πρώτα απαραίτητη η υδρόλυσή τους, ενώ είναι πιθανό να απορροφώνται και αδιάσπαστα υδροξυ-κιναμμικά σε πολύ μικρές, όμως, ποσότητες, μη εύκολα εντοπίσιμες. Συμφωνία υπάρχει ως προς το ότι η διαδικασία αυτή μπορεί να επιτελεστεί από εστεράσες που παράγονται από την εντερική μικροχλωρίδα. Ωστόσο, η γρήγορη εμφάνιση καφεϊκού οξέος στο πλάσμα (προϊόν της υδρόλυσης του χλωρογενικού οξέος), από μετρήσεις σε ανθρώπους και αρουραίους, έχει οδηγήσει μερικούς ερευνητές στην υπόθεση ότι υπάρχουν και ενδογενείς εστεράσες που θα μπορούσαν να καταλύσουν την υδρόλυση των εστερικών δεσμών. Βέβαιο είναι, πάντως, ότι το καφεϊκό οξύ είναι βιοδιαθέσιμο. Περισσότερες έρευνες χρειάζονται, όμως, για την ανακάλυψη της απορρόφησης και των άλλων φαινολικών οξέων που προέρχονται από τη διάσπαση των υδροξυ-κιναμμομικών, όπως είναι το φερουλικό και το π -κουμαρικό οξύ.

Μοριακό Βάρος (MB):

Η απορρόφηση των πολυφαινολών εξαρτάται και από το μοριακό τους βάρος. Όσο μικρότερο είναι αυτό, τόσο ευκολότερη και μεγαλύτερη είναι η απορρόφηση της πολυφαινόλης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν πειράματα που διεξήχθησαν *in vitro* για την απορρόφηση διαμέσου μονής κυτταρικής στιβάδας προερχόμενη από ανθρώπινα εντερικά κύτταρα της γραμμής Caco-2, τα οποία έδειξαν ότι τα ραδιοσημασμένα διμερή και τριμερή προανθοκυανιδίνης απορροφήθηκαν, σε αντίθεση με τα πολυμερή προανθοκυανιδίνης, με μέσο βαθμό πολυμερισμού 7 μονάδες (Deprez, 1999). Τα διμερή και τριμερή απορροφήθηκαν σε τέτοια έκταση που προσέγγιζε αυτή της (+)-κατεχίνης. Σχετικά με τις προανθοκυανιδίνες, πολυμερή φλαβονοειδή με διάφορους βαθμούς πολυμερισμού και MB από 578 και πάνω, σήμερα είναι ξεκάθαρο ότι δεν απορροφώνται (Deprez, 2001, Donovan, 2002, Holt, 2002). Μάλιστα, σε έρευνα, στην οποία εξετάστηκε, *in vitro*, η επίδραση του όξινου γαστρικού περιβάλλοντος στα ολιγομερή προκυανιδινών των κατεχινών (τριμερή – εξαμερή) που βρίσκονται στο κακάο, βρέθηκε ότι τα συστατικά αυτά είναι ασταθή στις όξινες συνθήκες του στομάχου, με αποτέλεσμα να αποσυντίθενται. Για τους σκοπούς της έρευνας, χρησιμοποιήθηκαν 100 μ M ολιγομερών προκυανιδινών, τα οποία επώαστηκαν σε οξύ με pH=2 και σε γαστρικό χυμό (pH=2) στους 37°C για 3,5 ώρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όσο μεγαλύτερος ήταν ο βαθμός πολυμερισμού τόσο πιο γρήγορα επήλθε η διάσπαση (Spencer, 2000). Σύμφωνα με την έρευνα αυτή είναι άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε *in vivo*, σε ανθρώπους. Συγκεκριμένα, 23 υγιή άτομα ακολούθησαν δίαιτα που περιείχε 22g κακάο και 16g σκούρας σοκολάτας, τα οποία

ισοδυναμούν με ~466mg προκυανιδινών/ημέρα. Μετά την κατανάλωση του πλούσιου σε προκυανιδίνες και επικατεχίνες γεύματος, τα επίπεδα επικατεχίνης στο πλάσμα αυξήθηκαν γρήγορα, ενώ δεν εντοπίστηκαν προκυανιδίνες. Το δεδομένο αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι προκυανιδίνες διασπάστηκαν και απελευθερώθηκε επικατεχίνη (Wan, 2001).

Επομένως, φαίνεται πως για την απορρόφηση των πολυφαινολών μεγάλου μοριακού βάρους είναι απαραίτητη η διάσπασή τους σε προϊόντα μικρότερου μοριακού βάρους. Έτσι, ακόμα και τα ολιγομερή προκυανιδινών των κατεχινών (φλαβονοειδή που περιέχονται σε μεγάλες ποσότητες στο κακάο) δεν μπορούν να διαπεράσουν το εντερικό επιθήλιο πριν διασπαστούν από τις όξινες συνθήκες του στομάχου, ενώ τα πολυμερή προανθοκυανιδίνης δεν μπορούν να απορροφηθούν. Φαίνεται λοιπόν, πως ο ρόλος του χαμηλού pH του στομάχου είναι καθοριστικός για την μεταβολική τύχη των πολυφαινολών μεγάλου μοριακού βάρους.

Μεταβολισμός πολυφαινολών – Αντιδράσεις σύζευξης και αποσύζευξης:

Οι πολυφαινόλες μεταβολίζονται εκτεταμένα είτε στους ιστούς, κυρίως το ήπαρ, αφού απορροφηθούν μέσω του εντερικού φραγμού, είτε, για τις μη απορροφημένες πολυφαινόλες και αυτές που ξαναεκκρίνονται στη χολή, από την εντερική μικροχλωρίδα. Μετά την υδρόλυσή τους σε ελεύθερη αγλυκόνη, όλα τα πολυφαινολικά παράγωγα συζεύγνυνται ώστε να σχηματίσουν *O*-μεθυλ-εστέρες, θειικούς εστέρες, *O*-γλυκουρονίδια ή κάποιο συνδυασμό των παραπάνω. Ο σχηματισμός ανιονικών παραγώγων, μέσω της σύζευξης με γλυκουρονίδια ή σουλφιδικές ομάδες, διευκολύνει την ουρική και χολική απέκκριση. Με αυτόν τον τρόπο, επέρχεται η γρήγορη απομάκρυνσή τους από το σώμα. Τα βήματα που ακολουθούνται ελέγχονται από την ειδικότητα και την κατανομή των ενζύμων που καταλύουν τις παραπάνω αντιδράσεις. Το μεταβολικό αυτό μονοπάτι είναι γνωστό όσον αφορά στο μεταβολισμό των φαρμάκων. Πολλές πληροφορίες που είναι διαθέσιμες σχετικά με το μεταβολισμό των πολυφαινολών έχουν προέλθει από συγκρίσεις με αυτόν των φαρμάκων. Ο σχηματισμός συμπλόκων μπορεί να προκαλέσει σημαντικές αλλαγές στις βιολογικές ιδιότητες των μεταβολιτών που κυκλοφορούν στο αίμα. Ωστόσο, υπάρχουν αρκετές διαφορές μεταξύ των δυο μεταβολικών μονοπατιών η περιγραφή των οποίων δεν εξυπηρετεί τους σκοπούς της παρούσας μελέτης. Όσον αφορά στις πολυφαινόλες, αυτές δεν κυκλοφορούν στο αίμα ως ελεύθερες αγλυκόνες. Ουσιαστικά, όλες είναι γλυκουρονιδωμένες ή/και σουλφιδωμένες, εκτός από συγκεκριμένα φλαβονοειδή, όπως είναι η φλωρετίνη, ή οποία βρέθηκε στο πλάσμα αρουραίων και στις δυο μορφές, ελεύθερη αγλυκόνη και συζευγμένη (Crespy, 2001). Επιπλέον, όταν οι

πολυφαινόλες χορηγούνται σε μεγάλες δόσεις (φαρμακολογικές δόσεις), έχει βρεθεί ότι κυκλοφορούν στην ελεύθερη μορφή τους στο αίμα (Hackett, 1983). Για παράδειγμα, μετά την πρόσληψη 2g (+)-κατεχίνης, εντοπίστηκε στο πλάσμα ελεύθερη (+)-κατεχίνη μετά από 30 λεπτά. Μετά από 2 ώρες βρέθηκαν ίχνη μεθυλο-κατεχίνης και μετά από 8 ώρες, το 40% της κατεχίνης που απεκκρίθηκε στα ούρα ήταν μεθυλωμένη, σουλφυδιωμένη και γλυκουρονιδιωμένη. Ωστόσο, μετά την κατανάλωση μικρής ποσότητας (+)-κατεχίνης, της τάξης των λίγων mg, η οποία λαμβάνεται φυσιολογικά με την κατανάλωση κόκκινου κρασιού, ολόκληρη η ποσότητα της πολυφαινόλης που εντοπίστηκε στην κυκλοφορία ήταν συζευγμένη (Bell, 2000). Από τις παραπάνω παρατηρήσεις, φαίνεται πως με την ποσότητα των πολυφαινολών που προσλαμβάνεται με την τροφή (<100mg) δεν αναμένεται να κορεστούν τα μεταβολικά μονοπάτια, όπως συμβαίνει με τα φάρμακα, και, επομένως, οι πολυφαινόλες που κυκλοφορούν στο πλάσμα βρίσκονται όλες στη συζευγμένη μορφή τους. Η ποσότητα της πολυφαινόλης που προσλαμβάνεται είναι, επίσης, πιθανό να επηρεάσει την τοποθεσία όπου θα λάβουν χώρα τα πρώτα στάδια του μεταβολισμού. Οι μεγάλες δόσεις μεταβολίζονται, πρωταρχικά, στο ήπαρ, ενώ οι μικρές δόσεις μπορούν να μεταβολιστούν από τον εντερικό βλεννογόνο, με το ήπαρ να παίζει δευτερεύοντα ρόλο, ώστε να τροποποιήσει, περαιτέρω, τα πολυφαινολικά σύμπλοκα. Για παράδειγμα, σε αρουραίους, μετά από του στόματος χορήγηση 10mg (-)-επικατεχίνης, η πολυφαινόλη, αρχικά, υπέστη γλυκουρονιδίωση κατά τη διάρκεια της εντερικής απορρόφησης και, στη συνέχεια, ακολούθησε ηπατική σουλφυδίωση και μεθυλίωση, με πιθανή περαιτέρω μεθυλίωση από τους νεφρούς πριν την απέκκριση (Piscula και Terao, 1998). Το αποτέλεσμα της παραπάνω έρευνας υπογραμμίζει τον ουσιαστικό ρόλο που διαδραματίζει το λεπτό έντερο στο μεταβολισμό των διαιτητικών πολυφαινολών.

Έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σε ανθρώπους, οι οποίες μελέτησαν την μεταβολική τύχη των προσλαμβανόμενων από την τροφή πολυφαινολών έδειξαν τα παρακάτω:

- Όσον αφορά στις κατεχίνες του τσαγιού, η επιγαλλοκατεχίνη (EGC) εντοπίζεται, κυρίως, σε γλυκουρονιδιωμένη (57–71%) ή σε σουλφυδιωμένη μορφή (23–36%), με μια μικρή μόνο ποσότητα να βρίσκεται ελεύθερη (3–13%) (Lee, 1995). Μεθυλίωση της EGC, επίσης, συμβαίνει στον ανθρώπινο οργανισμό προς σχηματισμό 4'-O-μεθυλο-EGC, η οποία είναι συζευγμένη, κατά κύριο λόγο, με γλυκουρονίδια ή θεικές ομάδες (Yang, 2001). Αντίθετα, η σουλφυδιωμένη μορφή της επικατεχίνης (EC) απαντάται συχνότερα (66%) από τη γλυκουρονιδιωμένη (33%) (Lee, 1995), ενώ η EGCG εντοπίζεται, κυρίως, ελεύθερη στην κυκλοφορία (Chow, 2001).

- Μετά την πρόσληψη υδροξυκιναμωμικών οξέων από την κατανάλωση καφέ, εντοπίζεται καφεϊκό οξύ στο πλάσμα, κυρίως, συζευγμένο με γλυκουρονίδια ή σουλφίδια. Μεθυλιωμένα παράγωγα ή ελεύθερη μορφή καφεϊκού οξέος δεν έχουν εντοπιστεί (Nardini, 2002).
- Σε έρευνα, στην οποία εξετάστηκε η βιοδιαθεσιμότητα της ναριγγενίνης σε πέντε υγιείς ενήλικες άνδρες, μετά την κατανάλωση γεύματος που περιείχε μαγειρεμένο χυμό τομάτας, βρέθηκε ότι η ναριγγενίνης μεταβολίζεται εκτεταμένα στο ήπαρ και εισέρχεται στη συστηματική κυκλοφορία σε συζευγμένη μορφή, ως γλυκουρονίδιο ή σουλφίδιο. Ελεύθερη ή μεθυλιωμένη ναριγγενίνης δε βρέθηκε (Bugianesi, 2002). Σύμφωνα με την έρευνα αυτή είναι μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε αρουραίους και η οποία, επίσης, εξέταζε την μεταβολική πορεία της πολυφαινόλης αυτής (Felgines, 2000).
- Οι ανθοκυανίνες που προσλαμβάνονται από την κατανάλωση χυμού μούρων (πλούσια πηγή ανθοκυανινών) δε φαίνεται να είναι επιρρεπείς στη φάση I και φάση II του μεταβολισμού στο λεπτό έντερο, καθώς ούτε παραγόμενες αγλυκόνες ούτε O-μεθυλιωμένα ή γλυκουρονιδιωμένα προϊόντα έχουν εντοπιστεί στο πλάσμα ή στα ούρα ανθρώπων (Rechner, 2002).
- Τέλος, έχει βρεθεί ότι η αυξημένη πρόσληψη πολυφαινόλων οδηγεί σε αυξημένη απέκκριση υποουρικών οξέων (Graefe, 1999, Clifford, 2000, Rechner, 2001, Rechner, 2002).

Τα ένζυμα που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των πολυφαινόλων:

Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά το μεταβολισμό των πολυφαινόλων καταλύονται από διάφορα ειδικά ένζυμα. Μερικά από αυτά εμφανίζουν γενετικό πολυμορφισμό. Επίσης, τα ένζυμα αυτά διεγείρονται από την παρουσία τροφής στο γαστρεντερικό σωλήνα. Τα επίπεδα και ο τύπος όπου εκφράζονται στους ανθρώπινους ιστούς ορίζουν την μεταβολική τύχη και τη φαρμακοκινητική των προσλαμβανόμενων πολυφαινόλων. Τα ένζυμα που καταλύουν τις αντιδράσεις σύζευξης έχουν μελετηθεί, εκτεταμένα, εξαιτίας της συμμετοχής τους στο μεταβολισμό των φαρμάκων.

Παρακάτω, περιγράφονται, συνοπτικά, τα βασικά χαρακτηριστικά καθενός από τα ένζυμα αυτά:

- ❖ *β-γλυκοσιδάση (CBG)*: Το ένζυμο αυτό βρίσκεται σε αρκετούς ιστούς, αλλά, κατά κύριο λόγο, στο ήπαρ. Θεωρείται ότι καταλύει την υδρόλυση ενός μεγάλου αριθμού ξενοβιοτικών γλυκοζιτών (Lamarco και Glew, 1986, Gopalan, 1992).
- ❖ *γαλακτάση της φλωριζινο-υδρολάσης (LPH)*: Το ένζυμο αυτό απαντάται μόνο στο λεπτό έντερο και εμφανίζει μικτή λειτουργία. Φυσιολογικά υποστρώματά του είναι οι γλυκοσυκεραμίδες και λακτοσυκεραμίδες (στα σφαιρίδια λίπους του γάλακτος) (Leese και Semenza, 1973), καθώς και η λακτόζη. Η υδρόλυση από το ένζυμο αυτό προαπαιτεί

απορρόφηση του μορίου. Πρόσφατα, η LPH βρέθηκε ότι παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των πολυφαινολών, διότι καταλύει την υδρόλυση ενός μεγάλου εύρους γλυκοζιτών πολυφαινολών, συμπεριλαμβανομένου του κερκετινο-3-*O*-γλυκοζίτη, ο οποίος δεν αποτελεί υπόστρωμα για τις CBG (Day, 2000).

❖ *κατεχολο-Ο-μεθυλο-τρανφεράση (COMT)*: Μετά την αποσύζευξη, οι πολυφαινόλες σχηματίζουν ξανά σύμπλοκα. Η COMT παίζει ζωτικό ρόλο στο μεταβολισμό της ντοπαμίνης. Επίσης, καταλύει τη μεθυλίωση των πολυφαινολών. Απαντάται σε ποικίλους ιστούς. Η ειδικότητα του ενζύμου για τις πολυφαινόλες ορίζει ποιες από τις υδροξυλικές ομάδες του πολυφαινολικού δακτυλίου μεθυλιώνονται. Έτσι, η COMT θεωρείται ειδική για τη μεθυλίωση της επιγαλλοκατεχίνης στη θέση 4' (Lee, 2002).

❖ *γλυκουρονοσυλο-τρανφεράση (UDP)*: Το ένζυμο αυτό καταλύει τη σύνδεση των πολυφαινολών με το γλυκουρονικό οξύ. Βρίσκεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και είναι μέλος μιας μεγάλης οικογένειας συγγενών ενζύμων. Η γλυκουρονιδίωση των πολυφαινολών συμβαίνει, κυρίως, από την οικογένεια UGT1A, η οποία υπάρχει στο έντερο, το ήπαρ και τους νεφρούς. Άλλα ένζυμα της ίδιας οικογένειας μπορούν, επίσης, να βρίσκονται στο κόλον και στο γαστρικό επιθήλιο (Cheng, 1999). Από όλους τους ιστούς, το ήπαρ έχει τη μεγαλύτερη ικανότητα για γλυκουρονιδίωση (Mojarrabi και MacKenzie, 1998, Strassburg, 1998). Το ποσό των ενζύμων της οικογένειας αυτής που υπάρχουν στο σώμα και, συνεπώς, ο βαθμός γλυκουρονιδίωσης των πολυφαινολών μπορεί να επηρεαστεί από περιβαλλοντικούς, διαιτητικούς και γενετικούς παράγοντες (Bu-Abbas, 1995, Burchell, 1995). Το γεγονός αυτό δικαιολογεί τις διαφορές που παρατηρούνται ως προς τη γλυκουρονιδίωση των κατεχινών (Yang, 1998). Οι συνέπειες της γλυκουρονιδίωσης που λαμβάνει χώρα σε συγκεκριμένες περιοχές στο σώμα δεν είναι ακόμα γνωστές για πολλές πολυφαινόλες. Οι βιολογικές δράσεις των πολυφαινολικών μεταβολιτών χρειάζονται ακόμα αρκετή έρευνα ώστε να διεξαχθούν ακριβή συμπεράσματα.

❖ *φαινολο-σουλφο-τρανφεράσες (P-PST, SULT)*: Πρόκειται για μια μικρή ομάδα κυτοσολικών ενζύμων με ευρεία κατανομή. Ενδογενή υποστρώματά τους αποτελούν οι ιωδοθυρονίνες, ενώ δρουν και 4-νιτροφαινόλη, τις φαινόλες και τις υδροξυ-αρυλ-αμίνες (Coughtrie, 1998). Μεγάλες ποσότητες των ενζύμων αυτών βρίσκονται στο ήπαρ και το κόλον. Τα ένζυμα αυτά δε διεγείρονται από την τροφή, το περιβάλλον και τα ξеноβιοτικά (Burchell, 1995). Η δράση μερικών αναστέλλεται από την παρουσία πολυφαινολών, όπως έχει βρεθεί για την κερκετίνη (Walle, 1995), τα φαινολικά συστατικά του κόκκινου κρασιού και του τσαγιού (Burchell και Coughtrie, 1997). Επιπλέον, μερικές τρανφεράσες γλουταθειόνης, κυτοχρώματα P450 και

υδρολάσες εποξειδίου εμφανίζουν γενετικό πολυμορφισμό, αλλά δε φαίνεται να παίζουν κάποιο βασικό ρόλο στο μεταβολισμό των πολυφαινολών (Wormhoudt, 1999).

❖ **κιναμμόνλ-εστεράσες:** Πρόκειται για υποθετικά ενδογενή ένζυμα τα οποία, θεωρητικά, κατανέμονται σε όλο το μήκος του λεπτού και του παχέος εντέρου και είναι παρόντα και στα κύτταρα του βλεννογόνου και στον αυλό του εντερικού σωλήνα. Η παρατήρηση από ερευνητές ότι το καφεϊκό οξύ εντοπίζεται σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά την πρόσληψη υδροξυ-κιναμμομικών οξέων που περιέχονται στον καφέ, καθώς και το γεγονός ότι ελεύθερο καφεϊκό οξύ δεν υπάρχει στον καφέ, τους οδήγησε στην υπόθεση ότι, εκτός από τις εστεράσες που παράγονται από τη μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου, υπάρχουν και ενδογενείς εστεράσες που καταλύουν τη διάσπαση των υδροξυ-κιναμμομικών οξέων σε απλά φαινολικά οξέα (Azuman, 2000, Nardini, 2002).

❖ **κυτόχρωμα P450:** Όσον αφορά στην υδρόλυση των φλαβονοειδών, έρευνα που πραγματοποιήθηκε *in vitro* και η οποία εξέτασε το ρόλο του κυτοχρώματος P450 στο μεταβολισμό των φλαβονοειδών, έδειξε ότι αυτό συμμετέχει στη διάσπαση των συζευγμένων μορφών πολυφαινολών. Πιο συγκεκριμένα, μικροσώματα από ήπαρ ανθρώπου και ποντικού, καθώς και μεμβράνες που απομονώθηκαν από *Escherichia coli*, επωάστηκαν με συγκεκριμένα είδη φλαβονοειδών. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων έδειξαν ότι η καμπεφερόλη, η απιγενίνη και η ναριγγενίνη υδρολύθηκαν στη θέση 3', προς σχηματισμό κερκετίνης, λουτεονίνης και εριοδικτυόλης, αντίστοιχα, ενώ η εσπεριδίνη και ταμαριξετίνη απομεθυλώθηκαν στη θέση 3', για να σχηματιστούν οι εριοδικτυόλη και η α-ναφθοφλαβόνη, αντίστοιχα. Από τους τύπους των κυτοχρωμάτων, φαίνεται πως κύριο ρόλο στο μεταβολισμό των φλαβονοειδών διαδραματίζει ο CYP1A2. Ο τύπος αυτός παρουσιάζει ποικιλότητα ως προς την έκφρασή του μεταξύ διαφορετικών ατόμων. Η ποικιλομορφία αυτή CYP-ενζύμων συνεπάγεται και την έμμεση επίδρασή τους στα ευεργετικά αποτελέσματα των διαιτητικών φλαβονοειδών μεταξύ των ατόμων, εφόσον αυτά μεσολαβούν στο σχηματισμό μεταβολιτών ποικίλων βιοχημικών ιδιοτήτων (Breinholt, 2001).

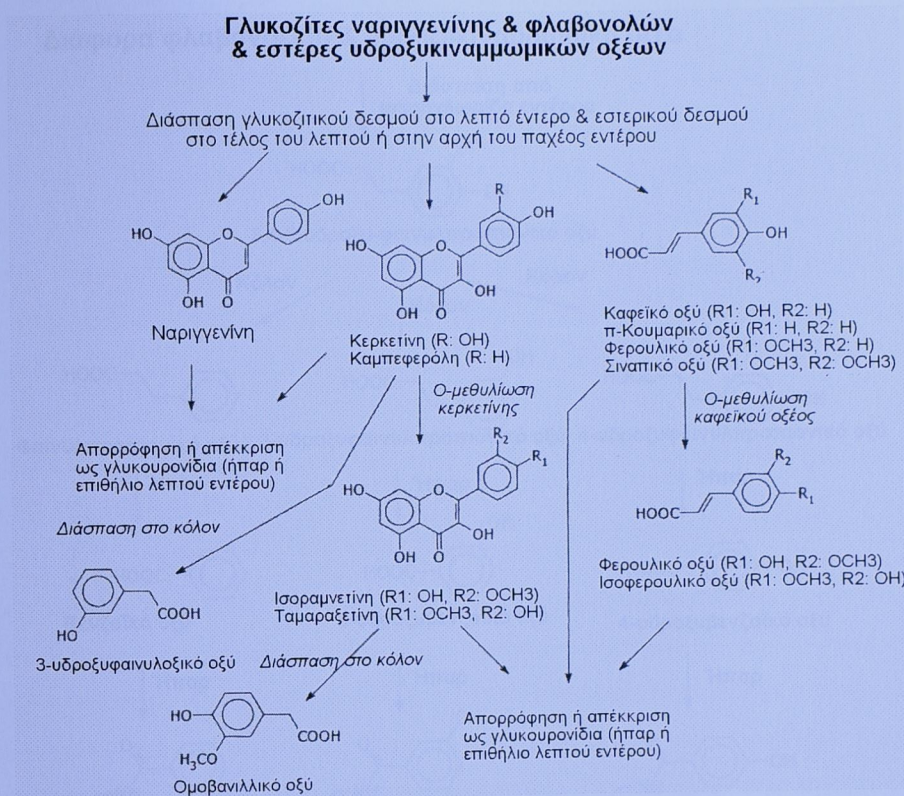
Μεταβολισμός από τη μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου:

Οι πολυφαινόλες οι οποίες δεν απορροφώνται στο στόμαχο ή στο λεπτό έντερο μεταφέρονται στο κόλον. Επιπλέον, οι πολυφαινόλες που απορροφώνται, μεταβολίζονται στο ήπαρ και απεκκρίνονται στη χολή ή κατευθείαν από τα εντερικά κύτταρα πίσω στον αυλό του λεπτού εντέρου, φτάνουν στο κόλον, αλλά με διαφορετική χημική δομή, όπως ως γλυκουρονίδια. Το κόλον περιέχει περίπου 10^{12} μικροοργανισμούς/cm³ και έχει τεράστια καταλυτική και υδrolυτική δύναμη. Εδώ εύκολα λαμβάνουν χώρα αντιδράσεις αποσύνθεσης. Για παράδειγμα, οι κερκετινο-3-O-ραμνογλυκοζίτης

και κερκετιν-3-*O*-ραμνοζίτης δεν υδρολύονται από ενδογενή ανθρώπινα ένζυμα, αλλά εύκολα υδρολύονται από α -ραμνοσιδάσες και β -γλυκοσιδάσες της εντερικής μικροχλωρίδας σε κερκετίνη (Schneider, 1999).

Σε αντίθεση με τα ένζυμα που υπάρχουν στους ανθρώπινους ιστούς, τα ένζυμα των βακτηρίων του κόλον καταλύουν τη διάσπαση των ίδιων των πολυφαινολών σε απλούστερα συστατικά, όπως είναι τα φαινολικά οξέα. Για παράδειγμα, κερκετινο-3-*O*-ραμνοζίτης επώαστηκε, σε αναερόβιες συνθήκες, με ανθρώπινα εντερικά βακτήρια, οι μεταβολίτες που βρέθηκαν ήταν κερκετίνη, 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ και 4-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ. Σε πειράματα που διεξήχθησαν σε ανθρώπους, *in vivo*, δε βρέθηκε κερκετινο-3-*O*-ραμνογλυκοζίτης (το αρχικό μόριο) και κερκετίνη στα ούρα μετά τη χορήγηση των μητρικών συστατικών, αλλά προϊόντα διάσπασης από την εντερική χλωρίδα (3-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ, 3-μεθοξυ-4-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ, 3,4-διυδροξυ-τολουένιο και β -μ-υδροξυ-φαινυλ-υδρακρυλικό οξύ (Baba, 1983, Rechner, 2002). Ακόμα, σε πειραματική μελέτη, στην οποία ένα πολυμερές ανθοκυανιδίνης επώαστηκε αναερόβια με βακτήρια από ανθρώπινο κόλον, βρέθηκε ότι το πολυμερές αυτό διασπάστηκε σε φαινολικά οξέα χαμηλού μοριακού βάρους, που μπορούν εύκολα να απορροφηθούν από το κόλον, *in vivo* (Deprez, 2000).

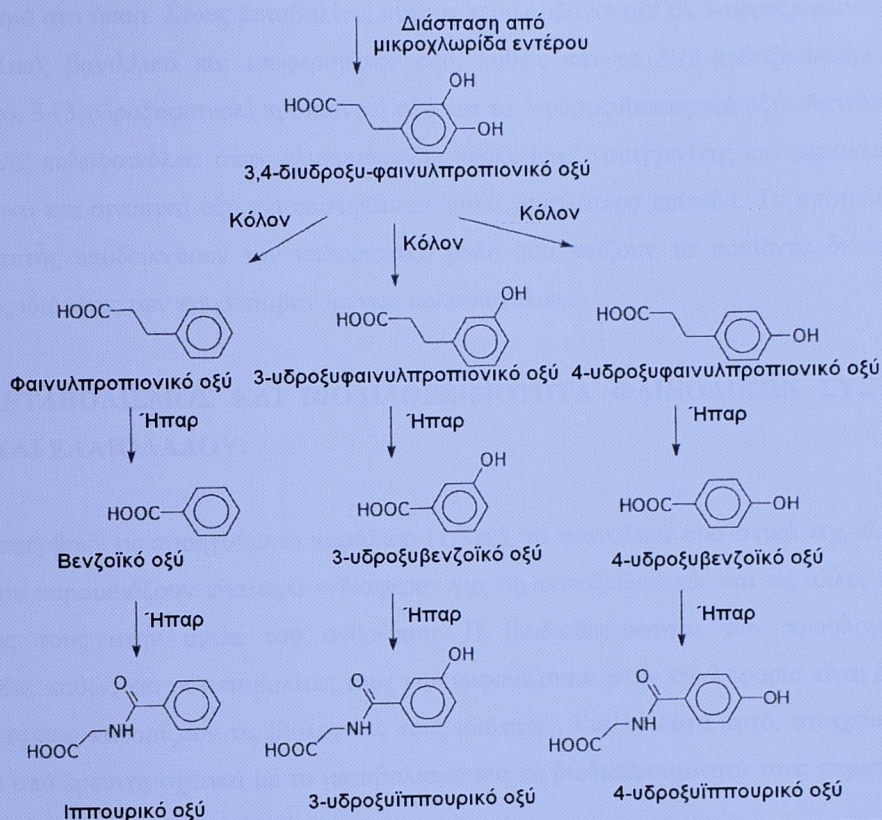
Τα παρακάτω σχήματα αποτελούν τα προτεινόμενα μοντέλα για το μεταβολισμό της ναριγγενίνης, των φλαβονολών και των υδροξυ-κιναμμομικών οξέων, καθώς και για το σχηματισμό ιππουρικών οξέων από τις πολυφαινόλες:



(Rechner, 2002)

Σχ. 2.3: Σχηματική παρουσίαση προτεινόμενου μοντέλου για το μεταβολισμό της ναριγγενίνης, των φλαβονολών και των υδροξυκιναμωμικών οξέων

Διάφορα φλαβονοειδή & υδροξυκιναμωμικά οξέα



(Rechner, 2002)

Σχ. 2.4: Σχηματική παρουσίαση προτεινόμενου μηχανισμού για το σχηματισμό ιππουρικών οξέων από πολυφαινόλες

Τα δυο παραπάνω σχήματα αποτελούν συνοπτική παρουσίαση των μηχανισμών που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των προσλαμβανόμενων πολυφαινόλων στον ανθρώπινο οργανισμό, όπως αυτοί περιγράφηκαν στο παρόν κεφάλαιο. Έρευνα η οποία πραγματοποιήθηκε και η οποία εξέτασε τη σχέση μεταξύ των βιοδεικτών της κολονικής απορρόφησης, των προσλαμβανόμενων πολυφαινόλων και των απορροφούμενων συζευγμένων τύπων, επαλήθευσε την υπάρχουσα γνώση σχετικά με το μεταβολισμό και τη βιοδιαθεσιμότητα των διαφόρων τάξεων των πολυφαινόλων. Στην έρευνα έλαβαν μέρος 20 υγιείς εθελοντές ηλικίας 20 έως 50 ετών με μέσο Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) $22,8 \pm 3,6 \text{ Kg/m}^2$. Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε τέσσερις ομάδες. Κάθε ομάδα ακολούθησε για τρεις ημέρες δίαιτα ελεύθερη φλαβονοειδών και, στη συνέχεια, πλούσια σε πολυφαινόλες δίαιτα για πέντε ημέρες. Λήφθηκαν δείγματα ούρων και αίματος. Οι αναλύσεις των δειγμάτων έδειξαν ότι η πλειοψηφία των τύπων που εντοπίστηκαν αποτελούσαν προϊόντα

διάσπασης από τη δράση ενζύμων της βακτηριακής χλωρίδας του κόλον και ακόλουθο μεταβολισμό στο ήπαρ. Στους μεταβολίτες αυτούς περιλαμβάνονταν τα 3-υδροξυφαινυλοξικό οξύ, ομοβανιλικό, βανιλικό και ισοφερουλικό οξύ, καθώς και τα 3-(3-μεθοξυ-4-υδροξυφαινυλ)-προπιονικό, 3-(3-υδροξυφαινυλ)-προπιονικό οξύ και το 3-υδροξυϊππουρικό οξύ. Αντίθετα, άθικτες συζευγμένες πολυφαινόλες, όπως γλυκουρονίδια κερκετίνης, ναριγγενίνης και φερουλικού οξέος, π-κουμαρικό και σιναπικό οξύ εντοπίστηκαν σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής υποδεικνύουν τον καθοριστικό ρόλο που παίζουν τα προϊόντα διάσπασης στις βιολογικές ιδιότητες των προσλαμβανόμενων πολυφαινολών.

2.2.α. ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΒΙΟΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΕΛΙΑΣ ΚΑΙ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ:

Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο (1.3.α.), τα φαινολικά συστατικά της ελιάς και του ελαιολάδου παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τις αντιοξειδωτικές και τις άλλες ευεργετικές επιδράσεις τους στην υγεία του ανθρώπου. Η βιοδιαθεσιμότητα των προσλαμβανόμενων συστατικών, καθώς και οι μεταβολίτες τους που εμφανίζονται στην κυκλοφορία είναι δυο βασικοί παράγοντες που καθορίζουν τις βιολογικές τους ιδιότητες. Για το λόγο αυτό, στοιχεία που έχουν προκύψει από έρευνες σχετικά με το μεταβολισμό και τη βιοδιαθεσιμότητά τους παρατίθενται στο παρών κεφάλαιο, ως ξεχωριστή ενότητα.

Τα βασικά φαινολικά συστατικά που περιέχονται στην ελιά και στο ελαιόλαδο είναι η ολευρωπαΐνη και οι μεταβολίτες της, τυροσόλη και υδροξυτυροσόλη. Κάποιες βασικές πληροφορίες για τις υπόλοιπες τάξεις πολυφαινολών που εμφανίζονται στην ελιά και στο ελαιόλαδο (π.χ. υδροξυ-κινναμωμικά οξέα) δόθηκαν στο κεφάλαιο 2.2. Επομένως, στο παρών κεφάλαιο, θα γίνει μια σύντομη περιγραφή των μηχανισμών που διέπουν το μεταβολισμό μόνο των βασικών του φαινολικών συστατικών.

- Οι Manna *et al.* (2001), γνωρίζοντας τις σημαντικές βιολογικές δράσεις, κυρίως τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες της υδροξυτυροσόλης (ή 3,4-διυδροξυ-φαινυλαιθανόλη), της βασικής ο-διφαινόλης που εντοπίζεται στο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, εξέτασαν την τοξικότητα και το μεταβολισμό της, χρησιμοποιώντας ραδιοεπισημασμένη ^{14}C -διφαινόλη. Για τους σκοπούς της έρευνας, χορηγήθηκαν ενδοφλεβίως 2g/Kg σωματικού βάρους συνθετικής ^{14}C -υδροξυτυροσόλη σε αρουραίους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, ακόμα και σε αυτήν την ποσότητα, η υδροξυτυροσόλη δεν εμφανίζει σημάδια τοξικότητας. Όσον αφορά στο μεταβολισμό και τη βιοδιαθεσιμότητά της, η

φαρμακοκινητική ανάλυση έδειξε ότι η πρόσληψη του μορίου από τους ιστούς και τα όργανα είναι γρήγορη και εκτεταμένη, με κύριο ρόλο να παίζουν οι νεφροί. Συγκεκριμένα, πάνω από το 90% της προσλαμβανόμενης υδροξυτυροσόλης απεκκρίθηκε στα ούρα μέχρι την πέμπτη ώρα από τη στιγμή της χορήγησης. Επιπλέον, το 9% εντοπίστηκε στο περιεχόμενο του γαστρεντερικού σωλήνα 5 λεπτά μετά τη χορήγηση. Αυτή η τιμή έμεινε, σχεδόν, σταθερή σε όλες τις χρονικές περιόδους, και σημείωσε μια μείωση της τάξης του 2,5% σε πέντε ώρες. Τέλος, το 3,2% της ποσότητας που χορηγήθηκε βρέθηκε στα κόπρανα σε πέντε ώρες από την ενδοφλέβια έγχυση της υδροξυτυροσόλης. Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι η εντερική μεταφορά της υδροξυτυροσόλης και των μεταβολιτών της γίνεται μέσω ενός μηχανισμού παθητικής διάχυσης, ο οποίος λειτουργεί και προς τις δυο κατευθύνσεις. Η ανάλυση των μεταβολιτών που εντοπίστηκαν μέσω HPLC έδειξε ότι η υδροξυτυροσόλη μεταβολίστηκε σε τέσσερα οξειδωμένα ή/και μεθυλωμένα προϊόντα (4-υδροξυ-3-μεθοξυ-φαινυλαιθανόλη, 4-υδροξυ-3-μεθοξυ-φαινυλακεταλδεΰδη, 3,4-διυδροξυ-φαινυλακεταλδεΰδη, 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ), ενώ υπήρχαν και σουλφυδιωμένα παράγωγα. Στο μεταβολισμό της υδροξυτυροσόλης φαίνεται πως συμμετέχουν τέσσερα ένζυμα, οι COMT, αλκοολική δεϋδρογονάση, αλδεϋδική δεϋδρογονάση και φαινολσουλφοτρανφεράση. Από την έρευνα, επίσης, φάνηκε ότι η ενζυμική μεθυλίωση λαμβάνει χώρα, κυρίως, στον εγκέφαλο, όπου εντοπίστηκε το 41,9% της 4-υδροξυ-3-μεθοξυ-φαινυλαιθανόλη, γεγονός που επισημαίνει το ρόλο-κλειδί της COMT στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Guldeburg και Mursden, 1975). Στην έρευνα αυτή δεν εντοπίστηκαν γλυκουρωνιδιωμένα προϊόντα.

- Σε προηγούμενη έρευνα που διεξήχθη από την ίδια ομάδα ερευνητών *in vitro*, χρησιμοποιήθηκε μια μονοστοιβάδα από διαφοροποιημένα κύτταρα της σειράς Caco-2 και ραδιοεπισημασμένη ¹⁴C-υδροξυτυροσόλη προκειμένου να εξεταστεί ο μοριακός μηχανισμός της εντερικής μεταφοράς του μορίου. Στην έρευνα βρέθηκε ότι η υδροξυτυροσόλη και οι μεταβολίτες της μεταφέρονται μέσω της στοιβάδας εντερικών κυττάρων με παθητική διάχυση και προς τις δυο κατευθύνσεις (d'Angelo, 2000). Το αποτέλεσμα αυτό επαληθεύθηκε με την έρευνα που αναφέρθηκε πρωτίτερα.

- Οι Visioli *et al.* (2000), οι οποίοι διεξήγαγαν έρευνα για το μεταβολισμό της υδροξυτυροσόλης σε ανθρώπους μετά την πρόσληψη εμπλουτισμένου σε φαινολικά συστατικά ελαιολάδου, βρήκαν ότι το μόριο αυτό ακολουθεί παρόμοιο μεταβολικό μονοπάτι και στους ανθρώπους, όπως και στους αρουραίους. Επιπλέον, απέδειξαν ότι η απορρόφηση της υδροξυτυροσόλης είναι δοσοεξαρτώμενη, όπως φάνηκε και στην παραπάνω έρευνα. Ωστόσο βρέθηκε ότι απεκκρίνεται στα ούρα, κατά κύριο λόγο, ως γλυκουρονίδιο.

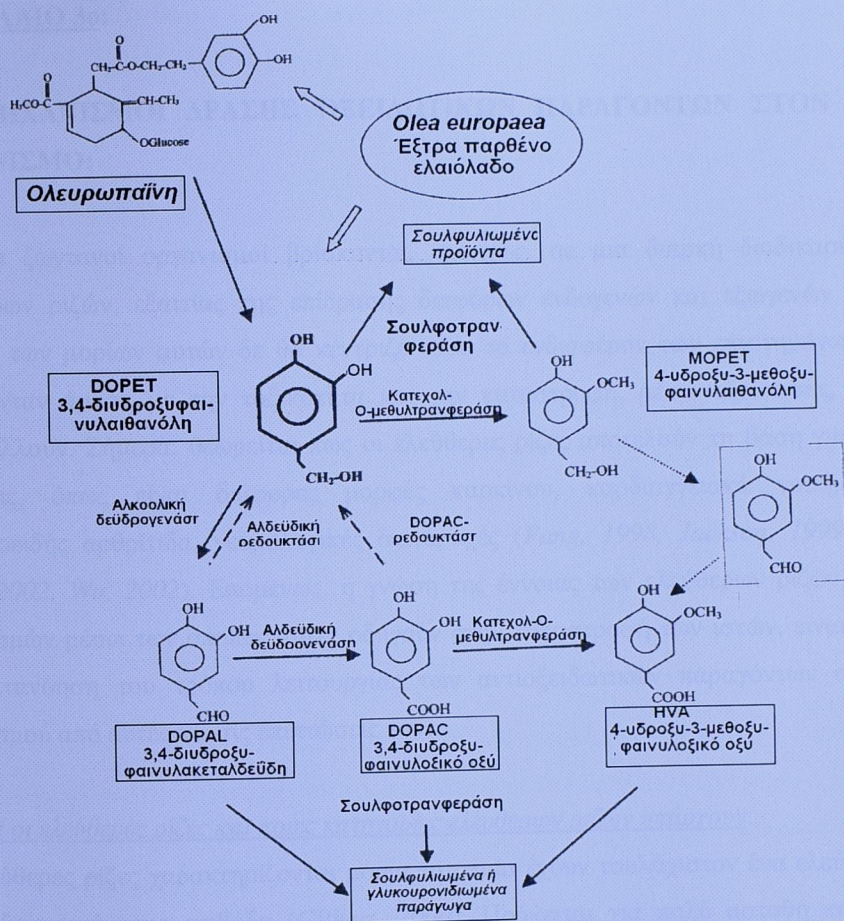
- Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν από έρευνα κατά την οποία συγκεκριμένη ποσότητα ελαιολάδου χορηγήθηκε σε εθελοντές σε μια δόση. Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν η ανάλυση των

μεταβολιτών της τυροσόλης και υδροξυτυροσόλης που εντοπίζεται στα ανθρώπινα ούρα μετά την πρόσληψη παρθένου ελαιολάδου, μέσω μιας νέας αναλυτικής μεθόδου (GC-MS). Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι τα μόρια αυτά απεκκρίνονται, κυρίως, σε συζευγμένη μορφή, ενώ η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε μειονεκτεί ως προς την ικανότητά της να πληροφορήσει για τον τύπο των συμπλόκων που εντοπίστηκαν. Η μέγιστη συγκέντρωση των μεταβολιτών στα ούρα εκτιμήθηκε 4 ώρες μετά την πρόσληψη του ελαιολάδου. Επίσης εντοπίστηκε ελεύθερη τυροσόλη και υδροξυτυροσόλη, αλλά αυτές οι μορφές αντιστοιχούσαν μόνο στο 13,8 και 5,9% των συνολικών προϊόντων που απεκκρίθηκαν (Miro-Casas, 2001).

- Τέλος, φτωχή απορρόφηση της ολεωρωπαΐνης επέδειξε έρευνα που πραγματοποιήθηκε *in vitro*, στην οποία χρησιμοποιήθηκε απομονωμένο έντερο αρουραίου. Η απορρόφηση εξετάστηκε σε ισοτονικές και υποτονικές συνθήκες. Στη δεύτερη περίπτωση η απορρόφηση ήταν σημαντικά μεγαλύτερη ($1,47 \times 10^{-6}$ και $5,92 \times 10^{-6}$ cm/s, αντίστοιχα). Επίσης, εντοπίστηκε μικρή ποσότητα άθικτης ολεωρωπαΐνης στη συστηματική κυκλοφορία. Ο μηχανισμός απορρόφησής της δεν είναι γνωστός, ωστόσο, μπορεί να θεωρηθεί ότι περιλαμβάνεται στο μηχανισμό της διακυτταρική ή παρακυτταρική μεταφορά (Edgecombe, 2000). Για το γεγονός ότι η έρευνα απέδειξε ότι η απορρόφηση της ολεωρωπαΐνης είναι φτωχή μπορεί να ευθύνεται το ότι εξετάστηκε η απορρόφηση του μορίου σε υδατικό διάλυμα. Πιθανόν, αν η ολεωρωπαΐνη περιλαμβανόταν σε γέυμα με λιπαρή βάση, όπως είναι το ελαιόλαδο, στο οποίο περιέχεται, η απορρόφηση να γινόταν μέσω του λεμφικού συστήματος. Ωστόσο, ως υδρόφιλο συστατικό είναι πιο πιθανό να κινείται έξω από το ελαιόλαδο και να διαλύεται στο υδατικό διαμέρισμα του εντέρου. Επιπλέον, από τα πειράματα της παρούσας μελέτης αποκλείστηκε η χολή, εφόσον χρησιμοποιήθηκε απομονωμένο έντερο. Δεδομένα άλλων ερευνών έχουν δείξει ότι η χολή είναι διεγείρει τη διάνοιξη παρακυτταρικών συνδέσμων του εντέρου (Swenson, 1994, Fricker, 1996, Yamamoto, 1996). Επομένως, είναι πιθανό η απορρόφηση της ολεωρωπαΐνης να είναι, στην πραγματικότητα, μεγαλύτερη από αυτή που επέδειξαν τα δεδομένα της συγκεκριμένης έρευνας.

Συμπερασματικά, από τις παραπάνω έρευνες προκύπτει ότι τα κύρια φαινορικά συστατικά του ελαιολάδου ακολουθούν παρόμοια μεταβολικά στάδια με αυτά των υπόλοιπων πολυφαινολών. Δηλαδή, απορρόφηση, μεταβολισμός – μεθυλίωση, σουλφυδίωση ή / και γλυκουρωνιδίωση και απέκκριση. Τα περισσότερα δεδομένα που υπάρχουν έχουν προκύψει από πειράματα που έχουν διεξαχθεί σε αρουραίους. Περισσότερη έρευνα χρειάζεται για το μεταβολισμό και τη βιοδιαθεσιμότητα των μορίων αυτών στον ανθρώπινο οργανισμό, αν και η παρούσα γνώση υποδεικνύει ότι παρόμοια μεταβολικά μονοπάτια ακολουθούνται σε αρουραίους και ανθρώπους. Έτσι, η απορρόφηση της τυροσόλης και υδροξυτυροσόλης γίνεται μέσω ενός μηχανισμού

Παρακάτω, παρουσιάζονται τα πιθανά μεταβολικά μονοπάτια της υδροξυτυροσόλης, όπως αναφέρθηκαν παραπάνω:



(Edgecombe, 2000)

Σχ. 2.2.3: Τα μεταβολικά μονοπάτια της εξωγενώς χορηγούμενης υδροξυτυροσόλης σε αρουραίους και ανθρώπους. Ο μετασχηματισμός της 4-υδροξυ-3-μεθοξυ-φαινυλαιθανόλης σε 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ είναι υποθετικός για τους αρουραίους. Στους ανθρώπους δεν έχει αποδειχτεί. Επίσης, στους αρουραίους δεν έχουν βρεθεί γλυκουρονιδιωμένα παράγωγα, σε αντίθεση με τους ανθρώπους, όπου οι μεταβολίτες αυτοί είναι κυρίαρχοι.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3ο:

3.1. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ:

Όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί βρίσκονται, συνεχώς, σε μια διαρκή διαδικασία σχηματισμού ελεύθερων ριζών, εξαιτίας της επίδρασης διαφόρων ενδογενών και εξωγενών παραγόντων. Η ύπαρξη των μορίων αυτών δε θα κέντριζε τόσο το ενδιαφέρον των επιστημόνων, εάν αυτές δε σχετίζονταν άμεσα με την τοξικότητα και την καταστροφή, μέσω οξείδωσης, των ιστών που προσβάλλουν. Σήμερα, θεωρείται πως οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν τη βάση για πολλές χρόνιες παθήσεις, όπως είναι διάφορες μορφές καρκίνου, καρδιαγγειακά νοσήματα, διαβήτης, ρευματοειδής αρθρίτιδα, νευρολογικές διαταραχές (Fang, 1998, Jackson, 1999, Gilbert, 2000, Fang, 2002, Wu, 2002). Επομένως, η γνώση της έννοιας των ελεύθερων ριζών, καθώς και των μηχανισμών μέσω των οποίων αυτές οδηγούν στην καταστροφή των ιστών, είναι απαραίτητη για την κατανόηση του τρόπου λειτουργίας των αντιοξειδωτικών παραγόντων στην άμυνα του οργανισμού από αυτές και τις επιπτώσεις τους.

Τι είναι οι ελεύθερες ρίζες και ποιες κατηγορίες ελεύθερων ριζών υπάρχουν:

Ως ελεύθερες ρίζες χαρακτηρίζονται μόρια τα οποία έχουν τουλάχιστον ένα ελεύθερο ηλεκτρόνιο στην εξωτερική τους στιβάδα (Gilbert, 2000). Πρόκειται για πολύ ασταθή και ενεργά μόρια. Υπάρχουν δυο κατηγορίες ελεύθερων ριζών:

❖ Οι ελεύθερες ρίζες που προέρχονται από το μοριακό οξυγόνο (O_2) και ονομάζονται **Reactive Oxygen Species (ROS)**. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν :

- Η ρίζα υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet}$)
- Το ανιόν υπεροξειδίου (O_2^{2-})
- Το μονήρες οξυγόνο (1O_2)
- Η αλκοξυλική ρίζα ($O^{\bullet}$)
- Η υδροϋπεροξειδική ρίζα ($HO_2^{\bullet}$)

Οι ρίζες αυτές σχηματίζονται από το O_2 όταν αυτό δέχεται ηλεκτρόνια ή από την ευθυγράμμιση των τροχιακών των ηλεκτρονίων. Τέλος, στα ROS ανήκει και

- Η ρίζα υδροξυλίου ($^{\bullet}OH$),

η οποία παρουσιάζει τη μεγαλύτερη αντιδραστικότητα σε σχέση με τα άλλα είδη της ίδιας ομάδας και μπορεί να καταστρέψει βιολογικά μόρια. Η ρίζα αυτή σχηματίζεται από το υπεροξείδιο κατά την αντίδραση *Fenton*. Κατά την αντίδραση αυτή, $\bullet\text{OH}$ σχηματίζεται από H_2O_2 υπό την επίδραση:

- του όζοντος:
$$\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \bullet\text{OH} + \text{O}_2 + \text{HO}_2\bullet$$
 - της υπεριώδους ακτινοβολίας:
$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ [+UV]} \rightarrow 2\text{OH}\bullet$$
 - αλάτων σιδήρου:
$$\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}\bullet + \text{OH}^-$$
- (Neyens, 2003)

Πρέπει να σημειωθεί ότι οι ελεύθερες ρίζες που ανήκουν στα ROS μπορούν να μετατραπούν σε μη ελεύθερες ρίζες, διατηρώντας, όμως, την αντιδραστικότητά τους. Για το λόγο αυτό, τα νέα αυτά μόρια που δημιουργούνται κατατάσσονται στα ROS. Τέτοια μόρια είναι:

- Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2)
- Το υποχλωριώδες οξύ (HOCl) και
- Το υποβρωμιώδες οξύ (HOBr)

❖ Εκτός από τα ROS υπάρχει και μια δεύτερη κατηγορία ελεύθερων ριζών και άλλων ενεργών μορίων. Πρόκειται για εκείνα που προέρχονται από το μόριο του αζώτου (N_2), με τον ίδιο τρόπο, όπως σχηματίζονται και οι ρίζες οξυγόνου από το O_2 , τα **Reactive Nitrogen Species (RNS)**. Σε αυτήν την ομάδα ανήκουν:

- Το μονοξείδιο του αζώτου (NO) και
- Η ρίζα διοξειδίου του αζώτου ($\bullet\text{NO}_2$)

Όπως επισημάνθηκε για τις ρίζες οξυγόνου, και οι νιτρικές ρίζες μπορούν να μετατραπούν σε ενεργά μόρια που δεν είναι ρίζες. Παράδειγμα τέτοιου μορίου αποτελεί

- Το υπεροξείδιο του αζώτου (ONOO^-)

Το παραπάνω μόριο, δεν είναι ρίζα. Είναι, όμως, αντιδραστικό μόριο και, για το λόγο αυτό, ανήκει στα RNS.

(Evans, 2001)

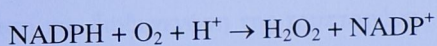
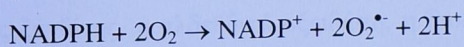
Πως παράγονται οι οξειδωτικοί παράγοντες, ποιος ο ρόλος και οι μηχανισμοί δράσης τους:

Οι ελεύθερες ρίζες έχουν τόσο θετικές όσο και αρνητικές επιδράσεις για τους ζωντανούς οργανισμούς. Έτσι, μπορούν να παίζουν είτε ρυθμιστικό ρόλο, είτε να επιφέρουν τοξικά αποτελέσματα στα κύτταρα, ανάλογα με την ενζυμική πηγή που καταλύει, κάθε φορά, την

αντίδραση κατά την οποία παράγονται. Έτσι, οι ελεύθερες ρίζες και τα άλλα είδη ROS και RNS, φαίνεται πως παίζουν κάποιο ρόλο στα παρακάτω:

Τα ενεργά μόρια ROS που παράγονται στα μιτοχόνδρια από πρωτεΐνες και ενζυμικά συστήματα μεταφοράς ηλεκτρονίων (νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο, NADH, φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο, NADPH, φλαβινο-αδενονο-δινουκλεοτίδιο, FADH₂), ως παραπροϊόντα των αντιδράσεων που καταλύουν, έχει αποδειχτεί ότι σχετίζονται με την απόπτωση που προκαλείται από τον παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNF)-α και την ιντερλευκίνη (IL)-1. Πρέπει, ωστόσο, να αναφερθεί ότι η ρίζα O₂^{•-} που παράγεται δεν μπορεί να διαπεράσει τη μιτοχονδριακή μεμβράνη, όπως συμβαίνει με το H₂O₂. Ενδοκυτταρικά, τα επίπεδα των ελεύθερων ριζών παραμένουν σε χαμηλά επίπεδα, εξαιτίας της δράσης ειδικών πρωτεϊνών, των θειολών, κυρίως της γλουταθειόνης (GSH) και της θειορεδοξίνης (TRX) (Tyler, 1970). Οι μηχανισμοί δράσης αυτών των πρωτεϊνών στην προστασία του οργανισμού από τους οξειδωτικούς παράγοντες θα περιγραφούν στην επόμενη ενότητα.

Οι παρακάτω αντιδράσεις αποτελούν παραδείγματα παραγωγής ενεργών μορίων από ένζυμα του συστήματος μεταφοράς ηλεκτρονίων:



(Ly, 2003)

Στο λείο ενδοπλασματικό, το οποίο παίζει πρωταρχικό ρόλο στη σύνθεση λιπιδίων και πρωτεϊνών, περιέχονται ένζυμα, όπως είναι το κυτόχρωμα P-450 και ένζυμα των οικογενειών b5, που καταλύουν μια σειρά αντιδράσεων για την αποτοξίνωση των λιποδιαλυτών φαρμάκων και άλλων βλαβερών μεταβολικών προϊόντων. Τα ένζυμα αυτά οξειδώνουν τα μη κορεσμένα λιπαρά οξέα και μειώνουν το O₂ για να παράγουν O₂^{•-} και/ή H₂O₂. Δεν έχει αποδειχτεί, ακόμα, εάν η παραγωγή αυτών των οξειδωτικών παραγόντων παίζει κάποιο ρυθμιστικό ρόλο. Έχει βρεθεί, όμως, ότι μια μικροσωμική O₂^{•-} παράγουσα NADH-οξειδορεδοουκτάση μπορεί να λειτουργήσει ως διεγέρτης O₂ σε μυϊκά κύτταρα της πνευμονικής αρτηρίας (Pahl, 1997).

Οι πυρηνικές μεμβράνες περιέχουν κυτοχρωμικές οξειδάσες και συστήματα μεταφοράς ηλεκτρονίων η λειτουργία των οποίων δεν είναι γνωστή. Υπάρχουν ενδείξεις ότι κατά τις

αντιδράσεις, στις οποίες εμπλέκονται τα παραπάνω, σχηματίζονται ROS που μπορούν να καταστρέψουν το κυτταρικό DNA, *in vivo* (Halliwell, 1989).

Τα υπεροξειδωσώματα αποτελούν σημαντικές πηγές της ολικής κυτταρικής παραγωγής H_2O_2 , μέσω ενζύμων, όπως είναι γλυκολική οξειδάση, οξειδάση D-αμινοξέων, ουρικού οξέος, L-α-υδροξυοξικού οξέος και λιπο-ακυλ-CoA οξειδάση. Το H_2O_2 χρησιμοποιείται για την οξείδωση μιας ποικιλίας υποστρωμάτων, στις αντιδράσεις που καταλύουν τα παραπάνω ένζυμα. Αυτός ο τύπος αντιδράσεων οξείδωσης είναι ιδιαίτερα σημαντικός στο ήπαρ και στους νεφρούς, όπου τα υπεροξειδωσώματα αποτοξινώνουν διάφορα τοξικά μόρια που εισέρχονται στην κυκλοφορία. Μια άλλη βασική λειτουργία των υπεροξειδωσώματων είναι η β-οξείδωση των λιπαρών οξέων, κατά την οποία παράγονται ROS. Ειδικό ρόλο για τα ROS που προκύπτουν από τις αντιδράσεις οξείδωσης των υπεροξειδωσώματων δεν έχουν περιγραφεί στην υπάρχουσα βιβλιογραφία. Επίσης, μόνο μια μικρή ποσότητα H_2O_2 από αυτήν που παράγεται σε αυτά τα οργανίδια φαίνεται πως διαφεύγει από τις υπεροξειδωσώματες καταλάσεις (Mohazzab, 1994).

Εκτός από τις οξειδάσεις των μεμβρανών των ενδοκυτταρικών οργανιδίων, υπάρχουν και υδατοδιαλυτά ένζυμα που μπορούν να παράγουν ROS κατά τις αντιδράσεις που καταλύουν. Τέτοια ένζυμα είναι η οξειδάση της ξανθίνης, η αλδεϋδική οξειδάση, η διυδροοροτική δεϋδρογενάση, η φλαβοπρωτεϊνική δεϋδρογενάση και διοξυγενάση της τρυπτοφάνης. Από τις παραπάνω, πιο καλά μελετημένη είναι η $O_2^{\bullet -}$ -παράγουσα οξειδάση της ξανθίνης, η οποία μπορεί να σχηματιστεί από τη δεϋδρογενάση της ξανθίνης, μετά από έκθεση ενός ιστού σε υποξία. Ωστόσο, δεν υπάρχουν μελέτες που να έχουν αποδείξει κάποιο άμεσο ρόλο του ενζύμου αυτού στη ρύθμιση της λειτουργίας των κυττάρων. Από αυτά τα ένζυμα, φαίνεται πως παράγεται και H_2O_2 (Fang, 2002).

Η αυτοοξείδωση μορίων μικρού μοριακού βάρους, όπως είναι η ντοπαμίνη, η επινεφρίνη, οι φλαβίνες και οι υδροκινόνες, μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική ενδοκυτταρική παραγωγή ROS και, κυρίως, $O_2^{\bullet -}$. Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα προοξειδωτικά αποτελέσματα της αυτοοξείδωσης της ντοπαμίνης εμπλέκονται στην κυτταρική απόπτωση που προκαλείται από το μόριο αυτό και η οποία σχετίζεται με την παθογένεια νευροεκφυλιστικών ασθενειών, όπως είναι η νόσος του Parkinson (Thannickal, 2000).

Οι οξειδάσεις της πλασματικής μεμβράνης έχουν χαρακτηριστεί ως οι κύριες πηγές οξειδωτικής παραγωγής παραγόντων ανάπτυξης των όγκων και/ή παραγωγής οξειδωτικών παραγόντων που διεγείρεται από τις κυτοκίνες. Ωστόσο, οι ακριβείς ενζυμικές πηγές των οξειδωτικών αυτών

παραγόντων δεν έχουν πλήρως χαρακτηριστεί. Η πιο γνωστή οξειδάση του πλάσματος είναι η φαγοκυτταρική NADPH οξειδάση, η οποία παίζει ρόλο στην ειδική άμυνα του οργανισμού εναντίον των παθογόνων. Αυτό το ένζυμο καταλύει την παραγωγή $O_2^{\bullet -}$ από O_2 , ως δότης ηλεκτρονίου, διαμέσου της διαμεμβρανικού κυτοχρώματος b_{558} (Joneson, 1998).

Πρόσφατα δεδομένα, υποστηρίζουν ότι τα λειτουργικά συστατικά του φαγοκυτταρικού NADPH είναι παρόντα και σε άλλα κύτταρα. Για παράδειγμα, τέτοια συστατικά έχουν βρεθεί σε πρόσθετα λεία μυϊκά κύτταρα των στεφανιαίων αρτηριών και της αορτής. Η ύπαρξη των συστατικών αυτών έχει βρεθεί ότι αυξάνει τον κίνδυνο στεφανιαίας νόσου σε νέους άνδρες της καυκάσιας φυλής. Επίσης, αυξημένα επίπεδα $O_2^{\bullet -}$ στην αορτή συμβάλλουν στην εμφάνιση υπέρτασης, καθώς «μπλοκάρουν» την αγγειοδιασταλτική δράση του $NO^{\bullet}$. Επιπλέον, έρευνες έχουν δείξει ότι και ο $TNF-\alpha$ μπορεί να διεγείρει την παραγωγή $O_2^{\bullet -}$ στα λεία μυϊκά αγγειακά κύτταρα, μέσω μιας NADPH-εξαρτώμενης οξειδάσης. Κατά συνέπεια, στα μη φαγοκυτταρικά κύτταρα, οι NADPH οξειδάσες μπορούν να λειτουργήσουν ως ρυθμιστές στην κυτταρική ανάπτυξη (Wang, 1996).

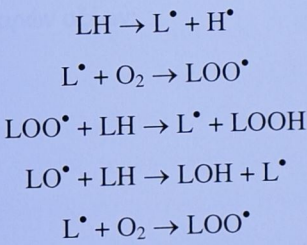
Η ενεργοποίηση της NADPH οξειδάσης, που σχετίζεται με τη ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης, γίνεται με τη συμμετοχή των Rac1 και Rap1A, μέλη της υπερικογένειας των μικρού μοριακού βάρους GPT-δεσμευουσών πρωτεϊνών. Η παρεμβολή αυτή φαίνεται πως είναι απαραίτητη για την παραγωγή $O_2^{\bullet -}$ και τη διέγερση της μιτογένεσης στους ινοβλάστες. Εκτός από τις Rac1 και Rap1A, και μια άλλη GPT-δεσμεύουσα πρωτεΐνη, η $p-21^{Ras}$ συμμετέχει στην ίδια διαδικασία (Iwai, 1998). Συγκεκριμένα, έρευνες έχουν αποδείξει ότι η $p-21^{Ras}$ είναι απαραίτητη για την ενδοκυτταρική παραγωγή $O_2^{\bullet -}$ από μιτογόνα σε ανθρώπινους πνευμονικούς ινοβλάστες. Ωστόσο, σε αυτά τα κύτταρα, υπάρχουν και διαφορετικά ενζυμικά συστήματα, ανεξάρτητα από την $p-21^{Ras}$, που παράγουν εξωκυτταρικό H_2O_2 σε απάντηση μεταφορέα-αυξητικού παράγοντα ($TGF-\beta_1$) (Thannickal, 1995).

Παρουσία νερού και οξυγόνου, η ιονίζουσα ακτινοβολία μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή $O_2^{\bullet -}$, H_2O_2 και $OH^{\bullet}$. Το NO μπορεί να αντιδράσει με το H_2O_2 προς σχηματισμό $ONOO^{\bullet}$, η οξειδωτική ικανότητα του οποίου είναι μεγαλύτερη από αυτήν του $O_2^{\bullet -}$ ή του H_2O_2 (Fridovich, 1999, McCord, 2000).

Ως ισχυρός οξειδωτικός παράγοντας, το HOCl μπορεί να σχηματιστεί από H₂O₂ και Cl⁻, μέσω της δράσης της μυελοϋπεροξειδάσης (μια πρωτεΐνη του αίματος, κυρίως, σε ενεργοποιημένα φαγοκύτταρα (Fang, 2002)).

Επίσης, πολύ σημαντική, λόγω των επιπτώσεων που έχει στην εμφάνιση σοβαρών παθήσεων, όπως είναι τα καρδιαγγειακά νοσήματα (Basu, 2000, Sentman, 2001), η κίρρωση του ήπατος (Nanji, 1994), χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια (Pratico, 1998), ο διαβήτης (Helmersson, 2002), η ρευματοειδής αρθρίτιδα (Basu, 2001) και ο διαβήτης (Montine, 1999), είναι η υπεροξείδωση των λιπιδίων.

Αυτή μπορεί να συμβεί όταν ελεύθερες ρίζες ή άλλα είδη ROS και RNS (π.χ. [•]OH, HOO[•], ONOO⁻) παίρνουν ένα άτομο υδρογόνου από την υδρογονανθρακική αλυσίδα ενός μη κορεσμένου λιπαρού οξέος. Με τον τρόπο αυτό σχηματίζεται λιπιδική ρίζα (L[•]). Στη συνέχεια, η ρίζα αυτή αντιδρά με οξυγόνο, προς σχηματισμό μιας υπεροξειδικής ρίζας (LOO[•]). Η LOO[•] συνεχίζει την αλυσιδωτή αντίδραση υπεροξείδωσης αποσπώντας ένα άτομο υδρογόνου από ένα γειτονικό μη κορεσμένο λιπαρό οξύ. Το υδροϋπεροξείδιο του λιπιδίου που προκύπτει (LOOH) μπορεί εύκολα να διασπαστεί, σχηματίζοντας μια λιπιδική αλκοξυλική ρίζα (LO[•]) (Fang, 2002). Παράδειγμα μιας τέτοιας αλυσιδωτής αντίδρασης είναι η παρακάτω:

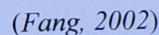


Η υπεροξείδωση των λιπιδίων μπορεί να είναι αποτέλεσμα ενζυμικής ή μη ενζυμικής οξείδωσης. Κύριο μονοπάτι της μη ενζυμικής υπεροξείδωσης των λιπιδίων φαίνεται πως είναι η τοξικότητα του τετραχλωράνθρακα (CCl₄) που προκαλείται από τη δράση των ελεύθερων ριζών, το οποίο, στη συνέχεια, επηρεάζει διάφορες ενζυμικές δραστηριότητες στο σώμα. Επομένως, συνδέεται και με την ενζυμική υπεροξείδωση των λιπιδίων. Στην αρχική φάση, μια μεγάλη ποσότητα CCl₄ μετατρέπεται σε τριχλωρομεθυλική ρίζα (CCl₃[•]) ή άλλες ρίζες. Αυτές οι ρίζες επιδρούν στα γειτονικά λιπίδια στους ιστούς και τα υπεροξειδώνουν (Basu, 2003). Όσον αφορά στην ενζυμική υπεροξείδωση των λιπιδίων, σε αυτήν εμπλέκεται ένας αριθμός ενζυμικών συστημάτων. Αυτή

υποκινείται από προφλεγμονώδεις και κυτταροτοξικές κυτοκίνες. Επιπλέον, το κυτόχρωμα P-450, η αμινοπυρηνική δεσμεθυλάση και η γλυκοζη-6-φωσφατάση έχει αποδειχτεί ότι απενεργοποιούνται μετά από παραγωγή CCl_4 , ο οποίος, όπως αναφέρθηκε πρωτύτερα, σχετίζεται άμεσα με την υπεροξείδωση των λιπιδίων (Benedetti, 1977, Padron, 1996).

Επίσης, σχετικά με το μεταβολισμό των φωσφολιπιδίων, είναι γνωστό, εδώ και δεκαετίες, ότι εμπλέκονται σε αυτόν ένζυμα γνωστά ως φωσφολιπάσες (PLs), οι PLA_2 , PLC και PLD. Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι παραγωγή $\text{O}_2^{\bullet-}$ από την αγγειοτενσίνη II (ANG II) στα λεία μυϊκά κύτταρα εξαρτάται από το μεταβολικό μονοπάτι που καταλύει η PLD. Επιπλέον, η PLA_2 εμπλέκεται στις αντιδράσεις σύνθεσης εικοσανοειδών από φωσφολιπίδια. Σε αυτές τις αντιδράσεις συμμετέχουν και ένζυμα όπως η κυκλοξυγενάση και η λιποξυγενάση (LOX). Αυτά τα μεταβολικά μονοπάτια περιλαμβάνουν μια σειρά από αντιδράσεις οξείδωσης, κατά τις οποίες παράγονται ROS ως ενδιάμεσα προϊόντα. Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα προϊόντα υπεροξείδωσης των λιπιδίων σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες που δημιουργείται σε απάντηση προς την αυξημένη ποσότητα αμιάντου στον οργανισμό. Τέλος, ένζυμα του μεταβολισμού των λιπιδίων, παρόμοια με την LOX, έχει αποδειχτεί ότι παράγουν μεγάλες ποσότητες εξωκυτταρικής $\text{O}_2^{\bullet-}$, που φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από τη δράση φλαβοενζύμων (Touyz, 1999).

Στο σχήμα που ακολουθεί συνοψίζονται οι μηχανισμοί παραγωγής ROS και RNS, καθώς και της οξείδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων:



70

3.2. ΑΜΥΝΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΕΝΑΝΤΙΩΝ ΤΩΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ - ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΤΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΠΛΑΣΜΑ:

Όπως επισημάνθηκε στην προηγούμενη ενότητα, όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί, μεταξύ των οποίων και ο άνθρωπος, εκτίθενται, συνεχώς, σε διαδικασίες σχηματισμού ελεύθερων ριζών και άλλων ενεργών μορίων, κυρίως των ROS και RNS, είτε ως συνέπεια φυσιολογικών διαδικασιών που συμβαίνουν σε αυτούς, π.χ. κατά τον αερόβιο μεταβολισμό πρωτεϊνών, λιπιδίων και υδατανθράκων, είτε από τη δράση περιβαλλοντικών παραγόντων, π.χ. υπεριώδους ακτινοβολία. Η δράση των μορίων αυτών εμπλέκεται στην εκδήλωση ποικίλων ασθενειών, όπως είναι ο καρκίνος, η αθηροσκληρώση, η ηπατίτιδα, το AIDS, η νόσος του Alzheimer και αναπνευστικές δυσλειτουργίες (Basu, 1999). Ωστόσο, όλοι οι οργανισμοί έχουν αναπτύξει ισχυρά συστήματα φυσικής άμυνας – απαλλαγής από τα «επικίνδυνα» αυτά μόρια. Ο ρόλος των συστημάτων αυτών είναι να ρυθμίζουν, μέσω διάφορων μηχανισμών, το οξειδωτικό επίπεδο των ιστών, ώστε να διατηρούνται οι φυσιολογικές λειτουργίες των οργανισμών. Όσον αφορά στον άνθρωπο, εκτός από τους ενδογενείς αυτούς μηχανισμούς, και η τροφή μπορεί να συμβάλλει, σε μεγάλο βαθμό, στην προστασία από τις συνέπειες του οξειδωτικού στρες. Συστατικά, κυρίως των φρούτων και των λαχανικών, αλλά και μερικών ποτών και αφεψημάτων, όπως είναι το κρασί, το τσάι, το κακάο και η σοκολάτα, έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες, για την προστασία τόσο του ίδιου του τροφίμου, όσο και του οργανισμού που τα καταναλώνει. Τα συστατικά αυτά ονομάζονται φυσικά αντιοξειδωτικά. Στην κατηγορία των αντιοξειδωτικών ουσιών που προέρχονται από την τροφή κατατάσσονται και τα συνθετικά αντιοξειδωτικά (βλέπε ενότητα 1.2)

Επομένως, υπάρχουν δυο βασικές κατηγορίες αντιοξειδωτικών παραγόντων. Αυτοί είναι:

- Εξωγενείς παράγοντες:
 - Τα φυσικά αντιοξειδωτικά, τα οποία περιέχονται στα φρούτα και στα λαχανικά, κατά κύριο λόγο, αλλά και στο κρασί, το τσάι, το κακάο, τη σοκολάτα. Τέτοιες ουσίες είναι η βιταμίνη C, βιταμίνη E, το β-καροτένιο, το σελήνιο, πολυφαινολικά συστατικά και άλλες ουσίες (βλέπε κεφάλαιο 1.1). Η πρόσληψη αυτών των συστατικών έχει βρεθεί ότι προσφέρει προστασία στον οργανισμό από πολλές ασθένειες, η φύση των οποίων σχετίζεται με τη δράση των ελεύθερων ριζών. Τα φυσικά αντιοξειδωτικά είτε αντιδρούν άμεσα με τις ελεύθερες ρίζες και τις εξουδετερώνουν, είτε βοηθούν τους ενδογενείς μηχανισμούς να ασκήσουν αυτή τη λειτουργία.

- Τα συνθετικά αντιοξειδωτικά (π.χ. BHA, BHT). Αυτά προστίθενται στα τρόφιμα, ως συντηρητικά. Δρουν εμποδίζοντας την υπεροξείδωση των λιπιδίων.

• **Ενδογενείς παράγοντες:**

- Ενδογενή ένζυμα (π.χ. δισμουτάση υπεροξειδίου, ρεδουκτάση γλουταθειόνης) και
- Μη ενζυμικοί ενδογενείς παράγοντες (γλουταθειόνη, χολερυθρίνη)

Αυτοί οι παράγοντες προστατεύουν τον οργανισμό από το οξειδωτικό στρες με διάφορους μηχανισμούς, οι οποίοι θα περιγραφούν παρακάτω, ξεχωριστά για κάθε παράγοντα.

Συνοψίζοντας, στα συστήματα βιολογικής άμυνας από τη δράση των ελεύθερων ριζών φαίνεται πως συμμετέχουν οι παρακάτω παράγοντες:

ΑΜΥΝΑ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ		
Ενδογενείς παράγοντες		Διατροφικοί παράγοντες
Ενδογενή ένζυμα	Μη ενζυμικοί ενδογενείς παράγοντες	
Δισμουτάσες υπεροξειδίου (SOD)	Γλουταθειόνη, θειορεδοξίνη, γλουταρεδοξίνη Κυστεΐνη	Βιταμίνη E
NADH-εξαρτώμενες οξειδορεδουκτάσες	Συνένζυμο Q ₁₀	Βιταμίνη C
Υπεροξειδάσες γλουταθειόνης (GSH-Px & GPx)	Χολερυθρίνη	Σελήνιο (Se)
Ρεδουκτάση γλουταθειόνης (GR)	Ουρικό οξύ	Μαγνήσιο (Mg), Ψευδάργυρος (Zn), Χαλκός (Cu)
Καταλάση	Αμινοξέα (αργινίνη, κιτρουλλίνη, γλυκίνη, ταυρίνη, ιστιδίνη, αργινίνη, μεθειονίνη)	Καροτενοειδή
Τρανφεράση γλουταθειόνης (GT)		Πολυφαινόλες (τσαγιού, κρασιού, ελιάς & ελαιολάδου, φρούτων και

	λαχανικών, κακάο, καφέ & σκούρας σοκολάτας)
Αιμική οξυγενάση (HO-1)	
MSP23	

Πιν. 3.1: Συνοπτική παρουσίαση αντιοξειδωτικών παραγόντων, ενδογενών και εξωγενών

Ο τρόπος δράσης των παραπάνω παραγόντων μπορεί να συνοψιστεί στους παρακάτω τρεις βασικούς μηχανισμούς:

- Αναγωγή των τοξικών δισουλφιδίων και κινονών
- Δέσμευση των ROS και RNS
- Αναγωγή των υδατοδιαλυτών και μεμβρανικών δεσμευμένων υπεροξειδίων

Ακόμα, τα αντιοξειδωτικά που προέρχονται από την τροφή μπορούν να δράσουν προστατευτικά εναντίον της υπεροξειδωσης των λιπιδίων με τους παρακάτω έξι μηχανισμούς:

- Μείωση των συγκεντρώσεων του O_2
- Δέσμευση των ενεργών μορίων που ξεκινούν την υπεροξειδωση των λιπιδίων, μέσω απόσπασης ατόμων υδρογόνου (H_2)
- Καταστολή μονήρους οξυγόνου (1O_2) για παρεμπόδιση σχηματισμού υπεροξειδίων
- Δέσμευση μεταλλικών ιόντων, προς σχηματισμό τύπων που δε παράγουν ενεργά μόρια, ή διάσπαση των υπεροξειδίων των λιπιδίων σε υπεροξειδικές ή αλκοξυλικές ρίζες
- Απομάκρυνση υπεροξειδίου
- Διάσπαση της υδρογονανθρακικής αλυσίδας των λιπαρών οξέων, για να παρεμποδιστεί η περαιτέρω απόσπαση ατόμων υδρογόνου από αυτή

Ανάλογα με τον τύπο της δράσης τους εναντίον της υπεροξειδωσης των λιπιδίων, τα αντιοξειδωτικά μπορούν να διακριθούν σε τρεις βασικές κατηγορίες:

- «Εξολοθρευτές» ελεύθερων ριζών
- «Πολιορκητές» μεταλλικών ιόντων
- «Δεσμευτές» οξυγόνου

Έτσι, υπάρχουν:

- τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά, τα οποία αντιδρούν με υψηλής ενέργειας ρίζες λιπιδίων για να τις μετατρέψουν σε, θερμοδυναμικά, πιο σταθερά προϊόντα, και
- τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά, των οποίων ο ρόλος είναι προστατευτικός. Αυτά δρουν μειώνοντας το ρυθμό διάσπασης της αλυσίδας των λιπαρών οξέων, μέσω της διάσπασης των υδροϋπεροξειδίων

Παρακάτω, περιγράφονται, αναλυτικά, οι μηχανισμοί δράσης των αντιοξειδωτικών παραγόντων:

Μηχανισμοί δράσης ενδογενών μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών παραγόντων:

Γλουταθειόνη, θειορεδοξίνη, γλουταρεδοξίνη:

Η γλουταθειόνη είναι ένα τριπεπτίδιο (L-γ-γλουταμυλ-L-κυστεϊνο-γλυκίνη, L-γ-glutamyl-L-cystein-glycine), μικρού μοριακού βάρους. Πρόκειται για τον σημαντικότερο ενδοκυτταρικό θειολικό αντιοξειδωτικό παράγοντα. Σχεδόν το $1/5$ αυτής βρίσκεται στα μιτοχόνδρια και παίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία από τη δράση των ROS, τα οποία παράγονται, συνεχώς, στο κύτταρο από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων που λαμβάνει χώρα στα οργανίδια αυτά (Meister, 1995). Η γλουταθειόνη ευθύνεται, σε μεγαλύτερο βαθμό, για αναγωγικό επίπεδο του κυττάρου. Η αναγμένη γλουταθειόνη (GSH) δρα ως καταστροφέας ελεύθερων ριζών, εξουδετερώνοντας τη ρίζα υδροξυλίου ($\text{OH}^\bullet$). Ακόμα, μπορεί να δεσμεύσει το ONOO^- προς σχηματισμό οξειδωμένης γλουταθειόνης (GS-SG). Παρά το γεγονός ότι η ρίζα γλουταθειόνης ($\text{GS}^\bullet$) είναι μια προοξειδωτική ρίζα, αυτή μπορεί να αντιδράσει με μια άλλη $\text{GS}^\bullet$ προς σχηματισμό GS-SG, η οποία μπορεί, στη συνέχεια, να αναχθεί σε GSH από τη NADPH-εξαρτώμενη ρεδουκτάση της γλουταθειόνης (Sies, 1999). Το μονοξείδιο του αζώτου (NO), επίσης, αντιδρά με την GSH. Από αυτήν την αντίδραση σχηματίζεται S-νιτροζο-γλουταθειόνη, η οποία διασπάται από τη θειορεδοξίνη και απελευθερώνεται πάλι GSH και NO (Rassaf, 2002). Η θειορεδοξίνη, όπως και η γλουταρεδοξίνη, είναι και αυτές θειολικές πρωτεΐνες, οι οποίες, παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού αναγωγικού επιπέδου, αλληλεπιδρώντας με τη GSH. Επιπλέον, η GSH αναστέλλει την οξείδωση των πρωτεϊνών και των λιποπρωτεϊνών από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, όπως αυτές που παράγονται από την ομοκυστεΐνη και άλλα προοξειδωτικούς παράγοντες. Τέλος, μετατρέπει τη ρίζα της βιταμίνης C σε βιταμίνη C. Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στην οξειδοαναγωγική κατάσταση της GSH και στην ολική ενδοκυτταρική συγκέντρωση, σε διάφορους ιστούς, αυξάνοντας το βαθμό απελευθέρωσης της από τα κύτταρα (Deneke, 1989). Μείωση στα

επίπεδα της ενδοκυτταρικής GSH έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με καταστροφή του DNA των μιτοχονδρίων και απόπτωση των ινοβλαστών (Esteve, 1999, Alaluf, 2000).

Κυστεΐνη:

Η κυστεΐνη είναι μια αμινοθειόλη η οποία συμμετέχει, έμμεσα, στην προστασία του εξωκυτταρικού περιβάλλοντος του οργανισμού από το οξειδωτικό στρες (Ueland, 1996). Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι η κυστεΐνη διατηρεί την αλβουμίνη στην αναγμένη της μορφή, ενώ η οξειδωμένη αλβουμίνη παρουσιάζει αυξημένο καταβολικό ρυθμό και, συνεπώς, συμβάλλει σε αυξημένη απώλεια μυϊκής μάζας (Droge, 2002). Επίσης, έχει βρεθεί ισχυρή θετική συσχέτιση της συγκέντρωσης της κυστεΐνης στο πλάσμα με την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος (Moat, 2001).

Συνένζυμο Q_{10} (Q_{10} , ουβικινόνη):

Το συνένζυμο Q (2,3-διμεθοξυ-5-μεθυλ-6-πολυσωπρεν-παραβενζοκινόνη) είναι κατανεμημένο σε όλες τις μεμβράνες του κυττάρου, σε άμεση επαφή με τις αλυσίδες λιπαρών οξέων, έτσι ώστε δρα ως δεσμευτής ελεύθερων ριζών. Η ποσότητά του σε πολλές μεμβράνες κυμαίνεται από 3 έως 30 φορές αυτήν της τοκοφερόλης (Turunen, 1999). Το περισσότερο από αυτό βρίσκεται με τη μορφή κινόλης (αναγμένη μορφή), η οποία είναι υδρόφιλη, επομένως, βρίσκεται πιο κοντά στην επιφάνεια της μεμβράνης. Για το λόγο αυτό μπορεί να αποτελέσει έναν πολύ αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό παράγοντα για τον οργανισμό (Quinn, 1999). Ακόμα πιο σημαντική, βέβαια, είναι η παρουσία στις μεμβράνες ενζύμων που μπορούν να ανάγουν τη ρίζα CoQ-κινόνης, η οποία παράγεται κατά την αντίδραση με τα λιπίδια ή ROS (Takahashi, 1996, Villalba, 2000). Τα ένζυμα αυτά θα περιγραφούν παρακάτω. Εκτός από την άμεση αντιοξειδωτική δράση που εμφανίζει το CoQ, μέσω αντίδρασης με τα υπεροξειδωμένα λιπίδια και τα ROS, η κινόλη μπορεί να απελευθερώσει τις ρίζες τοκοφερόλης, που σχηματίζονται κατά την αντίδραση με τα λιπίδια ή τα ROS, ανάγοντας αυτήν σε τοκοφερόλη (Arroyo, 2000). Χωρίς την παρουσία του CoQ στις μεμβράνες η αναπαραγωγή της τοκοφερόλης είναι πολύ χαμηλή. Η ίδια διαδικασία μπορεί να παρατηρηθεί, επίσης, στη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (Low Density Lipoprotein, LDL), όπου μια μικρή ποσότητα CoQ προστατεύει μεγαλύτερη ποσότητα τοκοφερόλης. Η αναπαραγωγή τοκοφερόλης από CoQ ευνοείται ιδιαίτερα από το μεγάλο ποσοστό κινόλης που υπάρχει στο αίμα (Thomas, 1999, Schneider, 2000). Τέλος, υπάρχουν ενδείξεις ότι η CoQ-εξαρτώμενη μεταφορά ηλεκτρονίων διαμέσου της πλασματικής μεμβράνης μπορεί να χρησιμεύσει στην αναπαραγωγή εξωκυτταρικά ασκορβικού από την ασκορβική ρίζα (μονοδεϋδρασκορβικό) (Villalba, 1998). Εδοκυτταρικά, η λειτουργία αυτή επιτελείται από τη γλουταθειόνη.

Χολερυθρίνη:

Για πολλά χρόνια, η χολερυθρίνη θεωρούταν ως ένα τοξικό απόβλητο της χολής που παραγόταν κατά τον καταβολισμό της αίμης. Ωστόσο, δεδομένα από πιο πρόσφατες έρευνες αποδεικνύουν ότι οι διάφορες μορφές της (ελεύθερη χολερυθρίνη, δεσμευμένη με αλβουμίνη χολερυθρίνη, συζευγμένη χολερυθρίνη και μη συζευγμένη χολερυθρίνη) εμφανίζουν ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες, οι οποίες είναι πιθανό να ασκούν κάποια προστατευτική δράση εναντίον της αθηροσκλήρωσης, της στεφανιαίας νόσου και της φλεγμονής (Mayer, 2000). Το ένζυμο που καταλύει την παραγωγή της χολερυθρίνης είναι η οξυγενάση της αίμης (Heme Oxygenase, HO). Οι παραπάνω μορφές της χολερυθρίνης έχει βρεθεί ότι είναι αποτελεσματικές στην καταστροφή των υπεροξειδικών ριζών και στην προστασία της ανθρώπινης LDL από την υπεροξείδωση (Slow, 1999, Yamaguchi, 1996). Συγκεκριμένα, η χολερυθρίνη μπορεί να εμπλακεί στη διάσπαση της αλυσίδας των λιπαρών οξέων, υπό φυσιολογικές συνθήκες (Hammerman, 1998).

Ουρικό οξύ:

Το ουρικό οξύ παράγεται κατά τον καταβολισμό των πουρινών. Έχει βρεθεί ότι εμφανίζει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση μετατρέποντας τα ROS και RNS σε μη τοξικά παράγωγα (Freidovich, 1999). Μάλιστα, σε έρευνα που εξέτασε τη συμβολή διαφόρων ενδογενών αντιοξειδωτικών παραγόντων στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος, μέσω της μεθόδου TAS (βλέπε ενότητα 3.4), βρέθηκε ότι το ουρικό οξύ αντιστοιχούσε στο 68% αυτής (Kampa, 2002).

Αμινοξέα:

Όπως το ουρικό οξύ, έτσι και μερικά αμινοξέα (αργινίνη, κιτρουλλίνη, γλυκίνη, ταυρίνη, ιστιδίνη, αργινίνη, μεθειονίνη) λειτουργούν ως δεσμευτές των ROS και RNS (Redmond, 1996, Wu, 2000, Akashi, 2001, Lass, 2002, Lawler, 2002).

Μηχανισμοί δράσης ενδογενών ενζυμικών παραγόντων:

Στην άμυνα των ζωντανών οργανισμών εναντίον της καταστροφής που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες και τα άλλα ενεργά μόρια περιλαμβάνεται και η χρήση ενζύμων, τα οποία μετατρέπουν αυτά τα μόρια σε λιγότερο τοξικά συστατικά. Τέτοια ένζυμα αναφέρονται ως αντιοξειδωτικά ένζυμα. Τα πιο ευρέως κατανεμημένα στους αερόβιους οργανισμούς, μεταξύ των οποίων και στον άνθρωπο, είναι αυτά που αναφέρονται στον πίνακα. Το πρώτο ένζυμο που ανακαλύφθηκε ότι ασκεί προστατευτική δράση εναντίον την οξειδωτικής καταστροφής ήταν η δισμουτάση του υπεροξειδίου

(McCord και Fridovich, 1969). Οι βασικοί μηχανισμοί δράσης των αντιοξειδωτικών ενζύμων είναι οι παρακάτω:

- Παρεμπόδιση της παραγωγής ελεύθερων ριζών
- Αναστολή της καταστροφής που προκαλείται στους ιστούς από την παραγωγή ελεύθερων ριζών
- Επιδιόρθωση της καταστροφής που προκαλείται στους ιστούς από την παραγωγή ελεύθερων ριζών

Ως συνέπεια του αμυντικού τους ρόλου, τα ένζυμα αυτά αποτελούν σημαντικούς παράγοντες για την πρόληψη και θεραπεία ασθενειών, η βάση των οποίων είναι η οξειδωτική καταστροφή (Pineda, 2001).

Στις παρακάτω παραγράφους περιγράφονται οι μηχανισμοί δράσης των αντιοξειδωτικών ενζύμων, ξεχωριστά:

Δισμουτάσες υπεροξειδίου (Superoxide Dismutases, SOD):

Οι SOD αποτελούν μια οικογένεια ενζύμων σημαντικών στη βιολογία και παθολογία των ROS, γιατί καταλύουν τη μετατροπή του υπεροξειδίου (O_2^-) σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και μοριακό οξυγόνο (O_2). Βέβαια, και το H_2O_2 είναι ένα μόριο υψηλής αντιδραστικότητας, ωστόσο, μετατρέπεται σε νερό (H_2O) από την καταλάση και την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (Adachi, 2000).

Υπάρχουν τρεις τύποι SOD:

- Εκείνες που περιέχουν χαλκό (Cu) και (Zn) (Cu,Zn-SOD)
- Εκείνες που περιέχουν μαγνήσιο (Mg) (Mg-SOD)
- Η εξωκυτταρικές SOD (EC-SOD)

Οι δυο πρώτοι τύποι είναι ενδοκυτταρικοί και βρίσκονται, κυρίως, στο κυτταρόπλασμα και στα μιτοχόνδρια, αντίστοιχα. Η EC- SOD είναι μια εκκριτική Cu-, Zn- περιέχουσα γλυκοπρωτεΐνη. Τα αγγειακά τοιχώματα περιέχουν μεγάλες ποσότητες EC- SOD, όπου οι συγκεντρώσεις των άλλων δυο τύπων είναι μικρές, συγκρινόμενες με τις αντίστοιχες σε άλλους ιστούς, και αποτελεί τον κύριο καταστροφέα του O_2^- στον εξωκυτταρικό χώρο (Starlin, 1995).

NADH-εξαρτώμενες οξειδοοδονκτάσες:

Τα ένζυμα αυτά συμβάλλουν στη διατήρηση επαρκούς αντιοξειδωτικού επιπέδου μέσα και γύρω από τη μεμβράνη του πλάσματος (Navarro, 1999). Υπάρχουν δυο τύποι τέτοιων ενζύμων,

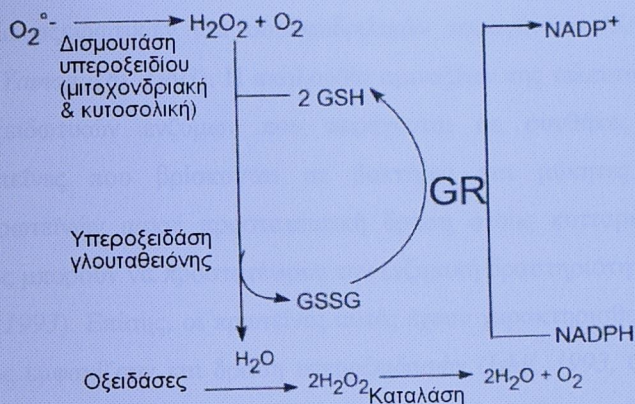
- Η NADH-εξαρτώμενη οξειδοοδουκτάση της ελεύθερης ρίζας ασκορβικού (NADH-Ascorbate Free Radical Oxidoreductase, NADH:AFR οξειδοοδουκτάση)
- Η NADH-εξαρτώμενη οξειδοοδουκτάση της ουβικινόνης (NADH-Ubiquinone (CoQ) Oxidoreductase NADH:CoQ οξειδοοδουκτάση)

Το πρώτο από αυτά προσφέρει προστασία σε κυτταρικά συστατικά από την καταστροφή που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες καταστρέφοντας τις υδατοδιαλυτές ελεύθερες ρίζες ή εκείνες που ξεκινούν την υπεροξειδωση των λιπιδίων. Ο μηχανισμός δράσης της φαίνεται πως είναι η αναγωγή της εξωκυτταρικής AFR με τη χρήση του ενδοκυτταρικού NADH (May, 2001).

Η NADH:CoQ οξειδοοδουκτάση είναι μια πρωτεΐνη μεγάλου μοριακού βάρους, με ένα τμήμα της να μοιάζει με τη ρεδοукτάση του κυτοχρώματος b_5 (Villalba, 1995). Το ένζυμο αυτό καταλύει τη μεταφορά, μέσω του NADH, ενός ηλεκτρονίου από το CoQ στη ρίζα της κινόνης. Η διαδικασία αυτή εξαρτάται από το ανιόν υπεροξειδίου. Η παραπάνω αντίδραση προκαλεί την αναγωγή των φαινοξυλικών ριζών της α -τοκοφερόλης, αναγεννώντας, με τον τρόπο αυτό, την α -τοκοφερόλη (Kagan, 1998).

Υπεροξειδάσες γλουταθειόνης (Glutathione Peroxidases, GSH-Px και GPx), ρεδοукτάση γλουταθειόνης (Glutathione Reductase, GR) και καταλάση:

Η ομάδα των GPx περιλαμβάνει τη σεληνοπρωτεΐνη-W (Se-W), τη σεληνοπρωτεΐνη-P (Se-P), τη σεληνοπρωτεΐνη-Pb (Se- Pb), τη σεληνοπρωτεΐνη-T (Se- T), τη σεληνοπρωτεΐνη-T₂ (Se T₂) και τη *Drosophila* BthD σεληνοπρωτεΐνη. Όπως φαίνεται, οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης έχουν στο μόριό τους σελήνιο. Οι ανθρώπινες GPx καταλύουν την GSH-εξαρτώμενη διάσπαση των υδροϋπεροξειδίων (Brigelius-Flohe, 1999). Ο κύριος φυσιολογικός ρόλος τους είναι να διατηρούν σε χαμηλά επίπεδα το H₂O₂ μέσα στο κύτταρο μειώνοντας την πιθανότητα καταστροφής από ελεύθερες ρίζες. Έτσι, προσφέρουν δευτερογενή άμυνα εναντίον των μορίων H₂O₂, τα οποία μπορούν να καταστρέψουν τις μεμβράνες και άλλες κυτταρικές δομές. Η παρουσία του σεληνίου στη δομή των GPx είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της αντιοξειδωτικής δράσης τους. Σε συνδυασμό με την καταλάση, διασπούν, κατά σειρά, το H₂O₂ σε H₂O, μέσω της GR και της φλαβινο-αδενινο-δεϋδρογονάσης (Flavin-Adenine-Dehydrogenase, FAD) στον κύκλο των φωσφοπεντοζών, όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα:



(Tapiero, 2003)

Σχ. 3.2: Σχηματική παρουσίαση μηχανισμού αντιοξειδωτικής δράσης των ενζύμων:

δισμουτάση υπεροξειδίου, υπεροξειδάση γλουταθειόνης και ρεδουκτάση γλουταθειόνης (GR)

Μέχρι σήμερα, είναι γνωστά τέσσερα μέλη της GSH-Px. Η GSH-Px₁ είναι ένα κυτοσολικό ένζυμο και εκφράζεται σε όλους τους ιστούς. Θεωρείται από τις πιο ισχυρές αντιοξειδωτικές πρωτεΐνες σε όλα τα θηλαστικά. Η GSH-Px₂ αποτελεί το πιο κοινό ομόλογο της GSH-Px₁, αλλά βρίσκεται, κυρίως, στον γαστρεντερικό αυλό (Chu, 1993). Η GSH-Px₃ είναι η δεύτερη σε συγκέντρωση, μετά τη Se-P, σεληνοπρωτεΐνη του πλάσματος (Takahashi, 1987). Η GSH-Px₄, γνωστή και ως φωσφολιπιδ-υδροϋπεροξειδ-γλουταθειον-υπεροξειδάση (Phospholipid Hydroperoxide Glutathione Peroxide, PHGPx), ανάγει τα υδροϋπεροξειδία των λιπαρών οξέων, που εστεροποιούνται από τα φωσφολιπίδια και βρίσκεται και στο κυτοσόλιο και στα μιτοχόνδρια (Ursini, 1985).

Τρανφεράση γλουταθειόνης (Glutathione Transferase, GT):

Η GT είναι ένζυμο το οποίο καταλύει την αντίδραση της GSH με ηλεκτρονιόφιλα ξενοβιοτικά συστατικά και, επομένως, συμβάλλει, έμμεσα, στην αντιοξειδωτική προστασία του οργανισμού (Sies, 1999).

Οξυγενάση της αίμης (Heme Oxygenase-1, HO-1) και MSP23 (Macrophage Stress Protein):

Οι παραπάνω είναι πρωτεΐνες οι οποίες παράγονται σε συνθήκες στρες του οργανισμού. Έτσι, η HO-1 είναι ένα μικροσωμικό ένζυμο που καταλύει τη μετατροπή της αίμης σε χολερυθρίνη, ή οποία θεωρείται ένας αποτελεσματικός καταστροφέας ελεύθερων ριζών. Η παραγωγή της διεγείρεται από την παρουσία ROS, σουλφυδρικών ενεργών παραγόντων, βαρέων μετάλλων και

ανεπάρκεια γλουταθειόνης (Keyse, 1989, Taketani, 1990, Jornot, 1993). Η MSP23 παράγεται στο κυττόσολιο παρουσία οξειδωτικών και σουλφυδρικών παραγόντων (Sato, 1993), καθώς και οξειδωμένης LDL (Yamaguchi, 1993). Η ακολουθία αμινοξέων της τελευταίας είναι ομόλογη μιας οικογένειας αντιοξειδωτικών ενζύμων που παράγονται σε συνθήκες στρες και η οποία περιλαμβάνει πρωτεΐνες που βρίσκονται σε βακτήρια και μύκητες. Αυτή η οικογένεια αντιοξειδωτικών πρωτεϊνών ασκεί προστατευτική δράση στους κυτταρικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς, καθώς μπορούν να προστατέψουν την ενζυμική δραστηριότητα από απενεργοποίηση από τα ROS (Lim, 1993). Επίσης, οι πρωτεΐνες αυτές έχουν χαρακτηριστεί ως υπεροξειδοξίνες, καθώς φαίνεται πως εμφανίζουν και δράση υπεροξειδασών (Ishii, 1993, Chae, 1994). Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Siow *et al.* (1995) βρέθηκε ότι οι δυο αυτές πρωτεΐνες παράγονται λεία μυϊκά κύτταρα της αορτής σε κατάσταση οξειδωτικού στρες. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι η HO-1 συμβάλλει στην αρχική κυτταρική αντιοξειδωτική απάντηση στο οξειδωτικό στρες, η οποία μπορεί, στη συνέχεια, να προκαλέσει την παραγωγή άλλων κυτταρικών αντιοξειδωτικών συστημάτων, όπως είναι η MSP23.

Μηχανισμοί δράσης διατροφικών παραγόντων:

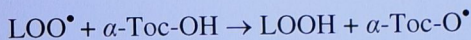
Εκτός από τους ενδογενείς ενζυμικούς και μη ενζυμικούς παράγοντες οι οποίοι συμμετέχουν, άμεσα ή έμμεσα, σε αντιοξειδωτικά συστήματα για την προστασία του οργανισμού από το οξειδωτικό στρες και τις συνέπειές του, ένας μεγάλος αριθμός διατροφικών συστατικών έχει αποδειχτεί ότι εμφανίζουν ανάλογη δράση. Όπως ήδη αναφέρθηκε, τα συστατικά αυτά ονομάζονται φυσικά αντιοξειδωτικά, γιατί υπάρχουν στα τρόφιμα ως φυσικά συστατικά τους. Οι διατροφικοί παράγοντες μπορούν να δράσουν μέσω διαφόρων μηχανισμών. Παρακάτω, περιγράφεται ο τρόπος λειτουργίας καθενός από τα φυσικά αντιοξειδωτικά, ξεχωριστά:

Βιταμίνη E:

Ο όρος βιταμίνη E περιγράφει μια σειρά φυσικών τοκοφερολών και τοκοτριενολών (α -, β -, γ - και δ -), όπως επισημάνθηκε στο κεφάλαιο 2. Από τα συστατικά αυτά, οι τοκοφερόλες έχει βρεθεί ότι εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση, προστατεύοντας από την υπεροξείδωση των λιπιδίων και της LDL. Η δραστικότητα τους κατά φθίνουσα σειρά φαίνεται πως είναι η εξής, α -τοκοφερόλη < β -τοκοφερόλη < γ -τοκοφερόλη < δ -τοκοφερόλη, ενώ η πρώτη είναι και το πιο άφθονο λιποδιαλυτό αντιοξειδωτικό στην ανθρώπινη LDL (Andrikopoulos, 2002).

Η ικανότητα της α -τοκοφερόλης να εμποδίζει την υπεροξείδωση των λιπιδίων αποδίδεται, γενικά, στη σάρωση των λιπιδικών υπεροξειδικών ριζών (Barkley, 1997), όπως φαίνεται στην παρακάτω

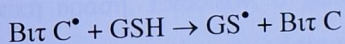
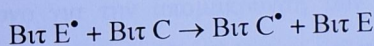
αντίδραση, όπου η βιταμίνη εμφανίζεται ως α -Toc-OH, η α -τοκοφεροξυλική ρίζα ως α -Toc-O $\cdot$, η λιπιδική περοξυλική ρίζα ως LOO $\cdot$ και το λιπαρό οξύ ως LOOH:



Εξαιτίας της ευκολίας με την οποία αποσπάται το μη συζευγμένο ηλεκτρόνιο, η α -Toc-O $\cdot$ δεν παρουσιάζει μικρή αντιδραστικότητα, σε σχέση με άλλες ρίζες (π.χ. L $\cdot$, LO $\cdot$ και LOO $\cdot$). Για το λόγο αυτό η σάρωση των ριζών από τη βιταμίνη μπορεί να σταματήσει την υπεροξειδωση των λιπιδίων (Burkitt, 2001).

Βιταμίνη C:

Η βιταμίνη C έχει βρεθεί ότι εμφανίζει αντιοξειδωτικές ιδιότητες, τόσο *in vivo*, όσο και *in vitro*. Συγκεκριμένα, έχει αποδειχτεί ότι παρέχει προστασία εναντίον της οξειδωτικής καταστροφής των βάσεων DNA, η οποία προκαλείται από την έκθεση στην ακτινοβολία ή στην OH $\cdot$, καταστρέφοντας τις αντίστοιχες ρίζες σε κάθε περίπτωση (Fischer-Nielsen, 1992). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι συμβάλλει στην αναγέννηση της βιταμίνης E, εφόσον αντιδρά με τη ρίζα της βιταμίνης E προς σχηματισμό ρίζας βιταμίνης C. Η ρίζα βιταμίνης C δεν αποτελεί αντιδραστικό μόριο, γιατί το μονήρες ηλεκτρόνιο που έχει είναι σταθερό (Fang, 2002). Η ρίζα αυτή μετατρέπεται πάλι σε βιταμίνη C από τη γλουταθειόνη, όπως ήδη περιγράφηκε. Οι παραπάνω αντιδράσεις φαίνονται παρακάτω:



Χάρη στην ικανότητά της να αναγεννά τη βιταμίνη E, η βιταμίνη C συμβάλλει στην προστασία από την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών.

Καροτενοειδή:

Πιο καλά αποδεδειγμένη αντιοξειδωτική δράση από τα διάφορα είδη καροτενοειδών παρουσιάζει το β -καροτένιο. Έχει βρεθεί ότι αναστέλλει την καταστροφική αλυσιδωτή αντίδραση των ROS στα μόρια, καθώς αντιδρά με την υπεροξειδική ρίζα προς σχηματισμό μιας σταθερής ρίζας, την οποία περικλείει στη δομή του. Με τον ίδιο τρόπο δρουν και τα άλλα καροτενοειδή, τόσο το α -, το γ -καροτένιο και η β -κρυπτοξανθίνη (πρόδρομοι της βιταμίνης A), όσο και το λυκοπένιο, η λουτεΐνη,

η κανθαξανθίνη και η ζεαξανθίνη. Η δράση που έχουν επιδείξει τα τελευταία είναι παρόμοια ή και μεγαλύτερη από αυτή του β-καροτενίου (Aruoma, 1998, Fang, 2002).

Σελήνιο (Se):

Το Se είναι ένα μικροθρεπτικό συστατικό. Η επαρκής πρόσληψη αυτού του συστατικού είναι απαραίτητη εξαιτίας του ρόλου του στην ανθρώπινη υγεία. Η ανεπάρκεια Se εμπλέκεται στην αιτιολογία της ασθένειας Keshen, ενδημική μυοκαρδιαπάθεια που εμφανίζεται σε παιδιά (Cheng, 1990), και της ασθένειας Kashin-Beck, ενδημική οστεοαρθροπάθεια (Arthur, 1999). Επίσης, το συστατικό αυτό συμβάλλει στην πρόσληψη διαφόρων μορφών καρκίνου (Clark, 1993, Yoshizawa, 1998, Nomura, 2000). Ωστόσο, εμφανίζει και έμμεση αντιοξειδωτική δράση, λειτουργώντας ως συμπαράγοντας διαφόρων πρωτεϊνών, μεταξύ των οποίων και αντιοξειδωτικών ενζύμων. Έτσι, η παρουσία του στο μόριο της ομάδας των GSH-Px είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της δραστηριότητας αυτών των ενζύμων στην άμυνα εναντίον της καταστροφής που προκαλεί το H_2O_2 . Έρευνες σε πληθυσμούς με μειωμένη πρόσληψη Se, όπως είναι πληθυσμοί της Νέας Ζηλανδίας, της Ιταλίας, της Γαλλίας και της Φιλανδίας, αλλά και σε ηλικιωμένους, έχουν αποδείξει αδυναμία πλήρους έκφρασης ενζύμων της παραπάνω ομάδας (Tomshon, 1999). Επιπλέον, έχει αποδειχτεί ότι συμμετέχει, συνεργικά με την τοκοφερόλη, στη ρύθμιση της υπεροξειδωσής των λιπιδίων (Tapiero, 2003).

Χαλκός (Cu), Ψευδάργυρος (Zn), Μαγνήσιο (Mg):

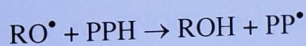
Ο χαλκός και ο ψευδάργυρος, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, αποτελούν δομικά στοιχεία της SOD, ενζύμου το οποίο είναι υπεύθυνο για την απομάκρυνση των ριζών υπεροξειδίου. Επομένως, επιδεικνύουν έμμεση αντιοξειδωτική δράση. Επιπλέον, ο χαλκός αποθηκεύεται στο μόριο της μεταλλοθειονίνης, πρωτεΐνη η οποία προστατεύει τα κύτταρα από τις ρίζες υδροξυλίου και υπεροξειδίου (Συντώσης, 2002). Τέλος, το μαγνήσιο αποτελεί συμπαράγοντα της δεϋδρογονάσης υπεροξειδίου (Συντώσης, 2002). Τέλος, το μαγνήσιο αποτελεί συμπαράγοντα της δεϋδρογονάσης της 6-φωσφορικής γλυκόζης και της 6-φωσφο-γλυκονικής δεϋδρογονάσης, δυο ενζύμων του κύκλου των πεντοζών που καταλύουν την παραγωγή NADPH από $NADP^+$. Με τον τρόπο αυτό, η έλλειψη μαγνησίου μειώνει τη δράση της GR και συμβάλλει στην οξείδωση των ιστών από τις ελεύθερες ρίζες (η σχέση της GR με την παραγωγή NADPH από $NADP^+$ φαίνεται στο σχήμα 3.2) (Mickel, 1993, Rock, 1995).

Πολυφαινόλες:

Εκτός από τα συστατικά που αναφέρθηκαν παραπάνω, των οποίων η συμβολή στην αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος και των ιστών στον ανθρώπινο οργανισμό είναι καλά τεκμηριωμένη,

ανερχόμενο ενδιαφέρον παρουσιάζει η ανακάλυψη των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων και άλλων μικροσυστατικών της τροφής, των πολυφαινολών. Αν και οι γνώσεις των μηχανισμών που εμπλέκονται στη βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών δεν είναι, ακόμα, πλήρως κατανοητοί, φαίνεται πως παρά τη σχετικά φτωχή βιοδιαθεσιμότητά τους, τα συστατικά αυτά συμμετέχουν ενεργά στην άμυνα του οργανισμού εναντίον των οξειδωτικών παραγόντων.

Πιθανόν, η κύρια αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών είναι η ικανότητά τους να σαρώνουν τις ελεύθερες ρίζες. Ωστόσο, μερικές πολυφαινόλες μπορούν να προκαλέσουν την παραγωγή ενζύμων της φάσης II, όπως είναι η τρανφεράση της γλουταθειόνης, ή άλλων αντιοξειδωτικών ενζύμων, όπως είναι η μεταλλοθιονεΐνη. Επίσης, μπορούν να αναστείλουν τη δράση των κυτοχρωμάτων P450 ή ενζύμων, όπως η κυκλοοξυγενάση, τα οποία εμφανίζουν οξειδωτική δραστηριότητα. Τέλος, έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν μέταλλα, ιδιότητα η οποία μπορεί να είναι ευεργετική, σε ορισμένες περιπτώσεις. Έτσι, μπορούν να δεσμεύσουν χαλκό ή σίδηρο, δυο μέταλλα που μπορούν να ξεκινήσουν την παραγωγή $\text{OH}^\bullet$, μέσω της αντίδρασης Fenton (βλέπε ενότητα 3.1). Ακόμα, οι περισσότερες αντιοξειδωτικές πολυφαινόλες λειτουργούν ως «εξολοθρευτές» ελεύθερων ριζών και μπορούν, επίσης, να καταστρέψουν μεταλλικά ιόντα που συμβάλλουν στην υπεροξείδωση των λιπιδίων. Εμπλέκονται στην οξείδωση των λιπιδίων και άλλων μορίων λειτουργώντας ως δότες ατόμου υδρογόνου στις ελεύθερες ρίζες, όπως φαίνεται στην παρακάτω αντίδραση, όπου PPH η πολυφαινόλη, $\text{RO}^\bullet$ ελεύθερη ρίζα και $\text{PP}^\bullet$ ρίζα πολυφαινόλης:



(Ferguson, 2001)

Παρακάτω, γίνεται λόγος για τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των διαφόρων κατηγοριών πολυφαινολών:

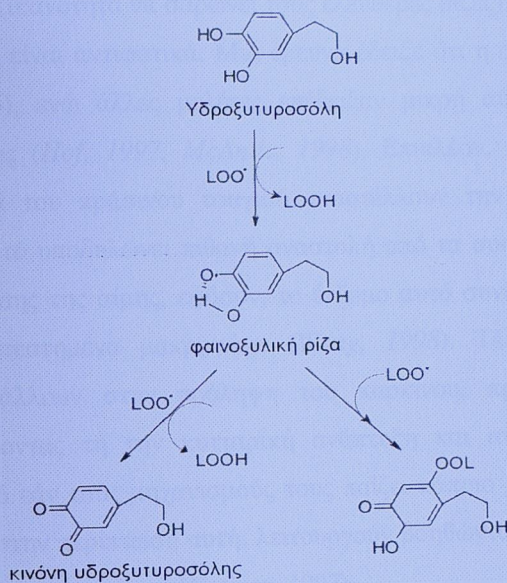
- Φαινολικά συστατικά ελιάς και ελαιολάδου:

Έρευνες για την αντιοξειδωτική ικανότητα των φαινολικών συστατικών της ελιάς και του ελαιολάδου έχουν αποδείξει ότι αυτά δρουν δεσμεύοντας τις ελεύθερες. Μάλιστα, φαίνεται πως η δράση τους είναι τόσο ισχυρή όσο έχει αποδειχτεί για άλλα αντιοξειδωτικά, όπως είναι το ασκορβικό οξύ και η α -τοκοφερόλη (Visioli, 1998). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι εμπλέκονται στην παραγωγή λευκοτριενίων αναστέλλοντας τη δράση της 5- και 12-λιποξυγενάσης (Puerta, 1999).

Ακόμα, δεδομένα ερευνών υποστηρίζουν ότι πολύ σημαντική είναι η συμβολή των φαινολικών συστατικών της ελιάς και του ελαιολάδου στην αναστολή της οξειδωσης της LDL, είτε δεσμεύοντας ή καταστρέφοντας μεταλλικά ιόντα (Visioli, 1994) είτε προστατεύοντας τη λιποπρωτεΐνη από άλλους οξειδωτικούς παράγοντες (Visioli, 1995, Aviram, 1998, Caruso, 1999, Laranjinha, 1999). Πρόσφατα, οι Moreno *et al.* (2003) εξέτασαν *in vitro* την επίδραση της τυροσόλης και άλλων μη φαινολικών συστατικών έξτρα παρθένου ελαιολάδου στα επίπεδα διαφόρων μορίων ROS και RNS. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η τυροσόλη μείωσε την παραγωγή του O_2^- και του H_2O_2 και $NO^\bullet$, τα οποία παράγονται κατά το μεταβολισμό των μακροφάγων RAW 264.7. Ακόμα, οι Andrikopoulos *et al.* (2002) μελέτησαν *in vitro* την ανασταλτική δράση των διαφόρων φαινολικών και μη φαινολικών συστατικών του ελαιολάδου στην οξειδωση της LDL. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι ολευρωπαΐνη και τα παράγωγά της, αλλά και τα φλαβονοειδή που περιέχονται στο ελαιόλαδο (κερκετίνη, ρουτίνη, λουτεονίνη) εμφανίζουν αξιοσημείωτη δράση εναντίον της οξειδωσης της LDL που κυμαίνεται μεταξύ του 49–59 %. Τέλος, όσον αφορά στην ολευρωπαΐνη και τους μεταβολίτες της (τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη), που αποτελούν τα κυριότερα φαινολικά συστατικά του ελαιολάδου, παλαιότερα δεδομένα υποστηρίζουν τη συμμετοχή τους στις παρακάτω βιολογικές δράσεις:

- Αναστολή οξειδωσης της LDL (Grignaffini, 1994, Salami, 1995), δράση η οποία βρέθηκε και στην πιο πρόσφατη έρευνα των Andrikopoulos *et al.*, (2002) όπως αναφέρθηκε παραπάνω.
- Αναστολή της υπεροξειδωσης των λιπιδίων (Manna, 1997).
- Συσσώρευση αιμοπεταλίων και αναστολή των 5- και 12-λιποξυγενασών (Petroni, 1995, Puerta, 1999).
- Αναστολή της τροποποίησης από το $ONOO^-$ των βάσεων DNA και της νίτρωσης της τυροσίνης (Deiana, 1999).
- Προστασία εναντίον της αιμόλυσης που προκαλείται από το H_2O_2 και του σχηματισμού μηλονικής διαλδεΰδης στα ερυθροκύτταρα (Manna, 1999).
- Αντιαναπαραγωγική δράση, μέσω απόπτωσης στα HL-60 κύτταρα και στα υπόλοιπα ενεργοποιημένα περιφερικά λεμφοκύτταρα του αίματος (Ragione, 2000).

Στο παρακάτω σχήμα παρουσιάζεται ο αντιοξειδωτικός μηχανισμός της υδροξυτυροσόλης εναντίον της υπεροξειδωσης των λιπιδίων:



(Keceli, 2003)

Σχ. 3.3: Σχηματική παρουσίαση του μηχανισμού δράσης τους υδροξυτυροσόλης εναντίον τους υπεροξειδωσης των λιπιδίων

• Πολυφαινόλες τσαγιού:

Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί για τους πολυφαινόλες του τσαγιού έχουν δείξει ότι τα συστατικά αυτά εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση, συμβάλλοντας, έτσι, στην προστασία από διάφορες ασθένειες, τους είναι τα καρδιαγγειακά νοσήματα και ο καρκίνος (Riemersma, 2001, Lambert, 2003). Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι οι κατεχίνες και οι φλαβονόλες που περιέχονται στο τσάι δρουν:

- Δεσμεύοντας τα ROS (Rice – Evans, 1996)
- Αναστέλλοντας τη μεταφορά των μεταλλικών ιόντων, μέσω τους μηχανισμού που εξαρτάται από τον αριθμό των υδροξυλικών ομάδων που περιέχονται στη δομή τους (Brown, 1998)
- Δεσμεύοντας τα NO και ONOO⁻ (Kerry, 1999)

Έτσι, φαίνεται πως οι πολυφαινόλες τόσο του πράσινου όσο και του μαύρου τσαγιού δρουν προστατευτικά εναντίον τους υπεροξειδωσης τους LDL που προκαλείται από τους ελεύθερες ρίζες και τα μεταλλικά ιόντα (Hof, 1997, Yang, 1998). Ακόμα, σε έρευνα στην οποία χρησιμοποιήθηκαν απλές κατεχίνες τσαγιού, αποδείχτηκε ότι τα συστατικά αυτά, ήδη σε συγκέντρωση 50μg/L, προκάλεσαν αναστολή τους οξειδωσης τους LDL (0,17mg πρωτεΐνης/ml) (Princen, 1998). Έρευνες *in vivo* έχουν αποδείξει ότι η κατανάλωση ενός φλιτζανιού τσαγιού αυξάνει την αντιοξειδωτική

ικανότητα του πλάσματος (ικανότητα να σαρώνει τους ελεύθερες ρίζες). Ωστόσο, στο σημείο αυτό, τα ευρήματα των ερευνών είναι αντιφατικά. Μια έρευνα έδειξε ότι η αύξηση αυτή ανέρχεται στο 40–50 % (Serafini, 1996), ενώ άλλες μελέτες επέδειξαν μικρή αύξηση της αντιοξειδωτικής «δύναμης» του πλάσματος (Hof, 1997, McAnlis, 1998). Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις ότι τα πολυφαινολικά συστατικά του πράσινου τσαγιού αναστέλλουν την οξείδωση τους LDL στο ενδοθήλιο. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει πιθανή αναστολή από τα συστατικά αυτά της έκφρασης του γονιδίου της οξυγενάσης της αίμης, εφόσον, το ένζυμο αυτό συνδέεται με τη μεταφορά των μονοκυττάρων στα εγκατεστημένα μακροφάγα (Wang, 1998). Τέλος, οι πολυφαινόλες του πράσινου τσαγιού συμβάλλουν στην πρόληψη του καρκίνου, προωθώντας την κυτταρική απόπτωση και αναστέλλοντας τη την κυτταρική ανάπτυξη και αναπαραγωγή (Yang, 2002). Ωστόσο, δεν είναι γνωστό εάν τους μηχανισμούς τους παίζει κάποιο ρόλο η αντιοξειδωτική τους δράση. Είναι πιθανό ότι, στην περίπτωση αυτή, λειτουργούν βοηθώντας τη δράση των κυτταρικών ενζυμικών αντιοξειδωτικών συστημάτων (Katiyar, 1997).

• Πολυφαινόλες κρασιού:

Όσον αφορά στις πολυφαινόλες που περιέχονται στο κρασί, έχει βρεθεί ότι η δράση τους σχετίζεται, άμεσα, με τις επιδράσεις της μέτριας κατανάλωσης κρασιού στην υγεία. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι τα φαινολικά συστατικά του:

- Αυξάνουν την αντιοξειδωτική ικανότητα της βιταμίνης E, χωρίς να επηρεάζουν την *ex vivo* προκαλούμενη από το Cu οξείδωση (Carbonneau, 1997)
- Αναστέλλουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (Shanmuganayagam, 2002)
- Αναστέλλουν τη δράση του μεταγραφικού παράγοντα AP-1 (Capeyron, 2001)
- Καταστρέφουν τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και τα άλλα είδη ROS (Rigo, 2000)

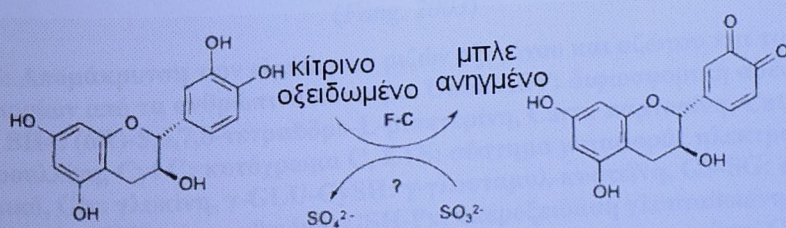
Από τις παραπάνω δράσεις, οι δυο πρώτες συμβάλλουν στην προστασία από την αθηρογένεση, ενώ η τρίτη από την καρκινογένεση.

• Πολυφαινόλες κακάο, σκούρας σοκολάτας και καφέ:

Όπως ήδη αναφέρθηκε (κεφάλαιο 1.3.α), τα παραπάνω αφεψήματα είναι πλούσια σε φλαβονοειδή, κυρίως σε υδροξυκιναμμομικά οξέα, κατεχίνες και προκυανιδίνες. Έρευνες που έχουν αποδείξει ότι οι πολυφαινόλες που περιέχονται σε αυτά εμφανίζουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Πιο συγκεκριμένα, έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε 23 υγιή άτομα, στην οποία εξετάστηκε η επίδραση της σκόνης κακάο και της σκούρας σοκολάτας στην οξείδωση της LDL, βρέθηκε ότι τα δυο αφεψήματα προκαλούν καθυστέρηση στην οξείδωση ($\uparrow$ χρόνου οξείδωσης $\approx 8\%$) και μειώνουν

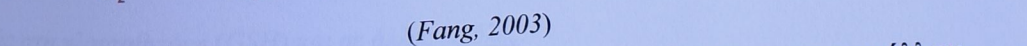
το βαθμό οξείδωσής της κατά $\approx 6,6\%$. Επίσης, συμβάλλουν στην αύξηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού ($\uparrow \approx 4,2\%$) (Wan, 2001). Άλλη έρευνα, η οποία εξέτασε την αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινόλων των παραπάνω αφεψημάτων *in vitro*, απέδειξε ότι και τα τρία καθυστερούν την οξείδωση της LDL. Ωστόσο, στη μελέτη αυτή δε βρέθηκε να επηρεάζεται ο βαθμός οξείδωσης της LDL (Richelle, 2001). Παλαιότερες έρευνες έχουν αποδείξει ότι τα φλαβονοειδή του κακάο βοηθούν τη βιταμίνη E και άλλα λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά να διαλυθούν στο μόριο της LDL. Επιπλέον, ευρήματα ερευνών που πραγματοποιήθηκαν *in vitro* έδειξαν ότι τα φλαβονοειδή, κυρίως οι κατεχίνες, αναγεννούν την α -τοκοφερόλη, δανειζοντας ένα άτομο H_2 στη ρίζα α -τοκοφερόλης (Salah, 1995). Τέλος, για τα φλαβονοειδή του κακάο, υπάρχουν ενδείξεις ότι παρεμποδίζει τη νίτρωση της τυροσίνης που προκαλείται από το $ONOO^-$ (Arteel, 1999).

Τέλος, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι μερικά αντιοξειδωτικά λειτουργούν συνεργατικά. Σε μια έρευνα που εξετάστηκε, *in vitro*, το φαινόμενο της «συνέργειας» μεταξύ της κατεχίνης και άλλων πολυφαινόλων του κρασιού και βιολογικών αντιοξειδωτικών (Trolox, ασκορβικό, SO_2 , ουρικό οξύ), με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu (FC) και τη δοκιμασία της μετμυογλοβίνης, βρέθηκε ότι το trolox, η βιταμίνη C και το ουρικό οξύ, ενώ παρουσίασαν παρόμοια αντιοξειδωτική δράση σε διαλύματα όπου βρίσκονταν μόνα τους, η δράση αυτή ήταν αρκετά αυξημένη μετά την προσθήκη κατεχινών και SO_2 (Cedric, 1999). Η πιθανή εξήγηση της συνεργατικής αντιοξειδωτικής δράσης των κατεχινών και του SO_2 φαίνεται στην παρακάτω αντίδραση:



(Cedric, 1999)

Σχ. 3.4: πιθανή εξήγηση της αντιοξειδωτικής συνεργατικής δράσης μεταξύ της (+)-κατεχίνης και του SO_2



3.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ:

Με το πέρασμα του χρόνου, όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί υπόκεινται τόσο σε εξωτερικές, όσο και σε εσωτερικές φθορές. Όσον αφορά στον άνθρωπο, το πέρασμα στην τρίτη ηλικία σηματοδοτεί την έναρξη μιας ποικιλίας φυσιολογικών, ψυχολογικών, οικονομικών και κοινωνικών αλλαγών. Η σύσταση και η εμφάνιση του σώματος αλλάζει, λόγω απώλειας μυϊκού ιστού (Rantanen, 2000). Επίσης, οι ηλικιωμένοι είναι, συχνά, πιο ευάλωτοι στην εκδήλωση εκφυλιστικών νοσημάτων, όπως είναι αυτά που σχετίζονται με το καρδιαγγειακό σύστημα (Andrews, 2001), καθώς και διάφορες μορφές καρκίνου (Hack, 1998, Estensen, 1999). Ακόμα και η διατροφή των ατόμων αυτών δεν είναι αυτή που θα έπρεπε να είναι. Κοινωνικο-οικονομικοί και ψυχολογικοί παράγοντες ή ύπαρξη κάποιου νοσήματος τα οδηγούν, πολλές φορές, σε ανεπαρκή πρόσληψη τροφής και, κατά συνέπεια, θρεπτικών συστατικών.

Ως συνέπεια των παραπάνω, έχει βρεθεί ότι αλλαγές συμβαίνουν και στην αντιοξειδωτική «δύναμη» του πλάσματος του ανθρώπινου οργανισμού, είτε εξαιτίας της ανεπαρκούς πρόσληψης αντιοξειδωτικών ουσιών, είτε λόγω δυσλειτουργίας των ενδογενών συστημάτων αντιοξειδωτικής δράσης. Από την άλλη μεριά, οι ίδιες οι διαδικασίες που συμβαίνουν στον οργανισμό κατά τη γεροντική ηλικία μπορούν να είναι αποτέλεσμα της δράσης των ROS και αλλαγών που επέρχονται στους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς (Vina, 1992).

Αλλαγές στη γλουταθειόνη (GSH) και σε άλλες θειόλες:

Από τη στιγμή που η GSH είναι ένα από τα πιο αποτελεσματικά αντιοξειδωτικά συστήματα στο κύτταρο, ο μεταβολισμός της μπορεί να αλλάζει με την ηλικία. Έτσι, έχουν παρατηρηθεί αλλαγές στη συγκέντρωση της ενδοκυτταρικής GSH ή στο αναγωγικό επίπεδο της GSH σε διάφορα κύτταρα και ιστούς. Έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σε ανθρώπινους ιστούς έχουν αποδείξει ότι αλλαγές στο αναγωγικό επίπεδο της GSH συμβαίνουν σε ολόκληρο το αίμα, κυρίως στα ερυθρόκύτταρα (Samiec, 1998, Erden-Inal, 2002), στα περιφερικά μονοπύρρηνα του αίματος, κυρίως τα λεμφοκύτταρα (Hernanz, 2000, Lenton, 2000) και στο σκελετικό μυϊκό ιστό (Pansarasa, 2002).

Πιο συγκεκριμένα, για πρώτη φορά από τους Hernanz *et al.* (2000) μελετήθηκε η επίδραση στα επίπεδα της γλουταθειόνης από τις αλλαγές στη συγκέντρωση της ενδοκυτταρικής ομοκυστεΐνης κατά την τρίτη ηλικία. Η υπερομοκυστεϊναιμία αποτελεί έναν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για

την αθηροσκλήρωση, εξαιτίας της οξειδωτικής δράσης, ενώ η γλουταθειόνη παίζει βασικό ρόλο στη ρύθμιση του αναγωγικού επιπέδου, ενδοκυτταρικά. Η έρευνα πραγματοποιήθηκε σε 43 υγιείς ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες και 27 υγιή άτομα νεαρής ηλικίας. Από δείγματα αίματος που λήφθηκαν από τους εθελόντες, έγιναν μετρήσεις στις συγκεντρώσεις της ομοκυστεΐνης, της κυστεΐνης και της κυστεΐνογλυκίνης, καθώς και της γλουταθειόνης, στα μονοπύρνα κύτταρα του αίματος. Επίσης, εκτιμήθηκαν τα επίπεδα της βιταμίνης E του πλάσματος και των υπεροξειδωμένων λιπιδίων του ορού. Η τελευταία έγινε με τη μέθοδο των θειοβαρβιτουρικών οξέων (βλέπε ενότητα 3.4). Πρέπει να σημειωθεί ότι οι συμμετέχοντες δεν παρουσίαζαν ιδιαίτερες διαφορές στις διατροφικές τους συνήθειες, όπως αυτές εκτιμήθηκαν μέσω ενός απλοποιημένου ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων και ποτών. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής έδειξαν μια αύξηση στη σύνθεση της ομοκυστεΐνης στις μεγαλύτερες ηλικίες, η οποία, με τη σειρά της, μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη οξειδωτική καταστροφή του ενδοθηλίου και υπεροξείδωση των λιπιδίων, καθώς και σε μείωση της ολικής ενδοκυτταρικής γλουταθειόνης. Επίσης, η βιταμίνη E του πλάσματος βρέθηκε μειωμένη στα ηλικιωμένα άτομα σε σχέση με αυτά της νεαρής ηλικίας (20,05 και 27,7 $\mu\text{mol/L}$, αντίστοιχα). Εκτός από τη γλουταθειόνη, έχει βρεθεί ότι αλλάζει το επίπεδο και άλλων θειολών, κατά τη γήρανση. Έτσι, σε μια μελέτη, στην οποία μετρήθηκε το αναγωγικό δυναμικό κυστεΐνης / κυστίνης και GSH / GSSG στο πλάσμα 122 υγιών ατόμων ηλικίας 19–85 ετών, βρέθηκε ότι υπήρξε θετική συσχέτιση του δυναμικού οξειδωμένης κυστεΐνης/κυστίνης με την ηλικία, στο βαθμό των 0,16 mV/χρόνο, σε όλη τη διάρκεια της ζωής. Αντίθετα, η γλουταθειόνη δε φάνηκε να οξειδώνεται πριν το 45^ο έτος της ζωής, ενώ, στη συνέχεια, το επίπεδο οξειδωμένης γλουταθειόνης παρουσίαζε σχετικά γρήγορη αύξηση με το χρόνο, της τάξης των 0,7mV/χρόνο.

Αλλαγές στη συγκέντρωση αλβουμίνης του πλάσματος:

Η αλβουμίνη είναι ένας από τους σημαντικούς ρυθμιστικούς παράγοντες του οξειδοαναγωγικού επιπέδου. Σε έρευνες με υγιή ηλικιωμένα άτομα, έχουν παρατηρηθεί χαμηλά επίπεδα αλβουμίνης πλάσματος. Η χαμηλή αυτή συγκέντρωση σχετιζόταν με χαμηλό χρόνο ημίσειας ζωής του συστατικού αυτού και με απώλεια μυϊκής μάζας (Droge, 2000). Οι οξειδωμένες μορφές της αλβουμίνης, στις οποίες περιλαμβάνεται το πρωτεΐνο-κυστεΐνο-δισουλφίδιο, έχει βρεθεί ότι αυξάνονται με την ηλικία. Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι οι τύποι αυτοί αλβουμίνης εμφανίζουν υψηλότερο καταβολικό ρυθμό, οι αλλαγές στο οξειδοαναγωγικό επίπεδο του πλάσματος σχετίζονται τη μείωση της συγκέντρωσης της αλβουμίνης (Breitkreutz, 2000).

Αλλαγές στη δισμουτάση υπεροξειδίου (superoxide dismutase, SOD):

Όπως επισημάνθηκε στην προηγούμενη ενότητα, η SOD παίζει πρωταρχικό ρόλο στην καταστροφή της ρίζας υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet}$) στον εξωκυτταρικό χώρο. Δεδομένα από έρευνες σχετικές με την επίδραση της ηλικίας στο σύστημα αντιοξειδωτικής δράσης, στο οποίο εμπλέκεται το ένζυμο αυτό, υποστηρίζουν ότι παρατηρείται μείωση της δράσης του στο πλάσμα και στα ερυθροκύτταρα των ηλικιωμένων (Guemouri, 1991, Marklund, 1997).

Σε πιο πρόσφατη μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε 530 υγιή άτομα ηλικίας 2–61 ετών βρέθηκαν σημαντικές αλλαγές στη δράση της εξωκυττάριας SOD στα άτομα των διαφόρων ηλικιακών ομάδων. Πιο συγκεκριμένα, οι συμμετέχοντες αποτελούσαν μέλη 119 οικογενειών. Στους εθελοντές δεν έγινε κάποια διαιτητική παρέμβαση. Χωρίστηκαν σε δυο ηλικιακές ομάδες, την ομάδα παιδιών/νεαρών και αυτή των ενηλίκων. Σε αυτούς εξετάστηκαν τα εξωκυτταρικά επίπεδα της SOD και η δράση της.. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αντιοξειδωτική δράση του ενζύμου στο πλάσμα παρουσίαζε μείωση από τις μικρότερες προς τις μεγαλύτερες ηλικίες, και για τις δυο ομάδες. Από την άλλη πλευρά, ενώ οι συγκεντρώσεις του ενζύμου βρέθηκε ότι ήταν σημαντικά υψηλότερες στην ομάδα παιδιών/νεαρών από αυτή των ενηλίκων, με μια μέγιστη τιμή κατά την παιδική ηλικία, στη δεύτερη ομάδα, τα επίπεδα αυτά φάνηκε παρουσιάζουν θετική συσχέτιση με την ηλικία. Ωστόσο, τα αποτελέσματα αυτά δεν ήταν στατιστικά σημαντικά (Adachi, 2000).

Η γήρανση φαίνεται πως σχετίζεται, επίσης, με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, η οποία υποβοηθά την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Εφόσον η συγκέντρωση της SOD στο πλάσμα των ατόμων μεγαλύτερων ηλικιών είναι τέτοια ώστε να μην έχει την ικανότητα να διατηρήσει την ομοιότητα του αναγωγικού επιπέδου, η μείωση αυτή φαίνεται πως μπορεί να ευθύνεται, εν μέρει, για την δυσλειτουργία του αγγειακού συστήματος που εκδηλώνεται, ως φυσική συνέπεια της γήρανσης (Reilly, 1991).

Όσον αφορά στην επίδραση την γήρανσης στην απώλεια μυϊκού ιστού που παρατηρείται στα ηλικιωμένα άτομα, πρόσφατη μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε 45 γυναίκες και άνδρες ηλικίας 65–90 ετών απέδειξε ότι με την απώλεια αυτή σχετίζονται αλλαγές που επέρχονται στους ενδογενείς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς. Έτσι, στη συγκεκριμένη έρευνα, σε συγκεκριμένους τύπους σκελετικών μυών, μετρήθηκε η αντιοξειδωτική δράση της ολικής και της Mn-δισμουτάσης υπεροξειδίου (Mn-SOD), της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GSHPx) και των καταλασών (CAT). Επίσης, εκτιμήθηκαν οι συγκεντρώσεις της οξειδωμένης γλουταθειόνης και των υπεροξειδωμένων λιπιδίων. Τα αποτελέσματα της έρευνας επέδειξαν μειωμένη δράση ολικής SOD

(↓ 40%) και αυξημένη συγκέντρωση υπεροξειδωμένων λιπιδίων, ενώ οι άλλες παράμετροι παρέμειναν σταθερές (Pansarasa, 2002).

Αλλαγές στα επίπεδα σεληνίου (Se):

Από όλα τα μικροθρεπτικά συστατικά που εμπλέκονται στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, το σελήνιο και ο ψευδάργυρος είναι τα πιο καλά μελετημένα στα ηλικιωμένα άτομα (Gibson, 1985, Ducros, 2000, Fraker, 2000). Το πρώτο από αυτά εμφανίζει αντιοξειδωτική δράση, καθώς λειτουργεί ως συμπαράγοντας σε πολλά ένζυμα του συστήματος της οξειδωτικής καταστροφής, όπως περιγράφηκε στην προηγούμενη ενότητα.

Τα επίπεδα Se του αίματος σε διάφορους πληθυσμούς έχει μελετηθεί σε χώρες που, παραδοσιακά, εμφανίζουν ανεπάρκεια σε αυτό το συστατικό, όπως είναι η Νέα Ζηλανδία, η Ιταλία, η Γαλλία και η Φιλανδία. Σε μια δημοσίευσή τους, οι Tomshon και Robinson (1996) ανέφεραν ότι τα επίπεδα σεληνίου που βρέθηκαν σε ηλικιωμένα άτομα της Νέας Ζηλανδίας, στις αρχές της δεκαετίας του 1970, ήταν χαμηλά, αλλά κοντά σε αυτά που απαιτούνται για τη μέγιστη δράση των υπεροξειδασών της γλουταθειόνης (GPx).

Ωστόσο, πιο πρόσφατα δεδομένα από έρευνες σε νεαρούς ενήλικες της χώρας αυτής, έρχονται σε αντίθεση με τα προηγούμενα ευρήματα, υποστηρίζοντας ότι η ανεπαρκής διαιτητική πρόσληψη σεληνίου οδηγεί σε μειωμένη έκφραση των GPx (Duffield, 1999). Ακόμα, οι Jong *et al.* (2001), σε μια μελέτη επιπολασμού, εκτίμησαν τα επίπεδα σεληνίου και ψευδαργύρου του αίματος σε 113 ηλικιωμένες υγιείς γυναίκες (70–80 ετών) και την επίδραση αυτών στην αντιοξειδωτική δράση των GPx. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι, από τα άτομα που δε χρησιμοποιούσαν συμπληρώματα Se, το 80% είχε χαμηλά επίπεδα αίματος ($<1,00 \mu\text{mol/L}$) για το συστατικό αυτό. Επίσης, βρέθηκε υψηλή θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του Se και της δράσης των GPx. Το εύρημα αυτό αποδεικνύει ότι η χαμηλή πρόσληψη Se σχετίζεται με μειωμένη έκφραση των GPx και, συνεπώς, μειωμένη αντιοξειδωτική δράση.

Αν και η μειωμένη πρόσληψη από την τροφή συστατικών που εμπλέκονται στους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς του ανθρώπινου οργανισμού στα ηλικιωμένα άτομα μπορεί να επηρεάσει την αντιοξειδωτική ικανότητα του αίματος, όπως αποδείχτηκε για το σελήνιο, υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις για το εάν αποτέλεσμα αυτό μπορεί να αντirroπιστεί από αύξηση της πρόσληψης αυτών. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε 80 υγιή άτομα ηλικίας 50–87 ετών, κατά την οποία μετρήθηκε η ολική αντιοξειδωτική δύναμη του πλάσματος, μέσω της μεθόδου ORAC

(βλέπε ενότητα 3.4), καθώς και η συγκέντρωση της GPx, μετά από τη χορήγηση ενός πολυβιταμινούχου συμπληρώματος για 8 εβδομάδες, δε βρέθηκε να επήλθε κάποια αλλαγή σε αυτές τις παραμέτρους. Αυτό φαίνεται πως συνέβη γιατί η μέθοδος αυτή μετρά τη δράση όλων των μη ενζυμικών και λιποδιαλυτών αντιοξειδωτικών (β-καροτένιο, γλουταθειόνη, μεθειονίνη, ουρικό οξύ, χολερυθρίνη, φαινολικά συστατικά, τοκοφερόλες, βιταμίνη C). Η αλλαγή των αντιοξειδωτικών βιταμινών του πλάσματος που επήλθε από την πρόσληψη του συμπληρώματος είτε ήταν ανίκανη να επηρεάσει την ORAC, εξαιτίας της μικρής συμβολής στη μη πρωτεϊνική οξειδωτική ικανότητα του πλάσματος, είτε τα επίπεδα του ουρικού οξέος κάλυψαν τις όποιες αλλαγές που πιθανόν προκλήθηκαν στην ORAC, στις αντιοξειδωτικές συγκεντρώσεις που επιτεύχθηκαν στην παρούσα μελέτη. Ακόμα, η δράση της GPx παρέμεινε ανεπηρέαστη από τη χορήγηση του συμπληρώματος. Για αυτό το εύρημα πιθανόν να ευθύνεται το γεγονός ότι οι συμμετέχοντες δεν παρουσίαζαν ανεπάρκεια για το σελήνιο, το οποίο λειτουργεί ως συμπαραγόντας για το παραπάνω ένζυμο, και το συμπλήρωμα περιείχε μόνο 20 μg σεληνίου (McKey, 2000). Επιπλέον, οι Cao *et al.* (1998) παρατήρησαν αύξηση στις τιμές ORAC του πλάσματος ηλικιωμένων γυναικών, 2 ώρες μετά τη πρόσληψη 1250 mg βιταμίνης C.

Τέλος, τα ευρήματα έρευνας που πραγματοποίησαν οι Wang *et al.* (2001) έρχονται σε συμφωνία με την άποψη ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος μειώνεται κατά τη γήρανση. Οι συγκεκριμένοι ερευνητές μελέτησαν την επίδραση διαφόρων παραγόντων στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος, μεταξύ των οποίων και η ηλικία, μέσω της μεθόδου TAS (βλέπε κεφ. 3.4) με μετρήσεις που διεξήγαγαν σε δείγματα αίματος από μέλη 40 μεξικανικών οικογενειών. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής έδειξαν μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ των τιμών TAS και της ηλικίας στους άνδρες. Δε βρέθηκε το ίδιο, όμως, και για τις γυναίκες.

Συνοψίζοντας, η γήρανση χαρακτηρίζεται από ένα σύνολο διαδικασιών εκφύλισης των διαφόρων ιστών του ανθρώπινου οργανισμού, οι οποίες οδηγούν σε δυσλειτουργία ζωτικών οργάνων και, πολύ συχνά, στην εκδήλωση ασθενειών, αλλά και, τελικά, στο θάνατο. Φαίνεται πως μέρος των διαδικασιών αυτών αποτελεί η μερική απώλεια της δράσης των ενδοκυτταρικών και εξωκυτταρικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών ή η αύξηση του οξειδωτικού στρες, χωρίς ανάλογη αύξηση των αντιοξειδωτικών παραγόντων. Έτσι, ευρήματα ερευνών σχετικά με τις αλλαγές στην αντιοξειδωτική δύναμη του πλάσματος και, γενικότερα, των ιστών, κατά τη γήρανση, υποστηρίζουν ότι η αυτή μειώνεται ως αποτέλεσμα της μείωσης της δράσης και των επιπέδων παραγόντων, όπως είναι η γλουταθειόνη, η κυστεΐνη, οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης, η

αλβουμίνη, η δισμουτάση του υπεροξειδίου, καθώς και της ανεπαρκούς πρόσληψης διαιτητικών αντιοξειδωτικών συστατικών, όπως είναι το σελήνιο.

3.4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΣΤΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΠΛΑΣΜΑ:

Προκειμένου να εκτιμηθεί η αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού ή του πλάσματος του ανθρώπινου αίματος, διάφορες μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί. Το γεγονός ότι είναι δύσκολο να μετρηθεί κάθε συστατικό το οποίο εμφανίζει αντιοξειδωτική δράση ξεχωριστά και, επιπλέον, το ότι πολλά από αυτά αλληλεπιδρούν στον ανθρώπινο ορό ή πλάσμα, οδήγησε τους ερευνητές προς αυτήν την κατεύθυνση. Οι μέθοδοι αυτές, σε γενικές γραμμές, βασίζονται στη μέτρηση, με διάφορους τρόπους η κάθε μια, της μείωσης του επιπέδου του οξειδωτικού στρες στο οποίο βρίσκεται ο οργανισμός και το οποίο περιλαμβάνει είτε αλληλεπίδραση με ελεύθερες ρίζες είτε με μεταλλικά ιόντα (Aruoma, 2003). Ωστόσο, διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τον τύπο της πηγής οξείδωσης που αξιοποιούν, το σκοπό και τις μετρήσεις που χρησιμοποιούν προκειμένου να εκτιμήσουν την ποσότητα του οξειδωμένου προϊόντος. Δίνουν ένα μεγάλο εύρος αποτελεσμάτων. Έτσι, είναι ωφελιμότερο να μην χρησιμοποιούνται ξεχωριστά η μια από την άλλη και τα αποτελέσματα θα πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή (Duthie, 1999). Επιπλέον, πρέπει να σημειωθεί ότι πολλές από τις μεθόδους αυτές διεξάγονται *in vitro* και σε μη φυσιολογικό pH. Έτσι, είναι αδύνατο να επεκταθούν τα αποτελέσματά τους σε φυσικό περιβάλλον. Για το λόγο αυτό, η γνώση η βασιζόμενη στην αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα καλό θα ήταν να πηγάζει από την *in vivo* δεδομένα (Aruoma, 2003).

Οι μέθοδοι αυτές, διακρίνονται σε δυο μεγάλες κατηγορίες:

- Σε αυτές που εκτιμούν τη δράση ενός ξεχωριστού αντιοξειδωτικού συστατικού, όπως είναι η βιταμίνη E, το ασκορβικό οξύ, κ.τ.λ.
- Σε αυτές που εκτιμούν την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος ή άλλων βιολογικών υγρών ως συνδυασμένη δράση πολλών αντιοξειδωτικών παραγόντων.

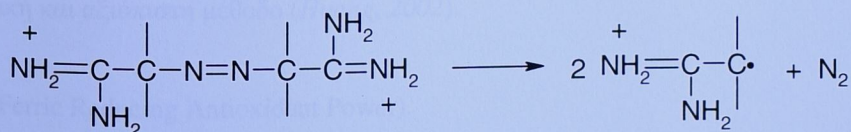
Τέλος, η παλαιότερη μέθοδος που αναφέρεται στη βιβλιογραφία χρονολογείται στο 1958 και αναφέρεται ως «Radical Scavenging Activity» (RSA) (Blois, 1958).

Παρακάτω, αναλύονται μερικές από τις μεθόδους οι οποίες έχουν χρησιμοποιηθεί από μεγάλο αριθμό ερευνών που εξετάζουν την αντιοξειδωτική ικανότητα του ανθρώπινου πλάσματος (Cao, 1998, Van Overveld, 2000, Arts, 2003, Cheldof, 2003, Prior, 2003)

• ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).

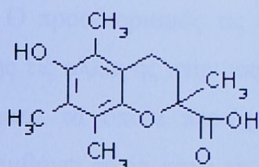
Πρόκειται για μια μέθοδο, η οποία, με ορισμένες τροποποιήσεις που έχει δεχτεί με το πέρασμα του χρόνου, είναι ευρέως χρησιμοποιούμενη για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας βιολογικών δειγμάτων και τροφίμων, από απλά συστατικά, όπως είναι η μελατονίνη (Pieri, 1994), η ντοπαμίνη (Miller, 1996) και τα φλαβονοειδή (Lin, 1996, Cao, 1997) έως πολύπλοκες συνθέσεις, όπως για παράδειγμα, το τσάι (Lin, 1996), τα φρούτα (Wang, 1996), τα λαχανικά (Cao, 1996), τα βότανα (Sharma, 1996) και οι ζωικοί ιστοί (Testa, 1996, Cao, 1997). Σε ένα βιολογικό σύστημα, η ORAC μετρά την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα όλων των γνωστών μη ενζυμικών υδατοδιαλυτών και λιποδιαλυτών αντιοξειδωτικών (βιταμίνη C, τοκοφερόλες, β-καροτένιο, γλουταθειόνη, μεθειονίνη, ουρικό οξύ, χολερυθρίνη και πολυφαινόλικά συστατικά) (McKey, 2000).

Η μέθοδος ORAC βασίζεται στην αναστολή της οξείδωσης που προκαλείται από την υπεροξειδική ρίζα, η οποία ξεκινά με την θερμική αποσύνθεση αζωτούχων συστατικών, όπως είναι το 2-αμιδινο-προπανο-διυδροχλωρίδιο (AAPH) (Ronald, 2003).



Σχ. 3.6: Η αντίδραση οξείδωσης που προκαλείται από την υπεροξειδική ρίζα, η οποία ξεκινά με την θερμική αποσύνθεση αζωτούχων συστατικών

Ο βαθμός στον οποίο επέρχεται η μείωση της οξείδωσης ελέγχεται από τη μείωση του φθορισμού που προκαλείται στην Β-φυκοερυθρίνη (B-PE) ή στην R-φυκοερυθρίνη (R-PE) παρουσία αυτών των αζωτούχων συστατικών (Glazer, 1990). Η αντίδραση αυτή εξαρτάται από τη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών ουσιών που χρησιμοποιούνται κάθε φορά (Cao, 1995) Η βραδεία φάση που προκαλείται από το πλάσμα συγκρίνεται με την αντίστοιχη από το 6-υδροξυ-2,5,7,8-τετραμεθυλοχρωμано-2-καρβοξυλικό οξύ (Trolox, ένα υδατοδιαλυτό ανάλογο της βιταμίνης E).



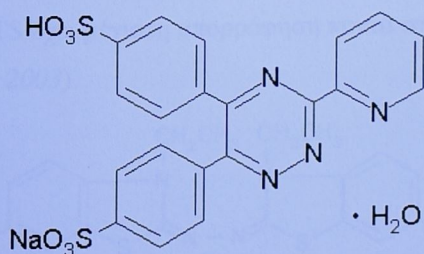
Σχ. 3.7: Η δομή του Trolox

Αυτή η αντίδραση είχε πρώτα μελετηθεί από τους Glazer *et al.* (1990) και Chiselli *et al.* (1995) και οι βασικές αρχές της αξιοποιήθηκαν στη συνέχεια ως οι βασικές αρχές της συγκεκριμένης μεθοδολογίας.

Μειονέκτημα της μεθόδου αυτής μπορεί να θεωρηθεί η χρήση της Β-φυκοερυθρίνης (B-PE) ή R-φυκοερυθρίνης (R-PE). Πρόκειται για πρωτεΐνες οι οποίες απομονώνονται από το *P. cruentum* και οι οποίες εμφανίζουν σαφώς διεγερόμενα και εκπεμπόμενα μήκη κύματος, υψηλή παραγωγή φθορισμού, ευαισθησία στις διάφορες κατηγορίες ριζών οξυγόνου και υψηλή διαλυτότητα στο νερό. Πρόσφατα, όμως, ως φθορίζων συστατικό χρησιμοποιείται η φθοριζείνη (3'6'-διυδροσπиро-[ισοβενζοφουραν-1[3H],9'[9H]-ξανθο]-3-όνη). Η φθοριζείνη επιτρέπει στη μέθοδο αυτή να μετρά ευθέως τη δράση των υδρόφιλων αντιοξειδωτικών, τα οποία ενεργούν «σπάζοντας» μια δομική αλυσίδα, εναντίον των υπεροξειδικών ριζών. Το γεγονός αυτό, κάνει την ORAC μια πραγματικά πολύ ποιοτική και αξιόπιστη μέθοδο (Huang, 2002).

- **FRAP** (Ferric Reducing Antioxidant Power).

Η FRAP βασίζεται στη μείωση του σιδηρικού (Fe^{3+}) σε σιδηρούχο (Fe^{2+}) κατιόν, το οποίο, σε χαμηλό pH σχηματίζει ένα έγχρωμο (βαθύ μπλε) σύμπλεγμα με το 2,2'-διπυριδυλ- ή 3-(2-πυριδυλ)-5,6-δισ(4-φαινυλ-σουλφονικό οξύ)-1,2,4-τριαζίνη ή άλλα ανάλογα (Benzie, 1996).



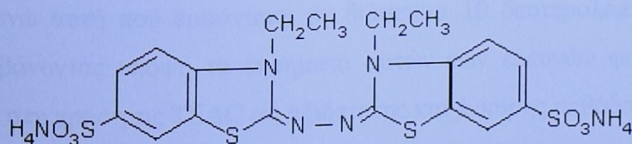
Σχ.3.8: Η δομή της 3-(2-πυριδυλ)-5,6-δισ(4-φαινυλ-σουλφονικό οξύ)-1,2,4-τριαζίνης

Η αντίδραση αυτή είναι μη ειδική. Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω της FRAP διεξάγεται μέσω της σύγκρισης της αλλαγής στην απορρόφηση στα 593nm που εμφανίζουν τα δείγματα με αντιδρώντα μίγματα τα οποία περιέχουν σιδηρούχα κατιόντα σε γνωστές συγκεντρώσεις. Η αντίδραση που λαμβάνει χώρα κατά τη μέθοδο αυτή είναι ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών παραγόντων που χρησιμοποιείται (Iris, 1996). Επίσης, η μέθοδος αυτή αδυνατεί να μετρήσει σημαντικές ποσότητες των πρωτεϊνών του ορού, συμπεριλαμβανομένου και της αλβουμίνης, η οποία θεωρείται ότι παίζει βασικό ρόλο στην αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού (Benzie, 1996). Επομένως, τα οι τιμές που προκύπτουν από τη χρήση της μεθόδου αυτής, υποεκτιμούν την πραγματική αντιοξειδωτική δύναμη του ορού.

Η μέθοδος αυτή αναπτύχθηκε από τις Benzie και Strain το 1996, οι οποίοι διεξήγαγαν μια μελέτη για την ικανότητα στοιχειομετρικών παραγόντων του trolox, τις α-τοκοφερόλης, του ασκορβικού οξέος, του ουρικού οξέος και της χολερυθρίνης να μειώσουν το σιδηρικό κατιόν στο πλάσμα κινέζων ενηλίκων (Benzie και Strain, 1996). Στη συνέχεια, την ενστερνίστηκαν και άλλοι ερευνητές είτε όπως αυτή πρωτοαναπτύχθηκε (Cao, 1998) είτε με μικρές τροποποιήσεις (Pulido, 2000). Η FRAP προσφέρει ένα δείκτη για την αντιοξειδωτική ικανότητα ή, πιο συγκεκριμένα, για την ικανότητα μείωσης του σιδηρικού κατιόντος σε βιολογικά (πλάσμα, ορός αίματος) και άλλα (χυμοί φρούτων, λαχανικών) υγρά και είναι μια εύκολα χρησιμοποιούμενη μέθοδος. Είναι φτηνή, η προετοιμασία των αντιδραστηρίων είναι απλή, τα αποτελέσματα είναι αναπαραγώγιμα και η όλη διαδικασία είναι ταχεία (Iris, 1996, Gil, 2000).

• TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη μείωση της συγκέντρωσης της ρίζας του 2,2'-αζινωδο-(3-εθυλβενζοδιαζολιν-6-σουλφονικού οξέος) (ABTS[•]), που έχει χρώμα μπλε-πράσινο, και το οποίο σχηματίζεται από την επίδραση της υπεροξειδάσης της μετμογλοβίνης του αίματος στο άχρωμο ABTS (Miller, 1993). Το ABTS έχει μέγιστη απορρόφηση κοντά στην υπέρυθη περιοχή (IR), στα 645, 734 και 815nm (Aruoma, 2003).



Σχ. 3.9: Η δομή του 2,2'-αζινωδου-(3-εθυλβενζοδιαζολιν-6-σουλφονικού οξέος) (ABTS)

Η μείωση αυτή προέρχεται από την ικανότητα αντιοξειδωτικών-δοτών πρωτονίων να δεσμεύουν την ABTS[•] ρίζα. Πιο συγκεκριμένα, με την TEAC μετράται ο βαθμός αποχρωματισμού τις ABTS[•] ρίζας από ένα αντιοξειδωτικό-δότη πρωτονίων, το οποίο αντανάκλα την ποσότητα τις ABTS[•] ρίζας που έχει σαρωθεί, μετά από μια προκαθορισμένη χρονική περίοδο (συνήθως 5 ή 6 λεπτά) και τις συγκρίνεται με τον αντίστοιχο που προκαλείται από το trolox.

Η αντίδραση που λαμβάνει χώρα και στην οποία βασίζεται η TEAC μελετήθηκε για πρώτη φορά από τον Marklund το 1979. Ο συγκεκριμένος ερευνητής αξιοποίησε αυτήν την αντίδραση με σκοπό να υπολογίσει την ποσότητα αιμοσφαιρίνης που περιείχαν δείγματα από διάφορους ιστούς. Στη συνέχεια, τις, μεταγενέστεροι ερευνητές στηρίχτηκαν σε αυτήν την αντίδραση προκειμένου να αναπτύξουν μια νέα μέθοδο εκτίμησης τις αντιοξειδωτικής ικανότητας του ανθρώπινου πλάσματος και άλλων βιολογικών υγρών, την TEAC (Miller, 1993). Η TEAC έχει χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση τις αντιοξειδωτικής δράσης φαινολικών συστατικών των χυμών (Gill, 2000), του λαδιού (Pellegrini, 1999), του κόκκινου κρασιού (Chiselli, 1998, Fogliano, 1999) και του πράσινου τσαγιού (Prior και Cao, 1999). Συχνά, η TEAC υιοθετείται από διάφορες έρευνες για να ταξινομηθούν τα αντιοξειδωτικά ανάλογα με την αντιοξειδωτικής τις δράση και για να ερμηνευτούν σχέσεις δομικής δραστηριότητας (SARs). (Mariken, 2003).

Ωστόσο, υπάρχουν ενδείξεις ότι οι εκτιμήσεις της TEAC δε σχετίζονται ακριβώς με την αντιοξειδωτική ικανότητα. Για παράδειγμα, η τιμή για την αντιοξειδωτική δράση τις χρυσίνης που μετρήθηκε μέσω της μεθόδου βρέθηκε σχετικά υψηλή (Mariken, 2003) ενώ η αντίστοιχη από τις περισσότερες άλλες μεθόδους είναι σχετικά χαμηλή (Heijnen, 2001), γεγονός που δείχνει ότι, κατά τη διάρκεια τις αντίδρασης, κάποια άλλα ενδιάμεσα προϊόντα σχηματίζονται, τα οποία πιθανόν αντιδρούν με την ABTS[•] ρίζα. Άλλη έρευνα, η οποία εξέτασε την αντιοξειδωτική δράση τις τυροσίνης στο πλάσμα του σπέρματος 15 ανδρών, στο Άμστερνταμ, επέδειξε ότι η TEAC επηρεάζεται από το χρόνο. Συγκεκριμένα, στην έρευνα αυτή, οι μετρήσεις της υποταυρίνης και της τυροσίνης έδειξαν πολύ σημαντική αντιοξειδωτική ικανότητα των συστατικών αυτών σε χρονική περίοδο 5 λεπτών, ενώ αυτή που εμφάνισαν σε διάστημα 10 δευτερολέπτων ήταν πολύ μικρή (Floris, 2000). Λαμβάνοντας υπόψη τα ευρήματα αυτών των ερευνών φαίνεται πως υπάρχουν σοβαροί περιορισμοί στη χρήση τις TEAC ως αξιόπιστης και έγκυρης μεθόδου για την εκτίμηση τις αντιοξειδωτικής ικανότητας βιολογικών και άλλων υγρών. Στα ίδια συμπεράσματα καταλήγει και άλλη έρευνα, η οποία έκανε σύγκριση τριών μεθόδων, της TEAC, της FRAP και της ORAC ως μεθόδους προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού του ανθρώπινου αίματος. Στη

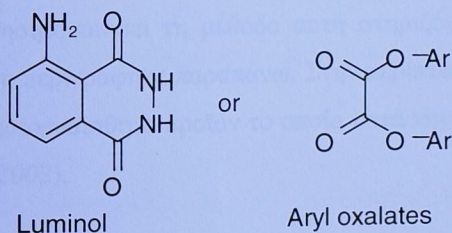
μελέτη αυτή βρέθηκαν υψηλές συσχετίσεις μεταξύ των αποτελεσμάτων από την ORAC και τη FRAP, ενώ η TEAC δεν παρουσίαζε κάποια συσχέτιση με τις δυο προηγούμενες μεθόδους (Cao και Prior, 1998).

• ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ (Chemiluminescence)

Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην ικανότητα παραγωγής φωτός κατά τη διάρκεια αντιδράσεων παρουσία του υπεροξειδίου. Πιο συγκεκριμένα, τα βήματα που ακολουθούνται για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ανθρώπινου πλάσματος είναι τα παρακάτω:

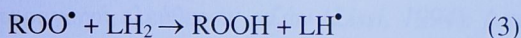
- Οι ελεύθερες ρίζες ενός φωτοευαίσθητου συστατικού και του οξυγόνου παράγονται μέσω υπεριώδους ακτινοβολίας (UV-A) σε μια καθορισμένη συγκέντρωση του πρώτου.
- Η ελεύθερη ρίζα του φωτοευαίσθητου συστατικού αντιδρά με την ελεύθερη ρίζα οξυγόνου ($O_2^{\bullet}$).
- Η παραπάνω αντίδραση οδηγεί, ύστερα από μερικά ενδιάμεσα στάδια στην παραγωγή ενός διεγερμένου από ηλεκτρόνιο συστατικού, ενώ φως παράγεται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης αυτής.
- Ύστερα από την προσθήκη ενός αντιοξειδωτικού συστατικού στο δείγμα, η ένταση του φωτός που παράγεται από την αλυσίδα αντιδράσεων που περιγράφηκε παραπάνω μειώνεται.
- Το ποσοστό της μείωσης που προκλήθηκε αποτελεί το δείκτη μέτρησης της αντιοξειδωτικής αποτελεσματικότητας του δείγματος.

(Popov, 2001)



Σχ. 3.10: Δομές φωτοευαίσθητων συστατικών που αντιδρούν με υπεροξείδια

Ο Lissi *et al.* (1992) περιέγραψε το μηχανισμό της χημειοφωταύγειας λουμινόλης που προκαλείται από την πυρόλυση του 2,2'-αζωδο-(2-αμιδινοπροπάνιο) διυδροχλωρίδιου (ABAP) και συμπέρανε ότι αυτή προέρχεται από φωτοευαίσθητες ρίζες, οι οποίες παράγονται από την αντίδραση με ρίζες υπεροξειδίου:



Ωστόσο, η χρήση της χημειοφωταύγειας ως ιδιότητας ορισμένων χημικών ουσιών για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος του ανθρώπινου αίματος αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1994 (*Lewin, 1994, Popov, 1994*), δυο χρόνια αργότερα.

• **TRAP** (Total Radical-rapping Antioxidative Potential)

Η μέθοδος TRAP αναπτύχθηκε από τον *Wayner et al. (1985)*. Βασίζεται σε μετρήσεις των χρονικών διαστημάτων στα οποία επέρχεται η οξειδωτική καταστροφή ενός λιπιδίου εκτεθειμένου σε μια πηγή παραγωγής ελεύθερων ριζών, με σταθερό και γνωστό ρυθμό παραγωγής, σε αερόβιες συνθήκες. Ο βαθμός της μείωσης αυτών των χρονικών διαστημάτων ύστερα από την προσθήκη μιας αντιοξειδωτικής ουσίας στο δείγμα αποτελεί μέτρο για την εκτίμηση της δράσης της ουσίας.

Ως πηγή ελεύθερων ριζών αρχικά χρησιμοποιήθηκε το 2,2'-αζωδο-(2-αμιδινοπροπανιο) (ABAP), ενώ η μείωση της συγκέντρωσης του οξυγόνου αποτέλεσε ένδειξη του βαθμού οξείδωσης του λιπιδίου. Στη συνέχεια, όμως, η διαδικασία αυτή χρησιμοποιήθηκε με αρκετές τροποποιήσεις από τους ερευνητές, οι οποίοι αξιοποίησαν και άλλες πηγές παραγωγής ελεύθερων ριζών ή/και διαφορετικές τεχνικές ελέγχου το ρυθμό της όλης διαδικασίας (*Uotila, 1992, Whitehead, 1992*). Επιπλέον, έρευνες έχουν χρησιμοποιήσει τη μέθοδο αυτή στηριζόμενες στις βασικές αρχές της χημειοφωταύγειας, όπως αυτή περιγράφηκε παραπάνω. Στην περίπτωση αυτή, ως πηγή παραγωγής ριζών χρησιμοποιείται ένα φωτοευαίσθητο προϊόν το οποίο κατά την οξείδωσή του απελευθερώνει ρίζες υπεροξειδίου (*Natella, 2002*).

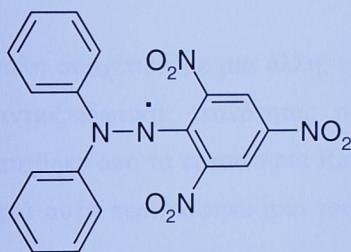
➤ **TAR** (Total Antioxidant Reactivity)

Επέκταση της TRAP αποτελεί η μέθοδος TAR. Μετρά τη δράση του συνόλου των αντιοξειδωτικών που υπάρχουν στο δείγμα. Πιο συγκεκριμένα, υπολογίζεται ως το άθροισμα των γινομένων $k_i \times C_i$, όπου k_i είναι μέτρο της αντιδραστικότητας κάθε συστατικού με αντιοξειδωτική δράση στο δείγμα και C_i η συγκέντρωση καθενός από αυτά στο δείγμα (*Lissi, 1994*).

Η μέθοδος TAR αποτελεί ένα χρήσιμο δείκτη για την εκτίμηση της ικανότητας ενός συστατικού να ρυθμίζει την καταστροφή ενός ανθρώπινου ιστού η οποία καταστροφή σχετίζεται με την παραγωγή ελεύθερων ριζών (Lissi, 1994). Από την άλλη μεριά, οι τιμές που προκύπτουν από την TRAP μπορούν να πληροφορήσουν τόσο για την αντιοξειδωτική δράση ενός ξεχωριστού συστατικού, όσο και για την συνολική ικανότητα ενός ιστού (πχ. πλάσμα αίματος) να περιορίζει τις αλυσιδωτές αντιδράσεις που περιέχουν ελεύθερες ρίζες (Cabrini, 2001).

- **DPPH** (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl)

Το 2,2-διφαινυλ-1-πικρυλ-υδραζύλιο (DPPH) είναι μια σταθερή ρίζα.



Σχ. 3.11: Η δομή της ρίζας του 2,2-διφαινυλ-1-πικρυλ- υδραζυλίου (DPPH)

Τα αντιοξειδωτικά έχουν την ικανότητα να σαρώνουν αυτήν την ρίζα όταν συνυπάρχουν.. Στην ιδιότητα αυτή των αντιοξειδωτικών ουσιών βασίζεται η μέθοδος DPPH. Συγκεκριμένα, μετρώνται οι αλλαγές της απορρόφησης στα 515nm (Singh, 2001). Η ικανότητα των εξεταζόμενων αντιοξειδωτικών να σαρώνουν τις ρίζες, όταν αυτή μετράται μέσω της συγκεκριμένης μεθόδου, εκφράζεται ως ποσοστό:

Radical Scavenging Activity, RSA

$$\% \text{ RSA} = (\text{control OD} - \text{sample OD} / \text{control OD}) \times 100,$$

όπου RSA είναι η ικανότητα της αντιοξειδωτικής ουσίας να σαρώνει τη ρίζα, control OD είναι η συγκέντρωση της ρίζας που χρησιμοποιείται στο πρότυπο διάλυμα και sample OD η συγκέντρωση της ρίζας που υπάρχει στο δείγμα (Goristein, 2002).

Η μέθοδος DPPH είναι μια ειδική δοκιμασία (Leontowicz, 2003) και έχει χρησιμοποιηθεί από διάφορους ερευνητές για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας πολυφαινολικών συστατικών στο πλάσμα του αίματος ύστερα από την κατανάλωση ελαιοκάρπων (Goristein, 2002), αλλά και καρπών από φρούτα (Singh, 2001).

- **TAC (Total Antioxidant Capacity)**

Η εν λόγω μέθοδος αναπτύχθηκε, αρχικά, για την εκτίμηση της συνολικής αντιοξειδωτικής δράσης του πλάσματος του ανθρώπινου αίματος (Kampa, 2002). Βασίζεται στη μέθοδο *Carotenoid (crocin) Bleaching* και μετρά την αναστολή, από τις ολικές αντιοξειδωτικές ουσίες του πλάσματος, της οξείδωσης (bleaching) των καροτενοειδών (κροκίνη) από το 2,2'-αζωδο-(2-αμιδινοπροπάνιο)-διυδροχλωρίδιο (ABAP). Η ABAP απορροφά στα 450nm και οι τιμές της TAC προκύπτουν ως εξής:

$$100 \times (Abs_0 - Abs_{sample}) / Abs_0,$$

όπου Abs_0 είναι η απορρόφηση απουσία αντιοξειδωτικών και Abs_{sample} η απορρόφηση του δείγματος, το οποίο περιέχει αντιοξειδωτικά.

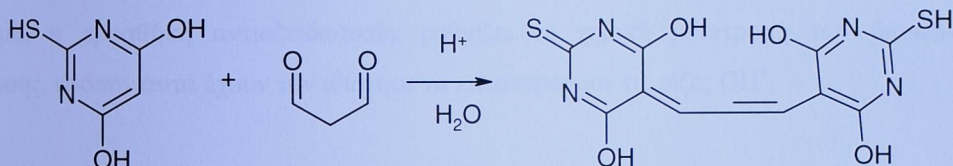
Η μέθοδος TAC παρουσιάζει μεγάλη συσχέτιση με μια άλλη, υψηλά αυτοματοποιημένη μέθοδο, για την εκτίμηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος, την TAS (Total Antioxidant Status). Η TAS αναπτύχθηκε από τα εργαστήρια Randox (Antrim, UK) και βασίζεται στις αρχές της TEAC, όπως αρχικά αυτή περιγράφηκε από τους Miller *et al* (1993) και Rice – Evans (1996).

Όπως έχει αναφερθεί από τον Prior *et al* (1999), διάφοροι μεταβολίτες αλληλεπιδρούν σε όλες τις έμμεσες μεθόδους προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης του πλάσματος. Όσον αφορά στην TAC, υπάρχουν ενδείξεις ότι η δοκιμασία αυτή μπορεί να υπολογίσει, με επιτυχία, όχι μόνο την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος, αλλά και την ξεχωριστή επίδραση τόσο των ενδογενών (π.χ. Ουρικό οξύ, αλβουμίνη, λιποπρωτεΐνες, ασκορβικό, χολερυθρίνη) όσο και των εξωγενών (διατροφή) παραγόντων (Kampa, 2002). Επομένως, πρόκειται για μια μέθοδο πλήρως αυτοματοποιημένη, σταθερή και έγκυρη η οποία μπορεί να εκτιμήσει με αξιοπιστία και την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος του ανθρώπινου αίματος, αλλά και την αντιοξειδωτική δράση διαφόρων ειδών τροφίμων και αφεψημάτων, με πιθανό ή εξακριβωμένο ρόλο στην ανθρώπινη υγεία.

- **Μέθοδος των Ενεργών Ουσιών του Θειοβαρβιτουρικού Οξέος (Thiobarbituric Acid Reactive Substances, TBARS - assay):**

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για την εκτίμηση του επιπέδου οξείδωσης των λιπιδίων στο αίμα. Βασίζεται στην παραγωγή ενεργών ουσιών που προκύπτουν από αντίδραση των αλδευδών (προϊόντα της διάσπασης των υδροϋπεροξειδίων) με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (Thiobarbituric Acid Reactive Substances, TBARS). Οι ουσίες αυτές απορροφούν στα 532nm. Επίσης, μπορεί να

μετρηθεί ο φθορισμός των παραπάνω ουσιών σε αυτό το μήκος κύματος. Όσο μεγαλύτερη είναι η ποσότητα των TBARS που παράγεται, τόσο μεγαλύτερη είναι η απορρόφηση ή ο φθορισμός στα 532nm (Ahn, 2001). Επομένως, η προσθήκη ενός αντιοξειδωτικού στο δείγμα θα οδηγήσει σε μείωση της απορρόφησης ή του φθορισμού, ανάλογα με την αντίστοιχη δράση του συστατικού που προστίθεται. Στο παρακάτω σχήμα παρουσιάζεται η αντίδραση που οδηγεί στο σχηματισμό των TBARS:



Σχ. 3.12: Αντίδραση παραγωγής των TBARS

Εκτός από αυτές τις μεθόδους που περιγράφηκαν παραπάνω, πολλές άλλες αναφέρονται στη βιβλιογραφία, οι οποίες είτε ακολουθούν κάποια ξεχωριστή τεχνική, είτε στηρίζονται στις βασικές αρχές κάποιας από τις παραπάνω. Ωστόσο, πρόκειται για πιο εξειδικευμένες μεθόδους και για το λόγο αυτό δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ευρέως. Παρακάτω, αναφέρονται ενδεικτικά μερικές από αυτές:

❖ Trichloromethyl Peroxyl Radical ($\text{CCL}_3\text{O}_2^\bullet$):

Πρόκειται για μια λιποδιαλυτή ρίζα, η οποία παράγεται από ένα υγρό μίγμα προπανο-2-όλης και τετραχλωράνθρακα (CCl_4) που εκτίθεται σε ακτινοβολία. Για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας ενός συστατικού μετράται η ικανότητά του να αντιδρά με αυτήν τη ρίζα (Aruoma, 1995, Hill, 1995).

❖ Deoxyribose assay:

Η μέθοδος αυτή επιτρέπει τον υπολογισμό του βαθμού με τον οποίο κάποια συστατικά αντιδρούν με ρίζες υδροξυλίου ($\text{OH}^\bullet$), την εκτίμηση των ικανοτήτων τους να επηρεάζουν την προ-οξειδωτική δράση και να δεσμεύουν μεταλλικά ιόντα (Halliwell, 1987, Aruoma, 1994).

❖ Μέθοδοι που περιλαμβάνουν την οξειδωτική καταστροφή του DNA:

Οι μέθοδοι αυτές παρουσιάζονται ως νέες μέθοδοι για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης ενός συστήματος (Aruoma, 1999). Στηρίζονται στο γεγονός ότι μηχανισμοί που περιλαμβάνουν το σύστημα Fenton, η ιονίζουσα ακτινοβολία και η πυρηνική δραστηριότητα έχουν αποδειχτεί να

επιρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την καταστροφή του DNA που λαμβάνει χώρα στον οργανισμό (Aruoma, 1998). Η ανάμιξη τμήματος DNA με ένα σύστημα που παράγει ρίζες υδροξυλίου ($\text{OH}^\bullet$) αυξάνει το χημικό μετασχηματισμό των βάσεων, με τέτοιο τρόπο που είναι χαρακτηριστικός των ριζών $\text{OH}^\bullet$. Για παράδειγμα, σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε, η *in vitro* ανάμιξη του DNA με τριθενή σίδηρο (Fe^{3+})-EDTA, ασκορβικό και υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) οδήγησε σε σημαντική αύξηση των ποσοτήτων των τροποποιημένων, από οξείδωση, βάσεων. Αυτή η αύξηση είναι χαρακτηριστική της προσβολής του συστήματος από $\text{OH}^\bullet$ (Aruoma, 1989). Σε ένα τέτοιο σύστημα, η προσθήκη αντιοξειδωτικών ρυθμίζει τη χημική μετατροπή των βάσεων λόγω οξείδωσης, εφόσον αυτά έχουν την ιδιότητα να καταστρέφουν τις ρίζες $\text{OH}^\bullet$.

❖ Total Oxidant Scavenging Capacity (TOSC):

Η βασική αρχή της μεθόδου είναι η εξής: Οι υπεροξειδικές ρίζες που παράγονται από τη θερμική αποσύνθεση της ABAP μπορούν να προκαλέσουν την οξείδωση του α -κετο- γ -μεθιολβουτυρικού οξέος (KMBA) σε αιθυλένιο. Τα αντιοξειδωτικά ανταγωνίζονται το KMBA για τις υπεροξειδικές ρίζες και, με τον τρόπο αυτόν, αναστέλλουν το σχηματισμό του αιθυλενίου (Winston, 1998).

❖ Tocopheroxyl Radical Attenuating Ability (TRAA):

Η μέθοδος αυτή είναι παρόμοια με την αντίστοιχη που περιλαμβάνει τη ρίζα $\text{CCL}_3\text{O}_2^\bullet$. Βασίζεται στην ικανότητα των αντιοξειδωτικών να μειώνουν τις α -τοκοφεροξυλικές ρίζες, οι οποίες παράγονται από την έκθεση του δείγματος στην υπεριώδη ακτινοβολία (Witting, 1997).

Συνολπική παρουσάση μερικών ερευνών σχετικών με την αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος ή του ορού:

Σε αυτήν την ενότητα γίνεται μια συνολπική παρουσάση μερικών από τις έρευνες που έχουν παρματοποιηθεί τα τελευταία χρόνια (1998 - 2004) και οι οποίες έχουν μελετήσει την αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος (και του ορού, σε μερικές περιπτώσεις), μέσω των διαφόρων μεθόδων, όπως αυτές περιγράφηκαν παραπάνω.

ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΕΣ	ΗΛΙΚΙΑ (έτη)	ΔΙΑΙΤΑ-ΣΥΣΤΑΤΙΚΟ	ΜΕΘΟΔΟΣ	ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΚΑΝΟΤΗΤΑ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ Ή ΟΡΟΥ	ΑΝΑΦΟΡΑ
27 άνδρες, μη καπνίζοντες, φυσιολογικού σωματικού βάρους	ενήλικες	2 χυμοί πλούσιοι σε πολυφαινόλες (330 mg/ημ) για 2 εβδο.	FRAP (μmol/l) TBARS (μmol/l)	922,5 (-) (ρ = 0,07) 0,76 (↓) (ρ = 0,03)	Bub, 2003
αρουραίοι		Εκχυλίσματα από φλοιό μήλου/αχλαδιού	DPPH (%) NO-test (%) β-carotene(%)	87,9 (μήλο)/53,6 (αχλάδι) 82,2 (») / 66,0 (») 88,6 (») / 65,3 (»)	Leontowich, 2003
25 υγιείς άνδρες	ενήλικες	Δ/μα μελιού με νερό (500 ml)	ORAC (mmol/l) TBARS (μmol/l)	0,94 (↑) (ρ < 0,05) 1,55 (-) (ρ < 0,05)	Gheldof, 2003
6 γυναίκες	60 - 71	Βατόμουρα, 189 g	ORAC (mmol/l)	1,807 (↑) (ρ < 0,05)	Prior, 2003
Δείγματα αίματος από 31 γυναίκες & 14 άνδρες (45 συνολικά) υγιείς	71 ± 1,2	-	ORAC (mmol/l) FRAP (mmol/l) TEAC (mmol/l)	3,60 (ρ < 0,01) 0,42 (ρ < 0,01) 1,37 (ρ < 0,01)	Cao και Prior, 1998
είγματα αίματος από 28 άνδρες & 12 γυναίκες, υγιείς, κάτοικοι Ηρακλείου Κρήτης	21 - 52	Έλεγχος επίδρασης ενδογενών παραγόντων (αλβουμίνη, ασκορβικό χολερυθρίνη, ουρικό οξύ)	TAC (mmol/l)	↑ 0,07/mg/dl ascorbate (ρ < 0,0001) ↑ 0,14/mg/dl χολερυθρίνης (ρ < 0,0001) ↑ 0,01/mg/dl αλβουμίνης (ρ < 0,004) ↑ 0,11/mg/dl ουρικού οξέος	Kampa, 2002

ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΕΣ	ΗΛΙΚΙΑ (έτη)	ΔΙΑΙΤΑ-ΣΥΣΤΑΤΙΚΟ	ΜΕΘΟΔΟΣ	ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΚΑΝΟΤΗΤΑ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ (%) ΟΡΟΥ	ΑΝΑΦΟΡΑ
10 συμμετέχοντες (δεν αναφέρονται περισσότερα στοιχεία)		Καφέ (60 g/l νερού) Εκχύλισμα τσαγιού (20 g/l νερού)	TRAP (mM ROO ισοδ.)	1,51 (↑), 2 ώρες μετά καφέ ($p < 0,05$) 1,52 (-), 2 ώρες μετά τσάι 1,44 (↑), μετά καφέ 1,42 (↑), μετά τσάι ($p < 0,05$)	Natella, 2002
9 νεαρές γυναίκες & 9 νεαροί άνδρες, υγιείς, από τη φυλή της Νέας Αγγλίας	20 - 40	Δίαιτα πλούσια σε φρούτα & λαχανικά:			
9 ηλικιωμένες γυναίκες & 9 ηλικιωμένοι άνδρες, υγιείς, από τη φυλή της Νέας Αγγλίας	60 - 80	(α) 10 μερίδες/ημ., για 15 ημέρες (β) 12 μερίδες/ημ., για 6 - 10 ημ.	ORAC (mmol ισοδυν. Trolox)	Νέοι άνδρες: 635,3 Ηλικιωμένοι άνδρες: 612,7 Νέες γυναίκες: 545,8 Ηλικιωμένες γυναίκες: 587, ($p < 0,001$)	Cao, 1998
3 υγιή άτομα (13 γυναίκες & 1 άνδρας / 19 λευκοί, 1 αфроαμερικανός, 2 αμερικανασιάτες, 1 ισπανοαμερικανός)	21 - 62	Δύο δίαιτες: AAD → τυπική δίαιτα αμερικανών CP-DC → AAD + 22 g κακάο & 1 g σκούρας σοκολάτας (≈ 466 mg προκυανιδίνες/ημ)	ORAC (μmol Trolox/l)	• AAD: 298,8 • CP-DC: 311,3 ↑ 4,6% μετά την CP-DC δίαιτα ($p = 0,04$)	Wan, 2001
3 ομάδες αρουραίων		gr χοληστερόλης/kg, για 5 εβδο. (& 3 ομάδες) 1 ^η ομάδα → δίαιτα ↑ σε choliTBARS (μmol/l) 2 ^η ομάδα, 1g ρουτίνης 3 ^η ομάδα 1g ταννικού οξέος/kg	choliTBARS (μmol/l)	• 1 ^η ομάδα: 13,29 • 2 ^η ομάδα: 10,82 • 3 ^η ομάδα: 10,98 ($p < 0,05$)	Park, 2002

Πιν. 3.1: Παρουσίαση ερευνών κατά τις οποίες εκτιμήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος με τη χρήση διαφόρων μεθόδων

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο:

4.1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ:

Όπως ήδη επισημάνθηκε στα προηγούμενα κεφάλαια, οι διάφορες αντιοξειδωτικές ουσίες, ενδογενείς και εξωγενείς, σχετίζονται άμεσα με την υγεία. Η άμυνα που προσφέρουν στον οργανισμό εναντίον του οξειδωτικού στρες, πολλές φορές οδηγεί στην πρόληψη της εκδήλωσης κάποιων παθήσεων που χαρακτηρίζονται από οξειδωτική καταστροφή κυττάρων και ιστών, όπως είναι τα καρδιαγγειακά νοσήματα, διάφοροι τύποι καρκίνου, ο σακχαρώδης διαβήτης, η ρευματοειδής αρθρίτιδα και νοσήματα που σχετίζονται με νευρολογικές δυσλειτουργίες. Όπως ήδη αναφέρθηκε στα προηγούμενα κεφάλαια, η προστατευτική δράση που ασκούν έχει αποδειχτεί σε μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί *in vitro*. Ιδιαίτερα έχει μελετηθεί η επίδραση των φυσικών αντιοξειδωτικών, δηλαδή των αντιοξειδωτικών συστατικών της τροφής, όχι μόνο εργαστηριακά, αλλά και επιδημιολογικά, στην πρόληψη των παραπάνω ασθενειών.

Το γεγονός ότι τα καρδιαγγειακά νοσήματα και ο καρκίνος αποτελούν τις δυο κύριες αιτίες θανάτου στον κόσμο – το 1997, στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (ΗΠΑ), τα καρδιαγγειακά νοσήματα ευθύνονταν για το 31% των θανάτων και ο καρκίνος για το 23% (Weisburger, 2000) – έστρεψε το κύριο ενδιαφέρον των επιστημόνων στη μελέτη του προστατευτικού ρόλου που μπορεί να έχουν τα αντιοξειδωτικά συστατικά της διατροφής για τις δυο αυτές κατηγορίες ασθενειών. Τα δεδομένα που υπάρχουν από έρευνες για τη συμβολή της πλούσιας σε αντιοξειδωτικά διαίτας για άλλες χρόνιες παθήσεις είναι αντικρουόμενα (Tsai, 1995, Reaven, 1995, Brown, 1999, Jacques, 2001). Από την άλλη μεριά, στατιστικά δεδομένα για την επίπτωση ή τη θνησιμότητα από καρκίνο (Grenlee, 2000) και καρδιαγγειακά στις διάφορες χώρες του κόσμου δείχνουν ότι υπάρχει άνιση κατανομή. Έτσι, έχει βρεθεί ότι οι μεσογειακές χώρες εμφανίζουν μειωμένη επίπτωση νεοπλασμάτων, σχετικών με τη διατροφή, (καρκίνος στο κόλον, στο μαστό, στον προστάτη, στο πάγκρεας) και καρδιαγγειακών νοσημάτων σε σχέση με τις ΒΔ χώρες της Ευρώπης και τις ΗΠΑ (Powles, 1996, La Vecchia, 1998). Η παραδοσιακή μεσογειακή διαίτα είναι πλούσια σε φρούτα, λαχανικά και σε ελαιόλαδο (μονοακόρεστο λίπος), τρόφιμα τα οποία είναι καλές πηγές αντιοξειδωτικών ουσιών (βιταμίνη C, βιταμίνη E, σελήνιο, καροτενοειδή, πολυφαινόλες, κ.τ.λ.) (βλέπε κεφάλαιο 1.2). Επομένως, έχει θεωρηθεί πως τα συστατικά αυτά μπορεί να ευθύνονται για την προστατευτική επίδραση των τροφίμων που απαρτίζουν τη μεσογειακή διαίτα. Επιπλέον, έχει μελετηθεί ο ρόλος της κατανάλωσης τσαγιού και κρασιού, ροφήματα πλούσια σε πολυφαινόλικα συστατικά, στην πρόληψη ασθενειών, κυρίως του καρκίνου και της στεφανιαίας νόσου, σε διάφορους πληθυσμούς.

Παρακάτω, παρουσιάζονται κάποιες πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες σχετικές με την πρόληψη αντιοξειδωτικών και τις συνέπειές τους στην υγεία ολόκληρων πληθυσμών:

- Οι Rissanen *et al.* (2002), στην προσπάθειά τους να εκτιμήσουν την επίδραση της κατανάλωσης φρούτων, κυρίως μούρων, και λαχανικών στη θνησιμότητα από καρδιαγγειακά και μη καρδιαγγειακά νοσήματα, πραγματοποίησαν έρευνα, στην οποία συμμετείχαν άνδρες ηλικίας 42–60 ετών. Οι εθελοντές αποτελούσαν δείγμα από την προοπτική μελέτη Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD), την περίοδο 1984–1989 (Salonen, 1988). Για την εκτίμηση της θνησιμότητας από τα καρδιαγγειακά συμμετείχαν 1950 άνδρες (115 περιστατικά), ενώ για την εκτίμηση του κινδύνου και της θνησιμότητας από μη καρδιαγγειακά νοσήματα συμμετείχαν 2641 άνδρες (485 και 245 περιστατικά, αντίστοιχα). Η εκτίμηση της διαιτητικής πρόσληψης έγινε μέσω καταγραφής ενός 4ήμερου ημερολογίου καταγραφής τροφίμων, ενώ λήφθηκε ιατρικό και οικογενειακό ιστορικό και πραγματοποιήθηκαν αιματολογικές εξετάσεις. Μεταξύ των παραμέτρων που εξετάστηκαν ήταν και η συσχέτιση μεταξύ ηλικίας, καπνίσματος, κατανάλωσης αλκοόλ, συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, HDL και LDL ορού, επίπεδα τριγλυκεριδίων, Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) και πρόσληψης βιταμίνης C, βιταμίνης E, β -καροτενίου, λυκοπενίου, φυτικών ινών και φυλλικού οξέος. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε μέσω SPSS. Τέλος, η συσχέτιση μεταξύ των παραγόντων κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο και της διαιτητικής πρόσληψης φρούτων, μούρων και λαχανικών εκτιμήθηκε με τους συντελεστές συσχέτισης Pearson. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι στο χρονικό διάστημα των 12,8 χρόνων, η θνησιμότητα από όλες τις αιτίες ήταν η χαμηλότερη σε αυτούς που εμφάνιζαν την υψηλότερη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών. Επίσης, η προστασία που άσκησαν τα διάφορα αντιοξειδωτικά εναντίον της θνησιμότητας από όλες τις αιτίες και της θνησιμότητας από καρδιαγγειακά νοσήματα ήταν 10,4% και 19,4% για τη βιταμίνη C, 5,6% και 22,6% για το λυκοπένιο, 5,3% και 14,6% για τη βιταμίνη E, 6,5% και 14,6% για το φυλλικό οξύ, αντίστοιχα. Η συνολική προστατευτική δράση των θρεπτικών αυτών συστατικών ήταν 28%, ενώ η αυτή της βιταμίνης E, της βιταμίνης C και του φυλλικού οξέος εναντίον της θνησιμότητας από καρδιαγγειακά ήταν 36%. Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών σχετίζεται στενά με μειωμένο κίνδυνο θανάτου από όλες τις αιτίες και, ειδικά, από καρδιαγγειακά νοσήματα σε μεσήλικες άνδρες, ενώ τα συγκεκριμένα συστατικά, τα οποία εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση, φαίνεται να παίζουν πρωταρχικό ρόλο για την προστατευτική επίδραση των φρούτων και των λαχανικών.
- Οι Iwig *et al.* (2002) λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι οι τοκοφερόλες και τα καροτενοειδή μπορεί να παίζουν κάποιο ρόλο στην πρόληψη του καρκίνου και των καρδιαγγειακών νοσημάτων,

ή ανάπτυξη των οποίων είναι πιθανό να ξεκινά, ήδη, από την εφηβική ηλικία, πραγματοποίησαν έρευνα στην οποία μελέτησαν τα επίπεδα των καροτενοειδών και τοκοφερολών στο πλάσμα εφήβων. Πιο συγκεκριμένα, στην έρευνα έλαβαν μέρος 159 έφηβοι, 81 αγόρια και 78 κορίτσια (μέση ηλικία $15,5 \pm 2,5$ έτη) που ζούσαν στην Costa Rica. Στη χώρα αυτή, όπως και σε άλλες χώρες της Λατινικής Αμερικής, ο καρκίνος και τα καρδιαγγειακά νοσήματα συχνότερες αιτίες θανάτου. Το δείγμα επιλέχθηκε τυχαία. Οι γονείς αυτών των ατόμων είχαν συμμετάσχει σε μια μελέτη ασθενών – μαρτύρων για το έμφραγμα του μυοκαρδίου (Campos, 2000). Για την εκτίμηση της διαιτητικής πρόσληψης χρησιμοποιήθηκε ένα ημιποσοτικοποιημένο ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (Food-Frequency Questionnaire, FFQ) 135-ερωτήσεων, από τις οποίες 15 αναφέρονταν στην κατανάλωση φρούτων και 28 στην κατανάλωση λαχανικών. Έγινε συλλογή δειγμάτων αίματος και μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις α - και γ -τοκοφερόλης, α - και β -καροτενίου, λυκοπενίου, β -κρυπτοξανθίνης, λουτεΐνης και ζεαξανθίνης, καθώς και χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων πλάσματος. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε μέσω του προγράμματος SAS, ενώ για τις συσχετίσεις μεταξύ καροτενοειδών πλάσματος και του αριθμού ατομικών μερίδων φρούτων και λαχανικών και τοκοφερόλης πλάσματος και τύπου ελαίου που χρησιμοποιείται στο μαγείρεμα χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης Partial Spearman. Με την ίδια μέθοδο εξετάστηκε η συσχέτιση μεταξύ των παραπάνω καροτενοειδών και τοκοφερολών με την ηλικία, το φύλο και το ΔΜΣ. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα των εφήβων ακολουθούσαν τη φθίνουσα σειρά: λυκοπένιο > β -καροτένιο > λουτεΐνη + ζεαξανθίνη > α -καροτένιο > β -κρυπτοξανθίνη και γ -τοκοφερόλη > α -τοκοφερόλη. Οι συγκεντρώσεις των καροτενοειδών στο πλάσμα ήταν ανάλογες των της διαιτητικής πρόσληψης, με την β -κρυπτοξανθίνη να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη συσχέτιση. Όσον αφορά στη συσχέτιση μεταξύ φύλου, ηλικίας και ΔΜΣ με τα καροτενοειδή και τις τοκοφερόλες, οι αντίστοιχες τιμές ήταν 0,38 για την β -κρυπτοξανθίνη, 0,33 για τη γ -τοκοφερόλη, 0,17 για τη λουτεΐνη + ζεαξανθίνη. Όλες οι άλλες συσχετίσεις ήταν μικρότερες από 0,15. Γενικότερα, η συσχέτιση μεταξύ διαίτας και πλάσματος ήταν χαμηλή για τα διάφορα συστατικά που μελετήθηκαν. Ωστόσο, υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των συμμετεχόντων, από 0,05 για την α -τοκοφερόλη μέχρι 0,38 για τη β -κρυπτοξανθίνη. Επίσης, η παπάγια φάνηκε να έχει την καλύτερη συσχέτιση με τη συγκέντρωση της β -κρυπτοξανθίνης και των άλλων καροτενοειδών στο πλάσμα, παρέχοντας μια ιδιαίτερα καλή εναλλακτική πηγή πρόσληψης καροτενοειδών για χώρες της Λατινικής Αμερικής, όπου το φρούτο αυτό είναι φτηνό.

- Οι Ford *et al.* (2002) εξέτασαν τις συσχετίσεις μεταξύ της συγκέντρωσης των καροτενοειδών στον ορό αίματος παιδιών και εφήβων των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής (ΗΠΑ) και της ηλικίας, του φύλου, της φυλής ή της εθνικότητας, του οικονομικού επιπέδου, του ΔΜΣ, της HDL- και μη

HDL-χοληστερόλης ορού, της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, της χρήσης συμπληρώματος, της φυσικής δραστηριότητας, της πρόσληψης φρούτων και λαχανικών. Το δείγμα της έρευνας αποτέλεσαν 3828 άτομα ηλικίας 6–16 ετών που ζούσαν στις ΗΠΑ. Δεδομένα χρησιμοποιήθηκαν από την τρίτη National Health Nutrition Examination Survey (1988-1994), μια μελέτη επιπολασμού. Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το πρόγραμμα SUDAAN, ενώ για τις συσχετίσεις χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής t-test. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα αγόρια παρουσίαζαν ελαφρά υψηλότερα επίπεδα καροτενοειδών ορού από τις αντίστοιχες των κοροτσιών. Η ηλικία και ο ΔΜΣ σχετιζόνταν αρνητικά με τα επίπεδα των καροτενοειδών ($p < 0,001$). Εξαίρεση αποτελούσε το λυκοπένιο ($\rho = 0,584$). Την υψηλότερη συγκέντρωση καροτενοειδών είχαν οι Αφροαμερικανοί, ενώ οι λευκοί είχαν τη χαμηλότερη ($p < 0,001$). Από το σύνολο του δείγματος εξετάστηκαν 2554 άτομα, τα οποία δεν εμφάνιζαν πιθανότητα ενεργούς φλεγμονής, για τη συσχέτιση μεταξύ καροτενοειδών και C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, η οποία ήταν αρνητική για το β -καροτένιο, τη λουτεΐνη, τη ζεαξανθίνη και το λυκοπένιο ($p < 0,001$). Από όλες τις παραμέτρους που μελετήθηκαν, μόνο η HDL- και μη HDL-χοληστερόλη σχετιζόταν θετικά με όλα τα καροτενοειδή. Τέλος, μελετήθηκε η συσχέτιση μεταξύ πρόσληψης φρούτων και λαχανικών (πηγές καροτενοειδών) και της συγκέντρωσης των καροτενοειδών στο πλάσμα. Η συσχέτιση ήταν θετική για όλα τα καροτενοειδή (0,00532 για το α -καροτένιο, $p = 0,007$, 0,00469 για το β -καροτένιο, $p < 0,001$, 0,00496 για τη β -κρυπτοξανθίνη, $p < 0,001$, 0,00304 για τη ζεαξανθίνη και τη λουτεΐνη, $p < 0,001$) εκτός από το λυκοπένιο ($-0,0032$, $p = 0,667$). Από τα παραπάνω, φάνηκε ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις καροτενοειδών του ορού μεταξύ των παιδιών και εφήβων των ΗΠΑ, οι οποίες είναι πιθανό να αντανακλούν και την ποικιλομορφία αυτών ως προς το γενετικό υπόβαθρο, την εθνικότητα, τον τρόπο ζωής, συμπεριλαμβανομένου των διατροφικών συνηθειών και του κοινωνικοοικονομικού επιπέδου. Επιπλέον, αν και δεν έχει μελετηθεί η σημασία επαρκών σωματικών αποθηκών καροτενοειδών σε παιδιά και εφήβους, στους ενήλικες ανεπαρκής πρόσληψη ή συγκέντρωση καροτενοειδών έχει συνδεθεί με αυξημένη θνησιμότητα και κίνδυνο από διάφορες χρόνιες παθήσεις. Πολλές από αυτές έχουν τις ρίζες τους στην παιδική ηλικία. Επομένως, είναι λογικό να υποτεθεί ότι η επαρκής πρόσληψη καροτενοειδών σε αυτήν την ηλικία, που επιτυγχάνεται, κυρίως, με την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, μπορεί να προάγει την υγεία στην ενήλικη ζωή.

- Οι Liu *et al.* (2001) σε μια προοπτική μελέτη εξέτασαν την επίδραση της κατανάλωσης λαχανικών (πλούσιων σε καροτενοειδή) και του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου (Coronary Heart Disease, CHD). το δείγμα αποτελούταν από 15220 άνδρες ιατρούς ηλικίας 40–84 ετών, οι οποίοι είχαν συμμετάσχει στην τυχαιοποιημένη μελέτη Physicians' Health Study, κατά την οποία είχε εξεταστεί ο ρόλος της ασπιρίνης και του β -καροτενίου στην πρόληψη της ΣΝ και του

καρκίνου. Δεδομένα για την παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκαν από την παραπάνω μελέτη. Η εκτίμηση της καταναλούμενης ποσότητας λαχανικών έγινε με τη συμπλήρωση ενός ημιποσοτικοποιημένου FFQ, κατά την έναρξη της μελέτης και κατά το 2ο, 4ο και 6ο χρόνο παρακολούθησης των εθελοντών. Επίσης, κατά το χρονικό αυτό διάστημα, γινόταν εκτίμηση της θνησιμότητας, θνητότητας από κάποιο καρδιακό επεισόδιο. Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο Cox Proportional-Hazards. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ξεκάθαρα την ισχυρή αρνητική συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης λαχανικών και του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου, σε όλες τις ομάδες. Έτσι, ο σχετικός κίνδυνος (RR) στους άνδρες που κατανάλωναν τουλάχιστον 2,5 μερίδες λαχανικών/ημέρα ήταν $RR=0,77$ και $0,83$ για κάθε προστιθέμενη μερίδα λαχανικού. Μάλιστα, η αρνητική αυτή συσχέτιση ήταν περισσότερο εμφανής μεταξύ των ατόμων με $\Delta MΣ \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ($RR=0,71$) και των καπνιστών ($RR=0,40$). Από τα παραπάνω, φάνηκε ότι υψηλότερη πρόσληψη λαχανικών στο συγκεκριμένο πληθυσμό σχετίστηκε με χαμηλότερο κίνδυνο εκδήλωσης CHD, ανεξάρτητα από τους ήδη υπάρχοντες παράγοντες κινδύνου.

- Σε μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων, οι Kolonel *et al.* (2000) μελέτησαν την επίδραση της κατανάλωσης φρούτων, λαχανικών και οσπρίων στην πρόληψη του καρκίνου του προστάτη. Το δείγμα αποτέλεσαν 3237 άτομα (1618 ασθενείς και 1619 μάρτυρες), ηλικίας >65 ετών, διαφόρων εθνικοτήτων (Αφροαμερικανοί, Ιάπωνες, Κινέζοι, κάτοικοι της Χαβάης, του Σαν Φραντζίσκο, του Λος Άντζελες, της Κολούμπια και του Καναδά). Οι εθελοντές κλήθηκαν να απαντήσουν σε ένα ερωτηματολόγιο, το οποίο περιελάμβανε ερωτήσεις για δημογραφικές πληροφορίες, για τη διαίτα, το μέγεθος σώματος, τη φυσική δραστηριότητα και ερωτήσεις σχετικές με το ιατρικό ιστορικό. Η αναφερόμενη περίοδος για το περιεχόμενο των ερωτήσεων ήταν ο χρόνος πριν τη διάγνωση ή την εμφάνιση των συμπτωμάτων, για τους ασθενείς, και πριν τη συνέντευξη για του μάρτυρες. Οι ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν ανάλογα με το στάδιο και το βαθμό της ασθένειας, ενώ οι μάρτυρες σύμφωνα με την πιθανότητα να αναπτύξουν κρυφό κακοήγη προστάτη, από τα επίπεδα του ειδικού αντιγόνου του προστάτη (Prostate-Specific Antigen, PSA) που βρέθηκε ότι είχαν, μετά από ανάλυση δειγμάτων αίματος. Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε μέσω του προγράμματος SAS, ενώ οι συσχετίσεις που βρέθηκαν προσαρμόστηκαν στην ηλικία, την εθνικότητα, την εκπαίδευση και την ενεργειακή πρόσληψη. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι μάρτυρες είχαν μεγαλύτερη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών από τους ασθενείς, εκτός από τους Κινέζους. Επίσης, η υψηλή συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης κορεσμένου λίπους και καρκίνου του προστάτη που είχε βρεθεί σε προηγούμενη αναφορά της ίδιας ομάδας ερευνητών (Whittemore, 1995), παρέμεινε ίδια και σε αυτήν τη μελέτη. Όσον αφορά στη συσχέτιση μεταξύ κατανάλωσης λαχανικών, φρούτων και κινδύνου ανάπτυξης προστάτη, βρέθηκε στατιστικά

σημαντική αρνητική σχέση μεταξύ κραμβοειδών λαχανικών και προστάτη ($p=0,02$), αλλά το ίδιο ίσχυε και για όλα τα λαχανικά ($p=0,04$). Επίσης, εξετάστηκε, ξεχωριστά, η επίδραση της κατανάλωσης τομάτας, γιατί αποτελεί μοναδική πηγή λυκοπενίου. Ωστόσο, δε βρέθηκε να έχει κάποιο προστατευτικό αποτέλεσμα. Όταν εξετάστηκε η επίδραση των οσπρίων (πλούσιες φυτοοιστρογόνων, συμπεριλαμβανομένου των ισοφλαβονοειδών), βρέθηκε αρνητική συσχέτιση για όλους τους συμμετέχοντες ($p=0,001$), η οποία ήταν ελαφρά ασθενέστερη για τους ασθενείς ($p=0,001$). Έτσι, η μελέτη έδειξε ότι η αυξημένη κατανάλωση φρούτων, λαχανικών και οσπρίων σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη στον εξεταζόμενο πληθυσμό.

- Οι Hirvonen *et al.* (2001), λαμβάνοντας υπόψη τα εργαστηριακά και τα λίγα επιδημιολογικά δεδομένα που υπήρχαν σχετικά με την επίδραση των φλαβονών και των φλαβονολών (που περιέχονται στα φρούτα, στα λαχανικά, στο τσάι και στο κρασί) στην προστασία εναντίον της εκδήλωσης CHD, λειτουργώντας ως καταστροφείς ελεύθερων ριζών και μεταλλικών ιόντων, πραγματοποίησαν έρευνα στην οποία μελέτησαν την επίδραση αυτή. Πιο συγκεκριμένα, το δείγμα της έρευνας αποτέλεσαν 25.372 άνδρες καπνιστές, ηλικίας 50–69 ετών, με μη θανατηφόρο ή θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου, χωρίς προηγούμενο ιστορικό εμφράγματος, οι οποίοι είχαν συμμετάσχει σε μια προηγούμενη τυχαιοποιημένη τυφλή δοκιμή, τη μελέτη Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study, που πραγματοποιήθηκε στη ΝΔ Φιλανδία (ATBC, 1994). Δεδομένα χρησιμοποιήθηκαν από την έρευνα αυτή. Για την εκτίμηση της διαιτητικής πρόσληψης, οι συμμετέχοντες είχαν συμπληρώσει ένα FFQ, 276 ερωτήσεων. Επιπλέον, είχαν απαντήσει σε ερωτηματολόγια σχετικά με τις συνήθειες καπνίσματος και το ιατρικό τους ιστορικό. Τέλος, είχε μετρηθεί η αρτηριακή πίεση και είχαν ληφθεί δείγματα αίματος, για την εκτίμηση των επιπέδων χοληστερόλης ορού. Οι εθελοντές είχαν χωριστεί σε ποσοστημόρια, ανάλογα με την πρόσληψη φλαβονών και φλαβονολών. Για την εκτίμηση της συσχέτισης μεταξύ της πρόσληψης φλαβονών και φλαβονολών χρησιμοποιήθηκαν μοντέλα σχετικών κινδύνων (Relative Risk, RR). Από την ανάλυση των δεδομένων προέκυψε ότι η μέση πρόσληψη φλαβονών και φλαβονολών ήταν 8,0mg/ημέρα, ακόμα, τα άτομα με την υψηλότερη πρόσληψη των παραπάνω φλαβονοειδών βρέθηκε ότι είχαν υψηλότερο επίπεδο φυσικής δραστηριότητας, μεγαλύτερη κατανάλωση τσαγιού, κρασιού, φρούτων, λαχανικών, πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, βιταμινών C και E, β-καροτενίου και μικρότερη κατανάλωση κορεσμένων λιπαρών οξέων από αυτά που προσλάμβαναν μικρότερη ποσότητα των εξεταζόμενων φλαβονοειδών. Όσον αφορά στη σχέση της πρόσληψης φλαβονών και φλαβονολών, βρέθηκε ότι ο σχετικός κίνδυνος μη θανατηφόρου εμφράγματος του μυοκαρδίου μεταξύ των ανδρών με την υψηλότερη πρόσληψη (18mg/ημέρα) και αυτών με τη χαμηλότερη πρόσληψη (4mg/ημέρα) ήταν $RR=0,77$. Ο αντίστοιχος κίνδυνος για θάνατο από έμφραγμα του μυοκαρδίου ήταν $RR=0,89$. Επομένως, η έρευνα έδειξε ότι η υψηλή πρόσληψη φλαβονών και

φλαβονολών από την κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, τσαγιού και κρασιού είχε προστατευτική δράση εναντίον της εκδήλωσης εμφράγματος μυοκαρδίου στον εξεταζόμενο πληθυσμό.

- Οι Sasazuki *et al.* (2000), σε μια μελέτη επιπολασμού, εξέτασαν τη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης πράσινου τσαγιού (αφέψημα πλούσιο σε κατεχίνες, ομάδα φλαβονοειδών με γνωστές αντιοξειδωτικές ικανότητες) και αθηροσκλήρωσης στη στεφανιαία αρτηρία. Στην έρευνα συμμετείχαν 512 ασθενείς (302 άνδρες και 210 γυναίκες), ηλικίας ≥ 30 ετών, οι οποίοι είχαν υποβληθεί σε αρτηριογράφημα, για πρώτη φορά σε 4 νοσοκομεία της πόλης Φουκουόκα ή σε ένα νοσοκομείο γειτονικής πόλης, κατά την περίοδο από το Σεπτέμβριο του 1996 μέχρι τον Αύγουστο του 1997. οι εθελοντές κλήθηκαν να απαντήσουν ένα ερωτηματολόγιο για τις διατροφικές συνήθειες, τις συνήθειες καπνίσματος, κατανάλωσης αλκοόλ και φυσικής δραστηριότητας. Το ερωτηματολόγιο περιείχε, επίσης, ερωτήσεις για ιστορικό υπέρτασης, υπερλιπιδαιμίας, Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ) και στηθάγχης. Για την ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SAS. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο επιπολασμός της CHD ήταν 38,7% στους άνδρες και 23,8% στις γυναίκες. Επίσης η στένωση της στεφανιαίας αρτηρίας βρέθηκε μεγαλύτερη στα άτομα μεγαλύτερης ηλικίας, ανεξάρτητα από το φύλο. Ακόμα, βρέθηκε ότι άνδρες με υπέρταση κατανάλωναν μεγαλύτερες ποσότητες πράσινου τσαγιού. Επιπλέον, εκείνοι με υψηλότερες προσλήψεις πράσινου τσαγιού έδειξαν να έχουν ιδιαίτερη προτίμηση στο παραδοσιακό κινέζικο φαγητό, όπως, επίσης, κατανάλωναν μεγαλύτερες ποσότητες φρούτων και λαχανικών. Μεταξύ των γυναικών δεν παρουσιάστηκαν ανάλογες διαφορές. Όσον αφορά στη συσχέτιση της κατανάλωσης πράσινου τσαγιού και CHD στους άνδρες, μέτρια μείωση του κινδύνου βρέθηκε για εκείνους που κατανάλωναν 2–3 (0,5) και 4+ φλιτζάνια την ημέρα (0,4). αντίθετα, στις γυναίκες δεν εμφανίστηκε αρνητική συσχέτιση. Τα αποτελέσματα αυτά έδειξαν ότι η κατανάλωση πράσινου τσαγιού μπορεί να δράσει προστατευτικά εναντίον της CHD, τουλάχιστον στους άνδρες.

- Άλλη έρευνα που μελέτησε την επίδραση της κατανάλωσης τσαγιού (και, συνεπώς, των κατεχινών που περιέχει) εναντίον της εμφάνισης ισχαιμικού καρδιακού επεισοδίου (Ischemic Heart Disease / IHD), είναι αυτή που πραγματοποίησε η ερευνητική ομάδα των Arts *et al.* (2001). Πιο συγκεκριμένα, σκοπός της μελέτης ήταν να εξετάσει τη σχέση μεταξύ της πρόσληψης κατεχινών από τσάι και της επίπτωσης ή της θνησιμότητας από ισχαιμικό καρδιακό επεισόδιο. Το δείγμα αποτέλεσαν 806 άνδρες, ηλικίας 65–84 ετών. Οι εθελοντές ήταν μέρος της μελέτης Zutphen Elderly Study, μιας προοπτικής έρευνας ομάδας για τους παράγοντες κινδύνου χρόνιων ασθενειών σε ηλικιωμένους άνδρες. Η συγκεκριμένη έρευνα αντιπροσώπευε την ολλανδική συμβολή στη Μελέτη των Επτά Χωρών. Για την εν λόγω έρευνα χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από την προηγούμενη μελέτη. Στους εθελοντές είχαν πραγματοποιηθεί ιατρικές εξετάσεις (ανθρωπομετρικές, αιματολογικές, αρτηριακή πίεση) και είχε ληφθεί διατροφικό ιστορικό, το 1985.

Ο επιπολασμός ασθένειας, κατά την πρώτη κλινική διάγνωση, καταγράφηκε τις χρονικές στιγμές 1985, 1990, 1993 και 1995, χρησιμοποιώντας το τυποποιημένο ερωτηματολόγιο των Rose και Blackburn (Rose, 1968). Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SAS. Η σύγκριση των βασικών χαρακτηριστικών των εθελοντών με την πρόσληψη κατεχινών έγινε μέσω των δοκιμασιών X^2 και Kruskal-Wallis. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μέση πρόσληψη κατεχινών από τους 806 συμμετέχοντες, το 1985, ήταν $72 \pm 47,8 \text{ mg/ημέρα}$, η κύρια πηγή των οποίων ήταν το μαύρο τσάι (86%). Τα διάφορα είδη κατεχινών συνέβαλλαν σε αυτήν την πρόσληψη ως εξής: 34% η (-)-γαλλική επικατεχίνη, 26% η (-)-γαλλική επιγαλλοκατεχίνη και 21% η επικατεχίνη. Μετά το πέρασμα μιας δεκαετίας, 374 άνδρες από το αρχικό δείγμα (6025) είχαν πεθάνει. Αιτία θανάτου για τους 90 από αυτούς ήταν η IHD, ενώ 47 πέθαναν από εγκεφαλικό. Η προσαρμοσμένη στην ηλικία πρόσληψη κατεχινών έδειξε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με το κίνδυνο θανάτου από IHD. Δεν φάνηκε, όμως, να υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης κατεχινών και της νόσου στο αρχικό στάδιο. Επιπλέον, βρέθηκε ότι η αύξηση, κατά 50 mg (ισοδύναμο με 1 φλιτζάνι τσαγιού + 1 μικρό κομμάτι σκούρας σοκολάτας) της πρόσληψης κατεχινών αντιστοιχούσε σε 25% μείωση του κινδύνου. Όσον αφορά στην επίδραση της πρόσληψης κατεχινών εναντίον του κινδύνου για εγκεφαλικό επεισόδιο, δε φάνηκε να υπάρχει κάποια συσχέτιση. Τέλος, η πρόσληψη κατεχινών παρουσίαζε υψηλή συσχέτιση τόσο με την κατανάλωση τσαγιού ($r=0,98$), όσο και με την πρόσληψη φλαβονολών ($r=0,85$). Επομένως, μελετήθηκε εάν οι κατεχίνες του τσαγιού είχαν αυτήν την προστατευτική επίδραση ή άλλες φλαβονόλες που περιέχονται σε αυτό. Βρέθηκε ότι η πρόσληψη κατεχινών από άλλες πηγές, εκτός από το τσάι, ήταν σχετικά ανεξάρτητη από την κατανάλωση τσαγιού ($r=0,11$) και από την πρόσληψη φλαβονολών ($r=0,44$). Επιπλέον, το τσάι ήταν ανεξάρτητο από τις φλαβονόλες που προέρχονταν από πηγές διαφορετικές του τσαγιού ($r=0,08$), ενώ για τις κατεχίνες από άλλες πηγές ο σχετικός κίνδυνος IHD ήταν 0,80 για μια αύξηση της πρόσληψης της τάξης των 7,5mg. Τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίζουν την υψηλή συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης τσαγιού και της μείωσης του κινδύνου εμφάνισης IHD. Ωστόσο, φαίνεται πως άλλες φλαβονόλες, διαφορετικές από τις κατεχίνες, ευθύνονται για αυτήν τη σχέση, αν και χρειάζεται περισσότερη έρευνα για την επιβεβαίωση αυτού του ευρήματος.

- Οι Fernandez-Jarne *et al.* (2002), λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι η κύρια πηγή πρόσληψης διαιτητικού λίπους στις μεσογειακές χώρες, όπου η θνησιμότητα από CHD είναι η χαμηλότερη στην Ευρώπη, είναι το ελαιόλαδο, πραγματοποίησαν στην Ισπανία μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων, κατά την οποία εξέτασαν την επίδραση της πρόσληψης ελαιολάδου στον κίνδυνο εμφάνισης μη θανατηφόρου έμφραγμα μυοκαρδίου. Το δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν 171 ασθενείς με έμφραγμα μυοκαρδίου (81% άνδρες), ηλικίας <80 ετών, χωρίς προηγούμενο ιστορικό στηθάγχης ή CHD, και 171 μάρτυρες, οι οποίοι νοσηλεύονταν στο νοσοκομείο για άλλους λόγους. Η διαιτητική

πρόσληψη εκτιμήθηκε μέσω συμπλήρωσης ενός ημιποσοτικοποιημένου FFQ, 136 ερωτήσεων. Επίσης, εκτιμήθηκε το επίπεδο φυσικής δραστηριότητας, μέσω συγκεκριμένων ερωτήσεων που υποβλήθηκαν στους συμμετέχοντες και λήφθηκε ιατρικό ιστορικό. Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με τη δοκιμασία t-test. Από την ανάλυση των δεδομένων, προέκυψε ότι η μέση ημερήσια πρόσληψη ελαιολάδου ήταν 22,8g στις γυναίκες και 25,3g στους άνδρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρχε ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ της υψηλότερης πρόσληψης ελαιολάδου (54g/ημέρα) και μείωσης του κινδύνου για εμφάνιση, για πρώτη φορά, εμφράγματος του μυοκαρδίου. Στην περίπτωση αυτή, η σχετική μείωση του κινδύνου ήταν 82%. Στην προστατευτική δράση της πρόσληψης του ελαιολάδου εναντίον του εμφράγματος μυοκαρδίου εμπλέκονται διάφοροι μηχανισμοί, σε μερικούς από τους οποίους συμμετέχουν τα αντιοξειδωτικά συστατικά του (π.χ υδροξυτυροσόλη και ολεωρωπαΐνη).

- Οι Bosetti *et al.* (2002) πραγματοποίησαν, στην Ιταλία, έρευνα κατά την οποία εξέτασαν τη σχέση μεταξύ κατανάλωσης ελαιολάδου, ελιών και άλλων τύπων λίπους, που χρησιμοποιούνται στο μαγείρεμα, με τον καρκίνο της μήτρας σε 1031 γυναίκες-ασθενείς (με πρωτοδιαγνωσμένο καρκίνο μήτρας) και 2411 γυναίκες-μάρτυρες (νοσηλεύόμενες, χωρίς γυναικολογικές δυσλειτουργίες). Η ηλικία των γυναικών ήταν 18-76 ετών (μέση ηλικία: 56 έτη). Για το σκοπό της παρούσας έρευνας αναλύθηκαν τα δεδομένα από παλαιότερη μελέτη ασθενών-μαρτύρων, η οποία πραγματοποιήθηκε τη χρονική περίοδο 1992-1999, στην Ιταλία. Οι εθελόντριες κλήθηκαν να απαντήσουν σε ένα τυποποιημένο ερωτηματολόγιο για τη λήψη πληροφοριών σχετικά με προσωπικά χαρακτηριστικά, τον τρόπο ζωής τους, το ιατρικό ιστορικό, τη χρήση στοματικών αντισυλληπτικών και το εάν ακολουθούσαν κάποια θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης. Η εκτίμηση της διαιτητικής πρόσληψης έγινε μέσω ενός FFQ που περιείχε 78 τρόφιμα και αφεψήματα, καθώς και μια σειρά από συνταγές. Για την ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SAS. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρχε υψηλή θετική συσχέτιση μεταξύ της υψηλότερης κατανάλωσης ελαιολάδου και ελιών και του χαμηλότερου κινδύνου εμφάνισης καρκίνου στη μήτρα (0,68 και 0,60, αντίστοιχα). Δε φάνηκε να υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση για την κατανάλωση φυτικών ελαίων, στο σύνολό τους, βουτύρου ή μαργαρίνης και καρκίνο της μήτρας. Επιπλέον, βρέθηκε ότι η κατανάλωση λαχανικών ενέτεινε σημαντικά την προστατευτική δράση μόνο του ελαιολάδου (0,82 για την υψηλότερη πρόσληψη ελαιολάδου συγκριτικά με το χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου). Έτσι, η συγκεκριμένη έρευνα επέδειξε τη σημαντική συμβολή της πρόσληψης ελαιολάδου και μικρότερη συμβολή της πρόσληψης άλλων φυτικών ελαίων στην προστασία από την εμφάνιση καρκίνου της μήτρας, στον ιταλικό πληθυσμό, η οποία αυξανόταν με την κατανάλωση λαχανικών. Τα ευρήματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα προηγούμενων επιδημιολογικών μελετών, οι οποίες υποστήριζαν την προστατευτική

δράση του ελαιολάδου και των ακόρεστων λιπιδίων εναντίον του καρκίνου του μαστού, μια νεοπλασματική ασθένεια, η οποία σχετίζεται ορμονικά με τον καρκίνο της μήτρας (*La Vecchia, 1995, 1998*).

- Οι Braga *et al.* (1998) μελέτησαν την επίδραση του ελαιολάδου και άλλων φυτικών ελαίων στην προστασία από τον καρκίνο του παχέος εντέρου και πρωκτού. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποίησαν δεδομένα από μια έρευνα ασθενών-μαρτύρων που πραγματοποιήθηκε κατά τη χρονική περίοδο 1992-1996 σε έξι περιοχές της Ιταλίας. Το δείγμα αποτελούταν από 1953 ασθενείς (1225 με καρκίνο του παχέος εντέρου και 728 με καρκίνο στον πρωκτό), οι οποίοι νοσηλεύονταν σε νοσοκομεία των περιοχών αυτών, και 4154 μάρτυρες, οι οποίοι νοσηλεύονταν στα ίδια νοσοκομεία, την ίδια χρονική περίοδο, χωρίς ιστορικό καρκίνου σχετιζόμενου με τη γαστρεντερική οδό. Η μέση ηλικία των εθελοντών ήταν 62 έτη. Στους συμμετέχοντες έγινε εκτίμηση της διαιτητικής πρόσληψης μέσω ενός επικυρωμένου FFQ 78 ερωτήσεων. Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με τη χρήση των μοντέλων πολλαπλής λογιστικής παλινδρόμησης. Οι μεταβλητές που εξετάστηκαν ήταν: (α) το κέντρο εκπαίδευσης, οι πενταετίες ηλικίας, το φύλο, τα χρόνια εκπαίδευσης, η κατανάλωση αλκοόλ, η συνολική ενεργειακή πρόσληψη και οι διάφοροι τύποι ελαίων και λίπους που καταναλώνονταν ταυτόχρονα με το ελαιόλαδο και (β) όλοι οι παραπάνω παράγοντες και η συνολική κατανάλωση λαχανικών. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν υψηλή συσχέτιση της υψηλότερης κατανάλωσης ελαιολάδου και του χαμηλότερου κινδύνου εμφάνισης καρκίνου παχέος εντέρου και πρωκτού, συνολικά, (0,87), αλλά και ξεχωριστά για τον κάθε τύπο (0,82 και 0,96, αντίστοιχα), ιδιαίτερα για τα άτομα ηλικίας ≥ 60 ετών. Όσον αφορά στην επίδραση των άλλων τύπων ελαίου και λίπους (ηλιέλαιο, αραβοσιτέλαιο, φυσιτέλαιο, σογιέλαιο και βούτυρο), δε φάνηκε να έχουν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο για καρκίνο παχέος εντέρου. Η ταυτόχρονη κατανάλωση λαχανικών βρέθηκε να εντείνει, ελαφρά, την προστατευτική δράση του ελαιολάδου (0,94 για τον καρκίνο του παχέος εντέρου και 0,97 για τον καρκίνο του πρωκτού). Η επίδραση αυτή έγινε φανερή και για τα νεότερα άτομα (ηλικία < 60 ετών) (0,82 για τον καρκίνο του παχέος εντέρου και 0,69 για τον καρκίνο του πρωκτού). Επομένως, τα ευρήματα αυτής υποστηρίζουν ότι η υψηλή κατανάλωση ελαιολάδου (μέχρι και 43,4g /ημέρα) συμβάλλει στην πρόληψη του καρκίνου του παχέος εντέρου και του πρωκτού στον ιταλικό πληθυσμό, ιδιαίτερα στα άτομα μεγαλύτερης ηλικίας, ενώ η κατανάλωση άλλων τύπων φυτικών ελαίων και λίπους δε φάνηκε να επηρεάζει αρνητικά την εμφάνιση αυτού του τύπου καρκίνου.

- Οι Hagfors *et al.* (2003) πραγματοποίησαν μια αναδρομική τυχαιοποιημένη μελέτη ασθενών-μαρτύρων στην οποία εξέτασαν την πρόσληψη αντιοξειδωτικών, τα επίπεδα αντιοξειδωτικών στο πλάσμα και το επίπεδο οξειδωτικού στρες (μέσω του δείκτη μηλονική διαλδεϋδη, Malondialdehyde, MDA) σε ασθενείς με Ρευματοειδή Αρθρίτιδα (ΡΑ). Στη μελέτη έλαβαν μέρος

61 άτομα, μέσης ηλικίας 58 ετών, με PA. Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε δυο ομάδες. Η μια ομάδα (26 άτομα) ακολουθούσε τυπική μεσογειακή διαίτα (αυξημένη κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, ψαριών και ελαιολάδου, μειωμένη κατανάλωση κρέατος και μαργαρίνης, μέτρια κατανάλωση αλκοόλ, κυρίως κόκκινο κρασί) τους τρεις προηγούμενους μήνες, ενώ η άλλη ομάδα (25 άτομα) μια διαίτα που χρησιμοποιήθηκε για έλεγχο (control). Η διαιτητική πρόσληψη και η πρόσληψη αντιοξειδωτικών εκτιμήθηκε μέσω συνέντευξης και ερωτηματολογίου, αντίστοιχα. Τα επίπεδα της ρετινόλης και των αντιοξειδωτικών στο πλάσμα (α - και γ -τοκοφερόλη, β -καροτένιο, λυκοπένιο, βιταμίνη C και ουρικό οξύ) και του MDA στα ούρα μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC). Στη στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω: η δοκιμασία Student's t-test για την εξέταση των διαφορών μεταξύ των ομάδων, οι δοκιμασίες Mann-Whitney U-test και Wilcoxon signed ranks test για τις μεταβλητές και οι συντελεστές Pearson και Spearman για την εκτίμηση των συσχετίσεων μεταξύ της πρόσληψης αντιοξειδωτικών, των επιπτώσεων της PA, του MDA και των αντιοξειδωτικών στο πλάσμα. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι η ομάδα που ακολουθούσε τη μεσογειακή διαίτα παρουσίαζε σημαντικά υψηλότερες συχνότητες πρόσληψης πλούσιων σε αντιοξειδωτικά τροφίμων, υψηλότερες προσλήψεις βιταμίνης C ($p=0,014$), βιταμίνης E ($p=0,007$) και σεληνίου ($p=0,004$), καθώς επίσης χαμηλότερη πρόσληψη ρετινόλης ($p=0,049$), σε σχέση με την άλλη ομάδα. Επιπλέον, η ρετινόλη, η βιταμίνη C και το ουρικό οξύ σχετίζονταν, αρνητικά, με τις επιπτώσεις της PA. Ακόμα, δε βρέθηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης αντιοξειδωτικών και των επιπέδων τους στο πλάσμα. Τέλος, η συγκέντρωση του MDA στο πλάσμα δε διέφερε μεταξύ των δυο ομάδων σε κανένα στάδιο της έρευνας, ενώ αυτός ο δείκτης παρουσίασε αρνητική συσχέτιση με τη συγκέντρωση της γ -τοκοφερόλης στο πλάσμα ($p<0,05$). Συμπερασματικά, η συγκεκριμένη έρευνα έδειξε ότι, παρά την αυξημένη πρόσληψη αντιοξειδωτικών της ομάδας που ακολούθησε το μεσογειακό πρότυπο διατροφής, δεν επηρεάστηκαν τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών στο πλάσμα και του MDA στα ούρα αυτών των ατόμων. Η μόνη συσχέτιση που βρέθηκε ήταν μεταξύ της αυξημένης πρόσληψης της βιταμίνης C, της ρετινόλης και του ουρικού οξέος με τη μειωμένη δράση της PA.

- Οι Miller *et al.* (2004) μελέτησαν τη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών και της επίπτωσης του καρκίνου του πνεύμονα. Οι συμμετέχοντες ήταν μέλη της προοπτικής μελέτης EPIC (European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition). Για τους σκοπούς της έρευνας έλαβαν μέρος 519.978 άτομα, ηλικίας 25–70 έτη. Από αυτούς οι 860 είχαν αναπτύξει καρκίνο του πνεύμονα. Για την εκτίμηση της διαιτητικής πρόσληψης και του τρόπου ζωής των εθελοντών χρησιμοποιήθηκαν ερωτηματολόγια ειδικά για κάθε χώρα. Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε μέσω του μοντέλου Cox Proportional Hazard Model. Εκτιμήθηκε η σχέση της

κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών με την επίπτωση του καρκίνου του πνεύμονα, προσαρμοσμένη στα εξής χαρακτηριστικά: φύλο, ηλικία, κάπνισμα, ύψος και βάρος. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι υπήρχε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών και του καρκίνου του πνεύμονα. Για όλες τις μεταβλητές που αναφέρθηκαν παραπάνω, ο σχετικός κίνδυνος μεταξύ της υψηλότερης και της χαμηλότερης κατανάλωσης φρούτων ήταν 0,60. ($p=0,0099$). Η συσχέτιση αυτή ήταν ισχυρότερη για τους Νορβηγούς συμμετέχοντες και για τους καπνιστές, δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης λαχανικών και του καρκίνου του πνεύμονα. Θεωρήθηκε ότι τα λαχανικά είτε αυξάνουν απλά την προστατευτική δράση των φρούτων, είτε η δράση τους είναι πολύ μικρή σε σχέση με αυτήν της διακοπής του καπνίσματος.

Τα αποτελέσματα όλων των παραπάνω μελετών αποδεικνύουν την προστατευτική δράση των αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχονται στα διάφορα τρόφιμα και αφεψήματα (φρούτα, λαχανικά, όσπρια, τσάι, ελαιόλαδο) στην πρόληψη των διαφόρων τύπων καρκίνου και της στεφανιαίας νόσου, καθώς επίσης και στην προστασία από τις επιπτώσεις της ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Τα ευρήματα αυτά έρχονται σε συμφωνία τα αντίστοιχα προηγούμενων επιδημιολογικών μελετών (Hertog, 1993, Yochum, 1999, Powles, 1996 Stensvold, 1992).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο:

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:

Η ανασκόπηση της πρόσφατης βιβλιογραφίας, κατά της παρούσα πτυχιακή μελέτη, οδήγησε στα παρακάτω συμπεράσματα σχετικά με την αντιοξειδωτική ικανότητα του ανθρώπινου πλάσματος:

Πρώτα από όλα, πρέπει να αναφερθεί ότι οι αντιοξειδωτικές ουσίες δρουν προστατεύοντας τον οργανισμό από την καταστροφή που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες και άλλα ενεργά μόρια, τα οποία σχηματίζονται στον οργανισμό από τη δράση διαφόρων ενδογενών και εξωγενών παραγόντων. Το οξειδωτικό στρες που αναπτύσσεται αποτελεί τη βάση ποικίλων νοσημάτων που μαστίζουν το γενικό πληθυσμό, καθώς και των αρνητικών συνεπειών της γήρανσης.

Υπάρχουν δυο βασικά είδη ελεύθερων ριζών και άλλων ενεργών μορίων:

- Τα ROS, που σχηματίζονται από το O_2
- Τα RNS, που σχηματίζονται από το N_2

Τα μόρια αυτά παίζουν βασικό ρυθμιστικό ρόλο για τη λειτουργία των κυττάρων, ωστόσο, ανάλογα με το είδος και την ποσότητα των ενζύμων που καταλύουν τις αντιδράσεις από τις οποίες προκύπτουν, μπορούν να προκαλέσουν βλάβες σε ζωτικά κύτταρα και να συμβάλλουν, έτσι, στην εκδήλωση σοβαρών δυσλειτουργιών στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι μηχανισμοί με τους οποίους ROS και RNS οδηγούν σε οξειδωτική καταστροφή τους ιστούς, αυτοί μπορούν να συνοψισθούν στους παρακάτω:

1. Οξείδωση ζωτικών θειολικών συστατικών
2. Απώλεια της ιστικής GSH
3. Δυσλειτουργία των μορίων παραγωγής ενέργειας (ATP, NADH, NADPH)
4. Οξείδωση των κυτοχρωμάτων
5. Οξείδωση των λιπιδίων
6. Διάσπαση του DNA
7. Ξεκίνημα και προώθηση των μεταλλάξεων και της καρκινογένεσης

Ωστόσο, οι παραπάνω παράγοντες δε δρουν ανεξέλεγκτα στο σώμα. Ο οργανισμός έχει αναπτύξει ισχυρούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς για την προστασία του από το οξειδωτικό στρες. Στην αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού προστίθενται και τα αντιοξειδωτικά συστατικά που

προσλαμβάνονται με την τροφή. Έτσι, η βιολογική προστασία του οργανισμού και οι μηχανισμοί δράσης των αντιοξειδωτικών παραγόντων είναι οι παρακάτω:

- Ενδογενή αντιοξειδωτικά ένζυμα. Αυτά δρουν με τους παρακάτω τρόπους:

- Παρεμπόδιση της παραγωγής ελεύθερων ριζών
- Αναστολή της καταστροφής που προκαλείται στους ιστούς από την παραγωγή ελεύθερων ριζών
- Επιδιόρθωση της καταστροφής που προκαλείται στους ιστούς από την παραγωγή ελεύθερων ριζών

- Άλλοι ενδογενείς αντιοξειδωτικοί παράγοντες. Αυτοί λειτουργούν όπως και τα ένζυμα. Επιπλέον, όμως, μερικοί από αυτούς έχουν τη δυνατότητα να αναγεννούν άλλα αντιοξειδωτικά, όπως η βιταμίνη C και η α-τοκοφερόλη.

- Εξωγενείς αντιοξειδωτικοί παράγοντες (διαιτητικά αντιοξειδωτικά). Αυτά προστατεύουν τον οργανισμό από το οξειδωτικό στρες μέσω:

- Αναστολής οξείδωσης της LDL και υπεροξείδωσης των λιπιδίων
- Συσσώρευσης αιμοπεταλίων και αναστολής των 5- και 12-λιποξυγενασών
- Αναστολής της τροποποίησης από το ONOO⁻ των βάσεων DNA και της νίτρωσης της τυροσίνης
- Προστασίας εναντίον της αιμόλυσης που προκαλείται από το H₂O₂ και του σχηματισμού μηλονικής διαλδεύδης στα ερυθροκύτταρα
- Αντιαναπαραγωγικής δράσης, μέσω απόπτωσης στα HL-60 κύτταρα και στα υπόλοιπα ενεργοποιημένα περιφερικά λεμφοκύτταρα του αίματος
- Δέσμευσης των ROS
- Αναστολής της μεταφοράς των μεταλλικών ιόντων, μέσω του μηχανισμού που εξαρτάται από τον αριθμό των υδροξυλικών ομάδων που περιέχονται στη δομή τους (πολυφαινόλες)
- Δέσμευσης των NO και ONOO⁻
- Αύξησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας άλλων αντιοξειδωτικών
- Αναστολής της δράση του μεταγραφικού παράγοντα AP-1 (πολυφαινόλες)
- Καταστροφής των ελεύθερων ριζών οξυγόνου και των άλλων ειδών ROS

Όσον αφορά στα διαιτητικά αντιοξειδωτικά, η συμβολή τους στην αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος εξαρτάται, άμεσα, το βαθμό απορρόφησής τους. Εκτός από τις πολυφαινόλες, οι οποίες παρουσιάζουν φτωχή βιοδιαθεσιμότητα, όλα τα άλλα αντιοξειδωτικά της τροφής απορροφώνται σχεδόν πλήρως από τον οργανισμό. Σχετικά με τις πολυφαινόλες, πρέπει να αναφερθεί ότι τα

επίπεδά τους στο πλάσμα δεν ξεπερνούν το 1μM, όταν καταναλώνονται στη συνήθη ποσότητα. Η απορρόφησή τους εξαρτάται από τις παρακάτω αντιδράσεις:

- Γλυκοσυλίωση. Για μερικές πολυφαινόλες είναι απαραίτητη η απογλυκοσυλίωση, μέσω ειδικών β-γλυκοσιδασών, ενώ για άλλες είναι απαραίτητη η γλυκοσυλίωση
- Ακυλίωση. Η αντίδραση αυτή δεν επηρεάζει, σημαντικά, την απορρόφηση των πολυφαινολών
- Εστεροποίηση. Για την απορρόφηση των εστεροποιημένων φαινολικών οξέων είναι απαραίτητη η διάσπαση από ειδικά ένζυμα, τις εστεράσες
- Μοριακό Βάρος, Πολυμερισμός Η απορρόφηση των πολυφαινολών σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με το MB και το βαθμό πολυμερισμού τους

Η αντιοξειδωτική ικανότητα του ανθρώπινου πλάσματος, φαίνεται πως επηρεάζεται, σε μεγάλο βαθμό, από την ηλικία. Τα ευρήματα των ερευνών που παρουσιάστηκαν στην ενότητα 3.3 αποδεικνύουν ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος είναι πολύ αυξημένη κατά την πρώιμη παιδική ηλικία, αυξημένη στην εφηβεία και μειώνεται σημαντικά στην Τρίτη ηλικία. Η μειωμένη αντιοξειδωτική «δύναμη» του πλάσματος στα ηλικιωμένα άτομα οφείλεται είτε στο αυξημένο οξειδωτικό στρες, είτε στην εξασθένηση των ενδογενών αντιοξειδωτικών παραγόντων, είτε στη μειωμένη διαιτητική πρόσληψη αντιοξειδωτικών. Όσον αφορά στους αντιοξειδωτικούς παράγοντες, στους ηλικιωμένους παρατηρήθηκαν τα παρακάτω:

- Αλλαγές στη γλουταθειόνη ($\uparrow$ της οξειδωμένης γλουταθειόνης), στην αλβουμίνη πλάσματος ($\uparrow$ της οξειδωμένης αλβουμίνης που οδηγεί σε $\uparrow$ καταβολισμό των μυών), στην δισμουτάση υπεροξειδίου ($\downarrow$ της δράσης του ενζύμου στα ερυθροκύτταρα)
- Μειωμένη πρόσληψη σεληνίου, η οποία ευθύνεται για τη δυσλειτουργία των υπεροξειδασών γλουταθειόνης (αντιοξειδωτικά ένζυμα)

Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος έχει αναπτυχθεί μια πληθώρα μεθόδων. Αυτές διακρίνονται σε τρεις βασικές κατηγορίες:

- Σε εκείνες που μετρούν τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος (TAC, TAR)
- Σε εκείνες που εκτιμούν την αντιοξειδωτική ικανότητα συγκεκριμένων ουσιών (DPPH, TRAP, Χημειοφωταύγεια)
- Σε εκείνες που μετρούν ειδικά την ικανότητα ενός αντιοξειδωτικού παράγοντα να μειώσει την οξείδωση των λιπιδίων (TBARS-μέθοδος)

Για τις μεθόδους αυτές έχουν παρατηρηθεί τα παρακάτω:

- Η FRAP υποεκτιμά την πραγματική αντιοξειδωτική δύναμη
- Υπάρχουν ενδείξεις ότι η TEAC δε σχετίζεται ακριβώς με την αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος
- Η TAC και η ORAC είναι αξιόπιστες, υψηλά αυτοματοποιημένες και, επομένως, εύκολα αναπαραγωγίσιμες μέθοδοι.

Τέλος, η μελέτη των πρόσφατων επιδημιολογικών ερευνών οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η αυξημένη κατανάλωση του ελαιολάδου, φρούτων, λαχανικών (χαρακτηριστικό της τυπικής μεσογειακής διαίτας), τσαγιού και η μέτρια κατανάλωση κρασιού (πλούσιες πηγές αντιοξειδωτικών και, κυρίως, πολυφαινόλων) συμβάλλει στην πρόληψη:

- Των διαφόρων τύπων καρκίνου (πνεύμονα, παχέος εντέρου και πρωκτού, προστάτη, μήτρας)
- Των καρδιαγγειακών νοσημάτων
- Των επιπτώσεων της ρευματοειδούς αρθρίτιδας

Τα ευρήματα των ερευνών αυτών συμφωνούν με πρότερα δεδομένα και εδραιώνουν τον πολύ βασικό ρόλο των αντιοξειδωτικών στην διατήρηση της υγείας.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ:

1. Adachi T, Wang J, Wang XL. Age-related change of plasma extracellular-superoxide dismutase. *Clin Chim Acta*, 290(2): 169-78 (2000)
2. Akashi K, Miyake C, Yokota A. Citrulline, a novel compatible solute in drought-tolerant wild watermelon leaves, is an efficient hydroxyl radical scavenger. *FEBS Lett*, 508(3): 438-42 (2001)
3. Alaluf S, Muir-Howie H, Hu HL, Evans A, Green MR. Atmospheric oxygen accelerates the induction of a post-mitotic phenotype in human dermal fibroblasts: the key protective role of glutathione. *Differentiation*, 66(2-3): 147-55 (2000)
4. Andrikopoulos NK, Antonopoulou S, Kaliora AC. Oleuropein Inhibits LDL Oxidation Induced by Cooking Oil Frying By-products and Platelet Aggregation Induced by Platelet-Activating Factor. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, 35: 479-484 (2002)
5. Andrikopoulos NK, Kaliora AC, Assimopoulou AN, Papageorgiou VP. Inhibitory activity of minor polyphenolic and nonpolyphenolic constituents of olive oil against in vitro low-density lipoprotein oxidation. *J Med Food*, 5(1): 1-7 (2002)
6. Arroyo A, Navarro F, Gomez-Diaz C, Crane FL, Alcain FJ, Navas P, Villalba JM. Interactions between ascorbyl free radical and coenzyme Q at the plasma membrane. *J Bioenerg Biomembr*, 32(2): 199-210 (2000)
7. Arteel GE, Sies H. Protection against peroxynitrite by cocoa polyphenol oligomers. *FEBS Lett*, 462(1-2): 167-70 (1999)
8. Arthur JR. Functional indicators of iodine and selenium status. *Proc. Nutr. Soc*, 58(2): 507-512 (1999)
9. Arts IC, Hollman PC, Feskens EJ, Bueno de Mesquita HB, Kromhout D. Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Am J Clin Nutr*, 74(2): 227-32 (2001)
10. Arts MJ, Haenen GR, Voss HP, Bast A. Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) assay. *Food Chem Toxicol*, 42(1): 45-9 (2004)
11. Aruoma, OI. Methodological consideration for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Research*, 9(20): 523-524 (2003)
12. Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J Am Chem Soc*, 75: 199 (1998)

13. Aziz AA, Edwards CA, Lean ME, Crozier A. Absorption and excretion of conjugated flavonols, including quercetin-4'-O-beta-glucoside and isorhamnetin-4'-O-beta-glucoside by human volunteers after the consumption of onions. *Free Radic. Res*, 29(3): 257-269 (1998)
14. Aviram M, Fuhrman B. Polyphenolic flavonoids inhibit macrophage-mediated oxidation of LDL and attenuate atherogenesis. *Atherosclerosis*, 137: 45-50 (1998)
15. Baba S, Furuta T, Fujioka M, Goromaru T. Studies on drug metabolism by use of isotopes. XXVII. Urinary metabolites of rutin in rats and role of intestinal microflora in the metabolism of rutin. *J. Pharm. Sci*, 72: 1155-1158 (1983)
16. Balentine DA, Wiseman SA, Bouwens LC. The chemistry of tea flavonoids. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 37(8): 693-704 (1997)
17. Basu S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189(1-2): 113-27 (2003)
18. Basu S, Hellberg A, Ulus AT, Westman J, Karacagil S. Biomarkers of free radical injury during spinal cord ischemia. *FEBS Lett*, 508(1): 36-8 (2001)
19. Basu S, Nozari A, Liu XL, Rubertsson S, Wiklund L. Development of a novel biomarker of free radical damage in reperfusion injury after cardiac arrest. *FEBS Lett*, 470(1): 1-6 (2000)
20. Basu S. Oxidative injury induced cyclooxygenase activation in experimental hepatotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun*, 254(3): 764-7 (1999)
21. Bell JRC, Donovan JL, Wong R, Waterhouse AL, German JB, Walzem RL, Kasim-Karakas SE. (+)-Catechin in human plasma after ingestion of a single serving of reconstituted red wine. *Am. J. Clin. Nutr*, 71: 103-108 (2000)
22. Benedetti A, Casini AF, Ferrali M, Compoeti M. Early alterations induced by carbon tetrachloride in the lipids of the membranes of the endoplasmic reticulum of the liver cell. II. Distribution of the alterations in the various lipid fractions. *Chem Biol Interact*, 17(2): 167-83 (1977)
23. Benzie IF, Janus ED, Strain JJ. Plasma ascorbate and vitamin E levels in Hong Kong Chinese. *Eur. J. Clin. Nutr*, 52(6): 447-451 (1998)
24. Benzie IFF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76 (1996)
- van den Berg H, van Vliet T. Effect of simultaneous, single oral doses of beta-carotene with lutein or lycopene on the beta-carotene and retinyl ester responses in the triacylglycerol-rich lipoprotein fraction of men. *Am J Clin Nutr*, 68(1): 82-9 (1998)
25. Bergsten P, Yu R, Kehrl J, Levine M. Ascorbic acid transport and distribution in human B lymphocytes. *Arch Biochem Biophys*, 317(1): 208-14 (1995)

26. Bisignano G, Tomaino A, Lo Cascio R, Crisafi G, Uccella N, Saija A. On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *J Pharm Pharmacol*, 51(8): 971-4 (1999)
26. Bjorneboe GE, Johnsen J, Bjorneboe A, Bache-Wiig JE, Morland J, Drevon CA. Diminished serum concentration of vitamin E in alcoholics. *Ann. Nutr. Metab*, 32(2): 56-61 (1988)
27. Booth AN, Emerson OH, Jones FT, DeEds F. Urinary metabolites of caffeic and chlorogenic acids. *J. Biol. Chem*, 229
28. Bosetti C, Negri E, Franceschi S, Talamini R, Montella M, Conti E, Lagiou P, Parazzini F, La Vecchia C. Olive oil, seed oils and other added fats in relation to ovarian cancer (Italy). *Cancer Causes Control*, 13(5): 465-70 (2002)
30. Boskou D. Olive oil. *World Rev Nutr Diet*, 87: 56-77 (2000)
31. Bourne LC, Rice-Evans C. Bioavailability of ferulic acid. *Biochem Biophys Res Commun*, 253(2): 222-7 (1998)
32. Braga C, La Vecchia C, Franceschi S, Negri E, Parpinel M, Decarli A, Giacosa A, Trichopoulos D. Olive oil, other seasoning fats, and the risk of colorectal carcinoma. *Cancer*, 82(3): 448-53 (1998)
33. Breinholt VM, Offord EA, Brouwer C, Nielsen SE, Brosen K, Friedberg T. In vitro investigation of cytochrome P450-mediated metabolism of dietary flavonoids. *Food Chem Toxicol*, 40(5): 609-16 (2002)
34. Breitkreutz R, Babylon A, Hack V, Schuster K, Tokus M, Bohles H, Hagmuller E, Edler L, Holm E, Droge W. Effect of carnitine on muscular glutamate uptake and intramuscular glutathione in malignant diseases. *Br J Cancer*, 82(2): 399-403 (2000)
35. Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med*, 27(9-10): 951-65 (1999)
36. Brown JE, Khodr H, Hider RC, Rice-Evans CA. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. *Biochem. J.* 330: 1173-1178 (1998)
37. Bu-Abbas A, Clifford MN, Joannides C, Walker R. Stimulation of rat hepatic UDP glucuronosyl transferase activity following treatment with green tea. *Food Chem. Toxicol*, 33: 27-30 (1995)
38. Bub A, Watzl B, Heeb D, Rechkemmer G, Briviba K. Malvidin-3-glucoside bioavailability in humans after ingestion of red wine, dealcoholized red wine and red grape juice. *Eur J Nutr*, 40(3): 113-20 (2001)

39. Bugianesi R, Catasta G, Spigno P, D'Uva A, Maiani G. Naringenin from cooked tomato paste is bioavailable in men. *J Nutr*, 132(11): 3349-52 (2002)
40. Burchell B, Brierley CH, Rance D. Specificity of human UDP-glucuronosyltransferases and xenobiotic glucuronidation. *Life Sci*, 57: 1819-1831 (1995)
41. Burchell B and Coughtrie MWH. Genetic and environmental factors associated with variation of human xenobiotic glucuronidation and sulfation. *Environ. Health Perspect*, 105: 739-747 (1997)
42. Burton GW, Traber MG, Acuff RV, Walters DN, Kayden H, Hughes L, Ingold KU. Human plasma and tissue alpha-tocopherol concentrations in response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E. *Am. J. Clin. Nutr*, 67(4): 669-684 (1998)
43. Burton GW and Traber MG. Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. *Annu. Rev. Nutr*, 10: 357-382 (1990)
45. Cabrint L, Barzanti V, Cipollone M, Fiorentini D, Grossi G, Tolomelli B, Zambonin L, Landi L. Antioxidants and Total Peroxyl Radical-Trapping Ability of Olive oil and Seed Oils. *J. Agric Food Chem*, 49: 6026-6032 (2001)
46. Cao G, Prior R. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clinical Chemistry*, 44(6): 1309-1315 (1998)
47. Cao G, Booth SL, Sadowski JA, Prior RL. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. *Am. J. Clin. Nutr*, 68: 1081-1087 (1998)
48. Cao G, Muccitelli HU, Sanchez-Moreno C, Prior RL. Anthocyanins are absorbed in glycosylated forms in elderly women: a pharmacokinetic study. *Am. J. Clin. Nutr*, 73(5): 920-926 (2001)
49. Cao G, Booth SL, Sadowski JA, Prior RL. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. *Am J Clin Nutr*, 68(5): 1081-7 (1998)
50. Cao G, Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem*, 44(6 Pt 1): 1309-15 (1998)
51. Carbonneau MA, Leger CL, Monnier L, Bonnet C, Michel F, Fouret G, Dedieu F, Descomps B. Supplementation with wine phenolic compounds increases the antioxidant capacity of plasma and vitamin E of low-density lipoprotein without changing the lipoprotein Cu(2+)-oxidizability: possible explanation by phenolic location. *Eur J Clin Nutr*, 51(10): 682-90 (1997)

- 52.Caruso D, Berra B, Giavarini F, Cortesi N, Fedeli E, Galli G. Effect of virgin olive oil phenolic compounds on in vitro oxidation of human low density lipoproteins. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 9(3): 102-7 (1999)
- 53.Castenmiller JJ, West CE. Bioavailability and bioconversion of carotenoids. *Annu Rev Nutr*, 18: 19-38 (1998)
- 54.Chae HZ, Robison K, Poole LB, Church G, Storz G, Rhee SG. Cloning and sequencing of thiol-specific antioxidant from mammalian brain: alkyl hydroperoxide reductase and thiol-specific antioxidant define a large family of antioxidant enzymes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91(15): 7017-21 (1994)
- 55.Chiku S, Hamamura K, Nakamura T. Novel urinary metabolite of D-delta-tocopherol in rats. *J. Lipid Res*, 25(1): 40-48 (1984)
- 56.Clifford MN, Copeland EL, Bloxside JP, Mitchell LA. Hippuric acid as a major excretion product associated with black tea consumption. *Xenobiotica*, 30(3): 317-326 (2000)
- 57.Clifford MN and Scalbert A. Ellagitannins, occurrence in food, bioavailability and cancer prevention. *J. Food Sci. Agric*, 80: 1118-1125 (2000)
- 58.Clifford MN. Chlorogenic acids and other cinnamates: nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food. Agric*, 79: 362-372 (1999)
- 59.Clinton SK. Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutr. Rev*, 56(2): 35-51 (1998)
- 60.Cohn W. Bioavailability of vitamin E. *Eur. J. Clin. Nutr*, 51(1): 80-85 (1997)
- Coni E, Di Benedetto R, Di Pasquale M, Masella R, Modesti D, Mattei R, Carlini EA. Protective effect of oleuropein, an olive oil biophenol, on Low Density Lipoprotein oxidizability in rabbits. *Lipids*, 35(1): 45-54 (2000)
- 61.Coughtrie MH, Sharp S, Maxwell K, Innes NP. Biology and function of the reversible sulfation pathway catalysed by human sulfotransferases and sulfatases. *Chem. Biol. Interact*, 109: 3-27 (1998)
- 62.Crespy V, Morand C, Besson C, Manach C, Demigne C, Remesy C. Comparison of the intestinal absorption of quercetin, phloretin and their glucosides in rats. *J Nutr*, 131(8): 2109-14 (2001)
- 63.D'Angelo S, Manna C, Migliardi V, Mazzoni O, Morrica P, Capasso G, Pontoni G, Galletti P, Zappia V. Pharmacokinetics and metabolism of hydroxytyrosol, a natural antioxidant from olive oil. *Drug Metab Dispos*, 29(11): 1492-8 (2001)
- 64.Dangles O, Dufour C, Manach C, Morand C, R  m  sy C. Binding of flavonoids to plasma proteins. Packer L. In: Bioflavonoids and Polyphenols. *Academic Press Orlando, FL* (2000)

65. Day AJ, Canada FJ, Diaz JC, Kroon PA, Mclauchlan R, Faulds CB, Plumb GW, Morgan MR, Williamson G. Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase. *FEBS Lett.* 468(2-3): 166-170 (2000)
66. Deiana M, Aruoma OI, Bianchi ML, Spencer JP, Kaur H, Halliwell B, Aeschbach R, Banni S, Dessi MA, Corongiu FP. Inhibition of peroxynitrite dependent DNA base modification and tyrosine nitration by the extra virgin olive oil-derived antioxidant hydroxytyrosol. *Free Radic Biol Med*, 26(5-6): 762-9 (1999)
67. Deneke SM, Baxter DF, Phelps DT, Fanburg BL. Increase in endothelial cell glutathione and precursor amino acid uptake by diethyl maleate and hyperoxia. *Am J Physiol*, 257(4 Pt 1): L265-71 (1989)
68. Déprez S, Brézillon C, Rabot S, Philippe C, Mila I, Lapierre CP, Scalbert A. Polymeric proanthocyanidins are catabolized by a human colonic microflora into low molecular weight phenolic acids. *J. Nutr.* (in press) (2000)
69. Deprez S, Mila I, Huneau JF, Tome D, Scalbert A. Transport of proanthocyanidin dimer, trimer, and polymer across monolayers of human intestinal epithelial Caco-2 cells. *Antioxid Redox Signal*, 3(6): 957-67 (2001)
70. Dixon RA, Paiva NL. Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism. *Plant Cell*, 7(7): 1085-1097 (1995)
71. Donovan JL, Bell JR, Kasim-Karakas S, German JB, Walzem RL, Hansen RJ, Waterhouse AL. Catechin is present as metabolites in human plasma after consumption of red wine. *J. Nutr*, 129: 1662-1668 (1999)
72. Donovan JL, Kasim-Karakas S, German JB, Waterhouse AL. Urinary excretion of catechin metabolites by human subjects after red wine consumption. *Br J Nutr*, 87(1): 31-7 (2002)
73. Drevon CA. Absorption, transport and metabolism of vitamin E. *Free Radic. Res. Commun*, 14(4): 229-246 (1991)
74. Droge W. Aging-related changes in the thiol/disulfide redox state: implications for the use of thiol antioxidants. *Exp Gerontol*, 37(12): 1333-45 (2002)
75. Droge W, Breitzkreutz R. Glutathione and immune function. *Proc Nutr Soc*, 59(4): 595-600 (2000)
76. Ducros V, Ferry M, Faure P, Belin N, Renversez JC, Ruffieux D, Favier A. Distribution of selenium in plasma of French women: relation to age and selenium status. *Clin Chem*, 46(5): 731-3 (2000)

- 77.Duffield AJ, Thomson CD, Hill KE, Williams S. An estimation of selenium requirements for New Zealanders. *Am J Clin Nutr*, 70(5): 896-903 (1999)
- 79.Duthie GG. Determination of activity of antioxidants in human subjects. *Proc Nutr Soc*, 58(4): 1015-24 (1999)
- 80.Duthie GG, Pedersen MW, Gardner PT, Morrice PC, Jenkinson AM, McPhail DB, Steele GM. The effect of whisky and wine consumption on total phenol content and antioxidant capacity of plasma from healthy volunteers. *Eur. J. Clin. Nutr*, 52: 733-736 (1998)
- 81.Edgecombe SC, Stretch GL, Hayball PJ. Oleuropein, an antioxidant polyphenol from olive oil, is poorly absorbed from isolated perfused rat intestine. *J Nutr*, 130(12): 2996-3002 (2000)
- 82.Swenson ES, Milisen WB, Curatolo W. Intestinal permeability enhancement: structure-activity and structure-toxicity relationships for nonylphenoxypolyoxyethylene surfactant permeability enhancers. *Pharm Res*, 11(10): 1501-4 (1994)
- 83.Erden Inal M, Kahraman A. The protective effect of flavonol quercetin against ultraviolet a induced oxidative stress in rats. *Toxicology*, 154(1-3): 21-9 (2000)
- 84.Estensen RD, Levy M, Klopp SJ, Galbraith AR, Mandel JS, Blomquist JA, Wattenberg LW. N-acetylcysteine suppression of the proliferative index in the colon of patients with previous adenomatous colonic polyps. *Cancer Lett*, 147(1-2): 109-14 (1999)
- 85.Esteve JM, Mompo J, Garcia de la Asuncion J, Sastre J, Asensi M, Boix J, Vina JR, Vina J, Pallardo FV. Oxidative damage to mitochondrial DNA and glutathione oxidation in apoptosis: studies in vivo and in vitro. *FASEB J*, 13(9): 1055-64 (1999)
- 86.Evans P and Halliwell B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br J Nutr*, 85(2): 67 (2001)
- 87.Fang YZ, Sun CP, Tian XH. Effect of Lu-Duo-Wei on scavenging superoxide and hydroxyl radicals in vitro. *Am J Chin Med*, 26: 153 (1998)
- 88.Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10): 872-9 (2002)
- 89.Fang and Zheng RL. Free radicals and nutrition. In: Y.Z, Theory and application of free radical biology. *Scientific Press*, Beijing: 647 (2002)
- 90.Faulks RM, Hart DJ, Scott KJ, Southon S. Changes in plasma carotenoid and vitamin E profile during supplementation with oil palm fruit carotenoids. *J. Lab. Clin. Med*, 132(6): 507-511 (1998)
- 91.Felgines C, Texier O, Morand C, Manach C, Scalbert A, Regeat F, Remesy C. Bioavailability of the flavanone naringenin and its glycosides in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 279(6): 1148-54 (2000)

- 92.Ferguson LR. Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutat Res*, 475(1-2): 89-111 (2001)
- 93.Fernandez-Jarne E, Martinez-Losa E, Prado-Santamaria M, Brugarolas-Brufau C, Serrano-Martinez M, Martinez-Gonzalez MA. Risk of first non-fatal myocardial infarction negatively associated with olive oil consumption: a case-control study in Spain. *Int J Epidemiol*, 31(2): 474-80 (2002)
- 94.Fischer-Nielsen A, Poulsen HE, Loft S. 8-Hydroxydeoxyguanosine in vitro: effects of glutathione, ascorbate, and 5-aminosalicylic acid. *Free Radic Biol Med*, 13(2): 121-6 (1992)
- 95.Ford ES, Gillespie C, Ballew C, Sowell A, Mannino DM. Serum carotenoid concentrations in US children and adolescents. *Am J Clin Nutr*, 76(4): 818-27 (2002)
- 96.Fraker PJ, King LE, Laakko T, Vollmer TL. The dynamic link between the integrity of the immune system and zinc status. *J Nutr*, 130(5): 1399-406 (2000)
- Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem*, 64: 97-112 (1995)
- 97.Fu, Dean R, Southan M, Truscott R. The hydroxyl radical in lens nuclear cataractogenesis. *J. Biol. Chem*, 273(44): 28603-28609 (1998b)
- 98.Fuhrman B, Lavy A, Aviram M. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr*, 61: 549-554 (1995)
- 99.Fuhr U and Kummert AL. The fate of naringin in humans: a key to grapefruit juice-drug interactions?. *Clin. Pharmacol. Ther*, 58(4): 365-373 (1995)
- 100.Gallo-Torres, 1980. Absorption, transport and metabolism. In: L.J. Machlin, Editor, *Vitamin E: A Comprehensive Treatise*, Marcel Dekker, New York (1980), 170-192
- 101.Gee JM, Dupont MS, Rhodes MJC, Johnson IT. Quercetin glucosides interact with the intestinal glucose transport pathway. *Free Radic. Biol. Med*, 25: 19-25 (1998)
- 102.Gheldof N, Wang XH, Engeseth NJ. Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans. *J. Agric. Food Chem*, 51: 1500-1505 (2003)
- 103.Gilbert DL. Fifty years of radical ideas. *Ann NY Acad Sci*, 899: 1 (2000)
- 104.Gill MI, Barberan FAT, Pierce BH, Holcroft DM, Kader AA. Antioxidant activity of Pomegranate juice and its relationship with the phenolic composition and processing. *J. Agric. Food Chem*, 48: 4581-4589 (2000)
- 105.Goodman GE and Olson JA (1996) In: *Methods in Enzymology*, 15: 462

- 106.Gopalan V, Pastuzyn A, Galey WR, Glew RH. Exolytic hydrolysis of toxic plant glucosides by guinea pig liver cytosolic β -glucosidase. *J. Biol. Chem*, 267: 14027-14032 (1992)
- 107.Gordon MH, Martins FP, Almeida M. Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. *J. Agric. Food Chem*, 49: 2480-2485 (2001)
- 108.Gorinstein S, Belloso OM, Katrich E, Lojek A, Ciz M, Miguel NG, Haruenkit R, Park YS, Jung ST, Trakhtenberg S. Comparison of the contents of the main biochemical compounds and the antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14: 154-159 (2003)
- 109.Gorinstein S, Yamamoto K, Katrich E, Leontowicz H, Lojek A, Leontowicz M, Ciz M, Goshev I, Shalev U, Trakhtenberg S. Antioxidative Properties Of Jaffa Sweeties and Grapefruit and Their Influence on Lipid Metabolism and Plasma Antioxidative Potential in Rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 67: 907-910 (2003)
- 110.Graefe EU and Veit M. Urinary metabolites of flavonoids and hydroxycinnamic acids in humans after application of a crude extract from *Equisetum arvense*. *Phytomedicine*, 6(4): 239-246 (1999)
- 111.Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin*, 50(1): 7-33 (2000)
- 112.Grignaffini P, Roma P, Galli C, Catapano AL. Protection of low-density lipoprotein from oxidation by 3,4-dihydroxyphenylethanol. *Lancet*, 343(8908): 1296-7 (1994)
- 113.Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin Chem*, 37(11): 1932-7 (1991)
- 114.Gutierrez-Rosales F, Rios JJ, Gomez-Rey ML. Main polyphenols in the bitter taste of virgin olive oil. Structural confirmation by on-line high-performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. *J Agric Food Chem*, 51(20): 6021-5 (2003)
- 115.Hack V, Breitzkreutz R, Kinscherf R, Rohrer H, Bartsch P, Taut F, Benner A, Droge W. The redox state as a correlate of senescence and wasting and as a target for therapeutic intervention. *Blood*, 92(1): 59-67 (1998)
- 116.Hackett AM, Griffiths LA, Broillet A, Wermeille M. The metabolism and excretion of (+)-[^{14}C]cyanidol-3 in man following oral administration. *Xenobiotica*, 13: 279-286 (1983)

- 117.Hagfors L, Leanderson P, Skoldstam L, Andersson J, Johansson G. Antioxidant intake, plasma antioxidants and oxidative stress in a randomized, controlled, parallel, Mediterranean dietary intervention study on patients with rheumatoid arthritis. *Nutr J*, 2(1): 5 (2003)
- 118.Halliwell B and Gutteridge JMC Free Radicals in Biology and Medicine. *University Press* New York: Oxford, 22-85 (1989)
- 119.Hamilton IM, Gilmore WS, Benzie IF, Mulholland CW, Strain JJ. Interactions between vitamins C and E in human subjects. *Br. J. Nutr*, 84(3): 261–267 (2000)
- 120.Hammerman C, Goldstein R, Kaplan M, Eran M, Goldschmidt D, Eidelman AI, Gartner LM. Bilirubin in the premature: toxic waste or natural defense? *Clin Chem*, 44(12): 2551-3 (1998)
- 121.Hayes KC, Pronczuk A, Liang JS. Differences in the plasma transport and tissue concentrations of tocopherols and tocotrienols: observations in humans and hamsters. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*, 202(3): 353–359 (1993)
- 122.Heijnen CG, Haenen GR, van Acker FA, van der Vijgh WJ, Bast A. Flavonoids as peroxynitrite scavengers: the role of the hydroxyl groups. *Toxicol In Vitro*, 15(1): 3-6 (2001)
- 123.Helmersson J, Mattsson P, Basu S. Prostaglandin F(2alpha) metabolite and F(2)-isoprostane excretion rates in migraine. *Clin Sci (Lond)*, 102(1): 39-43 (2002)
- 124.Hernanz A, Fernandez-Vivancos E, Montiel C, Vazquez JJ, Arnalich F. Changes in the intracellular homocysteine and glutathione content associated with aging. *Life Sci*, 67(11): 1317-24 (2000)
- 125.Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet*, 342(8878): 1007-11 (1993)
- 126.Hertog MG, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F, Giampaoli S, Jansen A, Menotti A, Nedeljkovic S, et al. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Intern Med*, 27/155(4): 381-6 (1995), *Erratum in: Arch Intern Med*, 12/155(11): 1184 (1995)
- 127.Hirvonen T, Pietinen P, Virtanen M, Ovaskainen ML, Hakkinen S, Albanes D, Virtamo J. Intake of flavonols and flavones and risk of coronary heart disease in male smokers. *Epidemiology*, 12(1): 62-7 (2001)
- 128.Hof PR. Morphology and neurochemical characteristics of the vulnerable neurons in brain aging and Alzheimer's disease. *Eur Neurol*, 37(2): 71-81 (1997)

- 129.Hollman PC, Bijlsman MN, van Gameren Y, Cnossen EP, Vries JH, Katan MB. The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radic. Res*, 31(6): 569-573 (1999)
- 130.Hollman PC, van Trijp JM, Buysman MN, van der Gaag MS, Mengelers MJ, de Vries JH, Katan MB. Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS Lett*, 418(1-2): 152-156 (1997)
- 131.Hollman PC, de Vries JH, Leeuwen SD, Mengelers MJ, Katan MB. Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am. J. Clin. Nutr*, 62(6): 1276-1282 (1995)
- 132.Hornig D. Metabolism of ascorbic acid. *World Rev Nutr Diet*, 23: 225-58 (1975)
- 133.Hosomi A, Arita M, Sato Y, Kiyose C, Ueda T, Igarashi O, Arai H, Inoue K. Affinity for alpha-tocopherol transfer protein as a determinant of the biological activities of vitamin E analogs. *FEBS Lett*, 409(1): 105-108 (1997)
- 134.Howard A, Chopra M, Thurnham D, Strain J, Fuhrman B, Aviram M. Red wine consumption and inhibition of LDL oxidation: what are the important components? *Med Hypotheses*, 59(1): 101-4 (2002)
- 135.Irwig MS, El-Sohemy A, Baylin A, Rifai N, Campos H. Frequent intake of tropical fruits that are rich in beta-cryptoxanthin is associated with higher plasma beta-cryptoxanthin concentrations in Costa Rican adolescents. *J Nutr*, 132(10): 3161-7 (2002)
- 136.Iwai K, Drake SK, Wehr NB, Weissman AM, LaVaute T, Minato N, Klausner RD, Levine RL, Rouault TA. Iron-dependent oxidation, ubiquitination, and degradation of iron regulatory protein-2: implications for degradation of oxidized proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 4924-4928 (1998)
- 137.Jackson MJ. An overview of methods for assessment of free radical activity in biology. *Proc Nutr Soc*, 58: 1001 (1999)
- 138.Joneson T and Bar-Sagi D. A Rac1 effector site controlling mitogenesis through superoxide production. *J Biol Chem*, 273: 17991-17994 (1998)
- de Jong N, Gibson RS, Thomson CD, Ferguson EL, McKenzie JE, Green TJ, Horwath CC. Selenium and zinc status are suboptimal in a sample of older New Zealand women in a community-based study. *J Nutr*, 131(10): 2677-84 (2001)
- 139.Jornot L, Junod AF. Variable glutathione levels and expression of antioxidant enzymes in human endothelial cells. *Am J Physiol*, 264(5 Pt 1): L482-9 (1993)

- 140.Kagan VE, Arroyo A, Tyurin VA, Tyurina YY, Villalba JM, Navas P. Plasma membrane NADH-coenzyme Q0 reductase generates semiquinone radicals and recycles vitamin E homologue in a superoxide-dependent reaction. *FEBS Lett*, 428(1-2): 43-6 (1998)
- 141.Kampa M, Nistikaki A, Tsaousis V, Maliaraki N, Notas G, Castanas E. A new automated method for the determination of the Total Antioxidant Capacity (TAC) of human plasma, based on the crocin bleaching assay. *BMC Clinical Pathology*, 2(3): 1-16 (2002)
- 142.Katiyar SK, Mukhtar H. Tea antioxidants in cancer chemoprevention. *J Cell Biochem*, 27: 59-67 (1997)
- 143.Kayden HJ and Traber MG. Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans. *J. Lipid. Res*, 34(3): 343-358 (1993)
- 144.Kerry N, Rice-Evans C. Inhibition of peroxynitrite-mediated oxidation of dopamine by flavonoid and phenolic antioxidants and their structural relationships. *J Neurochem*, 73(1): 247-53 (1999)
- 145.Keyse SM, Tyrrell RM. Heme oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblasts by UVA radiation, hydrogen peroxide, and sodium arsenite. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 86(1): 99-103 (1989)
- 146.Khachik F, Spangler CJ, Smith JC, Canfield LM, Steck A, Pfander H. Identification, quantification, and relative concentrations of carotenoids and their metabolites in human milk and serum. *Anal. Chem*, 69(10): 1873-1881 (1997)
- 147.Kiefer C, Hessel S, Lampert JM, Vogt K, Lederer MO, Breithaupt DE, von Lintig J. Identification and characterization of a mammalian enzyme catalyzing the asymmetric oxidative cleavage of provitamin A. *J. Biol. Chem*, 276(17): 14110-14116 (2001)
- 148.Kivits GAA, van der Sman FJP, Tijburg LBM. Analysis of catechins from green and black tea in humans: a specific and sensitive colorimetric assay of total catechins in biological fluids. *Int. J. Food Sci. Nutr*, 48: 387-392 (1997)
- 149.Kolonel LN, Hankin JH, Whittemore AS, Wu AH, Gallagher RP, Wilkens LR, John EM, Howe GR, Dreon DM, West DW, Paffenbarger RS Jr. Vegetables, fruits, legumes and prostate cancer: a multiethnic case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 9(8): 795-804 (2000)
- 150.Kroon PA, Faulds CB, Ryden P, Williamson G. Solubilisation of ferulic acid from plant cell wall materials in a model human gut system. *Biochem. Soc. Trans*, 24: 384-384 (1996)
- 151.Lamarco KL and Glew RH. Hydrolysis of a naturally occurring β -glucoside by a broad specificity β -glucoside from liver. *Biochem. J*, 237: 469-476 (1986)

- 152.Lambert JD, Yang CS. Cancer chemopreventive activity and bioavailability of tea and tea polyphenols. *Mutat Res*, 523-524: 201-8 (2003)
- 153.Lambert N, Kroon PA, Faulds CB, Plumb GW, McLauchlan WR, Day AJ, Williamson G. Purification of cytosolic beta-glucosidase from pig liver and its reactivity towards flavonoid glycosides. *Biochim. Biophys. Acta*, 1435(1-2): 110-116 (1999)
- 155.Lapidot T, Harel S, Granit R, Kanner J. Bioavailability of red wine anthocyanins as detected in human urine. *J. Agric. Food Chem*, 46: 4297-4302 (1998)
- 156.Laranjinha J, Cadenas E. Redox cycles of caffeic acid, alpha-tocopherol, and ascorbate: implications for protection of low-density lipoproteins against oxidation. *IUBMB Life*, 48(1): 57-65 (1999)
- 157.Lass A, Suessenbacher A, Wolkart G, Mayer B, Brunner F. Functional and analytical evidence for scavenging of oxygen radicals by L-arginine. *Mol Pharmacol*, 61(5): 1081-8 (2002)
- 158.La Vecchia C, Negri E, Levi F, Decarli A, Boyle P. Cancer mortality in Europe: effects of age, cohort of birth and period of death. *Eur J Cancer*, 34(1): 118-41 (1998)
- 159.Lawler JM, Song W. Specificity of antioxidant enzyme inhibition in skeletal muscle to reactive nitrogen species donors. *Biochem Biophys Res Commun*, 294(5): 1093-100 (2002)
- 160.Lee MJ, Maliakal P, Chen L, Meng X, Bondoc FY, Prabhu S, Lambert G, Mohr S, Yang CS. Pharmacokinetics of tea catechins after ingestion of green tea and (-)-epigallocatechin-3-gallate by humans: formation of different metabolites and individual variability. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 11(10 Pt 1): 1025-32 (2002)
- 161.Lee M-J, Wang Z-Y, Li H, Chen L, Sun Y, Gobbo S, Balentine DA, Yang CS. Analysis of plasma and urinary tea polyphenols in human subjects. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev*, 4: 393-399 (1995)
- 162.Leenen R, Roodenburg AJ, Vissers MN, Schuurbijs JA, van Putte KP, Wiseman SA, van de Put FH. Supplementation of plasma with olive oil phenols and extracts: influence on LDL oxidation. *J Agric Food Chem*, 50(5): 1290-7 (2002)
- 163.Leese HJ and Semenza G. On the identity between the small intestinal enzymes phlorizin hydrolase and glycosylceramidase. *J. Biol. Chem*, 248: 8170-8173 (1973)
- 164.Leo MA, Ahmed S, Aleynik SI, Siegel JH, Kasmin F, Lieber CS. Carotenoids and tocopherols in various hepatobiliary conditions. *J. Hepatol*, 23(5): 550-556 (1995)
- 165.Leontowicz M, Gorinstein S, Leontowicz H, Krzeminski R, Lojek A, Katrich E, Ciz M, Belloso OM, Fortuni RS, Haruenkit R, Trakhtenberg S. Apple and Peer Peel and Pulp and

- Their Influence on Plasma Lipids and Antioxidant Potentials In Rats Fed Cholesterol-Containing Diets. *J. Agric. Food Chem*, 51: 5780-5785 (2003)
- 166.van Lieshout M, West CE, Muhilal, Permaesih D, Wang Y, Xu X, van Breemen RB, Creemers AF, Verhoeven MA, Lugtenburg J. Bioefficacy of beta-carotene dissolved in oil studied in children in Indonesia. *Am J Clin Nutr*, 73(5): 949-58 (2001)
- 167.Lim VK. Free radicals and the pathogenesis of disease. *Med J Malaysia*, 48(4): 379-80 (1993)
- 168.Siow RC, Ishii T, Sato H, Taketani S, Leake DS, Sweiry JH, Pearson JD, Bannai S, Mann GE. Induction of the antioxidant stress proteins heme oxygenase-1 and MSP23 by stress agents and oxidised LDL in cultured vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett*, 368(2): 239-42 (1995)
- 169.Lissi E, Hanna MS, Pascual C, Castillo MD. Evaluation of Total Potential (TRAP) and Total Antioxidant Reactivity From Luminol-Enhanced Chemiluminescence Measurements. *Free Radical Biology & Medicine*, 18: 153-158 (1995)
- 170.Liu S, Lee IM, Ajani U, Cole SR, Buring JE, Manson JE; Physicians' Health Study. Intake of vegetables rich in carotenoids and risk of coronary heart disease in men: The Physicians' Health Study. *Int J Epidemiol*, 30(1): 130-5 (2001)
- 171.Lodge JK, Ridlington J, Leonard S, Vaule H, Traber MG. Alpha- and gamma-tocotrienols are metabolized to carboxyethyl-hydroxychroman derivatives and excreted in human urine. *Lipids*, 36(1): 43-48 (2001)
- 172.Ly JD, Lawen A. Transplasma membrane electron transport: enzymes involved and biological function. *Redox Rep*, 8(1): 3-21 (2003)
- 173.Macheix J-J, Fleuriet A, Billot J. Fruit Phenolics. *CRC Press Boca Raton, FL* (1990)
- 174.Maggi-Capeyron MF, Ceballos P, Cristol JP, Delbosc S, Le Doucen C, Pons M, Leger CL, Descomps B. Wine phenolic antioxidants inhibit AP-1 transcriptional activity. *J Agric Food Chem*, 49(11): 5646-52 (2001)
- 175.Mangels AR, Block G, Frey CM, Patterson BH, Taylor PR, Norkus EP, Levander OA. The bioavailability to humans of ascorbic acid from oranges, orange juice and cooked broccoli is similar to that of synthetic ascorbic acid. *J. Nutr*, 123(6): 1054-1061 (1993)
- 176.Manna C, Galletti P, Maisto G, Cucciolla V, D'Angelo S, Zappia V. Transport mechanism and metabolism of olive oil hydroxytyrosol in Caco-2 cells. *FEBS Lett*, 470(3): 341-4 (2000)

177. Mariken JTJ Arts, Guido RMM Haenen, Hans-Peter Voss, Aalt Bast. Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) assay. *Food & Chemical Toxicology*, 42: 45-49 (2004)
178. Marklund SL, Nilsson P, Israelsson K, Schampi I, Peltonen M, Asplund K. Two variants of extracellular-superoxide dismutase: relationship to cardiovascular risk factors in an unselected middle-aged population. *J Intern Med*, 242(1): 5-14 (1997)
179. Mateos R, Dominguez MM, Espartero JL, Cert A. Antioxidant effect of phenolic compounds, alpha-tocopherol, and other minor components in virgin olive oil. *J Agric Food Chem*, 51(24): 7170-5 (2003)
180. Maxwell S, Cruickshank A, Thorpe G. Red wine and antioxidant activity in serum. *Lancet*, 344: 193-194 (1994)
181. May JM, Qu ZC, Whitesell RR. Ascorbate is the major electron donor for a transmembrane oxidoreductase of human erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1238(2): 127-136 (1995)
182. McAnlis GT, McEneny J, Pearce J, Young IS. Black tea consumption does not protect Low Density Lipoprotein from oxidative modification. *Eur J Clin Nutr*, 52(3): 202-6 (1998)
183. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem*, 244(22): 6049-55 (1969)
184. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med*, 108(8): 652-9 (2000)
185. McKay DL, Perrone G, Rasmussen H, Dallal G, Hartman W, Cao G, Prior RL, Roubenoff R, Blumberg JB. The effects of a multivitamin/mineral supplement on micronutrient status, antioxidant capacity and cytokine production in healthy older adults consuming a fortified diet. *J Am Coll Nutr*, 19(5): 613-21 (2000)
186. Meister A. Glutathione biosynthesis and its inhibition. *Methods Enzymol*, 252: 26-30 (1995)
187. Sies H. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic Biol Med*, 27(9-10): 916-21 (1999)
188. Melchert HU, Pabel E. The tocopherol pattern in human serum is markedly influenced by intake of vitamin E drugs: results of the German National Health Surveys, 75: 213-216 (1998)
189. Milbury PE, Cao G, Prior RL, Blumberg J. Bioavailability of elderberry anthocyanins. *Mech Ageing Dev*, 123(8): 997-1006 (2002)

190. Miller AB, Altenburg HP, Bueno-de-Mesquita B, Boshuizen HC, Agudo A, Berrino F, Gram IT, Janson L, Linseisen J, Overvad K, Rasmuson T, Vineis P, Lukanova A, Allen N, Amiano P, Barricarte A, Berglund G, Boeing H, Clavel-Chapelon F, Day NE, Hallmans G, Lund E, Martinez C, Navarro C, Palli D, Panico S, Peeters PH, Quiros JR, Tjønneland A, Tumino R, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Slimani N, Riboli E. Fruits and vegetables and lung cancer: Findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Cancer*, 108(2): 269-76 (2004), *Erratum in: Int J Cancer*, 108(6): 945 (2004)
191. Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett*, 384(3): 240-2 (1996)
192. Miro-Casas E, Farre Albaladejo M, Covas MI, Rodriguez JO, Menoyo Colomer E, Lamuela Raventos RM, de la Torre R. Capillary gas chromatography-mass spectrometry quantitative determination of hydroxytyrosol and tyrosol in human urine after olive oil intake. *Anal Biochem*, 294(1): 63-72 (2001)
193. Miyazawa T, Nakagawa K, Kudo M, Muraishi K, Someya K. Direct intestinal absorption of red fruit anthocyanins, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3,5-diglucoside, into rats and humans. *J. Agric. Food Chem*, 47(3): 1083-1091 (1999)
194. Moat SJ, Bonham JR, Powers HJ. Role of aminothiols as a component of the plasma antioxidant system and relevance to homocysteine-mediated vascular disease. *Clin Sci (Lond)*, 100(1): 73-9 (2001)
195. Mohazzab KM and Wolin MS. Properties of a superoxide anion-generating microsomal NADH oxidoreductase, a potential pulmonary artery PO₂ sensor. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 267: 823-831 (1994)
196. Montine TJ, Markesbery WR, Zackert W, Sanchez SC, Roberts LJ 2nd, Morrow JD. The magnitude of brain lipid peroxidation correlates with the extent of degeneration but not with density of neuritic plaques or neurofibrillary tangles or with APOE genotype in Alzheimer's disease patients. *Am J Pathol*, 155(3): 863-8 (1999)
197. Monti SM, Ritieni A, Sacchi R, Skog K, Borgen E, Fogliano V. Characterization of phenolic compounds in virgin olive oil and their effect on the formation of carcinogenic/mutagenic heterocyclic amines in a model system. *J Agric Food Chem*, 49(8): 3969-75 (2001)
198. Moreno JJ. Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7. *Free Radic Biol Med*, 35(9): 1073-81 (2003)

- 199.Mulder TP, van Platerink CJ, Wijnand Schuyl PJ, van Amelsvoort JM. Analysis of theaflavins in biological fluids using liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 760(2): 271-9 (2001)
- 200.Nakagawa K, Okuda S, Miyazawa T. Dose-dependent incorporation of tea catechins, (-)-epigallocatechin-3-gallate and (-)-epigallocatechin, into human plasma. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 61: 1981-1985 (1997)
- 201.Nanji AA, Khwaja S, Sadrzadeh SM. Eicosanoid production in experimental alcoholic liver disease is related to vitamin E levels and lipid peroxidation. *Mol Cell Biochem*, 9/140(1): 85-9 (1994)
- 202.Nardini M, Cirillo E, Natella F, Scaccini C. Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption. *J Agric Food Chem*, 50(20): 5735-41 (2002)
- 203.Natella F, Nardini M, Gianneti I, Dattilo C, Scaccini C. Coffee Drinking Influences Plasma Antioxidant Capacity in Humans. *J. Agric Food Chem*, 50: 6211-6216 (2002)
- 204.Ness AR, Powles JW. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease. *Int J Epidemiol*, 26(1): 1-13 (1997)
- 205.Neyens E, Baeyens J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. *J Hazard Mater*, 98(1-3): 33-50 (2003)
- 206.Noroozi M, Angerson WJ, Lean ME. Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. *Am J Clin Nutr*, 67(6): 1210-8 (1998)
- 206.Ohrvall M, Tengblad S, Vessby B. Tocopherol concentrations in adipose tissue. Relationships of tocopherol concentrations and fatty acid composition in serum in a reference population of Swedish men and women. *Eur. J. Clin. Nutr*, 48(3): 212-218 (1994)
- 207.Olthof MR, Hollman PC, Katan MB. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *J. Nutr*, 131(1): 66-71 (2001)
- 208.van Overveld FW, Haenen GR, Rhemrev J, Vermeiden JP, Bast A. Tyrosine as important contributor to the antioxidant capacity of seminal plasma. *Chem Biol Interact*, 127(2): 151-61 (2000)
- 209.Owen RW, Haubner R, Mier W, Giacosa A, Hull WE, Spiegelhalter B, Bartsch H. Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. *Food Chem Toxicol*, 41(5): 703-17 (2003)
- 210.Padayatty SJ, Levine M. Vitamin C and coronary microcirculation. *Circulation*, 103(23): 117 (2001)

- 211.Paetau I, Chen H, Goh NM, White WS. Interactions in the postprandial appearance of beta-carotene and canthaxanthin in plasma triacylglycerol-rich lipoproteins in humans. *Am. J. Clin. Nutr*, 66(5): 1133–1143 (1997)
- 212.Pahl HL and Baeuerle PA. The ER-overload response: activation of NF-kappa B. *Trends Biochem Sci*, 22: 63-67 (1997)
- 212.Pansarasa O, Felzani G, Vecchiet J, Marzatico F. Antioxidant pathways in human aged skeletal muscle: relationship with the distribution of type II fibers. *Exp Gerontol*, 37(8-9): 1069-75 (2002)
- 213.Parker RS, Sontag TJ, Swanson JE. Cytochrome P4503A-dependent metabolism of tocopherols and inhibition by sesamin. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 277(3): 531–534 (2000)
- 214.Parker RS and Swanson JE. A novel 5'-carboxychroman metabolite of gamma-tocopherol secreted by HepG2 cells and excreted in human urine. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 269(2): 580–583 (2000)
- 215.Pellegrini N, Visioli F, Buratti S, Brighenti F. Direct analysis of total antioxidant activity of olive oil and studies on the influence of heating. *J Agric Food Chem*, 49(5): 2532-8 (2001)
- Peng YM, Peng YS, Childers JM, Hatch KD, Roe DJ, Lin Y, Lin P. Concentrations of carotenoids, tocopherols, and retinol in paired plasma and cervical tissue of patients with cervical cancer, precancer, and noncancerous diseases. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*, 7(4): 347–350 (1998)
- 216.Petroni A, Blasevich M, Salami M, Papini N, Montedoro GF, Galli C. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thromb Res*, 78(2): 151-60 (1995)
- 217.Pieri C, Marra M, Moroni F, Recchioni R, Marcheselli F. Melatonin: a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E. *Life Sci*, 55(15): 271-6 (1994)
- 218.Pineda JA, Aono M, Sheng H, Lynch J, Wellons JC, Laskowitz DT, Pearlstein RD, Bowler R, Crapo J, Warner DS. Extracellular superoxide dismutase overexpression improves behavioral outcome from closed head injury in the mouse. *J Neurotrauma*, 18(6): 625-34 (2001)
- 218.Pirisi FM, Cabras P, Cao CF, Migliorini M, Muggelli M. Phenolic compounds in virgin olive oil. 2. Reappraisal of the extraction, HPLC separation, and quantification procedures. *J Agric Food Chem*, 48(4): 1191-6 (2000)

- 219.Piskula MK and Terao J. Accumulation of (-)-epicatechin metabolites in rat plasma after oral administration and distribution of conjugation enzymes in rat tissues. *J. Nutr*, 128: 1172-1178 (1998)
- 220.Plumb GW, Garcia Conesa MT, Kroon PA, Rhodes M, Ridley S, Williamson G. Metabolism of chlorogenic acid by human plasma, liver, intestine and gut microflora. *J. Sci. Food Agric*, 79: 390-392 (1999)
- 221.Pope SA, Clayton PT, Muller DP. A new method for the analysis of urinary vitamin E metabolites and the tentative identification of a novel group of compounds. *Arch. Biochem. Biophys*, 381(1): 8-15 (2000)
- 222.Popov I, Volker H, Lewin G. Photochemiluminescence detection of antiradical activity. V. Application in combination with the hydrogen peroxide-initiated chemiluminescence of blood plasma proteins to evaluate antioxidant homeostasis in humans. *Redox Report*, 6(1) (2001)
- 223.Porrini M and Riso P. Lymphocyte lycopene concentration and DNA protection from oxidative damage is increased in women after a short period of tomato consumption. *J. Nutr*, 130(2): 189-192 (2000)
- 224.Potter JD, Steinmetz K. Vegetables, fruit and phytoestrogens as preventive agents. Cancer Prevention Research Program, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, Washington, USA (2002)
- 225.Powles TJ, Hickish T, Kanis JA, Tidy A, Ashley S. Effect of tamoxifen on bone mineral density measured by dual-energy x-ray absorptiometry in healthy premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Oncol*, 14(1): 78-84 (1996)
- 226.Pratico D, Iuliano L, Basili S, Ferro D, Camastra C, Cordova C, FitzGerald GA, Violi F. Enhanced lipid peroxidation in hepatic cirrhosis. *J Investig Med*, 46(2): 51-7 (1998)
- 227.Princen HM, van Duyvenvoorde W, Buytenhek R, Blonk C, Tijburg LB, Langius JA, Meinders AE, Pijl H. No effect of consumption of green and black tea on plasma lipid and antioxidant levels and on LDL oxidation in smokers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 18(5): 833-41 (1998)
- 228.Prior RL, Hoang H, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L, Woodill MH, Huang D, Ou B, Jacob R. Assays of hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC_H)) of plasma and other biological and food samples. *J. Agric. Food Chem*, 51: 3273-3279 (2003)

- 229.Pulido R, Bravo L, Calixto FS. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified Ferric Reducing/Antioxidant Power. *J. Agric. Food. Chem*, 48: 3396-3402 (2000)
- 230.Quinn PJ, Fabisiak JP, Kagan VE. Expansion of antioxidant function of vitamin E by coenzyme Q. *Biofactors*, 9(2-4): 149-54 (1999)
- 231.Ragione FD, Cucciolla V, Borriello A, Pietra VD, Pontoni G, Racioppi L, Manna C, Galletti P, Zappia V. Hydroxytyrosol, a natural molecule occurring in olive oil, induces cytochrome c-dependent apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 278(3): 733-9 (2000)
- 231.Rantanen T, Penninx BW, Masaki K, Lintunen T, Foley D, Guralnik JM. Depressed mood and body mass index as predictors of muscle strength decline in old men. *J Am Geriatr Soc*, 48(6): 613-7 (2000)
- 232.Rassaf T, Kleinbongard P, Preik M, Dejam A, Gharini P, Lauer T, Erckenbrecht J, Duschin A, Schulz R, Heusch G, Feelisch M, Kelm M. Plasma nitrosothiols contribute to the systemic vasodilator effects of intravenously applied NO: experimental and clinical Study on the fate of NO in human blood. *Circ Res*, 91(6): 470-7 (2002)
- 233.Reaven P. Dietary and pharmacologic regimens to reduce lipid peroxidation in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*, 62(6): 1483-1489 (1995)
- 234.Rechner AR, Kuhnle G, Bremner P, Hubbard GP, Moore KP, Rice-Evans CA. The metabolic fate of dietary polyphenols in humans. *Free Radic Biol Med*, 15/33(2): 220-35 (2002)
- 235.Rechner AR, Spencer JP, Kuhnle G, Hahn U, Rice-Evans CA. Novel biomarkers of the metabolism of caffeic acid derivatives in vivo. *Free Radic. Biol. Med*, 30(11): 1213-1222 (2001)
- 236.Redmond EM, Cahill PA, Hodges R, Zhang S, Sitzmann JV. Regulation of endothelin receptors by nitric oxide in cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Cell Physiol*, 166(3): 469-79 (1996)
- 236.Redmond TM, Gentleman S, Duncan T, Yu S, Wiggert B, Gantt E, Cunningham FX. Identification, expression, and substrate specificity of a mammalian beta-carotene 15,15'-dioxygenase. *J. Biol. Chem*, 276(9): 6560-6565 (2001)
- 237.Re R, Fraser PD, Long M, Bramley PM, Rice-Evans C. Isomerization of lycopene in the gastric milieu. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 281(2): 576-581 (2001)
- 238.Ribaya-Mercado JD, Ordovas JM, Russell RM. Effect of beta-carotene supplementation on the concentrations and distribution of carotenoids, vitamin E, vitamin A, and cholesterol in

- plasma lipoprotein and non-lipoprotein fractions in healthy older women. *J. Am. Coll. Nutr*, 14(6): 614–620 (1995)
239. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med*, 20(7): 933-56 (1996), *Erratum in: Free Radic Biol Med*, 21(3): 417 (1996)
240. Richelle M, Tavazzi I, Offord E. Comparison of the antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (coffee, cocoa, and tea) prepared per cup serving. *J Agric Food Chem*, 49(7): 3438-42 (2001)
241. Riedl J, Linseisen J, Hoffmann J, Wolfram G. Some dietary fibers reduce the absorption of carotenoids in women. *J. Nutr*, 129(12): 2170–2176 (1999)
242. Riemersma RA, Rice-Evans CA, Tyrrell RM, Clifford MN, Lean ME. Tea flavonoids and cardiovascular health. *QJM*, 94(5): 277-82 (2001)
243. Rigo A, Vianello F, Clementi G, Rossetto M, Scarpa M, Vrhovsek U, Mattivi F. Contribution of proanthocyanidins to the peroxy radical scavenging capacity of some Italian red wines. *J Agric Food Chem*, 48(6): 1996-2002 (2000)
244. Rimm EB, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Willett WC. Relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals. *Ann Intern Med*, 125(5): 384-9 (1996)
245. Rios LY, Bennett RN, Lazarus SA, Remesy C, Scalbert A, Williamson G. Cocoa procyanidins are stable during gastric transit in humans. *Am J Clin Nutr*, 76(5): 1106-10 (2002)
246. Rissanen T, Voutilainen S, Nyyssonen K, Salonen JT. Lycopene, atherosclerosis, and coronary heart disease. *Exp Biol Med (Maywood)*, 227(10): 900-7 (2002)
247. Roche HM, Zampelas A, Knapper JM, Webb D, Brooks C, Jackson KG, Wright JW, Gould BJ, Kafatos A, Gibney MJ, Williams CM. Effect of long-term olive oil dietary intervention on postprandial triacylglycerol and factor VII metabolism. *Am J Clin Nutr*, 68(3): 552-60 (1998)
248. Welch RW, Bergsten P, Butler JD, Levine M. Ascorbic acid accumulation and transport in human fibroblasts. *Biochem J*, 294 (2): 505-10 (1993)
249. Roodenburg AJ, Leenen R, het Hof KH, Weststrate JA, Tijburg LB. Amount of fat in the diet affects bioavailability of lutein esters but not of alpha-carotene, beta-carotene, and vitamin E in humans. *Am. J. Clin. Nutr*, 71(5): 1187–1193 (2000)
250. Rottmann SM, Aspillaga AA, Perez DD, Vasquez L, Martinez ALF, Leighton F. Juice and phenolic fractions of the berry *Aristotelia chilensis* inhibit LDL oxidation in vitro and

- protect human endothelial cells against oxidative stress. *J. Agric. Food Chem*, 50: 7542-7547 (2002)
- 251.Roxborough HE, Burton GW, Kelly FJ. Inter- and intra-individual variation in plasma and red blood cell vitamin E after supplementation. *Free Radic. Res*, 33(4): 437-445 (2000)
- 252.Rustow B, Haupt R, Stevens PA, Kunze D. Type II pneumocytes secrete vitamin E together with surfactant lipids. *Am. J. Physiol*, 265(2): 133-139 (1993)
- 253.Salah N, Miller NJ, Paganga G, Tijburg L, Bolwell GP, Rice-Evans C. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Arch Biochem Biophys*, 322(2): 339-46 (1995)
- 254.Salami M, Galli C, De Angelis L, Visioli F. Formation of F2-isoprostanes in oxidized Low Density Lipoprotein: inhibitory effect of hydroxytyrosol. *Pharmacol Res*, 31(5): 275-9 (1995)
- 255.Salonen JT, Nyyssonen K, Salonen R, Lakka HM, Kaikkonen J, Porkkala-Sarataho E, Voutilainen S, Lakka TA, Rissanen T, Leskinen L, Tuomainen TP, Valkonen VP, Ristonmaa U, Poulsen HE. Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention (ASAP) study: a randomized trial of the effect of vitamins E and C on 3-year progression of carotid atherosclerosis. *J. Intern. Med*, 248(5): 377-386 (2000)
- 256.Salonen JT, Salonen R, Ihanainen M, Parviainen M, Seppanen R, Kantola M, Seppanen K, Rauramaa R. Blood pressure, dietary fats, and antioxidants. *Am J Clin Nutr*, 48(5): 1226-32 (1988)
- 257.Samiec PS, Drews-Botsch C, Flagg EW, Kurtz JC, Sternberg P Jr, Reed RL, Jones DP. Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes. *Free Radic Biol Med*, 24(5): 699-704 (1998)
- 258.Sanbongi C, Suzuki N, Sakane T. Polyphenols in chocolate, which have antioxidant activity, modulate immune functions in humans in vitro. *Cell Immunol*, 1:177(2): 129-36 (1997)
- 259.Sasazuki S, Kodama H, Yoshimasu K, Liu Y, Washio M, Tanaka K, Tokunaga S, Kono S, Arai H, Doi Y, Kawano T, Nakagaki O, Takada K, Koyanagi S, Hiyamuta K, Nii T, Shirai S, Ideishi M, Arakawa K, Mohri M, Takeshita A. Relation between green tea consumption and the severity of coronary atherosclerosis among Japanese men and women. *Ann Epidemiol*, 10(6): 401-8 (2000)
- 261.Saucier CT, Waterhouse AL. Synergetic activity of catechin and other antioxidants. *J Agric Food Chem*, 47(11): 4491-4 (1999)

- 262.Scalbert A, Morand C, Manach C, Remesy C. Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomed Pharmacother*, 56(6): 276-82 (2002)
- 263.Scalbert A and Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr*, 130(8): 2073–2085 (2000)
- 264.Scheline RR. Metabolism of oxygen heterocyclic compounds. In: *CRC Handbook of Mammalian Metabolism of Plant Compounds*, CRC Press: Boca Ranton (1991), 279–284
- 265.Schneider H, Schwiertz A, Collins MD, Blaut M. Anaerobic transformation of quercetin-3-glucoside by bacteria from the human intestinal tract. *Arch. Microbiol*, 171: 81-91 (1999)
- de Vries JH, Hollman PC, van Amersfoort I, Olthof MR, Katan MB. Red wine is a poor source of bioavailable flavonols in men. *J Nutr*, 131(3): 745-8 (2001)
- 266.Schuelke M, Elsner A, Finckh B, Kohlschutter A, Hubner C, Brigelius-Flohe R. Urinary alpha-tocopherol metabolites in alpha-tocopherol transfer protein-deficient patients. *J. Lipid. Res*, 41(10): 1543–1551 (2000)
- 267.Schultz M, Leist M, Petrzika M, Gassmann B, Brigelius-Flohe R. Novel urinary metabolite of alpha-tocopherol, 2,5,7,8-tetramethyl-2(2'-carboxyethyl)-6-hydroxychroman, as an indicator of an adequate vitamin E supply?. *Am. J. Clin. Nutr*, 62(6): 1527–1534 (1995)
- 268.Sentman ML, Brannstrom T, Westerlund S, Laukkanen MO, Yla-Herttuala S, Basu S, Marklund SL. Extracellular superoxide dismutase deficiency and atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21(9): 1477-82 (2001)
- 269.Serafini M, Ghiselli A, Ferro-Luzzi A. In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *Eur. J. Clin. Nutr*, 50: 28-32 (1996)
- 270.Serafini M, Maiani G, Ferro-Luzzi A. Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *J. Nutr*, 128: 1003-1007 (1998)
- 271.Shahidi F and Naczki M. Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, *Applications Technomic Publishing Co. Inc Lancaster* (1995)
- 271.Shanmuganayagam D, Beahm MR, Osman HE, Krueger CG, Reed JD, Folts JD. Grape seed and grape skin extracts elicit a greater antiplatelet effect when used in combination than when used individually in dogs and humans. *J Nutr*, 132(12): 3592-8 (2002)
- 272.Singh RP, Murthy C, Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of Promegramate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *J. Agric. Food Chem*, 50: 81-86 (2002)
- 273.Singleton VL, Esau P. Phenolic substances in grapes and wine, and their significance. *Adv Food Res Suppl*, 1: 1-261 (1969)

- 274.Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention. *J Clin Lab Anal*, 11(5): 287-313 (1997)
- 275.Spencer JP, Chaudry F, Pannala AS, Srai SK, Debnam E, Rice-Evans C. Decomposition of cocoa procyanidins in the gastric milieu. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 272(1): 236–241 (2000)
- 276.Stahl W, Heinrich U, Jungmann H, Tronnier H, Sies H. Carotenoids in human skin: noninvasive measurement and identification of dermal carotenoids and carotenol esters. *Meth. Enzymol*, 319: 494–502 (2000a)
- 277.Stahl W, van den Berg H, Arthur J, Bast A, Dainty J, Faulks RM, Gartner C, Haenen G, Hollman P, Holst B, Kelly FJ, Polidori MC, Rice-Evans C, Southon S, van Vliet T, Vina-Ribes J, Williamson G, Astley SB. Bioavailability and metabolism. *Institut fur Physiologische Chemie I, Dusseldorf, Germany, IARC Sci Publ.* 139: 61-90 (1996), *Mol Aspects Med*, 23(1-3): 39-100 (2002)
- 278.Stensvold I, Urdal P, Thurmer H, Tverdal A, Lund-Larsen PG, Foss OP. High-density lipoprotein cholesterol and coronary, cardiovascular and all cause mortality among middle-aged Norwegian men and women. *Eur Heart J*, 13(9): 1155-63 (1992)
- 279.Stocker A, Zimmer S, Spycher SE, Azzi A. Identification of a novel cytosolic tocopherol-binding protein: structure, specificity, and tissue distribution. *IUBMB Life*. 48(1): 49–55 (1999)
- 280.Strassburg CP, Nguyen N, Manns MP, Tukey RH. Polymorphic expression of the UDP-glucuronosyltransferase UGT1A gene locus in human gastric epithelium. *Mol. Pharmacol*, 54: 647-654 (1998)
- 281.Sunde RA. Selenium. In: B.L. O'Dell and R.A. Sunde, Editors, *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements*, Marcel Dekker, New York (1997), 493–556
- 282.Swanson JE, Ben RN, Burton GW, Parker RS. Urinary excretion of 2,7,8-trimethyl-2-(beta-carboxyethyl)-6-hydroxychroman is a major route of elimination of gamma-tocopherol in humans. *J. Lipid Res*, 40(4): 665–671 (1999)
- 283.Taketani S, Sato H, Yoshinaga T, Tokunaga R, Ishii T, Bannai S. Induction in mouse peritoneal macrophages of 34 kDa stress protein and heme oxygenase by sulfhydryl-reactive agents. *J Biochem (Tokyo)*, 108(1): 28-32 (1990)
- 284.Tang G, Qin J, Dolnikowski GG, Russell RM. Vitamin A equivalence of beta-carotene in a woman as determined by a stable isotope reference method. *Eur. J. Nutr*, 39(1): 7–11 (2000)
- 285.Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. *Biomed Pharmacother*, 57(3-4): 134-44 (2003)

- 286.Thannickal VJ and Fanburg BL. Activation of an H₂O₂-generating NADH oxidase in human lung fibroblasts by transforming growth factor beta 1. *J Biol Chem*, 270: 30334-30338 (1995)
- 287.Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 279(6): 1005-28 (2000)
- 288.Thomson CD, Robinson MF. The changing selenium status of New Zealand residents. *Eur J Clin Nutr*, 50(2): 107-14 (1996)
- 289.Tijburg LB, Mattern T, Folts JD, Weisgerber UM, Katan MB. Tea flavonoids and cardiovascular disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 37(8): 771-85 (1997)
- 290.Touyz RM, Schiffrin EL. Ang II-stimulated superoxide production is mediated via phospholipase D in human vascular smooth muscle cells. *Hypertension*, 34(4 Pt 2): 976-82 (1999)
- 291.Tovar MJ, Motilva MJ, Romero MP. Changes in the phenolic composition of virgin olive oil from young trees (*Olea europaea* L. cv. Arbequina) grown under linear irrigation strategies. *J Agric Food Chem*, 49(11): 5502-8 (2001)
- 292.Turunen M, Sindelar P, Dallner G. Induction of endogenous coenzyme Q biosynthesis by administration of peroxisomal inducers. *Biofactors*, 9(2-4): 131-9 (1999)
- 293.Tyler DD, Newton J. Inhibition of succinate oxidation and transport into mitochondria by metal-complexing agents. *FEBS Lett*, 8(6): 325-327 (1970)
- 294.Ursini F, Maiorino M, Gregolin C. The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta*, 839(1): 62-70 (1985)
- 295.Vigotti MA, Rossi G, Zanobetti A, Benvenuti A, Repetto F, Bisanti L, Gianelle V, Lavecchia C, Azzolini L. Air pollution and daily mortality among Milan residents, 1980-89. (Preliminary results) *Epidemiol Prev*, 19(62): 85-9 (1995)
- 296.Villalba JM, Navarro F, Cordoba F, Serrano A, Arroyo A, Crane FL, Navas P. Coenzyme Q reductase from liver plasma membrane: purification and role in trans-plasma-membrane electron transport. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92(11): 4887-91 (1995)
- 297.Villalba JM, Navas P. Plasma membrane redox system in the control of stress-induced apoptosis. *Antioxid Redox Signal*, 2(2): 213-30 (2000)
- 298.Villalba R, Concha M, Gomez-Villagran JL. Tetrazolium reductase activity in human heart valves. *Ann Thorac Surg*, 66(5): 1864-5 (1998)
- 299.Vina J, Sastre J, Anton V, Bruseghini L, Esteras A, Asensi M. Effect of aging on glutathione metabolism. Protection by antioxidants. *EXS*, 62: 136-44 (1992)

- 300.Visioli F, Bellomo G, Galli C. Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochem Biophys Res Commun*, 247(1): 60-4 (1998)
- 301.Visioli F, Bellomo G, Montedoro G, Galli C. Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis*, 117(1): 25-32 (1995)
- 302.Visioli F, Borsani L, Galli C. Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovasc Res*, 47(3): 419-25 (2000)
- 303.Visioli F, Galli C. Oleuropein protects low density lipoprotein from oxidation. *Life Sci*, 55(24): 1965-71 (1994)
- 304.van Vliet T, van Schaik F, Schreurs WH, van Den BH. In vitro measurement of beta-carotene cleavage activity: methodological considerations and the effect of other carotenoids on beta-carotene cleavage. *Int. J. Vitam. Nutr. Res*, 66(1): 77-85 (1996a)
- 305.Walgren RA, Lin JT, Kinne RK, Walle T. Cellular uptake of dietary flavonoid quercetin 4'-beta-glucoside by sodium-dependent glucose transporter SGLT1. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, 294(3): 837-843 (2000)
- 306.Walle T, Eaton EA, Walle UK. Quercetin, a potent and specific inhibitor of the human P-form phenolsulfotransferase. *Biochem. Pharmacol.* 50: 731-734 (1995)
- 307.Wang, D, Youngson C, Wong V, Yeger H, Dinauer MC, Vega-Saenz Miera E, Rudy B, Cutz E. NADPH-oxidase and a hydrogen peroxide-sensitive K^+ channel may function as an oxygen sensor complex in airway chemoreceptors and small cell lung carcinoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 13182-13187 (1996)
- 308.Wang XL, Rainwater DL, VandeBerg JF, Mitchell BD, Mahaney MC. Genetic contributions to plasma total antioxidant activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21(7): 1190-5 (2001)
- 309.Yang CS, Landau JM. Effects of tea consumption on nutrition and health. *J Nutr*, 130(10): 2409-12 (2000)
- 310.Wan Y, Vinson JA, Etherton TD, Proch J, Lazarus SA, Kris-Etherton PM. Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. *Am J Clin Nutr*, 74(5): 596-602 (2001)
- 311.Weisburger JH. Eat to live, not live to eat. *Nutrition*, 16(9): 767-73 (2000)
- Whitehead T P, Robinson D, Allaway S, Syms J, Hale A. Effect of red wine ingestion on the antioxidant capacity of serum. *Clin. Chem*, 41: 32-35 (1995)
- 312.Wichtel JJ. A review of selenium deficiency in grazing ruminants part 1: new roles for selenium in ruminant metabolism. *NZ Vet. J*, 46: 47-52 (1998a)

- van de Wiel A, van Golde PH, Hart HC. Blessings of the grape. *Eur J Intern Med*, 12(6): 484-489 (2001)
- 313.Willet K, Vaz de Macedo D, Detry O, Evens A, da Silva LP, Sluse FE. Mitochondrial oxidative phosphorylation injuries occurring in situ and in vitro. *Transplant Proc*, 27(5): 2827-8 (1995)
- 314.Williams CA, Toscano De Brito AL, Harborne JB, Eagles J, Waterman PG. Methylated C-glycosylflavones as taxonomic markers in orchids of the subtribe Ornithocephalinae. *Phytochemistry*, 37(4): 1045-53 (1994)
- 315.Wormhoudt LW, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Genetic polymorphisms of human N-acetyltransferase, cytochrome P450, glutathione-S-transferase, and epoxide hydrolase enzymes: relevance to xenobiotic metabolism and toxicity. *Crit. Rev. Toxicol*, 29: 59-124 (1999)
- 316.Wu G and Meininger CJ. Regulation of nitric oxide synthesis by dietary factors. *Annu Rev Nutr*, 22: 61 (2002)
- 317.Wu G and Meininger CJ. Arginine nutrition and cardiovascular function. *J Nutr*, 130: 2626 (2000)
- 318.Wyss A, Wirtz G, Woggon W, Brugger R, Wyss M, Friedlein A, Bachmann H, Hunziker W. Cloning and expression of beta, beta-carotene 15,15'-dioxygenase. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 271(2): 334-336 (2000)
- 319.Yang CS, Chen LS, Lee MJ, Balentine D, Kuo MC, Schantz SP. Blood and urine levels of tea catechins after ingestion of different amounts of green tea by human volunteers. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev*, 7: 351-354 (1998)
- 320.Yang CS, Lee MJ, Chen L. Human salivary tea catechin levels and catechin esterase activities: implication in human cancer prevention studies. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*, 8(1): 83-89 (1999)
- 321.Yochum L, Kushi LH, Meyer K, Folsom AR. Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. *Am J Epidemiol*, 150(10): 943-9 (1999), *Erratum in: Am J Epidemiol*, 150(4): 432 (1999)
- 322.Yoshizawa M, Miyazaki H, Kojima S. Retinoids potentiate transforming growth factor-beta activity in bovine endothelial cells through up-regulating the expression of transforming growth factor-beta receptors. *J Cell Physiol*, 176(3): 565-73 (1998)
- 323.Zimmer S, Stocker A, Sarbolouki MN, Spycher SE, Sassoon J, Azzi A. A novel human tocopherol-associated protein: cloning, in vitro expression, and characterization. *J. Biol. Chem*, 275(33): 25672-25680 (2000)

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

1. Combs G and Anderson JJB (10thtd) «Vitamins and Minerals Krause's» In: Food, Nutrition & Diet Therapy. Mahan LK and Escott-Stump S, W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, New York, St. Luis, Toronto, p.p: 67
2. Μπόσκου Δ (1997) «Άλλα επιθυμητά συστατικά των τροφίμων και χημικά πρόσθετα» Χημεία Τροφίμων, Μπόσκου Δ, Εκδόσεις Γαργατάνη, Θεσσαλονίκη, σελ: 240
3. Συντώσης Λ, Σκενδέρη Κ, Κούτσαρη Χ (2002) «Ανόργανα συστατικά» Διατροφή & Μεταβολισμός (σημειώσεις), Συντώσης Λ, Σκενδέρη Κ, Κούτσαρη Χ, Αθήνα, σελ: 95
4. Χίου ΑΠ (2003) «Πολυφαινόλες» Φυτικοχημεία και Βιοχημεία Τροφίμων, Χίου ΑΠ (σημειώσεις φροντιστηρίου), Αθήνα, σελ: 2

ΔΙΕΥΘΥΝΣΕΙΣ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟΥ:

<http://www.sifst.org.sg/article-natural-antioxidants.htm>

ΑΝΤΙΟΞΕΙΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΝΤΥ ΠΑΝ
ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΟΝ...

ΠΑΝΟΥ ΙΟΥΛ.

13085

10049

**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



★ 1 3 0 8 5 ★