

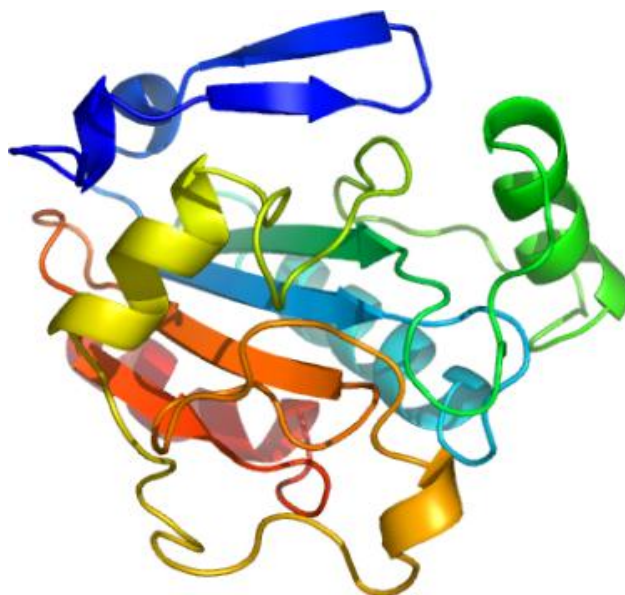


ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών Χαροκοπείου Πανεπιστημίου:
«Εφαρμοσμένη Διαιτολογία-Διατροφή»

Μεταπτυχιακή Διατριβή:

*«Επίδραση Διατροφικών Συνηθειών Παιδιών Στα Επίπεδα Της Υπεροξειδάσης
Της Γλουταθειόνης Του Πλάσματος»*



Σιατίτσα Παρασκευή-Ειρήνη

Τριμελή Επιτροπή:

Νομικός Τζώρτζης: Επιβλέπων καθηγητής

Αντωνοπούλου Σμαραγδή

Μανιός Ιωάννης

Αθήνα 2011



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

*«Επίδραση Διατροφικών Συνηθειών Παιδιών Στα Επίπεδα Της Υπεροξειδάσης
Της Γλουταθειόνης Του Πλάσματος»*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Καταρχάς θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Νομικό Τζώρτζη για την πολύτιμη καθοδήγηση και στήριξη που είχα κατά την εκπόνηση της μεταπτυχιακής μου διατριβής αλλά και για την απλόχερη και ουσιαστική βοήθεια που μου προσέφερε. Επίσης τα μέλη της επιτροπής μου κ. Μανιό Ιωάννη και Αντωνοπούλου Σμαραγδή για τις γνώσεις που μου προσέφεραν κατά τη διάρκεια των σπουδών μου. Επίσης θέλω να ευχαριστήσω τον κύριο Μοσχώνη Γιώργο γιατί για άλλη μία φορά ήταν δίπλα μου και με τις γνώσεις και την υπομονή του με βοήθησε ουσιαστικά στην ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής μου διατριβής. Ευχαριστώ τα αδέρφια μου και τους κοντινούς μου ανθρώπους που με στήριξαν σε μία πολύ δύσκολη και πιεσμένη για μένα χρονιά.

Τέλος αλλά πάνω από όλα ευχαριστώ τους γονείς μου γιατί μου εξασφάλισαν την καλύτερη δυνατή εξέλιξη στην εκπαίδευσή μου όντας για μένα παραδείγματα προς μίμηση, γιατί αποτελούν πάντα τον ακρογωνιαίο λίθο σε κάθε μου βήμα και χάρη σε εκείνους πραγματοποίησα ακόμη ένα.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ	9
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	11
1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΣΕΛΗΝΙΟΥ	11
1.2. ΒΑΣΙΚΕΣ ΣΕΛΗΝΟΠΡΩΤΕΙΝΕΣ	12
1.3. ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΣΕΛΗΝΟΠΡΩΤΕΙΝΩΝ	15
1.3.1. ΑΠΟΙΩΔΙΟΝΑΣΕΣ ΤΗΣ ΙΩΔΟΘΥΡΟΝΙΝΗΣ (IODOTHYRONINE DEIODINASES, DIOS)	15
1.3.2. ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΕΣ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ (GLUTATHIONE PEROXIDASES, GPXs)	16
1.3.3. ΑΝΑΓΩΓΑΣΕΣ ΤΗΣ ΘΕΙΟΡΕΔΟΞΙΝΗΣ (Thioredoxin reductase, TRs)	17
1.3.4. ΣΕΛΗΝΟΠΡΩΤΕΙΝΗ P	18
1.3.5. ΣΕΛΗΝΟΠΡΩΤΕΙΝΗ W	19
1.3.6. ΣΕΛΗΝΟΠΡΩΤΕΙΝΗ Sep15	19
1.3.7. ΣΥΝΘΕΤΑΣΗ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΟΥ (SELENOPHOSPHATE SYNTHETASE 2, SPS2)	20
1.4. ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΕΣ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ	20
1.4.1. GPX1	22
1.4.2. GPX2	23
1.4.3. GPX3	24
1.4.4. GPX4	25
1.5. ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΚΑΙ ΣΕΛΗΝΙΟ	26
1.6. ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΣΕ ΣΕΛΗΝΙΟ	30
1.6.1. ΕΛΑΧΙΣΤΗ ΑΠΑΙΤΗΣΗ ΓΙΑ ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ KESHAN	32
1.6.2. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΣΕΛΗΝΙΟ	32
1.6.3. ΑΠΑΙΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ ΧΡΟΝΙΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ	34
1.6.4. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΣΕ ΣΕΛΗΝΙΟ	34
1.7. ΒΙΟΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΣΕΛΗΝΙΟΥ	35
2. ΣΚΟΠΟΣ	38
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	39
3.1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	39
3.2. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ-ΤΥΧΑΙΟΠΟΙΗΣΗ	39
3.3. ΣΤΑΔΙΑ ΜΕΛΕΤΗΣ	40
3.3.1. ΠΙΛΟΤΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ	40
3.3.2. ΚΥΡΙΟ ΣΤΑΔΙΟ	41

3.4.	ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	41
3.4.1.	Ύψος-Βαρος	42
3.4.2.	ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΙ ΜΕΣΟΥ ΒΡΑΧΙΟΝΑ-ΜΕΣΗΣ ΙΣΧΙΟΥ	42
3.4.3.	ΟΡΙΣΜΟΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΚΑΙ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ	42
3.5.	ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΠΑΙΔΙΩΝ	43
3.5.1.	ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΑΙΜΑΤΟΣ.....	43
3.5.2.	ΣΤΑΔΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΚΑΤΑ TANNER (Η ΣΤΑΔΙΟ TANNER)	43
3.6.	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ.....	44
3.6.1.	ΑΝΑΚΛΗΣΕΙΣ 24ΩΡΟΥ	44
3.6.2.	ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	44
3.6.3.	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΚΑΙ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ.....	45
3.7.	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ.....	48
3.7.1.	ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ	48
3.7.2.	ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	48
3.7.3.	ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ	49
3.7.4.	ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	50
3.8.	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	51
4.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	52
4.1.	ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ, ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ	52
4.2.	ΑΝΑΛΥΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ GRx-3	55
4.3.	ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ (GRx3) ΣΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ.....	59
4.4.	ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GRx3 ΑΝΑ ΣΤΑΔΙΟ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΚΑΤΑ TANNER	61
4.5.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΗΣ ΔΙΑΙΤΑΣ ΣΕ ΜΑΚΡΟΘΡΕΠΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GRx3	63
4.6.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΟΠΩΣ ΕΧΟΥΝ ΠΡΟΚΥΨΕΙ ΑΠΟ ΤΑ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, FFQ, ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GRx3	65
4.7.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΟΠΩΣ ΕΧΟΥΝ ΠΡΟΚΥΨΕΙ ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΝΑΚΛΗΣΕΙΣ 24ΩΡΟΥ, ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GRx3	71
4.8.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ (ΓΔ) ΚΑΙ ΤΟΥ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ (ΓΦ) ΤΗΣ ΔΙΑΙΤΑΣ ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GRx3	73
4.9.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΜΙΚΡΟΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GRx3	74
4.10.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΗΣ ΔΙΑΙΤΑΣ ΣΕ ΜΑΚΡΟΘΡΕΠΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GRx3, ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΒΑΡΟΥΣ ΤΟΥ ΠΑΙΔΙΟΥ	77

4.11.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΟΠΩΣ ΕΧΟΥΝ ΠΡΟΚΥΨΕΙ ΑΠΟ ΤΑ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, FFQ, ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPR3 , ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΒΑΡΟΥΣ ΤΟΥ ΠΑΙΔΙΟΥ	78
4.12.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΟΠΩΣ ΕΧΟΥΝ ΠΡΟΚΥΨΕΙ ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΝΑΚΛΗΣΕΙΣ 24ΩΡΟΥ, ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPR3, ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΒΑΡΟΥΣ ΤΟΥ ΠΑΙΔΙΟΥ	81
4.13.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΜΙΚΡΟΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPR3, ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΒΑΡΟΥΣ ΤΟΥ ΠΑΙΔΙΟΥ	83
4.14.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPR3 ...	85
5.	ΤΕΛΙΚΗ ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	90
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	94

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Το σελήνιο αποτελεί ένα ιχνοστοιχείο απαραίτητο για τη φυσιολογική λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού αλλά και για την πρόληψη χρόνιων νοσημάτων. Οι δράσεις αυτές του σεληνίου πραγματοποιούνται κυρίως μέσω πρωτεϊνών που περιέχουν σελήνιο, των σεληνοπρωτεϊνών. Η επίδραση όμως των διατροφικών συνηθειών στη κατάσταση σεληνίου του ανθρώπινου οργανισμού δεν έχει πλήρως διασαφηνιστεί, με την έλλειψη αυτή να είναι πιο έντονη στα παιδιά και ειδικότερα στην Ελλάδα. Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης του πλάσματος (GPx3), μία σημαντική σεληνοπρωτεΐνη, πέραν του πιθανού αντιοξειδωτικού της ρόλου στο πλάσμα, αποτελεί και έναν σχετικά καλό, φθινό και εύκολα μετρήσιμο δείκτη της κατάστασης σεληνίου στον ανθρώπινο οργανισμό, η μέτρηση της οποίας μπορεί να εφαρμοστεί σε ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η μέτρηση της δραστηριότητας της GPx3 στο πλάσμα παιδιών σχολικής ηλικίας (10-12 ετών) και η συσχέτισή της με τις διατροφικές συνήθειες των παιδιών.

Μεθοδολογία: Η παρούσα μελέτη αποτελεί μία συγχρονική επιδημιολογική μελέτη. Στη μελέτη έλαβαν μέρος 489 παιδιά ηλικίας 10-12 ετών. Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών, ενώ οι διατροφικές πληροφορίες συλλέχθηκαν με ερωτηματολόγια συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων και ανακλήσεις 24ώρου. Η δραστηριότητα της GPx3 μετρήθηκε με φωτομετρική μέθοδο σε φασματοφωτόμετρο μικροπλακιδίων.

Αποτελέσματα: Η δραστηριότητα της GPX-3 στο πληθυσμό της μελέτης βρέθηκε $0,055 \pm 0,016$ Units/mL χωρίς να διαφοροποιούνται τα επίπεδα της μεταξύ αγοριών και κοριτσιών. Με την αύξηση του σταδίου ωρίμανσης παρατηρήθηκε μείωση της δραστηριότητας της GPx3, τόσο στα αγόρια όσο και στα κορίτσια. Βρέθηκε αρνητική συσχέτιση με την ενεργειακή πρόσληψη, με τα φρούτα και τα ανθρακούχα αναψυκτικά και θετική συσχέτιση με το ψωμί. Επίσης βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ του γλυκαιμικού φορτίου και της δραστηριότητας της GPx3 ενώ θετική ήταν η συσχέτιση με την πρόσληψη Ca/1000kcal. Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της διατροφικής πρόσληψης σεληνίου με την δραστηριότητα της GPx3. Στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή παιδιά παραμένει η αρνητική συσχέτιση με τα φρούτα, η αρνητική συσχέτιση με τα ανθρακούχα αναψυκτικά διατηρείται και στις δύο κατηγορίες βάρους, ενώ εμφανίζεται θετική συσχέτιση με την πρόσληψη φρέσκων χυμών μόνο στα

υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά. Η θετική συσχέτιση με το ψωμί διατηρείται μόνο στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή παιδιά, ενώ η αρνητική συσχέτιση με την πρόσληψη Ca/1000 kcal διατηρείται και στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή και στα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά. Τέλος στα παιδιά από την Θεσσαλονίκη βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη δραστικότητα GPx3, μικρότερη πρόσληψη ενέργειας και μεγαλύτερη πρόσληψη ψωμιού σε σχέση με τα παιδιά από την Αθήνα και Κρήτη.

Συμπέρασμα: Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη λοιπόν ανέδειξε μερικές καινούργιες συσχετίσεις της δραστικότητας της GPx3 με διατροφικούς παράγοντες. Κάποιες από αυτές τις συσχετίσεις είναι πιθανόν να οφείλονται στην επίδραση αυτών των παραγόντων στα επίπεδα σεληνίου ενώ κάποιες άλλες στην έμμεση επίδραση τους στη δραστικότητα του ενζύμου με μηχανισμούς που δεν έχουν διευκρινιστεί. Η επίδραση των διατροφικών συνηθειών στην δραστικότητα της GPx3 είναι πολυπαραγοντική, εξαρτάται εν πολλοίς από τα φύλο αλλά και από την κατηγορία βάρους στην οποία ανήκει το κάθε παιδί.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ

Introduction: Selenium is a trace element essential for the normal function of human body and for the prevention of several chronic diseases. Selenium actions are principally mediated by proteins containing selenium, known as selenoproteins. The effect of dietary habits on selenium status in the human body has not been fully clarified. This lack of information is more obvious in children, especially Greek children. The plasma glutathione peroxidase (GPx3, a significant selenoprotein, in addition to her potential antioxidant role in plasma, is also a relatively good, cheap and easily measurable biochemical indicator of selenium status in human body, the measurement of which can be applied to a large number of samples.

Purpose: The purpose of this study was to measure the activity of GPx3 in school children's plasma (10-12 years) and to correlate it with children's dietary habits.

Methodology: This study is a cross-sectional epidemiological study. The study's population consisted of 489 children aged 10-12. Researchers made anthropometric and biochemical measurements, while nutritional information was collected with the use of a food frequency questionnaire and 24 hour recalls. The activity of GPx3 was measured with photometric method in microplate spectrophotometer.

Results: The activity of GPX-3 in the study population was $0,055 \pm 0,016$ Units / mL with no significant differences between the two genders. By increasing the degree of maturation the activity of GPx3 decreased, both in boys and girls. There was a negative correlation with energy intake, fruits and soda drinks and a positive correlation with bread. A negative correlation appeared between glycemic load and the activity of GPx3 and also a positive correlation with the intake of Ca/1000kcal. There was no statistically significant correlation between dietary intake of selenium and the activity of GPx3. In underweight/normal weight children there is also a negative correlation with fruit, while the negative correlation with soda drinks remains in both the two weight categories. In addition a positive correlation with the intake of fresh juice appears only in overweight/obese children. The positive correlation with bread remains only in underweight/normal weight children, while the negative correlation with the intake of Ca/1000kcal remains in both underweight/normal weight and overweight/obese children. Finally, children from Thessaloniki had significantly higher activity of GPx3, lower energy intake and higher intake of bread compared with children from Athens and Crete.

Conclusion: The present study revealed some new effects of dietary habits on the activity of GPx3. Some of these effects are likely due to the influence of these dietary factors on selenium

levels while some others indirect affect the enzyme activity by mechanisms that have not been fully elucidated. The influence of dietary habits in activity of GPx3 is multifactorial, depends on sex and the weight category in which each child belongs.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΣΕΛΗΝΙΟΥ

Το σελήνιο ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά το 1817 από ένα Σουηδό ιατρό και χημικό, τον Jöns Jakob Berzelius, ο οποίος ερευνούσε την αιτιολογία μιας μυστηριώδους ασθένειας που είχε εμφανιστεί σε εργάτες που δούλευαν σε ένα εργοστάσιο παραγωγής θειικού οξέος στο Gripsholm της Σουηδίας. Ο Berzelius έδωσε στο στοιχείο αυτό το όνομα σελήνιο από την θεά της ελληνικής μυθολογίας Σελήνη, σε αντιδιαστολή με την ονομασία του τελλουρίου (tellurium, Te; Tellus, όπου στα λατινικά tellus σημαίνει γη), που μόλις είχε ανακαλυφθεί. Τα περισσότερα παράγωγα του σεληνίου φάνηκε να είναι τοξικά με κάποια από αυτά να είναι περισσότερο τοξικά και από το κυάνιο. Επιπλέον το σελήνιο και οι περισσότερες ενώσεις του είχαν ένα κοινό χαρακτηριστικό: μία πολύ διεισδυτική, καυστική μυρωδιά σκόρδου. Δεν είναι λοιπόν παράδοξο το ότι οι βιοχημικές μελέτες πάνω στο σελήνιο ήταν ελάχιστες για πάνω από έναν αιώνα μετά την ανακάλυψή του. Η φήμη του σεληνίου χειροτέρευσε όταν ερευνητικά δεδομένα έδειξαν ότι η δηλητηρίαση με σελήνιο ήταν η κύρια αιτία αλκάλωσης και τύφλωσης, ενώ κάποιες εργαστηριακές μελέτες ανέδειξαν το σελήνιο ως πιθανό καρκινογόνο.[1]

Η σημερινή άποψη για το σελήνιο, που θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ακόμη και ως σελινοφιλία, συνδέεται άμεσα με τον Klaus Schwarz, έναν Γερμανό βιοχημικό. Ο Schwarz και οι συνεργάτες του δημοσίευσαν το 1957 μία μελέτη (Schwarz and Foltz, 1957) η οποία παρείχε ισχυρές αποδείξεις για την ευεργετική επίδραση του σεληνίου και η οποία αποτέλεσε ορόσημο για την έρευνα της βιοχημείας και της βιοϊατρικής αλλάζοντας την γενικότερη αντίληψη για το σελήνιο. Ο Schwarz έδειξε ότι το σελήνιο μπορεί να αποτρέψει την εμφάνιση συγκεκριμένων διατροφικών ανεπαρειών, ιδιαίτερα όταν συνδυαστεί με την βιταμίνη E και τα αμινοξέα που περιέχουν θείο. [2]

Το 1973, ο Turner και ο Stadtman ταυτοποίησαν δύο βακτηριακά ένζυμα που περιείχαν σελήνιο, την αναγωγή της γλυκίνης και την αφυδρογονάση του μυρμηγκικού. [3] Λίγο αργότερα βρέθηκε ότι το σελήνιο ενσωματωνόταν με την μορφή σελινοκυστεΐνης στην αναγωγή της γλυκίνης (το 1976) [4] και στην υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (το 1978) [5]. Στα ένζυμα αυτά η σελινοκυστεΐνη εντοπίστηκε στο ενεργό κέντρο του ενζύμου και αποτελούσε απαραίτητο συστατικό αυτού. Με την ταχύτατη πρόοδο της γενετικής μέσα σε μία μικρή χρονική περίοδο ο αριθμός των ταυτοποιημένων σελινοπρωτεϊνών σχεδόν διπλασιάστηκε.[6]

Ο ζωτικός ρόλος του σεληνίου καθιερώθηκε το 1979 με την επιτυχημένη χορήγηση συμπληρώματος σεληνίου σε ασθενείς που έπασχαν από μυϊκή δυστροφία ύστερα από μεγάλο

διάστημα παρεντερικής σίτισης και έτσι διευκρινίστηκε και ο ρόλος του σεληνίου στην ενδημική θανατηφόρο μυοκαρδιοπάθεια Keshan. [7, 8]

1.2. ΒΑΣΙΚΕΣ ΣΕΛΗΝΟΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

Ο ρόλος του σεληνίου στη παθοφυσιολογία του ανθρώπινου οργανισμού διαμεσολαβείται από πρωτεΐνες που περιέχουν σελήνιο.

Οι πρωτεΐνες που περιέχουν σελήνιο και είναι μέχρι σήμερα γνωστές μπορούν να διαιρεθούν σε τρεις ομάδες: (i) πρωτεΐνες στις οποίες το Se προσδένεται μη-ειδικά με τη μορφή σεληνομεθειονίνης, (ii) πρωτεΐνες στις οποίες το Se προσδένεται ειδικά ως συμπάραγοντας και (iii) «πραγματικές» σεληνοπρωτεΐνες οι οποίες περιέχουν Se με τη μορφή της γενετικά κωδικοποιημένης σεληνοκυστεΐνης. [9]

Η ομάδα των πρωτεϊνών που περιέχουν σεληνοκυστεΐνη ως αναπόσπαστο τμήμα της πολυπεπτιδικής τους αλυσίδας ορίζονται ως σεληνοπρωτεΐνες. Τις σεληνοπρωτεΐνες τις συναντάμε σε όλες τις μορφές της ζωής (και σε προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά κύτταρα). Συνολικά έχουν εντοπιστεί 30 οικογένειες σεληνοπρωτεϊνών. [10, 11] Τα σεληνοπρωτεώματα μεταξύ των διαφόρων ειδών είναι σε γενικές γραμμές μικρά. Η μεγαλύτερη ποικιλία συναντάται στα ψάρια, με 30 ξεχωριστές σεληνοπρωτεΐνες, και στη συνέχεια στον άνθρωπο και στα ποντίκια με 25 και 24 ξεχωριστές σεληνοπρωτεΐνες αντίστοιχα. [10] Το μικρό τους μέγεθος μπορεί να εξηγηθεί από την περιορισμένη ποσότητα σεληνίου στη φύση και την ενεργειακά δαπανηρή διαδικασία σύνθεσης. Παρόλα αυτά αναμένεται ότι υπάρχουν μεταξύ 30 έως 50 σεληνοπρωτεΐνες στα θηλαστικά, οι οποίες μπορούν να εντοπιστούν στο ανθρώπινο γονιδίωμα χρησιμοποιώντας μεθόδους της βιοπληροφορικής. [9] Η ζύμη και τα ανώτερα φυτά δεν διαθέτουν σεληνοπρωτεΐνες, αλλά ούτε και τα απαραίτητα συστατικά που απαιτούνται για τη σύνθεσή τους. [11]

Το ανθρώπινο σεληνοπρωτέωμα αποτελείται από 17 οικογένειες σεληνοπρωτεϊνών, μερικές από τις οποίες διαθέτουν πολλαπλά γονίδια με παρόμοιες λειτουργίες. [11] Οι οικογένειες αυτές περιλαμβάνουν τις παρακάτω σεληνοπρωτεΐνες :

- υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (GPx) (πέντε γονίδια),
- αναγωγάσες της θειορεδοξίνης (TrxR) (τρία γονίδια),
- αποιωδιονάσες της ιωδοθυρονίνης (DIO; Τρία γονίδια), και
- συνθετάση σεληνοφωσφορικού 2 (SPS2).

Οι υπόλοιπες σεληνοπρωτεΐνες αναφέρονται με αλφαβητική σειρά και περιλαμβάνουν τις εξής: 15-kDa σεληνοπρωτεΐνη/Sep15, SelH, SelI, SelK, SelM, SelN, SelO, SelP/SepP, SelR, SelS, SelT, SelV, και SelW.

Για μόνο λίγες από αυτές τις σεληνοπρωτεΐνες έχει προσδιοριστεί ο λειτουργικός τους ρόλος και αυτές είναι οι εξής: οι GPxs, οι TrxRs, η SPS2 και οι DIOs, οι οποίες έχουν οξειδοαναγωγικές λειτουργίες

Η σημασία των σεληνοπρωτεϊνών για την ζωή αναδείχθηκε από πειράματα σε ποντίκια από τα οποία είχε αφαιρεθεί το γονίδιο σύνθεσης του μεταφορικού RNA που μεταφέρει σεληνοκυστεΐνη κάτι που οδήγησε σε πρόωρο εμβρυικό θάνατο στα ποντίκια.

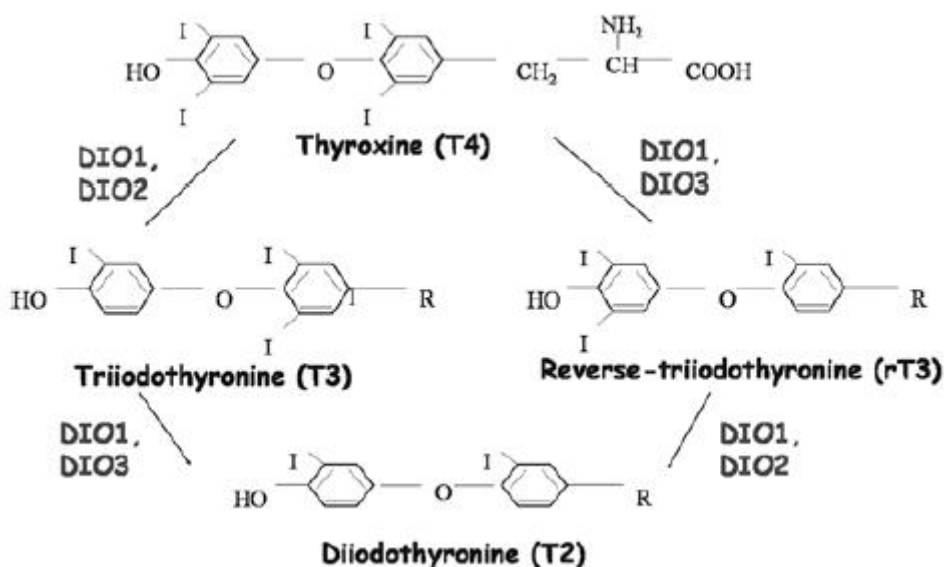
Πίνακας 1.2.1: Βασικές σεληνοπρωτεΐνες και ο λειτουργικός του ρόλος [8, 12, 13]

ΣΕΛΗΝΟΠΡΩΤΕΙΝΗ	ΒΑΣΙΚΗ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΚΑΙ ΘΕΣΗ ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ
Υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (GPXs)	
<i>GPX1</i>	Αντιοξειδωτική δράση στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου Αποθήκευση σεληνίου
<i>GPX2</i>	Αντιοξειδωτική δράση στον γαστρεντερικό σωλήνα
<i>GPX3</i>	Αντιοξειδωτική δράση στον εξωκυττάριο χώρο και στο πλάσμα
<i>GPX4</i>	Αντιοξειδωτική δράση στις μεμβράνες Δομική πρωτεΐνη του σπέρματος Ρόλο στην ωρίμανση του σπέρματος και την ανδρική γονιμότητα Πιθανό ρόλο στην απόπτωση
<i>GPX5</i>	Άγνωστη δράση
<i>GPX6</i>	Ομόλογο της GPX1

Αναγωγάσεις της θειορεδοξίνης (TRs)		Πολλαπλούς ρόλους συμπεριλαμβανομένου οξειδοαναγωγάσης –SH/-S-S- Αποτοξινώνει τον οργανισμό από υπεροξείδια Ανάγει την θειορεδοξίνη (έλεγχος κυτταρικής ανάπτυξης) Διατηρεί την οξειδοαναγωγική κατάσταση των μεταγραφικών παραγόντων
	TR1	Κυρίως στο κυτταρόπλασμα, εκφράζεται σε όλους τους ιστούς
	TR2	Εκφράζεται στους όρχεις
	TR3	Μιτοχονδριακή, εκφράζεται σε όλους τους ιστούς
Αποιωδιονάσεις της ιωδοθυρονίνης		
	Τύπου 1:D1 και τύπου 2:D2	Μετατρέπουν την θυροξίνη (T4) στην βιοδραστική 3,5,3- τριιωδοθυρονίνη (T3)
	Τύπου 1:D1 και τύπου 3:D3	Μετατρέπουν την θυροξίνη (T4) σε βιοδραστική ανάστροφη T3
Σεληνοπρωτεΐνη P		Πρωτεΐνη μεταφορέας σεληνίου Προστατεύει τα ενδοθηλιακά κύτταρα από το υπεροξυνιτρικό
Σεληνοπρωτεΐνη W		Πιθανώς αντιοξειδωτικό στον καρδιακό και σκελετικό μυ, παίζει ρόλο στο μεταβολισμό αυτών των μυών
Συνθετάση σεληνοφωσφορικού (SPS2)		Σύνθεση σεληνοφωσφατάσης για τη σύνθεση σεληνοπρωτεϊνών
Σεληνοπρωτεΐνη 15 kDa (Sep 15)		Εκφράζεται διαφορετικά σε φυσιολογικούς και κακοήθεις ιστούς Το γονίδιο για αυτή την σεληνοπρωτεΐνη βρίσκεται σε μία περιοχή που συχνά τροποποιείται στον καρκίνο Υψηλά επίπεδα στον προστάτη, πιθανώς προστατεύει τα κύτταρα του προστάτη ενάντια στην ανάπτυξη καρκινώματος
Σεληνοπρωτεΐνη 18kDa		Συντηρεί τα επίπεδα σεληνίου στους νεφρούς σε περιόδους έλλειψης
Σεληνοπρωτεΐνη N		Σχετίζεται με μυϊκή δυστροφία
H, I, K, M, N, O, R, S, T, V		Σε μεγάλο ποσοστό άγνωστη λειτουργία

1.3. ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΣΕΛΗΝΟΠΡΩΤΕΙΝΩΝ

1.3.1. ΑΠΟΙΩΔΙΟΝΑΣΕΣ ΤΗΣ ΙΩΔΟΘΥΡΟΝΙΝΗΣ (IODOTHYRONINE DEIODINASES, DIOS)



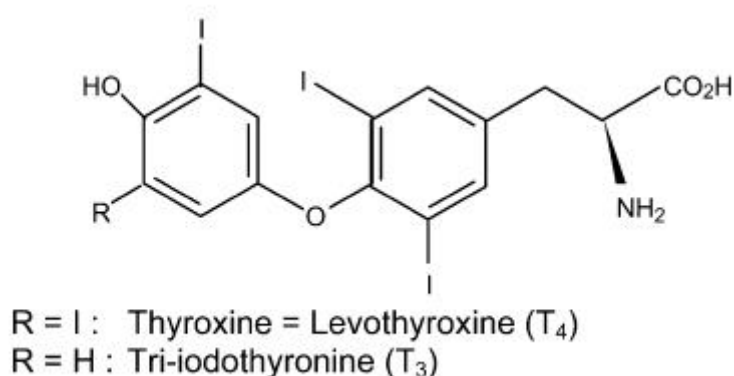
Σχήμα 1.3.1.1: Μεταβολισμός της θυροξίνης (T4) από τις τύπου 1, 2 και 3 αποιωδιονάσες (DIO1, DIO2, DIO3). [14]

Οι αποιωδιονάσες της ιωδοθυρονίνης (DIOs) συνδέουν τις βιολογικές δράσεις του σεληνίου με τον μεταβολισμό των ορμονών του θυρεοειδούς. [14]

Στην οικογένεια αυτή ανήκουν 3 ισομορφές 5'-αποϊωδιονάσων, οι I, II, και III. Οι ισομορφές αυτές διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τον τόπο δράσης τους, το υπόστρωμα που καταλύουν, τη ρύθμιση της δράσης τους και την κινητική των αντιδράσεων που καταλύουν. [15]

Αυτές οι οξειδοαναγωγάσες καταλύουν την ενεργοποίηση (DIO1 και DIO2) και την απενεργοποίηση (DIO3) των ορμονών του θυρεοειδούς, θυροξίνη (T4), 3,5,3-τριωδοθυρονίνη (T3) και ανάστροφη 3,5,3-τριωδοθυρονίνη (rT3), απομακρύνοντας συγκεκριμένα μόρια ιωδίου, όπως φαίνεται και στο παραπάνω σχήμα. Αυτές οι ορμόνες ρυθμίζουν πολλές μεταβολικές διεργασίες όπως είναι η θερμογένεση, η ανάπτυξη και η ακοή, και είναι απαραίτητες για την φυσιολογική ανάπτυξη του εγκεφάλου του εμβρύου. Επίσης ελέγχουν την έκφραση των γονιδίων σε όλους τους σπονδυλωτούς ιστούς μέσω μεταγραφικών παραγόντων. Οι DIOs εκφράζονται με διαφορετικό τρόπο στους ιστούς κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και κατά την

ενήλικο ζωή. Για παράδειγμα η DIO1 εκφράζεται κυρίως στο συκώτι, στους νεφρούς, στο θυρεοειδή και στους βλεννογόνους, η DIO2 στο θυρεοειδή, στο κεντρικό νευρικό σύστημα, στους βλεννογόνους αδένες και στους σκελετικούς μύες, ενώ η DIO3 εκφράζεται κυρίως στη μήτρα κατά την εγκυμοσύνη, στο συκώτι του εμβρύου, στον εγκέφαλο του εμβρύου και του νεογνού και στο δέρμα του νεογνού. Γενικά θεωρείται ότι η DIO1 πιθανώς να παίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή της T3 στον θυρεοειδή αδένα και στον έλεγχο των επιπέδων της κυκλοφορούσας T3, ενώ η DIO2 και DIO3 θεωρείται ότι εμπλέκονται σε τοπικές διεργασίες αποιωδίωσης με εξειδίκευση ανά ιστό και όργανο. [14]

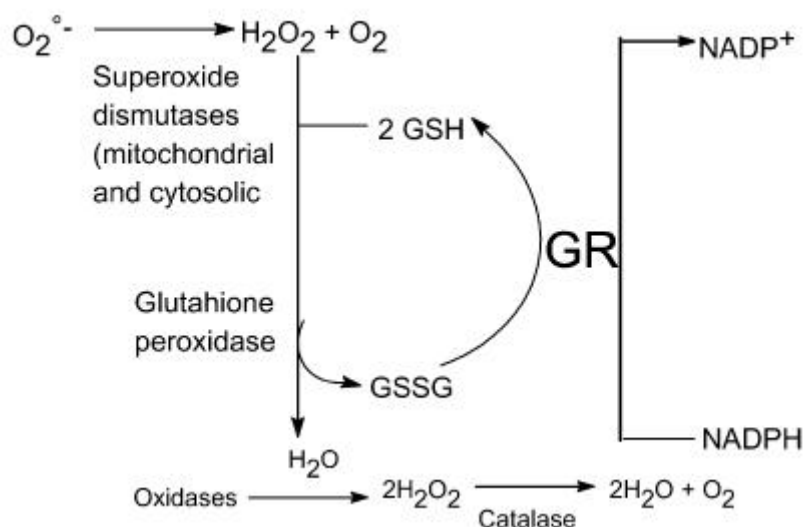


Σχήμα 1.3.1.2: Χημική δομή θυροξίνης και τριωδοθυρονίνης [16]

1.3.2. ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΕΣ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ (GLUTATHIONE PEROXIDASES, GPXs)

Το σελήνιο είναι ένα βασικό συστατικό της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης η οποία δρα συνεργιστικά με την τοκοφερόλη στην ρύθμιση της υπεροξειδωσής των λιπιδίων. Μέχρι σήμερα 4 μέλη της οικογένειας των GPXs είναι ευρέως γνωστά. Η GPX1 είναι η πιο άφθονη σεληνοπρωτεΐνη στα θηλαστικά. Η δράση της ρυθμίζεται από τα επίπεδα σεληνίου στο συκώτι. Η GPX1 είναι ένζυμο του κυτταροπλάσματος, εκφράζεται σε όλους τους τύπους κυττάρων και θεωρείται ότι είναι η κύρια αντιοξειδωτική πρωτεΐνη στα θηλαστικά. Η GPX2 είναι το πλησιέστερο ομόλογο της GPX1 αλλά την συναντάμε κυρίως στον γαστρεντερικό σωλήνα. Η GPX3 είναι μία εκκρινόμενη γλυκοπρωτεΐνη και είναι η δεύτερη πιο άφθονη σεληνοπρωτεΐνη στο πλάσμα μετά από την σεληνοπρωτεΐνη P. Η GPX3 διακρίνεται από την GPX1 ανοσοχημικά. Η GPX4 είναι γνωστή επίσης και ως υπεροξειδάση γλουταθειόνης υδρουπεροξειδίων των φωσφολιπιδίων (phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase, PHGPx), καθώς ανάγει με

ειδικό τρόπο τα υδρουπεροξείδια των λιπαρών οξέων που είναι εστεροποιημένα σε φωσφολιπίδια. Η GPX4 συναντάται τόσο στο κυτταρόπλασμα όσο και στα μιτοχόνδρια. Η δράση της GPX4 ρυθμίζεται από τα επίπεδα σεληνίου στο συκώτι αλλά με διαφορετικό τρόπο από ότι η GPX1. [16] Περισσότερες λεπτομέρειες για τις GPXs θα αναφερθούν παρακάτω.



Σχήμα 1.3.2.1: Ο ρόλος της καταλάσης και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης στην απομάκρυνση υπεροξειδίων του υδρογόνου από τους ανθρώπινους ιστούς. [16]

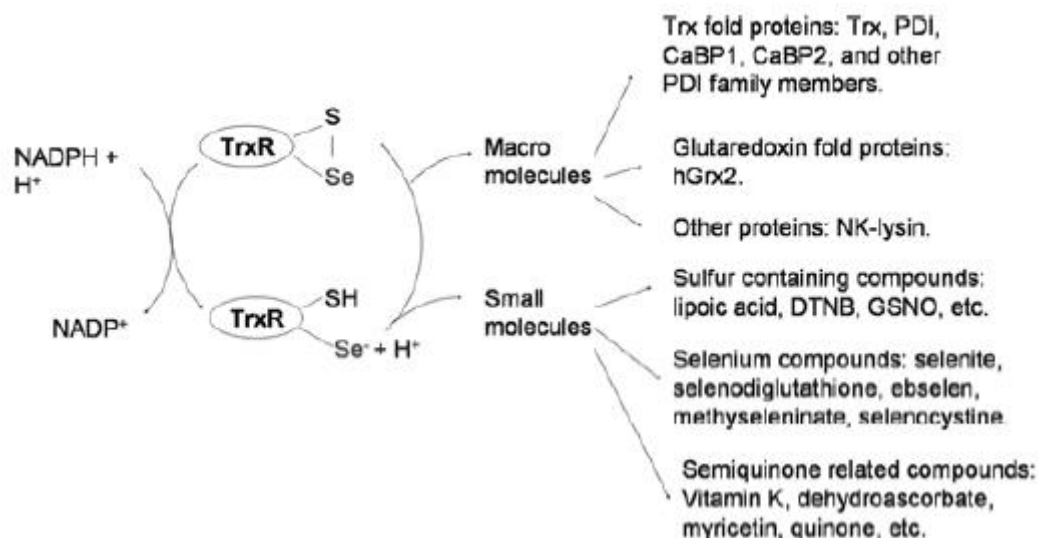
1.3.3. ΑΝΑΓΩΓΑΣΕΣ ΤΗΣ ΘΕΙΟΡΕΔΟΞΙΝΗΣ (Thioredoxin reductase, TRs)

Το σύστημα της θειορεδοξίνης αποτελείται από NADPH, θειορεδοξίνη και αναγωγή θειορεδοξίνης. Η θειορεδοξίνη είναι μία μικρή πρωτεΐνη που εκφράζεται σε όλους τους ιστούς και περιέχει 104 αμινοξέα. Η θειορεδοξίνη είναι μία οξειδοαναγωγική πρωτεΐνη που κατανέμεται ευρέως, ρυθμίζει διάφορες ενδοκυτταρικές διεργασίες και προωθεί τον πολλαπλασιασμό τόσο των φυσιολογικών όσο και των καρκινικών κυττάρων. [16]

Τρεις αναγωγάσες της θειορεδοξίνης είναι γνωστές μέχρι σήμερα. Αυτές είναι η κυταροπλασματική αναγωγή της θειορεδοξίνης TrxR1, η μιτοχονδριακή TrxR2, και η TGR/TrxR3 η οποία εντοπίζεται στους όρχεις. [17]

Οι αναγωγάσες της θειορεδοξίνης χρησιμοποιούν την θειορεδοξίνη σαν υπόστρωμα και το NADPH σαν συμπράγοντα. Οι TRs σχηματίζουν ένα ισχυρό οξειδοαναγωγικό σύστημα σύστημα-SH/-S-S- που ρυθμίζει την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου και μπορεί

επίσης να προστατεύει από το οξειδωτικό στρες. Το σύστημα αυτό εμπλέκεται επίσης σε ποικίλες κυτταρικές λειτουργίες συμπεριλαμβανομένου της μεταφοράς μηνυμάτων, της ρύθμισης της κυτταρικής ανάπτυξης και της αποτροπής της απόπτωσης. Ένα ευρύ φάσμα ασθενειών στον άνθρωπο πιστεύεται ότι μπορεί να σχετίζεται με την δραστηριότητα της αναγωγής της θειορεδοξίνης και έτσι το ένζυμο αυτό αποτελεί βασικό στόχο για την δημιουργία θεραπευτικών φαρμάκων. [12]



Σχήμα 1.3.3.1: Μεταφορά ηλεκτρονίων από το NADPH μέσω της αναγωγής της θειορεδοξίνης σε διαφορετικά υποστρώματα. Οι TrxRs των θηλαστικών έχουν ένα ευρύ φάσμα υποστρωμάτων. Τα υποστρώματα αυτά είναι κυρίως μακρομόρια στα οποία οι δισουλφιδικοί δεσμοί παίζουν σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση των λειτουργιών τους, αλλά και συμπλέγματα μικρού μοριακού βάρους λειτουργούν επίσης σαν υποστρώματα των TrxRs. [14]

1.3.4. ΣΕΛΗΝΟΠΡΩΤΕΪΝΗ P

Η σεληνοπρωτεΐνη P είναι μία εξωκυτταρική, μονομερής γλυκοπρωτεΐνη που περιέχει μέχρι 10 κατάλοιπα σεληνοκυστεΐνης στην πολυπεπτιδική της αλυσίδα. Αυτή η γλυκοπρωτεΐνη συντίθεται κυρίως στο ήπαρ και σε μικρότερο βαθμό στους νεφρούς, στην καρδιά και στους πνεύμονες. Περιέχει περίπου το 40% του Se του πλάσματος για τους φυσιολογικούς ανθρώπους ενώ μαζί με την GPX-3 αποτελούν το 90% του Se στο πλάσμα. Τα επίπεδα της ελαττώνονται σε ασθενείς που παρουσιάζουν πρόβλημα στο ήπαρ. Η SelP παρέχει το απαραίτητο Se για την σύνθεση της GPX-3 στο ήπαρ, η οποία εισέρχεται στη συνέχεια, στη κυκλοφορία του αίματος. [18-20]

Η σεληνοπρωτεΐνη P προσδένεται στην ηπαρίνη και στις κυτταρικές μεμβράνες και σχετίζεται με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η σεληνοπρωτεΐνη P στο ανθρώπινο πλάσμα προστατεύει ενάντια στην οξειδωση που προκαλείται από το υπεροξυνιτρικό και ανάγει *in vitro* υδρουπεροξειδία φωσφολιπιδίων. Ανοσοχημικές μελέτες δείχνουν ότι η συγκέντρωσή της στο πλάσμα ποικίλει πολύ ανάλογα με την πρόσληψη σεληνίου, αλλά και άλλοι παράγοντες παίζουν ρόλο. [21]

1.3.5. ΣΕΛΗΝΟΠΡΩΤΕΙΝΗ W

Η σεληνοπρωτεΐνη W είναι μία μικρή πρωτεΐνη που εκφράζεται σε όλους τους ιστούς και η έκφρασή της ρυθμίζεται από τα επίπεδα σεληνίου. Η έλλειψη σεληνίου οδηγεί σε μείωση της σεληνοπρωτεΐνης W στους σκελετικούς μύες, στην καρδιά, στο έντερο, στον προστάτη, στον οισοφάγο και στο δέρμα, ενώ η έκφρασή της διατηρείται στον εγκέφαλο ακόμη και σε έλλειψη σεληνίου. Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του εμβρύου η σεληνοπρωτεΐνη W εκφράζεται ήδη από τη στιγμή της εμφύτευσης και επομένως εντοπίζεται στο νευρικό σύστημα, στα άκρα και στην καρδιά. Μέσα στο κύτταρο η σεληνοπρωτεΐνη W βρίσκεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα με ένα μικρό της κομμάτι να συνδέεται με την κυτταρική μεμβράνη. Η σεληνοπρωτεΐνη W συνδέει την γλουταθειόνη με μεγάλη συγγένεια κάτι το οποίο της προσδίδει πιθανή αντιοξειδωτική λειτουργία. Υπερέκφραση της σεληνοπρωτεΐνης W σε καλλιέργειες κυττάρων πράγματι προστάτεψε τα κύτταρα από το οξειδωτικό στρες και τα επίπεδά της αυξάνονταν σε απάντηση σε εξωτερικές οξειδωτικές ουσίες. Οι ακριβείς όμως μοριακοί μηχανισμοί δεν έχουν ακόμη αποσαφηνιστεί πλήρως. [14]

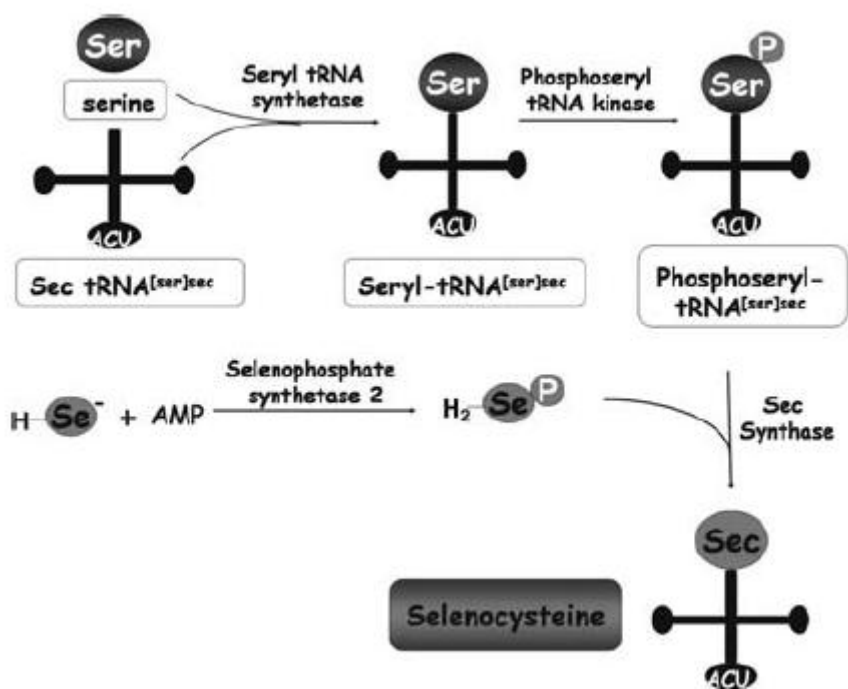
1.3.6. ΣΕΛΗΝΟΠΡΩΤΕΙΝΗ Sep15

Η σεληνοπρωτεΐνη S είναι μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη που περιέχει σεληνοκυστεΐνη και βρίσκεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο των κυττάρων. Η Sep15 είναι από τις πρώτες σεληνοπρωτεΐνες που αναγνωρίστηκαν. Εκφράζεται σε διάφορους ιστούς, με υψηλότερα επίπεδα στον εγκέφαλο, στους πνεύμονες, στους όρχεις, στο συκώτι, στον θυρεοειδή και στους νεφρούς. Η έκφρασή της ρυθμίζεται σε απάντηση της διαιτητικής πρόσληψης σεληνίου. Αν και οι ακριβείς λειτουργίες της Sep15 παραμένουν υπό διερεύνηση, η Sep15 πιθανώς να εμπλέκεται στον ποιοτικό έλεγχο του πακεταρίσματος των γλυκοπρωτεϊνών στο ενδοπλασματικό δίκτυο. [14] Συγκεκριμένα φαίνεται να συμμετέχει στην απομάκρυνση των πρωτεϊνών με λανθασμένη

χωροδιάταξη από το ενδοπλασματικό δίκτυο των κυττάρων και με αυτό τον τρόπο παίρνει μέρος και στη μείωση της φλεγμονής του ενδοπλασματικού δικτύου. [22]

1.3.7. ΣΥΝΘΕΤΑΣΗ ΤΟΥ ΣΕΛΗΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΟΥ (SELENOPHOSPHATE SYNTHETASE 2, SPS2)

Η συνθετάση του σεληνοφωσφορικού είναι μία σεληνοπρωτεΐνη που εμπλέκεται στην βιοσύνθεση της σεληνοκυστεΐνης, που είναι απαραίτητη και για την σύνθεση της ίδιας της σεληνοπρωτεΐνης. Η SPS2 καταλύει την μετατροπή του υδροσεληνίου σε σεληνοφωσφορικό το οποίο είναι ο δότης σεληνίου κατά τον σχηματισμό σεληνοκυστεΐνης. Αν και δεν γνωρίζουμε πολλά για τον φυσιολογικό ρόλο της SPS2 και για την πιθανή εμπλοκή της σε ασθένειες, η SPS2 είναι σαφώς ένα βασικό συστατικό του μηχανισμού βιοσύνθεσης της σεληνοκυστεΐνης. [14]

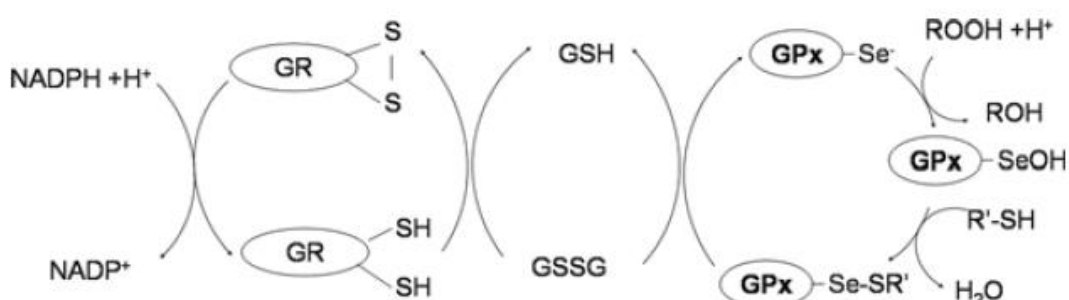


Σχήμα 1.3.7.1: Μονοπάτι βιοσύνθεσης σεληνοκυστεΐνης στα κύτταρα των θηλαστικών [14]

1.4. ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ

Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) ήταν η πρώτη πρωτεΐνη στα θηλαστικά που φάνηκε να ενσωματώνει το σελήνιο με τη μορφή σεληνοκυστεΐνης στο καταλυτικό του κέντρο και που

υποτέθηκε ότι σχετίζεται με την αντιοξειδωτική δραστηριότητα του σεληνίου. Οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης είναι ευρέως γνωστές για την ικανότητά τους να καταλύουν την αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου και των οργανικών υδρουπεροξειδίων, και επομένως να προστατεύουν τα κύτταρα από την οξειδωτική καταστροφή. Στον ανθρώπινο οργανισμό έχουν αναγνωριστεί επτά γλουταθειόνες της υπεροξειδάσης, πέντε από τις οποίες είναι σεληνοένζυμα και δύο που περιέχουν κυστεΐνη αντί για σεληνοκυστεΐνη. Ο μηχανισμός με τον οποίο οι GPxs ανάγουν τα υποστρώματά τους παρουσιάζεται σχηματικά στο σχήμα 1.4.1.



Σχήμα 1.4.1: Μεταφορά ηλεκτρονίων από το NADPH στην υπεροξειδάση της γλουταθειόνης μέσω της αναγωγής της γλουταθειόνης και της γλουταθειόνης στα θηλαστικά. Οι GPxs ενσωματώνουν τα ηλεκτρόνια από το NADPH, μέσω της αναγωγής της γλουταθειόνης (GR) της γλουταθειόνης (GSH) για να καταλύσουν την αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου και των οργανικών υδρουπεροξειδίων. [14]

Η οικογένεια των GPxs περιλαμβάνει τα παρακάτω ένζυμα:

- Την γλουταθειόνη της υπεροξειδάσης που εκφράζεται παντού και βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα, cGPx/GPx1.
- Ένα ένζυμο ειδικό για τον γαστρεντερικό σωλήνα, GI-GPx/GPx2.
- Μία εκκρινόμενη πρωτεΐνη που τη συναντάμε στο πλάσμα, pGPx/GPx3.
- Ένα πανταχού παρών ένζυμο που δρα σε οξειδωμένα λιπίδια, την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης των υδρουπεροξειδίων των φωσφολιποειδών, PHGPx/GPx4. Εδώ περιλαμβάνεται και ένα ένζυμο του σπέρματος ειδικό για τον πυρήνα, snGPx4.
- Μία υπεροξειδάση που ανακαλύφθηκε πρόσφατα και εντοπίζεται στο οσφρητικό επιθήλιο και στους εμβρυϊκούς ιστούς, GPx6.

Οι δύο υπεροξειδάσες που περιέχουν κυστεΐνη αντί για σεληνοκυστεΐνη περιλαμβάνουν την GPx5 που εκφράζεται μόνο στην επιδιδυμίδα και μία υπεροξειδάση της γλουταθειόνης των

υδρουπεροξειδίων των φωσφολιποειδών που εκφράζεται σε όλους τους ιστούς, NPGPx/GPx7 (nonselenocysteine PHGPx). Αυτά τα ένζυμα διαφέρουν ως προς την κατανομή τους στους ιστούς και την ειδικότητά τους ως προς το υπόστρωμα για την αναγωγή των υπεροξειδίων. Το κοινό στοιχείο μεταξύ των GPxs είναι η διατηρημένη καταλυτική τριάδα αμινοξέων που περιλαμβάνει σεληνοκυστεΐνη (Sec), γλουταμίνη (Gln) και τρυπτοφάνη (Trp). Οι υπεροξειδάσες 1-3 είναι ομοτετραμερείς πρωτεΐνες με το μοριακό βάρος της υπομονάδας να είναι περίπου 22–25 kDa, ενώ η GPx4 είναι ένα μονομερές ένζυμο μοριακού βάρους 20-22kDa. Οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης πιστεύεται ότι αποτελούν ένα βασικό συστατικό της αντιοξειδωτικής άμυνας του ανθρώπινου οργανισμού. [14]

1.4.1. GPX1

Για πρώτη φορά ο Mills το 1957 περιέγραψε την δράση της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης, η οποία προστάτευε τα ερυθρά αιμοσφαίρια από την αιμόλυση που μπορεί να προκαλέσει η οξείδωση [23]. Το ένζυμο αυτό ονομάστηκε αρχικά υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, ενώ σήμερα γνωρίζουμε ότι πρόκειται για την GPX1.

Πρόκειται για μια τετραμερή πρωτεΐνη, μοριακού βάρους 22-33 kDa, με 4 πανομοιότυπες υπομονάδες, κάθε μία από τις οποίες περιέχει ένα κατάλοιπο σεληνοκυστεΐνης. [24]

Ο κύριος ρόλος της GPX1 είναι η αναγωγή των ενδοκυτταρικών υπεροξειδίων και η απομάκρυνση τους από τους ιστούς σύμφωνα με την αντίδραση $2\text{GSH} + \text{ROOH} \rightarrow \text{GSSG} + \text{ROH} + \text{H}_2\text{O}$. Η γλουταθειόνη, ένα τριπεπτίδιο από γλυκίνη, κυστεΐνη και γλουταμινικό, που απαντάται στα περισσότερα κύτταρα του σώματος, χρειάζεται στην ανηγμένη του μορφή και αποδίδει ανηγμένα ισοδύναμα για την προηγούμενη αντίδραση. Τα οργανικά υπεροξείδια προέρχονται από τη χοληστερόλη και τα ακόρεστα λιπαρά οξέα κυρίως. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου παράγεται από πολλά κύτταρα του σώματος ως μέρος του φυσιολογικού μεταβολισμού. Η αντίδραση που καταλύεται από την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης εξουδετερώνει ή εξαλείφει το H_2O_2 και τα οργανικά υπεροξείδια. Τα υπεροξείδια αυτά αν δεν απομακρυνθούν, μπορεί να καταστρέψουν τις κυτταρικές μεμβράνες. [24]

Η GPx1 εκφράζεται σε όλους τους ιστούς του σώματος, εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα και μπορεί να μεταβολίσει μόνο υπεροξείδια του υδρογόνου και μερικά οργανικά υδρουπεροξείδια αλλά όχι υδρουπεροξείδια λιπαρών οξέων σε φωσφολιποειδή.

Μελέτες από γενετικά τροποποιημένα ποντίκια αναδεικνύουν μία πολύπλοκη εικόνα των φυσιολογικών λειτουργιών της GPx1. Η GPx1 έχει περιορισμένο ρόλο κατά τη διάρκεια της

φυσιολογικής ανάπτυξης και σε φυσιολογικές καταστάσεις. Εντούτοις σε ποντίκια που υποβλήθηκαν σε οξειδωτικό στρες προκαλούμενο με μεθυλοβιολογόνο και H_2O_2 , η GPx1 φάνηκε να είναι ο κύριος μεσολαβητής των προστατευτικών επιδράσεων του σεληνίου. Αυτό είναι πιθανό να γίνεται αποτρέποντας την οξείδωση του NADPH, του NADH των λιπιδίων και των πρωτεϊνών. Η GPx1 επίσης σχετίζεται με την προστασία ενάντια στην μόλυνση από ιούς. Αυτό φαίνεται από μελέτες σε ποντίκια τα οποία δεν παρήγαγαν GPx1 και τα οποία, ύστερα από μόλυνση με καλοήγη Coxsackie ιό, ανέπτυξαν καρδιομυοπάθεια παρόμοια με την ασθένεια Keshan.

Η GPx1 ενδέχεται να αποτελεί και πιθανό παράγοντα κινδύνου στην ανάπτυξη καρκίνου. Μειωμένα επίπεδα του ενζύμου θα μπορούσαν θεωρητικά να επηρεάζουν τον κίνδυνο για διαφόρους καρκίνους μέσω του ρόλου του σαν αντιοξειδωτικό ή πιθανώς μέσω της ρύθμισης της επιδιόρθωσης του DNA και μορίων που βοηθούν στην επιβίωση του κυττάρου. Αντιστρόφως η υπερέκφραση της GPx1 σε διαγονιδιακά ποντίκια ενίσχυσε την συχνότητα εμφάνισης καρκίνου, πιθανώς λόγω μείωσης της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων μέσω ελευθέρων ριζών και επομένως αύξησης του πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Επομένως τα επίπεδα της GPx1 πρέπει να διατηρούνται σε ισορροπημένα επίπεδα προκειμένου να έχουμε ευεργετικές επιδράσεις.[14]

1.4.2. GPX2

Η GPX2 ταυτοποιήθηκε αρχικά ως μία υπεροξειδάση της γλουταθειόνης με ειδίκευση στα επιθηλιακά κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα, με δομή και εξειδίκευση υποστρώματος παρόμοια με αυτά της GPX1. [14]

Η GPX-1 και η GPX-2 έχουν όμοια ενζυμική δραστηριότητα εφόσον συμβάλλουν και οι δύο στην απομάκρυνση τόσο των υπεροξειδίων του υδρογόνου όσο και των υπεροξειδίων των λιπαρών οξέων ενώ δεν συμβάλλουν στην απομάκρυνση των φωσφολιπιδικών υπεροξειδίων. Στα ποντίκια, το mRNA της GPX-2 εντοπίζεται κυρίως στο γαστρεντερικό σωλήνα ενώ στους ανθρώπους το mRNA εντοπίζεται στο ήπαρ και στο παχύ έντερο. [24]

Εντούτοις υψηλά επίπεδα GPX2 ανιχνεύθηκαν σε αρκετές κυτταρικές σειρές καρκινικών κυττάρων του μαστού, κατά τη διάρκεια ανάπτυξης καρκίνου στα πλακώδη επιθηλιακά κύτταρα, σε αδενώματα του παχέος εντέρου και σε προκαρκινικές καταστάσεις οισοφάγου Barrett . Επομένως η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης 2, GPX2, πιθανώς συνδέεται με την εμφάνιση κακοήθειας, αν και οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί δεν έχουν ακόμη κατανοηθεί πλήρως. Όπως

παρατηρήθηκε και με την GPX1, ποντίκια τα οποία δεν παρήγαγαν GPX2 αναπτύχθηκαν κανονικά.

Η αντικαρκινική δράση της GPX1 και της GPX2 στον καρκίνο του εντέρου αποδόθηκε στην αντιοξειδωτική ικανότητα αυτών των ενζύμων να αποτρέπουν την αύξηση της συγκέντρωσης υδρουπεροξειδίων στο έντερο λόγω λοίμωξης. Η GPX2, σε αντίθεση με την GPX1, φάνηκε αποτελεσματική στη διάσωση τέτοιων φαινοτύπων κάτι το οποίο αποδίδει στην GPX2 έναν ειδικό ρόλο στην προστασία του γαστρεντερικού σωλήνα ενάντιο στην λοίμωξη και την ανάπτυξη καρκίνου.

Η σημαντική λειτουργία της GPX2 φαίνεται και από την μεγάλη σταθερότητα που παρουσιάζει το mRNA αυτής της πρωτεΐνης κάτω από καταστάσεις περιορισμού σεληνίου και από την ταχεία παραγωγή σεληνοπρωτεΐνης GPX2 κατά τη διάρκεια κορεσμού σε σελήνιο σε σχέση με άλλες σεληνοπρωτεΐνες. [14]

1.4.3. GPX3

Μετά την ανακάλυψη της GPX-1 για πολλά χρόνια οι επιστήμονες θεωρούσαν ότι η δραστηριότητα υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης στο πλάσμα οφείλονταν σε διαρροή του ενζύμου από το ήπαρ και τα διάφορα όργανα. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η δραστηριότητα υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης στο πλάσμα αυξάνονταν με την αύξηση του σεληνίου και μειώνονταν με τη μείωση των αποθεμάτων σεληνίου, κάτι το οποίο έρχονταν σε συμφωνία με την παραδοχή ότι το ήπαρ είναι η κύρια πηγή παραγωγής του ενζύμου. Επιπλέον, η υπεροξειδάση του πλάσματος είχε παρόμοια ειδίκευση προς το υπόστρωμα με την GPX-1. Ωστόσο, η υπεροξειδάση του πλάσματος (GPX-3) δεν αντέδρασε με αντισώματα έναντι στην GPX-1 τα οποία απομονώθηκαν από τα ερυθρά αιμοσφαίρια και που κανονικά θα προκαλούσαν καθίζηση στα ερυθρά αιμοσφαίρια ή στην υπεροξειδάση του ήπατος (GPX-1). Αυτό οδήγησε σε προσπάθειες για την απομόνωση της GPX-3 από το ανθρώπινο πλάσμα, κάτι το οποίο αποκάλυψε ότι η πρωτεΐνη είναι ένα ισοένζυμο της GPX με ξεχωριστές ιδιότητες.

Η GPX3 είναι μία γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη που εκκρίνεται στα εξωκυτταρικά διαμερίσματα και αποτελεί ένα αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό του πλάσματος. Χρησιμοποιεί μία μεγάλη ποικιλία υποστρωμάτων όπως H_2O_2 , υδρουπεροξειδία λιπαρών οξέων και υδουπεροξειδία φωσφολιπιδίων. Σε αντίθεση με την GPX-1, η GPX-3 εμφανίζει δραστηριότητα ενάντια στα υδρουπεροξειδία των φωσφολιπιδίων, κάτι το οποίο της προσδίδει έναν πιο άμεσο ρόλο στην προστασία των μεμβρανών. [25]

Από τη στιγμή που η GPX-3 απαιτεί συγκέντρωση γλουταθειόνης αρκετών mM (millimolar) προκειμένου να δράσει, δημιουργείται η απορία για το εάν θα μπορούσε να λειτουργεί ως υπεροξειδάση στο πλάσμα (όπου η συγκέντρωση της γλουταθειόνης είναι 0,5mM). Παρόλα αυτά η αναγωγή της θειορεδοξίνης, το σύστημα της θειορεδοξίνης ή η οξειδοαναγωγή της γλουταθειόνης θα μπορούσαν επίσης να λειτουργήσουν ως δότες ηλεκτρονίων για την ανθρώπινη GPX-3 σε συγκεντρώσεις γλουταθειόνης παρόμοιες με αυτές του πλάσματος. Αυτό το δεδομένο αυξάνει την πιθανότητα το ένζυμο αυτό να δρα ως εξωκυττάριο αντιοξειδωτικό. [26]

Το mRNA της GPX-3 συναντάται κατά κύριο λόγο στους νεφρούς και ιδίως στα επιθηλιακά κύτταρα των εγγύς σωληναρίων. [19] Σε ανθρώπους και ποντίκια με ανεπάρκεια των νεφρών η δραστηριότητα της GPX-3 στο πλάσμα είναι πολύ χαμηλή. Ασθενείς με ασθένειες των νεφρών επίσης εμφανίζουν πολύ χαμηλή δραστηριότητα της GPX-3 στο πλάσμα, συμπεριλαμβανομένου και αυτών που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση. Αυτές οι μειώσεις στη δραστηριότητα της GPX-3 στο πλάσμα δεν σχετίζονται με έλλειψη σεληνίου στους ασθενείς αυτούς. [27]

Μια σειρά άλλων κυτταρικών τύπων έχουν προταθεί για την παραγωγή GPX-3 με βάση την ανίχνευση του mRNA ή τον ανοσολογικό προσδιορισμό της πρωτεΐνης. Αυτές περιλαμβάνουν την καρδιά, τον πλακούντα, τους πνεύμονες, τα κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα και τα κύτταρα του θυρεοειδούς. Επιπλέον, η παρουσία της GPX-3 στο γάλα αποκαλύπτει ότι η GPX-3 συντίθεται επίσης στα μαστικά κύτταρα. [24]

Η GPX3 χρησιμοποιείται ευρέως ως δείκτης της κατάστασης του σεληνίου στον οργανισμό. Η έκφραση της σελινοπρωτεΐνης βρέθηκε να είναι σημαντικά αυξημένη σε καρκινικούς όγκους των ωοθηκών, ενώ ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα παρατηρήθηκαν σε καρκίνους με καθαρή ιστολογία κυττάρου. Σε πρόσφατες μελέτες βρέθηκε ότι σε πρώτου βαθμού καρκίνο του παχέος εντέρου και σε οισοφάγο Barrett συχνά ο ενισχυτής στο γονίδιο της GPX3 μεθυλιώνεται οδηγώντας σε απώλεια της έκφρασης του γονιδίου, κάτι το οποίο υποδεικνύει ότι η επιγενετική αδρανοποίηση και ρύθμιση του μονοπατιού σύνθεσης της γλουταθειόνης πιθανώς διαδραματίζει ζωτικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη τέτοιων μορφών καρκίνου. [14]

1.4.4. GPX4

Σε αντίθεση με τις άλλες υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης η GPX4/PHGPx έχει την ικανότητα να ανάγει άμεσα υδρουπεροξειδία φωσφολιπιδίων και χοληστερόλης, χρησιμοποιώντας ηλεκτρόνια από τις θειόλες των πρωτεϊνών καθώς και από την γλουταθειόνη στα κύτταρα των θηλαστικών. Η GPX4 βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα, στα μιτοχόνδρια και στον πυρήνα με

διαφοροποίηση στην κατανομή της στους διάφορους ιστούς. Η αναστολή παραγωγής της GPX4 οδηγεί σε εμβρυικό θάνατο. Το γεγονός ότι κύτταρα από ποντίκια που δεν παράγουν GPX4 ήταν περισσότερο ευαίσθητα στο οξειδωτικό στρες, υποδεικνύει τον ζωτικό ρόλο της GPX4 στην κυτταρική διαφοροποίηση κατά τη διάρκεια της εμβρυικής ανάπτυξης και τον ρόλο της σαν βασικό αντιοξειδωτικό στα κύτταρα των θηλαστικών.

Ένας επιπρόσθετος ουσιαστικός ρόλος της GPX4 είναι η εμπλοκή της στην ωρίμανση του σπέρματος και στην ανδρική γονιμότητα. Η GPX4 εντοπίζεται στις σπερματίδες υπό τη μορφή διαλυτού οξειδοαναγωγικού ενζύμου και υφίσταται οξειδωτικό πολυμερισμό, σχηματίζοντας την βάση της δομής της μιτοχονδριακής κάψουλας του σπέρματος στα ώριμα σπερματοζωάρια. Πιο πρόσφατα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η πυρηνική ισομορφή της GPX4 παίζει κάποιο ρόλο στην συμπύκνωση της χρωματίνης, συμβάλλοντας επομένως στην δομική σταθερότητα της χρωματίνης του σπέρματος λειτουργώντας σαν υπεροξειδάση πρωτεϊνικών θειολών.

Μελέτες σε τρωκτικά σε καταστάσεις έλλειψης σεληνίου έχουν αποδείξει με βεβαιότητα τη σημασία αυτού του ιχνοστοιχείου στην ανδρική γονιμότητα. Αντίστοιχες μελέτες σε ανθρώπους συνδέουν την ανδρική στειρότητα με χαμηλά επίπεδα δραστηριότητας της GPx4, γεγονός που υποδηλώνει ότι GPx4 είναι απαραίτητη για τη δομική ακεραιότητα των σπερματοζωαρίων. [14]

1.5. ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΚΑΙ ΣΕΛΗΝΙΟ

Το σελήνιο εισέρχεται στην διατροφική αλυσίδα μέσω των φυτών, ενώ η πρόσληψη σεληνίου μέσω του πόσιμου νερού είναι ασήμαντη. Η ποσότητα σεληνίου που περιέχεται στα διάφορα τρόφιμα εξαρτάται από έναν αριθμό γεωλογικών, γεωγραφικών και άλλων παραγόντων. Έτσι, ενώ η συγκέντρωση του σεληνίου στο έδαφος καθορίζεται πρωτίστως από την υποκείμενη γεωλογία, η βιοδιαθεσιμότητα αυτού του σεληνίου στα φυτά εξαρτάται από το pH, την οξειδοαναγωγική κατάσταση, την ποσότητα οργανικής ύλης στο έδαφος, από ιόντα που ανταγωνίζονται το σελήνιο, όπως τα θειικά ιόντα, από την μικροβιακή δραστηριότητα, την υφή και θερμοκρασία του εδάφους, την συχνότητα των βροχοπτώσεων κατά την περίοδο της καλλιέργειας, από την άρδευση και από άλλες μεταβλητές που σχετίζονται με τις μεταβολές στην θερμοκρασία και το pH του εδάφους. [28]

Τα περισσότερα εδάφη περιέχουν $0,1 \pm 2 \text{ } \mu\text{g Se/kg}$. Μερικά μέρη του κόσμου (για παράδειγμα στην Δανία, Φιλανδία, Νέα Ζηλανδία, ανατολική και κεντρική Σιβηρία και μία ζώνη που εκτείνεται από την βορειοδυτική μέχρι την ανατολική και κεντρική Κίνα) περιέχουν σημαντικά μικρότερη ποσότητα σεληνίου στο έδαφός τους (λιγότερο από 2 mg Se/kg) και επομένως και τα τρόφιμα που καλλιεργούνται στα εδάφη αυτά περιέχουν σε μικρότερη ποσότητα. Σε αντίθεση

με αυτό κάποιες άλλες περιοχές, όπως οι μεγάλες πεδιάδες στις ΗΠΑ και τον Καναδά, κάποια μέρη της Ιρλανδίας, η Κολομβία και η Βενεζουέλα, περιέχουν εδάφη πολύ πλούσια σε σελήνιο (σχεδόν 90 mg Se/kg). [29]

Σύμφωνα με τον Fordyce είναι σημαντικό να κατανοήσουμε ότι ακόμη και εδάφη που περιέχουν επαρκή ή και υψηλή ποσότητα σεληνίου μπορεί να αποδώσουν σοδειές με ελλιπή συγκέντρωση σεληνίου σε περίπτωση που το στοιχείο αυτό δεν βρίσκεται σε μορφή που απορροφάται από τα φυτά. Αυτό υποδεικνύεται και από δεδομένα από μία επαρχία της Κίνας όπου εμφανίστηκε η νόσος Keshan (λόγω έλλειψης σεληνίου). Εκεί αν και το έδαφος είχε μεγάλη περιεκτικότητα σε σελήνιο αυτό δεν ήταν βιοδιαθέσιμο στα φυτά λόγω παρουσίας μεγάλης ποσότητας οργανικής ύλης στο έδαφος και χαμηλού pH. [30]

Ένας ακόμη σημαντικός παράγοντας είναι ότι τα διάφορα φυτά διαφέρουν ως προς την ικανότητά τους να αφομοιώνουν και να συσσωρεύουν σελήνιο. [28] Μπορούν λοιπόν να διαιρεθούν σε τρεις κατηγορίες: τα φυτά που δεν συσσωρεύουν Se (non-accumulators), β) τους συσσωρευτές σεληνίου (Se-indicators or secondary Se-accumulators) και γ) τους υπερσυσσωρευτές σεληνίου (Se-hyperaccumulators). Ενώ λοιπόν οι μη συσσωρευτές σπάνια συγκεντρώνουν περισσότερο από 100 mg Se/γρ ξηρού βάρους, οι υπερσυσσωρευτές μπορεί να περιέχουν μέχρι και 40.000 mg Se/γρ ξηρού βάρους όταν καλλιεργούνται σε εδάφη πλούσια σε σελήνιο. [31]

Το μόνο φυτό που χαρακτηρίζεται υπερσυσσωρευτής και χρησιμοποιείται στην διατροφή είναι το δέντρο *Bertholletia excels*, από το οποίο παράγονται τα Βραζιλιάνικα φιστίκια. Τα δημητριακά, όπως το σιτάρι, η βρώμη, η σίκαλη και το κριθάρι είναι μη συσσωρευτές. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας η περιεκτικότητα των τροφίμων σε σελήνιο ποικίλει ως εξής: τα εντόσθια και θαλασσινά περιέχουν 0,4 έως 1,5 μg Se /g, το κρέας 0,1 έως 0,4 μg Se /g, τα περισσότερα γεωργικά προϊόντα 1 μg Se /g ξηρού βάρους (για παράδειγμα τα δημητριακά περιέχουν λιγότερο από 0,1 μg Se /g έως και λίγο περισσότερο από 0,8 μg Se /g), τα γαλακτοκομικά προϊόντα λιγότερο από 0,1-0,3 μg Se /g και τέλος τα φρούτα και λαχανικά λιγότερο από 0,1 μg Se /g. [28]

Η διακύμανση στην περιεκτικότητα αυτών των τροφίμων σε σελήνιο μπορεί να είναι ακόμη μεγαλύτερη. Τα ίδια τρόφιμα λοιπόν όταν προέρχονται από διαφορετικές χώρες περιέχουν πολύ διαφορετική ποσότητα σεληνίου. Για παράδειγμα σε ζυμαρικά που προέρχονταν από τις ΗΠΑ η περιεκτικότητα σεληνίου ήταν περίπου 57 μg/ 100 g σε αντίθεση με τα ιταλικά ζυμαρικά που περιείχαν μόλις 6 μg Se /100g. [28]

Τα Βραζιλιάνικα φιστίκια αποτελούν την πιο πλούσια πηγή σε σεληνίο με την περιεκτικότητά τους να κυμαίνεται από 0,03 έως 512 $\mu\text{g/g}$. [28] Στις περισσότερες δίαιτες η κύριες πηγές σεληνίου είναι τα δημητριακά, το κρέας και τα ψάρια. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα και τα αυγά συνεισφέρουν σε μικρότερο βαθμό στην συνολική πρόσληψη σεληνίου στις περισσότερες χώρες, αν και μπορεί να καλύπτουν ένα σημαντικό ποσοστό του συνολικού προσλαμβανόμενου σεληνίου σε χώρες όπου η κατανάλωση αυτών των προϊόντων είναι υψηλή και/ή σε δίαιτες όπου τα υπόλοιπα τρόφιμα παρέχουν μικρές ποσότητες σεληνίου. Τα φρούτα και τα λαχανικά αποτελούν γενικά φτωχές πηγές σεληνίου και καλύπτουν ένα μικρό μόνο ποσοστό του προσλαμβανόμενου σεληνίου στη δίαιτα της τάξης του 8%. [29]

Το συκώτι, το καβούρι και άλλα οστρακοειδή και τα ψάρια αποτελούν σχετικά καλές πηγές σεληνίου. Οι περισσότεροι άνθρωποι σπάνια καταναλώνουν τρόφιμα που αποτελούν καλές πηγές σεληνίου. Στην βόρεια Αμερική ο σίτος αποτελεί καλή πηγή σεληνίου αλλά κάτι τέτοιο δεν ισχύει για τον σίτο στην Ευρώπη λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας του σεληνίου στα περισσότερα εδάφη. Παρόλα αυτά το ψωμί και τα σιτηρά, καθώς καταναλώνονται κατά κόρον, συνεισφέρουν τελικά σημαντικά στην συνολική πρόσληψη σεληνίου στην Βόρεια Ευρώπη (περίπου το 22% στο Ηνωμένο Βασίλειο). Το κρέας, τα πουλερικά και τα ψάρια παρέχουν το μεγαλύτερο ποσοστό σεληνίου (περίπου το 36% στο Ηνωμένο Βασίλειο). [32] Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Ελλάδα οι σπόροι σησαμιού, τα ψάρια και τα αυγά είχαν την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε σεληνίο. Το κρέας, το τυρί, το ψωμί και το γιαούρτι περιείχαν μέτριες ποσότητες σεληνίου, ενώ τα φρούτα και τα λαχανικά είχαν τις μικρότερες συγκεντρώσεις. Επομένως το κρέας, το ψάρι, τα αυγά και το τυρί παρείχαν το μεγαλύτερο μέρος του σεληνίου καθημερινά. Παρόλα αυτά το γιαούρτι, το γάλα, τα φρούτα και τα λαχανικά δεν θα πρέπει να θεωρηθούν αμελητέες πηγές σεληνίου καθώς καθημερινά καταναλώνονται μεγάλες ποσότητες αυτών των προϊόντων. [33]

Σύμφωνα με τον Fordyce το μαγείρεμα μπορεί να μειώσει την περιεκτικότητα Se στα περισσότερα τρόφιμα. Έτσι λοιπόν λαχανικά που φυσιολογικά περιέχουν υψηλές ποσότητες σεληνίου, όπως τα σπαράγγια και τα μανιτάρια, μπορεί να χάσουν μέχρι και το 40% του περιεχόμενου σεληνίου κατά το βράσιμο και το πλύσιμο με νερό. Επομένως θα πρέπει να λαμβάνουμε υπόψη και την μαγειρική επεξεργασία των τροφίμων όταν προσπαθούμε να υπολογίσουμε την ποσότητα του προσλαμβανόμενου σεληνίου. [30]

Η πρόσληψη σεληνίου διαφέρει σημαντικά μεταξύ των διαφόρων χωρών και ακόμη και μεταξύ διαφορετικών περιοχών της ίδιας χώρας κυρίως λόγω της διαφορετικής περιεκτικότητας του σεληνίου στα διάφορα φυτά (και επομένως και των ζωοτροφών). Στον πίνακα 1.5.1. φαίνεται η πρόσληψη σεληνίου σε διάφορες χώρες.

Πίνακας 1.5.1: Πρόσληψη σεληνίου κατά άτομο (μg/άτομο/ημέρα) σε επιλεγμένες χώρες ανά τον κόσμο [28]

Χώρες	Ημερήσια Πρόσληψη Σεληνίου κατ' Άτομο (μg/d)
Αυστραλία	57-87
Αυστρία	48
Βέλγιο	28-61
Βραζιλία	28-37
Τσεχία	10-25 (κατ'εκτίμηση)
Καναδάς	98-224
Κίνα	7-4099
Κροατία	27
Δανία	38-47
Αίγυπτο	29
Γαλλία	29-43
Γερμανία	35
Ινδία	27-48
Ιρλανδία	50
Ιταλία	43
Ιαπωνία	104-199
Νεπάλ	23
Ολλανδία	39-54
Νέα Γουινέα	20
Νέα Ζηλανδία	55-80
Πολωνία	30-40 (υπολογισμένο)
Πορτογαλία	37
Σαουδική Αραβία	15
Σερβία	30
Σλοβακία	38
Σλοβενία	30
Ισπανία	35
Σουηδία	31-38
Ελβετία	70
Τουρκία	30-37
Ηνωμένο Βασίλειο	29-39
Αμερική	106
Βενεζουέλα	200-350

Είναι λοιπόν εμφανές ότι υπάρχει μία τεράστια διακύμανση στην πρόσληψη σεληνίου ανά τον κόσμο. Μπορεί να είναι τοξική (περίπου 5 mg την ημέρα σε περιοχές της Κίνας, όπου και εμφανίστηκε σεληνωση), υψηλή (περίπου 200–724 μg την ημέρα στην Βενεζουέλα και σε

κάποιες περιοχές της Βόρειας Αμερικής), επαρκής προς υψηλή (περίπου 100-200 μg την ημέρα στην υπόλοιπη Βόρειο Αμερική και στην Ιαπωνία), οριακά επαρκής (περίπου 30-90 μg την ημέρα στην Αυστραλία, στην Ευρώπη, στη Νέα Ζηλανδία), μέχρι και χαμηλή ή ελλιπής (περίπου 7-30 μg την ημέρα σε χώρες της ανατολικής Ευρώπης και σε περιοχές τη Κίνας). [28]

Σε έρευνα στην Ελλάδα η συνολική μέση πρόσληψη σεληνίου που καταγράφηκε από τα τρόφιμα ήταν 39,3 μg την ημέρα. Αυτή η πρόσληψη σεληνίου ήταν μικρότερη από αυτή που είχε καταγραφεί από έλληνες ερευνητές σε παλαιότερη έρευνα. [33] Συγκεκριμένα ο Βρατάκος Μ. και οι συνεργάτες του υπολόγισαν ότι οι ενήλικες Έλληνες προσλαμβάνουν 110 μg σεληνίου την ημέρα από μη μαγειρεμένα τρόφιμα (ή 95 μg σεληνίου/ημέρα από μη μαγειρεμένα και μαγειρεμένα τρόφιμα μαζί). [34]

Αν και τα φυτά αντιπροσωπεύουν μία πρωταρχική πηγή Se στη διατροφή, τα ζώα πιθανό να αποτελούν σημαντικότερη πηγή σεληνίου λόγω του ότι έχουν συγκεκριμένες απαιτήσεις σε σελήνιο, τις οποίες και πρέπει να καλύψουν μέσω της ζωοτροφής (αν δεν πρέπει να ξεχνάμε ότι τα ζώα, όπως και οι άνθρωποι, μπορεί να εμφανίσουν ανεπάρκεια σε Se). Στο Ηνωμένο Βασίλειο, για παράδειγμα, οι ζωοτροφές εμπλουτίζονται σε σελήνιο με αποτέλεσμα να αυξάνεται ελαφρώς το περιεχόμενο Se στο κρέας τους και στο γάλα που παράγουν. Έτσι λοιπόν, στο Ηνωμένο Βασίλειο, το κρέας και τα πουλερικά συνεισφέρουν πολύ περισσότερο στην συνολική διατροφική πρόσληψη σεληνίου σε σχέση με τα ψωμί και τα σιτηρά. Το σελήνιο βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση τα εντόσθια του κρέατος (νεφρούς και συκώτι), ενώ ορισμένα θαλασσινά περιέχουν εξίσου μεγάλες ποσότητες σεληνίου. Η κατάσταση σεληνίου στον ανθρώπινο οργανισμό επομένως δεν εξαρτάται μόνο από την περιεκτικότητα του σεληνίου στα εγχώρια τρόφιμα αλλά και από το βαθμό στον οποίο κάποιος καταναλώνει εισαγόμενα τρόφιμα. [28]

1.6. ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΣΕ ΣΕΛΗΝΙΟ

Η αξιολόγηση των απαιτήσεων σε σελήνιο γίνεται με βάση τις προσλήψεις που μεγιστοποιούν τη δραστηριότητα του σελινοενζύμου υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, GPX, κριτήριο το οποίο χρησιμοποιήθηκε και κατά την πρόσφατη ενημέρωση των Διαιτητικών Προσλήψεων Αναφοράς (Dietary Reference Intakes, DRIs) των ΗΠΑ και του Καναδά (Standing Committee on the Evaluation of Dietary Reference Intakes, 2000). Ακόμη ωστόσο δεν έχει εξακριβωθεί, εάν το σελήνιο είναι απαραίτητο για τη διατήρηση υψηλών επιπέδων του ενζύμου και για τη βέλτιστη

λειτουργία, καθώς και εάν η αυξημένη πρόσληψη σεληνίου παρέχει κάποια προστασία έναντι χρόνιων ασθενειών.

Η επαρκής πρόσληψη σεληνίου είναι απαραίτητη για τη βέλτιστη δραστηριότητα των βασικών αντιοξειδωτικών ενζύμων, συμπεριλαμβανομένων της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και της αναγωγάσης της θειορεδοξίνης.[14, 32]

Κατά την αξιολόγηση των απαιτήσεων σε σελήνιο θα πρέπει να ληφθούν υπόψη οι ακόλουθοι παράγοντες:

- η μορφή του σεληνίου που προσλαμβάνεται με την τροφή επηρεάζει την απόκριση των σεληνοενζύμων [35, 36]
- η συγκέντρωση κάποιων σεληνοενζύμων επηρεάζεται περισσότερο από την έλλειψη σεληνίου σε σχέση με άλλα σεληνοένζυμα εξαιτίας της ιεραρχίας κατά την έκφραση των σεληνοπρωτεϊνών
- υπάρχει σημαντική διακύμανση ($p < 0,001$) μεταξύ των ατόμων όσον αφορά την απόκριση των σεληνοενζύμων στη συμπληρωματική χορήγηση σεληνίου και έτσι και οι απαιτήσεις σε σελήνιο διαφέρουν μεταξύ των ατόμων του ίδιου πληθυσμού [36]
- είναι πιθανό ο οργανισμός να προσαρμοστεί στη χαμηλή πρόσληψη σεληνίου με μείωση της απέκκρισή του [37]

Σε χαμηλά ή πολύ χαμηλά επίπεδα πρόσληψης σεληνίου, το σελήνιο του ορού ή του πλάσματος συσχετίζεται θετικά με την δραστηριότητα της GPX των ερυθροκυττάρων [24], ενώ σε υψηλότερες προσλήψεις, η δραστηριότητα της GPX φτάνει σε ένα πλατό οπότε και δεν αυξάνεται περαιτέρω. Έτσι λοιπόν το σελήνιο ορού ή πλάσματος, καθώς είναι εύκολα μετρήσιμο αποτελεί έναν χρήσιμο δείκτη της κατάστασης του σεληνίου σε πληθυσμούς με χαμηλά ή αρκετά χαμηλά επίπεδα πρόσληψης.

Έχει όμως φανεί ότι τα επίπεδα πρόσληψης σεληνίου που οδηγούν στη μεγιστοποίηση της δραστηριότητας της GPX-3, πληρώντας και τον ενζυμικό ή αντιοξειδωτικό ρόλο του σεληνίου, είναι ανεπαρκή στο να βελτιστοποιήσουν την ανοσολογική απάντηση και να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου. Αυτή η αδυναμία είναι αρκετά σημαντική ώστε να πρέπει να αναθεωρηθεί η άποψη που λέει ότι ποσότητα σεληνίου που οδηγεί στα 2/3 της μέγιστης δραστηριότητας της GPX-3 είναι διατροφικά επαρκής. [38]

Στην διατροφή των Ευρωπαίων λίγα είναι τα τρόφιμα που αποτελούν πλούσιες πηγές σεληνίου, ενώ τα βραζιλιάνικα φιστίκια και τα εντόσθια που αποτελούν καλές πηγές σεληνίου δεν καταναλώνονται ευρέως. Μόνο οι κάτοικοι των Ηνωμένων Πολιτειών και κάποιων άλλων

χωρών της νότιας Αμερικής δείχνουν να έχουν ικανοποιητική πρόσληψη σεληνίου της τάξης των 70 με 120 μg σεληνίου την ημέρα. Μελέτες στην Ευρώπη και την Αμερική όπου χρησιμοποιήθηκαν συμπληρώματα σεληνίου έδειξαν ότι πρόσληψη 80-100 μg την ημέρα βελτιστοποιεί την δραστικότητα των ενζύμων που εξαρτώνται από το σελήνιο. Πειράματα στην Φιλανδία πρότειναν ως επαρκή την πρόσληψη 100 μg σεληνίου την ημέρα ενώ έρευνες στην Νέα Ζηλανδία έθεσαν ως ελάχιστη απαίτηση τα 39 μg την ημέρα και ως μέγιστη εκτιμώμενη απαίτηση για μεγιστοποίηση της δραστικότητας της GPX σε όλο το σώμα, τα 90 μg την ημέρα. Πρόσφατα, η Υπηρεσία τροφίμων και διατροφής στην Αμερική έθεσε ως συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη τα 55 μg σεληνίου. [13]

1.6.1. ΕΛΑΧΙΣΤΗ ΑΠΑΙΤΗΣΗ ΓΙΑ ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ KESHAN

Η εμφάνιση της ασθένειας Keshan σε συγκεκριμένες περιοχές της Κίνας οδήγησε στη σύγκριση της διαιτητικής πρόσληψης ανάμεσα στις περιοχές που εμφάνιζαν και σε αυτές που δεν εμφάνιζαν έλλειψη σεληνίου. Η πρόσληψη σεληνίου που υπολογίστηκε ήταν 7,7 και 6,6 μg την ημέρα στις περιοχές που εμφανίστηκε η ασθένεια και 19,1 και 13,3 μg την ημέρα στις περιοχές που δεν εμφάνισαν την ασθένεια σε άνδρες και γυναίκες αντίστοιχα. Επιπρόσθετα δεδομένα από την Κίνα έδειξαν ότι η ασθένεια αυτή στα παιδιά δεν εμφανίζονταν σε περιοχές όπου η πρόσληψη σεληνίου των ενηλίκων ήταν 20 $\mu\text{g}/\text{ημέρα}$ ή και περισσότερο. Αυτή η πρόσληψη θεωρήθηκε γενικά η ελάχιστη απαίτηση για την διατήρηση καλής υγείας. Στη συνέχεια ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO/FAO/IAEA, 1996) καθόρισε την βασική απαίτηση σε σελήνιο (την πρόσληψη που απαιτείται για την πρόληψη παθολογικών και κλινικών συμπτωμάτων σχετιζόμενων με διατροφική ανεπάρκεια) στα 21 $\mu\text{g}/\text{ημέρα}$ για τους άνδρες και στα 16 $\mu\text{g}/\text{ημέρα}$ για τις γυναίκες. [37]

1.6.2. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΣΕΛΗΝΙΟ

Ένα κριτήριο για την αξιολόγηση των φυσιολογικών απαιτήσεων ενός θρεπτικού συστατικού είναι η πρόσληψη που απαιτείται για την μεγιστοποίηση της δράσης ενός ενζύμου ή κάποιας βιολογικής λειτουργίας. Στην περίπτωση του σεληνίου η μοναδική λειτουργική πρωτεΐνη για την οποία υπάρχουν επαρκή στοιχεία είναι υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Επομένως το κύριο κριτήριο για τον υπολογισμό των προτεινόμενων απαιτήσεων σε σελήνιο (Εκτιμώμενη Μέση Απαίτηση, EAR και Συνιστώμενη Ημερήσια Πρόσληψη, RDA) στα πρόσφατα DRIs (Διαιτητικές Προσλήψεις Αναφοράς) της Αμερικής και του Καναδά ήταν η μεγιστοποίηση της GPX του πλάσματος. Η Εκτιμώμενη Μέση Απαίτηση (EAR) ορίστηκε τελικά στα 45-50 μg την

ημέρα. Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται οι απαιτήσεις σε σελήνιο αναλυτικά ανά ηλικιακή ομάδα και στάδιο ζωής. Με έντονα γράμματα αναφέρονται τα RDA (Recommended Dietary Allowances) και με κανονική γραφή ακολουθούμενη από αστερίσκο (*) αναφέρονται τα AIs (Adequate Intakes).

Πίνακας 1.6.2.1: Διαιτητικές προσλήψεις αναφοράς για το στοιχείο σελήνιο [39]

ΣΤΑΔΙΟ ΖΩΗΣ	ΣΕΛΗΝΙΟ (μg/ημέρα)
Βρέφη	
0-6 μηνών	15*
6-12 μηνών	20*
Παιδιά	
1-3 ετών	20
4-8 ετών	30
Άνδρες	
9-13 ετών	40
14-18 ετών	55
19-30 ετών	55
31-50 ετών	55
51-70 ετών	55
>70 ετών	55
Γυναίκες	
9-13 ετών	40
14-18 ετών	55
19-30 ετών	55
31-50 ετών	55
51-70 ετών	55
>70 ετών	55
Εγκυμοσύνη	
14-18 ετών	60
19-30 ετών	60
31-50 ετών	60
Θηλασμός	
14-18 ετών	70
19-30 ετών	70
31-50 ετών	70

1.6.3. ΑΠΑΙΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ ΧΡΟΝΙΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ

Παραδοσιακά η συνιστώμενη διαιτητική πρόσληψη για ένα θεραπευτικό συστατικό στοχεύει στην πρόληψη της εμφάνισης ανεπάρκειας. Κάποια πιθανά οφέλη από την πρόσληψη μεγαλύτερης ποσότητας σεληνίου από την συνιστώμενη μπορεί να είναι η προστατευτική δράση ενάντια σε κάποιες μορφές καρκίνου και η αντιοξειδωτική προστασία ενάντια στην καρδιαγγειακή νόσο. Παρόλα αυτά αυτή η πιθανή προστατευτική δράση από την επιπρόσθετη πρόσληψη σεληνίου δεν λήφθηκε υπόψη στα DRIs των ΗΠΑ και του Καναδά καθώς τα δεδομένα είναι περιορισμένα και ελλιπή. [37]

1.6.4. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΣΕ ΣΕΛΗΝΙΟ

Οι μορφές με τις οποίες συναντάμε το σελήνιο στην διατροφή περιλαμβάνουν τις εξής: την σεληνομεθειονίνη, που αντιπροσωπεύει περίπου την μισή ποσότητα του διαιτητικούς σεληνίου και είναι βιοδιαθέσιμη σε ποσοστό μεγαλύτερο από 90%, την σεληνοκυστεΐνη που εμφανίζει επίσης υψηλή βιοδιαθεσιμότητα και ανόργανες μορφές σεληνίου όπως το σεληνικό και το σεληνιώδες οξύ, με βιοδιαθεσιμότητα που υπερβαίνει το 50%.

Οι απαιτήσεις σε σελήνιο είναι δυνατό να επηρεάζονται από έναν αριθμό παραγόντων. Συγκεκριμένα, λόγω του ρόλου του στην υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, είναι πιθανό το σελήνιο να αλληλεπιδρά με οποιαδήποτε άλλα θρεπτικά συστατικά επηρεάζουν την αντιοξειδωτική/προοξειδωτική ισορροπία του κυττάρου. Πράγματι λοιπόν η υπεροξειδωση των λιπιδίων παρεμποδίζεται από την PHGPx μόνο εάν υπάρχει επαρκής ποσότητα βιταμίνης Ε στις κυτταρικές μεμβράνες, κάτι το οποίο φανερώνει έναν συνεργιστικό ρόλο ανάμεσα στα δύο αυτά αντιοξειδωτικά.

Το σελήνιο αλληλεπιδρά και μία σειρά βαρέων μετάλλων όπως το κάδμιο, ο άργυρος και ο υδράργυρος στα θαλασσινά και πιθανώς προστατεύει από τις τοξικές δράσεις αυτών των μετάλλων. Από την άλλη η πρόσδεση του σεληνίου στα μέταλλα πιθανώς μειώνει την βιοδιαθεσιμότητα του σεληνίου στα τρόφιμα.

Λόγω της αντιοξειδωτικής ικανότητας του σεληνίου διάφοροι παράγοντες του καθημερινού τρόπου ζωής που οδηγούν σε οξειδωτικό στρες, όπως το κάπνισμα, υψηλή πρόσληψη πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και η εντατική άσκηση, μπορεί να αυξάνουν τις συνολικές

απαιτήσεις σε σελήνιο, κάτι το οποίο θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά την διατροφική αξιολόγηση. [37]

1.7. ΒΙΟΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΣΕΛΗΝΙΟΥ

Τα σελήνιο αποθηκεύεται στους ιστούς με διαφορετική συγκέντρωση. Έτσι λοιπόν το 30% του σεληνίου που βρίσκεται στου ιστούς εντοπίζεται στο συκώτι, 15% στους νεφρούς, 30% στους μύες, 10% στο πλάσμα και το υπόλοιπο 15% στα διάφορα όργανα. Το σελήνιο προσδένεται στον υδράργυρο, σχηματίζοντας ένα αδρανές σύμπλεγμα με αναλογία μοριακού βάρους 1:1, αυτό το σύμπλεγμα σεληνίου-υδραργύρου δεν είναι δυνατόν να μεταβολιστεί. Τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ελεύθερου σεληνίου, μη δεσμευμένου σε υδράργυρο, συναντάμε στο φλοιό των νεφρών και στον αδένα της υπόφυσης, ενώ ακολουθούν ο θυρεοειδής αδένας, το συκώτι, η σπλήνα και ο φλοιός του εγκεφάλου. Το σελήνιο απορροφάται σε μεγάλο βαθμό ενώ δεν υπάρχει κάποιος ομοιοστατικός μηχανισμός για την απορρόφησή του.

Το σελήνιο εντοπίζεται φυσιολογικά στα φυτά με τη μορφή σεληνομεθειονίνης, σέληνο-μεθυλοσεληνομεθειονίνης, σεληνοκυστεΐνης και σεληνοκυστίνης. Το ανόργανο σεληνιώδες οξύ είναι βιοδιαθέσιμο σε ποσοστό μεγαλύτερο από 80% ενώ η σεληνομεθειονίνη και το σεληνικό οξύ μπορεί να είναι περισσότερο και από 90% βιοδιαθέσιμα. Η απορρόφηση του σεληνίου από τις τροφές είναι επίσης ικανοποιητική αν και η διαιτητική πρόσληψη σεληνίου διαφέρει ανά τον κόσμο και μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 11-5000 μg/ημέρα. [40]

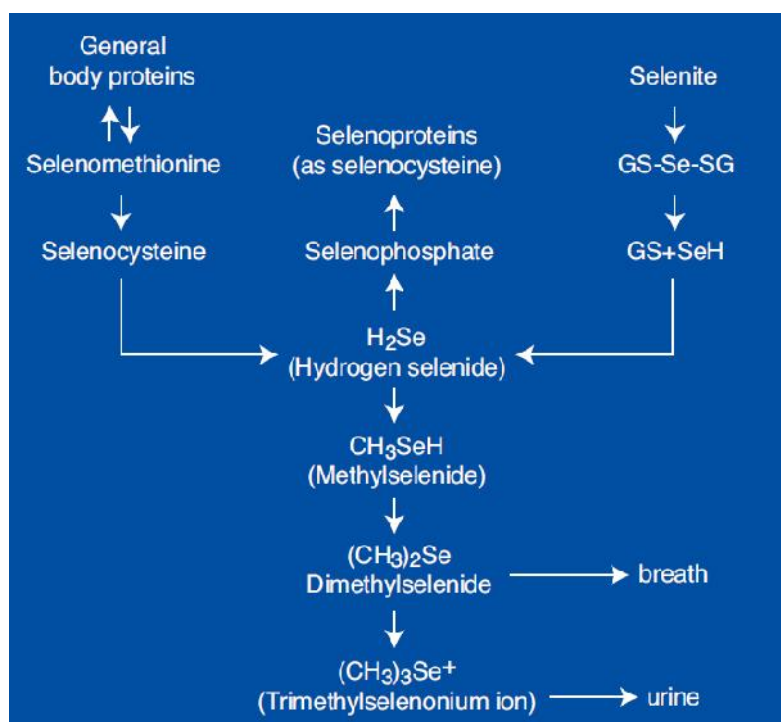
Η σεληνομεθειονίνη αποτελεί τη κύρια οργανική μορφή σεληνίου που συναντάμε στα δημητριακά, στα χόρτα, στα φασόλια σόγιας καθώς και στην εμπλουτισμένη με σελήνιο ζύμη που χρησιμοποιείται στα συμπληρώματα σεληνίου. Η σεληνομεθειονίνη φαίνεται γενικά να είναι η πιο βιοδιαθέσιμη μορφή του σεληνίου, ωστόσο μπορεί να αντικαταστήσει την μεθειονίνη στις πρωτεΐνες των ιστών. Έτσι μία αλλαγή στο περιεχόμενο μιας δίαιτας σε μεθειονίνη μεταβάλει και τον βαθμό στον οποίο η σεληνομεθειονίνη χρησιμοποιείται για να καλύψει τις ανάγκες του οργανισμού σε μεθειονίνη.

Οι διάφορες σεληνοπρωτεΐνες παράγονται στον ανθρώπινο οργανισμό από μία ποικιλία πηγών σεληνίου όπως φαίνεται και στο σχήμα (μπλε σχήμα). Η σεληνομεθειονίνη ανταγωνίζεται την μεθειονίνη για την απορρόφηση τους στην επιφάνεια του εντέρου και τελικά ενσωματώνεται και αποθηκεύεται στις πρωτεΐνες του σώματος που περιέχουν μεθειονίνη. [40]

Ο μεταβολισμός του σεληνίου εξαρτάται από την διαιτητική του μορφή αλλά τόσο το οργανικό όσο και το ανόργανο σελήνιο χρησιμοποιούνται σαν θρεπτικά συστατικά στα θηλαστικά., όπως

φαίνεται στο παρακάτω σχήμα. Το ανόργανο σελήνιο (σεληνιώδες και σεληνικό οξύ) ανάγονται σε υδροσελήνιο μέσω ενός μονοπατιού στο οποίο σχηματίζεται σύμπλοκο με την γλουταθειόνη.

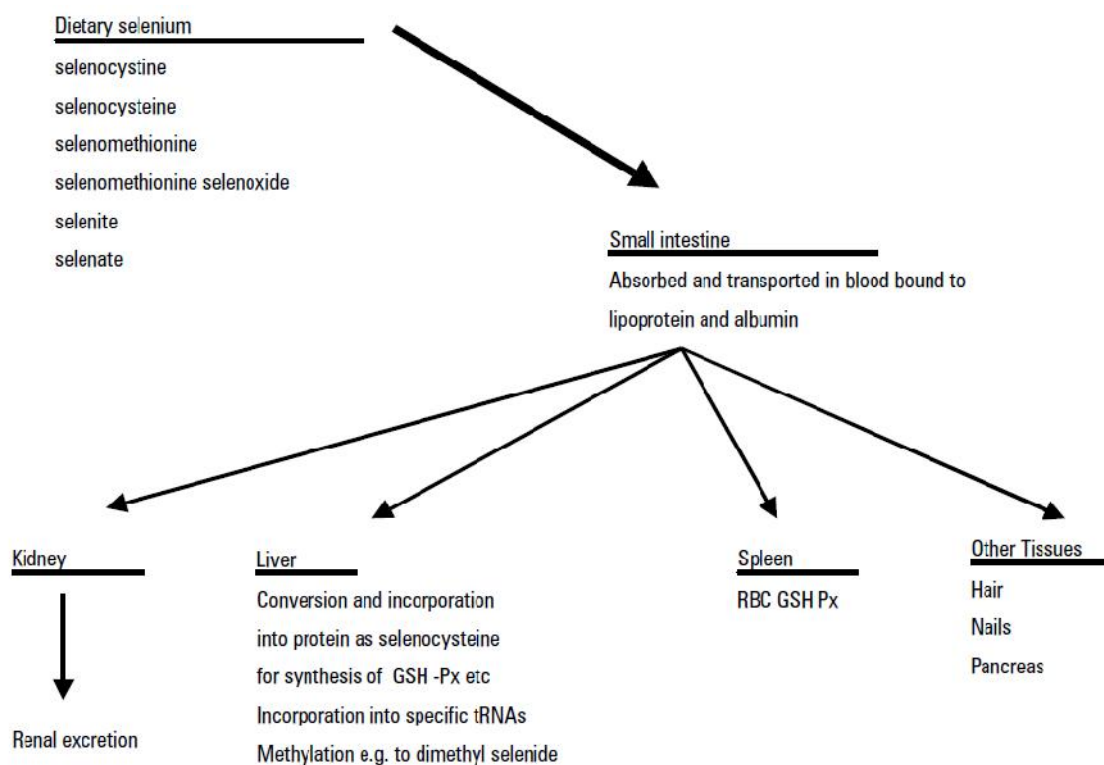
Το οργανικό σελήνιο βρίσκεται με τη μορφή σεληνοκυστεΐνης και σεληνομεθειονίνης. Η σεληνομεθειονίνη μπορεί να μετατραπεί σε σεληνοκυστεΐνη μέσω διαθείωσης και να διασπαστεί σε υδροσελήνιο με τη βοήθεια του ενζύμου β-λυάση. Το υδροσελήνιο λειτουργεί ως πρόδρομη ένωση για την σύνθεση των σεληνοπρωτεϊνών. Μπορεί επίσης να ακολουθήσει την οδό απέκκρισης μέσω μονο-, δι- ή τρι-μεθυλίωσης. Η τριμεθυλιωμένη του μορφή είναι η κύρια μορφή με την οποία το σελήνιο απεκκρίνεται από τον οργανισμό μέσω των ούρων και της αναπνοής. Για το λόγο αυτό και ένα από τα συμπτώματα της τοξικότητας του σεληνίου αναφέρεται ως «αναπνοή σκόρδου»-πρόκειται για την μυρωδιά του διμεθυλσεληνιδίου που απεκκρίνεται από τους πνεύμονες. [8,40]



Σχήμα 1.7.1: Μεταβολισμός σεληνίου [40]

Το διαιτητικό σελήνιο υπό τη μορφή σεληνομεθειονίνης φαίνεται να είναι λιγότερο αποτελεσματικό στην πρόληψη διαφόρων καταστάσεων σε σύγκριση με το σεληνιώδες οξύ. Για παράδειγμα έχει βρεθεί ότι η μεθυλοσεληνόλη, η οποία παράγεται πιο αποτελεσματικά από το σεληνιώδες οξύ, είναι πολύ πιο προστατευτική έναντι του καρκίνου σε σχέση με τη μεθυλοσεληνόλη που παράγεται από την σεληνομεθειονίνη. Κάποια τρόφιμα πλούσια σε σελήνιο, όπως το σκόρδο, περιέχουν σελήνιο σε μορφή σεληνοκυστεΐνης. Αυτή η μορφή

σεληνίου αρχικά μεταβολίζεται σε μεθυλοσεληνόλη, και αυτό εξηγεί την προστατευτική δράση έναντι του καρκίνου που έχει αποδοθεί σε αυτά τα τρόφιμα. [8]



Σχήμα 1.7.2: Κατανομή σεληνίου στον ανθρώπινο οργανισμό [8]

2. ΣΚΟΠΟΣ

Οι δράσεις του σεληνίου στον ανθρώπινο οργανισμό πραγματοποιούνται κυρίως μέσω των πρωτεϊνών που περιέχουν σελήνιο, των σεληνοπρωτεϊνών, οι οποίες διαθέτουν σημαντικούς βιολογικούς και βιοχημικούς ρόλους. Η επίδραση όμως των διατροφικών συνηθειών στη κατάσταση σεληνίου του ανθρώπινου οργανισμού δεν έχει πλήρως διασαφηνιστεί, με την έλλειψη αυτή να είναι πιο έντονη στα παιδιά και ειδικότερα στην Ελλάδα. Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης του πλάσματος (GPx3), μία σημαντική σεληνοπρωτεΐνη, πέραν του πιθανού αντιοξειδωτικού της ρόλου στο πλάσμα, αποτελεί και έναν σχετικά καλό, φθινό και εύκολα μετρήσιμο δείκτη της κατάστασης σεληνίου στον ανθρώπινο οργανισμό, η μέτρηση της οποίας μπορεί να εφαρμοστεί σε ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων.

Σκοπός λοιπόν της παρούσας μελέτης ήταν η μέτρηση της δραστηριότητας της GPx3 στο πλάσμα παιδιών σχολικής ηλικίας (10-12 ετών) και η συσχέτισή της με τις διατροφικές συνήθειες των παιδιών σε μία προσπάθεια να εκτιμηθεί με ποιο τρόπο αυτές επηρεάζουν την GPx3 είτε μέσω της επίδρασης τους στην πρόσληψη σεληνίου, είτε μέσω αλλαγών στο αντιοξειδωτικό προφίλ.

3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η μελέτη Healthy Growth αποτελεί μία συγχρονική (cross-sectional) επιδημιολογική μελέτη που επιπλέον συνδυάζει την αναδρομική συλλογή πληροφοριών από παιδιά σχολικής-προεφηβικής ηλικίας (10 έως 12 ετών) και τους γονείς τους. Η μελέτη ξεκίνησε με την εφαρμογή ενός πρώτου πιλοτικού σταδίου το οποίο είχε ως στόχο τον ποιοτικό έλεγχο των παρατηρήσεων και του τρόπου συλλογής τους. Μετά την ολοκλήρωση του πιλοτικού σταδίου ακολούθησε το δεύτερο κυρίως στάδιο της μελέτης συλλογής των δεδομένων. Η επιλογή των υπό-μελέτη σχολείων πραγματοποιήθηκε μετά από τη λήψη σχετικής έγκρισης από το Τμήμα Αγωγής Υγείας και Περιβαλλοντικής Αγωγής του Υπουργείου Εθνικής Παιδείας και Θρησκευμάτων και μετά την γνωμοδότηση του Τμήματος Ερευνών Τεκμηρίωσης και Εκπαιδευτικής Τεχνολογίας του Παιδαγωγικού Ινστιτούτου. Επιπλέον, έγκριση για τη διεξαγωγή της μελέτης ελήφθη από την Επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

Στη μελέτη κλήθηκε να συμμετάσχει ένας αντιπροσωπευτικός αριθμός τυχαία επιλεγμένων δημοτικών σχολείων από πέντε (5) νομούς της ελληνικής επικράτειας (Αθηνών, Πειραιά, Αιτωλοακαρνανίας, Ηρακλείου Κρήτης και Θεσσαλονίκης). Μετά την θετική ανταπόκριση των σχολείων που επιλέχθηκαν για να συμμετάσχουν στη μελέτη, όλοι οι γονείς ή κηδεμόνες των παιδιών που φοιτούν στις Ε΄ και ΣΤ΄ τάξεις των σχολείων αυτών έλαβαν ένα εκτενές ενημερωτικό γράμμα που περιέγραφε αναλυτικά τους σκοπούς, τα στάδια και τις μετρήσεις που θα λάμβαναν χώρα στα πλαίσια της μελέτης. Όσοι γονείς ή κηδεμόνες συναίνεσαν για την συμμετοχή του παιδιού τους στην μελέτη έπρεπε να υπογράψουν και να επιστρέψουν στην ερευνητική ομάδα του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου το σχετικό συμφωνητικό εθελοντικής συμμετοχής που υπήρχε στο τέλος του ενημερωτικού γράμματος.

3.2. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ-ΤΥΧΑΙΟΠΟΙΗΣΗ

Η δειγματοληψία των σχολείων ήταν τυχαία, πολυσταδιακή (multi-stage sampling) και διαστρωματοποιημένη (stratified) με βάση το μέσο επίπεδο εκπαίδευσης (χρόνια εκπαίδευσης) του ενήλικου πληθυσμού ηλικίας 30-64 ετών, καθώς και του αριθμού του μαθητικού πληθυσμού ηλικίας 10 έως 12 ετών στους αντίστοιχους Δήμους των υπό-μελέτη νομών. Συγκεκριμένα για τη δειγματοληψία του υπό-μελέτη πληθυσμού πραγματοποιήθηκαν τα ακόλουθα βήματα:

- Εύρεση και καταγραφή από τα πιο πρόσφατα αρχεία απογραφής του ελληνικού πληθυσμού της Εθνικής Στατιστικής Υπηρεσίας (ΕΣΥΕ, Απογραφή 2001) πληροφοριών σχετικά με το εκπαιδευτικό επίπεδο ατόμων ηλικίας 30 έως 64 ετών και με το μέγεθος του προεφηβικού πληθυσμού ηλικίας 10 έως 14 ετών ανά αστική/ ημι-αστική/ αγροτική περιοχή σε κάθε ένα από τους 5 υπό-μελέτη νομούς,
- Υπολογισμός για κάθε Δήμο στους πέντε (5) Νομούς του μέσου επιπέδου εκπαίδευσης του πληθυσμού ενηλίκων ηλικίας 25 έως 55 ετών, ηλικιακό εύρος στο οποίο εντάσσονται οι γονείς των παιδιών 10 έως 14 ετών που απαρτίζουν τον μαθητικό πληθυσμό του δείματός της παρούσας μελέτης.
- Σύμφωνα με τα στοιχεία που προέκυψαν για το μέσο επίπεδο εκπαίδευσης του πληθυσμού των ενηλίκων δημοτών ηλικίας 30 έως 64 ετών σε κάθε δήμο, οι Δήμοι σε κάθε νομό κατανεμήθηκαν 3 κατηγορίες-στρώματα (strata) διαφορετικού επιπέδου εκπαίδευσης, και συγκεκριμένα σε δήμους Χαμηλότερου, Μέσου και Υψηλότερου εκπαιδευτικού επιπέδου γονέων.
- Στη συνέχεια ένας αντιπροσωπευτικός αριθμός Δήμων επιλέχθηκε τυχαία από την κάθε κατηγορία-στρώμα Δήμων με διαφορετικό εκπαιδευτικό επίπεδο γονέων, αναλογικά με την ποσοστιαία κατανομή του προεφηβικού μαθητικού πληθυσμού ηλικίας 10 έως 14 ετών που κατοικούν στους εν λόγω Δήμους σύμφωνα πάντα με τα στοιχεία της ΕΣΥΕ.
- Εν συνεχεία ένας αντιπροσωπευτικός αριθμός σχολείων επιλέχθηκε τυχαία από τον κάθε Δήμο, αναλογικά με την ποσοστία του μαθητικού πληθυσμού (10-12 ετών/ Ε και ΣΤ τάξεων) που ήταν εγγεγραμμένος στα σχολεία των επιλεγμένων Δήμων με διαφορετικό εκπαιδευτικό επίπεδο γονέων σύμφωνα με τα στοιχεία από το Παιδαγωγικό Ινστιτούτο καθώς και από τα κατά τόπους γραφεία Πρωτοβάθμιας Εκπαίδευσης.
- Στην περίπτωση που ένα τυχαία επιλεγμένο σχολείο αρνήθηκε τη συμμετοχή του στη μελέτη ή απορρίφθηκε λόγω χαμηλής συμμετοχής (<70%) υπήρχαν εναλλακτικές επιλογές σχολείων, τέτοιες ώστε να διατηρούνταν η αντιπροσωπευτικότητα του δείματος.

3.3. ΣΤΑΔΙΑ ΜΕΛΕΤΗΣ

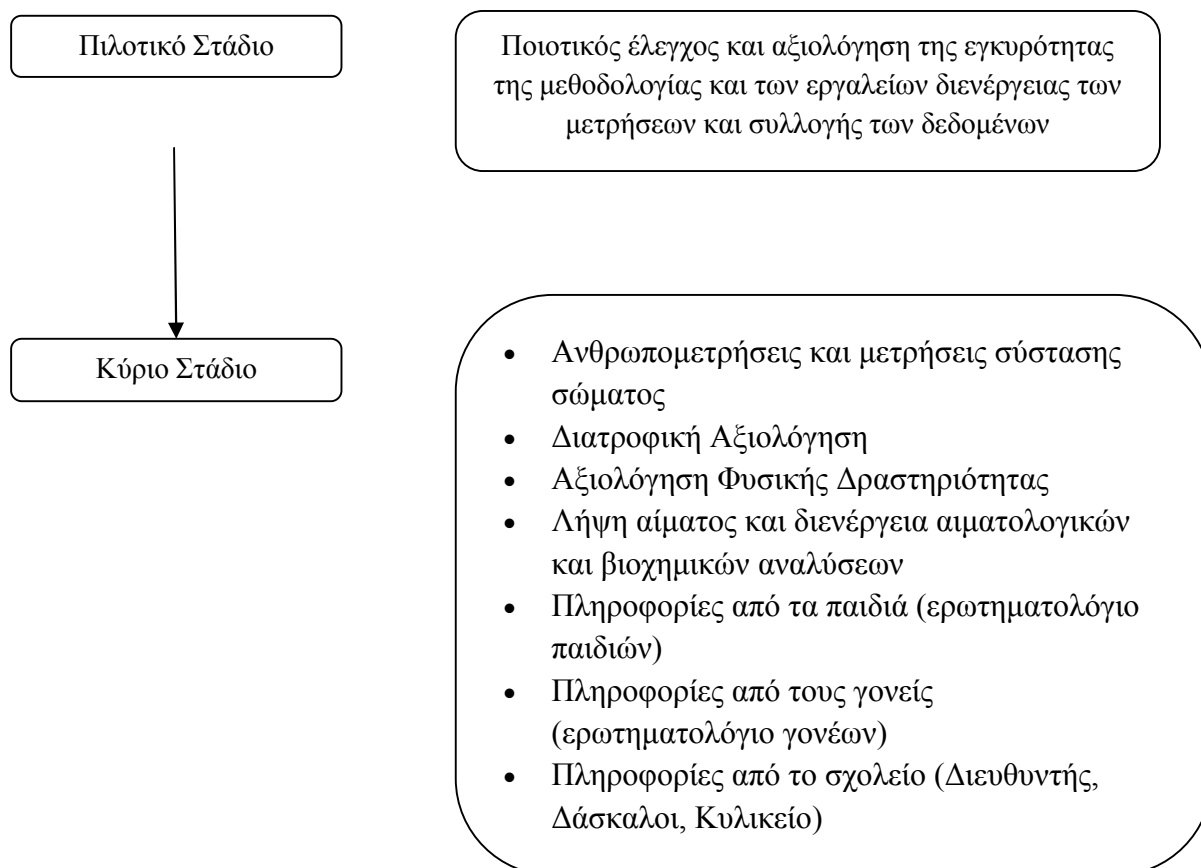
3.3.1. ΠΙΛΟΤΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ

Κατόπιν της τυχαίας επιλογής των σχολείων στις διάφορες περιοχές της μελέτης και μετά τη λήψη τουλάχιστον 100 υπογεγραμμένων δελτίων έγγραφης γονικής συγκατάθεσης πραγματοποιήθηκε ένα πιλοτικό στάδιο μετρήσεων διάρκειας ενός μηνός, με στόχο την αξιολόγηση και την εκτίμηση της εγκυρότητας των εργαλείων και μεθόδων που θα χρησιμοποιούνταν στο πλαίσιο της μελέτης.

3.3.2. ΚΥΡΙΟ ΣΤΑΔΙΟ

Αμέσως μετά το πιλοτικό στάδιο και αφού λήφθηκαν υπόψη τα συμπεράσματα που εξάχθηκαν από την εφαρμογή του ξεκίνησε το κύριο στάδιο μετρήσεων της μελέτης “Healthy Growth Study”, κατά το οποίο πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθες μετρήσεις και συλλέχθηκαν τα ακόλουθα δεδομένα:

Σχήμα 3.3.2.1: Σχεδιάγραμμα μετρήσεων επιδημιολογικής μελέτης “Healthy Growth Study”.



3.4. ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Σε όλες τις περιοχές που διεξάχθηκε η μελέτη χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια εξεταστικά όργανα και ή ίδια μεθοδολογία μετρήσεων. [41] Τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ακριβή αλλά και φορητά, ούτως ώστε να μπορούν να μεταφέρονται εύκολα στα σχολεία όπου θα διεξάγονταν οι μετρήσεις. Η πραγματοποίηση των μετρήσεων και η καταγραφή των τιμών πραγματοποιήθηκαν από δύο καλά εκπαιδευμένα μέλη της ερευνητικής ομάδας καθένα από τα οποία κατείχε το ρόλο του κύριου και του βοηθού ερευνητή, αντίστοιχα. Ο ρόλος του βοηθού

ερευνητή ήταν να βοηθά στη σωστή τοποθέτηση των υποκειμένων στα όργανα μέτρησης, ενώ ο κύριος ερευνητής κατέγραφε τις μετρήσεις. Οι ανθρωπομετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν είναι οι ακόλουθες:

3.4.1. ΎΨΟΣ-ΒΑΡΟΣ

Το σωματικό βάρος των παιδιών μετρήθηκε με μία ψηφιακή ζυγαριά (Seca Alpha, Model 770, Hamburg, Germany) με ακρίβεια ± 100 gr. Τα υποκείμενα της μελέτης ζυγίστηκαν χωρίς να φορούν υποδήματα και με την ελάχιστη δυνατή ένδυση. Για τον ακριβή υπολογισμό του σωματικού βάρους πραγματοποιήθηκε διόρθωση για το βάρος του ρουχισμού των υποκειμένων στο τέλος της μέτρησης. Το ύψος μετρήθηκε με τα υποκείμενα σε όρθια στάση, χωρίς να φορούν υποδήματα και κρατώντας τους ώμους σε χαλαρή θέση, με τα χέρια να κρέμονται ελεύθερα από τους ώμους και με το κεφάλι προσανατολισμένο σε οριζόντιο επίπεδο (Frankfurt plane). Η μέτρηση του ύψους έγινε με την χρήση ενός αναστημομέτρου (Leicester Height Measure, Invicta Plastics Ltd, Oadby, UK), με ακρίβεια $\pm 0,5$ cm. Από τις παραπάνω ανθρωπομετρήσεις ύψους και βάρους προσδιορίστηκε τελικά ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) των εξεταζομένων διαιρώντας το βάρος (kg) με το τετράγωνο του ύψους τους (m^2).

3.4.2. ΠΕΡΙΜΕΤΡΟΙ ΜΕΣΟΥ ΒΡΑΧΙΟΝΑ-ΜΕΣΗΣ ΙΣΧΙΟΥ

Οι μετρήσεις των περιμέτρων του δεξιού μέσου βραχίονα, της μέσης και του ισχίου πραγματοποιήθηκαν με μία μη-εκτατή ταινία (Hoechstmass, Germany) με ακρίβεια $\pm 0,1$ cm, με το υποκείμενο σε όρθια θέση, με τα χέρια του να κρέμονται ελεύθερα στο πλάι του σώματος από τους ώμους και τα πόδια ενωμένα. Πιο συγκεκριμένα, η περίμετρος του δεξιού μέσου βραχίονα μετρήθηκε στο μέσο της απόστασης του δεξιού βραχίονα μεταξύ του ακρωμίου και του ωλέκranου. Η περίμετρος της μέσης μετρήθηκε με τη κοιλιά χαλαρή στο τέλος μίας ελαφριάς εκπνοής και μετά τη τοποθέτηση της ταινίας σε οριζόντιο επίπεδο γύρω από την πιο στενή περιοχή της μέσης και παράλληλα με το δάπεδο, στο επίπεδο του ομφαλού και στο μέσο της απόστασης μεταξύ της τελευταίας νόθας πλευράς και της υπερλαγώνιας ακρολοφίας. Η περίμετρος του ισχίου μετρήθηκε μετά τη τοποθέτηση της ταινίας σε οριζόντιο επίπεδο γύρω από τους γοφούς παράλληλα με το δάπεδο στο σημείο της μέγιστης περιφέρειας γύρω από το ισχίο.

3.4.3. ΟΡΙΣΜΟΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ ΚΑΙ ΚΕΝΤΡΙΚΗΣ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑΣ

Τα παιδιά που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη κατηγοριοποιήθηκαν ως ελλειποβαρή, υπέρβαρα ή παχύσαρκα, σύμφωνα με τις “κατωφλικές” τιμές του ΔΜΣ, τις σχετικές με την ηλικία και το φύλο των παιδιών, που ορίστηκαν από την Διεθνή οργανισμό International Obesity

Task Force (IOTF). [42,43] Επίσης τα κριτήρια του International Diabetes Foundation, προσαρμοσμένα για παιδιά και εφήβους, χρησιμοποιήθηκαν για τον ορισμό της κεντρικής παχυσαρκίας. Συγκεκριμένα, ως κεντρική παχυσαρκία ορίστηκε η περιφέρεια μέσης $\geq 90^\circ$ ποσοστημόριο. [44]

3.5. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΠΑΙΔΙΩΝ

3.5.1. ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ ΑΙΜΑΤΟΣ

Η συστολική (ΣΑΠ) και διαστολική (ΔΑΠ) αρτηριακή πίεση αίματος μετρήθηκαν στο δεξί βραχίονα με τους συμμετέχοντες σε καθιστή θέση και μετά από παραμονή πέντε λεπτών σε κατάσταση ηρεμίας. Η μέτρηση της αρτηριακής πίεσης θα προηγήθηκε οποιασδήποτε άλλης διαδικασίας που ενδεχομένως να προκαλούσε πόνο ή άγχος στο παιδί, όπως η αιμοληψία. Πριν τη μέτρηση και συγκεκριμένα από την προηγούμενη ημέρα υπήρχε ενημέρωση των συμμετεχόντων να αποφύγουν οποιαδήποτε από τις ακόλουθες δραστηριότητες τουλάχιστον για μια ώρα: έντονη σωματική άσκηση, κατανάλωση τροφής ή οποιουδήποτε ποτού εκτός από νερό, λήψη φαρμάκων που επηρεάζουν την αρτηριακή πίεση, γεμάτη ουροδόχος κύστη. Οι συμμετέχοντες έπρεπε επίσης να φορούν άνετα ρούχα ώστε να ελευθερώνεται εύκολα η περιοχή του βραχίονα που θα τοποθετούνταν η περιχειρίδα. Η μέτρηση έλαβε χώρα σε ήρεμο περιβάλλον και σε άνετη θερμοκρασία. Στο βραχίονα του δεξιού χεριού των παιδιών προσαρμόστηκε κατάλληλη περιχειρίδα μικρού ή μεσαίου μεγέθους, ανάλογα με την περίμετρο του βραχίονα του κάθε παιδιού. [45] Οι μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης του αίματος πραγματοποιήθηκαν με ένα έγκυρο ηλεκτρονικό πιεσόμετρο Omron M6 Blood Pressure Monitor (Omron Healthcare Europe BV, Hoofddorp, The Netherlands) [46], καθώς και με ένα μανομετρικό πιεσόμετρο (ERKA, Γερμανία). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν από εξειδικευμένο ιατρό. Συνολικά έγιναν δύο μετρήσεις ΣΑΠ και ΔΑΠ σε κάθε εθελοντή, με ενδιάμεση παύση δύο λεπτών. Στις περιπτώσεις, κατά τις οποίες η διαφορά μεταξύ της πρώτης και της δεύτερης μέτρησης ΣΑΠ ή/και ήταν μεγαλύτερη από 10 mmHg τότε πραγματοποιήθηκε και μια τρίτη μέτρηση, ενώ αξιολογήθηκαν οι δύο πλησιέστερες μετρήσεις. Κατόπιν υπολογίστηκε ο μέσος όρος των δύο ή τριών μετρήσεων. Τέλος, από το ηλεκτρονικό πιεσόμετρο πραγματοποιήθηκε και καταγραφή των καρδιακών παλμών του κάθε παιδιού.

3.5.2. ΣΤΑΔΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΚΑΤΑ TANNER (Η ΣΤΑΔΙΟ TANNER)

Το στάδιο της βιολογικής ωρίμανσης κατά Tanner είναι πολύ πιο ενδεικτικό της ωρίμανσης του παιδιού σε σύγκριση με την ημερολογιακή του ηλικία. Καθώς το στάδιο της βιολογικής ωρίμανσης ενός παιδιού καθορίζει τις απαιτήσεις του σε θρεπτικά συστατικά και

επηρεάζει σημαντικά ορμονικές και μεταβολικές πορείες, η αξιολόγηση του κρίνεται πολύ σημαντική ιδιαίτερα σε μια μεταβατική ηλικία, όπως η προεφηβική. Η αξιολόγηση του σταδίου κατά Tanner έγινε σε πέντε στάδια (Tanner Stage 1 έως 5) σύμφωνα με τη σχετική μεθοδολογία. [47] Πιο συγκεκριμένα, στα κορίτσια το στάδιο κατά Tanner εκτιμήθηκε ανάλογα με το βαθμό της ανάπτυξης του μαστού και από την τριχοφυΐα του εφηβαίου, ενώ στα αγόρια ανάλογα με το βαθμό της ανάπτυξης του πέους και όρχεων και της σχετικής τριχοφυΐας. Η εκτίμηση πραγματοποιήθηκε οπτικά από εξειδικευμένο και καλά εκπαιδευμένο παιδίατρο.

3.6. ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

3.6.1. ΑΝΑΚΛΗΣΕΙΣ 24ΩΡΟΥ

Η αξιολόγηση των διατροφικών συνηθειών των εξεταζομένων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της τεχνικής της ανάκλησης 24-ώρου. Συγκεκριμένα σε κάθε εξεταζόμενο πραγματοποιήθηκαν 3 ανακλήσεις 24-ώρου, και συγκεκριμένα δύο ανακλήσεις καθημερινής και μία Σαββατοκύριακου και ειδικότερα Κυριακής. Όλα τα μέλη της ερευνητικής ομάδας που διεξήγαγαν τις συνεντεύξεις-ανακλήσεις ήταν κατάλληλα εκπαιδευμένα για να ελαχιστοποιηθούν τα σφάλματα καταγραφής της διαιτητικής πρόσληψης. Κατά τη διάρκεια των ανακλήσεων 24-ώρου ζητήθηκε από τα υποκείμενα της μελέτης να ανακαλέσουν τον τύπο και την ποσότητα των τροφίμων και ροφημάτων που κατανάλωσαν την προηγούμενη ημέρα με χρονική διαδοχή, δηλαδή από τη στιγμή που ξύπνησαν το πρωί έως την ίδια χρονική στιγμή την επόμενη ημέρα. Για να βελτιωθεί η ακρίβεια κατά τη περιγραφή των καταναλισκόμενων τροφίμων, αλλά και κατά την εκτίμηση της προσλαμβανόμενης ποσότητας χρησιμοποιήθηκαν προπλάσματα τροφίμων (Dairy Food Council, ΗΠΑ), καθώς και μεζούρες οικιακής χρήσης (κούπες, κουταλάκια του γλυκού και κουτάλια της σούπας κτλ).

Η ανάλυση των στοιχείων που συλλέχθηκαν από τις ανακλήσεις 24-ώρου έγιναν με τη χρήση του λογισμικού διατροφικής ανάλυσης Nutritionist V (First Databank, San Bruno, CA), η βάση του οποίου εμπλουτίστηκε εκτενώς ώστε να περιλαμβάνει την ακριβή συγκέντρωση σε μακρο- και μικρο-θρεπτικά συστατικά για μία ευρεία γκάμα σύνθετων επεξεργασμένων τροφίμων που είναι διαθέσιμα στην ελληνική αγορά, καθώς και ελληνικών συνταγών [48, 49], πληροφορίες οι οποίες στην πλειοψηφία τους έχουν προκύψει από χημικές αναλύσεις των εν λόγω τροφίμων και συνταγών.

3.6.2. ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Οι διατροφικές συνήθειες των παιδιών και η κατανάλωση συγκεκριμένων ομάδων τροφίμων κατά τους τελευταίους 12 μήνες εκτιμήθηκαν επιπλέον με τη χρήση ενός

Ερωτηματολογίου Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων (Food Frequency Questionnaire: FFQ). Το χρησιμοποιηθέν ερωτηματολόγιο ήταν ημιποσοτικό και συμπληρώθηκε από τους συμμετέχοντες στην μελέτη, υπό την παρουσία και βοήθεια ενός εκπαιδευμένου διαιτολόγου. Το FFQ περιλάμβανε ερωτήσεις σχετικά με την μέση κατανάλωση τροφίμων από τα παιδιά κατά την διάρκεια του τελευταίου έτους (≤ 1 μερίδα/μήνα, 2-3μερίδες/μήνα, 1μερίδα/εβδομάδα, 2-3μερίδες/εβδομάδα, 4-6μερίδες/εβδομάδα, 1μερίδα/ημέρα, 2-3 μερίδες/ ημέρα, ≥ 4 μερίδες/ημέρα). Από τους συμμετέχοντες ζητήθηκε να εκτιμήσουν την ποσότητα της μερίδα του κάθε τροφίμου που συνηθίζουν να καταναλώσουν σαν πολλαπλάσιο ή υποδιαίρεση συνηθισμένων μεζουρών οικιακής χρήσης, όπως φλιτζάνι του τσαγιού (240 ml), κουταλάκι του γλυκού ή της σούπας κτλ. Προπλάσματα τροφίμων χρησιμοποιήθηκαν, επίσης, για την καλύτερη εκτίμηση του όγκου της τροφής που καταλάωναν τα παιδιά. Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν από την ανάλυση των FFQ χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της μέσης ημερήσιας συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (μερίδες ανά ημέρα) από τις παρακάτω κατηγορίες: Φρούτα; Φρέσκους χυμούς; Συσκευασμένους χυμούς; Αναψυκτικά; Λαχανικά; Δημητριακά πρωινού; Λευκό γάλα; Σοκολατούχο γάλα; Γιαούρτι; Ψάρι/ Θαλασσινά; Σοκολάτες ή άλλα γλυκά σνακ (π.χ κρουασάν, παγωτό κ.α.); Ζυμαρικά/ Παστίτσιο; Κέικ ή μπισκότα; Πατατάκια/ Γαριδάκια; Πατάτες τηγανιτές; Κρέας (Μοσχάρι, Μπιφτέκι, Χοιρινό, Αρνί); Κοτόπουλο; Ψωμί ή αρτοσκευάσματα; Φαγητού από Φαστ Φουντ (π.χ χάμπουργκερ, τσίζμπεργκερ, κλαμπ σάντουιτς κ.α); Πίτσα; και Σουβλάκι. Τέλος, εκτιμήθηκε η συχνότητα κατανάλωσης με την οποία καταναλώνεται φαγητό από: Φαστ Φουντ, πιτσαρία και σουβλατζίδικο.

3.6.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΚΑΙ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ

Ο ΓΔ αποτελεί ένα τρόπο αξιολόγησης των τροφίμων με βάση την απόκριση της γλυκόζης που προκαλούν, σε σχέση με ένα τρόφιμο αναφοράς όπως το λευκό ψωμί.

Στην παρούσα μελέτη για τον υπολογισμό του ΓΔ της δίαιτας χρησιμοποιήθηκαν 2 ανακλήσεις 24ώρου για κάθε παιδί, εκ των οποίων η μία προέρχονταν από μία καθημερινή μέρα και η δεύτερη από μία μέρα του Σαββατοκύριακου, κυρίως Κυριακή. Από τις ανακλήσεις αυτές καταγράφηκαν 700 διαφορετικά τρόφιμα.

3.6.3.1. Προσδιορισμός γλυκαιμικού δείκτη απλών τροφίμων

Ο προσδιορισμός του ΓΔ των απλών τροφίμων έγινε με την βοήθεια των Διεθνών Πινάκων ΓΔ. Επιπλέον, προσδιορίστηκε και η ποσότητα υδατανθράκων (CHO) ανά 100 γραμμάρια (g)

τροφίμου. Στη συνέχεια, οι μονάδες μέτρησης της ποσότητας των τροφίμων που καταναλώθηκαν από τα παιδιά μετατράπηκαν σε γραμμάρια. [50-52]

3.6.3.2. Προσδιορισμός γλυκαιμικού δείκτη μεικτών τροφίμων

Ο ΓΔ των μεικτών τροφίμων που δεν συμπεριλαμβάνονταν στους πίνακες αυτούς υπολογίστηκε με τη βοήθεια του Πίνακα Σύνθεσης Τροφίμου. Αρχικά, έγινε καταγραφή των επιμέρους συστατικών του εκάστοτε τροφίμου. Για το κάθε συστατικό προσδιορίστηκε ο ΓΔ, σύμφωνα με τους διεθνείς πίνακες ΓΔ, καθώς και η ποσότητα υδατανθράκων κάθε συστατικού. Τέλος, προσδιορίστηκε η ποσότητα υδατανθράκων όλου του μεικτού τροφίμου. Ο ΓΔ ενός μεικτού τροφίμου υπολογίστηκε ως το άθροισμα των γινομένων του ΓΔ κάθε συστατικού επί τα g υδατανθράκων που περιέχονταν στην ποσότητα συστατικού που χρησιμοποιήθηκε, διαιρούμενο με τη συνολική ποσότητα υδατανθράκων που περιέχονταν στο μεικτό τρόφιμο. Για παράδειγμα, εάν ένα μεικτό τρόφιμο αποτελείται από 2 συστατικά (συστατικό 1 και συστατικό 2) τότε ο ΓΔ του τροφίμου αυτού υπολογίζεται ως εξής: [49, 53- 55]

ΓΔ μεικτού τροφίμου=

$$[(\text{ΓΔ συστατικού 1} * \text{g CHO συστατικού 1}) + (\text{ΓΔ συστατικού 2} * \text{g CHO συστατικού 2})] / * \text{g CHO μεικτού τροφίμου}$$

3.6.3.3. Προσδιορισμός γλυκαιμικού δείκτη σύνθετων γευμάτων

Ο ΓΔ σύνθετων γευμάτων προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας του ΓΔ και τα g υδατανθράκων, όπως αυτά υπολογίστηκαν από τις παραπάνω μεθόδους. Η διαδικασία υπολογισμού που ακολουθήθηκε ήταν η εξής: ο ΓΔ ενός σύνθετου γεύματος προκύπτει από το άθροισμα του γινομένου του ΓΔ του κάθε τροφίμου, από το οποίο αποτελείται ένα σύνθετο γεύμα, επί τα γραμμάρια υδατανθράκων που περιέχονται σε όλο το γεύμα. Για παράδειγμα, αν ένα σύνθετο γεύμα αποτελείται από 2 τρόφιμα (τρόφιμο 1 και τρόφιμο 2), τότε ο ΓΔ του γεύματος αυτού υπολογίζεται ως εξής: [53, 55]

ΓΔ σύνθετου γεύματος =

$$[(\text{ΓΔ τροφίμου 1} * \text{g CHO τροφίμου 1}) + (\text{ΓΔ τροφίμου 2} * \text{g CHO τροφίμου 2})] / * \text{g CHO σύνθετου γεύματος}$$

3.6.3.4. Προσδιορισμός γλυκαιμικού δείκτη δίαιτας

Ο υπολογισμός του ΓΔ της δίαιτας μιας ολόκληρης μέρας προκύπτει από το άθροισμα του γινομένου του ΓΔ των επιμέρους τροφίμων που καταναλώθηκαν μέσα στη μέρα, επί τα g υδατανθράκων των αντίστοιχων τροφίμων, δια τα g υδατανθράκων που καταναλώθηκαν συνολικά μέσα στη μέρα. Αν για παράδειγμα, μέσα στη μέρα καταναλώθηκαν 2 τρόφιμα, τότε ο ΓΔ των τροφίμων όλης της μέρας υπολογίζεται ως εξής:

ΓΔ δίαιτας =

$$[(\text{ΓΔ τροφίμου 1} * \text{g CHO τροφίμου 1}) + (\text{ΓΔ τροφίμου 2} * \text{g CHO τροφίμου 2})] / * \text{g CHO δίαιτας}$$

Δεδομένου ότι για τον προσδιορισμό του ΓΔ χρησιμοποιήθηκαν ανακλήσεις 24ώρου 2 ημερών, ο ΓΔ της δίαιτας για κάθε παιδί προκύπτει, σύμφωνα με την βιβλιογραφία, ως ο μέσος όρος των ΓΔ των 2 ημερών. [53, 54]

3.6.3.5. Προσδιορισμός γλυκαιμικού φορτίου τροφίμου

Το ΓΦ του κάθε τροφίμου υπολογίστηκε ως το γινόμενο του ΓΔ του κάθε τροφίμου επί τα g υδατανθράκων του τροφίμου διαιρούμενο με το 100. Πιο συγκεκριμένα: [53, 54]

$$\text{ΓΦ τροφίμου} = (\text{ΓΔ τροφίμου} * \text{g CHO τροφίμου}) / 100$$

3.6.3.6. Προσδιορισμός γλυκαιμικού φορτίου δίαιτας

Το ΓΦ της δίαιτας υπολογίστηκε ως το γινόμενο του ΓΔ της δίαιτας επί τα g υδατανθράκων της δίαιτας, διά 100. Πιο συγκεκριμένα: [53, 54]

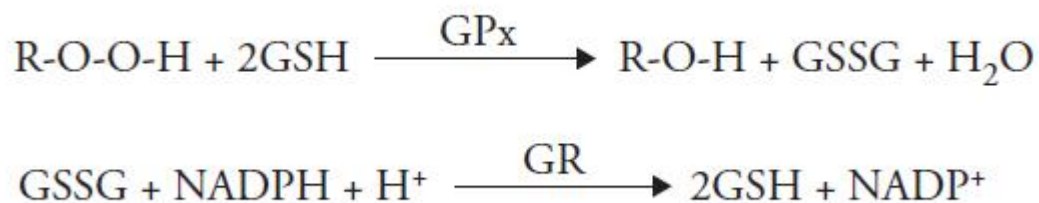
$$\text{ΓΦ δίαιτας} = (\text{ΓΔ δίαιτας} * \text{g CHO δίαιτας}) / 100$$

3.7. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

3.7.1. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) καταλύει την αναγωγή των υδρουπεροξειδίων, συμπεριλαμβανομένων και των υπεροξειδίων του υδρογόνου, με τη βοήθεια της ανηγμένης γλουταθειόνης και έτσι λειτουργεί ως προστατευτικός μηχανισμός ενάντια στην οξειδωτική καταστροφή των κυττάρων. Το ένζυμο χρησιμοποιεί την γλουταθειόνη ως το μοναδικό δότη ηλεκτρονίων προκειμένου να αναγεννηθεί η ανηγμένη μορφή της σεληνοκυστεΐνης.

Στο συγκεκριμένο πείραμα η δραστικότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) μετρήθηκε έμμεσα μέσω μιας συζευγμένης αντίδρασης με την αναγωγή της γλουταθειόνης (Glutathione Reductase, GR). Η οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG), που παράγεται ύστερα από την αναγωγή των υδρουπεροξειδίων από την GPx, μετατρέπεται ξανά στην ανηγμένη της μορφή από την αναγωγή της γλουταθειόνης (GR) και το NADPH, σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:



Σχήμα 3.7.1.1: Αντίδραση αναγωγής υδρουπεροξειδίων και αναγέννησης της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH: ανηγμένη γλουταθειόνη, GSSG: οξειδωμένη γλουταθειόνη, NADPH: β-νικοτιναμιδο αδενινο φωσφορικό δινουκλεοτίδιο, ανηγμένη μορφή, NADP⁺: β-νικοτιναμιδο αδενινο φωσφορικό δινουκλεοτίδιο, οξειδωμένη μορφή)

Η οξείδωση του NADPH σε NADP⁺ συνοδεύεται από μία μείωση στην απορρόφηση στα 340nm. Υπό συνθήκες όπου η δραστικότητα της GPx μειώνεται, ο ρυθμός της μείωσης της απορρόφησης στα 340nm είναι ανάλογος της δραστικότητας της GPx στο δείγμα. [56]

3.7.2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Στο συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (Sodium Phosphate Buffer, PBS) 50 mM με EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) 0.4 mM, pH 7.0 (**PBS/EDTA**) : διαλύθηκαν 0,5999 g

NaH₂PO₄ και 0,0166 g EDTA σε 100 mL απεσταγμένο νερό. Το pH ρυθμίστηκε με την χρήση NaOH 1M

- Αζίδιο νατρίου (NaN₃) 1 mM σε PBS 50 mM/EDTA 0.4 mM/pH 7.0 (**PBS/Sodium azide**): διαλύθηκαν 0,0032 g NaN₃ σε 50 mL PBS/EDTA
- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 10 mM με διθειοθρεϊτόλη (DTT) 1 mM, pH 7.0 (**PBS/DTT**): διαλύθηκαν 0,1200 g NaH₂PO₄ και 0,0154 g DTT σε 100 mL απεσταγμένο νερό. Το pH ρυθμίστηκε με την χρήση NaOH 1M
- Διάλυμα αναγωγάσης της γλουταθειόνης 100 U/mL (**GR**): Αραίωση stock διαλύματος αναγωγάσης με παγωμένο απεσταγμένο νερό. Παρασκευάστηκε αμέσως πριν το πείραμα.
- Διάλυμα ανηγμένης γλουταθειόνης 200 mM (**GSH**): 0,0615 g σε 1 mL απεσταγμένο νερό
- Διάλυμα H₂O₂ 0.042% (**H₂O₂**): 1,4 μL διαλύματος H₂O₂ και 999 μL απεσταγμένο νερό. Παρασκευάστηκε αμέσως πριν το πείραμα.
- **β-NADPH**: β-νικοτιναμίδιο αδενοφωσφορικό δινουκλεοτίδιο σε ανηγμένη μορφή
- **Δείγματα πλάσματος σε αντιπηκτικό EDTA**

3.7.3. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Κατά την εκτέλεση του πειράματος ακολουθήθηκαν αναλυτικά τα παρακάτω βήματα:

- Λίγο πριν το πείραμα παρασκευάστηκαν τα διαλύματα της αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GR) και του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂).
- Το μίγμα αντίδρασης παρασκευάστηκε σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα:

Αντιδραστήριο	Ποσότητα
PBS/Sodium azide	9200 μL
GR	100 μL
GSH	50 μL
NADPH	1 mg

Αναδιαλύθηκε το NADPH με ήπια ανακίνηση και ρυθμίστηκε το pH εφόσον ήταν αναγκαίο στο 7,0. Το διάλυμα διατηρήθηκε στους 25 °C.

- Εισήχθησαν τα παρακάτω διαλύματα στα πηγαδάκια των plates και διεξάχθηκε το πείραμα σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα:

	Τυφλό	Δείγμα
Μίγμα αντίδρασης	200 μL	200 μL
Διαλύτης διαλύματος GPX (δείγμα αίματος)	50 μL	-
Διάλυμα GPX	-	50
	Ανάμιξη με το tip και παραμονή 1 λεπτό σε θερμοκρασία δωματίου	
Διάλυμα H_2O_2	5 μL	5 μL
	Μέτρηση A στα 340 nm για 5 min ανά 1 min με τη χρήση φωτομέτρου μικροπλακιδίων τύπου ELISA	

3.7.4. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Ο υπολογισμός της δραστηριότητας έγινε σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:

$$\text{Units/mL παρασκευάσματος} = \frac{(\Delta A/\text{min, sample} - \Delta A/\text{min, blank}) \times 2 \times 0,255 \times df}{5,60 \times 0,05}$$

όπου:

2: Τα 2 μmoles της GSH που παράγονται για κάθε μmole NADPH που οξειδώνεται

0,255: Ο τελικός όγκος του assay σε mL

df: Ο συντελεστής αραίωσης αν το δείγμα της GPX αραιωθεί

5,60 : ο συντελεστής μοριακής απορροφητικότητας του NADPH στα 340 nm και για όγκο 0,255 mL (μήκος οπτικής διαδρομής: 0,9 cm)

0,05 : Ο όγκος του διαλύματος της GPX που χρησιμοποιείται στο προσδιορισμό [57]

Ορισμός Unit: Ένα unit είναι η ποσότητα του ενζύμου που καταλύει την οξείδωση από το H_2O_2 1,0 μmole ανηγμένης γλουταθειόνης σε οξειδωμένη γλουταθειόνη ανά λεπτό σε pH=7,0 στους 25 °C.

3.8. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Ο έλεγχος της κανονικότητας της κατανομής της δραστικότητας της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης πραγματοποιήθηκε με το τεστ Kolmogorov- Smirnov. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσες τιμές $\pm$ τυπική απόκλιση. Οι ποιοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως απόλυτες σχετικές (%) συχνότητες. Οι συσχετίσεις μεταξύ των συνεχών και κατηγορικών μεταβλητών έγιναν με Student's t-test ή με ανάλυση διακύμανσης (ANOVA). Συσχετίσεις μεταξύ των συνεχών μεταβλητών έγιναν με ανάλυση μερικών συσχετίσεων χρησιμοποιώντας με τη χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson r. Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση εφαρμόστηκε για να ελεγχθεί η συσχέτιση ανάμεσα στην δραστικότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης με διάφορες μεταβλητές, ελέγχοντας για πιθανούς συγχιτικούς παράγοντες. Όλες οι αναφερόμενες τιμές πιθανοτήτων (p) βασίζονται σε αμφίπλευρους ελέγχους και συγκρίνονται στο επίπεδο σημαντικότητας του 5%. Για όλους τους στατιστικούς υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS έκδοση 13.0 (Statistical Package for social sciences, SPSS Inc., Chicago, Illinois, U.S.A.).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1. ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ, ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

Η κατανομή των διαφόρων ανθρωπομετρικών, βιοχημικών και διατροφικών χαρακτηριστικών του πληθυσμού της μελέτης παρουσιάζονται στον πίνακες 4.1.1-4.1.3.

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελείται συνολικά από 489 παιδιά σχολικής ηλικίας (Ε' και ΣΤ' τάξη Δημοτικού) ηλικίας 10-12 ετών, και συγκεκριμένα 252 αγόρια και 237 κορίτσια. Στον πίνακα 4.1.1. παρουσιάζονται τα βασικά ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού. Τα αγόρια και τα κορίτσια δεν διαφέρουν στα βασικά ανθρωπομετρικά τους χαρακτηριστικά με εξαίρεση την περιφέρεια μέσης, με τα αγόρια να έχουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη περιφέρεια μέσης σε σχέση με τα κορίτσια.

Αναφορικά με τα βασικά βιοχημικά τους χαρακτηριστικά τα αγόρια έχουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα γλυκόζης νηστείας σε σχέση με τα κορίτσια. Επίσης τα κορίτσια έχουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων σε σχέση με τα αγόρια. Τέλος τα κορίτσια στον πληθυσμό της μελέτης έχουν σημαντικά υψηλότερη διαστολική αρτηριακή πίεση σε σχέση με τα αγόρια.

Τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας στον πληθυσμό της μελέτης είναι γενικά υψηλότερα από αυτά που βρήκαν άλλες μελέτες. Για παράδειγμα σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Ανατολική Κίνα σε 1844 παιδιά 7-14 ετών η μέση συγκέντρωση γλυκόζης νηστείας ήταν 82.51 ± 6.80 mg/dL. [58] Σε παρόμοια σε έρευνα στις ΗΠΑ σε 31 παιδιά ηλικίας $8,7 \pm 1,4$ ετών η μέση γλυκόζη νηστείας ήταν $87,4 \pm 10,8$ mg/dL. [59] Τέλος σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Αυστραλία σε 80 παχύσαρκα παιδιά ηλικίας $12,2 \pm 2,4$ ετών η μέση γλυκόζη νηστείας βρέθηκε $88,2 \pm 5.4$ mg/dL. [60]

Πίνακας 4.1.1.: Βασικά ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού

	Σύνολο	Αγόρια	Κορίτσια	p (p-value)
N	489	252	237	
Ηλικία (έτη)	11,1 ± 0,7	11,2 ± 0,6	11,15 ± 0,7	0,23
Βάρος (kg)	45,8 ± 11,4	46,1 ± 11,5	45,5 ± 11,2	0,58
Ύψος (cm)	148,9 ± 7,9	148,9 ± 7,5	149,03 ± 8,3	0,90
BMI (kg/m²)	20,4 ± 3,9	20,6 ± 4,02	20,3 ± 3,8	0,44
Περιφέρεια μέσης (cm)	70,2 ± 10	71,08 ± 10,4	69,2 ± 9,5	0,045
Γλυκόζη νηστείας (mg/dL)	91,2 ± 8,5	92,1 ± 9,1	90,3 ± 7,9	0,023
Ολική χοληστερόλη (mg/dL)	174,9 ± 34,6	173,8 ± 35,1	176,07 ± 34,2	0,488
LDL-χοληστερόλη (mg/dL)	100,5 ± 28,07	101,02 ± 29,7	100,07 ± 26,3	0,709
HDL-χοληστερόλη(mg/dL)	61 ± 15,5	60,3 ± 15,2	61,8 ± 15,9	0,315
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	66,5 ± 31,04	62,3 ± 30,2	70,9 ± 31,2	0,002
ΣΑΠ (mmHg)	121,3 ± 13,6	121,1 ± 13,4	121,4 ± 13,8	0,792
ΔΑΠ (mmHg)	68,6 ± 8,7	67,6 ± 8,1	69,7 ± 9,3	0,008

Στον πίνακα 4.1.2. παρουσιάζονται τα βασικά διατροφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού. Τα αγόρια προσλαμβάνουν στατιστικά σημαντικά περισσότερη ενέργεια καθημερινά σε σχέση με τα κορίτσια. Επιπλέον αναφορικά με το είδος του προσλαμβανόμενου λίπους, η δίαιτα των αγοριών χαρακτηρίζεται από περισσότερα μονοακόρεστα και λιγότερα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα σε σχέση με τα κορίτσια. Επιπλέον τα αγόρια παίρνουν από την διατροφή τους στατιστικά σημαντικά περισσότερες φυτικές ίνες σε σχέση με τα κορίτσια.

Σε σύγκριση με τις διαιτητικές προσλήψεις αναφοράς (Dietary Reference Intakes, DRIs) τόσο τα αγόρια όσο και τα κορίτσια στον πληθυσμό της μελέτης φαίνεται να καταναλώνουν υψηλά ποσοστά λίπους (τα DRIs συστήνουν το λίπος να αποτελεί το 25-35% της ενεργειακής πρόσληψης για παιδιά από 4 έως 18 ετών), [39] ενώ η πρόσληψη υδατανθράκων και πρωτεΐνης είναι μέσα στα προτεινόμενα επίπεδα (45-65% της ενεργειακής πρόσληψης από υδατάνθρακες και 10-30% από πρωτεΐνη).

Όσον αφορά το διατροφικό σελήνιο η πρόσληψη των 350 μg/d, όπως φαίνεται στην παρούσα μελέτη, είναι πολύ μεγαλύτερη από την προτεινόμενη για παιδιά (40 μg/d) αλλά και για

ενήλικες. Αν και είναι γνωστό ότι είναι παρακινδυνευμένο να εκτιμάται η διατροφική πρόσληψη σεληνίου από ερωτηματολόγια, δεδομένης της ετερογένειας της σύστασης των τροφίμων σε αυτό, πόσο μάλλον όταν στον ελληνικό πληθυσμό δεν έχουν γίνει συστηματικές αναλύσεις στα τρόφιμα, η πρόσληψη που έχει υπολογιστεί στην παρούσα εργασία είναι ιδιαίτερα μεγάλη και χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Βέβαια πρέπει να τονιστεί ότι οι πίνακες, στους οποίους έχει βασιστεί αυτή η πρόσληψη, στηρίζονται κυρίως στη σύσταση των Αμερικάνικων τροφίμων που είναι πολύ πλούσια σε σελήνιο.

Πίνακας 4.1.2.: Διατροφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού

	Σύνολο	Αγόρια	Κορίτσια	p (p-value)
N	489	252	237	
Ενεργειακή πρόσληψη (kcal)	1844,1 ± 534,1	1956,3 ± 503,3	1726,7 ± 541,2	<0,001
Λίπος (% ενεργειακής πρόσληψης)	41,4 ± 7,1	41,8 ± 7,2	41,01 ± 7,07	0,197
MUFA(% ενεργειακής πρόσληψης)	19,1 ± 5,1	19,6 ± 5,04	18,6 ± 5,2	0,027
PUFA(% ενεργειακής πρόσληψης)	5,1 ± 3,5	4,7 ± 2,5	5,5 ± 4,3	0,014
SFA(% ενεργειακής πρόσληψης)	14,9 ± 3,4	14,9 ± 3,2	14,8 ± 3,5	0,719
Υδατάνθρακες (% ενεργειακής πρόσληψης)	45,5 ± 8,2	45,08 ± 8,1	46,1 ± 8,2	0,171
Πρωτεΐνες (% ενεργειακής πρόσληψης)	15,1 ± 3,3	15,2 ± 2,8	15,07 ± 3,6	0,639
Φυτικές ίνες (gr/ημέρα)	13,7 ± 7,3	14,8 ± 7,3	12,5 ± 7,1	<0,001
Διατροφικό σελήνιο (mg/ημέρα)	0,35 ± 1,38	0,250 ± 0,85	0,47 ± 1,77	0,079

Παρακάτω παρουσιάζεται η κατανομή του πληθυσμού της μελέτης στα πέντε στάδια ωρίμανσης κατά Tanner. (Πίνακας 4.1.3.)

Πίνακας 4.1.3.: Κατανομή του πληθυσμού της μελέτης στα στάδια ωρίμανσης κατά Tanner

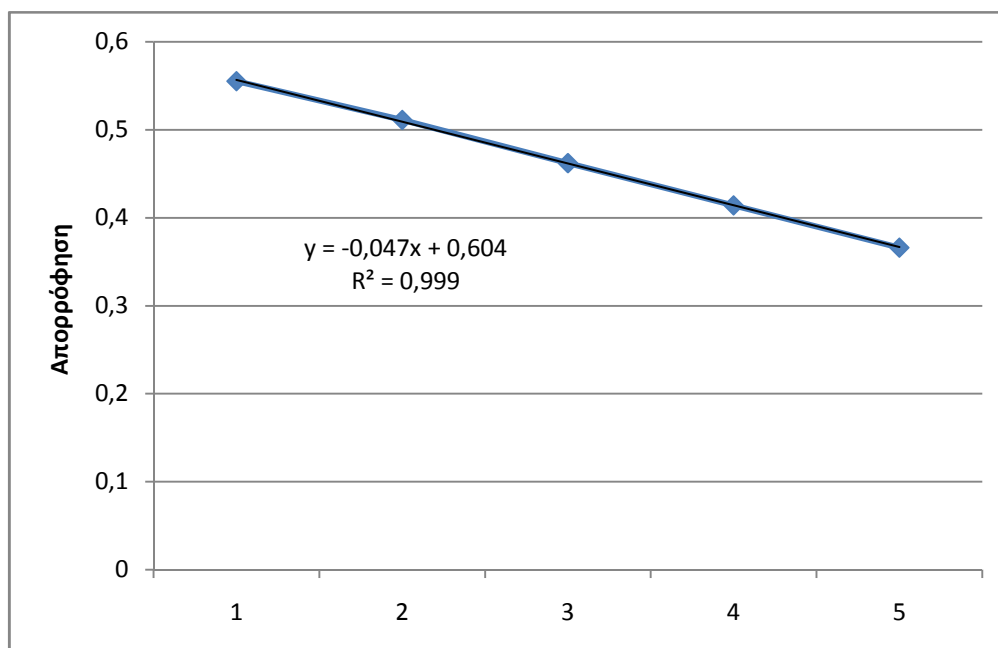
Στάδιο Tanner	Συχνότητα %	
	Αγόρια N=251	Κορίτσια N=239
1 ^ο	29,1	23,8
2 ^ο	54,2	35,6
3 ^ο	14,7	21,3
4 ^ο	1,6	13,8
5 ^ο	0,4	5,4

Ύστερα από έλεγχο για την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών διαφορών φάνηκε ότι στο 2^ο στάδιο ωρίμανσης κατά Tanner βρίσκονται στατιστικά σημαντικά περισσότερα αγόρια, ενώ στο 4^ο και 5^ο στάδιο βρίσκονται στατιστικά σημαντικά περισσότερα κορίτσια. Με άλλα λόγια στον πληθυσμό της μελέτης μας τα κορίτσια είναι περισσότερα σεξουαλικά ώριμα σε σχέση με τα αγόρια όπως ήταν και αναμενόμενο.

4.2. ΑΝΑΛΥΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ GPX-3

Στο σύνολο των δειγμάτων που μετρήθηκαν ο ρυθμός μείωσης της απορρόφησης στα 340nm ήταν κατά μέσο όρο $0,055 \pm 0,010$ /λεπτό. Ο ρυθμός μείωσης της απορρόφησης των δειγμάτων κυμαινόταν από 0,014 έως 0,099 ενώ των τυφλών προσδιορισμών από 0,003 έως 0,016. Ένα χαρακτηριστικό διάγραμμα μείωσης της απορρόφησης στο χρόνο φαίνεται στο σχήμα 4.2.1. Βάσει των καμπυλών αυτών υπολογίστηκε ο ρυθμός μείωσης της απορρόφησης σε όλα τα δείγματα.

Σχήμα 4.2.1: Διάγραμμα μείωσης της απορρόφησης για ένα τυχαίο δείγμα του πληθυσμού.



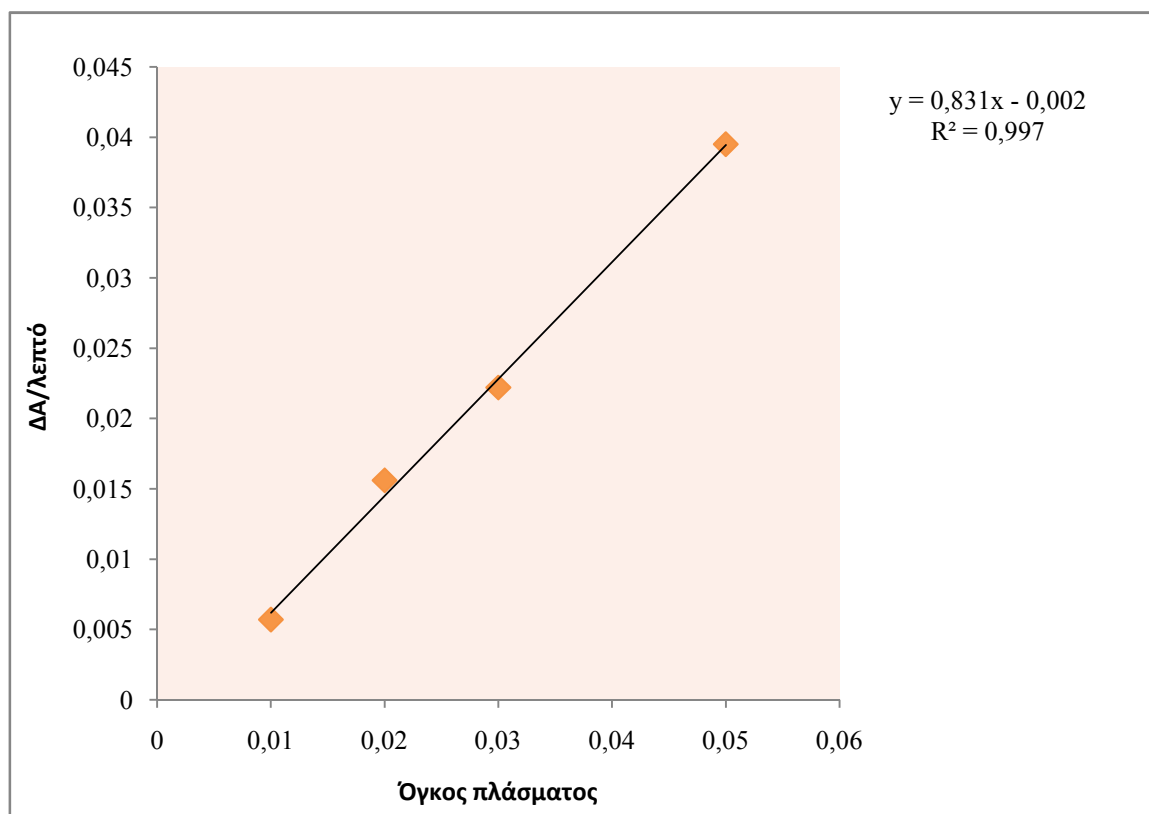
Πριν ξεκινήσει το πειραματικό μέρος της μελέτης εκτιμήθηκε η βέλτιστη ποσότητα πλάσματος που θα χρησιμοποιούνταν στο πείραμα. Για το σκοπό αυτό μετρήθηκε η δραστικότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης για διαφορετικούς όγκους πλάσματος. Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων που έγιναν.

Πίνακας 4.2.1.: Μεταβολή της απορρόφησης και δραστικότητα της GPx3 για διαφορετικούς όγκους πλάσματος.

Όγκος πλάσματος (mL)	0,01	0,02	0,03	0,05
ΔΑ/λεπτό	0,0057	0,0156	0,0222	0,0395
U/mL	0,0519	0,0710	0,0674	0,0719

Στο σχήμα 4.2.2 παρουσιάζεται ο ρυθμός μείωσης της απορρόφησης ενός δείγματος σε συνάρτηση με τον όγκο του πλάσματος.

Σχήμα 4.2.2.: Μεταβολή της απορρόφησης σε συνάρτηση με τον όγκο του πλάσματος



Δεδομένης της γραμμικότητας της ταχύτητας της ενζυμικής αντίδρασης με την ποσότητα πλάσματος τουλάχιστον μέχρι τα 50 μL αποφασίστηκε για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας να χρησιμοποιηθεί η ανώτερη δυνατή ποσότητα πλάσματος, δηλαδή 50 μL , έτσι ώστε να υπάρχει και μεγαλύτερη ευαισθησία στη μέθοδο.

Στη συνέχεια προκειμένου να ελέγξουμε την επαναληψιμότητα της πειραματικής μεθόδου επαναλάβαμε την πειραματική διαδικασία έξι φορές για δύο τυχαία επιλεγμένα δείγματα και υπολογίσαμε τον συντελεστή διακύμανσης.

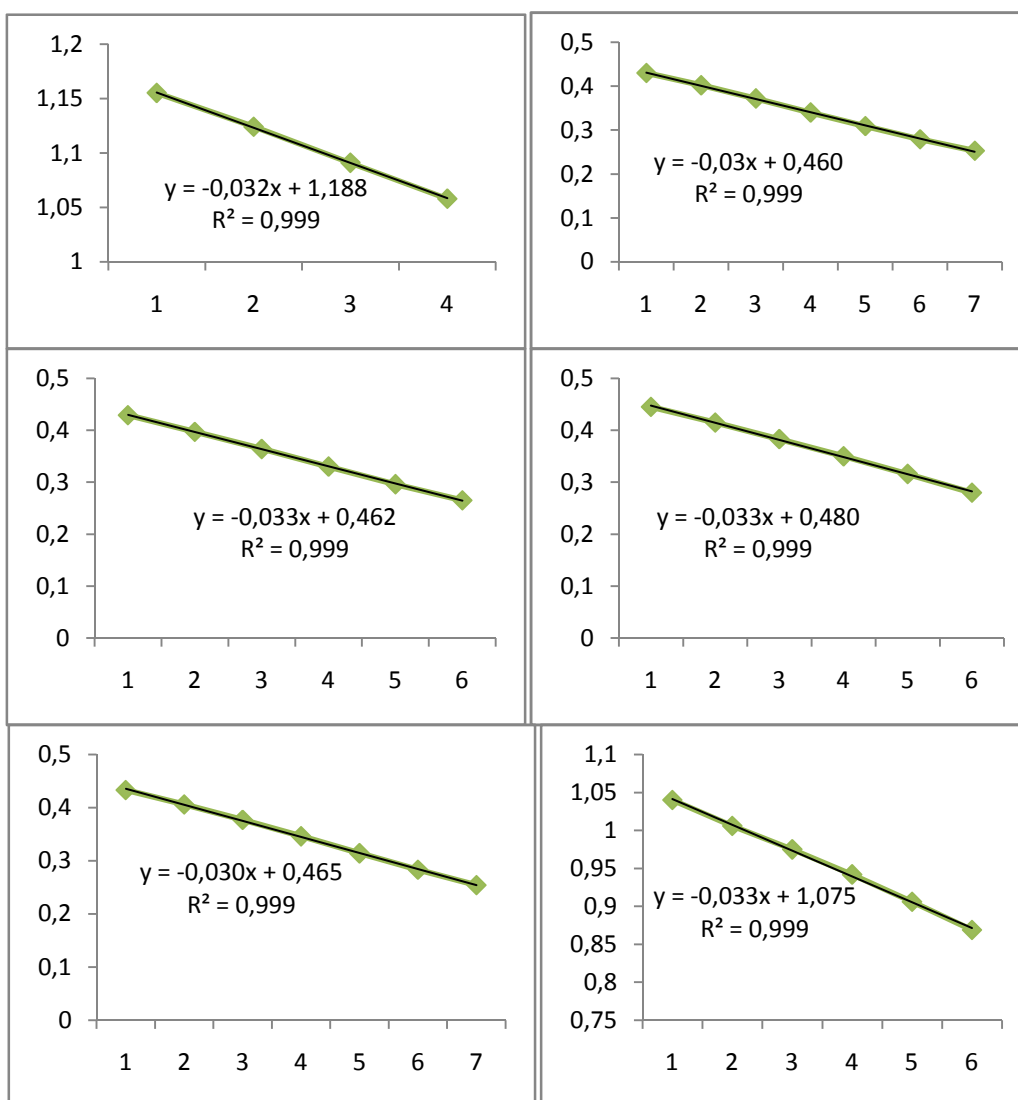
Τα αποτελέσματα των μετρήσεων, ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση της δραστηριότητας που προέκυψε για την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και ο συντελεστής διακύμανσης φαίνονται στον πίνακα 4.2.2.

Πίνακας 4.2.2.: Υπολογισμός συντελεστή διακύμανσης για δύο τυχαία δείγματα του πληθυσμού

Δείγμα 1	Δραστικότητα GPx3 (Units/mL)	Δείγμα 2	Δραστικότητα GPx3 (Units/ mL)
1 ^η μέτρηση	0,052	1 ^η μέτρηση	0,049
2 ^η μέτρηση	0,049	2 ^η μέτρηση	0,051
2 ^η μέτρηση	0,054	2 ^η μέτρηση	0,055
2 ^η μέτρηση	0,054	2 ^η μέτρηση	0,049
2 ^η μέτρηση	0,049	2 ^η μέτρηση	0,053
2 ^η μέτρηση	0,054	2 ^η μέτρηση	0,049
Μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	0,0525 ± 0,0027	Μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	0,0510 ± 0,0023
CV	5,1051	CV	4,5175

Στο σχήμα 4.2.3. παρουσιάζονται τα διαγράμματα μείωσης της απορρόφησης για κάθε μία από τις έξι επαναλήψεις του δείγματος 1.

Σχήμα 4.2.3: Διαγράμματα μείωσης της απορρόφησης για το δείγμα 1.



4.3. ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ (GPx3) ΣΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

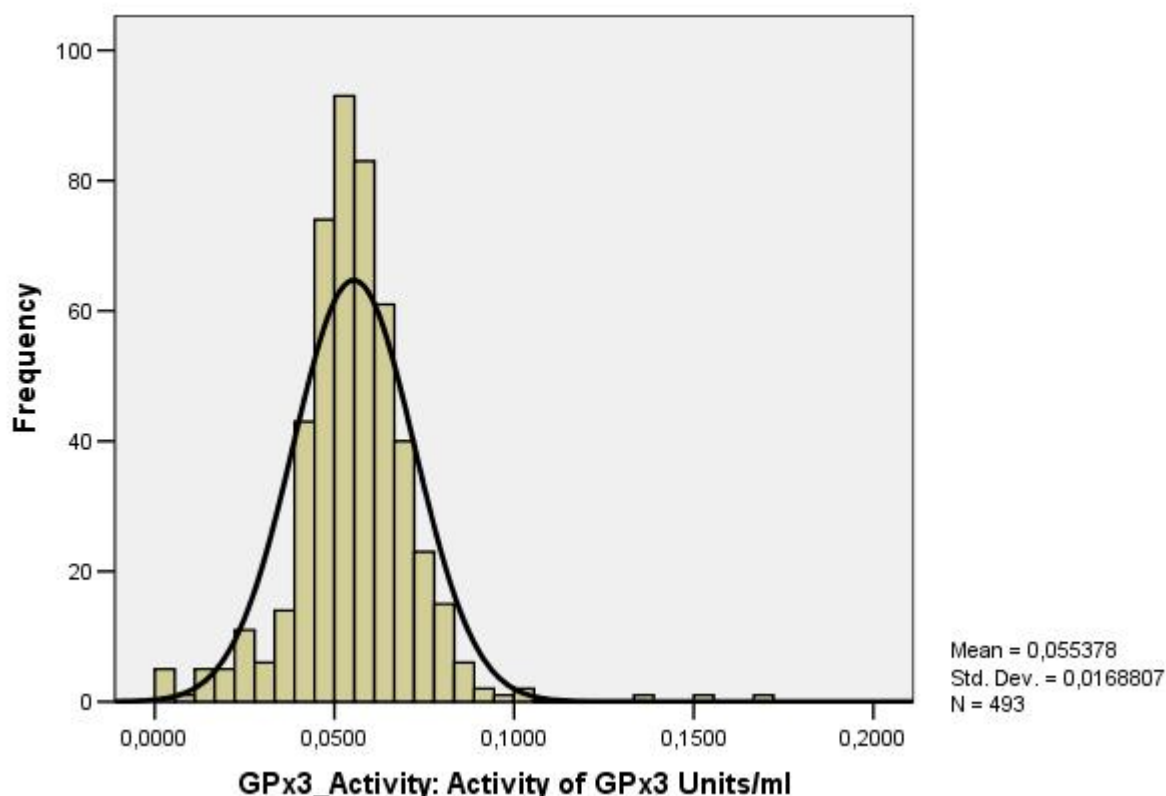
Παρακάτω παρουσιάζεται η κατανομή της δραστηρότητας της GPx3 στον πληθυσμό της μελέτης. Η δραστηρότητα του ενζύμου δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στα δύο φύλα. (Πίνακας 4.3.1.)

Πίνακας 4.3.1.: Δραστηρότητα GPx3 στο σύνολο του πληθυσμού, στα αγόρια και στα κορίτσια

	Σύνολο N=492	Αγόρια N=253	Κορίτσια N=259	p (p-value)
Δραστηρότητα GPx3 (Units/mL)	0,055 ± 0,016	0,056 ± 0,015	0,054 ± 0,018	0,365

Πριν προχωρήσουμε στην περαιτέρω στατιστική ανάλυση των δεδομένων της μελέτης, έγινε έλεγχος της κανονικότητας της δραστικότητας της GPx3. Ο έλεγχος πραγματοποιήθηκε με το τεστ Kolmogorov- Smirnov, με το οποίο φάνηκε ότι οι τιμές της δραστικότητας της GPx3 δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή ($p < 0,05$). Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώνεται και από το ιστόγραμμα της κατανομής των τιμών της δραστικότητας της GPx3 (Σχήμα 4.3.1)

Σχήμα 4.3.1: Η κατανομή της δραστικότητας της GPx3



Ωστόσο λόγω του μεγάλου δείγματος της παρούσας μελέτης, η ανάλυση μερικών συσχετίσεων έγινε θεωρώντας τη κατανομή της δραστικότητας της GPx3 κανονική.

Σύγκριση των επιπέδων της GPX-3 μεταξύ διαφόρων μελετών, τόσο σε παιδιά όσο και σε ενήλικες, έχει δείξει ότι οι τιμές της δραστικότητας μεταξύ των πληθυσμών διαφέρουν σημαντικά. Αυτό εν μέρει οφείλεται στη διαφορετική μεθοδολογία που χρησιμοποιείται, στις διαφορετικές συνθήκες αντιδράσεις, στα διαφορετικά υποστρώματα (υπεροξείδια) και στο διαφορετικό βιολογικό δείγμα (πλάσμα, ορός, ολικό αίμα).

Ενδεικτικά ο Micó JA. και οι συνεργάτες του σε 98 υγιή παιδιά στην Ισπανία ηλικίας $15,25 \pm 0,22$ ετών βρήκαν δραστικότητα της GPx3 $0,913 \pm 0,059$ U/mL. [61] Στην Πολωνία ο Boćkowski L. και οι συνεργάτες του μέτρησαν την δραστικότητα της GPx3 ορού σε 38 παιδιά ηλικίας 4-17 ετών και την υπολόγισαν $0,255 \pm 0,074$ U/mL. [62] Στο Γαλλικό πληθυσμό κάτω

των 20 ετών το εύρος δραστηριοτήτων της GPX-3 ήταν από 0,350-0,930 U/mL [63] ενώ έφηβοι της Τουρκίας (11-19 ετών) είχαν δραστηριότητα GPX-3 4,8 U/mL ενώ αντίστοιχος πληθυσμός στην ίδια χώρα είχε δραστηριότητα 0,024 U/mL. [64] Η ετερογένεια των παραπάνω τιμών είναι χαρακτηριστική των όσων προαναφέρθηκαν.

Στην παρούσα μελέτη λοιπόν δεν φάνηκε να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στην δραστηριότητα της GPx3 μεταξύ αγοριών και κοριτσιών. Ομοίως πολλές μελέτες έχουν ερευνήσει την επίδραση του φύλου είτε στην δραστηριότητα της GPx3, είτε στα επίπεδα σεληνίου στο αίμα χωρίς ωστόσο να είναι ξεκάθαρη η επίδραση του φύλου στη GPX-3. Δύο μελέτες έχουν δείξει ότι το φύλο δεν επηρεάζει τα επίπεδα GPX-3. Ο Spagnolo και οι συνεργάτες του, σε 627 παιδιά ηλικίας 12-13 ετών, βρήκαν υψηλότερα επίπεδα σεληνίου ορού στα αγόρια σε σχέση με τα κορίτσια χωρίς όμως η διαφορά αυτή να είναι στατιστικά σημαντική. [65] Επίσης τόσο ο Ståhlberg MR. [66] και οι συνεργάτες του (49 υγιή παιδιά) όσο και ο Ceballos-Picot I. [67] και οι συνεργάτες του (163 υγιή άτομα 0-63 ετών) δεν έδειξαν καμία συσχέτιση της δραστηριότητας της GPx των ερυθροκυττάρων με το φύλο. Από την άλλη μεριά ο Krittaphol W. [68] και οι συνεργάτες του σε 512 παιδιά ηλικίας 6-13 ετών βρήκαν σημαντική συσχέτιση των επιπέδων σεληνίου ορού με το φύλο. Παρόμοια και ο Safaralizadeh R. [69] και οι συνεργάτες του βρήκαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα σεληνίου ορού στα κορίτσια σε σχέση με τα αγόρια.

4.4. ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPx3 ΑΝΑ ΣΤΑΔΙΟ ΩΡΙΜΑΝΣΗΣ ΚΑΤΑ TANNER

Στη συνέχεια έγινε έλεγχος για τυχόν διαφορές στη δραστηριότητα της GPx3 ανάμεσα στα στάδια ωρίμανσης Tanner. Εξετάστηκε δηλαδή το ενδεχόμενο να επηρεάζεται η δραστηριότητα του ενζύμου από το στάδιο σεξουαλικής ανάπτυξης του παιδιού.

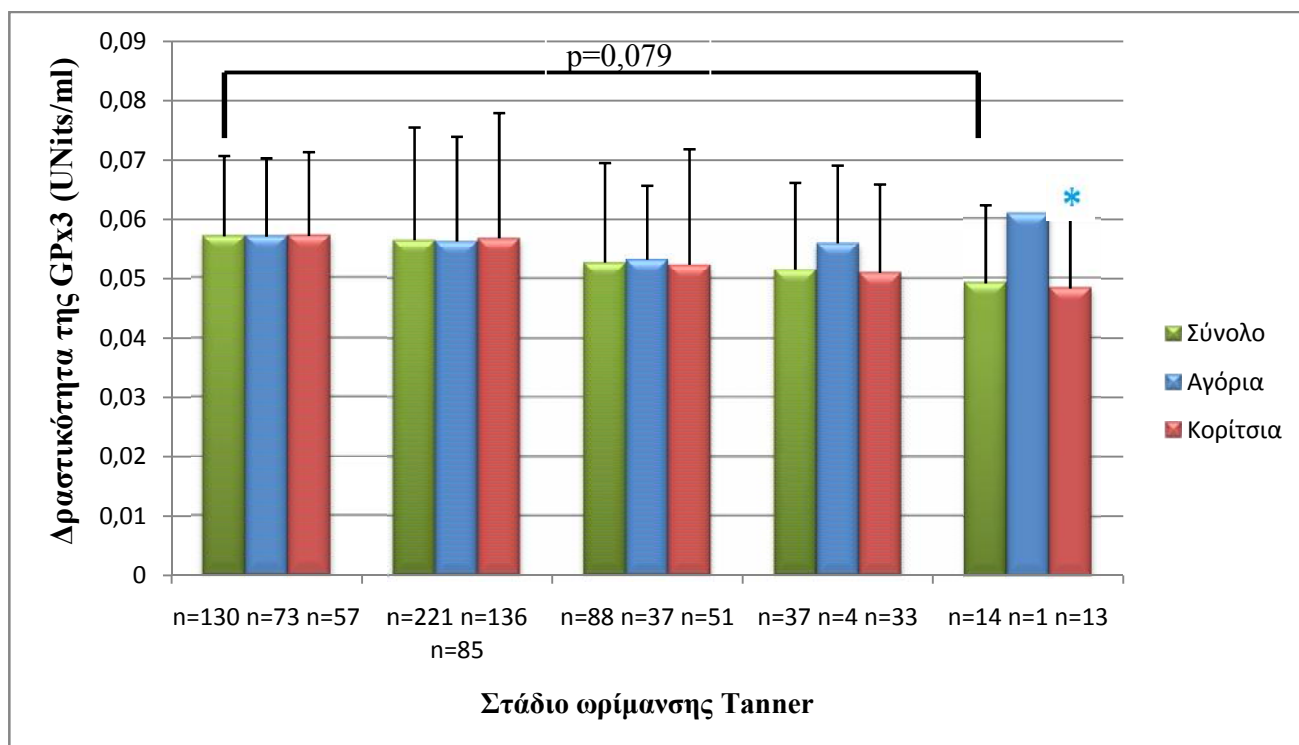
Στο σχήμα 4.4.1. και στον πίνακα 4.4.1. παρουσιάζεται η μέση δραστηριότητα της GPx3 σε κάθε ένα από τα 5 στάδια ωρίμανσης στο σύνολο του πληθυσμού, στα αγόρια και στα κορίτσια.

Φάνηκε γενικά ότι όσο μεγαλώνει το στάδιο ωρίμανσης, η δραστηριότητα του ενζύμου μειώνεται, με την δραστηριότητα στο στάδιο 5 να είναι οριακά σημαντικά μικρότερη σε σχέση με την δραστηριότητα στο στάδιο 1 ($p=0,079$) για το σύνολο του πληθυσμού.

Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα στην έρευνα του Marano G. και των συνεργατών του πραγματοποιήσαν μία μελέτη σε 109 ώριμα και 109 ανώριμα παιδιά ηλικίας 12-13 ετών και έδειξαν ότι το σεληνιο πλάσμα στα αγόρια μειώνονταν με την ωρίμανση. [70]

Για το λόγο αυτό, προκειμένου να καλυφθεί η οποιαδήποτε συσχέτιση διατροφικού παράγοντα με την GPX-3 από τον βαθμό ωριμότητας του κάθε παιδιού, οι συσχετίσεις έγιναν με την μέθοδος των μερικών συσχετίσεων χρησιμοποιώντας ως συγκριτικό παράγοντα το στάδιο ωρίμανσης κατά Tanner

Σχήμα 4.4.1.: Μέση δραστικότητα της GPx3 σε κάθε ένα από τα 5 στάδια ωρίμανσης



Πίνακας 4.4.1.: Δραστικότητα της GPx3 σε κάθε ένα από τα 5 στάδια ωρίμανσης κατά Tanner στο σύνολο του πληθυσμού, στα αγόρια και στα κορίτσια.

Δραστικότητα GPx3						
Στάδιο ωρίμανσης	1	2	3	4	5	p-value
Σύνολο N=490	0,057 ± 0,013	0,056 ± 0,019	0,052 ± 0,016	0,051 ± 0,014	0,049 ± 0,013	0,079
Αγόρια N=251	0,057 ± 0,013	0,056 ± 0,017	0,053 ± 0,012	0,055 ± 0,013	0,060	0,799
Κορίτσια N=257	0,057 ± 0,014	0,056 ± 0,021	0,052 ± 0,019	0,0509 ± 0,0149	0,048 ± 0,036	0,196

4.5. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΗΣ ΔΙΑΙΤΑΣ ΣΕ ΜΑΚΡΟΘΡΕΠΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPx3

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης αρχικά διερευνήθηκε η πιθανή επίδραση της σύστασης της δίαιτας σε μακροθρεπτικά συστατικά στην δραστικότητα της GPx3. Μελετήθηκε δηλαδή εάν κάποιο από τα μακροθρεπτικά συστατικά που καταναλώνουν τα παιδιά επηρεάζει τη δραστικότητα του ενζύμου της GPx3.

Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και των μακροθρεπτικών συστατικών της δίαιτας και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.5.1.

Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση της ενεργειακής πρόσληψης με την δραστικότητα της GPx3, δραστικότητα δηλαδή της GPx3 μειώνεται όσο αυξάνεται η ημερήσια ενεργειακή πρόσληψη. Ωστόσο η συσχέτιση αυτή δεν φάνηκε στατιστικά σημαντική στα αγόρια.

Επίσης, στα αγόρια μόνο φάνηκε να υπάρχει οριακή αρνητική συσχέτιση της πρωτεϊνικής πρόσληψης με την δραστικότητα της GPx3.

Πίνακας 4.5.1.: Ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και των μακροθρεπτικών συστατικών της δίαιτας, στο συνολικό πληθυσμό, σε αγόρια και σε κορίτσια.

Δραστικότητα GPx3			
	Σύνολο N=489	Αγόρια N=232	Κορίτσια N=257
Ενεργειακή πρόσληψη (kcal/ημέρα)	$\rho = -0,122$ $P = 0,007$	$\rho = -0,103$ $P = 0,108$	$\rho = -0,146$ $P = 0,025$
Λίπος (% ενεργειακής πρόσληψης)	$\rho = 0,075$ $P = 0,100$	$\rho = 0,076$ $P = 0,235$	$\rho = 0,074$ $P = 0,257$
MUFA(% ενεργειακής πρόσληψης)	$\rho = 0,046$ $P = 0,310$	$\rho = 0,044$ $P = 0,491$	$\rho = 0,051$ $P = 0,435$
PUFA(% ενεργειακής πρόσληψης)	$\rho = -0,002$ $P = 0,965$	$\rho = 0,033$ $P = 0,607$	$\rho = -0,024$ $P = 0,709$
SFA(% ενεργειακής πρόσληψης)	$\rho = 0,068$ $P = 0,133$	$\rho = 0,070$ $P = 0,271$	$\rho = 0,064$ $P = 0,326$
Υδατάνθρακες (% ενεργειακής πρόσληψης)	$\rho = -0,043$ $P = 0,345$	$\rho = -0,010$ $P = 0,881$	$\rho = -0,073$ $P = 0,264$
Πρωτεΐνες (% ενεργειακής πρόσληψης)	$\rho = -0,032$ $P = 0,483$	$\rho = -0,112$ $P = 0,079$	$\rho = 0,025$ $P = 0,704$

Από τον παραπάνω πίνακα το πιο σημαντικό αποτελέσματα που προέκυψε είναι ότι όσο αυξάνεται η ενεργειακή πρόσληψη μειώνεται η δραστικότητα του ενζύμου. Παρόμοια ήταν και τα ευρήματα της μελέτης του Meydani M. και των συνεργατών του. Στην μελέτη αυτή συμμετείχαν 46 άτομα ηλικίας 20-42 ετών και έλαβαν μία δίαιτα περιορισμού των θερμίδων (10% ή 30% μείωση επί της αρχικής ενεργειακής πρόσληψης) την οποία και ακολούθησαν για διάστημα 6 μηνών. Μετρήσεις μετά τους 6 μήνες θερμιδικού περιορισμού έδειξαν στατιστικά σημαντική αύξηση της δραστικότητας της GPX-3. Σύμφωνα με τους ερευνητές η μείωση της θερμιδικής πρόσληψης επάγει την έκφραση της ενδοθηλιακής συνθετάσης του μονοξειδίου του αζώτου (NO) και κατ' επέκταση την παραγωγή νιτρικού οξειδίου το οποίο αυξάνει την παραγωγή GPx3. [71] Παρόμοια ο Nikitchenko IuV. και οι συνεργάτες του έδειξαν σε έρευνα σε ποντίκια ότι σε αντίθεση με τον θερμιδικό περιορισμό, η υπερφαγία οδηγεί σε μείωση της δραστικότητας της GPx στο συκώτι και στο αίμα των ποντικών. [72]

4.6. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΟΠΩΣ ΕΧΟΥΝ ΠΡΟΚΥΨΕΙ ΑΠΟ ΤΑ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, FFQ, ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPx3

Στη συνέχεια της ανάλυσης των δεδομένων διερευνήθηκε η πιθανή επίδραση της συχνότητας κατανάλωσης βασικών ομάδων τροφίμων στην δραστικότητα της GPx3. Μελετήθηκε δηλαδή εάν κάποια ομάδα τροφίμων που καταναλώνουν τα παιδιά επηρεάζει τη δραστικότητα του ενζύμου της GPx3. Στην συγκεκριμένη ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η πρόσληψη βασικών ομάδων τροφίμων όπως έχει προκύψει από τα ερωτηματολόγια συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) σε μερίδες του τροφίμου την ημέρα.

Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και της πρόσληψης βασικών ομάδων τροφίμων και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.6.1.

Η κατανάλωση φρούτων φαίνεται να σχετίζεται αρνητικά με την δραστικότητα της GPx3. Η δραστικότητα της GPx3 δηλαδή μειώνεται όσο αυξάνεται η πρόσληψη φρούτων, ωστόσο το εύρημα αυτό είναι στατιστικά σημαντικό μόνο στο σύνολο του πληθυσμού.

Στο σύνολο του πληθυσμού και στα αγόρια η αύξηση στην κατανάλωση ανθρακούχων αναψυκτικών οδηγεί σε στατιστικά σημαντική μείωση της δραστικότητας της GPx3.

Επιπλέον στα κορίτσια μόνο η κατανάλωση λαχανικών σχετίζεται αρνητικά με την δραστικότητα της GPx3, δηλαδή η αύξηση της κατανάλωσης λαχανικών μειώνει την δραστικότητα της GPx3. Το εύρημα αυτό ωστόσο είναι οριακά σημαντικό.

Θετική συσχέτιση με την δραστικότητα της GPx3 φάνηκε να έχει η κατανάλωση ψωμιού τόσο στο σύνολο του δείγματος όσο και στα αγόρια, ενώ στα κορίτσια η συσχέτιση αυτή είναι οριακά σημαντική.

Τέλος, η κατανάλωση κόκκινου κρέατος φάνηκε να συσχετίζεται αρνητικά με την δραστικότητα της GPx3 στο σύνολο του πληθυσμού, με το εύρημα αυτό να είναι οριακά σημαντικό.

Πίνακας 4.6.1.: Ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και της συχνότητας κατανάλωσης βασικών ομάδων τροφίμων, όπως έχουν προκύψει από τα FFQ, στο συνολικό πληθυσμό, σε αγόρια και σε κορίτσια.

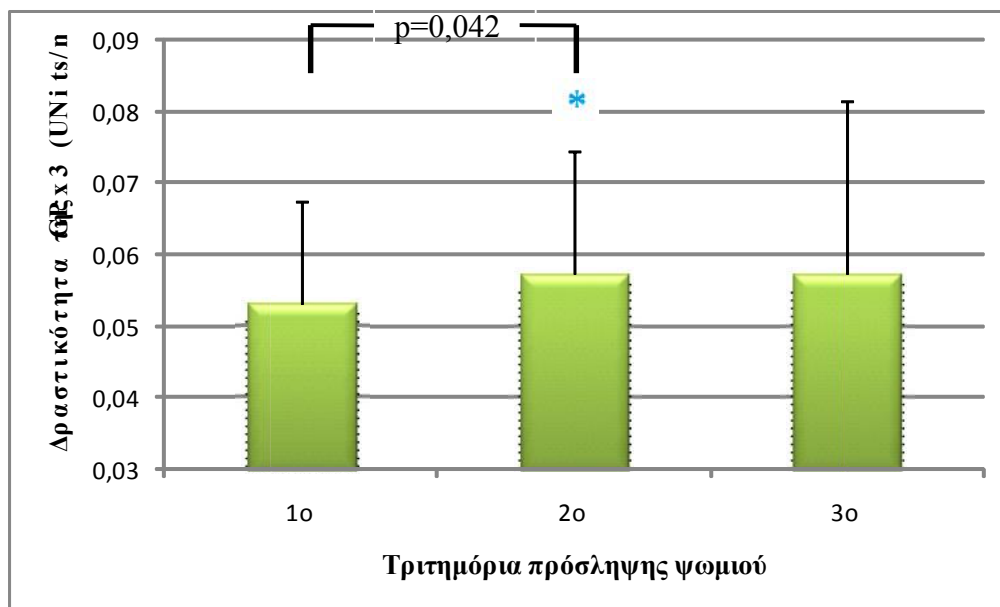
Τρόφιμο (μερίδες/ημέρα)	Δραστικότητα GPx3		
	Σύνολο N=489	Αγόρια N=232	Κορίτσια N=257
Φρούτα	$\rho = -0,103$ $P = 0,035$	$\rho = -0,103$ $P = 0,139$	$\rho = -0,104$ $P = 0,136$
Φρέσκοι χυμοί	$\rho = -0,068$ $P = 0,166$	$\rho = -0,072$ $P = 0,307$	$\rho = -0,065$ $P = 0,353$
Συσκευασμένοι χυμοί	$\rho = -0,082$ $P = 0,096$	$\rho = -0,111$ $P = 0,109$	$\rho = -0,056$ $P = 0,419$
Ανθρακούχα αναψυκτικά	$\rho = -0,131$ $P = 0,008$	$\rho = -0,171$ $P = 0,014$	$\rho = -0,089$ $P = 0,201$
Λαχανικά	$\rho = -0,031$ $P = 0,534$	$\rho = 0,109$ $P = 0,118$	$\rho = -0,129$ $P = 0,064$
Δημητριακά πρωινού	$\rho = -0,061$ $P = 0,212$	$\rho = -0,057$ $P = 0,417$	$\rho = -0,064$ $P = 0,357$
Ψωμί	$\rho = 0,124$ $P = 0,008$	$\rho = 0,127$ $P = 0,053$	$\rho = 0,118$ $P = 0,077$
Γάλα	$\rho = -0,04$ $P = 0,365$	$\rho = -0,023$ $P = 0,745$	$\rho = -0,057$ $P = 0,411$
Σοκολατούχο γάλα	$\rho = -0,058$ $P = 0,240$	$\rho = -0,054$ $P = 0,435$	$\rho = 0,021$ $P = 0,759$
Γιαούρτι	$\rho = -0,053$ $P = 0,280$	$\rho = -0,049$ $P = 0,483$	$\rho = -0,058$ $P = 0,403$
Ψάρι	$\rho = 0,003$ $P = 0,945$	$\rho = 0,015$ $P = 0,835$	$\rho = -0,009$ $P = 0,894$
Κόκκινο κρέας	$\rho = -0,085$ $P = 0,068$	$\rho = -0,079$ $P = 0,232$	$\rho = -0,094$ $P = 0,159$
Κοτόπουλο	$\rho = -0,007$ $P = 0,882$	$\rho = -0,092$ $P = 0,159$	$\rho = 0,075$ $P = 0,263$
Σοκολάτα	$\rho = -0,058$ $P = 0,240$	$\rho = -0,042$ $P = 0,547$	$\rho = -0,073$ $P = 0,296$
Κέικ	$\rho = -0,071$ $P = 0,145$	$\rho = -0,041$ $P = 0,555$	$\rho = -0,091$ $P = 0,192$
Πατατάκια	$\rho = -0,017$ $P = 0,731$	$\rho = -0,057$ $P = 0,414$	$\rho = -0,004$ $P = 0,952$
Ζυμαρικά	$\rho = -0,045$ $P = 0,354$	$\rho = -0,067$ $P = 0,337$	$\rho = -0,028$ $P = 0,686$
Πατάτες	$\rho = -0,082$ $P = 0,096$	$\rho = -0,089$ $P = 0,200$	$\rho = -0,008$ $P = 0,905$
Πίτσα	$\rho = 0,031$ $P = 0,534$	$\rho = 0,017$ $P = 0,810$	$\rho = 0,047$ $P = 0,499$
Σουβλάκι	$\rho = -0,025$ $P = 0,611$	$\rho = -0,024$ $P = 0,729$	$\rho = -0,025$ $P = 0,718$
Φαγητό από fast-food	$\rho = -0,052$ $P = 0,285$	$\rho = -0,093$ $P = 0,180$	$\rho = -0,010$ $P = 0,883$

Προκειμένου να διερευνηθεί εκτενέστερα η συσχέτιση της δραστικότητας της GPx3 με την κατανάλωση ψωμιού και ανθρακούχων αναψυκτικών εξετάστηκε αν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές της δραστικότητας της GPx3 ανά τριτημόριο κατανάλωσης ψωμιού και αναψυκτικών ξεχωριστά. Για το λόγο αυτό έγινε ανάλυση διακύμανσης με διόρθωση Bonferroni για πολλαπλές ανά ζεύγη συγκρίσεις.

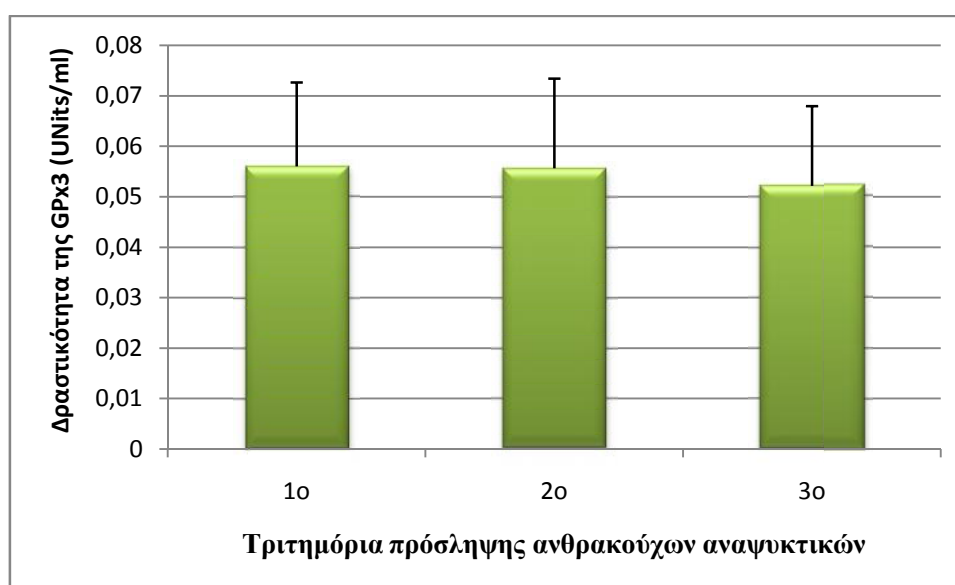
Στα σχήματα 4.6.1. και 4.6.2. παρουσιάζεται η δραστικότητα της GPx3 ανά τριτημόριο κατανάλωσης ψωμιού και ανθρακούχων αναψυκτικών αντίστοιχα.

Η δραστικότητα της GPx3 είναι στατιστικά σημαντικά μικρότερη στο πρώτο τριτημόριο κατανάλωσης ψωμιού σε σχέση με το δεύτερο ($p=0,042$), ενώ δεν φάνηκε να διαφέρει στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στα τριτημόρια κατανάλωσης ανθρακούχων αναψυκτικών.

Σχήμα 4.6.1.: Δραστικότητα της GPx3 ανά τριτημόριο πρόσληψης ψωμιού



Σχήμα 4.6.2.: Δραστικότητα της GPx3 ανά τριτημόριο πρόσληψης ανθρακούχων αναψυκτικών



Ο Gibso S. και οι συνεργάτες του μελέτησαν την συσχέτιση ανάμεσα στην πρόσληψη μικροθρεπτικών συστατικών και πρόσθετων σακχάρων. Στην μελέτη αυτή το σελήνιο πλάσματος συσχετίστηκε αντιστρόφως ανάλογα με τα πρόσθετα σάκχαρα αλλά δεν βρέθηκε να υπάρχει καμία συσχέτιση με τα επίπεδα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης. Συγκεκριμένα βρέθηκε ότι η το σελήνιο πλάσματος μειώνεται κατά 8% όσο η πρόσληψη σακχάρων αυξάνεται από 9 σε 23%. Δεδομένου ότι δεν υπάρχει κάποιος γνωστός βιολογικός μηχανισμός που να εμπλέκει άμεσα την ζάχαρη με τα χαμηλά επίπεδα σεληνίου, είναι πολύ πιθανό η υψηλή πρόσληψη σακχάρων να αντιπροσωπεύει ουσιαστικά μια διατροφή φτωχή σε πρωτεΐνες, και κυρίως σε ψάρι και κρέας. [73]

Παρομοίως σε μία έρευνα σε ποντίκια που πραγματοποίησε η Diniz YS. και οι συνεργάτες της, φάνηκε ότι σε ποντίκια, τα οποία είχαν ακολουθήσει για 30 ημέρες δίαιτα πλούσια σε σουκρόζη, μειώθηκε σημαντικά η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης στο πλάσμα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. [74]

Το γεγονός ότι τα φρούτα και τα ανθρακούχα αναψυκτικά συσχετίστηκαν αρνητικά με την δραστηριότητα της GPx3 συνάδει με τα ευρήματα των παραπάνω μελετών δεδομένου ότι πρόκειται για τρόφιμα ιδιαίτερα πλούσια σε σάκχαρα.

Από την άλλη, όσο αφορά τα ανθρακούχα αναψυκτικά κανείς δεν μπορεί να αποκλείσει ότι μία πιθανή διουρητική τους δράση δεν θα μπορούσε να οδηγήσει σε αυξημένη αποβολή σεληνίου από τον ανθρώπινο οργανισμό.

Όντας μία καλή πηγή σεληνίου το ψωμί συσχετίστηκε θετικά με την δραστηριότητα της GPx3. Το ψωμί αποτελεί ταυτόχρονα ένα τρόφιμο το οποίο καταναλώνεται ευρέως και η πρόσληψή του εύκολα να καταγραφεί και να υπολογιστεί σωστά, καθώς αποτελεί συνήθως καθημερινά μέρος του διαιτολογίου. Αντίθετα η πρόσληψη τροφίμων όπως το ψάρι και το κόκκινο κρέας, των οποίων η κατανάλωση γίνεται συνήθως σε εβδομαδιαία και όχι σε καθημερινή βάση, είναι πιο εύκολο να υποεκτιμηθεί. Αυτό πιθανώς εξηγεί και το γεγονός ότι αν και τα ψωμί συσχετίστηκε θετικά με την δραστηριότητα της GPx3, δεν φάνηκε κάποια σημαντική συσχέτιση με άλλες καλές πηγές σεληνίου όπως το ψάρι και το κόκκινο κρέας.

Ενδιαφέροντα είναι και τα ευρήματα από την μελέτη του Borawska MH. και των συνεργατών του οι οποίοι έδειξαν ότι σε άτομα με ανεπαρκή επίπεδα σεληνίου ορού η κατανάλωση κρέατος, μελιού και τσαγιού συσχετίστηκε θετικά με την συγκέντρωση του σεληνίου, ενώ σε άτομα με επαρκή επίπεδα σεληνίου ορού η αντίστοιχη θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε με την κατανάλωση ψωμιού ολικής άλεσης και επεξεργασμένων φρούτων. [75]

Κάτι τέτοιο υποδεικνύει ότι η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης πιθανώς επηρεάζεται με διαφορετικό τρόπο σε άτομα με επαρκή επίπεδα σεληνίου από ότι σε άτομα με χαμηλά επίπεδα σεληνίου. Έτσι λοιπόν σε κάθε περίπτωση είναι πιθανό να εμπλέκονται διαφορετικοί διατροφικοί παράγοντες ή/και οι ίδιοι παράγοντες σε διαφορετικό βαθμό.

Προκειμένου να απομονώσουμε τα άτομα με χαμηλά επίπεδα σεληνίου μελετήσαμε την επίδραση των διαφόρων ομάδων τροφίμων στην δραστηριότητα της GPx3 στα άτομα με την χαμηλότερη δραστηριότητα ενζύμου, θεωρώντας ότι τα άτομα αυτά είναι που έχουν και τα χαμηλότερα επίπεδα σεληνίου. Συγκεκριμένα αφαιρέσαμε για την συγκεκριμένη ανάλυση τα άτομα που βρίσκονται στο τέταρτο τεταρτημόριο δραστηριότητας της GPx3.

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστηριότητας της GPx3 και της πρόσληψης βασικών ομάδων τροφίμων στα άτομα με την χαμηλότερη δραστηριότητα GPx3 και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.6.2.

Η αρνητική συσχέτιση της δραστηριότητας της GPx3 με τα φρούτα και τα ανθρακούχα αναψυκτικά παραμένει, ενώ χάνεται η θετική συσχέτιση με το ψωμί. Εμφανίζεται όμως μία στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με τους φρέσκους χυμούς στο σύνολο του υποπληθυσμού και στα κορίτσια, καθώς και μία αρνητική συσχέτιση με την κατανάλωση γιαουρτιού στα κορίτσια.

Πίνακας 4.6.2 : Ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστηκότητας της GPx3 και της συχνότητας κατανάλωσης βασικών ομάδων τροφίμων, όπως έχουν προκύψει από τα FFQ, στα άτομα με την χαμηλότερη δραστηκότητα GPx3.

Τρόφιμο (μερίδες/ημέρα)	Δραστηκότητα GPx3		
	Σύνολο N=489	Αγόρια N=232	Κορίτσια N=257
Φρούτα	$\rho = -0,115$ P= 0,047	$\rho = -0,105$ P= 0,207	$\rho = -0,126$ P= 0,121
Φρέσκοι χυμοί	$\rho = -0,154$ P= 0,008	$\rho = -0,140$ P= 0,093	$\rho = -0,179$ P= 0,027
Συσκευασμένοι χυμοί	$\rho = -0,047$ P= 0,417	$\rho = -0,101$ P= 0,225	$\rho = 0,008$ P= 0,918
Ανθρακούχα αναψυκτικά	$\rho = -0,176$ P= 0,002	$\rho = -0,209$ P= 0,012	$\rho = -0,155$ P= 0,056
Λαχανικά	$\rho = -0,076$ P= 0,192	$\rho = 0,065$ P= 0,436	$\rho = -0,168$ P= 0,038
Δημητριακά πρωινού	$\rho = -0,011$ P= 0,848	$\rho = -0,026$ P= 0,755	$\rho = 0,009$ P= 0,915
Ψωμί	$\rho = -0,016$ P= 0,785	$\rho = 0,103$ P= 0,219	$\rho = -0,119$ P= 0,145
Γάλα	$\rho = -0,056$ P= 0,338	$\rho = -0,032$ P= 0,703	$\rho = -0,070$ P= 0,389
Σοκολατούχο γάλα	$\rho = -0,005$ P= 0,929	$\rho = 0,037$ P= 0,658	$\rho = -0,061$ P= 0,456
Γιαούρτι	$\rho = -0,102$ P= 0,077	$\rho = 0,027$ P= 0,746	$\rho = -0,215$ P= 0,008
Ψάρι	$\rho = 0,030$ P= 0,611	$\rho = 0,105$ P= 0,210	$\rho = -0,051$ P= 0,535
Κόκκινο κρέας	$\rho = -0,043$ P= 0,463	$\rho = -0,023$ P= 0,784	$\rho = -0,062$ P= 0,445
Κοτόπουλο	$\rho = 0,031$ P= 0,591	$\rho = -0,048$ P= 0,566	$\rho = 0,110$ P= 0,178
Σοκολάτα	$\rho = 0,016$ P= 0,782	$\rho = 0,044$ P= 0,599	$\rho = -0,022$ P= 0,786
Κέικ	$\rho = -0,079$ P= 0,173	$\rho = -0,060$ P= 0,476	$\rho = -0,094$ P= 0,248
Πατατάκια	$\rho = 0,013$ P= 0,818	$\rho = -0,084$ P= 0,315	$\rho = 0,052$ P= 0,525
Ζυμαρικά	$\rho = 0,026$ P= 0,650	$\rho = -0,021$ P= 0,805	$\rho = 0,062$ P= 0,449
Πατάτες	$\rho = -0,006$ P= 0,923	$\rho = -0,144$ P= 0,084	$\rho = 0,050$ P= 0,536
Πίτσα	$\rho = 0,005$ P= 0,928	$\rho = -0,043$ P= 0,604	$\rho = 0,046$ P= 0,576
Σουβλάκι	$\rho = 0,012$ P= 0,842	$\rho = -0,122$ P= 0,143	$\rho = 0,133$ P= 0,101
Φαγητό από fast-food	$\rho = -0,061$ P= 0,291	$\rho = -0,101$ P= 0,229	$\rho = -0,023$ P= 0,781

4.7. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΟΠΩΣ ΕΧΟΥΝ ΠΡΟΚΥΨΕΙ ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΝΑΚΛΗΣΕΙΣ 24ΩΡΟΥ, ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPx3

Στη συνέχεια διερευνήθηκε η πιθανή επίδραση της κατανάλωσης βασικών τροφίμων στην δραστικότητα της GPx3. Μελετήθηκε δηλαδή εάν κάποια από τα βασικά τρόφιμα που καταναλώνουν τα παιδιά επηρεάζει τη δραστικότητα του ενζύμου της GPx3. Στην συγκεκριμένη ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η πρόσληψη βασικών τροφίμων όπως έχει προκύψει από τις ανακλήσεις 24ώρου, σε γραμμάρια κατανάλωσης του τροφίμου την ημέρα.

Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και της πρόσληψης βασικών τροφίμων και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.7.1.

Στο σύνολο του πληθυσμού η κατανάλωση ψωμιού σικάλεως φάνηκε να σχετίζεται θετικά με την δραστικότητα της GPx3. Όσο δηλαδή αυξάνεται η πρόσληψη ψωμιού σικάλεως η δραστικότητα της GPx3 αυξάνεται στατιστικά σημαντικά. Η θετική αυτή συσχέτιση παραμένει στατιστικά σημαντική στα κορίτσια αλλά όχι στα αγόρια.

Επίσης φάνηκε ότι όσο αυξάνεται η πρόσληψη δημητριακών πρωινού ολικής αλέσεως, η δραστικότητα της GPx3 μειώνεται στατιστικά σημαντικά στο σύνολο του πληθυσμού, ενώ η αρνητική συσχέτιση παραμένει οριακά αρνητική στα αγόρια.

Στατιστικά σημαντικά ήταν η συσχέτιση της πρόσληψης τυριού με την δραστικότητα της GPx3 στα κορίτσια. Συγκεκριμένα αύξηση στην πρόσληψη τυριού στα κορίτσια φάνηκε να αυξάνει στατιστικά σημαντικά την δραστικότητα της GPx3. Η συσχέτιση αυτή είναι οριακά θετική και για το σύνολο του πληθυσμού.

Στα αγόρια φάνηκε να υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση σοκολάτας και την δραστικότητα της GPx3. Όσο αυξάνεται δηλαδή η κατανάλωση σοκολάτας αυξάνεται και η δραστικότητα της GPx3.

Επιπλέον στα αγόρια μόνο φάνηκε ότι η κατανάλωση τηγανιτού αυγού συσχετίζεται αρνητικά με την δραστικότητα της GPx3, με την συσχέτιση αυτή να είναι στατιστικά σημαντική. Αρνητική, αλλά οριακά σημαντική, συσχέτιση φάνηκε να υπάρχει και ανάμεσα στην κατανάλωση ψαριού και στην δραστικότητα της GPx3, αλλά και πάλι μόνο στα αγόρια.

Τέλος η κατανάλωση λαχανικών συσχετίστηκε με την δραστικότητα της GPx3 στατιστικά σημαντικά στα κορίτσια και οριακά σημαντικά στο σύνολο του πληθυσμού. Συγκεκριμένα η

συσχέτιση ήταν θετική με την δραστικότητα της GPx3 να αυξάνεται όσο αυξάνεται η κατανάλωση λαχανικών.

Πίνακας 4.7.1.: Ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και της κατανάλωσης βασικών τροφίμων, όπως έχουν προκύψει από τις ανακλήσεις 24ώρου, στο συνολικό πληθυσμό, σε αγόρια και σε κορίτσια.

Τρόφιμο (γραμμάρια/ ημέρα)	Δραστικότητα GPx3		
	Σύνολο N=489	Αγόρια N=232	Κορίτσια N=257
Αλλαντικά	$\rho = 0,039$ P= 0,420	$\rho = -0,025$ P= 0,713	$\rho = 0,119$ P= 0,083
Καφές	$\rho = -0,018$ P= 0,714	$\rho = -0,027$ P= 0,687	-
Τσάι	$\rho = -0,022$ P= 0,640	$\rho = 0,010$ P= 0,878	$\rho = -0,041$ P= 0,551
Ψωμί σικάλεως	$\rho = 0,124$ P= 0,010	$\rho = 0,110$ P= 0,102	$\rho = 0,134$ P= 0,050
Ψωμί ολικής αλέσεως	$\rho = -0,032$ P= 0,501	$\rho = -0,025$ P= 0,714	$\rho = -0,025$ P= 0,713
Δημητριακά πρωινού με ζάχαρη	$\rho = -0,002$ P= 0,966	$\rho = -0,072$ P= 0,291	$\rho = 0,061$ P= 0,374
Δημητριακά πρωινού ολικής αλέσεως	$\rho = -0,105$ P= 0,029	$\rho = -0,121$ P= 0,073	$\rho = -0,103$ P= 0,134
Τυρί	$\rho = 0,086$ P= 0,074	$\rho = 0,007$ P= 0,921	$\rho = 0,135$ P= 0,048
Σοκολάτα	$\rho = 0,053$ P= 0,266	$\rho = 0,183$ P= 0,006	$\rho = -0,092$ P= 0,182
Γάλα	$\rho = -0,050$ P= 0,296	$\rho = -0,092$ P= 0,176	$\rho = -0,015$ P= 0,822
Γιαούρτι	$\rho = 0,028$ P= 0,565	$\rho = 0,060$ P= 0,374	$\rho = -0,053$ P= 0,444
Αυγό	$\rho = 0,005$ P= 0,921	$\rho = 0,009$ P= 0,898	$\rho = 0,003$ P= 0,970
Τηγανιτό αυγό	$\rho = -0,065$ P= 0,174	$\rho = -0,132$ P= 0,051	$\rho = 0,044$ P= 0,522
Βούτυρο	$\rho = -0,021$ P= 0,656	$\rho = 0,097$ P= 0,152	$\rho = -0,063$ P= 0,361
Μαγιονέζα	$\rho = 0,025$ P= 0,610	$\rho = 0,037$ P= 0,584	-
Μαργαρίνη	$\rho = 0,016$ P= 0,741	$\rho = 0,025$ P= 0,718	$\rho = 0,018$ P= 0,790
Ελαιόλαδο	$\rho = -0,035$ P= 0,461	$\rho = -0,053$ P= 0,434	-
Ψάρι	$\rho = -0,078$ P= 0,104	$\rho = -0,120$ P= 0,076	$\rho = 0,034$ P= 0,618
Φρούτα	$\rho = 0,051$ P= 0,290	$\rho = 0,096$ P= 0,156	$\rho = -0,031$ P= 0,648
Ξηροί καρποί	$\rho = 0,021$ P= 0,663	$\rho = 0,037$ P= 0,584	-
Ζυμαρικά	$\rho = -0,036$ P= 0,453	-	$\rho = -0,049$ P= 0,475
Πίτσα	$\rho = 0,030$ P= 0,526	$\rho = -0,053$ P= 0,434	$\rho = 0,047$ P= 0,494
Ψητή πατάτα	$\rho = 0,046$ P= 0,342	-	$\rho = 0,060$ P= 0,386
Πουλερικά	$\rho = 0,046$ P= 0,342	-	$\rho = 0,060$ P= 0,386

Ρύζι	$\rho = 0,046$ $P = 0,340$	-	$\rho = 0,060$ $P = 0,384$
Αλμυρά σνακ	$\rho = -0,008$ $P = 0,871$	-	$\rho = -0,007$ $P = 0,916$
Ανθρακούχα αναψυκτικά	$\rho = 0,109$ $P = 0,118$	-	$\rho = 0,006$ $P = 0,926$
Σουβλάκι	$\rho = -0,043$ $P = 0,367$	$\rho = -0,092$ $P = 0,175$	$\rho = -0,009$ $P = 0,891$
Γλυκά	$\rho = 0,004$ $P = 0,930$	$\rho = 0,098$ $P = 0,149$	$\rho = -0,056$ $P = 0,417$
Λαχανικά	$\rho = 0,088$ $P = 0,067$	$\rho = 0,011$ $P = 0,876$	$\rho = 0,135$ $P = 0,049$
Νερό	$\rho = -0,003$ $P = 0,945$	$\rho = -0,008$ $P = 0,902$	$\rho = 0,002$ $P = 0,977$

Η αύξηση στην πρόσληψη της σοκολάτας φάνηκε να αυξάνει την δραστικότητα της GPx3 στα αγόρια. Στην επίδραση αυτή της σοκολάτας είναι πιθανό να μεσολαβούν οι περιεχόμενες πολυφαινόλες, γνωστές για την αντιοξειδωτική τους δράση. Η Martín MA. και οι συνεργάτες της ύστερα από καλλιέργεια κυττάρων με εκχύλισμα πολυφαινολών από κακάο έδειξαν σημαντική αύξηση στην δραστικότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και της αναγωγάσης της γλουταθειόνης. [76] Παρόμοια ο Al-Malki AL. και οι συνεργάτες του σε μελέτη σε ποντίκια έδειξαν ότι οι επικατεχίνες, σημαντικότερες πηγές των οποίων είναι το τσάι, το μήλο και η σοκολάτα, οδήγησαν σε αύξηση της δραστικότητας της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και άλλων αντιοξειδωτικών ενζύμων σε ποντίκια στα οποία προκλήθηκε ισχυρό οξειδωτικό στρες με έκθεση σε κυκλοσπορίνη. [77]

4.8. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ (ΓΔ) ΚΑΙ ΤΟΥ ΓΛΥΚΑΙΜΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ (ΓΦ) ΤΗΣ ΔΙΑΙΤΑΣ ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPx3

Στη συνέχεια ερευνήθηκε η πιθανή επίδραση του γλυκαιμικού δείκτη και του γλυκαιμικού φορτίου της δίαιτας στην δραστικότητα της GPx3. Εξετάσαμε δηλαδή εάν ο ΓΔ και το ΓΦ της δίαιτας των παιδιών επηρεάζει την δραστικότητα του ενζύμου της GPx3.

Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και του ΓΔ και του ΓΦ της δίαιτας και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.8.1.

Ο γλυκαιμικός δείκτης δεν φαίνεται να επηρεάζει την δραστικότητα της GPx3, ενώ το γλυκαιμικό φορτίο σχετίζεται αρνητικά με την δραστικότητα της GPx3. Έτσι η αύξηση του γλυκαιμικού φορτίου στο σύνολο του πληθυσμού οδηγεί σε στατιστικά σημαντική μείωση της δραστικότητας της GPx3. Η αρνητική αυτή συσχέτιση παραμένει οριακά σημαντική στα κορίτσια, ενώ χάνεται στα αγόρια.

Πίνακας 4.8.1.: Ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και του ΓΔ και του ΓΦ, στο συνολικό πληθυσμό, σε αγόρια και σε κορίτσια.

Δραστικότητα GPx3			
	Σύνολο N=489	Αγόρια N=232	Κορίτσια N=257
Γλυκαιμικός δείκτης	$\rho = -0,031$ P= 0,495	$\rho = 0,011$ P= 0,865	$\rho = -0,069$ P= 0,290
Γλυκαιμικό φορτίο	$\rho = -0,089$ P= 0,052	$\rho = -0,069$ P= 0,282	$\rho = -0,117$ P= 0,072
Γλυκαιμικό φορτίο/ 1000 kcal	$\rho = 0,016$ P= 0,731	$\rho = 0,011$ P= 0,865	$\rho = 0,016$ P= 0,809

Δεν υπάρχουν αντίστοιχες μελέτες στη βιβλιογραφία που να έχουν συσχετίσει το ΓΔ ή το ΓΦ με το ένζυμο αυτό. Το γλυκαιμικό φορτίο αποτελεί δείκτη της πρόσληψης υδατανθράκων στη διαίτα και ενδεχομένως η αρνητική αυτή συσχέτιση να οφείλεται στα σάκχαρα της διαίτας δεδομένου ότι αυτά δείχνουν να συσχετίζονται αρνητικά με την δραστικότητα της GPx3.

4.9. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΜΙΚΡΟΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPx3

Στη συνέχεια ερευνήθηκε η πιθανή επίδραση της διατροφικής πρόσληψης μικροθρεπτικών συστατικών στην δραστικότητα της GPx3. Μελετήθηκε δηλαδή εάν κάποιο από τα μικροθρεπτικά συστατικά που προσλαμβάνουν τα παιδιά μέσω της διατροφής επηρεάζει τη δραστικότητα του ενζύμου της GPx3.

Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και των μικροθρεπτικών συστατικών της διαίτας και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.9.1.

Η προσλαμβανόμενη χοληστερόλη σχετίστηκε αρνητικά με την δραστικότητα της GPx3, με την συσχέτιση αυτή να είναι οριακά σημαντική για το σύνολο του πληθυσμού και στατιστικά σημαντική στα αγόρια. Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα και στη μελέτη του Codoñer-Franch P. και των συνεργατών του οι οποίοι διερεύνησαν την συσχέτιση της παχυσαρκίας με το οξειδωτικό στρες στα παιδιά. Όπως και στην παρούσα μελέτη η δραστικότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης των ερυθροκυττάρων συσχετίστηκε αρνητικά με την ολική χοληστερόλη ($\rho = -0.34$, P=0.019). [78] Παρόμοια σε μία μελέτη στην Ισπανία σε 38 παιδιά

ηλικίας 6-12 ετών η πρόσληψη χοληστερόλης συσχετίστηκε αρνητικά με την δραστικότητα της GPx3. [79]

Οριακά σημαντική αρνητική συσχέτιση βρέθηκε και ανάμεσα στο κάλιο και την δραστικότητα της GPx3, μόνο στο σύνολο του πληθυσμού.

Επιπλέον στο σύνολο του πληθυσμού η αύξηση στην πρόσληψη των trans λιπαρών οξέων και του Ca/kcal/ημέρα οδηγεί σε στατιστικά σημαντική αύξηση της δραστικότητας της GPx3. Η θετική αυτή συσχέτιση της πρόσληψης Ca/kcal/ημέρα παρέμεινε στατιστικά σημαντική και στα αγόρια.

Πίνακας 4.9.1.: Ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και της διατροφικής πρόσληψης μικροθρεπτικών συστατικών, στο συνολικό πληθυσμό, σε αγόρια και σε κορίτσια

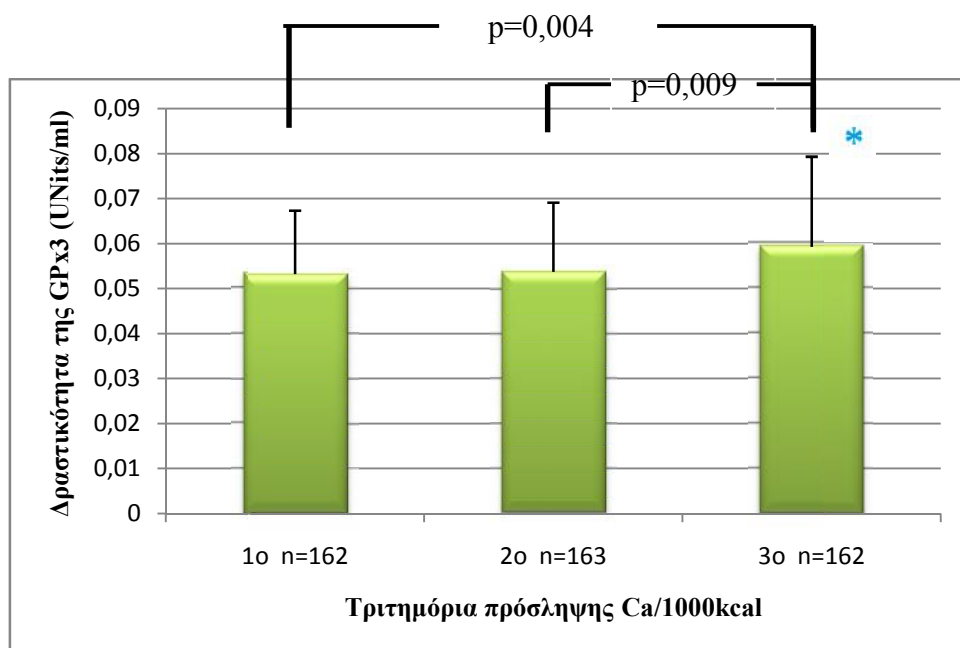
Δραστικότητα GPx3			
	Σύνολο N=489	Αγόρια N=232	Κορίτσια N=257
Χοληστερόλη (mg/ημέρα)	$\rho = -0,081$ P= 0,076	$\rho = -0,123$ P= 0,057	$\rho = -0,047$ P= 0,471
Σίδηρος (mg/ημέρα)	$\rho = -0,046$ P= 0,313	$\rho = -0,049$ P= 0,451	$\rho = -0,044$ P= 0,499
Ασβέστιο (mg/ημέρα)	$\rho = 0,045$ P= 0,329	$\rho = 0,082$ P= 0,204	$\rho = 0,006$ P= 0,933
Βιταμίνη C (mg/ημέρα)	$\rho = -0,026$ P= 0,578	$\rho = 0,032$ P= 0,623	$\rho = -0,075$ P= 0,254
Φυλλικό οξύ (μg/ημέρα)	$\rho = -0,063$ P= 0,171	$\rho = -0,013$ P= 0,845	$\rho = -0,105$ P= 0,109
Trans λιπαρά οξέα (gr/ημέρα)	$\rho = 0,092$ P= 0,045	$\rho = 0,074$ P= 0,253	$\rho = 0,107$ P= 0,100
Σίδηρος/1000 kcal (mg/1000kcal)	$\rho = 0,022$ P= 0,630	$\rho = 0,035$ P= 0,584	$\rho = 0,016$ P= 0,807
Ασβέστιο/1000 kcal (mg/1000kcal)	$\rho = 0,149$ P= 0,001	$\rho = 0,196$ P= 0,002	$\rho = 0,109$ P= 0,095
Βιταμίνη C/1000 kcal (mg/1000kcal)	$\rho = 0,010$ P= 0,834	$\rho = 0,079$ P= 0,224	$\rho = -0,041$ P= 0,526
Μαγνήσιο (mg/ημέρα)	$\rho = -0,064$ P= 0,163	$\rho = -0,075$ P= 0,247	$\rho = -0,059$ P= 0,368
Κάλιο (mg/ημέρα)	$\rho = -0,081$ P= 0,078	$\rho = -0,080$ P= 0,215	$\rho = 0,085$ P= 0,194
Νάτριο (mg/ημέρα)	$\rho = 0,004$ P= 0,931	$\rho = 0,055$ P= 0,397	$\rho = -0,055$ P= 0,401
Βιταμίνη D (IU/ημέρα)	$\rho = -0,050$ P= 0,273	$\rho = -0,054$ P= 0,406	$\rho = -0,053$ P= 0,421
Σελήνιο (mg/ημέρα)	$\rho = 0,008$ P= 0,870	$\rho = 0,010$ P= 0,874	$\rho = 0,008$ P= 0,898

Προκειμένου να διερευνηθεί εκτενέστερα η συσχέτιση της δραστικότητας της GPx3 με την πρόσληψη Ca/1000kcal εξετάστηκε αν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές της δραστικότητας της GPx3 ανά τριτημόριο πρόσληψης Ca/1000kcal. Για το λόγο αυτό έγινε ανάλυση διακύμανσης με διόρθωση Bonferroni για πολλαπλές ανά ζεύγη συγκρίσεις.

Στο σχήμα 4.9.1. παρουσιάζεται η δραστικότητα της GPx3 ανά τριτημόριο πρόσληψης Ca/1000kcal.

Φάνηκε ότι η δραστικότητα της GPx3 είναι στατιστικά σημαντικά μικρότερη στο πρώτο και στο δεύτερο τριτημόριο πρόσληψης Ca/1000 kcal σε σχέση με το τρίτο ($p=0,004$ και $p=0,009$ αντίστοιχα).

Σχήμα 4.9.1.: Δραστικότητα της GPx3 ανά τριτημόριο πρόσληψης Ca/1000kcal



Η θετική συσχέτιση διαιτητικού ασβεστίου και δραστικότητας της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης έχει φανεί και σε άλλες μελέτες. Η μελέτη της Nestares T. σε ποντίκια έδειξε ότι ο εμπλουτισμός της διαίτας τους με ασβέστιο αυξάνει στατιστικά σημαντικά την δραστικότητα της GPx των ερυθροκυττάρων. Παρόμοια ήταν τα ευρήματα και από την μελέτη του Kenar και των συνεργατών του σε ποντίκια στα οποία αυξήθηκε η δραστικότητα της GPx ύστερα από εμπλουτισμό του νερού με ασβέστιο. Η επίδραση αυτή του ασβεστίου πιθανώς βασίζεται σε αλλοστερικούς μηχανισμούς. Πράγματα σε πειραματικές μελέτες φάνηκε ότι η ενεργοποίηση διαφόρων ενζύμων εξαρτάται από την συγκέντρωση του ασβεστίου στον εξωκυττάριο χώρο. Είναι λοιπόν πιθανό ότι τα ένζυμα αποκτούν συγκεκριμένες διαμορφώσεις, ενεργές ή μη,

παρουσία και απουσία ασβεστίου. Οι ερευνητές έδωσαν μία ακόμη πιθανή εξήγηση στη θετική αυτή συσχέτιση του ασβεστίου με την δραστικότητα της GPx3, ότι το ασβέστιο δρα σαν αλλοστερικός τροποποιητής της GPx3, προκαλώντας κάποια αλλαγή στη διαμόρφωση του ενεργού κέντρου του ενζύμου, το οποίο έτσι αποκτά συγγένεια με το υπόστρωμα. [80]

4.10. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΤΗΣ ΔΙΑΙΤΑΣ ΣΕ ΜΑΚΡΟΘΡΕΠΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPx3, ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΒΑΡΟΥΣ ΤΟΥ ΠΑΙΔΙΟΥ

Σε ένα περαιτέρω βήμα διερευνήθηκε η πιθανή επίδραση της σύστασης της δίαιτας σε μακροθρεπτικά συστατικά στην δραστικότητα της GPx3, ανάλογα με την κατηγορία βάρους των παιδιών. Για το λόγο αυτό ο πληθυσμός της μελέτης χωρίστηκε σε ελλειποβαρή/νορμοβαρή και σε υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά. Μελετήθηκε δηλαδή εάν κάποιο από τα μακροθρεπτικά συστατικά που καταναλώνουν τα παιδιά επηρεάζει τη δραστικότητα του ενζύμου της GPx3 σε κάποια από τις δύο κατηγορίες βάρους.

Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και των μακροθρεπτικών συστατικών της δίαιτας στις δύο κατηγορίες βάρους και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.10.1.

Τόσο στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή όσο και στα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση της ενεργειακής πρόσληψης με την δραστικότητα της GPx3. Η δραστικότητα δηλαδή της GPx3 μειώνεται όσο αυξάνεται η ημερήσια ενεργειακή πρόσληψη.

Επίσης η δραστικότητα της GPx3 συσχετίστηκε θετικά με την πρόσληψη λίπους ως % της ενεργειακής πρόσληψης μόνο στα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά.

Τέλος στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή μόνο παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση της πρόσληψης φυτικών ινών με την δραστικότητα της GPx3, με την συσχέτιση αυτή να είναι όμως οριακά στατιστικά σημαντική.

Πίνακας 4.10.1.: Ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και των μακροθρεπτικών συστατικών της δίαιτας, σε ελλειποβαρή/νορμοβαρή και σε υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά.

	Δραστικότητα GPx3	
	Ελλειποβαρή/Νορμοβαρή N=285	Υπέρβαρα/Παχύσαρκα N=199
Ενεργειακή πρόσληψη (kcal/ημέρα)	$\rho = -0,120$ $P = 0,045$	$\rho = -0,165$ $P = 0,022$
Λίπος (% ενεργειακής πρόσληψης)	$\rho = -0,009$ $P = 0,881$	$\rho = 0,169$ $P = 0,019$
MUFA(% ενεργειακής πρόσληψης)	$\rho = -0,029$ $P = 0,626$	$\rho = 0,108$ $P = 0,135$
PUFA(% ενεργειακής πρόσληψης)	$\rho = -0,027$ $P = 0,652$	$\rho = 0,031$ $P = 0,668$
SFA(% ενεργειακής πρόσληψης)	$\rho = 0,053$ $P = 0,372$	$\rho = 0,116$ $P = 0,107$
Υδατάνθρακες (% ενεργειακής πρόσληψης)	$\rho = 0,013$ $P = 0,830$	$\rho = -0,116$ $P = 0,108$
Πρωτεΐνες (% ενεργειακής πρόσληψης)	$\rho = -0,006$ $P = 0,919$	$\rho = -0,54$ $P = 0,452$
Φυτικές ίνες (γρ/ημέρα)	$\rho = -0,108$ $P = 0,072$	$\rho = 0,020$ $P = 0,780$

4.11. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΟΠΩΣ ΕΧΟΥΝ ΠΡΟΚΥΨΕΙ ΑΠΟ ΤΑ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, FFQ, ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPx3, ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΒΑΡΟΥΣ ΤΟΥ ΠΑΙΔΙΟΥ

Στη συνέχεια διερευνήθηκε η πιθανή επίδραση της συχνότητας κατανάλωσης βασικών ομάδων τροφίμων στην δραστικότητα της GPx3 ανάλογα με την κατηγορία βάρους των παιδιών. Μελετήθηκε δηλαδή εάν κάποια ομάδα τροφίμων που καταναλώνουν τα παιδιά επηρεάζει τη δραστικότητα του ενζύμου της GPx3 σε κάποια κατηγορία βάρους. Στην συγκεκριμένη ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η πρόσληψη βασικών ομάδων τροφίμων όπως έχει προκύψει από τα

ερωτηματολόγια συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ) σε μερίδες του τροφίμου την ημέρα.

Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστηριότητας της GPx3 και της πρόσληψης βασικών ομάδων τροφίμων στις δύο κατηγορίες βάρους και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.11.1.

Στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή παιδιά μόνο η κατανάλωση φρούτων συσχετίστηκε αρνητικά με την δραστηριότητα της GPx3, με την συσχέτιση αυτή να είναι στατιστικά σημαντική.

Στα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά μόνο φάνηκε να υπάρχει στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση της δραστηριότητας της GPx3 με την κατανάλωση φρέσκων χυμών και οριακά σημαντική αρνητική συσχέτιση με την κατανάλωση γιαουρτιού.

Η πρόσληψη ανθρακούχων αναψυκτικών συσχετίστηκε αρνητικά με την δραστηριότητα της GPx3 στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή παιδιά.

Τέλος στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή παιδιά μόνο φάνηκε να υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση της δραστηριότητας της GPx3 με την κατανάλωση ψωμιού και στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με την κατανάλωση κέικ.

Πίνακας 4.11.1.: Ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστηριότητας της GPx3 και της συχνότητα κατανάλωσης βασικών ομάδων τροφίμων, όπως έχουν προκύψει από τα FFQ, σε ελλειποβαρή/νορμοβαρή και σε υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά.

Τρόφιμο (μερίδες/ημέρα)	Δραστηριότητα GPx3	
	Ελλειποβαρή/Νορμοβαρή N=285	Υπέρβαρα/Παχύσαρκα N=199
Φρούτα	$\rho = -0,126$ $P = 0,054$	$\rho = -0,053$ $P = 0,512$
Φρέσκοι χυμοί	$\rho = 0,001$ $P = 0,982$	$\rho = -0,176$ $P = 0,029$
Συσκευασμένοι χυμοί	$\rho = -0,096$ $P = 0,140$	$\rho = -0,081$ $P = 0,317$
Ανθρακούχα αναψυκτικά	$\rho = -0,143$ $P = 0,028$	$\rho = -0,143$ $P = 0,077$
Λαχανικά	$\rho = -0,008$ $P = 0,907$	$\rho = -0,032$ $P = 0,694$
Δημητριακά πρωινού	$\rho = -0,086$ $P = 0,190$	$\rho = -0,038$ $P = 0,644$
Ψωμί	$\rho = 0,167$ $P = 0,010$	$\rho = 0,052$ $P = 0,519$
Γάλα	$\rho = -0,055$ $P = 0,398$	$\rho = -0,022$ $P = 0,786$
Σοκολατούχο γάλα	$\rho = -0,018$ $P = 0,787$	$\rho = 0,005$ $P = 0,948$
Γιαούρτι	$\rho = 0,074$ $P = 0,256$	$\rho = -0,146$ $P = 0,070$
Ψάρι	$\rho = 0,000$ $P = 1,000$	$\rho = 0,041$ $P = 0,611$
Κόκκινο κρέας	$\rho = -0,056$ $P = 0,395$	$\rho = -0,122$ $P = 0,132$
Κοτόπουλο	$\rho = 0,061$ $P = 0,352$	$\rho = -0,105$ $P = 0,196$
Σοκολάτα	$\rho = -0,016$ $P = 0,810$	$\rho = -0,094$ $P = 0,248$
Κέικ	$\rho = -0,135$ $P = 0,038$	$\rho = 0,000$ $P = 0,997$
Πατατάκια	$\rho = -0,009$ $P = 0,895$	$\rho = -0,061$ $P = 0,452$
Ζυμαρικά	$\rho = -0,036$ $P = 0,586$	$\rho = -0,115$ $P = 0,154$
Πατάτες	$\rho = -0,018$ $P = 0,777$	$\rho = -0,091$ $P = 0,260$
Πίτσα	$\rho = 0,072$ $P = 0,268$	$\rho = -0,035$ $P = 0,670$
Σουβλάκι	$\rho = -0,061$ $P = 0,351$	$\rho = -0,019$ $P = 0,816$
Φαγητό από fast-food	$\rho = -0,040$ $P = 0,539$	$\rho = -0,082$ $P = 0,310$

4.12. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΟΠΩΣ ΕΧΟΥΝ ΠΡΟΚΥΨΕΙ ΑΠΟ ΤΙΣ ΑΝΑΚΛΗΣΕΙΣ 24ΩΡΟΥ, ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPx3, ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΒΑΡΟΥΣ ΤΟΥ ΠΑΙΔΙΟΥ

Στη συνέχεια διερευνήθηκε η πιθανή επίδραση της κατανάλωσης βασικών τροφίμων στην δραστικότητα της GPx3, ανάλογα με την κατηγορία βάρους του παιδιού. Μελετήθηκε δηλαδή εάν κάποια από τα βασικά τρόφιμα που καταναλώνουν τα παιδιά επηρεάζει τη δραστικότητα του ενζύμου της GPx3 σε κάποια από τις δύο κατηγορίες βάρους. Στην συγκεκριμένη ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η πρόσληψη βασικών τροφίμων όπως έχει προκύψει από τις ανακλήσεις 24ώρου, σε γραμμάρια κατανάλωσης του τροφίμου την ημέρα.

Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και της πρόσληψης βασικών τροφίμων στις δύο κατηγορίες βάρους και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.12.1.

Σκοπός του διαχωρισμού ήταν η ομογενοποίηση του πληθυσμού. Τα ελλειποβαρή και νορμοβαρή παιδιά καθώς προσλαμβάνουν ημερήσια λιγότερες θερμίδες είναι πιθανό να προσλαμβάνουν αντίστοιχα και λιγότερο σελήνιο. Αυτό θα μπορούσε να σημαίνει ότι οι αποθήκες σεληνίου δεν έχουν υποστεί κορεσμό και έτσι είναι πιο εύκολα να αποκαλυφθούν πιθανές συσχετίσεις μεταξύ της δραστικότητας του ενζύμου και διαφόρων διατροφικών παραγόντων. Από την άλλη απομονώνοντας τα υπέρβαρα και παχύσαρκα παιδιά αποκλείονται και πιθανοί μεταβολικοί παράγοντες οι οποίοι συνοδεύουν την παχυσαρκία και ενδεχομένως επηρεάζουν την δραστικότητα του ενζύμου και έτσι διαφαίνεται πιο εύκολα η επίδραση της δίαιτας.

Σε συμφωνία με την παραπάνω παραδοχή στα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά κανένα από τα τρόφιμα της ανάλυσης δεν φάνηκε να επηρεάζει στατιστικά σημαντικά την δραστικότητα της GPx3.

Στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή παιδιά από την άλλη η κατανάλωση αλλαντικών, ψωμιού σικάλεως και τυριού συσχετίστηκε θετικά με την δραστικότητα της GPx3 με την συσχέτιση να είναι στατιστικά σημαντική. Θετική αλλά οριακά σημαντική συσχέτιση φάνηκε να υπάρχει και με την κατανάλωση λαχανικών.

Τέλος, στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή παιδιά μόνο η αύξηση της κατανάλωσης δημητριακών πρωινού ολικής αλέσεως και τηγανιτού αυγού μειώνει στατιστικά σημαντικά την δραστικότητα της GPx3.

Πίνακας 4.12.1.: Ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστηρότητας της GPx3 και της συχνότητα κατανάλωσης βασικών τροφίμων, όπως έχουν προκύψει από τις ανακλήσεις 24ώρου, σε ελλειποβαρή/νορμοβαρή και σε υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά.

Τρόφιμο (γραμμάρια/ ημέρα)	Δραστηρότητα GPx3	
	Ελλειποβαρή/Νορμοβαρή N=285	Υπέρβαρα/Παχύσαρκα N=199
Αλλαντικά	$\rho = 0,129$ P= 0,041	$\rho = -0,060$ P= 0,424
Καφές	-	$\rho = -0,032$ P= 0,667
Τσάι	$\rho = -0,057$ P= 0,369	$\rho = 0,010$ P= 0,895
Ψωμί σικάλεως	$\rho = 0,235$ P= <0,001	$\rho = 0,022$ P= 0,772
Ψωμί ολικής αλέσεως	$\rho = -0,038$ P= 0,552	$\rho = -0,043$ P= 0,571
Δημητριακά πρωινού με ζάχαρη	$\rho = -0,016$ P= 0,802	$\rho = 0,018$ P= 0,807
Δημητριακά πρωινού ολικής αλέσεως	$\rho = -0,156$ P= 0,013	$\rho = -0,006$ P= 0,937
Τυρί	$\rho = 0,217$ P= 0,001	$\rho = -0,041$ P= 0,583
Σοκολάτα	$\rho = 0,076$ P= 0,230	$\rho = 0,033$ P= 0,658
Γάλα	$\rho = -0,063$ P= 0,318	$\rho = -0,053$ P= 0,484
Γιαούρτι	-	$\rho = 0,027$ P= 0,722
Αυγό	$\rho = -0,029$ P= 0,649	$\rho = 0,025$ P= 0,737
Τηγανιτό αυγό	$\rho = -0,121$ P= 0,056	$\rho = -0,030$ P= 0,688
Βούτυρο	$\rho = -0,062$ P= 0,328	$\rho = 0,100$ P= 0,183
Μαγιονέζα	$\rho = 0,040$ P= 0,534	-
Μαργαρίνη	$\rho = 0,065$ P= 0,303	$\rho = -0,034$ P= 0,652
Ελαιόλαδο	-	$\rho = -0,061$ P= 0,414
Ψάρι	-	$\rho = -0,119$ P= 0,114
Φρούτα	$\rho = 0,087$ P= 0,171	$\rho = -0,003$ P= 0,968
Ξηροί καρποί	$\rho = 0,055$ P= 0,383	$\rho = 0,007$ P= 0,928
Ζυμαρικά	$\rho = -0,048$ P= 0,446	-
Πίτσα	$\rho = -0,025$ P= 0,698	$\rho = 0,058$ P= 0,441
Ψητή πατάτα	-	$\rho = 0,058$ P= 0,442
Πουλερικά	-	$\rho = 0,058$ P= 0,442
Ρύζι	-	$\rho = 0,058$ P= 0,440
Αλμυρά σνακ	-	$\rho = -0,012$ P= 0,873

Ανθρακούχα αναψυκτικά	-	$\rho = -0,001$ $P = 0,991$
Σουβλάκι	$\rho = 0,028$ $P = 0,662$	$\rho = -0,111$ $P = 0,140$
Γλυκά	$\rho = 0,040$ $P = 0,534$	$\rho = -0,036$ $P = 0,632$
Λαχανικά	$\rho = 0,114$ $P = 0,071$	$\rho = 0,066$ $P = 0,383$
Νερό	$\rho = -0,021$ $P = 0,745$	$\rho = 0,016$ $P = 0,835$

Η αρνητική συσχέτιση της ενεργειακής πρόσληψης με την δραστικότητα της GPx3 διατηρείται τόσο στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή όσο και στα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά. Επιπλέον φανερώνεται μία αρνητική συσχέτιση με την % πρόσληψη λίπους στα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά μόνο. Στη μελέτη του Codoñer-Franch P. και των συνεργατών του 15 παιδιά ακολούθησαν για 6 μήνες δίαιτα με μειωμένη πρόσληψη λίπους. Μετά το πέρας των 6 μηνών η δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη, ενώ η μεγαλύτερη αύξηση σημειώθηκε στην δραστικότητα της GPx των ερυθροκυττάρων. [79] Αντίθετα ο Fébel H. και οι συνεργάτες του σε έρευνα σε κοτόπουλα στα οποία χορηγήθηκε δίαιτα ενισχυμένη σε λιπαρά οξέα δεν παρατήρησαν κάποια επίδραση στην δραστικότητα της GPx του πλάσματος. [81]

4.13. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΜΙΚΡΟΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPx3, ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΒΑΡΟΥΣ ΤΟΥ ΠΑΙΔΙΟΥ

Τέλος, ερευνήθηκε η πιθανή επίδραση της διατροφικής πρόσληψης μικροθρεπτικών συστατικών στην δραστικότητα της GPx3 ανάλογα με την κατηγορία βάρους. Μελετήθηκε δηλαδή εάν κάποιο από τα μικροθρεπτικά συστατικά που προσλαμβάνουν τα παιδιά μέσω της διατροφής επηρεάζει τη δραστικότητα του ενζύμου της GPx3 σε κάποια από τις δύο κατηγορίες βάρους.

Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και των μικροθρεπτικών συστατικών της δίαιτας στις δύο κατηγορίες βάρους και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 4.13.1.

Στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή παιδιά αύξηση στην πρόσληψη trans λιπαρών οξέων αυξάνει στατιστικά σημαντικά την δραστικότητα της GPx3, ενώ η αύξηση στην πρόσληψη μαγνησίου την μειώνει στατιστικά σημαντικά.

Τόσο στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή όσο και στα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά φάνηκε ότι αύξηση στην πρόσληψη Ca/1000kcal αυξάνει στατιστικά σημαντικά την δραστικότητα της GPx3.

Πίνακας 4.13.1.: Ανάλυση μερικών συσχετίσεων μεταξύ της δραστικότητας της GPx3 και της διατροφικής πρόσληψης μικροθρεπτικών συστατικών, σε ελλειποβαρή/νορμοβαρή και σε υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά.

Δραστικότητα GPx3		
	Ελλειποβαρή/Νορμοβαρή N=285	Υπέρβαρα/Παχύσαρκα N=199
Χοληστερόλη (mg/ημέρα)	$\rho = -0,104$ P= 0,082	$\rho = -0,006$ P= 0,937
Σίδηρος (mg/ημέρα)	$\rho = -0,044$ P= 0,469	$\rho = -0,039$ P= 0,589
Ασβέστιο (mg/ημέρα)	$\rho = 0,054$ P= 0,368	$\rho = 0,037$ P= 0,614
Βιταμίνη C (mg/ημέρα)	$\rho = -0,036$ P= 0,553	$\rho = -0,026$ P= 0,724
Φυλλικό οξύ (μg/ημέρα)	$\rho = -0,047$ P= 0,431	$\rho = -0,068$ P= 0,350
Trans λιπαρά οξέα (gr/ημέρα)	$\rho = 0,146$ P= 0,015	$\rho = 0,056$ P= 0,443
Σίδηρος/1000 kcal (mg/1000kcal)	$\rho = 0,027$ P= 0,654	$\rho = 0,044$ P= 0,549
Ασβέστιο/1000 kcal (mg/1000kcal)	$\rho = 0,181$ P= 0,002	$\rho = 0,144$ P= 0,047
Βιταμίνη C/1000 kcal (mg/1000kcal)	$\rho = 0,007$ P= 0,912	$\rho = 0,003$ P= 0,970
Μαγνήσιο (mg/ημέρα)	$\rho = -0,112$ P= 0,063	$\rho = -0,022$ P= 0,767
Κάλιο (mg/ημέρα)	$\rho = -0,071$ P= 0,237	$\rho = -0,115$ P= 0,113
Νάτριο (mg/ημέρα)	$\rho = -0,005$ P= 0,936	$\rho = 0,001$ P= 0,994
Βιταμίνη D (IU/ημέρα)	$\rho = -0,043$ P= 0,475	$\rho = -0,063$ P= 0,391
Σελήνιο (mg/ημέρα)	$\rho = 0,051$ P= 0,395	$\rho = -0,082$ P= 0,258

Η θετική συσχέτιση της δραστικότητας της GPx3 με την πρόσληψη **ασβεστίου** παραμένει ισχυρή τόσο στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή όσο και στα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά γεγονός που δείχνει τη σημασία και ισχύ της.

Επιπλέον εμφανίζεται μία θετική συσχέτιση με την πρόσληψη **trans** λιπαρών οξέων στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή παιδιά μόνο. Ωστόσο δεν υπάρχει αντίστοιχη βιβλιογραφία που να

επιβεβαιώνει ή μη το παρόν εύρημα. Είναι πιθανό τα trans λιπαρά οξέα να ενεργοποιούν την δημιουργία ελευθέρων ριζών και επομένως να επάγουν την αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού.

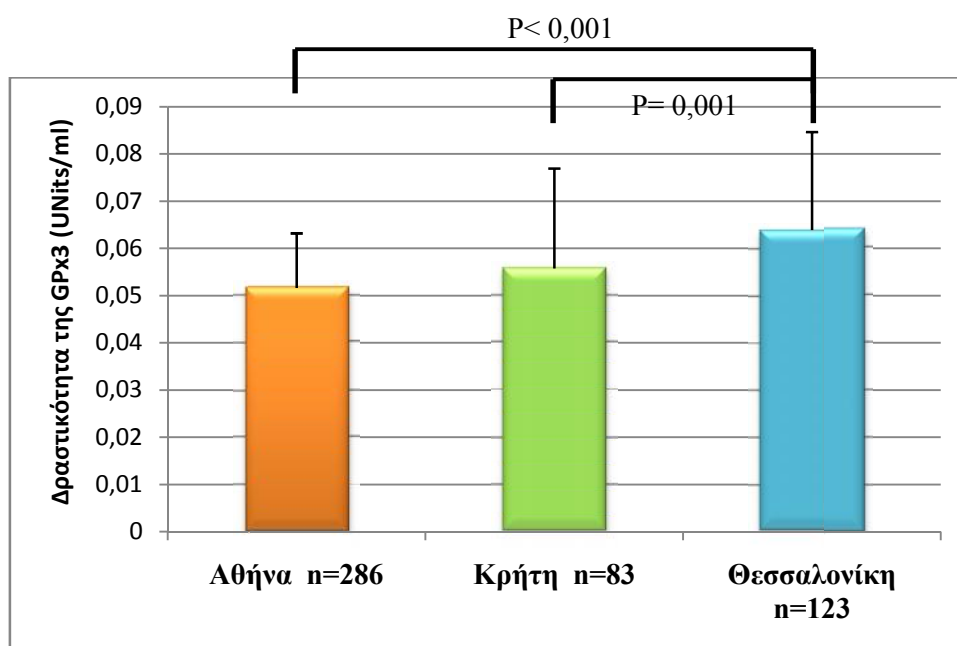
Αρνητική συσχέτιση εμφανίζεται και με την πρόσληψη **μαγνησίου**. Αντίθετα ο Martin H. και οι συνεργάτες του σε μία έρευνα σε ποντίκια παρατήρησαν μείωση στην δραστικότητα της GPx ύστερα από μείωση του μαγνησίου στη δίαιτα των ποντικών. [82]

4.14. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΣΤΗΝ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ GPx3

Σε ένα επόμενο βήμα , ερευνήθηκε η πιθανή επίδραση της γεωγραφικής κατανομής στην δραστικότητα της GPx3. Μελετήθηκε δηλαδή εάν η δραστικότητα του ενζύμου της GPx3 διαφοροποιείται ανάλογα με την περιοχή από την οποία κατάγεται το κάθε παιδί. Για το λόγο αυτό έγινε ανάλυση διακύμανσης με διόρθωση Bonferroni για πολλαπλές ανά ζεύγη συγκρίσεις και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο διάγραμμα 4.14.1.

Φάνηκε ότι η δραστικότητα της GPx3 στα παιδιά από την Θεσσαλονίκη είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή των παιδιών τόσο στην Αθήνα όσο και στην Κρήτη ($p<0,001$ και $p=0,001$ αντίστοιχα). Επίσης η δραστικότητα της GPx3 στα παιδιά από την Κρήτη είναι μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή των παιδιών από την Αθήνα με την διαφορά αυτή ωστόσο να μην είναι στατιστικά σημαντική.

Σχήμα 4.14.1: Δραστικότητα της GPx3 ανά πόλη καταγωγής του παιδιού



Προκειμένου να διερευνηθεί η συσχέτιση της δραστηριότητας της GPx3 με την γεωγραφική κατανομή πραγματοποιήθηκαν περαιτέρω αναλύσεις. Στους πίνακες 4.14.1-3 παρουσιάζονται τα μακροθρεπτικά συστατικά της δίαιτας, οι προσλήψεις βασικών ομάδων τροφίμων (όπως έχουν προκύψει από το FFQ) και οι προσλήψεις μικροθρεπτικών συστατικών αντίστοιχα των παιδιών από τη Θεσσαλονίκη και των παιδιών από Αθήνα/Κρήτη ξεχωριστά, ενώ πραγματοποιήθηκε και έλεγχος για τυχόν διαφορές.

Η ενεργειακή πρόσληψη των παιδιών στη Θεσσαλονίκη είναι μικρότερη από αυτή που έχουν τα παιδιά στην Αθήνα και Κρήτη, με την διαφορά αυτή να είναι οριακά σημαντική στατιστικά. Η μικρότερη αυτή θερμιδική πρόσληψη δικαιολογεί την αυξημένη δραστηριότητα GPx3 που έχουν τα παιδιά αυτά δεδομένης της αρνητικής συσχέτισης που φάνηκε παραπάνω ανάμεσα στην δραστηριότητα της GPx3 και την ενεργειακή πρόσληψη.

Επιπλέον φάνηκε ότι τα παιδιά στη Θεσσαλονίκη έχουν στατιστικά σημαντική μικρότερη πρόσληψη μονοακόρεστων λιπαρών οξέων και πρωτεΐνης.

Επιπλέον τα παιδιά από τη Θεσσαλονίκη καταναλώνουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη ποσότητα ψωμιού σε σχέση με τα παιδιά από την Αθήνα και Κρήτη, ένα τρόφιμο που φάνηκε να συσχετίζεται θετικά με την δραστηριότητα της GPx3.

Τέλος τα παιδιά από τη Θεσσαλονίκη προσλαμβάνουν στατιστικά σημαντικά λιγότερο μαγνήσιο σε σχέση με τα παιδιά από την Αθήνα και Κρήτη, ένα μικροθρεπτικό συστατικό που φάνηκε να συσχετίζεται αρνητικά με την δραστηριότητα της GPx3 στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή παιδιά.

Όλοι αυτοί οι παράγοντες που διαφέρουν σημαντικά στις δύο ομάδες είναι πιθανώς και εκείνοι που ευθύνονται για την μεγαλύτερη δραστηριότητα της GPx3 που εμφανίζεται στα παιδιά από Θεσσαλονίκη.

Πίνακας 4.14.1.: Μακροθρεπτικά συστατικά της διαίτας στα παιδιά από Θεσσαλονίκη και Αθήνα/Κρήτη ξεχωριστά

Πόλη καταγωγής	Αθήνα/Κρήτη	Θεσσαλονίκη	p (p-value)
N	365	122	
Ενεργειακή πρόσληψη (kcal)	1869,6 ± 537,1	1767,8 ± 520,1	0,068
Λίπος (% ενεργειακής πρόσληψης)	41,61 ± 7,56	40,9 ± 5,8	0,366
MUFA(% ενεργειακής πρόσληψης)	19,4 ± 5,3	18,2 ± 4,38	0,025
PUFA(% ενεργειακής πρόσληψης)	5,1 ± 3,7	5,07 ± 2,84	0,823
SFA(% ενεργειακής πρόσληψης)	14,7 ± 3,4	15,2 ± 3,29	0,199
Υδατάνθρακες (% ενεργειακής πρόσληψης)	45,09 ± 8,42	47,05 ± 7,37	0,022
Πρωτεΐνες (% ενεργειακής πρόσληψης)	15,41 ± 3,3	14,3 ± 3,08	0,002

Πίνακας 4.14.2.: Κατανάλωση βασικών ομάδων τροφίμων, όπως έχουν προκύψει από τα FFQ, στα παιδιά από Θεσσαλονίκη και Αθήνα/Κρήτη ξεχωριστά

Πόλη καταγωγής	Αθήνα/Κρήτη	Θεσσαλονίκη	p (p-value)
N	365	122	
Φρούτα	0,99 ± 0,93	1,05 ± 0,89	0,57
Φρέσκοι χυμοί	0,58 ± 0,61	0,52 ± 0,54	0,355
Συσκευασμένοι χυμοί	0,59 ± 0,75	0,62 ± 0,71	0,745
Ανθρακούχα αναψυκτικά	0,25 ± 0,5	0,16 ± 0,25	0,089
Λαχανικά	0,56 ± 0, ,62	0, ,6 ± 0, ,57	0,59
Δημητριακά πρωινού	0,64 ± 0,67	0,63 ± 0,62	0,936
Ψωμί	1,8 ± 1,09	2,1 ± 1,2	0,011
Γάλα	1,29 ± 1,01	1,34 ± 0,89	0,691
Σοκολατούχο γάλα	0,24 ± 0,45	0,17 ± 0,40	0,202
Γιαούρτι	0,25 ± 0,31	0,24 ± 0,33	0,769
Ψάρι	0,17 ± 0,23	0,18 ± 0,27	0,627
Κόκκινο κρέας	0,33 ± 0,20	0,29 ± 0,19	0,120
Κοτόπουλο	0,21 ± 0,16	0,19 ± 0,12	0,142
Σοκολάτα	0,49 ± 0,55	0,50 ± 0,43	0,87
Κέικ	0,33 ± 0,50	0,25 ± 0,25	0,144
Πατατάκια	0,14 ± 0,28	0,13 ± 0,18	0,601
Ζυμαρικά	0,28 ± 0,30	0,24 ± 0,39	0,365
Πατάτες	0,208 ± 0,285	0,169 ± 0,161	0,198
Πίτσα	0,06 ± 0,05	0,05 ± 0,03	0,069
Σουβλάκι	0,08 ± 0,06	0,05 ± 0,035	<0,001
Φαγητό από fast-food	0,04 ± 0,03	0,046 ± 0,041	0,330

Πίνακας 4.14.3.: Διατροφική πρόσληψη μικροθρεπτικών συστατικών στα παιδιά από Θεσσαλονίκη και Αθήνα/Κρήτη ξεχωριστά

Πόλη καταγωγής	Αθήνα/Κρήτη	Θεσσαλονίκη	p (p-value)
N	365	122	
Χοληστερόλη (mg/ημέρα)	240,88 ± 122,25	220,57 ± 97,33	0,096
Σίδηρος (mg/ημέρα)	10,92 ± 5,19	9,36 ± 4,01	0,003
Ασβέστιο (mg/ημέρα)	1045,89 ± 421,04	1058,16 ± 463,66	0,786
Βιταμίνη C (mg/ημέρα)	102,17 ± 84,35	82,18 ± 60,09	0,016
Φυλλικό οξύ (μg/ημέρα)	237,53 ± 133,83	193,55 ± 92,31	0,001
Trans λιπαρά οξέα (g/ημέρα)	0,25 ± 0,09	0,26 ± 0,11	0,183
Σίδηρος/1000 kcal (mg/1000kcal)	5,85 ± 2,4	5,39 ± 2,16	0,067
Ασβέστιο/1000 kcal (mg/1000kcal)	566,34 ± 191,42	598,69 ± 203,03	0,112
Βιταμίνη C/1000 kcal (mg/1000kcal)	55,62 ± 44,47	47,72 ± 35,79	0,076
Μαγνήσιο (mg/ημέρα)	233,64 ± 88,18	202,85 ± 61,62	<0,001
Κάλιο (mg/ημέρα)	2403,41 ± 846,13	2175,2 ± 666,86	0,007
Νάτριο (mg/ημέρα)	1661,67 ± 736,69	1846,77 ± 848,02	0,021
Βιταμίνη D (IU/ημέρα)	59,51 ± 49,76	52,54 ± 44,23	0,169
Σελήνιο (mg/ημέρα)	0,385 ± 1,49	0,276 ± 0,99	0,453

5. ΤΕΛΙΚΗ ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η σημασία του σεληνίου στην διατροφή του ανθρώπου είναι πλέον γνωστή. Όντας συστατικό του ενζύμου υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, το σελήνιο καταλύει την καταστροφή των υπεροξειδίων τα οποία παράγονται κατά τον οξειδωτικό μεταβολισμό στα κύτταρα. Το διαιτητικό σελήνιο είναι απαραίτητο για την διατήρηση της άμυνας ενάντια στα υπεροξείδια των λιπιδίων και στις ελεύθερες ρίζες που καταστρέφουν τις κυτταρικές μεμβράνες. [83]

Επιπλέον πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι τα χαμηλά επίπεδα σεληνίου συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για έναν αριθμό ασθενειών. Για το λόγο αυτό, ο προσδιορισμός του σεληνίου του ορού σε συγκεκριμένες ομάδες του πληθυσμού μπορεί να συμβάλει στην διατροφική τους αξιολόγηση καθώς και στην αξιολόγηση της κατάστασης της υγείας τους.

Μέχρι σήμερα υπάρχει πολύ περιορισμένος αριθμός μελετών που έχουν προσδιορίσει σελήνιο στον ελληνικό πληθυσμό. Επιπλέον, οι μελέτες αυτές είτε έχουν επικεντρωθεί σε συγκεκριμένες πληθυσμιακές ομάδες ή έχουν μικρό αριθμό συμμετεχόντων, ενώ καμία από αυτές δεν έχει γίνει σε πληθυσμό παιδιών σχολικής ηλικίας. Επιπλέον, σε πολλές από αυτές τις μελέτες δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα σε σχέση με τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, τις διατροφικές συνήθειες καθώς και βιοχημικούς παράγοντες που είναι πιθανό να επηρεάζουν την κατάσταση του σεληνίου. Γενικά στον ελληνικό πληθυσμό έχει φανεί ότι τα επίπεδα σεληνίου στον ορό είναι χαμηλότερα από αυτά που συστήνονται για την επίτευξη βέλτιστης υγείας. [84]

Η Ashton K. Και οι συνεργάτες μελέτησαν διάφορους δείκτες που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της κατάστασης του σεληνίου στον οργανισμό. Μελετώντας λοιπόν δεδομένα από 18 μελέτες στις οποίες χορηγήθηκαν συμπληρώματα σεληνίου φάνηκε ότι τα σελήνιο πλάσματος, το σελήνιο των ερυθροκυττάρων, το σελήνιο ολικού αίματος, η σελινοπρωτεΐνη P του πλάσματος και η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης στο πλάσμα, στα αιμοπετάλια και στο ολικό αίμα ανταποκρίθηκαν στις μεταβολές της πρόσληψης σεληνίου. Συγκεκριμένα, ύστερα από την μετα-ανάλυση των μελετών που είχαν χρησιμοποιήσει την δραστηριότητα της GPx3 στο πλάσμα ως δείκτη της κατάστασης σεληνίου, οι ερευνητές οδηγήθηκαν στο συμπέρασμα ότι ο δείκτης αυτός είναι χρήσιμος για την κατάσταση του σεληνίου αλλά απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να αποσαφηνίσει σε ποιες ομάδες και υπό ποιες συνθήκες γίνεται περισσότερο αξιόπιστος και μπορεί να προβλέψει σωστά την κατάσταση και τις μεταβολές του σεληνίου στον οργανισμό. [85]

Θεωρώντας λοιπόν ότι η μέτρηση της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης του πλάσματος αποτελεί έναν αξιόπιστο δείκτη της κατάστασης σεληνίου στο πλάσμα, η παρούσα μελέτη είχε ως σκοπό να διερευνήσει την επίδραση των διατροφικών παραγόντων στην δραστηριότητα της GPx3 σε παιδιά σχολικής ηλικίας (10-12 ετών). Μέχρι σήμερα δεν έχουν γίνει αντίστοιχες μελέτες σε φυσιολογικό πληθυσμό σχολικής ηλικίας. Οι περισσότερες μελέτες έχουν εστιάσει και έχουν μετρήσει την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης σε μη φυσιολογικό πληθυσμό και/ή έχουν μετρήσει το ένζυμο στον ορό ή στα ερυθροκύτταρα και όχι στο πλάσμα. [87-90]

Η παρούσα μελέτη λοιπόν μελέτησε την επίδραση διαφόρων διατροφικών παραγόντων στα επίπεδα του σεληνίου, τα οποία αξιολογήθηκαν έμμεσα μέσω της μέτρησης της δραστηριότητας της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης. Η δραστηριότητα της GPx3 στον πληθυσμό της μελέτης ήταν $0,055 \pm 0,016$ Units/ml (55 ± 16 nmol/min/ml) και δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα. Από τα κυριότερα ευρήματα της έρευνας ήταν ότι με την αύξηση του σταδίου ωρίμανσης παρατηρήθηκε μείωση της δραστηριότητας της GPx3, τόσο στα αγόρια όσο και στα κορίτσια καθώς επίσης και η αρνητική συσχέτιση της δραστηριότητας της GPx3 με την ενεργειακή πρόσληψη. Αναφορικά με την επίδραση της πρόσληψης ομάδων τροφίμων στην δραστηριότητα της GPx3 σημαντική ήταν η αρνητική συσχέτιση με τα φρούτα και τα ανθρακούχα αναψυκτικά και η θετική συσχέτιση με το ψωμί. Επίσης βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ του γλυκαιμικού φορτίου και της δραστηριότητας της GPx3. Αναφορικά με την επίδραση των μικροθρεπτικών συστατικών στην δραστηριότητα της GPx3 η πιο σημαντική συσχέτιση που βρέθηκε είναι η θετική συσχέτιση με την πρόσληψη Ca/1000kcal. Σημαντικό είναι και το ότι δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της υπολογιζόμενης διατροφικής πρόσληψης σεληνίου με την δραστηριότητα της GPx3. Όταν στη συνέχεια τα παιδιά κατηγοριοποιήθηκαν σε ελλειποβαρή/νορμοβαρή και σε υπέρβαρα/παχύσαρκα παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση της πρόσληψης του λίπους με την δραστηριότητα της GPx3 μόνο στα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά. Στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή παιδιά παραμένει η αρνητική συσχέτιση με τα φρούτα, η αρνητική συσχέτιση με τα ανθρακούχα αναψυκτικά διατηρείται και στις δύο κατηγορίες βάρους, ενώ εμφανίζεται θετική συσχέτιση με την πρόσληψη φρέσκων χυμών μόνο στα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά. Η θετική συσχέτιση με το ψωμί διατηρείται μόνο στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή παιδιά, ενώ η αρνητική συσχέτιση με την πρόσληψη Ca/1000kcal διατηρείται και στα ελλειποβαρή/νορμοβαρή και στα υπέρβαρα/παχύσαρκα παιδιά. Τέλος τα παιδιά χωρίστηκαν σε δύο ομάδες με βάση την πόλη καταγωγής τους, σε παιδιά από την Θεσσαλονίκη και παιδιά από Αθήνα και Κρήτη μαζί. Τα παιδιά από την πόλη της Θεσσαλονίκης βρέθηκε να έχουν σημαντικά υψηλότερη δραστηριότητα GPx3, ενώ σε συμφωνία πολλά από τα

ευρήματα της παρούσας μελέτης τα παιδιά αυτά προσλάμβαναν μικρότερη ενέργεια και κατανάλωναν μεγαλύτερη ποσότητα ψωμιού σε σχέση με τα παιδιά από την Αθήνα και Κρήτη.

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη λοιπόν ανέδειξε μερικές καινούργιες συσχετίσεις της δραστηριότητας της GPx3 με διατροφικούς παράγοντες. Κάποιες από αυτές τις συσχετίσεις είναι πιθανόν να οφείλονται στην επίδραση αυτών των παραγόντων στα επίπεδα σεληνίου ενώ κάποιες άλλες στην έμμεση επίδραση τους στη δραστηριότητα του ενζύμου με μηχανισμούς που δεν έχουν διευκρινιστεί. Η πιο σημαντική ίσως από αυτές ήταν η θετική συσχέτιση του προσλαμβανόμενου ασβεστίου με την GPX-3 γεγονός που ίσως να φανερώνει ένα νέο βιολογικό ρόλο του διαιτητικού ασβεστίου στο οξειδωτικό στρες. Παράλληλα, η μελέτη αυτή ανέδειξε το ψωμί ως ένα βασικό διατροφικό παράγοντα που επηρεάζει τα επίπεδα GPX-3 αφού και πλούσια πηγή σεληνίου είναι και η πρόσληψη του είναι σημαντική από τα παιδιά. Επίσης, τρόφιμα που χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα (ανθρακούχα αναψυκτικά, φρούτα, δημητριακά πρωινού) έχουν αρνητική συσχέτιση με τη GPX-3 και αυτή τους η δράση πιθανόν να αναδεικνύει άλλη μία βλαβερή επίδραση της αυξημένης πρόσληψης σακχάρων μέσω εξασθένησης των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Τέλος, στη μελέτη αυτή αποδεικνύεται για άλλη μία φορά πως ανεξαρτήτως της ποιότητας της δίαιτας ο περιορισμός ενεργειακής πρόσληψης έχει ισχυρή επίδραση στους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς και μέσω της αύξησης της GPX-3.

Ένας περιορισμός της παρούσας μελέτης είναι ότι η επίδραση των διατροφικών παραγόντων στην κατάσταση σεληνίου των παιδιών έγινε έμμεσα μετρώντας την δραστηριότητα της GPx3 και όχι την συγκέντρωση του σεληνίου. Η μέτρηση αυτή δεν ήταν δυνατό να γίνει στην παρούσα μελέτη λόγω του μεγάλου δείγματος και της μεγάλης οικονομικής δαπάνης που θα απαιτούνταν για την συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία μέτρησης σεληνίου σε δείγματα αίματος. Ένας ακόμη περιορισμός αποτελεί και το γεγονός ότι η δραστηριότητα μετρήθηκε στην υπεροξειδάση της γλουταθειόνης του πλάσματος και όχι των ερυθροκυττάρων που αποτελεί έναν ακόμη πιο αξιόπιστο δείκτη. Αυτό όμως δεν θα μπορούσε να γίνει στην παρούσα μελέτη καθώς δεν είχα ν απομονωθεί ερυθροκύτταρα στα δείγματα αίματος των παιδιών. Επιπρόσθετα, η παρούσα μελέτη όντας μία συγχρονική μελέτη παρ' όλες τις συσχετίσεις που μπορεί να αποκαλύψει δεν μπορεί να εξηγήσει τους μηχανισμούς δράσης των διαφόρων αυτών συσχετίσεων. Τέλος, σε κάθε περίπτωση θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι τα διατροφικά στοιχεία είναι αυτοδηλούμενα και επομένως πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και η πιθανότητα υποκαταγραφής ή και απόκρυψης της κατανάλωσης κάποιων τροφίμων, ειδικά όταν πρόκειται για πληθυσμό παιδιών.

Σε ένα επόμενο λοιπόν βήμα θα ήταν πολύ σημαντικό να μετρηθεί η συγκέντρωση του σεληνίου στο αίμα προκειμένου να συσχετιστεί απευθείας η επίδραση των διατροφικών παραγόντων στα επίπεδά του. Πολύ ενδιαφέρον θα ήταν επίσης να πραγματοποιηθεί μία ολιστική προσέγγιση με ανάλυση κύριων συνιστωσών προκειμένου να γίνει συσχέτιση των επιπέδων σεληνίου με διατροφικά πρότυπα πλέον και όχι με μεμονωμένα τρόφιμα ή θρεπτικά συστατικά. Ο λόγος για την ανάγκη αυτή είναι ότι η διατροφή του ανθρώπου αποτελείται από ένα πολύ σύνθετο σύνολο τροφίμων, μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών τα οποία αλληλεπιδρούν μεταξύ τους επηρεάζοντας κατά πολύ την τελική επίδρασή τους σε κάποιον παράγοντας όπως είναι η συγκέντρωση του σεληνίου και η δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Flohé L., Selenium, the element of the moon, in life on earth., IUBMB Life. 2000 May 49(5):411-20
2. Schwartz K. and Foltz CM. Selenium an integral part of Factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. J Am Chem Soc 1957;79: 3292.
3. Turner DC and Stadman TC. Selenium a requirement for glycine reductase activity in *Clostridium sticklandii*, Arch Biochem Biophys 1973;154: 366–81.
4. Cone JE., Proc Chemical characterization of the selenoprotein component of clostridial glycine reductase: identification of selenocysteine as the organoselenium moiety., Natl Acad Sci U S A. 1976 Aug;73(8):2659-63.
5. Forstrom JW., Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocysteine, Biochemistry. 1978 Jun 27; 17(13):2639-44.
6. Gromer S. Human selenoproteins at a glance. Review. CMLS, Cell. Mol. Life Sci.2005
7. Yang GQ., The role of selenium in Keshan disease. Adv Nutr Res 1984, 6:203-31.
8. Alissa E. The controversy surrounding selenium and cardiovascular disease a review of the evidence. Med Sci Monit, 2003; 9(1) RA9-18
9. Behne D, Kyriakopoulos A. Mammalian selenium-containing proteins. Annu Rev Nutr 2001, 21:453-73
10. Castellano S, Lobanov AV, Chapple C, Novoselov SV, Albrecht M, Hua D, Lescure A, Lengauer T, Krol A, Gladyshev VN, Guigó R. Diversity and functional plasticity of eukaryotic selenoproteins: identification and characterization of the SelJ family. Proc Natl Acad Sci USA. 2005, 102:16188-93.
11. Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, Lobanov AV, Zehtab O, Guigó R, Gladyshev VN. Characterization of mammalian selenoproteomes. Science. 2003, 300; 1439-43.
12. Beckett GJ. Selenium and endocrine systems. J Endocrinol 2005, 184:45-65
13. Hardy G. Selenium The Se-XY Nutraceutical. Nutrition 20.590–593, 2004
14. Papp LV. From selenium to selenoproteins synthesis, identity, and their role in human health. Antioxid Redox Signal 2007, 9:775-06.
15. Behne D, Kyriakopoulos A, Meinhold H, Kohrle J. Identification of type I iodothyronine 5'-deiodinase as a selenoenzyme. Biochem Biophys Res Commun 1990, 173:1143-9.
16. Tapiero H. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. Biomed Pharmacother. 2003, 57:34-44.
17. Arnér ES, Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. Eur J Biochem. 2000, 267:6102-9.

18. Whitin JC., Bhamre S., Tham DM., and Cohen HJ. Extracellular glutathione peroxidase is secreted basolaterally by human renal proximal tubule cells *Am J Physiol* 2002, 283:20–8.
19. Avissar N., Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. *Am J Physiol* 1994, 266:367–75.
20. Maser RL, Magenheimer BS, and Calvet JP. Mouse plasma glutathione peroxidase. cDNA sequence analysis and renal proximal tubular expression and secretion *J Biol Chem* 1994, 269: 27066-73.
21. Moschos MP. Selenoprotein P. *Cell Mol. Life Sci.* 2000, 57.1836-45
22. Rayman MP., Selenoproteins and human health: insights from epidemiological data., *Biochim Biophys Acta*. 2009 Nov;1790(11):1533-40. Epub 2009 Mar 25.
23. Mills GC. Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J Biol Chem* 1957, 229:189-97.
24. Arthur JR. The glutathione peroxidases. *Cell Mol Life Sci* 2000, 57.1825–35
25. Yamamoto Y., Nagata Y., Plasma glutathione peroxidase reduces phosphatidylcholine hydroperoxide. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 193: 133–138, 1993
26. Bjornstedt M., The thioredoxin and glutaredoxin systems are efficient electron donors to human peroxidase. *J. Biol. Chem.* 269: 29382–29384, 1994
27. Whitin JC., Plasma glutathione peroxidase and its relationship to renal proximal tubule function. *Mol. Genet. Metab.* 65: 238–245, 1998
28. Rayman MP. Food-chain selenium and human health emphasis on intake. *Br J Nutr* 2008, 100.254-68
29. Combs GF. Selenium in global food systems. *Br J Nutr* 2001, 85.517-47
30. Fordyce F. *Ambio*, Selenium geochemistry and health. 2007 Feb; 36(1):94-7. Review.
31. Ellis D., Salt D. Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology* 2003, 6.273–279
32. Rayman MP. The importance of selenium to human health. *Lancet* 2000, 356.233-41. Review
33. Pappa EC, Pappas AC, Surai PF. Selenium content in selected foods from the Greek market and estimation of the daily intake. *Sci Total Environ.* 2006, 372.100-8.
34. Bratakos MS, Ioannou PV. Selenium in human milk and dietary selenium intake by Greeks. *Sci Total Environ.* 1991 Jun;105:101-7.
35. Duffield AJ, Thomson CD, Hill KE, Williams S. An estimation of selenium requirements for New Zealanders. *Am J Clin Nutr.* 1999, 70:896-903.

36. Brown KM, Pickard K, Nicol F, Beckett GJ, Duthie GG, Arthur JR. Effects of organic and inorganic selenium supplementation on selenoenzyme activity in blood lymphocytes, granulocytes, platelets and erythrocytes. Clin Sci (Lond). 2000, 98:593-9.
37. Thomson CD, Robinson MF, Butler JA, Whanger PD. Long-term supplementation with selenate and selenomethionine: selenium and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) in blood components of New Zealand women. Br J Nutr. 1993, 69:577-88.
38. Nève J, New approaches to assess selenium status and requirement, Nutr Rev. 2000, 58:363-9. Review.
39. Dietary Reference Intakes: RDA and AI for Vitamins and Elements. National Academy of Sciences. Institute of Medicine. Food and Nutrition Board.
40. Patrick L. Selenium biochemistry and cancer a review of the literature. Altern Med Rev. 2004, 9 239-58
41. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. Abridged ed. Champaign, Ill.: Human Kinetics Books, 1991.
42. Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. Bmj 2000;320:1240-1243.
43. Cole TJ, Flegal KM, Nicholls D, Jackson AA. Body mass index cut offs to define thinness in children and adolescents: international survey. Bmj 2007;335:194.
44. Fernandez JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison DB. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. J Pediatr 2004;145:439-444.
45. Prineas RJ, Ostchega Y, Carroll M, Dillon C, McDowell M. US demographic trends in mid-arm circumference and recommended blood pressure cuffs for children and adolescents: data from the National Health and Nutrition Examination Survey 1988-2004. Blood Press Monit 2007;12:75-80.
46. Altunkan S, Ilman N, Kayaturk N, Altunkan E. Validation of the Omron M6 (HEM-7001-E) upper-arm blood pressure measuring device according to the International Protocol in adults and obese adults. Blood Press Monit 2007;12:219-225.
47. Tanner JM. Growth at adolescence. Oxford: Blackwell Scientific, 1955.
48. University of Crete. Food Composition Tables. nutrition.med.uoc.gr/GreekTables, 1991.
49. Trichopoulou A. Composition tables of foods and Greek dishes. School of Medicine: Department of Hygiene and Epidemiology. Athens, Greece, 2004.
50. Fiona S. Atkinson et al., *"International tables of Glycemic Index and Glycemic Load Values: 2008"*, 2008

51. Kaye Foster – Powell et al., *“International table of glycemic Index and glycemic load values: 2002”*, 2002
52. C. Jeya K. Henry et al., “Glycemic index and glycemic load values of commercially available products in the UK”, 2005
53. Thomas MS Wolever et al., *“Determinants of diet glycemic index calculated retrospectively from diet records of 342 individuals with non insulin dependent diabetes mellitus”*, 1994
54. Thomas MS Wolever et al., *“The glycemic index: methodology and clinical implications”*, 1991
55. Anette E. Buyken et al., *“Relation of dietary glycemic index, glycemic load, added sugar intake, or fiber intake to the development of body composition between ages 2 and 7 y”*, 2008
56. <http://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/703102>
57. Wendel, A. (1980) *Enzymatic Basis of Detoxication*, Volume 1, p. 333, Academic Press, NY
58. Liu W, Prevalence and association between obesity and metabolic syndrome among Chinese elementary school children: a school-based survey. *BMC Public Health*. 2010 Dec 22;10:780.
59. Uwaifo GI, Indices of insulin action, disposal, and secretion derived from fasting samples and clamps in normal glucose-tolerant black and white children. *Diabetes Care*. 2002 Nov;25(11):2081-7.
60. Conwell LS, Indexes of insulin resistance and secretion in obese children and adolescents: a validation study., *Diabetes Care*. 2004 Feb;27(2):314-9.
61. Micó JA, Rojas-Corrales MO., Reduced antioxidant defense in early onset first-episode psychosis: a case-control study. *BMC Psychiatry*. 2011 Feb 14;11:26.
62. Boćkowski L, Sobaniec W., Serum and intraerythrocyte antioxidant enzymes and lipid peroxides in children with migraine. *Pharmacol Rep*. 2008 Jul-Aug;60(4):542-8.
63. Guemouri L, Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin Chem*. 1991 Nov;37(11):1932-7.
64. Söğüt S, Changes in nitric oxide levels and antioxidant enzyme activities may have a role in the pathophysiological mechanisms involved in autism. *Clin Chim Acta*. 2003 May;331(1-2):111-7.
65. Spagnolo A, Serum selenium and precursors of cardiovascular risk factors in adolescents. *Eur J Epidemiol*. 1991 Nov;7(6):654-7.
66. Ståhlberg MR, Glutathione and glutathione-metabolizing enzymes in the erythrocytes of healthy children and in children with insulin-dependent diabetes mellitus, juvenile rheumatoid

arthritis, celiac disease and acute lymphoblastic leukemia. *Scand J Clin Lab Invest.* 1991 Apr;51(2):125-30.

67. Ceballos-Picot I, Age-correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem.* 1992 Jan;38(1):66-70.

68. Krittaphol W, Primary school children from northeast Thailand are not at risk of selenium deficiency, *Asia Pac J Clin Nutr.* 2006;15(4):474-81

69. Safaralizadeh R, Serum selenium concentration in healthy children living in Tehran, *Biofactors.* 2007;31(2):127-31

70. Marano G, Spagnolo A, Morisi G, Menotti A. Changes of serum selenium and serum cholesterol in children during sexual maturation. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1991 Mar;5(1):59-61.

71. Meydani M, Das S., The Effect of Caloric Restriction and Glycemic Load on Measures of Oxidative Stress and Antioxidants in Humans: Results from the CALERIE Trial of Human Caloric Restriction. *J Nutr Health Aging.* 2011;15(6):456-60.

72. Nikitchenko IuV, Activity of enzymatic antioxidant system in the rat tissues under conditions of over- and restricted nutrition. *Ukr Biokhim Zh.* 2009 Nov-Dec;81(6):104-10.

73. Gibso S., Boyd A. Associations between added sugars and micronutrient intakes and status: further analysis of data from the National Diet and Nutrition Survey of Young People aged 4 to 18 years. *British Journal of Nutrition* (2009), 101, 100–107

74. Diniz YS, Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats., *Eur J Pharmacol.* 2006 Aug 14;543(1-3):151-7. Epub 2006 Jun 2.

75. Borawska MH, Witkowska AM., Influence of dietary habits on serum selenium concentration., *Ann Nutr Metab.* 2004;48(3):134-40.

76. Martín MA., Cocoa flavonoids up-regulate antioxidant enzyme activity via the ERK1/2 pathway to protect against oxidative stress-induced apoptosis in HepG2 cells. *J Nutr Biochem.* 2010 Mar;21(3):196-205. Epub 2009 Feb 5.

77. Al-Malki AL., The protective effect of epicatchin against oxidative stress and nephrotoxicity in rats induced by cyclosporine., *Hum Exp Toxicol.* 2011 Feb;30(2):145-51. Epub 2010 May 20.

78. Codoñer-Franch P. Is obesity associated with oxidative stress in children? *Int J Pediatr Obes.* 2010;5(1):56-63.

79. Codoñer-Franch P, Bataller Alberola A., Influence of dietary lipids on the erythrocyte antioxidant status of hypercholesterolaemic children., *Eur J Pediatr.* 2009 Mar;168(3):321-7. Epub 2008 Jun 12.

80. Nestares T., Effect of synergic dietary calcium enrichment and induced ferropernic anemia on antioxidant enzymes activity in rats. *Nutrition*. 2011 May;27(5):576-81. Epub 2010 Jul 1.
81. Fébel H., Effect of dietary fatty acid pattern on growth, body fat composition and antioxidant parameters in broilers., *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2008 Jun;92(3):369-76.
82. Martin H., Effects of long-term dietary intake of magnesium on oxidative stress, apoptosis and ageing in rat liver. *Magnes Res*. 2008 Jun;21(2):124-30.
83. Steinbrenner H, Protection against reactive oxygen species by selenoproteins. *Biochim Biophys Acta*. 2009 Nov;1790(11):1478-85. Epub 2009 Mar 5.
84. Letsiou S, Nomikos T., Serum total selenium status in Greek adults and its relation to age. The ATTICA study cohort., *Biol Trace Elem Res*. 2009 Apr;128(1):8-17. Epub 2008 Oct 25.
85. Ashton K, Hooper L., Methods of assessment of selenium status in humans: a systematic review., *Am J Clin Nutr*. 2009 Jun;89(6):2025S-2039S. Epub 2009 May 6.
86. Micó JA, Rojas-Corrales MO., Reduced antioxidant defense in early onset first-episode psychosis: a case-control study. *BMC Psychiatry*. 2011 Feb 14;11:26.
87. Dylewski ML, Bender JC., The selenium status of pediatric patients with burn injuries., *J Trauma*. 2010 Sep;69(3):584-8; discussion 588.
88. Boćkowski L, Serum and intraerythrocyte antioxidant enzymes and lipid peroxides in children with migraine. *Pharmacol Rep*. 2008 Jul-Aug;60(4):542-8.
89. Ozbay B, Dülger H., Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in Turkish population: relation to age, gender, exercise, and smoking. *Tohoku J Exp Med*. 2002 Jun;197(2):119-24.
90. Kozar E, Evans S, Barr J., Glutathione, glutathione-dependent enzymes and antioxidant status in erythrocytes from children treated with high-dose paracetamol., *Br J Clin Pharmacol*. 2003 Mar;55(3):234-40.