



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ «ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ (ΒΒΕ)»**

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΔΡΑΣΗΣ  
ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΔΙΑΙΤΑΣ**

**ΓΕΡΟΓΙΑΝΝΗ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ**

**ΒΙΟΛΟΓΟΣ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΓΑΛΑΡΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017**





**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ «ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ (ΒΒΕ)»

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΔΡΑΣΗΣ  
ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΔΙΑΙΤΑΣ**

**ΓΕΡΟΓΙΑΝΝΗ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ**

ΒΙΟΛΟΓΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΓΑΛΑΡΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017

«Η έγκριση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».

Γερογιάννη Παρασκευή

Τίτλος Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης: Βασικές Βιοϊατρικές

Επιστήμες

Ημερομηνία παρουσίασης: 23-02-2017

Εξεταστική Επιτροπή:

Επιβλέπων

Γαλάρης Δημήτριος, Καθηγητής Βιολογικής Χημείας, Τμήμα Ιατρικής,

Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Μέλη

Χριστοφορίδης Σάββας, Αναπληρωτής Καθηγητής Βιολογικής Χημείας, Τμήμα

Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Αγγελίδης Χαράλαμπος, Καθηγητής Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο

Ιωαννίνων

Διευθυντής ΠΜΣ ΒΒΕ

Χαράλαμπος Αγγελίδης

Καθηγητής Βιολογίας

Πρόεδρος Τμήματος Ιατρικής

Μηνάς Πασχόπουλος

Αναπληρωτής Καθηγητής Χειρουργικής

Η γραμματέας της Σχολής

Καπιτοπούλου Μαρία

**Στους γονείς μου**

## Πρόλογος

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή με θέμα: «Διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών δράσης βιοδραστικών συστατικών της Μεσογειακής δίαιτας», πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών με τίτλο: «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες» με ειδίκευση στη Βιοχημεία-Μοριακή Βιολογία-Μοριακή Γενετική, της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Η εργασία υλοποιήθηκε υπό την επίβλεψη του Καθηγητή κ. Δημητρίου Γαλάρη, τον οποίο θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά διότι ήταν αυτός που μου ανέθεσε το σχετικό θέμα, έδειξε εμπιστοσύνη στο πρόσωπό μου και με καθοδήγησε για τη συγγραφή της παρούσας διατριβής.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω όλους όσους ήταν δίπλα μου και με βοήθησαν πρακτικά και ηθικά στο πλαίσιο των μεταπτυχιακών μαθημάτων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερω τους γονείς μου Σωτήρη και Αννέτα, καθότι χωρίς την αμέριστη αγάπη τους, την υπομονή και τους κόπους τους η υλοποίηση του μεταπτυχιακού αυτού δεν θα ήταν δυνατή.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>1. Διατροφή και υγεία</b> .....	13
<b>1.1 Η Μεσογειακή Διατροφή</b> .....	13
<b>1.2 Διατροφικοί δείκτες</b> .....	20
1.2.1 Ο Healthy Eating Index (HEI).....	20
1.2.2 Ο Diet Quality Index (DQI).....	21
1.2.3 Ο Healthy Diet Indicator (HDI).....	22
1.2.4 Ο Mediterranean Diet Score (MDS).....	22
<b>1.3 Μελέτες για τη Μεσογειακή δίαιτα</b> .....	23
1.3.1 Η μελέτη των επτά χωρών.....	23
1.3.2 Η μελέτη Lyon Diet Heart.....	25
1.3.3 Η Σουηδική μελέτη κοορτής .....	25
1.3.4 Η Ευρωπαϊκή μελέτη για τον κίνδυνο επανεμφάνισης αδενωμάτων στο παχύ έντερο.....	26
1.3.5 Η Ευρωπαϊκή προοπτική μελέτη για τον καρκίνο και τη διατροφή.....	27
1.3.6 Μεσογειακή δίαιτα και κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου σε Ιταλικές μελέτες.....	28
1.3.7 Η μελέτη της Μινεσότα για τον καρκίνο του μαστού.....	29
1.3.8 Η NIH-AARP Diet and Health μελέτη (National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study).....	30
1.3.9 Η San Francisco Bay Area μελέτη.....	31
1.3.10 Μεσογειακή δίαιτα σε γαλλο-καναδικές οικογένειες.....	31
1.3.11 Η Los Angeles County μελέτη.....	32
1.3.12 Η Four-Corners Breast Cancer μελέτη.....	32
1.3.13 Η μελέτη ARCAGE.....	33
<b>2. Μικρού μοριακού βάρους αντιοξειδωτικές ενώσεις</b> .....	38
2.1 Αντιοξειδωτικές ενώσεις της διατροφής.....	38
2.1.1 Ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C).....	38
2.1.1.1 Το ασκορβικό οξύ ως αντιοξειδωτικό.....	39
2.1.2 Καροτενοειδή.....	40
2.1.3 Φαινολικές ενώσεις φυτικής προέλευσης.....	43
2.1.3.1 Φλαβονοειδή.....	43
2.1.3.1.1 Φλαβονοειδή και τρόφιμα.....	45
2.1.3.1.2 Φλαβονοειδή και υγεία.....	46
2.1.3.1.3 Απορρόφηση και Μεταβολισμός των Φλαβονοειδών.....	47



2.1.3.1.4 Βιολογική δράση των φλαβονοειδών.....	50
2.1.3.1.5 Φλαβονοειδή και βλάβη στο DNA.....	52
2.1.3.1.6 Φλαβονοειδή και αντικαρκινική δράση.....	53
2.1.3.1.7 Ικανότητα των φλαβονοειδών να δεσμεύουν μέταλλα.....	56
<b>3. Ελεύθερες ρίζες.....</b>	<b>58</b>
3.1.1 Ορισμός ελευθέρων ριζών.....	58
3.1.2 Σχηματισμός ελευθέρων ριζών.....	59
<b>3.2 Τοξικότητα οξυγόνου και Δραστικές μορφές του.....</b>	<b>60</b>
3.2.1 Ενδιάμεσες μορφές αναγωγής του οξυγόνου.....	61
<b>3.3 Οξειδωτικό στρες.....</b>	<b>63</b>
3.3.1 Εισαγωγή.....	63
3.3.2 Επιπτώσεις από τη δημιουργία ελευθέρων ριζών .....	63
3.3.3 Υπεροξειδωση των λιπιδίων.....	64
3.3.4 Πρόκληση βλαβών στο DNA.....	64
3.3.5 Πρόκληση βλαβών στις πρωτεΐνες.....	65
3.3.6 Αντίδραση Fenton.....	65
<b>4. Σίδηρος και οξειδωτικό στρες.....</b>	<b>67</b>
<b>4.1 Σημασία της δέσμευσης των ιόντων σιδήρου.....</b>	<b>67</b>
<b>4.2 Σχέσεις διατροφής και υγείας.....</b>	<b>68</b>
<b>4.3 Δράσεις των αντιοξειδωτικών της διατροφής.....</b>	<b>69</b>
<b>4.4 Συστατικά της διατροφής και απόπτωση.....</b>	<b>71</b>
<b>4.5 Επαγωγή της αμυντικής ικανότητας των κυττάρων μέσω της ενεργοποίησης του Nrf2.....</b>	<b>73</b>
<b>4.6 Κατανομή των συστατικών της διατροφής.....</b>	<b>74</b>
<b>4.7 Ανακεφαλαίωση.....</b>	<b>76</b>
<b>5. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>77</b>
<b>6. SUMMARY.....</b>	<b>79</b>
<b>7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>81</b>

## Σχήματα

**Σχήμα 1.** Η πυραμίδα της Μεσογειακής διατροφής.

**Σχήμα 2.** Ασκορβικό οξύ.

**Σχήμα 3.** Χημική δομή ορισμένων φαινολικών ενώσεων φυτικής προέλευσης.

**Σχήμα 4.** Βασική δομή ανθρακικού σκελετού των φλαβονοειδών.

**Σχήμα 5.** Βασική δομή μερικών υποομάδων των φλαβονοειδών(από πάνω αριστερά προς τα δεξιά και μετά κάτω): φλαβονόλες, φλαβόνες, φλαβανόνες, κατεχίνες, ανθοκυανιδίνες, ισοφλαβόνες.

**Σχήμα 6.** Χημική δομή ορισμένων καροτενοειδών, τα οποία έχουν ανιχνευθεί σε φυτικούς και ζωικούς οργανισμούς.

**Σχήμα 7.** Διαγραμματική απεικόνιση των διαδοχικών βημάτων αναγωγής του οξυγόνου σε νερό με βήματα ενός ηλεκτρονίου.

**Σχήμα 8.** Προσφερόμενη προστασία γνωστών σιδηροδεσμευτικών ενώσεων στο DNA κυττάρων τα οποία εκτίθενται σε οξειδωτικό στρες υπό τη μορφή  $H_2O_2$ . Τα κύτταρα (Jurkat, ανθρώπινα T-λεμφοκύτταρα) επώαστηκαν με τις ενδεικνυόμενες συγκεντρώσεις των σιδηροδεσμευτικών ενώσεων 1,7- και 1,10-φαινανθρολίνη (A), 2,2-διπυριδύλιο (B) και SIH (Γ) πριν από την έκθεσή τους σε  $H_2O_2$ . Η εκτίμηση των σχάσεων στο DNA έγινε με τη μέθοδο comet assay (Barbouti et al, 2001). Η παρουσία των σιδηροδεσμευτικών παραγόντων προσφέρει προστασία στο πυρηνικό DNA, μειώνοντας τις σχάσεις στις μονές αλυσίδες (Γαλάρης 2015).

**Σχήμα 9.** Συσχέτιση της προστασίας και της ικανότητας δέσμευσης ενδοκυττάρου σιδήρου από φλαβονοειδή. Κάθε κουκκίδα αναπαριστά ένα φλαβονοειδές.  $IC_{50}$ : συγκέντρωση φλαβονοειδούς που προσφέρει 50% προστασία ενάντια στη βλάβη DNA από  $H_2O_2$ .  $EC_{50}$ : συγκέντρωση φλαβονοειδούς που είναι ικανό να δεσμεύσει το 50% του καταλυτικά ενεργού σιδήρου από την καλσεΐνη (Melidou et al, 2005).

**Σχήμα 10.** Η μερική επικάλυψη των θέσεων δέσμευσης του σιδήρου από ορθο-διυδροξυ-φαινόλες της διατροφής επιτρέπει την αντίδρασή του με υπεροξειδία και τον σχηματισμό εξαιρετικά δραστικών ελευθέρων ριζών. Σ' αυτήν την περίπτωση, οι φαινόλες οξειδώνονται αρχικά σε ημικινόνες και στη συνέχεια σε κινόνες μετά από απόδοση ενός ακόμα ηλεκτρονίου στο μοριακό  $O_2$  (Γαλάρης 2015).

**Σχήμα 11.** Σχηματική απεικόνιση της ενεργοποίησης του Keap1/Nrf2 σηματοδοτικού μονοπατιού από οξειδωμένες πολυφαινόλες της διατροφής. Μια οξειδωμένη πολυφαινόλη (ορθο-κινόνη) αντιδρά με μια ευαίσθητη κυστεΐνη στην πρωτεΐνη Keap1 και συνδέεται ομοιοπολικά μ' αυτήν (προσθήκη κατά Michael). Η εν λόγω σύνδεση αποσπά την Keap1 από τον παράγοντα Nrf2, ο οποίος απελευθερώνεται και μεταφέρεται στον πυρήνα, όπου συνδέεται με συγκεκριμένες αλληλουχίες νουκλεοτιδίων στο DNA, ενεργοποιώντας την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν αμυντικά ένζυμα (Γαλάρης 2015).

**Σχήμα 12.** Σχηματική αναπαράσταση των γεγονότων που λαμβάνουν χώρα μετά την έκθεση των κυττάρων σε  $H_2O_2$  παρουσία της υδροξυτυροσόλης (HTy) (Kitsati et al, 2016).

**Σχήμα 13.** Το καφεϊκό και το ροσμαρινικό οξύ είναι δύο απλά οργανικά οξέα που βρίσκονται σε αφθονία στα φυτικής προέλευσης συστατικά της διατροφής. Η ικανότητα των εστερικών και των αμιδικών παραγώγων αυτών των ενώσεων διαφέρει δραματικά απ' αυτήν των μητρικών ενώσεων, λόγω της διαφορετικής κατανομής τους στα κύτταρα. Αυτό οφείλεται στην ύπαρξη ηλεκτρικών φορτίων στις καρβοξυλομάδες των οξέων η οποία δεν επιτρέπει τη διάχυσή τους μέσω των βιολογικών μεμβρανών (Γαλάρης 2015).

**Σχήμα 14.** Γενική απεικόνιση του προτεινόμενου μοριακού μηχανισμού δράσης συστατικών της διατροφής. Σύμφωνα με το διάγραμμα, τα δραστικά συστατικά της διατροφής θα πρέπει: (α) να έχουν την ικανότητα να διαπερνούν τις κυτταρικές μεμβράνες και να φθάνουν στα σημεία-στόχους, (β) να μπορούν να δεσμεύουν, έστω και χαλαρά, ιόντα σιδήρου εντός των κυττάρων, (γ) να έχουν την ικανότητα αναγωγής των δραστικών ελευθέρων ριζών, όταν αυτές παράγονται από την αντίδραση του μερικώς επικαλυπτόμενου σιδήρου με υπεροξειδία, και (δ) οι οξειδωμένες μορφές τους να είναι αρκετά ηλεκτρόφιλες, ούτως ώστε να αντιδρούν με την πρωτεΐνη Keap1 και να ενεργοποιούν τον μεταγραφικό παράγοντα Nrf2. ICPs: φαινολικές ενώσεις που δεσμεύουν ιόντα σιδήρου (Iron Chelating Phenols) (Γαλάρης 2015).

## Πίνακες

**Πίνακας 1.** Κατά κεφαλή ημερήσια πρόσληψη τροφίμων, Κρήτη, Φθινόπωρο 1948  
(Πηγή: Allbaugh, et al, 1953).

**Πίνακας 2.** Συνοπτική παρουσίαση των προοπτικών μελετών αξιολόγησης του ρόλου της Μεσογειακής διαίτας (ΜΔ) στην επιδημιολογία του καρκίνου.

**Πίνακας 3.** Συνοπτική παρουσίαση των μελετών ασθενών – μαρτύρων για τη διερεύνηση του ρόλου της Μεσογειακής διαίτας (ΜΔ) στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου.

**Πίνακας 4.** Δραστικές Μορφές Οξυγόνου.

## 1. Διατροφή και υγεία

Η σημασία της διατροφής στη διατήρηση της ανθρώπινης υγείας έχει επισημανθεί από την αρχαιότητα. Ο Ιπποκράτης δίδασκε ότι η διατροφή είναι το φάρμακό μας, ενώ αργότερα ο Γαληνός και ο Διοσκουρίδης προσπάθησαν να κατανοήσουν την πραγματική βάση της σχέσης μεταξύ της διαίτας και της υγείας στον άνθρωπο.

Η υγεία των ανθρώπων είναι αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης ανάμεσα στη γενετική τους προδιάθεση και ενός αριθμού περιβαλλοντικών παραγόντων. Το ανθρώπινο γενετικό προφίλ δεν έχει διαφοροποιηθεί αισθητά τα τελευταία 10.000 χρόνια, ενώ αντιθέτως οι διατροφικές συνήθειες και η φυσική δραστηριότητα των ανθρώπων έχουν αλλάξει δραματικά τις τελευταίες δεκαετίες. Οι σύγχρονες βιομηχανικές κοινωνίες χαρακτηρίζονται από την αύξηση της προσλαμβανόμενης ενέργειας από την τροφή, τη μείωση της φυσικής άσκησης, την αύξηση της πρόσληψης κεκορεσμένων λιπαρών οξέων, καθώς και τη μείωση της κατανάλωσης υδατανθράκων, φυτικών ινών, ασβεστίου, φρούτων και λαχανικών (Eaton, et al, 1985, Simopoulos, et al, 1991, Simopoulos, et al, 2001). Για τους παραπάνω λόγους, η συσχέτιση ανάμεσα στις διατροφικές συνήθειες και στην εμφάνιση πολλών ασθενειών προσέλκυσε το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας και μελετήθηκε εντατικά.

### 1.1 Η Μεσογειακή Διατροφή

Η παραδοσιακή Μεσογειακή διατροφή αναφέρεται στις διατροφικές συνήθειες των πληθυσμών των ελαιοπαραγωγικών περιοχών της Μεσογείου, όσο αυτές παρέμειναν αναλλοίωτες από τις σύγχρονες τεχνολογικές εξελίξεις της βιομηχανικής επανάστασης. Στην Ελλάδα, το χρονικό όριο μέχρι του οποίου μπορούμε να θεωρήσουμε ότι η διατροφή αποτέλεσε προϊόν εμπειρικής εξέλιξης είναι η δεκαετία του '60. Οι αλλαγές που ακολούθησαν έκτοτε επηρεάστηκαν σε μεγάλο βαθμό από

Δυτικά διατροφικά πρότυπα, οπότε και η διατήρηση της τοπικής παράδοσης πέρα του ορίου αυτού χρήζει διερεύνηση κατά περίπτωση.

Η παραδοσιακή Μεσογειακή διατροφή σχηματίστηκε κατά κύριο λόγο μέσω των κλιματικών και κοινωνικο-οικονομικών συνθηκών που επικράτησαν σε βάθος χρόνου στη Μεσόγειο, και παρόλο που υπάρχουν αρκετές διαφορές στις διατροφικές συνήθειες των Μεσογειακών λαών, υπάρχουν κάποια ιδιαίτερα γνωρίσματα τα οποία προσδίδουν ένα κοινό χαρακτήρα. Τα διάφορα διατροφικά χαρακτηριστικά που απαντούν στη Μεσόγειο μπορούν δηλαδή να θεωρηθούν ως στοιχεία ενός κεντρικού διατροφικού προτύπου, της Μεσογειακής διατροφής (Trichoroulou, et al, 1997).

Τα πρώτα δεδομένα για την προστατευτική επίδραση του Μεσογειακού διατροφικού προτύπου στην υγεία έδωσε η μελέτη των Επτά Χωρών (Keys et al, 1986). Στην πραγματικότητα δεν υπάρχει μία αλλά πολλές Μεσογειακές Δίαιτες, οι οποίες αντικατοπτρίζουν το διατροφικό μοντέλο που συνήθως ακολουθούνταν από τους πληθυσμούς που κατοικούσαν σε περιοχές γύρω από τη Μεσόγειο στις αρχές της δεκαετίας του 1960, όπως είναι η Κρήτη, άλλες περιοχές της Ελλάδας, η Ισπανία και η Νότια Ιταλία, περιοχές όπου φυτρώνουν άφθονα ελαιόδεντρα (Simopoulos, 2001; Trichoroulou et al, 2000; Willet, 2006). Η παραδοσιακή Μεσογειακή δίαιτα χαρακτηρίζεται από την αφθονία φρούτων, λαχανικών, δημητριακών, πατατών, πουλερικών, οσπρίων, ξηρών καρπών, άπαχων ψαριών, γαλακτοκομικών προϊόντων, τις μικρές ποσότητες κόκκινου κρέατος, τη μέτρια κατανάλωση αλκοόλ (1-2 ποτήρια την ημέρα, συνήθως μαζί με τα γεύματα), και την σχεδόν αποκλειστική χρήση ελαιολάδου ως ημερήσια πηγή λιπαρών (Simopoulos et al, 2001, Trichoroulou et al, 2000, Willet et al, 2006, Tyrovolas and Panagiotakos, 2010).

Αν και η λήψη γάλατος είναι μέτρια, η κατανάλωση άλλων γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως είναι το τυρί και το γιαούρτι είναι υψηλή, με το τυρί να αποτελεί απαραίτητο συνοδευτικό της σαλάτας και των λαδερών φαγητών. Η δίαιτα αυτή χαρακτηρίζεται από χαμηλή περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα (7 -8% της ημερήσιας πρόσληψης ενέργειας) ενώ ταυτόχρονα η συνολική πρόσληψη λίπους ανέρχεται στο 40% της συνολικής πρόσληψης ενέργειας στην Ελλάδα και στο 30% στην Ιταλία (Simopoulos, et al, 2001, Trichoroulou, et al, 2000, Willet, et al, 2006; Tyrovolas, et al, 2010). Το πηλίκο μονοακόρεστων προς κορεσμένων λιπαρών

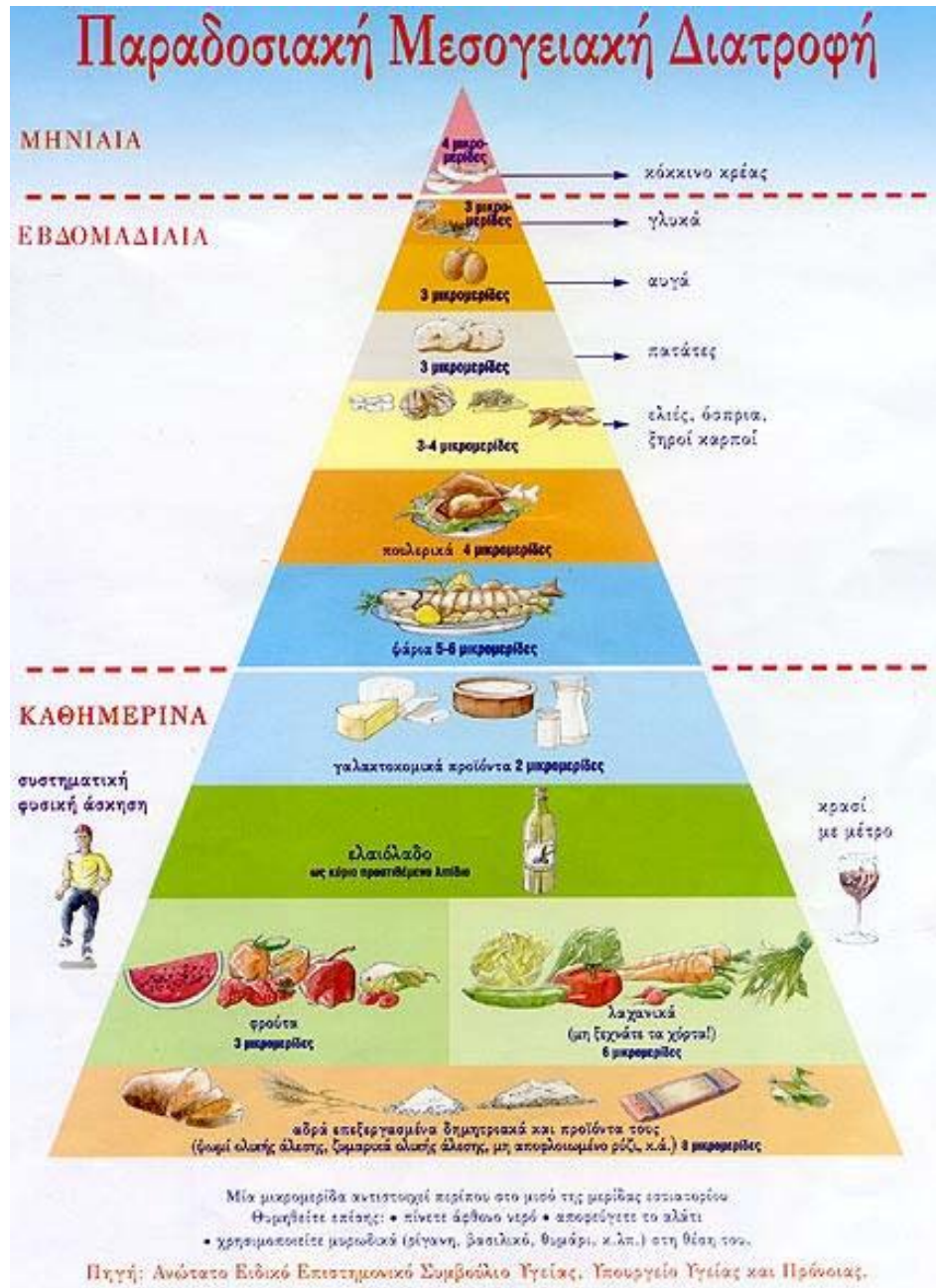
οξέων είναι μεγαλύτερο του 2 (Tyrovolas, et al, 2010). Το ελαιόλαδο, μία πλούσια πηγή μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, είναι το κύριο συστατικό της Μεσογειακής δίαιτας. Το παρθένο ελαιόλαδο διατηρεί όλα τα λιποφιλικά συστατικά του καρπού, την α-τοκοφερόλη και τα φαινολικά σύμπλοκα που έχουν ισχυρές αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες (Corona, et al, 2009, Kontogianni, et al, 2006). Οι φαινόλες έχουν την ικανότητα να επηρεάζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την εξέλιξη του κύκλου ζωής και την απόπτωση, ενώ το αραχιδονικό οξύ το μεταβολισμό των καρκινικών κυττάρων (Corona, et al, 2009). Τα φρούτα, τα λαχανικά, τα όσπρια και οι καρποί αποτελούν καλές πηγές διαιτητικών ινών και φαίνεται να σχετίζονται με μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης διαφόρων ειδών καρκίνου (Koushik, et al, 2007, WCRF, et al, 2007). Σύμφωνα με εκτιμήσεις, το 25% της επίπτωσης καρκίνου του παχέος εντέρου, σχεδόν το 15% της επίπτωσης καρκίνου του μαστού και το 10% της επίπτωσης καρκίνου προστάτη, παγκρέατος και ενδομητρίου θα μπορούσε να είχε προληφθεί στις αναπτυγμένες Δυτικές Χώρες μόνο από την υιοθέτηση της παραδοσιακής Μεσογειακής δίαιτας (Trichoroulou, et al, 2000) (Εικόνα 1).

Πρόσφατη μετά-ανάλυση προοπτικών μελετών κοορτής αποκάλυψε ότι η υιοθέτηση της Μεσογειακής δίαιτας μπορεί να μειώσει σε σημαντικό βαθμό το κίνδυνο συνολικής θνησιμότητας και νοσηρότητας από καρκίνο (Sofi, et al, 2008). Ειδικότερα, σε αυτή τη μετά- ανάλυση, η συγκεντρωτική ανάλυση 12 μελετών κοορτής έδειξε ότι αύξηση κατά 2 μονάδες της κλίμακας της Μεσογειακής δίαιτας ισοδυναμούσε με 6% μείωση της επίπτωσης ή της θνησιμότητας από νεοπλασματικές ασθένειες.

Με βάση τα παραπάνω, τα γενικά χαρακτηριστικά της μεσογειακής διατροφής μπορούν να συνοψιστούν στα εξής (Willett, et al, 1995, Trichoroulou, et al, 1995, 2003):

1. Υψηλή κατανάλωση ελαιολάδου
2. Υψηλή κατανάλωση μη επεξεργασμένων δημητριακών
3. Υψηλή κατανάλωση λαχανικών
4. Υψηλή κατανάλωση οσπρίων
5. Υψηλή κατανάλωση φρούτων

6. Μέτρια κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων
7. Μέτρια-υψηλή κατανάλωση ψαριών
8. Μέτρια κατανάλωση αλκοόλ, κυρίως κόκκινο κρασί
9. Χαμηλή κατανάλωση κόκκινου κρέατος



Σχήμα 1. Η πυραμίδα της Μεσογειακής διατροφής.



Από τις πρώτες μελέτες που έγιναν στην Ελλάδα για την αποτύπωση των διατροφικών συνηθειών των Ελλήνων, ήταν η μελέτη του Ιδρύματος Rockefeller. Το ίδρυμα Rockefeller προσκλήθηκε από την μεταπολεμική Κυβέρνηση της Ελλάδος (1948) να αποτυπώσει τις επικρατούσες οικονομικές, κοινωνικές και υγειονομικές συνθήκες στην Κρήτη (Allbaugh, et al, 1953). Στο πλαίσιο της μελέτης αυτής, λήφθηκε δείγμα από όλους τους Δήμους του νησιού, καθώς και από 40 Κοινότητες. Συνολικά στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν περίπου 1 στα 50 νοικοκυριά του νησιού, με τα 4 στα 5 νοικοκυριά να βρίσκονται σε αγροτικές περιοχές. Οι διατροφικές συνήθειες του πληθυσμού αποτυπώθηκαν στο 1/6 του δείγματος με τη συμπλήρωση ερωτηματολογίου με όλα τα τρόφιμα τα οποία καταναλώθηκαν σε περίοδο μιας εβδομάδας.

Τα αποτελέσματα της μελέτης (Allbaugh, et al, 1953) έδειξαν ότι οι ελιές, τα δημητριακά, τα άγρια χόρτα και τα φρούτα, καθώς και σε μικρότερες ποσότητες, το κατσικίσιο κρέας και γάλα, το κυνήγι και τα ψάρια, παρέμειναν οι κυριότερες πηγές της διατροφής των κατοίκων του νησιού για περίπου 4 χιλιάτες (Πίνακας 1). Κυρίαρχη θέση κατείχε το ψωμί, το οποίο δεν έλειπε ποτέ από το τραπέζι και το ελαιόλαδο, του οποίου η χρήση ήταν τόσο εκτεταμένη ως έλαιο μαγειρέματος και σαλάτας, ώστε να συνεισφέρει σημαντικά στη συνολική πρόσληψη ενέργειας. Οι βασικές διαφοροποιήσεις της τοπικής διατροφής διαμέσου των αιώνων συνίσταται στην ενσωμάτωση των εσπεριδοειδών και της τομάτας σχετικά πρόσφατα.

Ομάδα τροφίμων	g / άτομο / ημέρα	% Ενέργειας
Δημητριακά	350	39
Πατάτες	162	4
Όσπρια και ξηροί καρποί	52	7
Γάλα και τυρί	45	3
Κρέας, ψάρι και αυγά	78	4
Λίπη και έλαια	84	29
Φρούτα και ελιές	272	8
Τομάτες και εσπεριδοειδή	117	1
Λαχανικά	149	2
Ζάχαρη	13	2
Ποτά (εκτός γάλακτος)	26	1

**Πίνακας 1.** Κατά κεφαλή ημερήσια πρόσληψη τροφίμων, Κρήτη, Φθινόπωρο 1948 (Πηγή: Allbaugh, et al, 1953).

Οι μέθοδοι μαγειρέματος θεωρήθηκαν από τους μελετητές απλές και οι συσκευές και τα εργαλεία μαγειρέματος πρωτόγονα. Περισσότερες από 9 στις 10 οικογένειες χρησιμοποιούσαν τη φωτιά με ξύλα ως την κύρια μέθοδο μαγειρέματος και μόνο το 40% είχαν φούρνο, η χρήση κοινόχρηστων φούρνων δε, υπήρξε αρκετά διαδεδομένη. Το βράσιμο και γενικότερα το μαγείρεμα σε κατσαρόλα αποτελούσε την κύρια μέθοδο μαγειρέματος. Πολλές οικογένειες μαγείρευαν μια φορά την ημέρα και δεν ήταν ασυνήθιστο τα γεύματα να αποτελούνται από ένα μόνο πιάτο. Η οικιακή ή εμπορική ψύξη, ως μέθοδος για τη συντήρηση των τροφίμων ήταν πράγματι ανύπαρκτη και για το σκοπό αυτό είχαν αναπτυχθεί εμπειρικές μέθοδοι, όπως η ξήρανση στον ήλιο ή η εμβάπτιση σε ελαιόλαδο. Η κατανάλωση γλυκών ήταν σπάνια, αλλά αντί αυτών ιδιαίτερη απήχηση είχαν τα φρέσκα φρούτα, δεδομένου ότι όλες τις εποχές υπήρχαν άφθονα φρούτα διαθέσιμα στο νησί. Η Ορθόδοξη Χριστιανική νηστεία, η οποία σε γενικές γραμμές εκφράζεται με την αποχή από όλες τις τροφές ζωικής προέλευσης και τα γαλακτοκομικά, είχε σημαντικό ρόλο στη

διατροφή του πληθυσμού, δεδομένου ότι μόνο τα Χριστούγεννα, το Πάσχα και τον Αύγουστο, οι ημέρες της νηστείας είναι σχεδόν 100. Τα πιο συχνά καταναλισκόμενα τρόφιμα κατά τις περιόδους νηστείας ήταν τα λαχανικά, τα όσπρια, οι ελιές το ψωμί και άλλα δημητριακά, τα μαλακόστρακα, τα φρούτα, ο χαλβάς με ταχίни, το μέλι το πετιμέζι και ο ξινόχοντρος. Ο καφές, τα γλυκά (κυρίως γλυκά του κουταλιού) και τα αλκοολούχα ποτά, όπως η τσικουδιά και το ούζο αποτελούσαν σύμβολο φιλοξενίας των καλεσμένων και προσφερόταν σε γιορτές και άλλες κοινωνικές εκδηλώσεις.

Συνολικά, ο αριθμός των γευμάτων ήταν κατά μέσο όρο 3-4 την ημέρα. Στις αγροτικές περιοχές, η ώρα του πρωινού (π.χ. ψωμί με τσάι ή καφέ και μερικές φορές γάλα, τυρί ή ελιές) ήταν μεταξύ περίπου 6 και 7 το πρωί, του δεκατιανού (π.χ. όπως το πρωινό ή τα περισσεύματα τροφίμων της προηγούμενης μέρας) μεταξύ 9 και 10, του μεσημβρινού γεύματος (π.χ. λαχανικά, όσπρια ή ψάρι συνήθως σε κάποιο συνδυασμό μεταξύ τους ή με δημητριακά, ψωμί και κρασί, και μερικές φορές φρούτα, τυρί, ελιές και ξηρούς καρπούς) μεταξύ 12 και 1, του απογευματινού (π.χ. ψωμί ή φρούτα σκέτα ή σε συνδυασμό, ελιές ή τυρί) 4 με 4 και μισή και του βραδινού δείπνου (π.χ. λαχανικά σκέτα ή με δημητριακά, ή συχνά περισσεύματα τροφίμων με κρέας, ψάρι, αυγά ή λαχανικά και ψωμί, κρασί, φρούτα ή τυρί) 6 με 8. Στις πιο αστικές περιοχές, η κατανάλωση των κυρίων γευμάτων γινόταν συνήθως λίγο αργότερα κατά τη διάρκεια της ημέρας. Εξαιρέση αποτελεί η Κυριακή, κατά την οποία η ποικιλία των καταναλισκόμενων τροφίμων ήταν ευρύτερη.

Ορισμένοι ερευνητές, έχουν προτείνει ως πρότυπο για τη μελέτη της παραδοσιακής Μεσογειακής διατροφής τις μεταπολεμικές διατροφικές συνήθειες των κατοίκων της Κρήτης, δεδομένου ότι αφενός μεν για την εποχή εκείνη υπάρχουν διαθέσιμα διατροφικά δεδομένα, αφετέρου δε την περίοδο αναφοράς το προσδόκιμο επιβίωσης των κατοίκων του νησιού ήταν πολύ υψηλό, ενώ η εμφάνιση χρόνιων ασθενειών όπως η στεφανιαία νόσος και ο καρκίνος ιδιαίτερα ασυνήθιστη (Nestle, et al, 1995, Willett, et al, 1995, Renaud, et al, 1995).

Σημαντικό περιορισμό σε όλες αυτές τις μελέτες που διερευνούν την υιοθέτηση της Μεσογειακής δίαιτας, αποτελεί η ετερογένεια αυτού του διατροφικού μοντέλου, αλλά και η ετερογένεια των διατροφικών δεικτών που χρησιμοποιήθηκαν. Σύμφωνα με μία πρόσφατη ανασκόπηση, τέσσερις θεωρούνται οι βασικοί δείκτες στη βιβλιογραφία,

από τους οποίους θεωρείται ότι προκύπτουν όλοι οι υπόλοιποι πραγματοποιώντας ποικίλες τροποποιήσεις σε αυτούς (Waijers et al, 2007). Οι τέσσερις βασικοί δείκτες είναι: ο Healthy Eating Index (HEI) (Kennedy et al, 1995), ο Diet Quality Index (DQI) (Patterson et al, 1994), ο Healthy Diet Indicator (HDI) (Huijbregts et al, 1997) και ο Mediterranean Diet Score (MDS) (Trichopoulou et al, 1995). Αν και όλοι τους βασίζονται πάνω στην ίδια λογική, εντούτοις έχουν διαφορές ως προς τον αριθμό και τα τρόφιμα που περιέχουν, αλλά και το εύρος τιμών της συνολικής βαθμολόγησης (Waijers et al, 2007, Fransen and Ocké, 2008, Kourlaba and Panagiotakos, 2009). Στην συνέχεια παρατίθενται βασικά στοιχεία των ανωτέρω δεικτών.

## **1.2 Διατροφικοί δείκτες**

### **1.2.1 Ο Healthy Eating Index (HEI)**

Ο δείκτης αυτός αναπτύχθηκε από το Υπουργείο Γεωργίας των Η.Π.Α. ως ένα εργαλείο μέτρησης της ποιότητας της διατροφής. Περιλαμβάνει 10 κριτήρια τα οποία βασίζονται στις διατροφικές οδηγίες για τον πληθυσμό της Αμερικής και στην Αμερικανική Πυραμίδα Διατροφής. Για καθένα από τα δέκα κριτήρια ο ερωτώμενος μπορεί να λάβει σκορ από 0 (που υποδηλώνει τη μη υιοθέτηση των συστάσεων) έως και 10 (που υποδηλώνει την πλήρη υιοθέτηση των συστάσεων). Οι ενδιάμεσοι βαθμοί τήρησης υπολογίζονται αναλογικά. Τα στοιχεία του δείκτη από το 1ο έως το 5ο υπολογίζουν το βαθμό στον οποίο η διατροφή του ατόμου συμμορφώνεται με τις ποσοτικές συστάσεις της διατροφικής πυραμίδας του Υπουργείου Γεωργίας των Η.Π.Α. για τις ακόλουθες ομάδες τροφίμων: δημητριακά, λαχανικά, φρούτα, γάλα και κρέας. Το 6ο στοιχείο βασίζεται στη συνολική κατανάλωση λίπους ως ποσοστό της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης. Το 7ο κριτήριο βασίζεται στην κατανάλωση κορεσμένου λίπους ως ποσοστό της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης. Το 8ο κριτήριο βασίζεται στην πρόσληψη χοληστερόλης, το 9ο βασίζεται στην πρόσληψη νατρίου και το 10ο στο βαθμό ποικιλίας της διαίτας. Το εύρος της κλίμακας βαθμολόγησής του κυμαίνεται από 0 (χειρότερο) έως 100 (καλύτερο).

Μελέτες έχουν δείξει ότι σε γενικές γραμμές πρόκειται για ένα καλό δείκτη για την αξιολόγηση της ποιότητας της διατροφής, αλλά δεν είναι επαρκής για την εκτίμηση του κινδύνου για την εμφάνιση χρόνιων νοσημάτων σχετιζόμενων με τη διατροφή (Kennedy et al, 1995, McCullough et al, 2000).

### **1.2.2 Ο Diet Quality Index (DQI)**

Ο Patterson και οι συνεργάτες επινόησαν ένα δείκτη μέτρησης της διατροφικής ποιότητας ο οποίος αντανάκλα μία διαβάθμιση κινδύνου για τις κυριότερες διατροφοεξαρτώμενες παθήσεις. Δείκτη αυτό χρησιμοποιήθηκαν οι διατροφικές οδηγίες από το «Διατροφή και Υγεία» (Diet and Health) των Η.Π.Α.. Οι συστάσεις αυτές είναι εξειδικευμένες, ποσοτικοποιημένες και κατατάσσονται βάσει της σημαντικότητάς τους στη δημόσια υγεία. Για την δημιουργία του DQI χρησιμοποιήθηκαν 8 συνιστώσες. Οι τρεις πρώτες (ολικό λίπος, κορεσμένο λίπος και χοληστερόλη) είναι μέτρα της πρώτης και σημαντικότερης σύστασης του «Διατροφή και Υγεία». Η τέταρτη και πέμπτη (φρούτα - λαχανικά και δημητριακά – όσπρια) είναι μέτρα από τη δεύτερη σύσταση που αφορά τους υδατάνθρακες. Λιγότερο βάρος δόθηκε στις υπόλοιπες τρεις συστάσεις του «Διατροφή και Υγεία» που αφορούν την πρόσληψη πρωτεϊνών, νατρίου και ασβεστίου, ενώ οι δύο τελευταίες συστάσεις (χρήση συμπληρωμάτων διατροφής και πρόσληψη φθορίου) δεν κρίθηκαν σημαντικές για την πρόληψη χρόνιων νοσημάτων και δεν συμπεριλήφθηκαν στο δείκτη. Στα άτομα που επιτύγχαναν ένα διατροφικό στόχο αποδίδονταν 0 βαθμοί, ενώ σε εκείνα τα άτομα που δεν επιτύγχαναν ένα στόχο και είχαν φτωχή διατροφή αποδίδονταν 2 βαθμοί. Το άθροισμα των 8 συνιστωσών δίνει ένα σκορ με εύρος τιμών από 0 (εξαιρετική διατροφή) έως το 16 (φτωχή διατροφή).

Μελέτες έχουν δείξει ότι πρόκειται για ένα δείκτη που αντανάκλα σε ικανοποιητικό βαθμό την ποιότητα της διατροφής, ο οποίος σχετίζεται σε μικρό βαθμό με την ολική και καρδιαγγειακή θνησιμότητα, όχι όμως και με τη θνησιμότητα λόγω καρκίνου (Patterson et al, 1994, Seymour et al, 2003).

### 1.2.3 O Healthy Diet Indicator (HDI)

Ο δείκτης αυτός αναπτύχθηκε από τον Huibregts και συνεργάτες του, βασιζόμενος στις οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (Π.Ο.Υ.) για την πρόληψη χρόνιων παθήσεων. Αποτελείται από τα ακόλουθα εννέα τρόφιμα και ομάδες τροφίμων: κορεσμένα λίπη, πολυακόρεστα λίπη, πρωτεΐνες, σύνθετοι υδατάνθρακες, διαιτητικές ίνες, φρούτα και λαχανικά, όσπρια/ξηροί καρποί/σπόρια, μόνο- και δισακχαρίτες και χοληστερόλη. Για καθεμιά από αυτές τις ομάδες δημιουργήθηκε μια διχότομη μεταβλητή που παίρνει τιμές 0 ή 1. Εάν η πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών ενός ατόμου ήταν μεταξύ των συνιστώμενων ορίων βάση των οδηγιών του Π.Ο.Υ., η μεταβλητή αυτή κωδικοποιείται ως «1» και στην αντίθετη περίπτωση ως «0». Το συνολικό σκορ που εξάγεται έχει ένα εύρος τιμών από 0 έως 9. Για την αποφυγή της υπερκάλυψης, το ολικό λίπος και οι συνολικά προσλαμβανόμενοι υδατάνθρακες παραλείφθηκαν στον υπολογισμό του HDI. Το αλάτι δεν συμπεριλήφθηκε διότι υπήρχαν πληροφορίες μόνο για την περιεκτικότητα του νατρίου στα τρόφιμα και δεν ήταν γνωστό το επιπρόσθετο αλάτι που χρησιμοποιούνταν στην προετοιμασία των γευμάτων και στο τραπέζι. Χρησιμοποιήθηκε η μεταβλητή «μόνο- και δισακχαρίτες» αντί για ελεύθερα σάκχαρα, γιατί η μεταβλητή αυτή δεν είναι συγκρινόμενη μεταξύ των χωρών. Η πρόσληψη των μακροθρεπτικών συστατικών υπολογίστηκε ως ποσοστό της προσλαμβανόμενης ενέργειας χωρίς να συνυπολογίζεται το αλκοόλ, δεδομένου ότι η πρόσληψη του έχει αυξηθεί σε ορισμένες χώρες της Νότιας Ευρώπης. Μελέτες έδειξαν ότι ο HDI σχετίζεται αντίστροφα με τη θνησιμότητα από κάθε αίτιο (Huibregts et al, 1997).

### 1.2.4 O Mediterranean Diet Score (MDS)

Ο δείκτης αυτός αποτιμά την υιοθέτηση της παραδοσιακής Μεσογειακής διαίτας. Για τη δημιουργία του χρησιμοποιήθηκαν 9 κριτήρια. Σε καθένα από αυτά τα κριτήρια αποδόθηκαν οι βαθμοί 0 και 1, χρησιμοποιώντας ως διαχωριστικό σημείο τη διάμεση

κατανάλωση των τροφίμων ανάλογα με το φύλο των συμμετεχόντων. Όταν η κατανάλωση των ευεργετικών συστατικών (π.χ. λαχανικά, όσπρια, φρούτα, δημητριακά) ήταν κάτω από τη διάμεση κατανάλωση, το κριτήριο έπαιρνε την τιμή «0», ενώ στην αντίθετη περίπτωση την τιμή «1». Από την άλλη μεριά όταν η πρόσληψη των «μη ευεργετικών» τροφίμων ήταν κάτω από τη διάμεση κατανάλωση (π.χ. κρέας και γαλακτοκομικά), το κριτήριο έπαιρνε την τιμή «1» και την τιμή «0» όταν η κατανάλωση ήταν μεγαλύτερη της διαμέσου. Για την πρόσληψη της αιθανόλης δόθηκε ο βαθμός «1» στους άνδρες και στις γυναίκες, που κατανάλωναν 10-50 g/ημέρα και 5-25 g/ημέρα. Για την πρόσληψη λιπιδίων χρησιμοποιήθηκε η αναλογία μονοακόρεστων προς κορεσμένα λίπη αντί για την αναλογία πολυακόρεστων προς κορεσμένων, διότι η χρήση των μονοακόρεστων είναι πολύ ευρύτερα διαδεδομένη από αυτή των πολυακόρεστων. Το συνολικό σκορ έχει ένα εύρος τιμών από 0 (ελάχιστη τήρηση της Μεσογειακής διαίτας) έως 9 (μέγιστη υιοθέτηση) (Trichoroulou et al, 1995). Η κλίμακα αυτή αποτελεί ένα πολύ καλό δείκτη για την εκτίμηση της υιοθέτησης σε ένα πρότυπο υγιεινής διαίτας π.χ. της Μεσογειακής και ένα πολύτιμο εργαλείο για την εκτίμηση του κινδύνου χρόνιων νοσημάτων (Kouris-Blazos et al, 1999, Lasheras et al, 2000, Haveman-Nies et al, 2002).

Στη συνέχεια, παρουσιάζονται συνοπτικά οι σημαντικότερες μελέτες που διερεύνησαν τη σχέση της Μεσογειακής διαίτας με τον καρκίνο, τα κυριότερα χαρακτηριστικά και ευρήματα των οποίων παρατίθενται στους Πίνακες 2 και 3.

### **1.3 Μελέτες για τη Μεσογειακή διαίτα**

#### **1.3.1 Η μελέτη των επτά χωρών**

Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν άνδρες, ηλικίας 40-59 ετών, οι οποίοι συλλέχθηκαν από το 1958 ως το 1964 από επτά χώρες (Ηνωμένες Πολιτείες, Ιταλία, Ιαπωνία, Ολλανδία, Ελλάδα, πρώην Γιουγκοσλαβία και Φιλανδία). Στην αρχή της μελέτης συλλέχθηκαν κοινωνικο-δημογραφικά, κλινικά, διατροφικά στοιχεία καθώς επίσης και πληροφορίες για τον τρόπο ζωής και την κατάσταση υγείας τους. Οι πληροφορίες

σχετικά με τη διατροφή τους συλλέχθηκαν σε μικρά τυχαία δείγματα (8-49 ανδρών) από καθένα κέντρο συμμετοχής, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της καταγραφής (Keys, et al, 1986). Μεταξύ των κέντρων της μελέτης βρέθηκαν μεγάλες διαφοροποιήσεις, έως και 10 φορές, στα ποσοστά θνησιμότητας στη 15ετία όταν έγινε εξομοίωση ως προς την ηλικία (Tyrovolas, et al, 2010).

Οι οικολογικές συγκρίσεις αποκάλυψαν ότι οι χώρες που βρέχονταν από τη Μεσόγειο εμφάνιζαν τα μικρότερα ποσοστά συνολικής νοσηρότητας και θνησιμότητας από καρδιαγγειακά και καρκίνο. Συστατικά στοιχεία της Μεσογειακής δίαιτας, όπως είναι τα τρόφιμα φυτικής προέλευσης (φρούτα, λαχανικά, ολικής άλεσης), η πρόσληψη διαιτητικών ινών, η βιταμίνη Β6 και η α-τοκοφερόλη βρέθηκαν να σχετίζονται αντίστροφα με τα ποσοστά θνησιμότητας από καρκίνο του παχέος εντέρου (Jansen, et al, 1999). Πιο συγκεκριμένα, αύξηση της ημερήσιας κατανάλωσης διαιτητικών ινών κατά 10 γραμμάρια συσχετιζόταν με 33% μικρότερη θνησιμότητα στην 25ετία από τον καρκίνο αυτό. Η ίδια μελέτη έδειξε ότι ο καρκίνος του πνεύμονα σχετιζόταν θετικά με τη μέση κατανάλωση λίπους. Ειδικότερα, μια αύξηση της τάξης των 4,6 γραμμαρίων της ημερήσιας πρόσληψης κορεσμένων λιπαρών οξέων σχετιζόταν με 10% υψηλότερο κίνδυνο θανάτου από καρκίνο του πνεύμονα στην 25ετία, χωρίς να ισχύει το ίδιο και για την πρόσληψη ακόρεστων λιπαρών οξέων. Το εύρημα αυτό είναι εξαιρετικής σημασίας δεδομένης της περιεκτικότητας της Μεσογειακής δίαιτας σε κορεσμένα και ακόρεστα λιπαρά οξέα. Επιπρόσθετα, η υψηλή περιεκτικότητα της Μεσογειακής δίαιτας σε λαχανικά, φρέσκα φρούτα, δημητριακά και ελαιόλαδο εξασφαλίζει υψηλή πρόσληψη β-καροτενίου, βιταμινών C και E, πολυφαινολών, καθώς και άλλων σημαντικών μετάλλων (Mulder, et al, 2000).

Στην υπό-μελέτη των Επτά Χωρών στην περιοχή της Κέρκυρας, μετά από προοπτική παρακολούθηση 40ετίας πέθανε το 87,1% (461 θάνατοι στους 529 συμμετέχοντες). Δεύτερη αιτία θανάτου αναδείχτηκε ο καρκίνος (118 θάνατοι, 25,6%), 30 εκ των οποίων ήταν κακοήθειες τραχείας και πνεύμονα. Η ηλικία και το κάπνισμα αύξαναν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου, ενώ οι μέτριες συγκεντρώσεις χοληστερόλης ορού και ο αυξημένος δείκτης μάζας σώματος είχαν προστατευτική επίδραση στην θνησιμότητα κατά την 40ετή παρακολούθηση (Panagiotakos, et al,



2005). Έτσι, η μεσογειακή διαίτα βρέθηκε να έχει προστατευτική επίδραση στην θνησιμότητα από καρκίνο.

### **1.3.2 Η μελέτη Lyon Diet Heart**

Πρόκειται για μια τυχαιοποιημένη μελέτη 605 ασθενών με στεφανιαία νόσο, οι οποίοι ακολούθησαν για χρονικό διάστημα τεσσάρων ετών είτε τη Μεσογειακή διαίτα (ομάδα παρέμβασης) ή μία διαίτα (ομάδα ελέγχου) παρόμοια με την step 1 διαίτα της Αμερικάνικης Καρδιολογικής Εταιρείας (χαρακτηριζόμενη από πρόσληψη λίπους στο 30% της συνολικής ενέργειας, 10% κορεσμένα, 10% μονοακόρεστα και 10% πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, και πρόσληψη χοληστερόλης μικρότερη των 300mg ημερησίως). Το σημαντικό εύρημα της μελέτης αυτής ήταν ότι η ομάδα παρέμβασης παρουσίασε μείωση κατά 61% της επίπτωσης του καρκίνου και υψηλότερη πρόσληψη φρούτων, λαχανικών, δημητριακών, ολεϊκού, ω-3 λιπαρών οξέων, βιταμίνης C και E. Επιπλέον, η ομάδα αυτή εμφάνισε μειωμένη πρόσληψη χοληστερόλης, κορεσμένων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Συγκριτικά οι δύο ομάδες, η ομάδα ελέγχου και η ομάδα παρέμβασης εμφάνισαν αντίστοιχα, 4 και 1 καρκίνο του πεπτικού, 4 και 1 καρκίνο του ουροποιητικού, 3 και 0 καρκίνους του φάρυγγα και 2 και 4 καρκίνους του πνεύμονα. Αυτά τα αποτελέσματα σχετίστηκαν με την υψηλή κατανάλωση φρέσκων φρούτων και λαχανικών που παρέχουν μεγάλες ποσότητες φυσικών αντιοξειδωτικών, τα οποία με τη σειρά τους προστατεύουν από την καρκινογένεση, αλλά και από την υψηλή περιεκτικότητα της Μεσογειακής διαίτας σε ω-3 λιπαρά οξέα (De Lorgeril, et al, 1998).

### **1.3.3 Η Σουηδική μελέτη κοορτής**

Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 42237 γυναίκες, ηλικίας 30-49 ετών, οι οποίες συλλέχθηκαν το 1991-2 και παρακολούθηθηκαν για περίπου 12 έτη. Η υιοθέτηση της μεσογειακής διαίτας αποτιμήθηκε με τη χρήση διατροφικού δείκτη αποτελούμενου

από 10 συνιστώσες. Καμία συσχέτιση δε βρέθηκε μεταξύ της Μεσογειακής δίαιτας και της θνησιμότητας από καρκίνο σε γυναίκες ηλικίας μικρότερης των 40 ετών κατά την έναρξη της έρευνας, δεδομένου ότι σε πολύ μικρές ηλικίες η θνησιμότητα από καρκίνο οφείλεται κυρίως σε γενετικούς παράγοντες. Αντίθετα, για τις γυναίκες ηλικίας 40-49 ετών στην έναρξη της μελέτης, βρέθηκε ότι αύξηση κατά 2 μονάδες στο σκορ της Μεσογειακής δίαιτας συσχετιζόταν αντίστροφα με τη συνολική θνησιμότητα (13%, 95% ΔΕ), αλλά όχι στατιστικά σημαντικά με την θνησιμότητα λόγω καρκίνου (16%, 95% ΔΕ). Αν και δε βρέθηκαν συγκεκριμένες συσχετίσεις μεταξύ της θνησιμότητας από καρκίνο και των ηλικιακών ομάδων, εντούτοις, η υιοθέτηση της Μεσογειακής δίαιτας θα μπορούσε να είναι ευεργετική και σε μη Μεσογειακούς πληθυσμούς, ακόμη και σε γυναίκες ηλικίας 40-49 ετών (Lagiou, et al, 2006).

#### **1.3.4 Η Ευρωπαϊκή μελέτη για τον κίνδυνο επανεμφάνισης αδενωμάτων στο παχύ έντερο**

Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 277 άνδρες και 165 γυναίκες χωρίς ιστορικό αδενωμάτων πριν την υποβολή τους σε κολonosκόπηση. Το κρίσιμο χρονικό διάστημα ήταν η επανεμφάνιση αδενωμάτων στην τριετία (92 ασθενείς, 65 άνδρες και 27 γυναίκες). Η αναγνώριση των διατροφικών προτύπων έγινε με την ανάλυση της κατανάλωσης 50 ομάδων τροφίμων. Τρία διατροφικά πρότυπα, αυτό της Μεσογειακής δίαιτας, της κατανάλωσης γλυκών και σνακ και αυτό με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και πρωτεΐνες ερμήνευσαν τη διαφοροποίηση σε ποσοστό 21,3% και 21,9% στους άνδρες και τις γυναίκες, αντίστοιχα. Καμία συσχέτιση ανάμεσα στον δυτικό τρόπο διατροφής και την επανεμφάνιση αδενωμάτων στις γυναίκες δε βρέθηκε, ενώ το Μεσογειακό διατροφικό πρότυπο βρέθηκε να δρα προστατευτικά (Cottet, et al, 2005).

### 1.3.5 Η Ευρωπαϊκή προοπτική μελέτη για τον καρκίνο και τη διατροφή

Πρόκειται για μία Ευρωπαϊκή πολυκεντρική προοπτική μελέτη που συντονίζεται από το IARC (International agency for Research on cancer) και μελετά το ρόλο βιολογικών, διατροφικών και περιβαλλοντικών παραγόντων στον καρκίνο και άλλα χρόνια νοσήματα. Η πρώτη μελέτη που δημοσιεύτηκε για τη συσχέτιση της Μεσογειακής δίαιτας με τον καρκίνο ήταν από την ομάδα της Τριχοπούλου (Trichorouliou, et al, 2003). Σε 22043 ενήλικες με μέση διάρκεια παρακολούθησης 44 μηνών, αύξηση κατά 2 μονάδες του σκορ της Μεσογειακής δίαιτας βρέθηκε να συσχετίζεται αντίστροφα με τη συνολική θνησιμότητα και τη θνησιμότητα λόγω καρκίνου. Η συσχέτιση αυτή βρέθηκε να ισχύει για ενήλικες μεγαλύτερους των 55 ετών, ανεξάρτητα από το φύλο, τις καπνιστικές συνήθειες, το επίπεδο μόρφωσης, το δείκτη μάζας σώματος, το πηλίκιο περιφέρειας μέσης/περιφέρειας ισχίων και τη φυσική κατάσταση, και επιπλέον δεν υπήρχε αλληλεπίδραση των ανωτέρω μεταβλητών. Στην ίδια μελέτη, μετέπειτα αναλύσεις μετά από 7,9 έτη παρακολούθησης βρέθηκαν 851 ιατρικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις καρκίνου (421 άνδρες, 430 γυναίκες). Ομοίως, αύξηση κατά 2 μονάδες του σκορ της Μεσογειακής δίαιτας οδηγούσε σε 12% μείωση της επίπτωσης του καρκίνου, με τη συσχέτιση να εξαρτάται από την έκθεση και να είναι ισχυρότερη στις γυναίκες (Benetou, et al, 2008).

Μετά από 8,9 έτη παρακολούθησης και στις 10 Ευρωπαϊκές χώρες της μελέτης, από τους 485.044 συμμετέχοντες ηλικίας 35-70 ετών, καταγράφηκαν 449 διαγνωσμένες περιπτώσεις αδενοκαρκινώματος του στομάχου. Για την αποτίμηση της Μεσογειακής δίαιτας χρησιμοποιήθηκε ένας σχετικός δείκτης Μεσογειακής δίαιτας (rMED) αποτελούμενος από 9 συνιστώσες με 18 μονάδες και βρέθηκε ότι συγκρίνοντας την υψηλού με τη χαμηλού βαθμού υιοθέτηση της Μεσογειακής δίαιτας, υπάρχει στατιστικά σημαντική μείωση του κινδύνου και στα δύο φύλα. Συγκεκριμένα, αύξηση κατά 1 μονάδα του σχετιζόταν με 5% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του στομάχου (Buckland, et al, 2010). Στη Γαλλική μελέτη της E3N-EPIC, μελετήθηκαν διάφορα πρότυπα ως προς τη συσχέτισή τους με τον καρκίνο του μαστού και κυρίως με τον τύπο θετικών οιστρογονικών/αρνητικών προγεστερονικών

υποδοχέων στους όγκους. Το «υγιεινό / Μεσογειακό» πρότυπο βρέθηκε να σχετίζεται αρνητικά με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Cottet, et al, 2009). Στο σύνολο της μελέτης EPIC, επιμέρους αναλύσεις των συστατικών της Μεσογειακής δίαιτας, έδειξαν ότι η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών συσχετίζεται αντίστροφα με το συνολικό κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου (Boffetta, et al, 2010). Η συσχέτιση ανάμεσα στα λαχανικά και τη μείωση κινδύνου εμφάνισης καρκίνου ίσχυε μόνο για τις γυναίκες, ενώ οι συσχετίσεις ήταν παρόμοιες για τα φρούτα και λαχανικά μαζί.

### **1.3.6 Μεσογειακή δίαιτα και κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου σε Ιταλικές μελέτες**

Τρεις μελέτες ασθενών-μαρτύρων διεξήχθησαν στην Ιταλία μεταξύ 1992 και 2000 με σκοπό τη διερεύνηση της υπόθεσης αν η Μεσογειακή δίαιτα και άλλοι δείκτες έχουν προστατευτικό ρόλο στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ανωτέρου αναπνευστικού συστήματος (Bosetti, et al, 2003). Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 1362 ασθενείς, 598 με καρκίνο στοματικής κοιλότητας και φάρυγγα (Franceschi, et al, 1999), 304 με πλακώδες καρκίνωμα του οισοφάγου (Bosetti, et al, 2000), 460 με καρκίνο του λάρυγγα (Bosetti, et al, 2002) και 3.322 άλλοι ενδονοσοκομειακοί ασθενείς ως μάρτυρες. Χρησιμοποιήθηκε μια κλίμακα 8 μονάδων. Μετά από πολυπαραγοντικές εξομοιώσεις, συμπεριλαμβανομένου και της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης, βρέθηκε στατιστικά σημαντική μείωση του συνολικού κινδύνου εμφάνισης καρκίνου όσο αυξανόταν το σκορ της Μεσογειακής δίαιτας. Για καθένα από τους διαφορετικούς τύπους καρκίνου, λαμβάνοντας υπόψη όλους τους γνωστούς παράγοντες κινδύνου, οι σχετικοί λόγοι που προέκυψαν από τη σύγκριση ατόμων με 6 ή περισσότερα χαρακτηριστικά της Μεσογειακής δίαιτας με αυτά με λιγότερο από 3, ευνοούσαν την υιοθέτηση της Μεσογειακής δίαιτας, και πιο συγκεκριμένα ήταν 0,40 για τους καρκίνους στοματικής κοιλότητας και φάρυγγα, 0,26 για καρκίνο του οισοφάγου και 0,23 για καρκίνο του λάρυγγα (Bosetti, et al, 2003, Franceschi, et al, 1999, Bosetti, et al, 2000, Bosetti, et al, 2002). Στους προτεινόμενους μηχανισμούς για την ερμηνεία της προστατευτικής επίδρασης οι συγγραφείς περιλαμβάνουν την υψηλή πρόσληψη μικροθρεπτικών συστατικών με

αντιοξειδωτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες, καθώς επίσης και του ελαϊκού οξέος (Bosetti, et al, 2003).

Την προστατευτική επίδραση της Μεσογειακής δίαιτας στην Ιταλία έδειξαν και οικολογικές συγκρίσεις στις οποίες βρέθηκε η προστατευτική επίδραση της Μεσογειακής δίαιτας στη θνησιμότητα από καρκίνο (De Lorenzo, et al, 1999), αλλά και αυτή των διαφόρων συστατικών της Μεσογειακής δίαιτας στον καρκίνο του πνεύμονα (Fortes, et al, 2003) και του μελανώματος (Fortes, et al, 2008), χωρίς όμως να χρησιμοποιηθεί κάποιος συγκεκριμένος διατροφικός δείκτης.

### **1.3.7 Η μελέτη της Μινεσότα για τον καρκίνο του μαστού**

Η Μεσογειακή δίαιτα έχει μελετηθεί για τη συσχέτισή της και με τις προκαρκινικές αλλοιώσεις. Δείγμα 1.286 γυναικών από την ανωτέρω μελέτη, χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση της πιθανής συσχέτισης μεταξύ Μεσογειακής δίαιτας και πυκνότητας μαστικού αδένου, ο οποίος αποτελεί παράγοντα κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Όλες οι συμμετέχουσες συμπλήρωσαν ερωτηματολόγιο διατροφής και υποβλήθηκαν σε μαστογραφία. Από τη μελέτη δεν προέκυψε καθαρή συσχέτιση σε πολυπαραγοντική ανάλυση της υιοθέτησης της Μεσογειακής δίαιτας με το ποσοστό της πυκνότητας, παρά μόνο για τις τρέχουσες καπνίστριες, όπου βρέθηκε στατιστικά σημαντική αντίστροφη συσχέτιση της Μεσογειακής δίαιτας με το ποσοστό της πυκνότητας του μαστικού αδένου. Η σχέση αυτή αποτελεί ένδειξη της πιθανής προστατευτικής επίδρασης των υγιεινών προτύπων διατροφής απέναντι στις βλαβερές επιπτώσεις του καπνίσματος (Tseng, et al, 2008).

### **1.3.8 Η NIH-AARP Diet and Health μελέτη (National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study)**

Οι ερευνητές της μελέτης αυτής ανέλυσαν δεδομένα 492.382 συμμετεχόντων (59,6% άνδρες) και σύγκριναν πώς τέσσερις διατροφικοί δείκτες (HEI-2005, AHEI, MED Score, RFS) σχετίζονται με την επίπτωση του καρκίνου του κολοορθικού και τη

θνησιμότητα από τον καρκίνο συνολικά (Reedy, et al, 2008). Το σκορ κάθε διατροφικού δείκτη υπολογίστηκε με τη χρήση του MyPyramid Equivalents Database από τα στοιχεία ενός ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων 124 ερωτήσεων που συμπλήρωσαν όλοι οι συμμετέχοντες στην αρχή της μελέτης (1995-1996). Επιπλέον, στις μεταβλητές περιελήφθησαν η ενέργεια, διάφορα θρεπτικά συστατικά, πολυβιταμινούχα σκευάσματα και η κατανάλωση αλκοόλ. Κατά την 5ετή διάρκεια παρακολούθησης, καταγράφηκαν 5985 θάνατοι από καρκίνο (Mitrou et al, 2007) και 3110 περιπτώσεις κολορθικού καρκίνου (Reedy et al, 2008). Η Μεσογειακή δίαιτα βρέθηκε να συσχετίζεται με μειωμένη συνολική καρκινική θνησιμότητα και επίπτωση του κολορθικού καρκίνου. Και οι τέσσερις διατροφικοί δείκτες αν και έχουν κατασκευαστεί με διαφορετικό τρόπο, φάνηκε να έχουν παρόμοια προστατευτική επίδραση στην εμφάνιση κολορθικού καρκίνου στους άνδρες (συγκρίσεις των υψηλότερων με τα χαμηλότερα σκορ): HEI-2005 (0,62-0,83), AHEI (0,61-0,81), MED Score (0,63-0,83) και RFS (0,65-0,87). Στις γυναίκες στατιστικά σημαντική μείωση του κινδύνου βρέθηκε μόνο με το HEI-2005 (0,64-0,98), ενώ από την πολυπαραγοντική ανάλυση του υψηλού προς του χαμηλού βαθμού υιοθέτησης της Μεσογειακής δίαιτας ο αντίστοιχος σχετικός λόγος ήταν 0,89. Από τα συστατικά της Μεσογειακής δίαιτας, η πρόσληψη προϊόντων ολικής άλεσης συσχετιζόταν με μείωση του κινδύνου εμφάνισης κολορθικού καρκίνου (Reedy et al, 2008). Η κατανάλωση φρούτων δεν εμφάνισε καμία συσχέτιση το συνολικό κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες. Από λεπτομερή ανάλυση των διαιτητικών ινών, η συνολική κατανάλωση τους δεν βρέθηκε να επηρεάζει την εμφάνιση αυτής της μορφής καρκίνου, με μοναδική εξαίρεση τις διαιτητικές ίνες από δημητριακά και προϊόντα ολικής άλεσης τα οποία βρέθηκαν να σχετίζονται αντίστροφα, με την τελευταία συσχέτιση να είναι ισχυρότερη για τον καρκίνο του ορθού σε σύγκριση με τον καρκίνο του κόλου (Schatzkin et al, 2007). Αντίθετα με τα φρούτα, η κατανάλωση πράσινων φυλλωδών λαχανικών σχετιζόταν με μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου παχέος εντέρου στους άνδρες (Park et al, 2007). Από την άλλη πλευρά, διατροφικά πρότυπα χαρακτηριζόμενα από μειωμένη κατανάλωση κρέατος και πατάτας, με ταυτόχρονη υψηλή κατανάλωση φρούτων, λαχανικών και τροφίμων με χαμηλά λιπαρά βρέθηκαν να έχουν προστατευτική επίδραση (Flood et al, 2008). Όταν διερευνήθηκε η συνολική

θνησιμότητα και αυτή από τον καρκίνο, η Μεσογειακή διαίτα βρέθηκε να έχει προστατευτική επίδραση και σε μη Μεσογειακούς πληθυσμούς, όπου υψηλού βαθμού υιοθέτηση της Μεσογειακής διαίτας βρέθηκε να σχετίζεται με μείωση κατά 21% της συνολικής θνησιμότητας και 17% της θνησιμότητας από καρκίνο (Mitrou et al, 2007).

### **1.3.9 Η San Francisco Bay Area μελέτη**

Πρόκειται για μελέτη ασθενών μαρτύρων για τον καρκίνο του ενδομητρίου, η οποία διεξήχθη από 1996 έως το 1999 και στην οποία συμμετείχαν λευκές, Αφρο-Αμερικάνες και Λατίνες γυναίκες ηλικίας 35-79 ετών. Η αναγνώριση των διατροφικών προτύπων έγινε με ανάλυση κύριων συνιστωσών, εξαγωγή σκορ ανάλογα με το βαθμό υιοθέτησης της Μεσογειακής διαίτας, στην οποία τα φρούτα και λαχανικά και το διατροφικό λίπος αποτελούσαν μία κατηγορία. Καμία συσχέτιση του βαθμού υιοθέτησης της Μεσογειακής διαίτας με τον καρκίνο του ενδομητρίου δεν βρέθηκε (Dalvi et al, 2007).

### **1.3.10 Μεσογειακή διαίτα σε γαλλο-καναδικές οικογένειες**

Πέρα από το ρόλο της Μεσογειακής διαίτας στο είδος των οιστρογονικών και προγεστερογονικών υποδοχέων στον καρκίνο του μαστού έχει μελετηθεί και η σχέση της με τις μεταλλάξεις των γονιδίων BRCA. Σε μία μελέτη ασθενών μαρτύρων, τμήμα προοπτικής μελέτης 80 γάλλο-καναδικών οικογενειών, στην οποία συμμετείχαν 89 φορείς των BRCA γονιδίων με καρκίνο του μαστού, 48 φορείς χωρίς τη νόσο και 48 υγιείς μη φορείς, μελετήθηκε η επίδραση των ακόλουθων διατροφικών δεικτών: AHEI, DQI-R, aMED και ο CHEI (Canadian Healthy Eating Index). Η Μεσογειακή διαίτα δεν βρέθηκε να έχει καμία σχέση με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού σε φορείς των BRCA. Αντίθετα τόσο ο DQI-R και ο CHEI βρέθηκαν να δρουν προστατευτικά (Nkondjock et al, 2007).

### **1.3.11 Η Los Angeles County μελέτη**

Στην μελέτη αυτή που αφορά τον καρκίνο του μαστού συμμετείχαν 1248 γυναίκες (Ασιατο-αμερικάνες, κυρίως Κινέζες, Γιαπωνέζες και Φιλιπινέζες ηλικίας 25-74 ετών) με τη νόσο και 1148 μάρτυρες, εξομοιωμένοι ως προς την ηλικία, την εθνικότητα και τη γειννίαση. Μετά από εξομοίωση του δείγματος για όλους τους γνωστούς παράγοντες κινδύνου βρέθηκε ότι η υιοθέτηση της Μεσογειακής δίαιτας σχετιζόταν αντίστροφα με τον κίνδυνο στις γυναίκες με τα υψηλότερα ξ8) σε σύγκριση με αυτές με τα χαμηλότερα σκορ (Wu et al, 2009). Αύξηση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού βρέθηκε και από άλλα διατροφικά πρότυπα όπως το δυτικό πρότυπο υψηλής κατανάλωσης κρέατος και αμυλούχων, το εθνικό πρότυπο υψηλής κατανάλωσης κρέατος/αμυλούχων και μειωμένης κατανάλωσης λαχανικών και σόγιας.

### **1.3.12 Η Four-Corners Breast Cancer μελέτη**

Σε αυτή τη μελέτη ασθενών – μαρτύρων εξετάστηκαν οι συσχετίσεις πέντε διατροφικών προτύπων [δυτικού (western), συνετού (prudent), Μεξικανικού (native Mexican), μεσογειακού (Mediterranean) και αδυνατίσματος (dieter)] με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού σε Ισπανόφωνες (757 ασθενείς, 876 μάρτυρες) και μη Ισπανόφωνες λευκές γυναίκες (1524 ασθενείς, 1598 μάρτυρες). Από την πολυπαραγοντική ανάλυση προέκυψε ότι το Μεξικανικό και το Μεσογειακό διατροφικό πρότυπο σχετιζόνταν με μικρότερο κίνδυνο, ενώ το δυτικό και το συνετό διατροφικά μοντέλα με υψηλότερο κίνδυνο. Η συσχέτιση της Μεσογειακής δίαιτας ήταν περισσότερο ισχυρή σε μετεμμηνοπαυσιακές Ισπανόφωνες γυναίκες με τη μεγαλύτερη υιοθέτηση της Μεσογειακής δίαιτας (Murtaugh et al, 2008).



### 1.3.13 Η μελέτη ARCAGE

Πρόκειται για πολυκεντρική μελέτη ασθενών - μαρτύρων για τη διερεύνηση των καρκίνων του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος. Στο ελληνικό τμήμα της μελέτης, στο χρονικό διάστημα 2002-2005 συμπεριλήφθησαν 239 ασθενείς (109 με καρκίνο στοματικής κοιλότητας ή φάρυγγα, 108 με καρκίνο του λάρυγγα και 22 με καρκίνο του οισοφάγου) και 194 υγιείς. Από τον υπολογισμό του MDS βρέθηκε ότι όσο υψηλότερο ήταν το σκορ (καλύτερη υιοθέτηση της Μεσογειακής διαίτας) τόσο μικρότερες ήταν οι πιθανότητες να έχει κάποιος καρκίνο του ανώτερου αναπνευστικού. Συγκεκριμένα, αύξηση του σκορ κατά δύο μονάδες οδηγούσε σε μείωση των πιθανοτήτων κατά 30% (Samoli et al, 2010).

Μελέτη	Χώρα	Έτος	N	Εύρος ηλικιών	Κύρια ευρήματα	
Seven Countries study (Jansen et al, 1999; Panagiotakos et al, 2005)	Η.Π.Α., Ιταλία, Ιαπωνία, Κάτω Χώρες, Ελλάδα, Πρώην Γιουγκοσλαβία, Φιλανδία	1958-1964	12763, άνδρες	100%	40-59	Αύξηση της ημερήσια κατανάλωσης διαιτητικών ινών συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο θνησιμότητας από κολοορθικό καρκίνο στην 25ετία, ενώ αύξηση της ημερήσιας κατανάλωσης κορεσμένων λιπών συσχετίστηκε με υψηλότερο κίνδυνο θνησιμότητας από καρκίνο του πνεύμονα στην 25ετία.
Sweden cohort study (Lagiou et al, 2006)	Σουηδία	1991-1992	42237, άνδρες	0%	30-49	Καμία συσχέτιση δεν βρέθηκε μεταξύ ΜΔ και θνησιμότητας από καρκίνο σε γυναίκες ηλικίας
European trial for the risk of colorectal adenoma recurrence (Cottet et al, 2005)	Ευρώπη	1991-1994	442, άνδρες	62,7%	35-75	Η ΜΔ μείωσε την επανεμφάνιση αδενωμάτων.
EPIC study (Trichopoulou et al, 2002; Benetou et al, 2008; Buckland et al, 2010; Cottev et al, 2005)	Ευρώπη	1992-2000	519978, άνδρες	27,8%	20+	Η υιοθέτηση της ΜΔ σχετίστηκε με μειωμένη θνησιμότητα και νοσηρότητα από καρκίνο στην ελληνική μελέτη της EPIC. Στο σύνολο της μελέτης υπήρχε αντίστροφη συσχέτιση της ΜΔ με τον καρκίνο του στομάχου, ενώ στη γαλλική μελέτη η ΜΔ σχετίστηκε αντίστροφα με την εμφάνιση καρκίνου του μαστού.
Minnesota Breast Cancer Family study (Tseng et al, 2008)	Η.Π.Α.	1990	1286, 0% άνδρες		45-69	Η ΜΔ και το ποσοστό πυκνότητας του μαστού σχετίζονται αντίστροφα σε καπνιστές, αλλά όχι σε μη καπνιστές.
NIH-AARP Diet and Health Study (Reedy et al, 2008; Mitrou et al, 2007)	Η.Π.Α.	1995	492382, άνδρες	59,6%	50-69	Η ΜΔ σχετίστηκε με μειωμένη συνολική θνησιμότητα από καρκίνο και μειωμένη επίπτωση κολοορθικού καρκίνου.

**Πίνακας 2.** Συνοπτική παρουσίαση των προοπτικών μελετών αξιολόγησης του ρόλου της Μεσογειακής διαίτας (ΜΔ) στην επιδημιολογία του καρκίνου.

Μελέτη	ARCAGE study (ελληνικό τμήμα της μελέτης) (Samoli et al, 2010)	Four-Corners Breast Cancer study (Murtaugh et al, 2008)	The San Francisco Bay Area (Dalvi et al, 2007)	Los Angeles County study (Wu et al, 2009)	French-Canadian families (Nkondjock & Ghadirian, 2007)	Ιταλική μελέτη για τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του λάρυγγα (Bosetti et al, 2003; Bosetti et al, 2003; Franceschi et al, 2003)	Ιταλική μελέτη για τον κίνδυνο εμφάνισης πλακώδους καρκίνου	Ιταλική μελέτη για τον καρκίνο στοματικής κοιλότητας και φάρυγγα (Bosetti et al, 2003; Franceschi et al, 2003)
<b>Χώρα</b>	Η.Π.Α.	Η.Π.Α.	Η.Π.Α.	Η.Π.Α.	Καναδάς	Ιταλία	Ιταλία	Ιταλία
<b>Έτος</b>	2002-2005	1999-	1996-	1995-	1995	1992-2000	1992-	1992-1997
<b>N</b>	239 ασθενείς/ 194 υγιείς	Ισπανόφωνες (757 ασθενείς / 867 μάρτυρες) Μη-Ισπανόφωνες (1524 ασθενείς)	500 ασθενείς / 470 μάρτυρες	1248 ασθενείς / 1148 μάρτυρες	280 (89 ασθενείς, 48 μάρτυρες-A, 46 μάρτυρες - B)	527 ασθενείς, 1297 μάρτυρες	304 ασθενείς / 743 μάρτυρες	598 ασθενείς, 1491 μάρτυρες
<b>Εύρος</b>	59-62	25-79	35-79	25-74	42-68	30-79 ασθενείς	39-77	22-77 για τους
<b>Κύρια ευρήματα</b>	Αύξηση του σκορ υιοθέτησης της ΜΔ κατά δύο μονάδες σχετίστηκε με 30% μείωση των πιθανοτήτων για καρκίνο του ανώτερου αναπνευστικού.	Το μοντέλο της ΜΔ και το μεξικανικό σχετίστηκαν με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του	Η ΜΔ δεν σχετίστηκε με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του ενδομητρίου.	Η ΜΔ σχετίστηκε με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού.	Η ΜΔ δεν παρουσίασε καμία συσχέτιση με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού σχετικά με το BRCA.	Η ΜΔ σχετίστηκε με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του λάρυγγα.	Η ΜΔ σχετίστηκε με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του οισοφάγου.	Η ΜΔ σχετίστηκε με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του στοματικού φάρυγγα.

**Πίνακας 3.** Συνοπτική παρουσίαση των μελετών ασθενών – μαρτύρων για τη διερεύνηση του ρόλου της Μεσογειακής διαίτας (ΜΔ) στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου.

Από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση είναι προφανές ότι η Μεσογειακή δίαιτα έχει σημαντικά οφέλη για τη συνολική υγεία και την πρόληψη χρόνιων νοσημάτων, όπως είναι τα καρδιαγγειακά. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει μία προστατευτική δράση της Μεσογειακής διαίτας στη συνολική επίπτωση και θνησιμότητα του καρκίνου, και παρά το γεγονός ότι σε κάποιες μελέτες αυτή η συσχέτιση δεν ήταν στατιστικά σημαντική, εντούτοις καμία μελέτη δεν έδειξε να υπάρχει αρνητική επίδραση του διατροφικού αυτού προτύπου. Πλέον, οι μελέτες αλλά και οι συστάσεις για την πρόληψη του καρκίνου βασίζονται στη μελέτη διατροφικών προτύπων και όχι μεμονωμένων θρεπτικών συστατικών ή μεμονωμένων τροφίμων (WCRF et al, 2007; Markaki et al, 2003).

Σημαντικός περιορισμός όλων των μελετών της ανασκόπησης αποτελεί το γεγονός ότι δεν υπάρχει ένα μόνο σαφώς ορισμένο διατροφικό μοντέλο της Μεσογειακής διαίτας, αλλά πολλές και διαφορετικά Μεσογειακά Διατροφικά πρότυπα. Στον παραπάνω περιορισμό αξίζει να προστεθεί και το γεγονός ότι υπάρχουν πολλοί και διαφορετικοί έγκυροι διατροφικοί δείκτες που αποτιμούν την υιοθέτηση της Μεσογειακής διαίτας. Παρόλο που όλοι οι διατροφικοί δείκτες χρησιμοποιούν ως συστατικά τους τυπικές ομάδες τροφίμων που χαρακτηρίζουν τη Μεσογειακή δίαιτα, ούτε ο αριθμός των συνιστωσών, ούτε ο τρόπος βαθμονόμησής τους στην εξίσωση ή το εύρος του τελικού σκορ είναι το ίδιο. Οι διαφοροποιήσεις αυτές μεταξύ των δεικτών δύναται να επηρεάζουν την ισχύ των συσχετίσεων σε κλινικές και μελέτες παρατήρησης.

Επιπλέον, καμία από τις προαναφερθείσες μελέτες η οποία εφάρμοσε διακρίνουσα ανάλυση για τη διαβάθμιση των επιμέρους συστατικών του σκορ, δεν χρησιμοποίησε τα αποτελέσματά της για τη δημιουργία ενός νέου διατροφικού δείκτη έγκυρου και εξειδικευμένου για την πρόβλεψη της εμφάνισης καρκίνου ανά τοποθεσία. Θα μπορούσε συνεπώς να προταθεί ότι οι μελλοντικές μελέτες πρέπει να χρησιμοποιούν εξειδικευμένους και έγκυρους για τον καρκίνο διατροφικούς δείκτες, προκειμένου να προκύψουν τεκμηριωμένα στοιχεία για τους πιθανούς μηχανισμούς με τους οποίους η διατροφή επηρεάζει την εμφάνιση και ανάπτυξη του καρκίνου. Επιπλέον, καθίσταται εμφανές ότι η πλειοψηφία των μελετών διερευνούσε τη συσχέτιση της Μεσογειακής διαίτας με τον καρκίνο του μαστού και πολλοί λίγες αναφέρονταν στο καρκίνο του πεπτικού ή και του ανώτερου αναπνευστικού

συστήματος. Πέρα από τις μεθοδολογικές διαφορές των μελετών που αφορούν τους διατροφικούς δείκτες διαφορές υπήρχαν στην στατιστική ανάλυση και στη χρήση των συγχυτικών παραγόντων.

Τέλος, καλύτερα μεθοδολογικά σχεδιασμένες μελέτες διερεύνησης της επίδρασης της Μεσογειακής δίαιτας με τη χρήση έγκυρων και εξειδικευμένων ανά είδος καρκίνου διατροφικών δεικτών, στις οποίες θα ληφθούν υπόψη όλοι οι γνωστοί συσχετικοί παράγοντες, θα μπορούσαν να ρίξουν φως στο ρόλο του διατροφικού αυτού προτύπου στην επιδημιολογία του καρκίνου.

## 2. Μικρού μοριακού βάρους αντιοξειδωτικές ενώσεις

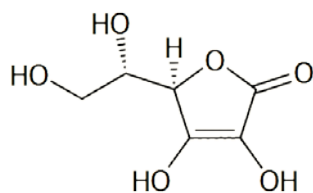
Υπάρχουν αρκετά μικρά μόρια τα οποία θεωρούνται ως σημαντικά αντιοξειδωτικά. Κάποια από αυτά συντίθενται *in vivo*, ενώ για άλλα είναι απαραίτητη η πρόσληψή τους μέσω της διατροφής. Τα μόρια αυτά, όπως είναι το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), η α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E), το β-καροτένιο, η ουμπικινόνη, το ουρικό οξύ κ.ά. ονομάζονται συνήθως “εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών” (free radical scavengers) ή “αντιοξειδωτικά”.

### 2.1 Αντιοξειδωτικές ενώσεις της διατροφής

Στις ενώσεις αυτές περιλαμβάνονται μόρια που δεν μπορούν να συντεθούν στον οργανισμό και ως εκ τούτου πρέπει να προσληφθούν μέσω της διατροφής. Πιστεύεται ότι δρουν ως αντιοξειδωτικά, μπορούν δηλαδή να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες. Στην ομάδα αυτή περιλαμβάνονται το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), τα φλαβονοειδή και τα καροτενοειδή.

#### 2.1.1 Ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C)

Το ασκορβικό οξύ (Σχήμα 2) είναι το κυριότερο υδατοδιαλυτό εξωκυτταρικό αντιοξειδωτικό που ο ανθρώπινος οργανισμός αδυνατεί να συνθέσει *de novo*. Είναι ιδανικό χάρη στην υδατοδιαλυτότητα, σταθερότητα και κινητικότητα του και στο γεγονός ότι μπορεί να μεταφερθεί, να επαναπορροφηθεί και να ανακυκλωθεί. Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) είναι ένα σημαντικό και απαραίτητο θρεπτικό συστατικό για τον άνθρωπο. Δρα ως ηλεκτρονιοδότης και είναι αναντικατάστατο σε πολλές ενζυμικές αντιδράσεις. Η οξειδωμένη μορφή του ονομάζεται δεϋδροασκορβικό οξύ.



**Σχήμα 2.** Ασκορβικό οξύ.

Η έλλειψη ασκορβικού οξέος στον οργανισμό έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση της ασθένειας σκορβούτο. Το ασκορβικό οξύ, ως αναγωγικό μέσο, συμμετέχει στην αντίδραση της υδροξυλίωσης της προλυουόδροξυλάσης, κατά την μετατροπή των καταλοίπων προλίνης του κολλαγόνου σε υδροξυπρολίνη, διατηρώντας τη σε ενεργή μορφή μέσω της διατήρησης των ατόμων σιδήρου της στην ανηγμένη δισθενή τους μορφή. Το κολλαγόνο που συντίθεται απουσία ασκορβικού οξέος δεν έχει τη δυνατότητα σχηματισμού κανονικών ινών, με αποτέλεσμα τις κακώσεις του δέρματος και τη δημιουργία εύθραυστων αιμοφόρων αγγείων, τα οποία είναι τα βασικά συμπτώματα του σκορβούτου. Στον οφθαλμό βρίσκεται στα δάκρυα, στο υδατοειδές υγρό, στο επιθήλιο του κερατοειδούς, στο υαλώδες σώμα και στον κρυσταλλοειδή φακό. Το ασκορβικό οξύ εκκρίνεται στο υδατοειδές υγρό από το επιθήλιο του άνω και κάτω ταρσού του βλεφάρου. Παίζει ζωτικό ρόλο στον αμυντικό μηχανισμό του οφθαλμού προστατεύοντας τους ιστούς από τη φωτοοξειδωτική βλάβη, ενώ έχει και αντιφλεγμονώδη δράση. Τα δάκρυα περιέχουν σημαντικά επίπεδα ασκορβικού οξέος. Είναι πολύ πιθανόν ότι το ενδοκυττάριο ασκορβικό οξύ δρα ως απόθεμα για να διατηρεί ικανοποιητικά επίπεδα σε εξωκυττάρια υγρά, όπως στα δάκρυα

### **2.1.1.1 Το ασκορβικό οξύ ως αντιοξειδωτικό**

Το ασκορβικό οξύ απομονώθηκε πρώτη φορά από τον Ούγγρο βιοχημικό Szent-Gyorgyi το 1928. Έχει αποδειχτεί ότι είναι ένα ισχυρό *in vitro* αντιοξειδωτικό (Halliwell et al., 2007). Η πιο χαρακτηριστική του ιδιότητα είναι ότι δρα σαν αναγωγικός παράγοντας, π.χ. έχει την ικανότητα να ανάγει τον  $Fe^{3+}$  σε  $Fe^{2+}$  και να διατηρεί τη δραστηριότητα των λυσουλ-, ασπαραγυλ- και προπυλ- υδροξυλασών, γιατί ο σίδηρος πρέπει να είναι στη μορφή  $Fe^{2+}$  στο ενεργό κέντρο, ώστε να μπορεί να γίνει η

υδροξυλίωση. Η προσφορά ενός ηλεκτρονίου από το ασκορβικό παράγει μια ελεύθερη ρίζα, η οποία οξειδώνεται ακόμα περισσότερο σε δεϋδροασκορβικό οξύ (DHA). Η σχηματιζόμενη ρίζα του ασκορβικού (Asc<sup>•-</sup>) είναι σχετικά μη δραστική, λόγω της χημικής της δομής και φαίνεται να αποτελεί τον ουσιαστικότερο παράγοντα για την κεντρική του θέση μεταξύ των φυσικών αντιοξειδωτικών. Σε φυσιολογικές τιμές pH το ασκορβικό είναι σταθερό, εφόσον βέβαια δεν υπάρχουν ίχνη ιόντων Fe ή Cu.

### 2.1.2 Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή είναι πολύ διαδεδομένες φυσικές, λιποδιαλυτές χρωστικές που απαντώνται στα φυτά, αλλά και στα ζώα. Τα καροτενοειδή είναι μια μεγάλη κατηγορία ενώσεων που παρέχουν πρόδρομες ουσίες για πολλές απαραίτητες βιταμίνες και αντιοξειδωτικά. Αν και τα καροτενοειδή περιέχονται σε πολλά τρόφιμα, τα έντονα χρωματιστά φρούτα και λαχανικά αποτελούν τις κυριότερες πηγές τους. Από τα φρούτα και τα λαχανικά υψηλές συγκεντρώσεις σε καροτενοειδή εμφανίζουν τα καρότα, τα κολοκύθια (ιδιαιτέρως τα χειμωνιάτικα), η γλυκοπατάτα, η ντομάτα, τα ροδάκινα, τα εσπεριδοειδή, ενώ τα πορτοκαλί καροτένια απαντώνται στα βερίκοκα, την πάπρικα και το κόκκινο πιπέρι. Τα ζώα δεν μπορούν να συνθέσουν καροτενοειδή, αλλά τα αποθηκεύουν (σολομός, μπαρμπούνι, κρόκος αυγού κ.α.) μέσω της διατροφής τους. Η κατάταξη τους γίνεται συνήθως με δύο συστήματα: Α) κατά το πρώτο ταξινομούνται σε δύο ομάδες:

- Τα καροτένια, που είναι καθαροί υδατάνθρακες και
- Τις ξανθοφύλλες, που περιέχουν και άτομα οξυγόνου με την μορφή υδροξυ-, μεθοξυ-, καρβοξυ-, κετο-, και εποξυ-ομάδας.

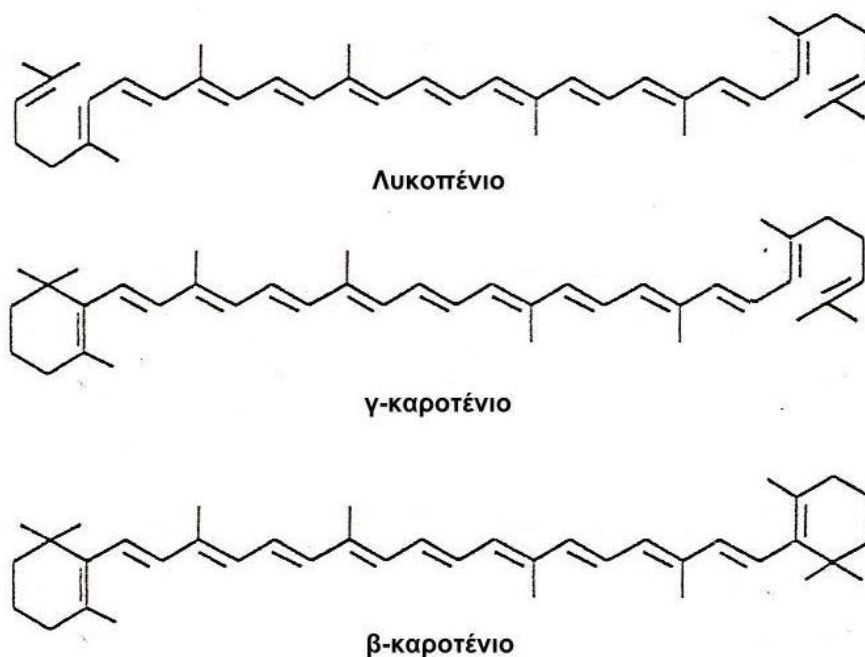
Β) Σύμφωνα με το δεύτερο ταξινομούνται σε τρεις ομάδες:

- Τα ακυκλικά (π.χ. λυκοπένιο)
- Τα μονοκυκλικά (π.χ. γ-καροτένιο) και
- Τα δικυκλικά (π.χ. α- και β- καροτένιο, λουτεΐνη, ζεαξανθίνη).



Περισσότερα από 600 καροτενοειδή βρίσκονται στη φύση, ενώ από τα 40 που εντοπίστηκαν στην διατροφή του ανθρώπου, μόνον 20 έχει αποδειχθεί ότι απαντώνται στο αίμα λόγω της επιλεκτικής απορρόφησης τους από το πεπτικό σύστημα (Rao et al, 2006).

Τα καροτενοειδή έχουν μακρές αλυσίδες με αναλλασσόμενους διπλούς και απλούς δεσμούς. Αυτό επιτρέπει την εκτεταμένη μεταφορά ηλεκτρονίων, επιτρέποντας στα καροτενοειδή να απορροφούν στην περιοχή του ορατού και να παράγουν όμορφα χρώματα. Ο βασικός σκελετός των καροτενοειδών έχει 40 άτομα άνθρακα και μπορεί να τροποποιηθεί με κυκλοποίηση στο ένα ή και στα δύο άκρα, μειώνοντας κάποιους διπλούς δεσμούς ή προσθέτοντας ενεργές ομάδες που περιέχουν οξυγόνο (Σχήμα 3). Τα καροτενοειδή που περιέχουν ένα ή περισσότερα οξυγόνα ονομάζονται ξανθοφύλλες.



**Σχήμα 3.** Χημική δομή ορισμένων καροτενοειδών.

Η σημασία της παρουσίας των καροτενοειδών στα τρόφιμα δεν εξαντλείται μόνο στα σημαντικά τεχνολογικά χαρακτηριστικά τους. Οι βιολογικές λειτουργίες τους είναι εξίσου σημαντικές. Το β-καροτένιο αποτελεί την κύρια πρόδρομη ένωση της βιταμίνης Α, η οποία εμπλέκεται στην λειτουργία της όρασης, στη διαφοροποίηση

των κυττάρων, στη σύνθεση γλυκοπρωτεϊνών, στην έκκριση βλέννας από τα επιθηλιακά κύτταρα, στη λειτουργία της αναπαραγωγής και γενικά στην ανάπτυξη και τη διαμόρφωση των οστών. Υπολογίζεται πως σε παγκόσμιο επίπεδο το 60% από τη βιταμίνη Α της διαίτας προκύπτει από τις προβιταμίνες Α. Υπολογίζεται επίσης, πως η έλλειψη της βιταμίνης Α αποτελεί για τον άνθρωπο την πλέον συχνή διαιτητική ανεπάρκεια. Η ημερήσια πρόσληψη σε προ-βιταμίνες Α που συνίσταται από την FAO αντιστοιχεί σε 250-400 ισοδύναμα ρετινόλης (RE) για τα παιδιά, 575-725 RE για τους εφήβους και 750RE για τους ενήλικες.

Τα στοιχεία διαφόρων μελετών δείχνουν πως οι περισσότερες από τις σύγχρονες εκφυλιστικές ασθένειες (καρδιακές παθήσεις, καταρράκτης, μολυσματικές ασθένειες, Alzheimer, καρκίνος κ.α.) οφείλουν την προέλευση τους στην παρουσία ελεύθερων ριζών. Η αντιοξειδωτική δράση των καροτενοειδών, μέσω της απενεργοποίησης των ελευθέρων ριζών και ιδιαίτερα της ρίζας του οξυγόνου, θεωρείται καθοριστική για την πρόληψη τους.

Πρέπει όμως να σημειωθεί, πως ακόμη δεν είναι γνωστά τα χαρακτηριστικά που καθιστούν ένα καροτενοειδές βιολογικά ενεργό, ούτε η φαρμακοκινητική οδός δράσης, ούτε η απαραίτητη δόση για εκδήλωση των ευεργετικών δράσεων. Αν μάλιστα ληφθεί υπόψη πως πολύ υψηλές συγκεντρώσεις β-καροτενίου μπορεί να εμφανίσουν τοξικότητα, ιδιαίτερα στους πότες και τους καπνιστές, τότε η υπερβολική κατανάλωση ή η πρόσληψη συμπληρωμάτων διατροφής θα πρέπει να πραγματοποιείται με ιατρική υπόδειξη και διατροφική παρακολούθηση (Λυμπεράκη κ.α., 2010).

Ως πρόσθετα των τροφίμων (χρωστικές) χρησιμοποιούνται τρία συνθετικώς παραγόμενα προϊόντα, το β-καροτένιο (πορτοκαλί - κόκκινο), η απο-καροτενάλη (κόκκινο) και η κανθαξανθίνη (πορφυρό). Η τελευταία είναι ασταθής παρουσία φωτός. Φυσικά καροτενοειδή που χρησιμοποιούνται ως χρωστικές των τροφίμων είναι το ανάτο, η ελαιορηθίνη της πάπρικας, το μη ραφινρισμένο φοινικέλαιο και η ζαφορά (φυτό κρόκος).

Την πιο σημαντική αντιοξειδωτική ιδιότητα των καροτενοειδών αποτελεί η απενεργοποίηση του μονήρες οξυγόνου. Έχει βρεθεί ότι η χορήγηση καροτενοειδών προστατεύει το δέρμα από τις βλάβες.

### 2.1.3 Φαινολικές ενώσεις φυτικής προέλευσης

#### 2.1.3.1 Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή είναι μια ομάδα πολυφαινολών η οποία αποτελείται πάνω από 4000 φαινολικές ενώσεις φυτικής προέλευσης. Η ονομασία τους προέρχεται από το κίτρινο χρώμα μερικών ενώσεων της ομάδας αυτής (Καράταγλης, 1994). Πιθανώς βρίσκονται στο φυτικό βασίλειο πάνω από ένα δισεκατομμύριο χρόνια. (Scalbert et al, 2000).

Αποτελούνται από δύο αρωματικούς δακτύλιους (Α και Β), οι οποίοι είναι συνδεδεμένοι μεταξύ τους με μια γέφυρα τριών ατόμων άνθρακα, η οποία ονομάζεται κεντρικός οξυγονωμένος ετεροδακτύλιος (Σχήμα 4). Η δομή αυτή είναι το αποτέλεσμα της συνένωσης δύο προϊόντων που προέρχονται από δύο διαφορετικά βιοσυνθετικά μονοπάτια στα φυτά. Ο δακτύλιος Α προέρχεται από τη φαινυλαλανίνη μέσω του μονοπατιού του σικιμικού οξέος, ενώ ο δακτύλιος προέρχεται από το μονοπάτι του μαλονικού οξέος (Καράταγλης, 1994). Διαιρούνται σε έξι υποκατηγορίες ανάλογα με τον τύπο του ετεροδακτυλίου: φλαβονόλες, φλαβόνες, ισοφλαβόνες, φλαβανόνες, ανθοκυανίνες και φλαβανόλες (κατεχίνες και προανθοκυανιδίνες) (Σχήμα 5) (Manach et al, 2004).

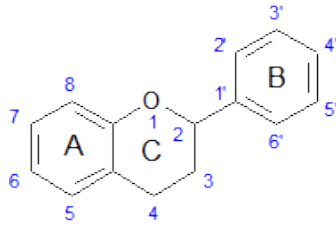
Οι φλαβονόλες (κερκετίνη, καεμφερόλη) βρίσκονται σε γλυκοσυλιωμένες μορφές (συνδέονται κυρίως με ραμνόζη) και συγκεντρώνονται στην επιδερμίδα και στα φύλλα των φυτών επειδή η βιοσύνθεσή τους διεγείρεται από το φως. Οι φλαβόνες βρίσκονται κυρίως συνδεδεμένες με λουτεολίνη και απιγενίνη (Manach et al, 2004). Οι φλαβόνες και οι φλαβονόλες δεν περιορίζονται μόνο στα άνθη, αλλά βρίσκονται επίσης στα φύλλα και στους βλαστούς όλων των χλωροφυλλούχων φυτών έτσι ώστε να τα προστατεύουν από την UV-B ακτινοβολία (Καράταγλης, 1994).

Οι ισοφλαβόνες (genistein, daidzein, glycitein) έχουν δομικές ομοιότητες με τα οιστρογόνα, αν και δεν είναι στεροειδή και έχουν ψευδοορμονικές ιδιότητες,

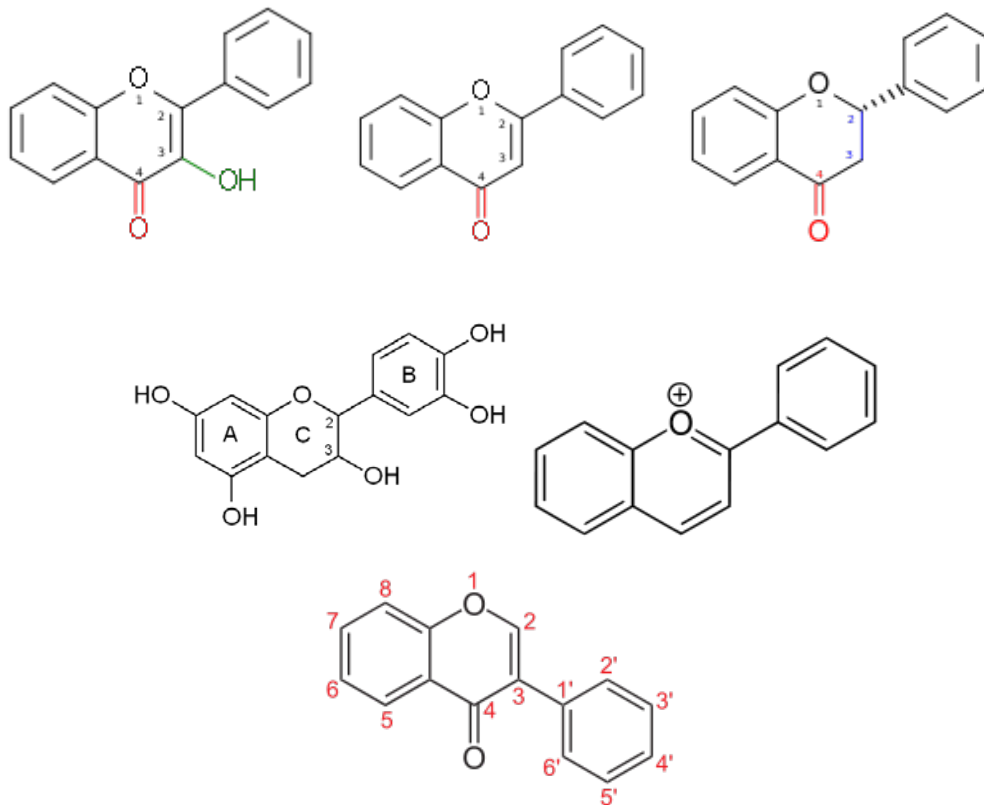
συμπεριλαμβανομένου της ικανότητας τους να συνδέονται στον οιστρογονικό υποδοχέα, γι' αυτό κατατάσσονται στα φυτοοιστρογόνα.

Φλαβανόλες υπάρχουν σε μονομερή μορφή (κατεχίνες) και σε πολυμερισμένη μορφή (προανθοκυανιδίνες). Σε αντίθεση με τις υπόλοιπες κατηγορίες φλαβονοειδών, οι φλαβανόλες δεν είναι γλυκοσυλιωμένες. Κύριοι εκπρόσωποι των κατεχινών είναι η κατεχίνη, η επικατεχίνη, η γαλλοκατεχίνη και η επιγαλλοκατεχίνη. Οι προανθοκυανιδίνες, είναι διμερή, ολιγομερή και πολυμερή κατεχινών και προσδίδουν αντισηπτικές ιδιότητες στα φρούτα (Manach et al, 2004). Παρόλο που οι προανθοκυανιδίνες βρίσκονται κυρίως ως διμερή στα σταφύλια, στο κρασί έχουν τάση να πολυμερίζονται συνθέτοντας μια δεύτερη κατηγορία ταννινών, τις συμπυκνωμένες ταννίνες. Οι συμπυκνωμένες ταννίνες περιέχουν από τρεις έως πέντε υπομονάδες προανθοκυανιδινών. Τα μόρια των συμπυκνωμένων ταννινών είναι μεγαλύτερα από αυτά των υδατοδιαλυτών ταννινών. Αντίθετα με τις υδατοδιαλυτές ταννίνες, οι συμπυκνωμένες ταννίνες σε όξινες συνθήκες ή παρουσία αποικοδομητικών ενζύμων, διαχωρίζονται σε πολύπλοκα μόρια τα οποία είναι αδιάλυτα σε υδατικά διαλύματα (Nepka et al, 1999, Soleas et al, 1997).

Οι ανθοκυανίνες είναι χρωστικές που είναι διαλυμένες στα χυμοτόπια επιδερμικών ιστών ανθέων και φρούτων. Βοηθούν στην προσέλκυση των ζώων προς τα άνθη και τους καρπούς με τη δημιουργία ορατών και οσφρητικών σημάτων (Καράταγλης, 1994). Υπάρχουν σε διαφορετικές χημικές δομές, που χρωματίζονται ή είναι άχρωμες ανάλογα με το pH του διαλύματος στο οποίο βρίσκονται. Είναι εξαιρετικά ασταθείς όταν δεν βρίσκονται συνδεδεμένες με σάκχαρα. Μέσα στα φυτά είναι ανθεκτικές στο φως, στο pH και σε οξειδωτικές συνθήκες. γλυκοσυλίωσή τους στη θέση 3 και η εστεροποίησή τους με διάφορα οργανικά οξέα (citric acids, malic acids) ή φαινολικά οξέα εμποδίζει την αποικοδόμησή τους. Οι γλυκοσυλιωμένες ανθοκυανίνες ονομάζονται ανθοκυανιδίνες με κυριότερη εκπρόσωπό τους την κυανιδίνη. (Manach et al, 2004).



**Σχήμα 4.** Βασική δομή ανθρακικού σκελετού των φλαβονοειδών.



**Σχήμα 5.** Βασική δομή μερικών υποομάδων των φλαβονοειδών(από πάνω αριστερά προς τα δεξιά και μετά κάτω): φλαβονόλες, φλαβόνες, φλαβανόνες, κατεχίνες, ανθοκυανιδίνες, ισοφλαβόνες.

### 2.1.3.1.1 Φλαβονοειδή και τρόφιμα

Τα φλαβονοειδή είναι ενώσεις που βρίσκονται σε τροφές όπως τα λαχανικά, τα μούρα, το σκόρδο και τα κρεμμύδια. Υπάρχουν σε όλα τα τρόφιμα φυτικής προέλευσης κυρίως με τη μορφή γλυκοσιλιωμένων μορίων. Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητάς τους σε τρόφιμα, έχουν αναπτυχθεί πολλές μεθοδολογίες τόσο

ποιοτικού όσο και ποσοτικού χαρακτήρα με βάση την τεχνική HPLC. Μετά από αναλύσεις σε φρούτα και λαχανικά, εξήχθη το συμπέρασμα ότι περιέχουν μεγάλη ποικιλία γλυκοσιλιωμένων φλαβονοειδών, που πολλές φορές φτάνουν σε υψηλές συγκεντρώσεις, της τάξεως των 250 mg ανά kg. Ορισμένοι τύποι βιοφλαβονοειδών, βρίσκονται στα βατόμουρα και τα κουκούτσια σταφυλιού, ενώ στο κόκκινο κρασί εντοπίζονται φλαβονόλες και ανθοκυανιδίνες. Στο τσάι βρίσκονται κυρίως κατεχίνες και φλαβονόλες ενώ στους καρπούς του κακαόδεντρου, περίπου το 60% είναι φλαβονοειδή.

Με βάση την περιεκτικότητα των φλαβονοειδών σε προϊόντα φυτικής προέλευσης, μετά από μελέτες σε διάφορες κατηγορίες φρούτων και λαχανικών, έχει δημιουργηθεί μια τράπεζα πληροφοριών, με σκοπό και τον υπολογισμό της ημερήσιας πρόσληψης φλαβονοειδών από τον άνθρωπο, η οποία υπολογίζεται στα 23 mg. Αυτός ο αριθμός προέκυψε από μία έρευνα που διεξήχθη στη Δανία. Στην Ευρώπη, λόγω της υψηλής κατανάλωσης κόκκινου κρασιού, μελιού, φρούτων και λαχανικών, ο αριθμός αυτός σίγουρα είναι πολύ μεγαλύτερος. Σίγουρα ο προσδιορισμός της ακριβούς πρόσληψης των φλαβονοειδών από τον ανθρώπινο οργανισμό αποτελεί ένα πολύ πολύπλοκο θέμα, αφού διαφοροποιείται ανάλογα με τις προσωπικές διατροφικές συνήθειες του κάθε ατόμου.

#### **2.1.3.1.2 Φλαβονοειδή και υγεία**

Λόγω του μεγάλου ενδιαφέροντος για τα φλαβονοειδή, μία σειρά από επιδημιολογικές μελέτες έχουν συσχετίσει την υψηλή κατανάλωση φλαβονοειδών με τη μείωση της εμφάνισης διάφορων ασθενειών. Από τις πρώτες μελέτες ήταν μία όπου παρακολούθηθηκαν για 25 χρόνια 878 άτομα και μελετήθηκε ο συσχετισμός της πρόσληψης 5 διαφορετικών φλαβονοειδών με την πιθανότητα εμφάνισης διάφορων ειδών καρκίνου. Διαπιστώθηκε 25% μείωση της θνητότητας από στεφανιαία νόσο, στα άτομα με υψηλή πρόσληψη σε φλαβονοειδή, παρά το γεγονός ότι δεν βρέθηκε κάποια άμεση συσχέτιση ανάμεσα στον καρκίνο και την πρόσληψή τους. Μια πιο πρόσφατη έρευνα στη Φιλανδία, όπου παρακολούθηθηκαν άτομα από το 1967 έως το 1991, απέδειξε την αντίθετη συσχέτιση ανάμεσα στην πρόσληψη

φλαβονοειδών και την πιθανότητα καρκίνου του παχέος εντέρου, του πνεύμονα και του στομάχου. Επίσης, έρευνα Φινλανδών επιστημόνων, που δημοσιεύθηκε στο *British Medical Journal* τον Φεβρουάριο του 1996, έδειξε ότι οι μειωμένες πιθανότητες θανάτου από καρδιακό επεισόδιο σχετίζονται με την κατανάλωση μήλων και κρεμμυδιών, δύο από τις κυριότερες διατροφικές πηγές φλαβονοειδών, ενώ οι ίδιοι ερευνητές επισήμαναν πιθανή προστασία και από τον καρκίνο του πνεύμονα. Στο πλαίσιο της μελέτης τους, οι ειδικοί ανέλυσαν την ημερήσια πρόσληψη φλαβονοειδών σε 2.000 υγιείς γυναίκες, ενώ παράλληλα παρακολουθούσαν τα επίπεδα της γλυκόζης, της ινσουλινοαντίστασης και των δεικτών φλεγμονής στο αίμα τους. Διαπίστωσαν λοιπόν, ότι συγκεκριμένα φλαβονοειδή, οι φλαβόνες και οι ανθοκυανίνες, συνδέονταν με χαμηλότερη ινσουλινοαντίσταση - ένας παράγοντας που σχετίζεται με τον κίνδυνο εμφάνισης του διαβήτη τύπου 2. Οι φλαβόνες εντοπίζονται κυρίως σε αρωματικά φυτά όπως π.χ. ο μαϊντανός και το θυμάρι, κάποια λαχανικά όπως το σέλινο αλλά και στη μαύρη σοκολάτα. Οι ανθοκυανίνες πάλι, εντοπίζονται σε κόκκινα φρούτα όπως τα βατόμουρα και στα κόκκινα σταφύλια. Όσες από τις συμμετέχουσες είχαν υψηλή πρόσληψη ανθοκυανιδίων εμφάνιζαν χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης χρόνιας φλεγμονής, η οποία συνδέεται με την εκδήλωση διαφόρων παθήσεων και νόσων όπως π.χ. διαβήτη, παχυσαρκία, καρδιαγγειακά νοσήματα και καρκίνος. Φάνηκε ακόμα, ότι οι γυναίκες που ακολουθούσαν διατροφή πλούσια σε φλαβόνες εμφάνιζαν υψηλότερα επίπεδα μιας πρωτεΐνης στον οργανισμό τους, η οποία φάνηκε να βοηθάει στη ρύθμιση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα.

### **2.1.3.1.3 Απορρόφηση και Μεταβολισμός των φλαβονοειδών**

Παρόλο που τα φλαβονοειδή είναι δύσκολο να απορροφηθούν, είναι πολύ εύκολο να μεταβολιστούν από το συκώτι και το έντερο. Η ικανότητα των φλαβονοειδών να αποτοξινώνουν ένζυμα, είναι ένας σημαντικός μηχανισμός των φλαβονοειδών να προστατεύουν από τα μεταλλαξιγόνα και τις καρκινογόνες ουσίες, δηλαδή, ενεργούν ως χημοπροστατευτικοί παράγοντες του καρκίνου. Επιπλέον, είναι πιθανό τα χαμηλά επίπεδα φλαβονοειδών και των μεταβολιτών τους να ασκούν άλλα βιολογικά αποτελέσματα με θετική επίδραση, για παράδειγμα αλλαγή στα σήματα των

κυττάρων και στην έκφραση γονιδίων. Στη χλωρίδα του εντέρου τα φλαβονοειδή υποβιβάζονται σαν δομή από τα βακτήρια και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία προϊόντων τα οποία μπορεί να έχουν βιολογική δράση μέσω αντιοξειδωτικών ή όχι μηχανισμών (Lotito et al, 2006).

Από τη στιγμή που οι φαινολικές ουσίες θα εισέλθουν μέσω της τροφής στον οργανισμό, ακολουθούν την ίδια οδό με τις υπόλοιπες ξενοβιοτικές ουσίες. Το πρωταρχικό σημείο του μεταβολισμού τους καθορίζεται από τη φύση τους και από τις ομάδες με τις οποίες είναι συνδεδεμένες.

Ορισμένες φαινόλες βρίσκονται σε γλυκοσυλιωμένη μορφή. μείρα των γλυκοσιδίων στο στομάχι δεν είναι ξεκάθαρη. Σύμφωνα με μελέτες, η γαστρική απορρόφηση είναι εφικτή για ορισμένες πολυφαινόλες (κερκετίνη, daidzein), αλλά όχι για τις γλυκοσυλιωμένες τους μορφές. Τα περισσότερα γλυκοσίδια πιθανώς αντιστέκονται στην υδρόλυση από τα οξέα του στομάχου και έτσι φτάνουν ανέπαφα στο έντερο (Manach et al, 2004). Το συνδεδεμένο σάκχαρο εμποδίζει την παθητική διάχυσή τους διαμέσου του τοιχώματος του λεπτού εντέρου. Το πρώτο βήμα για την απορρόφησή τους είναι η απομάκρυνση του υδρόφιλου σακχάρου. Τα ένζυμα που καταλύουν την αντίδραση αυτή ανήκουν στην κατηγορία των γλυκοσιδάσων. CBG (κυτταροπλασματική/i-γλυκοσιδάση) καταλύει την υδρόλυση ενδοκυτταρικά και εκφράζεται σε πολλούς ιστούς συμπεριλαμβανομένου του εντέρου και του ήπατος. LPH (lactase phloridzine hydrolase) υδρολύει τα υποστρώματά της εξωκυτταρικά και βρίσκεται αποκλειστικά στο λεπτό έντερο (Scalbert et al, 2000).

Οι φαινολικές ουσίες που περιέχουν ραμνόζη, υδρολύονται από τις ραμνοσιδάσες της μικροχλωρίδας στο κόλον. Επίσης, φαινόλες που είτε δεν απορροφούνται από τα κύτταρα του λεπτού εντέρου, είτε έχουν μεταβολιστεί από το ήπαρ και φτάνουν πάλι στο λεπτό έντερο, υπόκεινται σε επιπλέον αποδόμηση σε απλά αρωματικά οξέα με στόχο την απομάκρυνσή τους.

Στο ήπαρ, οι φαινόλες λειτουργούν ως υποστρώματα για τα ένζυμα της φάσης I και II του μεταβολισμού. Οι αντιδράσεις φάσης II περιλαμβάνουν σύζευξη με γλυκουρονικό οξύ, μεθειϊκό οξύ καθώς και μεθυλίωση ή συνδυασμό των προηγούμενων (Rechner et al, 2002). Οι παραπάνω μεταβολές καταλύονται αντίστοιχα από τα ένζυμα UDP γλυκουρονοσυλτρανσφεράσες (UDP glucuronosyl



transferase, UDPGT), σουλφοτρανσφεράσες (sulfotransferases, SULT) και κατεχολ-Ο-μεθυλτρανσφεράσες (catechol-O-methyltransferases, COMT) (Scalbert et al, 2000).

Οι ανθοκυανίνες αποτελούν εξαίρεση, δεν υπόκεινται στις αντιδράσεις των φάσεων I και II, και έτσι η κύρια μορφή τους στο αίμα είναι τα ανέπαφα γλυκοσίδιά τους. εξήγηση μάλλον έγκειται στο ότι είναι ασταθείς όταν δεν βρίσκονται συνδεδεμένες με σάκχαρα. Εξ' αιτίας της αστάθειάς τους, δεν είναι ξεκάθαρο αν μένουν ανέπαφες για αρκετή ώρα στους ιστούς, έτσι ώστε να δράσουν ως αντιοξειδωτικά (Prior et al, 2003). Οι προανθοκυανιδίνες απορροφούνται σε πολύ μικρό βαθμό εξ' αιτίας του μεγάλου μοριακού τους βάρους και μάλλον παρουσιάζουν δραστηριότητα μόνο στην γαστρεντερική κοιλότητα. Τα υδροξυκιναμικά οξέα συνήθως βρίσκονται εστεροποιημένα με σάκχαρα, λιπίδια ή οργανικά οξέα κάνοντας δύσκολη την απορρόφησή τους, διότι τα ανθρώπινα κύτταρα δεν έχουν εστεράσες. Υδρολύονται μόνο από τη μικροχλωρίδα στο κόλον (Manach et al, 2004). Τα περισσότερα φλαβονοειδή, τα οποία βρίσκονται σε γλυκοσυλιωμένη μορφή υπόκεινται σε υδρόλυση του σακχάρου με ακόλουθη απορρόφηση και μεταβολισμό της μη γλυκοσυλιωμένης μορφής (Rechner et al, 2002).

Οι συγκεντρώσεις των ανέπαφων αρχικών φαινολικών μορίων στο πλάσμα είναι συχνά χαμηλές, κυμαίνονται στο εύρος 0,1-1 ΟμΜ (Kroon et al, 2004, Scalbert et al, 2000). αυξημένη αντιοξειδωτική δράση που παρουσιάζει το πλάσμα οφείλεται εν μέρει στους μεταβολίτες που προκύπτουν (Scalbert et al, 2000). Οι φαινολικές ουσίες φτάνουν στους ανθρώπινους ιστούς και στα κύτταρά τους μέσω του αίματος, εκτός των κυττάρων της εντερικής κοιλότητας. Επομένως, μελέτες που εστιάζουν στις βιολογικές δράσεις των φαινολών θα πρέπει να στηρίζονται στις αντιοξειδωτικές ικανότητές που παρουσιάζουν στα πλαίσια αυτών των συγκεντρώσεων.

Γενικά, η χημική δομή των φαινολικών ουσιών επηρεάζει το ρυθμό απορρόφησής τους από το έντερο, τον μεταβολισμό τους και τη μορφή με την οποία θα βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος. βιοδιαθεσιμότητα τους επηρεάζεται, επίσης, από τις αλληλεπιδράσεις τους με άλλα συστατικά των τροφίμων (πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες), που μπορεί να επηρεάσουν την απορρόφησή τους.

#### **2.1.3.1.4 Βιολογική δράση των φλαβονοειδών**

Οι φαινόλες παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών επιδράσεων ως αποτέλεσμα των αντιοξειδωτικών τους ιδιοτήτων. Οι αντιοξειδωτικές ικανότητες των φαινολών προστατεύουν από τις ελεύθερες ρίζες και την λιπιδική υπεροξειδωση, παράγοντες που εμπλέκονται σε παθολογικές καταστάσεις όπως η αθηροσκλήρωση, η χρόνια φλεγμονή και ο καρκίνος. Πολλαπλές μελέτες έδειξαν ότι μπορούν να αναστείλουν ή να επάγουν ποικίλα ένζυμα που βρίσκονται στα θηλαστικά, μερικά από τα οποία εμπλέκονται σε σημαντικά μονοπάτια που ρυθμίζουν την κυτταρική διαίρεση και πολλαπλασιασμό, τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, την αποτοξίνωση, την απόκριση στη φλεγμονή και σε αντιγόνα. Έχουν περιγράψει επιδράσεις των φαινολικών ουσιών στα στάδια μετατροπής των κυττάρων σε καρκινικά αναστέλλοντας την αρχική φάση (initiation), την προαγωγή (promotion) και την πρόοδο (progression) της καρκινογενετικής διαδικασίας. (Hollman et al, 1999).

Επίσης, έχει προταθεί ότι η δράση τους οφείλεται στην ικανότητά τους να δεσμεύουν μέταλλα μετάπτωσης και στο ρόλο τους στη ρύθμιση μεταγωγής σήματος. Παρόλα αυτά, κάποιες πολυφαινόλες παρουσιάζουν μεταλλαξιγόνες ιδιότητες, είτε ως καρκινογόνα, είτε ως προαγωγείς της καρκινογενετικής διαδικασίας (Urquiaga et al, 2000).

#### **2.4.1.2.6 Αντιοξειδωτική ικανότητα των φλαβονοειδών**

Η χημική δομή των φλαβονοειδών είναι τέτοια ώστε να ευνοεί την ικανότητά τους να δρουν ως εκκαθαριστές των ελευθέρων ριζών, αφού και τα δυναμικά αναγωγής των ελευθέρων ριζών των φλαβονοειδών είναι χαμηλά (0,23-0,75 Volt), επιτρέποντας θερμοδυναμικά την αναγωγή των ελευθέρων ριζών αλκοξειδίου, υδροξυλίου και του ανιόντος του σουπεροξειδίου, που έχουν υψηλότερα δυναμικά αναγωγής (1-2,13 Volt). Επομένως, οι περισσότεροι ερευνητές αποδίδουν τις σημαντικές ευεργετικές δράσεις των φλαβονοειδών στην ικανότητά τους να δρουν ως εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών, την οποία όμως αναφέρουν απλώς ως αντιοξειδωτική ικανότητα.

Η ικανότητα των φλαβονοειδών να εκκαθαρίζουν ελεύθερες ρίζες αξιολογήθηκε *in vitro* με πολλές και διαφορετικές μεθόδους, που βασίζονται στην παραγωγή μιας σχετικά ελεύθερης ρίζας σε υδατικό περιβάλλον και την ανίχνευση της συγκέντρωσής της φωτομετρικά. Ο μεγάλος αριθμός των φλαβονοειδών οδήγησε στην αναζήτηση της συσχέτισης της δομής τους με την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Συνοπτικά, τα χαρακτηριστικά που επηρεάζουν την αντιοξειδωτική ικανότητα τους είναι τα εξής:

1. Η όρθο-υποκατάσταση του δακτυλίου των φλαβονοειδών από υδροξυλομάδες, ιδιαίτερα στις θέσεις 3' και 5', καθώς και στις θέσεις 5 και 7 του δακτυλίου, συνεισφέρει στη μετατόπιση του ηλεκτρονίου κατά τη δέσμευση με ρίζες (Cook et al, 1996, Burda et al, 2001, Sroka et al, 2003). Η αντικατάσταση μιας υδροξυλομάδας από μια μεθυλομάδα μειώνει την αντιοξειδωτική ικανότητα (Cao et al, 1996, Cook et al, 1996), όπως παρατηρείται από την σύγκριση του καφεϊκού με το σιναπικό οξύ (Soleas et al, 1997).
2. Ο 2, 3 διπλός δεσμός σε συνδυασμό με έναν καρβονυλικό δεσμό στη θέση 4 είναι υπεύθυνος για την μετατόπιση του ηλεκτρονίου από τον δακτύλιο (Burda et al, 2001, RiceEvans et al, 2001). Η υδρογόνωση του δεσμού αυτού μειώνει την αντιοξειδωτική ικανότητα.
3. Οι 3- και 5-υδροξυλικές ομάδες απαιτούνται για την αντιοξειδωτική] δράση (Burda et al, 2001, Rice-Evans et al, 2001). Τα φλαβονοειδή που έχουν 3- και 5-υδροξυλικές ομάδες και καρβονυλική ομάδα στη θέση 4, όπως η ρουτίνη και η κερκετίνη, μπορούν να δημιουργήσουν σύμπλοκα με ιόντα σιδήρου (Cook et al, 1996).
4. Ο βαθμός της υδροξυλίωσης είναι ανάλογος με την αντιοξειδωτική ικανότητα (Burda et al, 2001, Rice-Evans et al., 2001, Fukumoto et al, 2001), για παράδειγμα η καεμφερόλη, η κερκετίνη και η μυρικετίνη έχουν τέσσερις, πέντε και έξι υδροξυλομάδες αντίστοιχα και παρουσιάζουν αυξανόμενη δραστικότητα (Cao et al, 1996).
5. Η γλυκοσυλίωση των φλαβονοειδών μειώνει την αντιοξειδωτική τους δράση (Rice-Evans et al, 2001). Παρόλα αυτά, πρέπει να ληφθεί υπ' όψιν ότι τα γλυκοσίδια των φλαβονοειδών, όπως η κερκετίνη, υφίστανται υδρόλυση μέσα στον οργανισμό
6. Η καρβονυλική ομάδα στη θέση 4 του δακτυλίου C αυξάνει την αντιοξειδωτική ικανότητα. Η κατεχίνη στερείται C-4 καρβονυλίου και έχει χαμηλότερη ικανότητα

δέσμευσης OH· σε σχέση με την κερκετίνη που έχει μια C-4 καρβονυλομάδα (Cook et al, 1996).

7. Ο πολυμερισμός των φλαβονοειδών αυξάνει την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Οι διμερείς και τριμερείς προκυανιδίνες είναι πιο αποτελεσματικές από μονομερή φλαβονοειδή στη δέσμευση ριζών σουπεροξειδίου και όσο αυξάνεται ο πολυμερισμός τόσο αυξάνει η ικανότητά τους να δεσμεύουν διάφορες ελεύθερες ρίζες (Heim et al, 2002).

8. Η αντιοξειδωτική ικανότητα των φαινολικών οξέων και των εστέρων τους εξαρτάται από τον αριθμό των υδροξυλομάδων που εστεροποιούνται (Rice-Evans et al, 2001). Το λιγότερο δυο υδροξυλομάδες απαιτούνται για την εμφάνιση αντιοξειδωτικής δράσης στα φαινολικά οξέα (Fukumoto et al, 2001).

9. Η εισαγωγή σε θέση όρθο ή πάρα μιας υδροξυλικής ομάδας σε ένα μονοφαινολικό οξύ αυξάνει την αντιοξειδωτική δράση. Έτσι το i-κουμαρικό οξύ είναι λιγότερο δραστικό από ότι το καφεϊκό (όρθο) ή το πρωτοκατεχοϊκό (πάρα) (Rice-Evans et al, 2001).

10. Οι μεθοξυλικές ομάδες μειώνουν την αντιοξειδωτική ικανότητα των φαινολικών οξέων (Fukumoto et al, 2001), για παράδειγμα το σιναπτικό οξύ είναι πιο δραστικό από ότι το φερουλικό και το φερουλικό είναι πιο δραστικό από ότι το i-κουμαρικό οξύ (Rice-Evans et al, 2001).

11. Η παρουσία ομάδων  $-CH=CH-COOH$  στα κινναμικά οξέα τα καθιστά περισσότερο δραστικά από ότι τα βενζοϊκά οξέα (Fukumoto et al, 2001, Rice-Evans et al, 2001).

#### **2.1.3.1.5 Φλαβονοειδή και βλάβη στο DNA**

Υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις, ότι οι βλάβες στο DNA συμβάλλουν στη διαδικασία της καρκινογένεσης. Αρκετοί ερευνητές μελέτησαν την επίδραση των φλάβονοειδών στην πρόκληση βλαβών στο DNA από διάφορους παράγοντες. Το 1998, η ερευνητική ομάδα του Noroozi έδειξε, πως ορισμένα φλαβονοειδή μπορούσαν να προστατεύσουν το κυτταρικό DNA από τις βλάβες που προκαλούσε η

προσθήκη του  $H_2O_2$ , και απέδωσαν την προστασία αυτή στην ικανότητά τους να εκκαθαρίζουν ελεύθερες ρίζες. Η παρατήρηση αυτή πυροδότησε μια σειρά από νέες μελέτες, για την αξιολόγηση της προστατευτικής δράσης των φλαβονοειδών έναντι στη βλάβη του DNA με ποικίλες μεθόδους. Άλλη ερευνητική ομάδα υποστήριξε πως παράλληλα με την ικανότητα τους να εκκαθαρίζουν ελεύθερες ρίζες, τα φλαβονοειδή μπορούν και προσφέρουν άτομα H στις θέσεις ελεύθερων ριζών που βρίσκονται πάνω στο DNA, με αποτέλεσμα την ταχεία χημική επιδιόρθωση της οξειδωτικής βλάβης, στην οποία αυτό υπόκειται. Μια άλλη προσέγγιση του θέματος αυτού έγινε από την ερευνητική ομάδα του Sestili, η οποία υποστήριξε πως η προστατευτική δράση της κερκετίνης ενάντια στη βλάβη του DNA οφείλεται στην ικανότητά της να δεσμεύει σίδηρο. Τέλος, υπήρξαν κάποιες επιστημονικές ομάδες, που αμφισβήτησαν την προστατευτική δράση των φλαβονοειδών ενάντια στη βλάβη του DNA, ενώ αρκετοί ήταν εκείνοι, οι οποίοι έδωσαν βάρος στην ικανότητα των φλαβονοειδών να προκαλούν βλάβη στο DNA απουσία κάποιου άλλου οξειδωτικού παράγοντα.

#### **2.1.3.1.6 Φλαβονοειδή και αντικαρκινική δράση**

Συχνά, οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί είναι ανεπαρκείς και η καταστροφή από τις δραστικές μορφές οξυγόνου συσχετίζεται με την καρκινογένεση. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου μπορούν να βλάψουν το DNA, καθώς και να επέμβουν στην κυτταρική διαίρεση οδηγώντας σε μεταλλάξεις. Αν αυτές συμβούν σε κρίσιμα γονίδια, όπως τα ογκογονίδια, ή τα ογκοκατασταλτικά, μπορούν να οδηγήσουν το κύτταρο στο δεύτερο ή στο τρίτο στάδιο της καρκινογενετικής διαδικασίας. Επίσης, οι δραστικές μορφές οξυγόνου μπορούν να επηρεάσουν την διακυτταρική επικοινωνία και την κυτταρική ανάπτυξη. Η κυτταρική ζημιά που προκαλείται από τις δραστικές μορφές οξυγόνου, μπορεί να επάγει τη μίτωση, αυξάνοντας τον κίνδυνο για μεταλλάξεις (Nijveldt et al, 2001). Η αντιοξειδωτική δράση των φαινολών συνεισφέρει στην εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών, μειώνοντας την έκθεση των κυττάρων σε αυτές. Παρόλα αυτά, έχει αναφερθεί ότι κυρίως η προοξειδωτική παρά η αντιοξειδωτική τους δράση συνεισφέρει στις αντικαρκινικές τους ιδιότητες και την ικανότητά τους να επάγουν την απόπτωση (Kampa et al, 2004). Ιδιότητες των φαινολών, όπως η παραγωγή

δραστικών μορφών οξυγόνου οι οποίες μεσολαβούν στην κατακερμάτιση του DNA που οδηγεί στην απόπτωση του κυττάρου, η πρόσδεση και ο σχηματισμός ρωγμών στο DNA είναι παρόμοιες με ιδιότητες γνωστών αντικαρκινικών φαρμάκων. Επίσης, οι προοξειδωτικές φαινολικές ρίζες, προκαλούν τοξικότητα στα μιτοχόνδρια, αλλάζοντας το δυναμικό της μιτοχονδριακής μεμβράνης (Galati et al, 2004). Όταν αλλάζει η διαπερατότητα της μιτοχονδριακής μεμβράνης, απελευθερώνονται αποπτωτικοί παράγοντες, όπως το κυτόχρωμα c, οδηγώντας το κύτταρο στην απόπτωση (Goldstein et al, 2000). Η απόπτωση είναι ένας προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, που εξασφαλίζει ότι κύτταρα με γενετικές βλάβες δεν θα επιβιώσουν για να πολλαπλασιαστούν, προστατεύοντας από την επιπλέον γενετική αστάθεια (Ferguson et al, 2001). Πέρα όμως από τον ρόλο τους ως αντιοξειδωτικά ή προοξειδωτικά, πιθανόν να έχουν και ρυθμιστική δράση μέσα στα κύτταρα επηρεάζοντας ένζυμα και ρυθμιστικά μονοπάτια. Η βάση για αυτή τη θεωρία είναι ότι τα φλαβονοειδή και οι μεταβολίτες τους βρίσκονται σε μικρές συγκεντρώσεις συγκριτικά με άλλα αντιοξειδωτικά, για παράδειγμα το ασκορβικό οξύ, αλλά οι συγκεντρώσεις αυτές μπορεί να είναι αρκετά υψηλές έτσι ώστε επηρεάζουν τη λειτουργία ενός ενζύμου ή ενός υποδοχέα, επιδρώντας στη λειτουργία του κυττάρου (Williams et al, 2004). Σε μελέτες *in vivo* και *in vitro* έχει αποδειχτεί ότι ορισμένα φλαβονοειδή ρυθμίζουν τον μεταβολισμό και τη διάθεση διάφορων ξενοβιοτικών ουσιών, ορισμένες από τις οποίες είναι καρκινογόνες (Ren et al, 2003). Ένας μηχανισμός μέσω του οποίου τα φλαβονοειδή ασκούν *in vivo* την χημειοπροστατευτική τους δράση είναι η αναστολή των ενζύμων της φάσης I του μεταβολισμού, όπως για παράδειγμα τα ένζυμα του κυτοχρώματος P450 (CYP), τα οποία ενεργοποιούν μεταβολικά ορισμένα προκαρκινογόνα (Galati et al, 2004). γαλανγίνη (galangin) έχει αποδειχτεί ότι αναστέλλει το CYP1A1, προλαμβάνοντας τον μεταβολισμό και την ενεργοποίηση των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (Hodek et al, 2002). Αναφέρεται ότι τα φλαβονοειδή είναι πιθανοί αναστολείς του συμπλέγματος των ενζύμων της αρωματάσης που συνθέτουν οιστραδιόλη, η οποία βιοσυντίθεται από τα ανδρογόνα. Τα οιστρογόνα συσχετίζονται με καρκίνους στα θηλαστικά (Ren et al, 2003). Ένας άλλος μηχανισμός που πιστεύεται ότι συνεισφέρει στην αντικαρκινική δράση των φλαβονοειδών είναι η επαγωγή των ενζύμων της φάσης II του μεταβολισμού, όπως η S- τρανσφεράση της

γλουταθειόνης και η UDP γλυκουρονυλτρανσφεράση, μέσω των οποίων τα καρκινογόνα εξουδετερώνονται και απομακρύνονται ευκολότερα απ' τον οργανισμό (Ren et al, 2003). Σημείο κλειδί στην καρκινογενετική διαδικασία είναι ο ανεξέλεγκτος κυτταρικός πολλαπλασιασμός, όπου τα φλαβονοειδή δρουν ως αναστολείς. Τα κυτταρικά σήματα για τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό παράγονται από υποδοχείς αυξητικών παραγόντων, όπως ο υποδοχέας του EGF (epidermal growth factor) και ο υποδοχέας του IGF-1 (insulin-like growth factor-1), οι οποίοι αποτελούν τους βασικούς υποδοχείς που οδηγούν στην καρκινογένεση σε πολλούς καρκίνους. Τα φλαβονοειδή έχουν βρεθεί να δρουν ως αναστολείς πολλών υποδοχέων αυξητικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένου του EGFR (epidermal growth factor receptor). Ένας ακόμη μοριακός στόχος των πολυφαινολών είναι ο μεταγραφικός παράγοντας NF-κΒ, οποίος ρυθμίζει τη μεταγραφή γονιδίων που εμπλέκονται στην κυτταρική επιβίωση, στη φλεγμονή, στη διαφοροποίηση και την ανάπτυξη. AP-1 (Activated protein-1), είναι άλλος ένας μεταγραφικός παράγοντας που ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση και αποτελείται από τις πρωτεΐνες JETN και FOS. Οι κατεχίνες, το καφεϊκό οξύ, η ρεσβερατρόλη είναι γνωστοί αναστολείς της διαδικασίας ενεργοποίησης του NF-κΒ και της AP-1. Επίσης, τα φλαβονοειδή αναστέλλουν ένζυμα που παίρνουν μέρος στη μεταγωγή σημάτων ρυθμίζοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, όπως η πρωτεϊνική κινάση της τυροσίνης (PTK) και η πρωτεϊνική κινάση C (PKC) (Weber et al, 1997), αλλά και ένζυμα που αλληλεπιδρούν με το DNA, όπως οι τοποϊσομεράσες. Οι τοποϊσομεράσες (τοποϊσομεράση I/II) είναι ένζυμα τα οποία είναι απαραίτητα για την αντιγραφή του DNA, παρόλα αυτά μπορούν να οδηγήσουν στην δημιουργία μεταλλάξεων μέσω ορισμένων ενώσεων. Ένας μηχανισμός της αντιμεταλλαξιγόνου δράσης ορισμένων πολυφαινολών είναι η αναστολή των τοποϊσομεράσεων (Stages et al, 2005). Ορισμένες μεταβολές στις λειτουργίες του κυττάρου είναι πολύ κρίσιμες και εμφανίζονται πιθανώς σε όλες τις μορφές καρκίνου. Αφορούν στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου ιδιαίτερα στα ρυθμιστικά σημεία ελέγχου (control checkpoints). Ορισμένες πολυφαινόλες επιδρούν στον κυτταρικό κύκλο, σταματώντας τον στα σημεία ελέγχου G1/S και G2/M, πιθανώς δρώντας ως αναστολείς των κυκλίνων CDK1 και CDK2 (Casagrande et al, 2001). Τέλος, η ενεργοποίηση της αγγειογένεσης στον καρκίνο οδηγεί στην τροφοδότηση των καρκινικών κυττάρων που ευνοεί την

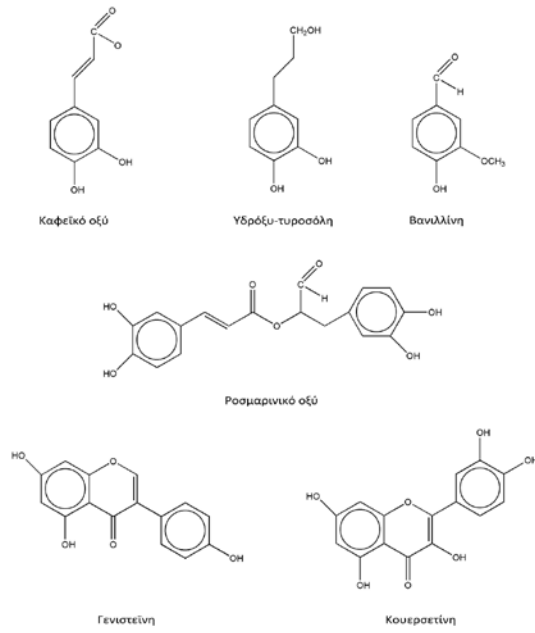
ανάπτυξή τους. αγγειογένεση φυσιολογικά είναι αυστηρά ελεγχόμενη διαδικασία, που ρυθμίζεται από αγγειογενετικούς και αγγειοστατικούς παράγοντες. Ενώ πολλοί αναστολείς της αγγειογένεσης βρίσκονται υπό κλινικές δοκιμές, είναι πολύ σημαντικό το γεγονός ότι πολλές χημειοπροστατευτικές φυτοχημικές ουσίες, όπως η κουρκουμίνη (curcumin), η ρεσβερατρόλη και η κατεχίνη, είναι ικανές να αναστείλουν τα μονοπάτια ενεργοποίησης της αγγειογένεσης (Fotsis et al., 1997).

#### **2.1.3.1.7 Ικανότητα των φλαβονοειδών να δεσμεύουν μέταλλα**

Ένας διαφορετικός μηχανισμός δράσης των φλαβονοειδών είναι η ικανότητά τους να δεσμεύουν ιόντα μετάλλων, κυρίως σιδήρου και χαλκού. Ο μηχανισμός αυτός, παρά τη μεγάλη του σημασία, συνήθως δεν λαμβάνεται υπ' όψιν στην εξήγηση των βιολογικών τους δράσεων. Με τη χρήση φασματοσκοπικών, βολταμετρικών και άλλων μεθόδων, έχει αποδειχθεί ότι τα φλαβονοειδή δεσμεύουν μέταλλα, όπως χαλκό, σίδηρο, μαγνήσιο, μαγγάνιο και ψευδάργυρο. Μερικές ερευνητικές ομάδες υποστήριξαν ότι οι πιθανότερες θέσεις δέσμευσης μετάλλων στα φλαβονοειδή είναι η 3-υδροξυλομάδα σε συνδυασμό με την 4-όξο θέση, η 5-υδροξυλομάδα σε συνδυασμό με την 4-όξο ομάδα και η όρθο-διυδρόξυ δομή στον Β δακτύλιο.

Οι μεταλλοδεσμευτικές δράσεις των φλαβονοειδών υποδεικνύουν τον σημαντικό ρόλο που μπορεί να έχουν στις ασθένειες, που σχετίζονται με την υπερπλήρωση σε μέταλλα, καθώς και σε όλες τις καταστάσεις οξειδωτικού στρες στις οποίες εμπλέκονται ιόντα μετάλλων μετάπτωσης. Οι αναφορές που υπάρχουν όμως στη συσχέτιση της ικανότητας δέσμευσης μετάλλων και την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες είναι αντικρουόμενες. Ενώ ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η δέσμευση μετάλλων είναι σημαντική για την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, άλλοι πιστεύουν ότι αυτό συμβαίνει μόνο για εκείνα τα φλαβονοειδή που έχουν χαμηλή ικανότητα εκκαθάρισης ελευθέρων ριζών. Πάντως πιθανολογείται ότι η δέσμευση μετάλλων μετάπτωσης, και ιδιαίτερα του σιδήρου, μπορεί να επιδράσει θετικά στις ευεργετικές ιδιότητες των φλαβονοειδών. Ορισμένες δομές φλαβονοειδών παρουσιάζονται στο Σχήμα 6.





**Σχήμα 6.** Χημική δομή ορισμένων φαινολικών ενώσεων φυτικής προέλευσης.

### 3. Ελεύθερες ρίζες

#### 3.1.1 Ορισμός ελευθέρων ριζών

Ελεύθερη ρίζα είναι τα άτομα ή μόρια με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στοιβάδα και τα οποία συμμετέχουν πολύ εύκολα σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής με γειτονικά μόρια (Bulkley et al., 2002, Rimbach et al., 1999, Da Vela et al, 1995).

Οι πλέον σημαντικές ελεύθερες ρίζες είναι οι μοριακές ενώσεις που έχουν κεντρικό άτομο το οξυγόνο και μερικές φορές το άζωτο, τον άνθρακα ή το χλώριο. Το οξυγόνο που βρίσκεται στην ατμόσφαιρα είναι μία ελεύθερη ρίζα, αφού περιέχει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια, με τη διαφορά ότι δεν είναι δραστική και για το λόγο αυτό δεν είναι βλαπτική για τον οργανισμό. Το οξυγόνο όμως αυτό μπορεί να ενεργοποιηθεί και να μετατραπεί στην πολύ δραστική μορφή που ονομάζεται ανιόν του σουπεροξειδίου και τα ηλεκτρόνιά του μπορούν να προκαλέσουν βλαπτικές αντιδράσεις, παρόμοιες με αυτές των ελευθέρων ριζών.

Στα περισσότερα μόρια τα ηλεκτρόνια που βρίσκονται σε κάθε στοιβάδα ζευγαρώνουν με ένα άλλο ηλεκτρόνιο και τα ηλεκτρόνια αυτά διατηρούν το μόριο σχετικά σταθερό, δηλαδή σε μικρότερη ενεργειακή κατάσταση, άρα λιγότερο δραστικό. Τα μόρια που έχουν ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια, είναι πολύ δραστικά, δηλαδή εμφανίζουν την τάση να αντιδρούν εύκολα με άλλα μόρια. Ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο εμφανίζει τεράστια έλξη στα ηλεκτρόνια των γειτονικών ατόμων, με αποτέλεσμα την πρόκληση χημικών αντιδράσεων με μεταφορά ηλεκτρονίων, οι οποίες ονομάζονται οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις.

Οι ελεύθερες ρίζες διακρίνονται στις εξής κατηγορίες: α) στις δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), β) στις δραστικές μορφές αζώτου (RNS), γ) στις δραστικές μορφές θείου (RSS) και δ) στις δραστικές μορφές χλωρίου (RCS) (Halliwell et al., 2007).

### 3.1.2 Σχηματισμός ελευθέρων ριζών

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να σχηματιστούν στον οργανισμό με τους εκής τρόπους:

- Με μια ιδιαίτερα ζημιογόνα ενεργειακά διαδικασία που προκαλεί την ομολυτική διάσπαση ενός ομοιοπολικού δεσμού κανονικού μορίου και εξασφαλίζει την απαιτούμενη ενέργεια από τη θερμότητα ή τις ακτινοβολίες ιονισμού ή την υπεριώδη ακτινοβολία.
- Με οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, μια διαδικασία που πραγματοποιείται αρκετά συχνά εξαιτίας της μικρής ποσότητας ενέργειας που απαιτείται.
- Οι ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου παράγονται από χημικές αντιδράσεις παρουσία μεταλλικών ιόντων, π.χ. όπως η αντίδραση Fenton.
- Οι ελεύθερες ρίζες παράγονται ως μέρος της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος έναντι εκφυλιστικών νόσων ή βακτηριδίων που εισβάλλουν στον οργανισμό.
- Κατά τη διάρκεια της λειτουργίας της αναπνευτικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων των κυττάρων παράγονται ελεύθερες ρίζες ανιόντος του σουπεροξειδίου λόγω της αναγωγής του οξυγόνου από τα ηλεκτρόνια που ξεφεύγουν από τα μόρια της αναπνευστικής αλυσίδας (Cheeseman et al., 1993).

Οι ελεύθερες ρίζες είναι κατά κανόνα ιδιαίτερα δραστικές και για το λόγο αυτό συμμετέχουν σε εκατοντάδες αλυσιδωτές αντιδράσεις που μπορεί στα βιολογικά συστήματα να προκαλέσουν τοξικές βλάβες σε βιομόρια, όπως η υπεροξειδωση των λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών, η μετουσίωση των πρωτεϊνών, οι διασπάσεις κλώνων του DNA (Halliwell et al., 2007). Έρευνες έχουν δείξει ότι η δραστικότητα των ελευθέρων ριζών εξαρτάται από τη σχέση όγκου/επιφάνειας και για το λόγο αυτό η πιο δραστική ρίζα είναι η ρίζα του υδροξυλίου (OH) (Gerogianni et al., 2006).

Από το πλήθος των ελευθέρων ριζών που συναντάμε στον οργανισμό αυτές που παρουσιάζουν μεγαλύτερο ενδιαφέρον είναι οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS).

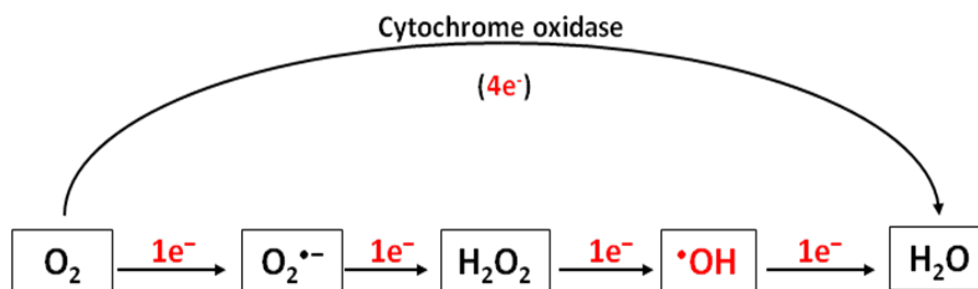
### 3.2 Τοξικότητα οξυγόνου και Δραστικές μορφές του

Το μεγαλύτερο ποσοστό του οξυγόνου (περίπου 95%) που εισέρχεται στα βιολογικά συστήματα του οργανισμού υφίσταται σταδιακή αναγωγή σε δύο μόρια νερού με την ελεγχόμενη πρόσληψη τεσσάρων ηλεκτρονίων και τεσσάρων πρωτονίων, τα οποία μεταφέρονται στα κύτταρα μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας (Σχήμα 7). Η αναγωγική αντίδραση του οξυγόνου σε νερό πραγματοποιείται στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων και καταλύεται από την κυτοχρωμική οξειδάση, ακθώς αποτελεί το τελευταίο ένζυμο της αναπνευστικής αλυσίδας (Halliwell et al., 2007). Οι ενδιάμεσες χημικές ενώσεις που παράγονται κατά την παραπάνω αντίδραση αναγωγής του O<sub>2</sub> σε νερό είναι ιδιαίτερα σταθερές και δεν αποτελούν κίνδυνο για τους κυτταρικούς μηχανισμούς.



Ένα πολύ μικρό ποσοστό του O<sub>2</sub> (περίπου το 1-2%) που εισέρχεται στον οργανισμό ανάγεται διαδοχικά σε δύο μόρια νερού (αντίδραση 1) και οι ενώσεις που προέρχονται από τη σταδιακή αναγωγή του O<sub>2</sub> ονομάζονται δραστικές μορφές οξυγόνου. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου είναι στην πλειοψηφία τους ιδιαίτερα δραστικές ενώσεις, που δε συνδέονται σε συγκεκριμένες θέσεις της αναπνευστικής αλυσίδας, ενώ ακόμα και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις είναι πολύ δραστικές. Επιπλέον, έχουν πολύ μικρό χρόνο ημιζωής, περίπου 10<sup>-6</sup> sec (Close et al., 2007), και για το λόγο αυτό δε μεταφέρονται και δεν επηρεάζουν βιολογικά συστήματα που βρίσκονται πολύ μακριά από το σημείο παραγωγής τους. Τοπική δράση παρουσιάζουν μόνο οι πρωτογενείς ρίζες, ενώ οι δευτερογενείς ρίζες, δηλαδή οι ρίζες που αντιδρούν με ένα μόριο που δεν είναι ρίζα και τα προϊόντα τους, μπορούν να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη και να επηρεάσουν αρνητικότερα

λειτουργία και άλλων κυτταρικών μηχανισμών (Sen et al., 2001). Η δράση των δευτερογενών ριζών μπορεί να τερματιστεί αν δύο δευτερογενείς ρίζες αντιδράσουν μεταξύ τους.



**Σχήμα 7.** Διαγραμματική απεικόνιση των διαδοχικών βημάτων αναγωγής του οξυγόνου σε νερό με βήματα ενός ηλεκτρονίου.

### 3.2.1 Ενδιάμεσες μορφές αναγωγής του οξυγόνου

Το αναγωγικό περιβάλλον το οποίο επικρατεί στα κύτταρα, προσφέρει αρκετές δυνατότητες στο  $O_2$  για αναγωγή με ένα ηλεκτρόνιο, σχηματίζοντας το ανιόν του σουπεροξειδίου ( $O_2^{\bullet -}$ ). Με αυτόν τον τρόπο, ενώσεις, όπως το  $O_2^{\bullet -}$ , η υδροϋπεροξειδική ρίζα ( $HO_2^{\bullet}$ ), το  $H_2O_2$  και η εξαιρετικά δραστική ρίζα του υδροξυκίου ( $\bullet OH$ ), μπορούν να θεωρηθούν κανονικά προϊόντα της καθημερινής αερόβιας ζωής. Αυξημένη δημιουργία αυτών των ενδιάμεσων μορφών της αναγωγής του οξυγόνου θεωρείται υπεύθυνη για μια πλειάδα παθολογικών καταστάσεων στους αερόβιους οργανισμούς (Koch et al., 2010, Griending et al., 1999). Στον Πίνακα 4 αναφέρονται μια σειρά από ενώσεις, οι οποίες είναι δυνατόν να συμμετέχουν σε τοξικές για τα κύτταρα αντιδράσεις και οι οποίες ονομάζονται “Δραστικές Μορφές Οξυγόνου” ή “Ενδιάμεσες Μορφές Αναγωγής Οξυγόνου”. Όπως παρατηρείται, μόνο μερικές από αυτές είναι ελεύθερες ρίζες.

Ένωση	Όνομα
	Ελεύθερες ρίζες
$O_2^{\cdot-}$	Ανιόν σουπεροξειδίου
$HO_2^{\cdot}$	Υδροϋπεροξειδική ρίζα
$\cdot OH$	Ρίζα υδροξυλίου
$RO^{\cdot}$	Ρίζα αλκοξειδίου
$ROO^{\cdot}$	Ρίζα υπεροξειδίου
$NO_2^{\cdot}$ και $NO^{\cdot}$	Διοξειδίο και μονοξειδίο του αζώτου
	Μη-ελεύθερες ρίζες
$H_2O_2$	Υπεροξείδιο του υδρογόνου
$ROOH$	Οργανικά υπεροξείδια
$^1O_2$	Μονήρες οξυγόνο
$O_3$	Όζον
$HOCl$	Υποχλωριώδες οξύ
$ONOO^-$	Περοξυνοτρικό

**Πίνακας 4.** Δραστικές Μορφές Οξυγόνου.

### **3.3 Οξειδωτικό στρες**

#### **3.3.1 Εισαγωγή**

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες η παραγωγή των δραστικών μορφών οξυγόνου εξισορροπείται κατά κανόνα στους αερόβιους οργανισμούς από τη δράση των ενδοκυττάρων αντιοξειδωτικών συστημάτων. Η ισορροπία αυτή είναι δυναμική, με δυνατότητα αλλαγής προς την ία ή την άλλη πλευρά. Ο όρος οξειδωτικό στρες αναφέρεται στην κατάσταση κατά την οποία η ισορροπία ανάμεσα στους οξειδωτικούς παράγοντες και την αντιοξειδωτική άμυνα διαταράσσεται σημαντικά υπέρ των πρώτων, οδηγώντας έτσι στην βλάβη των κυτταρικών συστατικών. Ανάλογα με την ένταση του οξειδωτικού στρες, οι επιδράσεις στις διάφορες κυτταρικές λειτουργίες ποικίλλουν, οδηγώντας ακόμα και στον κυτταρικό θάνατο όταν τα επίπεδα της έντασης είναι υψηλά (Halliwell et al., 1985).

#### **3.3.2 Επιπτώσεις από τη δημιουργία ελευθέρων ριζών**

Όταν στο κύτταρο επικρατούν συνθήκες οξειδωτικού στρες, οι ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται ενδοκυττάρια, μπορούν να αντιδράσουν και να προκαλέσουν τροποποιήσεις σε όλα τα βασικά κυτταρικά συστατικά. Οξειδωτική τροποποίηση των βασικών κυτταρικών συστατικών όπως το DNA, οι πρωτεΐνες, τα μεμβρανικά λιπίδια κλπ, έχει σοβαρές επιπτώσεις που είναι δυνατόν να επιφέρουν έως και τον κυτταρικό θάνατο.

### 3.3.3 Υπεροξειδωση των λιπιδίων

Ο καλύτερα μελετημένος μηχανισμός αντίδρασης των ελευθέρων ριζών στα κύτταρα είναι με τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, που βρίσκονται στα φωσφολιπίδια και αποτελούν τα βασικά συστατικά των μεμβρανών του κυττάρου και των λιποπρωτεϊνών του. Το φαινόμενο αυτό καλείται λιπιδιακή υπεροξειδωση και το έναυσμά της μπορεί να προκληθεί από οποιαδήποτε ελεύθερη ρίζα, αρκεί να είναι τόσο δραστική, ώστε να μπορεί να αποσπάσει ένα άτομο υδρογόνου από το λιπαρό οξύ, έχοντας ως συνέπεια το σχηματισμό μιας ελεύθερης ρίζας λιπαρού οξέος. Σχεδόν άμεσα πραγματοποιείται ανασυνδυασμός με τα ηλεκτρόνια από τους διπλανούς διπλούς δεσμούς, με συνέπεια την παραγωγή των συζυγών διενίων, καθώς και μιας νέας ελεύθερης ρίζας. Η ρίζα αυτή είναι περισσότερο σταθερή και αντιδρά συνήθως με μοριακό οξυγόνο, δημιουργώντας μια ρίζα υπεροξειδίου, η οποία στη συνέχεια αποσπά ένα άτομο υδρογόνου από ένα άλλο πολυακόρεστο λιπαρό οξύ, ανακυκλώνοντας ουσιαστικά την αντίδραση.

Τα αποτελέσματα της λιπιδιακής υπεροξειδωσης στις μεμβράνες είναι κυρίως η μείωση της ρευστότητας, η μείωση του μιτοχονδριακού μεμβρανικού δυναμικού, η αύξηση της διαπερατότητας σε ιόντα, όπως το  $\text{Ca}^{2+}$  και τα  $\text{H}^+$  και πιθανά η λύση του κυττάρου και η απελευθέρωση των συστατικών του. Παρατεταμένη λιπιδιακή υπεροξειδωση προκαλεί την ολική καταστροφή των βιολογικών μεμβρανών και τον θάνατο των κυττάρων.

### 3.3.4 Πρόκληση βλαβών στο DNA

Τα νουκλεϊκά οξέα του DNA και του RNA είναι επίσης ιδιαίτερα ευαίσθητα στην επίδραση των ελευθέρων ριζών και ως κύριο προϊόν είναι η 8-υδροξυ-δεοξυγουανοσίδη, που προκύπτει από την οξειδωση της γουανίνης στη θέση C8 του πουσινικού δακτυλίου (Kevin et al., 2007). Η οξειδωση του DNA μπορεί να προκαλέσει μεταλλάξεις, απαλοιφές και προσθήκες βάσεων, ακόμα και διάσπαση



των αλυσίδων της διπλής έλικας. Οι παραπάνω διαταραχές αφορούν τόσο το πυρηνικό όσο και το μιτοχονδριακό γενετικό υλικό και οδηγούν σε καρκινογένεση και γήρανση του κυττάρου (Radak et al., 1999). Ειδικά το μιτοχονδριακό DNA, είναι πιο ευαίσθητο στην βλαπτική επίδραση των ελευθέρων ριζών.

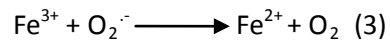
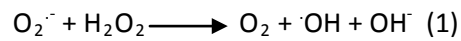
### 3.3.5 Πρόκληση βλαβών στις πρωτεΐνες

Σημαντικό στόχο των ελευθέρων ριζών αποτελούν και οι πρωτεΐνες. Οι επιπτώσεις της δημιουργίας ελευθέρων ριζών σε μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη εξαρτώνται από την περιεκτικότητα της πρωτεΐνης σε αμινοξέα τα οποία είναι ευαίσθητα στη δράση ελευθέρων ριζών, από το πόσο σημαντικά είναι αυτά τα αμινοξέα για τη δράση της πρωτεΐνης και από την ικανότητα των κυττάρων να διορθώσουν τις βλαβες στη συγκεκριμένη πρωτεΐνη (Davies et al., 2003). Κατά συνέπεια, πρωτεΐνες που περιέχουν σχετικά μεγάλες ποσότητες από τα ευαίσθητα σε οξειδωτική τροποποίηση αμινοξέα κυστεΐνη, μεθειονίνη, τρυπτοφάνη, τυροσίνη, φαινιλαλανίνη και ιστιδίνη προσβάλλονται πιο εύκολα, λόγω της υψηλής δραστηριότητας των θειούχων και ακόρεστων μορίων με ελεύθερες ρίζες. Ανάλογα με το είδος της ελεύθερης ρίζας ή της δραστηρικής μορφής οξυγόνου, που επιτίθεται σε ένα αμινοξύ, προκύπτει και το είδος της τροποποίησης που πραγματοποιείται.

### 3.3.6 Αντίδραση Fenton

Η ρίζα του υδροξυλίου είναι η πιο δραστηρική ρίζα που συναντάμε στα διάφορα βιολογικά συστήματα και *in vivo* παράγεται κυρίως μέσω της αντίδρασης Fenton (Halliwell et al., 2007). Πρώτος ο Fenton υποστήριξε ότι η ρίζα του υδροξυλίου παράγεται από την οξείδωση του δισθενή σιδήρου ( $Fe^{2+}$ ) σε τρισθενή ( $Fe^{3+}$ ) από το υπεροξείδιο του υδρογόνου (Fenton 1894). Οι ρίζες του υδροξυλίου μπορούν να παραχθούν *in vivo* παρουσία μετάλλων μετάπτωσης, όπως ο σίδηρος και ο χαλκός,

αλλά το επικρατέστερο μέταλλο είναι ο σίδηρος, λόγω της αυξημένης συγκέντρωσής του στα κύτταρα (Close et al., 2007). Η αντίδραση που προτάθηκε από τον Fenton τροποποιήθηκε από τους Haber-Weiss, για να συμπεριλάβει την αναγωγή του δισθενούς Fe από το ανιόν του σουπεροξειδίου (Αντιδράσεις 1-3) (Halliwell et al., 2007).



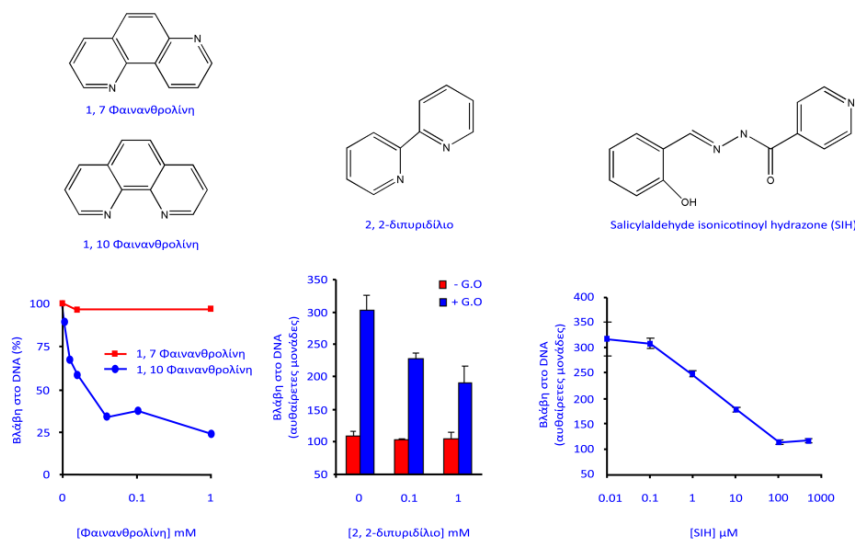
## 4. Σίδηρος και οξειδωτικό στρες

### 4.1 Σημασία της δέσμευσης των ιόντων σιδήρου

Οι ρίζες υδροξυλίου, λόγω της μεγάλης δραστικότητάς τους αντιδρούν μη εξειδικευμένα με οτιδήποτε βρεθεί δίπλα τους τη στιγμή του σχηματισμού τους. Έτσι, καθίστανται ικανές να οξειδώσουν οποιοδήποτε κυτταρικό συστατικό βρεθεί δίπλα τους, όπως το DNA του κυττάρου, τις πρωτεΐνες ή να οδηγήσουν στην υπεροξειδωση των λιπιδίων.

Ο σίδηρος από την άλλη ενώ είναι απολύτως απαραίτητος για τη διατήρηση της ζωής, σε μεγάλες συγκεντρώσεις μπορεί να προκαλέσει τοξικές επιπτώσεις. Η ευκολία με την οποία αλλάζει την οξειδωτική του κατάσταση τον καθιστά μοναδικό, αλλά επίσης του προσδίδει και την ικανότητα παραγωγής δραστικών ελευθέρων ριζών στον οργανισμό, μέσω της αντίδρασης Fenton που αναφέρθηκε παραπάνω.

Από όλα αυτά, είναι εμφανές ότι για την αποφυγή ανεξέλεγκτων οξειδώσεων μέσα στο κύτταρο, τα ελεύθερα ιόντα σιδήρου με κάποιον τρόπο θα πρέπει να δεσμευτούν (Hower et al, 2009; Pietrangelo et al, 2007). Πράγματι, από πειράματα σε καλλιέργειες που έχουν γίνει, έχει εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η ευαισθησία στο  $H_2O_2$  αυξάνεται παράλληλα με την ύπαρξη ιόντων σιδήρου, ενώ μειώνεται παρουσία χημικών ενώσεων, όπως η δεσφερριοξαμίνη (DFO), η δεφεριπρόνη (DFP), η φαινανθρολίνη και άλλες, οι οποίες δεσμεύουν, αδρανοποιούν ή, απλώς, απομακρύνουν τα ιόντα σιδήρου από την αρχική τους θέση (Barbouti et al, 2001; Melidou et al, 2005; Βλάχου, 2010) (Σχήμα 8). Φυσικά, για να μπορέσουν να δράσουν να δράσουν αυτές οι ενώσεις θα πρέπει να είναι ικανές να διαπερνούν την κυτταροπλασματική μεμβράνη.



**Σχήμα 8.** Προσφερόμενη προστασία γνωστών σιδηροδραστικών ενώσεων στο DNA κυττάρων τα οποία εκτίθενται σε οξειδωτικό στρες υπό τη μορφή  $H_2O_2$ . Τα κύτταρα (Jurkat, ανθρώπινα Τ-λεμφοκύτταρα) επώαστηκαν με τις ενδεικνυόμενες συγκεντρώσεις των σιδηροδραστικών ενώσεων 1,7- και 1,10-φαινανθρολίνη (Α), 2,2-διπυριδύλιο (Β) και SIH (Γ) πριν από την έκθεσή τους σε  $H_2O_2$ . Η εκτίμηση των σχάσεων στο DNA έγινε με τη μέθοδο comet assay (Barbouti et al, 2001). Η παρουσία των σιδηροδραστικών παραγόντων προσφέρει προστασία στο πυρηνικό DNA, μειώνοντας τις σχάσεις στις μονές αλυσίδες (Γαλάρης 2015).

## 4.2 Σχέσεις διατροφής και υγείας

Σύμφωνα με έρευνες που έχουν γίνει, ένας πολύ μεγάλος αριθμός τέτοιων σιδηροδραστικών ενώσεων έχει βρεθεί σε φρούτα και λαχανικά.

Η μελέτη των συστικών της διατροφής ως προς τη δράση τους σε μηχανισμούς στους οποίους μπορούν να συμμετέχουν, βρίσκεται σε εξέλιξη εδώ και δεκαετίες, καθώς ανέκαθεν η πρόσληψη τους, η οποία συμβαίνει καθόλη τη διάρκεια ζωής ενός ατόμου, καθορίζει και την ποιότητα διαβίωσης εντέλει.

Η λεγόμενη λοιπόν “θεωρία των αντιοξειδωτικών”, σύμφωνα με την οποία, αντιοξειδωτικά που βρίσκονται στη Μεσογειακή διαίτα μπορούν να εξουδετερώνουν τις δραστικές ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται στον οργανισμό, έγινε γρήγορα καθολικά αποδεκτή, χωρίς όμως να έχει τη βάση της σε επαρκή πειραματικά

δεδομένα (Halliwell et al, 2007). Ωστόσο, όλες οι μεγάλες προοπτικές μελέτες οι οποίες σχεδιάστηκαν για την επαλήθευσή της έδειξαν αρνητικά αποτελέσματα (Warnholtz et al, 2000). Με αυτόν τρόπο η συγκεκριμένη θεωρία έπρεπε να αναθεωρηθεί και να προσαρμοστεί σε νέα πειραματικά δεδομένα.

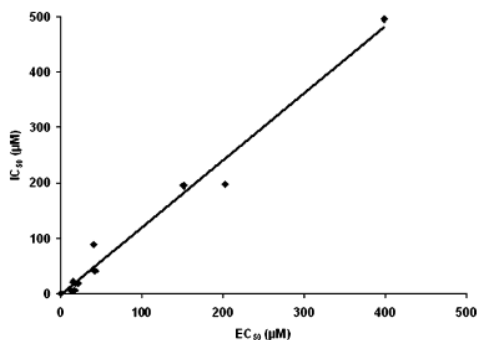
### 4.3 Δράσεις των αντιοξειδωτικών της διατροφής

Τα αντιοξειδωτικά έχει επικρατήσει ότι δρουν μέσω της εξουδετέρωσης των δραστικών ελευθέρων ριζών. Η διατροφή λοιπόν, μέσω των αντιοξειδωτικών που περιλαμβάνει, επιδρά στην υγεία μέσω της εξουδετέρωσης αυτών των ελευθέρων ριζών. Ωστόσο, οι ρίζες του υδροξυλίου, αντιδρούν κατά τη στιγμή του σχηματισμού τους με οποιαδήποτε χημική ομάδα βρεθεί δίπλα τους με σταθερές αντίδρασης  $k$  της τάξης του  $10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  (Haag et al., 1992). Οπότε, οι αντιδράσεις των ριζών υδροξυλίου εξαρτώνται μόνο από το σημείο δημιουργίας τους και για να δράσουν τα αντιοξειδωτικά θα πρέπει να βρίσκονται ακριβώς δίπλα στην ρίζα υδροξυλίου τη στιγμή του σχηματισμού της, κάτι το οποίο δεν είναι εφικτό. Μία άλλη λύση θα ήταν τα αντιοξειδωτικά να βρίσκονται σε μη φυσιολογικές συγκεντρώσεις μέσα στο κύτταρο, κάτι που επίσης δεν υφίσταται.

Με αυτές λοιπόν τις παρατηρήσεις, είναι εμφανές ότι ο μόνος τρόπος προστασίας από τις δραστικές ελεύθερες ρίζες θα ήταν η αναστολή του σχηματισμού τους. Πράγματι, με αναστολή της ομολυτικής διάσπασης των υπεροξειδίων και με ενίσχυση των ενζύμων που είναι υπεύθυνα για την απομάκρυνση των υπεροξειδίων, αυτό θα μπορούσε να συμβεί (Forman, Davies et al, 2014; Ursini, Maiorino et al, 1995).

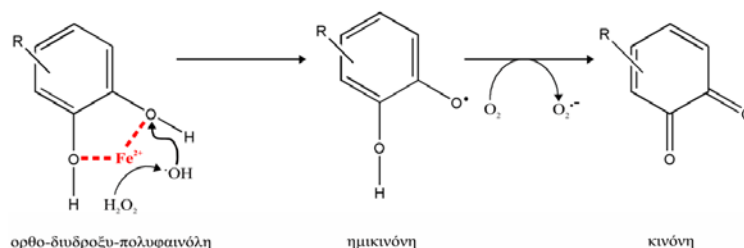
Μια υπόθεση εργασίας, η οποία έχει ελεγχθεί πειραματικά από την ερευνητική ομάδα του Καθηγητή Δημητρίου Γαλάρη του εργαστηρίου Βιολογικής Χημείας στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων σε επίπεδο ανθρώπινων κυττάρων, είναι ότι ενώσεις της Μεσογειακής διαίτας μπορούν να διαχέονται διαμέσου των κυτταρικών μεμβρανών και να δεσμεύουν ενδοκυττάρια ιόντα σιδήρου (Barbouti, et al, 2010, Barbouti, et al, 2001, Doulias, et al, 2005, Kitsati, et al, 2012, Melidou, et al,

2005, Nousis, et al, 2005). Με αυτόν τον τρόπο είναι ικανές να προστατεύουν τα βασικά κυτταρικά συστατικά από ανεξέλεγκτες οξειδώσεις σε συνθήκες οξειδωτικού στρες (Σχήμα 9).



**Σχήμα 9.** Συσχέτιση της προστασίας και της ικανότητας δέσμευσης ενδοκυττάριου σιδήρου από φλαβονοειδή. Κάθε κουκκίδα αναπαριστά ένα φλαβονοειδές. IC<sub>50</sub>: συγκέντρωση φλαβονοειδούς που προσφέρει 50% προστασία ενάντια στη βλάβη DNA από H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. EC<sub>50</sub>: συγκέντρωση φλαβονοειδούς που είναι ικανό να δεσμεύσει το 50% του καταλυτικά ενεργού σιδήρου από την καλασίνη (Melidou et al, 2005).

Η δομή των αντιοξειδωτικών έχει καταλυτικό ρόλο στην ικανότητα δέσμευσης των ιόντων σιδήρου. Τις περισσότερες φορές οι φαινολικές ενώσεις δεσμεύουν μερικώς τον σίδηρο, στις μία ή δύο θέσεις από τις έξι συνολικά θέσεις δέσμευσής του, επιτρέποντάς του να αντιδράσει με υπεροξειδία στα σημεία που παραμένουν ακάλυπτα. Με αυτόν τον τρόπο, οι δραστικές ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται αντιδρούν με τα σιδηροδεσμευτικά μόρια, οξειδώνοντάς τα. Η οξείδωση τέτοιου είδους συστατικών της διατροφής, όπως είναι οι πολυφαινόλες που περιέχουν ορθο-διυδροξυλομάδες ικανές να δεσμεύουν ιόντα σιδήρου, οδηγεί στη δημιουργία των αντίστοιχων μορίων κινόνης (Σχήμα 10).



**Σχήμα 10.** Η μερική επικάλυψη των θέσεων δέσμευσης του σιδήρου από ορθο-διυδροξυ-φαινόλες της διατροφής επιτρέπει την αντίδρασή του με υπεροξειδία και τον σχηματισμό εξαιρετικά δραστηκών ελευθέρων ριζών. Σ' αυτήν την περίπτωση, οι φαινόλες οξειδώνονται αρχικά σε ημικινόνες και στη συνέχεια σε κινόνες μετά από απόδοση ενός ακόμα ηλεκτρονίου στο μοριακό  $O_2$  (Γαλάρης 2015).

Συμπερασματικά, ένας μεγάλος αριθμός ενώσεων που περιέχονται στη διατροφή, έχει την ικανότητα να διαχέεται διαμέσου των βιολογικών μεμβρανών και να φθάνει στο εσωτερικό των κυττάρων, δεσμεύοντας ιόντα σιδήρου και αποτρέποντας τη δημιουργία δραστηκών ελευθέρων ριζών, κυρίως υδροξυλίων.

#### 4.4 Συστατικά της διατροφής και απόπτωση

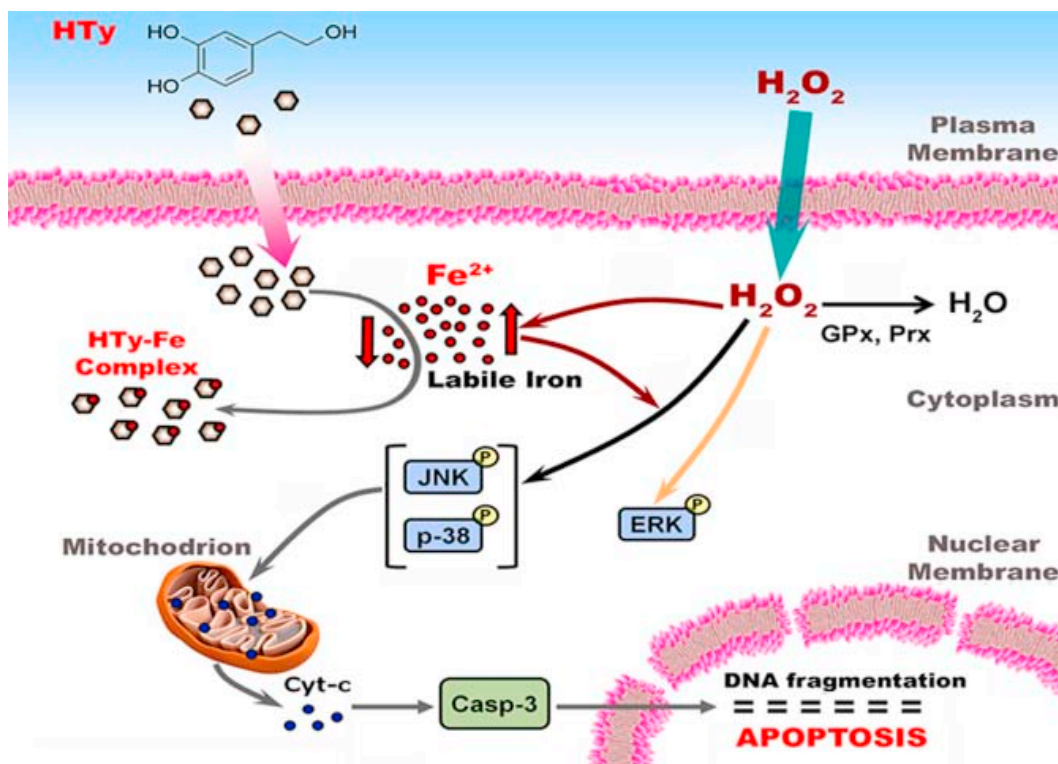
Έχει αποδειχθεί πρόσφατα (Kitsati et al, 2016), ότι συστατικά της διατροφής, και συγκεκριμένα η υδροξυτυροσώλη, η οποία αποτελεί βασικό συστατικό του ελαιολάδου, είναι ικανή στο να προστατεύει τα κύτταρα από απόπτωση μέσω της ικανότητας που έχει να δεσμεύει σίδηρο.

Πιο συγκεκριμένα, ο μηχανισμός δράσης της, μετά από έκθεση καλλιεργημένων κυττάρων σε  $H_2O_2$  είναι ο εξής (Σχήμα 11): (1) Μια βαθμίδα συγκέντρωσης  $H_2O_2$  σχηματίζεται μεταξύ του εξωκυττάρου και ενδοκυττάρου χώρου. (2) Εντός των κυττάρων, το  $H_2O_2$  ανάγεται σε  $H_2O$  κυρίως από τα ένζυμα περοξυρεδοξίνη (Prx) και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx). Καθώς η ποσότητα του προστιθέμενου  $H_2O_2$  αυξάνεται, η απομάκρυνση του από τα κύτταρα διαρκεί περισσότερο, επιτρέποντάς το να αλληλεπιδράσει με λιγότερο ευαίσθητους στόχους στο εσωτερικό των κυττάρων. (3) Η παρουσία  $H_2O_2$  εντός των κυττάρων προκαλεί μια σημαντική αύξηση του καταλυτικά ενεργού σιδήρου. (4) Η αύξηση του καταλυτικά ενεργού σιδήρου σχετίζεται με συγκεκριμένη ισχυρή και παρατεταμένη φωσφορυλίωση των

JNK και p38 MAPKs, μετά την έκθεση των κυττάρων σε  $H_2O_2$ . (5) Η επαγωγή της φωσφορυλίωσης της ERK και η πρώτη φάση της φωσφορυλίωσης της p38 είναι διαδικασίες που δεν εξαρτώνται από τον σίδηρο. (6) Με την παρουσία της υδροξυτυροσώλης (HTy), η φύση του καταλυτικά ενεργού σιδήρου διαμορφώνεται λόγω της απομάκρυνσής του από διαφορετικές τοποθεσίες μέσω της δράσης δέσμευσης που έχει η όρθο-διϋδρόξυ ομάδα αυτής της ένωσης, αναστέλλοντας την εξαρτώμενη από καταλυτικά ενεργό σίδηρο ενεργοποίηση της JNK και της p38 MAPKs. (7) Ανθεκτική και παρατεταμένη ενεργοποίηση της JNK και της p38 MAPKs προκαλεί αλλαγές στη διαπερατότητα των μιτοχονδρίων, που τελικά καταλήγουν στην απόπτωση του κυττάρου.

Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στην παρούσα εργασία, προτείνεται ότι οποιοδήποτε ένωση που περιέχεται στην ανθρώπινη διατροφή και μπορεί να διαπεράσει τις βιολογικές μεμβράνες και, επιπλέον, είναι σε θέση να δεσμεύσει τον καταλυτικά ενεργό σίδηρο, είναι ικανή να καταργήσει την εξαρτώμενη από  $H_2O_2$  προκαλούμενη βλάβη του DNA και οξειδοαναγωγική σηματοδότηση απόπτωσης. Παρά το γεγονός ότι, σε *in vitro* συνθήκες είναι απίθανο να φθάσει σε τέτοιο ενδοκυτταρικό επίπεδο η υδροξυτυροσώλη που χρησιμοποιείται σε αυτή τη μελέτη, λόγω της βιοκατανομής διαδικασιών και του ξενοβιοτικού μεταβολισμού, είναι εύλογο να υποθέσουμε ότι το συνδυαστικό αποτέλεσμα της πληθώρας των ενώσεων που δεσμεύουν σίδηρο που είναι παρούσες σε δίαιτες πλούσιες σε φαινολικά, θα μπορούσαν να δράσει προσθετικά διαμορφώνοντας την ενδοκυττάρια ομοιόσταση του καταλυτικά ενεργού σιδήρου και με αυτό τον τρόπο να προστατεύσει τα κύτταρα υπό συνθήκες οξειδωτικού στρες (Kitsati et al, 2016).





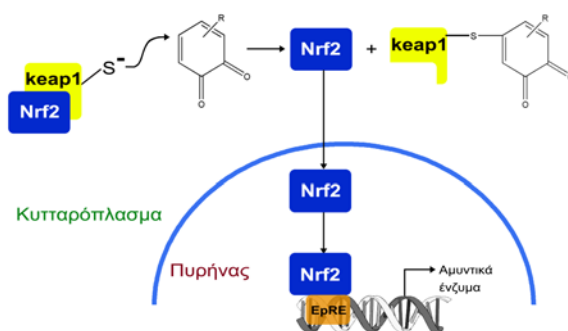
**Σχήμα 11.** Σχηματική αναπαράσταση των γεγονότων που λαμβάνουν χώρα μετά την έκθεση των κυττάρων σε H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> παρουσία της υδροξυτυροσόλης (HTy) (Kitsati et al, 2016).

#### 4.5 Επαγωγή της αμυντικής ικανότητας των κυττάρων μέσω ενεργοποίησης του Nrf2

Ο μεταγραφικός παράγοντας Nrf2, σε φυσιολογικές συνθήκες βρίσκεται δεσμευμένος στην πρωτεΐνη Keap1 στο κυτταρόπλασμα. Με ομοιοπολική σύνδεση ηλεκτρόφιλης ένωσης με κατάλοιπα κυστεϊνών στην Keap1, ο Nrf2 ελευθερώνεται και μεταφέρεται στον πυρήνα. Εκεί, συνδέεται σε ειδικές αλληλουχίες στο DNA (ErREs, electrophile response elements) και με αυτόν τον τρόπο, ρυθμίζει την έκφραση ενός μεγάλου αριθμού γονιδίων σχετικών με την άμυνα και την επιβίωση των κυττάρων σε συνθήκες στρες (Σχήμα 12). Για παράδειγμα, επάγονται ένζυμα που στοχεύουν στην απομάκρυνση των δραστικών μορφών οξυγόνου και στην εξουδετέρωση τοξικών ξеноβιοτικών, καθώς και ένζυμα επιδιόρθωσης του DNA και των πρωτεϊνών (Forman et al, 2014, Dickinson et al, 2003). Παραδείγματα γονιδίων που επάγονται είναι η δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD), η καταλάση (CAT), η τρανσφεράση της

γλουταθειόνης (GSH-S-transferase), καθώς και ένζυμα που εμπλέκονται στη σύνθεση της γλουταθειόνης.

Σύμφωνα με έρευνες που έχουν γίνει, ένας αριθμός από ενώσεις που βρίσκονται σε τρόφιμα της Μεσογειακής διατροφής έχουν την ικανότητα να προκαλούν την ενεργοποίηση του Nrf2 και την επαγωγή της έκφρασης των αντίστοιχων γονιδίων (Hur et al, 2011). Η δράση που προτείνεται είναι ότι νουκλεόφιλες σιδηροδεσμευτικές ενώσεις της διατροφής μπορούν να μετατραπούν σε ηλεκτρόφιλα μόρια μετά από την οξειδωσή τους, έχοντας έτσι την ικανότητα να δράσουν ως ενεργοποιητές του Nrf2 (Γαλάρης, 2015).



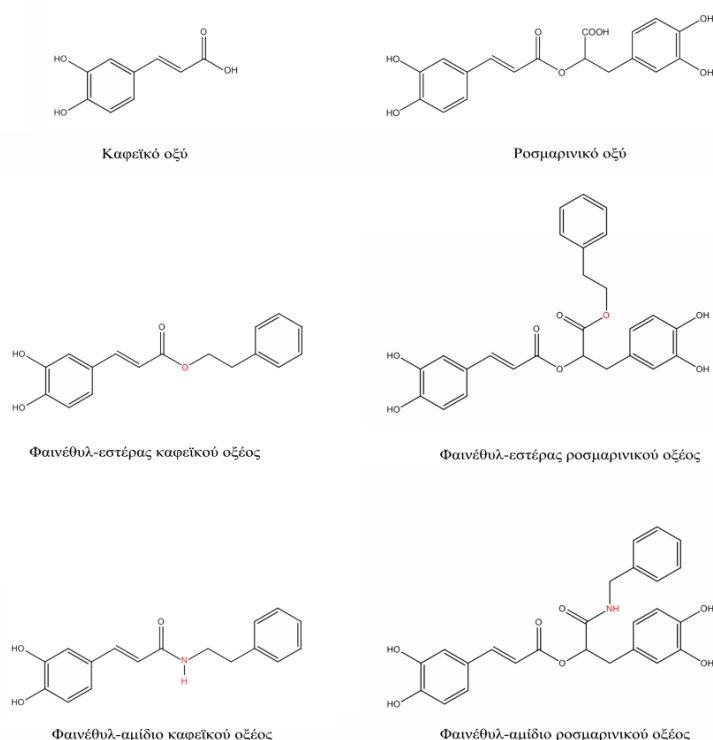
**Σχήμα 12.** Σχηματική απεικόνιση της ενεργοποίησης του Keap1/Nrf2 σηματοδοτικού μονοπατιού από οξειδωμένες πολυφαινόλες της διατροφής. Μια οξειδωμένη πολυφαινόλη (ορθο-κινόνη) αντιδρά με μια ευαίσθητη κυστεΐνη στην πρωτεΐνη Keap1 και συνδέεται ομοιοπολικά μ' αυτήν (προσθήκη κατά Michael). Η εν λόγω σύνδεση αποσπά την Keap1 από τον παράγοντα Nrf2, ο οποίος απελευθερώνεται και μεταφέρεται στον πυρήνα, όπου συνδέεται με συγκεκριμένες αλληλουχίες νουκλεοτιδίων στο DNA, ενεργοποιώντας την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν αμυντικά ένζυμα (Γαλάρης, 2015).

#### 4.6 Κατανομή των συστατικών της διατροφής

Ένας από τους παράγοντες που καθορίζει τη δράση των ενώσεων της διατροφής μας είναι η ικανότητα της κάθε ένωσης να εισέρχεται στον οργανισμό και να κατανέμεται μεταξύ των διαφόρων ιστών, κυττάρων και υποκυτταρικών διαμερισμάτων. Η κατανομή αυτή κατά το μεγαλύτερο ποσοστό εξαρτάται από την ικανότητά της να διαπερνά τις βιολογικές μεμβράνες.

Η παθητική διάχυση διαμέσου των μεμβρανών αποτελεί τον πιο συνηθισμένο τρόπο πρόσληψης των ενώσεων της διατροφής από τα κύτταρα. Η πρόσληψη όμως

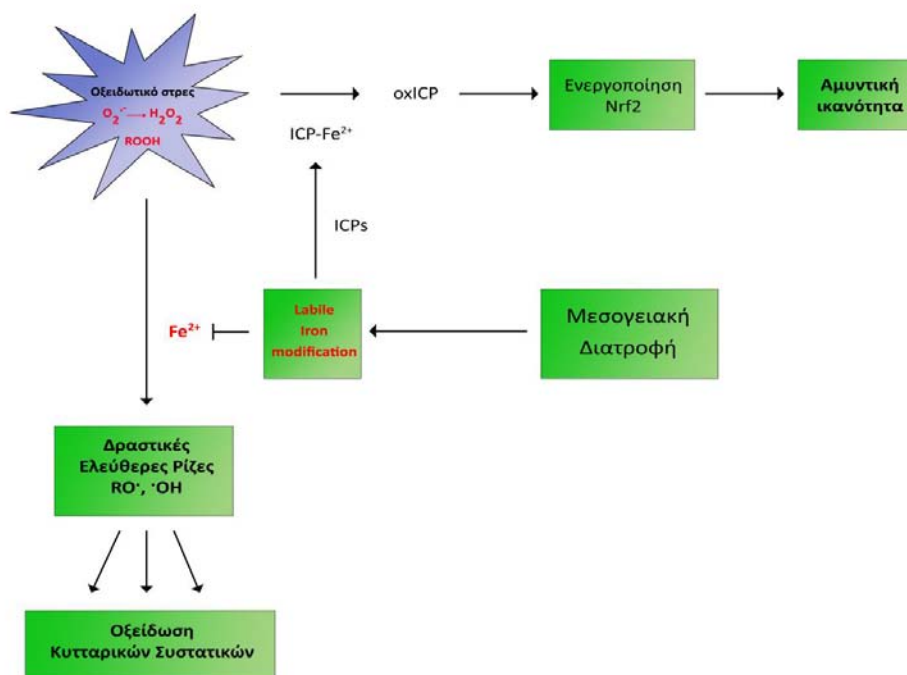
αυτών των ενώσεων δεν είναι εφικτή όταν είναι φορτισμένες με ηλεκτρικά φορτία. Έχει αποδειχθεί ότι μικρές αλλαγές σε τέτοιου είδους ενώσεις που οδηγούν σε κάλυψη του ηλεκτρικού τους φορτίου, έχουν δραματικές επιπτώσεις στη δράση τους στα κύτταρα (~100 φορές πιο δραστικά), καθότι είναι σε θέση να διαχέονται πολύ πιο εύκολα και γρήγορα διαμέσω των μεμβρανών. Επίσης το είδος της τροποποίησης επηρεάζει σημαντικά τη δράση τους. Για παράδειγμα, έχει αποδειχθεί ότι οι εστέρες του καφεϊκού οξέος είναι περισσότερο δραστικοί από τα αμίδια της ίδιας ένωσης (Σχήμα 13). Η δράση τους διαφέρει γιατί τα πρώτα υδρολύονται εύκολα και στη συνέχεια εγκλωβίζονται εντός των κυττάρων, ενώ η διάσπαση των αμιδίων είναι πολύ πιο αργή διαδικασία (Kitsati et al, 2012).



**Σχήμα 13.** Το καφεϊκό και το ροσμαρινικό οξύ είναι δύο απλά οργανικά οξέα που βρίσκονται σε αφθονία στα φυτικής προέλευσης συστατικά της διατροφής. Η ικανότητα των εστερικών και των αμιδικών παραγώγων αυτών των ενώσεων διαφέρει δραματικά απ' αυτήν των μητρικών ενώσεων, λόγω της διαφορετικής κατανομής τους στα κύτταρα. Αυτό οφείλεται στην ύπαρξη ηλεκτρικών φορτίων στις καρβοξυλομάδες των οξέων η οποία δεν επιτρέπει τη διάχυσή τους μέσω των βιολογικών μεμβρανών (Γαλάρης 2015).

#### 4.7 Ανακεφαλαίωση

Όπως μπορούμε να παρατηρήσουμε στο Σχήμα 14, οι βιοδραστικές ενώσεις της διατροφής για να εξασφαλίσουν τη μεγαλύτερη ωφέλεια για τον οργανισμό, θα πρέπει: (α) να μπορούν να διαπερνούν εύκολα τις βιολογικές μεμβράνες, (β) να έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν ιόντα σιδήρου και (γ), να έχουν την ικανότητα αναγωγής των δραστικών ελευθέρων ριζών. Η οξείδωση της ένωσης την μετατρέπει από νουκλεόφιλη σε ηλεκτρόφιλη, ικανή να ενεργοποιήσει το Keap1/Nrf2 μονοπάτι, υπεύθυνο για την επαγωγή ενζύμων που ενισχύουν την άμυνα και την ικανότητα επιβίωσης του οργανισμού σε συνθήκες οξειδωτικού στρες.



**Σχήμα 22.** Γενική απεικόνιση του προτεινόμενου μοριακού μηχανισμού δράσης συστατικών της διατροφής. Σύμφωνα με το διάγραμμα, τα δραστικά συστατικά της διατροφής θα πρέπει: (α) να έχουν την ικανότητα να διαπερνούν τις κυτταρικές μεμβράνες και να φθάνουν στα σημεία-στόχους, (β) να μπορούν να δεσμεύουν, έστω και χαλαρά, ιόντα σιδήρου εντός των κυττάρων, (γ) να έχουν την ικανότητα αναγωγής των δραστικών ελευθέρων ριζών, όταν αυτές παράγονται από την αντίδραση του μερικώς επικαλυπτόμενου σιδήρου με υπεροξειδία, και (δ) οι οξειδωμένες μορφές τους να είναι αρκετά ηλεκτρόφιλες, ούτως ώστε να αντιδρούν με την πρωτεΐνη Keap1 και να ενεργοποιούν τον μεταγραφικό παράγοντα Nrf2. ICPs: φαινολικές ενώσεις που δεσμεύουν ιόντα σιδήρου (Iron Chelating Phenols) (Γαλάρης 2015).

### **Διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών δράσης βιοδραστικών συστατικών της Μεσογειακής δίαιτας**

Από την αρχαιότητα είναι γνωστό ότι οι διατροφικές συνήθειες μπορούν να επηρεάσουν την υγεία και την φυσική κατάσταση του οργανισμού. Ιδιαίτερη αναφορά γίνεται στην Μεσογειακή δίαιτα, για την οποία οι επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν σημαντικές διαφορές μείωσης ορισμένων παθήσεων. Ο εντοπισμός των βιοδραστικών ουσιών που προκαλούν τα βιολογικά αυτά αποτελέσματα έχει γίνει αντικείμενο μελέτης, καθώς επίσης και ο πιθανός μηχανισμός δράσης τους. Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζεται η συσχέτιση που υπάρχει ανάμεσα στα βιοδραστικά συστατικά της Μεσογειακής δίαιτας και σε έναν τομέα που αναπτύσσεται διαρκώς, τη χημεία των ελευθέρων ριζών.

Οι μικρομοριακές ενώσεις που είτε είναι ενδογενώς είτε λαμβάνονται μέσω της διατροφής, καλούνται συνήθως «εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών» ή απλώς «αντιοξειδωτικά». Σύμφωνα με τη θεωρία των αντιοξειδωτικών, οι ενώσεις αυτές, που βρίσκονται σε αφθονία στη Μεσογειακή δίαιτα, έχουν την ικανότητα να εξουδετερώνουν τις δραστικές ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται στον οργανισμό. Με αυτόν τον τρόπο, προστατεύουν τα συστατικά των κυττάρων από ανεξέλεγκτες οξειδώσεις, που θα συνέβαλαν στην ανάπτυξη παθολογικών καταστάσεων. Ωστόσο, λόγω της απευθείας αντίδρασης των δραστικών ελευθέρων ριζών με οποιαδήποτε χημική ομάδα βρίσκεται στο μικροπεριβάλλον δημιουργίας τους, ο μόνος τρόπος προστασίας από τις δραστικές ελεύθερες ρίζες *in vivo* είναι η αναστολή της δημιουργίας τους.

Αυτό, όπως έχει αποδειχθεί, επιτυγχάνεται μέσω της δέσμευσης από τα περισσότερα φαινορικά συστατικά της διατροφής των ιόντων σιδήρου, τα οποία μέσω της αντίδρασης Fenton, οδηγούν στη δημιουργία δραστικών ελευθέρων ριζών. Έτσι καθίστανται ικανά να καταργήσουν την εξαρτώμενη από  $H_2O_2$  προκαλούμενη βλάβη του DNA και την οξειδοαναγωγική σηματοδότηση της απόπτωσης. Για να δράσουν οι

βιοδραστικοί παράγοντες που περιέχονται στη διατροφή πρέπει τόσο να έχουν τη δυνατότητα να δεσμεύουν καταλυτικά ενεργά ιόντα σιδήρου όσο και να μπορούν να διαπερνούν εύκολα τις βιολογικές μεμβράνες και να δρουν ενδοκυττάρια. Επίσης, σε περίπτωση που υπάρξει αντίδραση του δεσμευμένου σιδήρου με κάποιο υπεροξειδίο, θα πρέπει να μπορούν να εξουδετερώνουν τις σχηματιζόμενες ελεύθερες ρίζες με απόδοση ηλεκτρονίων και ακόλουθη ενεργοποίηση του Keap1/Nrf2 μονοπατιού για την επαγωγή ενζύμων που ενισχύουν την άμυνα και την επιβίωση σε συνθήκες οξειδωτικού στρες.

Όλοι οι παραπάνω μοριακοί μηχανισμοί δράσης των βιοδραστικών συστατικών της Μεσογειακής δίαιτας εξαρτώνται από την ικανότητά τους να δεσμεύουν ενδοκυττάρια καταλυτικά ενεργό σίδηρο. Περαιτέρω έρευνα όμως είναι απαραίτητη για να αναλυθεί λεπτομερώς ο συγκεκριμένος τομέας.

**SUMMARY****GEROGIANNI PARASKEVI****Investigation of the molecular mechanisms of action of bioactive ingredients of the Mediterranean diet**

It is known from ancient times that diet can affect health and the physical state of the body. Particular reference is made to the Mediterranean diet, where epidemiological studies show significant differences in reducing the effects of certain diseases. The identification of the bioactive substances that provoke these biological results has been studied, as well as their possible mechanism of action. In the present study, is presented the correlation that exists between the bioactive components of the Mediterranean diet and a sector that is constantly growing, the chemistry of free radicals.

The small molecule compounds that are obtained either inherently or through diet, are usually called "scavengers of free radicals" or simply "antioxidants". According to the theory of antioxidants, these compounds, which are in abundance in the Mediterranean diet, have the ability to neutralize the reactive free radicals generated in the body. In this way, they protect the cell components by uncontrolled oxidations, which would contribute to the development of pathological conditions. However, because of the direct reaction of reactive free radicals with any chemical group located in the microenvironment of creation, the only way to protect the active free radicals in vivo is by blocking their creation. δημιουργίας τους.

This, as it has been shown, is achieved through the chelation of the most phenolic components of the diet of iron ions, which through the Fenton reaction, lead to the generation of the reactive free radicals. Thus, they become capable of eliminating the dependent from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA damage and the redox signaling apoptosis. In order for the bioactive agents that are contained in the diet to act, they should not also have the ability to bind catalytically reactive iron ions but also to penetrate easily through biological membranes and act intracellularly. Also, in case of the reaction of the chelated iron with a peroxide, they should be able to neutralize the formed free

radicals by attributing electrons and subsequent activation of the Keap1/Nrf2 pathway for the induction of enzymes that enhance protection and survival in conditions of oxidative stress .

All these molecular mechanisms of action of the bioactive components of the Mediterranean diet are dependent on their ability to chelate intracellular labile iron. Yet, further research is necessary in order to obtain an insight into the exact molecular mechanism.



**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

Barbouti, A., Briasoulis, E. and Galaris, D. (2010) Protective Effects of Olive Oil Components Against Hydrogen Peroxide-Induced DNA Damage: The Potential Role of Iron Chelation. In V. R. Preedy and R. R. Watson eds. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*. Oxford, Academic Press: 1103-1109.

Barbouti, A., Briasoulis, E. and Galaris, D. (2010) Protective Effects of Olive Oil Components Against Hydrogen Peroxide-Induced DNA Damage: The Potential Role of Iron Chelation. In V. R. Preedy and R. R. Watson eds. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*. Oxford, Academic Press: 1103-1109.

Barbouti, A., Doulias, P.T., Zhu, B.Z., Frei, B. and Galaris, D. (2001) Intracellular iron, but not copper, plays a critical role in hydrogen peroxide-induced DNA damage. *Free Radic Biol Med* 31(4): 490-498.

Barbouti, A., Doulias, P.T., Zhu, B.Z., Frei, B. and Galaris, D. (2001) Intracellular iron, but not copper, plays a critical role in hydrogen peroxide-induced DNA damage. *Free Radic Biol Med* 31(4): 490-498.

Barbouti, A., Doulias, P.T., Zhu, B.Z., Frei, B. and Galaris, D. (2001) Intracellular iron, but not copper, plays a critical role in hydrogen peroxide-induced DNA damage. *Free Radic Biol Med* 31(4): 490-498.

Benetou V, Trichopoulou A, Orfanos P, Naska A, Lagiou P, Boffetta P, Trichopoulos D; Greek EPIC cohort. (2008) Conformity to traditional Mediterranean diet and cancer incidence: the Greek EPIC cohort. *Br J Cancer* 99: 191-5.

Boffetta P, Couto E, Wichmann J, Ferrari P, Trichopoulos D, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJ, Büchner FL, Key T, Boeing H, Nöthlings U, Linseisen J, Gonzalez CA, Overvad K, Nielsen MR, Tjønneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Morois S, Lagiou P, Naska A, Benetou V, Kaaks R, Rohrmann S, Panico S, Sieri S, Vineis P, Palli D, van Gils CH, Peeters PH, Lund E, Brustad M, Engeset D, Huerta JM, Rodríguez L, Sánchez MJ, Dorransoro M,

- Barricarte A, Hallmans G, Johansson I, Manjer J, Sonestedt E, Allen NE, Bingham S, Khaw KT, Slimani N, Jenab M, Mouw T, Norat T, Riboli E, Trichopoulou A. (2010) Fruit and vegetable intake and overall cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *J Natl Cancer Inst* 102: 529-37.
- Bosetti C, Gallus S, Trichopoulou A, Talamini R, Franceschi S, Negri E, La Vecchia C. (2003) Influence of the Mediterranean diet on the risk of cancers of the upper aerodigestive tract. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 12: 1091-94.
- Bosetti C, La Vecchia C, Talamini R, Negri E, Levi F, Dal Maso L, Franceschi S. (2002) Food groups and laryngeal cancer risk: a case control study from Italy and Switzerland. *Int J Cancer* 100: 355-60.
- Bosetti C, La Vecchia C, Talamini R, Simonato L, Zambon P, Negri E, Trichopoulos D, Lagiou P, Bardini R, Franceschi S. (2000) Food groups and risk of squamous cell esophageal cancer in Northern Italy. *Int J Cancer* 87: 289-94.
- Brewer, T.F., Garcia, F.J., Onak, C.S., Carroll, K.S. and Chang, C.J. (2015) Chemical approaches to discovery and study of sources and targets of hydrogen peroxide redox signaling through NADPH oxidase proteins. *Annu Rev Biochem* 84: 765-790.
- Burda S., Oleszek W. (2001) Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J. Agric. Food Chem*, 49: 2774-2779.
- Cao G., Sofic E., Prior R. L. (1997) Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology & Medicine*, 22 (5): 749-760.
- Cook N. C., Samman S. (1996) Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J. Nutr. Biochem.*, 7: 66-76.
- Corona G, Spencer JPE, Dessì MA. (2009) Extra virgin olive oil phenolics: absorption, metabolism, and biological activities in the GI tract. *Toxicol And Health* 25: 285-293.
- Cottet V, Bonithon-Kopp C, Kronborg O, Santos L, Andreatta R, Boutron-Ruault MC, Faivre J; European Cancer Prevention Organisation Study Group. (2005)

- Dietary patterns and the risk of colorectal adenoma recurrence in a European intervention trial. *Eur J Cancer Prev* 14: 21-9.
- Dalvi TB, Canchola AJ, Horn-Ross PL. (2007) Dietary patterns, Mediterranean diet, and endometrial cancer risk. *Cancer Causes & Control* 18(9): 957-966.
- De Lorgeril M, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Boucher P, Mamelle N. (1998) Mediterranean dietary pattern in a randomized trial. Prolonged survival and possible reduced cancer rate. *Arch Intern Med* 158: 1181-87.
- Dickinson, D.A., Iles, K.E., Zhang, H., Blank, V. and Forman, H.J. (2003) Curcumin alters EpRE and AP-1 binding complexes and elevates glutamate-cysteine ligase gene expression. *FASEB J* 17(3): 473-475.
- Dinkova-Kostova, A.T., Holtzclaw, W.D. and Wakabayashi, N. (2005) Keap1, the sensor for electrophiles and oxidants that regulates the phase 2 response, is a zinc metalloprotein. *Biochemistry* 44(18): 6889-6899.
- Doulias, P.T., Nouis, L., Zhu, B.Z., Frei, B. and Galaris, D. (2005) Protection by tropolones against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA damage and apoptosis in cultured Jurkat cells. *Free Radic Res* 39(2): 125-135.
- Dunlop, R.A., Brunk, U.T. and Rodgers, K.J. (2011) Proteins containing oxidized amino acids induce apoptosis in human monocytes. *Biochem J* 435(1): 207-216.
- Eaton, S.B., Konner, M. (1985) Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *N. Engl. J Med.*, 312: 283-289.
- Flood A, Rastogi T, Wirfält E, Mitrou PN, Reedy J, Subar AF, Kipnis V, Mouw T, Hollenbeck AR, Leitzmann M, Schatzkin A. (2008) Dietary patterns as identified by factor analysis and colorectal cancer among middle-aged Americans. *Am J Clin Nutr* 88: 176-84.
- Forman, H.J., Davies, K.J. and Ursini, F. (2014) How do nutritional antioxidants really work: nucleophilic tone and para-hormesis versus free radical scavenging in vivo. *Free Radic Biol Med* 66: 24-35.
- Forman, H.J., Davies, K.J. and Ursini, F. (2014) How do nutritional antioxidants really work: nucleophilic tone and para-hormesis versus free radical scavenging in vivo. *Free Radic Biol Med* 66: 24-35.

- Fortes C, Forastiere F, Farchi S, Mallone S, Trequattrinni T, Anatra F, Schmid G, Perucci CA. (2003) The protective effect of the Mediterranean diet on lung cancer. *Nutr Cancer* 46: 30-7.
- Fortes C, Mastroeni S, Melchi F, Pilla MA, Antonelli G, Camaioni D, Alotto M, Pasquini P.A (2008) protective effect of the Mediterranean diet for cutaneous melanoma. *Int J Epidemiol* 37: 1018 -29.
- Franceschi S, Favero A, Conti E, Talamini R, Volpe R, Negri E, Barzan L, La Vecchia C.(1999) Foods groups, oil and butter, and cancer of the oral cavity and pharynx. *Br J Cancer* 80: 614-20.
- Fransen HP, Ocké MC. Indices of diet quality. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008;11:559-565.
- Fukumoto L.R., Mazza G. (2000) Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem*, 48: 3597-3604.
- Galaris, D. and Korantzopoulos, P. (1997) On the molecular mechanism of metmyoglobin-catalyzed reduction of hydrogen peroxide by ascorbate. *Free Radic Biol Med* 22(4): 657-667.
- Galaris, D. and Pantopoulos, K. (2008) Oxidative stress and iron homeostasis: mechanistic and health aspects. *Crit Rev Clin Lab Sci* 45(1): 1-23.
- Galaris, D., Cadenas, E. and Hochstein, P. (1989) Glutathione-dependent reduction of peroxides during ferryl- and met-myoglobin interconversion: a potential protective mechanism in muscle. *Free Radic Biol Med* 6(5): 473-478.
- Gerschman, R., Gilbert, D.L., Nye, S.W., Dwyer, P. and Fenn, W.O. (1954) Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science* 119(3097): 623-626.
- Haag, W.R. and Yao, C.C.D. (1992) Rate constants for reaction of hydroxyl radicals with several drinking water contaminants. *Environmental Science & Technology* 26(5): 1005-1013.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. (2007) *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fourth ed. Oxford U.K.: Oxford University Press.

- Haveman-Nies A, de Groot LC, van Staveren WA. (2002) Diet quality and lifestyle factors in relation to 10-year mortality in older Europeans: the SENECA study. *Am J Epidemiol* 156: 962-8.
- Heim K., Tagliaferro A., Bobilya D. (2002) Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism, and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13:572-584.
- Hollman P.C., Katan M.B. (1999) Dietary flavonoids: Intake, health effects and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*, 37: 937-942.
- Hower, V., Mendes, P., Torti, F.M., Laubenbacher, R., Akman, S., Shulaev, V. and Torti, S.V. (2009) A general map of iron metabolism and tissue-specific subnetworks. *Mol Biosyst* 5(5): 422-443.
- Huijbregts P, Feskens E, Räsänen L, Fidanza F, Nissinen A, Menotti A, Kromhout D. (1997) Dietary pattern and 20 year mortality in elderly men in Finland, Italy, and The Netherlands: longitudinal cohort study. *BMJ* 315: 13-17.
- Hur, W. and Gray, N.S. (2011) Small molecule modulators of antioxidant response pathway. *Curr Opin Chem Biol* 15(1): 162-173.
- Jansen MC, Bueno-de-Mesquita HB, Buzina R, Fidanza F, Menotti A, Blackburn H, Nissinen AM, Kok FJ, Kromhout D. (1999) Dietary fiber and plant foods in relation to colorectal cancer mortality: the seven countries study. *Int J Cancer* 81: 174-9.
- Jones, D.P. and Sies, H. (2015) The Redox Code. *Antioxid Redox Signal* 23(9): 734-746.
- Kennedy ET, Ohls J, Carlson S, Fleming K. (1995) The Healthy Eating Index: design and applications. *J Am Diet Assoc* 95: 1103-8.
- Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Djordjevic BS, Dontas AS, Fidanza F, Keys MH, et al. (1986) The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol* 124: 903-15.
- Kitsati, N., Fokas, D., Ouzouni, M.D., Mantzaris, M.D., Barbouti, A. and Galaris, D. (2012) Lipophilic caffeic acid derivatives protect cells against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Induced DNA damage by chelating intracellular labile iron. *J Agric Food Chem* 60(32): 7873-7879.

- Kontogianni MD, Zampelas A, Tsigos C. (2006) Nutrition and inflammation load. *Ann N Y Acad Sci* 1083: 214-38.
- Kouris-Blazos A, Gnardellis C, Wahlqvist ML, Trichopoulos D, Lukito W, Trichopoulou A. (1999) Are the advantages of the Mediterranean diet transferable to other populations? A cohort study in Melbourne, Australia. *Br J Nutr* 82: 57-61.
- Kourlaba G, Panagiotakos DB. (2009) The number of index components affects the diagnostic accuracy of a diet quality index: the role of intracorrelation and intercorrelation structure of the components. *Ann Epidemiol* 19: 692-700.
- Koushik A, Hunter DJ, Spiegelman D, Beeson WL, van den Brandt PA, Buring JE, Calle EE, Cho E, Fraser GE, Freudenheim JL, Fuchs CS, Giovannucci EL, Goldbohm RA, Harnack L, Jacobs DR Jr, Kato I, Krogh V, Larsson SC, Leitzmann MF, Marshall JR, McCullough ML, Miller AB, Pietinen P, Rohan TE, Schatzkin A, Sieri S, Virtanen MJ, Wolk A, Zeleniuch-Jacquotte A, Zhang SM, Smith-Warner SA. (2007) Fruits, vegetables, and colon cancer risk in a pooled analysis of 14 cohort studies. *J Natl Cancer Inst* 99: 1471-83.
- Lagiou P, Trichopoulos D, Sandin S, Lagiou A, Mucci L, Wolk A, Weiderpass E, Adami HO. (2006) Mediterranean dietary pattern and mortality among young women: a cohort study in Sweden. *Br J Nutr* 96: 384-92.
- Lasheras C, Fernandez S, Patterson AM. (2000) Mediterranean diet and age with respect to overall survival in institutionalized, nonsmoking elderly people. *Am J Clin Nutr* 71: 987-92.
- Lotito S.B., Frei B., (2006) Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radical Biology & Medicine* 41: 1727–1746.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004) Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79: 727-47.
- Markaki I., Linos D., & Linos A. (2003) The influence of dietary patterns on the development of thyroid cancer. *Eur J Cancer* 39: 1912-1919.
- McCord, J.M. and Fridovich, I. (1969) Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 244(22): 6049-6055.

- McCullough ML, Feskanich D, Rimm EB, Giovannucci EL, Ascherio A, Variyam JN, Spiegelman D, Stampfer MJ, Willett WC. (2000) Adherence to the dietary guidelines for Americans and risk of major chronic disease in men. *Am J Clin Nutr* 72: 1223-31.
- Melidou, M., Riganakos, K. and Galaris, D. (2005) Protection against nuclear DNA damage offered by flavonoids in cells exposed to hydrogen peroxide: the role of iron chelation. *Free Radic Biol Med* 39(12): 1591-1600.
- Melidou, M., Riganakos, K. and Galaris, D. (2005) Protection against nuclear DNA damage offered by flavonoids in cells exposed to hydrogen peroxide: the role of iron chelation. *Free Radic Biol Med* 39(12): 1591-1600.
- Mitrou PN, Kipnis V, Thiébaud AC, Reedy J, Subar AF, Wirfält E, Flood A, Mouw T, Hollenbeck AR, Leitzmann MF, Schatzkin A.. (2007) Mediterranean dietary pattern and prediction of all-cause mortality in a US population. *Arch Intern Med* 167: 2461-2468.
- Moinova, H.R. and Mulcahy, R.T. (1998) An electrophile responsive element (EpRE) regulates beta-naphthoflavone induction of the human gamma-glutamylcysteine synthetase regulatory subunit gene. Constitutive expression is mediated by an adjacent AP-1 site. *J Biol Chem* 273(24): 14683-14689.
- Mulcahy, R.T. and Gipp, J.J. (1995) Identification of a putative antioxidant response element in the 5'-flanking region of the human gamma-glutamylcysteine synthetase heavy subunit gene. *Biochem Biophys Res Commun* 209(1): 227-233.
- Mulder I, Jansen M, Smit HA, Jacobs DR, Menotti A, Nissinen A, and Kromhout D. (2000) Role of smoking and diet in the cross-cultural variation in lung cancer mortality. *Int J Cancer* 88: 665–671.
- Murtaugh MA, Sweeney C, Giuliano AR, Herrick JS, Hines L, Byers T, Baumgartner KB, Slattery ML. (2008) Diet patterns and breast cancer risk in Hispanic and non-Hispanic white women: the Four-Corners Breast Cancer study. *Am J Clin Nutr* 87: 978-84.

- Natalia Kitsati, Michalis D. Mantzaris, Dimitrios Galaris (2016) Hydroxytyrosol inhibits hydrogen peroxide-induced apoptotic signaling via labile iron chelation. *Redox Biology* 10: 233–242.
- Kitsati N, Fokas D, Ouzouni MD, Mantzaris MD, Barbouti A, Galaris D. (2012) damage by chelating intracellular labile iron. *J Agric Food Chem.* 15;60(32):7873-9.
- Nkondjock A, Ghadirian P. (2007) Diet quality and BRCA-associated breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* 103: 361-9.
- Panagiotakos DB, Polychronopoulos E. (2005) The role of Mediterranean diet in the epidemiology of metabolic syndrome; converting epidemiology to clinical practice. *Lipids Health Dis* Apr 12: 4:7.
- Park Y, Subar AF, Kipnis V, Thompson FE, Mouw T, Hollenbeck A, Leitzmann MF, Schatzkin A. (2007) Fruit and vegetable intakes and risk of colorectal cancer in the NIH-AARP diet and health study. *Am J Epidemiol* 166: 170-80.
- Patterson RE, Haines PS, Popkin BM. (1994) Diet quality index: capturing a multidimensional behavior. *J Am Diet Assoc* 94: 57-64.
- Patterson RE, Haines PS, Popkin BM. (1994) Diet quality index: capturing a multidimensional behavior. *J Am Diet Assoc* 94: 57-64.
- Pietrangelo, A. (2007) Iron chelation beyond transfusion iron overload. *Am J Hematol* 82(12 Suppl): 1142-1146.
- Rechner A. R., Kuhnle G., Bremner P., Hubbard G. P., P. Moore K., Rice-Evans C. A. (2002) The metabolic fate of dietary polyphenols in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 33 (2): 220-235.
- Reedy J, Mitrou PN, Krebs-Smith SM, Wirfält E, Flood A, Kipnis V, Leitzmann M, Mouw T, Hollenbeck A, Schatzkin A, Subar AF. (2008) Index-based dietary patterns and risk of colorectal cancer, the NIH-AARP Diet and Health study. *Am J Epidemiol* 168: 38-48.



- Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G. (1996) Structure-Antioxidant Activity Relationships Of Flavonoids and Phenolic Acids. *Free Radical Biology & Medicine*, 20 (7): 933-956.
- Samoli E, Lagiou A, Nikolopoulos E, Lagogiannis G, Barbouni A, Lefantzis D, Trichopoulos D, Brennan P, Lagiou P. (2010) Mediterranean diet and upper aerodigestive tract cancer: the Greek segment of the alcohol-related cancers and genetic susceptibility in Europe study. *Br J Nutr* 104: 1369-74.
- Scalbert A., Williamson G. (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.* 130: 2073S-2085S.
- Scalbert A., Williamson G. (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.* 130: 2073S-2085S.
- Schatzkin A, Mouw T, Park Y, Subar AF, Kipnis V, Hollenbeck A, Leitzmann MF, Thompson FE. (2007) Dietary fiber and whole-grain consumption in relation to colorectal cancer in the NIH-AARP Diet and Health study. *Am J Clin Nutr* 85: 1353-60.
- Seymour JD, Calle EE, Flagg EW, Coates RJ, Ford ES, Thun MJ, American Cancer Society. (2003) Diet Quality Index as a predictor of short-term mortality in the American Cancer Society Cancer Prevention Study II Nutrition Cohort. *Am J Epidemiol* 157: 980-8.
- Simopoulos, A., P. (1991) Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.*, 54: 438-463.
- Simopoulos, A., P. (2001) The Mediterranean diets: what is so special about the diet of Greece? The scientific evidence *J. Nutr.* 13: 3065-3073.
- Tanaka, M., Chock, P.B. and Stadtman, E.R. (2007) Oxidized messenger RNA induces translation errors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(1): 66-71.
- Trichopoulou A, Kouris-Blazos A, Wahlqvist ML. (1995) Diet and overall survival in elderly people. *BMJ* 311: 1457-60.
- Trichopoulou A, Lagiou P, Kuper H, Trichopoulos D. (2000) Cancer and Mediterranean dietary traditions. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9: 869-73.

- Tseng M, Sellers TA, Vierkant RA, Kushi LH, Vachon CM. (2008) Mediterranean diet and breast density in the Minnesota Breast Cancer Family study. *Nutr Cancer* 60: 703-9.
- Tyrovolas S, Panagiotakos DB. (2010) The role of Mediterranean type of diet on the development of cancer and cardiovascular disease, in the elderly: a systematic review. *Maturitas* 65: 122-30.
- Urquiaga I., Leighton F. (2000) Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biological Research*, 33 (2).
- Ursini, F., Maiorino, M. and Gregolin, C. (1985) The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta* 839(1): 62-70.
- Waijers PM, Feskens EJ, Ocké MC. (2007) A critical review of predefined diet quality scores. *Br J Nutr* 97: 219-31.
- Wilkinson, N. and Pantopoulos, K. (2014) The IRP/IRE system in vivo: insights from mouse models. *Front Pharmacol* 5: 176.
- Willett WC. (2006) The Mediterranean diet: science and practice. *Public Health Nutr* 9(1A): 105-110.
- Wu AH, Yu MC, Tseng CC, Stanczyk FZ, Pike MC. (2009) Dietary patterns and breast cancer risk in Asian American women. *Am J Clin Nutr* 89: 1145-54.
- Γαλάρης Δ. (2015) Ελεύθερες Ρίζες και Οξειδωτικό Στρες.
- Καράταγλης Σ. Σ. (1994) Φυσιολογία Φυτών. *Art oftext*: 391-407.