

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ ΣΕ ΔΕΙΚΤΕΣ  
ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΤΕΤΑΜΕΝΗ ΑΣΚΗΣΗ**

Της Σελεμέκου Μαρίας

Μεταπτυχιακή διατριβή που υποβάλλεται στο καθηγητικό σώμα για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων για την απόκτηση του μεταπτυχιακού τίτλου του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας

του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

*Εγκεκριμένη από το καθηγητικό σώμα:*

1ος Επιβλέπων: Τζιαμούρτας Αθανάσιος, Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

2ος Επιβλέπων: Κουρέτας Δημήτριος, Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

3ος Επιβλέπων: Στάγκος Δημήτριος, Επικ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

© 2017

Σελεμέκου Μαρία

ALL RIGHTS RESERVED

II



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στην ολοκλήρωση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής.

Καταρχήν θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κύριο επιβλέποντα της παρούσας διατριβής, κύριο Τζιαμούρτα Αθανάσιο, για την πολύτιμη στήριξη και καθοδήγηση κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διατριβής.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω και τους άλλους δύο επιβλέποντες της διατριβής μου,

τον κύριο Κουρέτα Δημήτριο, και τον κύριο Στάγκο Δημήτριο, για την καθοδήγηση και την βοήθειά τους.

Ευχαριστώ, θερμά την κυρία Δελή Χαρά Ph.D, που με την πολύτιμη καθοδήγησή της και τις γνώσεις της συνέβαλε ενεργά ώστε να μπορέσει να ολοκληρωθεί η παρούσα διατριβή.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συμμετέχοντες στη μελέτη, η ολοκλήρωση της οποίας δεν θα ήτανε δυνατή, χωρίς τη συμμετοχή τους.

Θα ήθελα τέλος να ευχαριστήσω θερμά την οικογένειά μου και κυρίως τον μέλλοντα σύζυγό μου Θανάση για την υπομονή, την κατανόηση και την αμέριστη συμπαράσταση στην προσπάθειά μου.

## III

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Σελεμέκου Μαρία: Η επίδραση της κατανάλωσης κορινθιακής σταφίδας σε δείκτες οξειδωτικού στρες κατά την παρατεταμένη άσκηση.

Η παρούσα μελέτη διερεύνησε την επίδραση της χορήγησης Κορινθιακής σταφίδας σε δείκτες οξειδωτικού στρες κατά την παρατεταμένη αερόβια άσκηση, συγκριτικά με τη χορήγηση διαλύματος γλυκόζης και νερού. Έντεκα υγιείς άνδρες και γυναίκες ηλικίας 18 – 45 ετών συμμετείχαν σε μια τυχαιοποιημένη, διασταυρούμενη μελέτη, κατά την οποία πραγματοποίησαν αερόβια παρατεταμένη άσκηση σε κυκλοεργόμετρο διάρκειας 90 min στο 70 – 75% της  $VO_{2max}$ , ακολουθούμενη από μέγιστη δοκιμασία μέχρι την εξάντληση στο 95% της  $VO_{2max}$ , σε τρεις διαφορετικές συνθήκες. Η πρώτη συνθήκη περιλάμβανε την κατανάλωση Κορινθιακής σταφίδας πριν από την άσκηση, ενώ η δεύτερη και η τρίτη συνθήκη, την κατανάλωση γλυκόζης και νερού, αντίστοιχα. Μεταξύ των τριών συνθηκών, μεσολαβούσε διάστημα έκπλυσης τριών εβδομάδων. Συλλογή δειγμάτων αίματος ύστερα από 12ωρη νηστεία πραγματοποιήθηκε πριν από την κατανάλωση σταφίδας, γλυκόζης ή νερού, και επίσης στα 30, 60, 90 min άσκησης, αμέσως μετά τη μέγιστη δοκιμασία, καθώς και 1 h μετά το τέλος της άσκησης. Η παρατεταμένη αερόβια άσκηση οδήγησε σε μείωση της GSH και αύξηση του ουρικού οξέος στα 30, 60, 90 min άσκησης, καθώς και μετά τη μέγιστη δοκιμασία. Η GSH επανήλθε στα επίπεδα ηρεμίας, ενώ το ουρικό οξύ παρέμεινε σε υψηλότερα επίπεδα από αυτά της ηρεμίας, 1 h μετά το τέλος της άσκησης. Η χορήγηση Κορινθιακής σταφίδας δεν οδήγησε σε διαφορετική απόκριση των δεικτών οξειδωτικού στρες που μελετήθηκαν, σε σχέση με τη χορήγηση γλυκόζης ή νερού.

## IV

**ABSTRACT**

Selemekou Maria: The effect of Corinthian raisin supplementation on redox status indices during prolonged exercise.

The present study investigated the effect of Corinthian raisins supplementation on oxidative stress indices during prolonged aerobic exercise, compared with the administration of glucose solution and water. Eleven healthy men and women 18-45 years of age participated in a randomized, crossover study, during which they performed an aerobic prolonged exercise bout on a cycloergometer for 90 min at 70 – 75% of  $VO_{2max}$ , followed by a maximum time trial to exhaustion at 95% of  $VO_{2max}$ , under three different conditions. Under the first condition, prior to exercise, participants consumed a quantity of raisins, while under the second and third condition they consumed glucose and water, respectively. Between the conditions, there was a wash out period of three weeks. Blood drawings were performed after a 12-hour fasting, and prior to the consumption of raisins, glucose or water, and at 30, 60, 90 min of exercise, immediately after the time trial, as well as 1 h after the end of exercise. Prolonged aerobic exercise resulted in a decrease of GSH and an increase of uric acid at 30, 60, 90 min of exercise, as well as after the time trial. The GSH returned to resting levels, while uric acid remained elevated compared to pre-exercise and 1 h after the end of the exercise. The supplementation of raisins prior to prolonged aerobic exercise did not provoke a different response of the oxidative stress markers that were assessed, compared with the supplementation of glucose or water.

## V

**ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

|  |      |
|--|------|
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....   | iii  |
| ABSTRACT .....   | iv   |
| ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ .....  | vi   |
| ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....   | viii |
| ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ .....   | ix   |
| 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....  | 1    |
| 2. ΑΝΑΣΚΟΠΙΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.....                                   | 3    |
| 2.1 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ.....  | 3    |
| 2.2 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ.....   | 3    |
| 2.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ.....      | 9    |
| 2.3.1 ΕΝΖΥΜΙΚΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ.....                    | 9    |
| 2.3.2 ΜΗ ΕΝΖΥΜΙΚΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΜΟΡΙΑ.....                        | 12   |
| 3. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΣΚΗΣΗ.....     | 19   |
| 4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ..... | 22   |
| 5. ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗ ΣΤΑΦΙΔΑ.....   | 29   |
| 5.1 ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΣΤΑΦΙΔΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΙΩΝ.....     | 30   |
| 5.2 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ.....            | 33   |
| 5.3 ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ ΣΕ ΔΕΙΚΤΕΣ ΥΓΕΙΑΣ.....     | 35   |

## VI

|  |    |
|--|----|
| 6. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ ΣΕ ΔΕΙΚΤΕΣ ΙΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΑΣΚΗΣΗ..... | 39 |
| 7. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....  | 41 |
| 7.1 ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΕΣ.....   | 41 |
| 7.2 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....  | 41 |
| 7.3 ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ.....   | 43 |
| 7.4 ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΑΚΤΙΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΓΙΣΤΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ.....                          | 43 |
| 7.5 ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΑΣΚΗΣΗΣ.....  | 44 |
| 7.6 ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΙΜΑΤΟΣ.....   | 45 |
| 7.7 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ.....  | 45 |
| 7.8 ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ.....   | 46 |
| 8. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....   | 47 |
| 9. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....   | 48 |
| 9.1 ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ.....                           | 49 |
| 9.2 ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ.....   | 49 |
| 10. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....  | 52 |
| 11. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....  | 56 |
| 12. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....  | 57 |



## VII

**ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ**

**Πίνακας 1.** Επίδραση της άσκησης σε δείκτες οξειδωτικού στρες.

**Πίνακας 2.** Φαινολικές ουσίες που περιέχονται στη σταφίδα.

**Πίνακας 3.** Ποσότητα της κορινθιακής σταφίδας σε (mg) που απαιτείται για τη μείωση της αρχικής συγκέντρωσης DPPH κατά 50% (EC50).

**Πίνακας 4.** Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων.

**Πίνακας 5.** Ανάλυση διατροφής των συμμετεχόντων.

## VIII

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

**Εικόνα 1.** GSH μετά από συμπληρωματική χορήγηση κορινθιακής σταφίδας.

**Εικόνα 2.** TBARS μετά από συμπληρωματική χορήγηση κορινθιακής σταφίδας.

**Εικόνα 3.** Ουρικό οξύ μετά από συμπληρωματική χορήγηση κορινθιακής σταφίδας.

## IX

**1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Το οξειδωτικό στρες αποτελεί τη διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των προ-οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών μηχανισμών του ανθρώπινου σώματος (Halliwell & Gutteridge 2007) και μπορεί να προκληθεί είτε λόγω μειωμένης αντιοξειδωτικής άμυνας και αντιοξειδωτικής ικανότητας του ανθρώπινου οργανισμού, είτε εξαιτίας υπερβολικής παραγωγής ελευθέρων ριζών (Halliwell & Gutteridge 2007). Οι ελεύθερες ρίζες είναι προϊόντα του φυσιολογικού μεταβολισμού των κυττάρων και σε χαμηλές έως μέτριες συγκεντρώσεις είναι απαραίτητες για σημαντικές διεργασίες, όπως κυτταρική απόκριση στο στρες, μεταγωγή σήματος, κυτταρικό πολλαπλασιασμό, φλεγμονή και απόπτωση (Ji 2007, Ji 2008, Valko 2007, Reid 1992). Σε μέτριες συγκεντρώσεις, οι ελεύθερες ρίζες είναι απαραίτητες για τη μυϊκή λειτουργία και τις προσαρμογές λόγω της άσκησης (Gomez-Cabrera 2008, Gomez-Cabrera 2005, Reid 2001). Παρόλα αυτά, η υπερβολική παραγωγή ελευθέρων ριζών μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες και να διαταράξει τη φυσιολογική λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού. Πράγματι, το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις μεταξύ των οποίων καρδιαγγειακές ασθένειες (Elnakish 2013), καρκίνος (Che 2015, Valko 2006), νευρολογικές διαταραχές (Bhat 2015, Jenner 2003, Halliwell 2001), ισχαιμία/επαναιμάτωση (Valko 2007), διαβήτη (Kojda & Harrison 1999), καθώς επίσης και τη μυϊκή κόπωση (Powers 2008, Reid 2001) και τη γήρανση (McArdle 2002, Valko 2007).

Η άσκηση μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών, όπως υποδηλώνεται από αλλαγές τόσο στις συγκεντρώσεις προϊόντων οξείδωσης των βιομορίων, όσο και αλλαγές στη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών ουσιών ή στη δραστικότητα

αντιοξειδωτικών ενζύμων (Aguilo 2005, Sastre 1992, Simpson 2005, Laaksonen 1999, Andersson 2010, Hessel 2000, Chatzinikolaou 2014, Bloomer 2006). Για το λόγο αυτό, η χορήγηση διαφόρων αντιοξειδωτικών ουσιών αποτελεί συνηθισμένη τακτική, προκειμένου να καταπολεμηθεί η αύξηση της παραγωγής ελευθέρων ριζών κατά την άσκηση (Evans 2000, Bloomer 2006, Kalafati 2010, Theodorou 2011).

Η κορινθιακή σταφίδα (*vitis vinifera* L.) αποτελεί τον αποξηραμένο καρπό της αμπέλου που καλλιεργείται και επεξεργάζεται εκατοντάδες χρόνια πριν και καταλαμβάνει σήμερα το 8-10% της παγκόσμιας παραγωγής αποξηραμένων φρούτων. Η σταφίδα περιλαμβάνει φαινολικές ενώσεις (Williamson 2010, Mikkonen 2001, Young 1999, Chiou 2007) και είναι πλούσια πηγή ανθοκιανυνών (Chiou 2014), συστατικά που της προσδίδουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Chiou 2014, Chiou 2007, Gopalan 2012, Tabart 2011) που θα μπορούσαν να είναι ευεργετικές για τον οργανισμό (Kaliora 2008).

Παρά το γεγονός ότι το αντιοξειδωτικό περιεχόμενο της σταφίδας έχει μελετηθεί εκτενώς, ελάχιστα δεδομένα υπάρχουν σχετικά με την πιθανή ευεργετική επίδραση της σταφίδας σε δείκτες οξειδωτικού στρες εξαιτίας της άσκησης (Skarpranska-Stejnborn 2006).

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να εξετάσει την πιθανή επίδραση της χορήγησης κορινθιακής σταφίδας σε δείκτες οξειδωτικού στρες κατά τη διάρκεια και μετά από παρατεταμένη αερόβια άσκηση. Επιπλέον αυτές οι επιδράσεις μελετήθηκαν σε σύγκριση με τη χορήγηση γλυκόζης και νερού που χρησιμοποιήθηκαν ως συνθήκες αναφοράς.

## 2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

### 2.1. Οξειδωτικό στρες

Ο όρος οξειδωτικό στρες αναφέρεται στη διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των προ-οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών μηχανισμών του ανθρώπινου σώματος (Halliwell & Gutteridge 2007). Μια τέτοια διαταραχή έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου και αζώτου (RONS). Το οξειδωτικό στρες μπορεί να συμβεί είτε λόγω μειωμένης αντιοξειδωτικής άμυνας και αντιοξειδωτικής ικανότητας του ανθρώπινου οργανισμού, είτε εξαιτίας υπερβολικής παραγωγής ελευθέρων ριζών (Halliwell & Gutteridge 2007). Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει μείωση των αμυντικών συστημάτων του οργανισμού και οξείδωση σημαντικών βιομορίων όπως είναι τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες, και το DNA (Halliwell & Gutteridge, 2007). Επίσης έχει συνδεθεί με διάφορες ασθένειες όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, καρκίνο, διαβήτη, μυϊκή ατροφία και διάφορες νευροεκφυλιστικές παθήσεις (Halliwell, 2001).

### 2.2. Ελεύθερες ρίζες

Ελεύθερη ρίζα είναι κάθε μόριο που περιέχει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στοιβάδα. Οι ελεύθερες ρίζες είναι μόρια ασταθή και ιδιαίτερα ενεργά, καθώς το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο αυξάνει τη δραστικότητά τους προσπαθώντας να αποσπάσει ηλεκτρόνια από άλλα άτομα για τη δημιουργία ζεύγους (Close & McArdle 2007, Cooper 2002, Halliwell & Gutteridge 2007, Powers & Jackson 2008).

Οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν φυσικά προϊόντα του μεταβολισμού που σε χαμηλές ή μέτριες συγκεντρώσεις είναι απαραίτητες για τη πραγματοποίηση βιολογικών διεργασιών

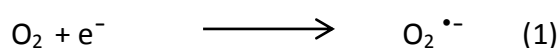
όπως κυτταρικό στρες, μεταγωγή σημάτων, μεταγωγή γονιδίων, κυτταρικό πολλαπλασιασμό, φλεγμονή και απόπτωση (Ji 2007, Ji 2008, Valko 2007, Reid 1992). Επίσης, οι ελεύθερες ρίζες σε μέτριες συγκεντρώσεις ευνοούν τη μυϊκή λειτουργία και προσαρμογές που επιφέρει η άσκηση (Gomez-Cabrera 2010, Gomez-Cabrera 2005, Reid 2001). Ωστόσο, η υπερβολική παραγωγή ελευθέρων ριζών μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες διαταράσσοντας έτσι την φυσιολογική λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού. Πράγματι, το οξειδωτικό στρες έχει εμπλακεί σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως σε καρδιαγγειακές νόσους (Elnakish 2013), τον καρκίνο (Che 2015, Valko 2006), νευρολογικές διαταραχές (Bhat 2015, Jenner 2003), ισχαιμία/επαναιμάτωση (Valko 2007), διαβήτη (Kojda & Harrison 1999, Halliwell 2001), καθώς και στη μυϊκή κόπωση (Powers 2008) και τη γήρανση (McArdle 2002, Valko 2007).

Οι ελεύθερες ρίζες μπορεί να προέρχονται τόσο από ενδογενείς, όσο και από εξωγενείς πηγές. Οι ενδογενείς πηγές περιλαμβάνουν τη μιτοχονδριακή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, διάφορα ένζυμα όπως την κυκλοοξυγενάση, τις οξειδάσες NADPH και την οξειδάση της ξανθίνης (XO), καθώς και τις αντιδράσεις αυτο-οξειδωσης και φλεγμονής (Rahal 2014). Εξωγενείς παράγοντες παραγωγής ελευθέρων ριζών αποτελούν η υπεριώδης και ιονίζουσα ακτινοβολία, οι χημικές ουσίες και τα φάρμακα, η έντονη άσκηση, το κάπνισμα, καθώς και οι περιβαλλοντικοί ρύποι (Powers 2004, Rahal 2014). Επίσης, η διατροφή μπορεί να επηρεάσει την οξειδοαναγωγική ομοιόσταση καθώς η φτωχή πρόσληψη σημαντικών αντιοξειδωτικών βιταμινών μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τη συνολική αντιοξειδωτική άμυνα του ανθρώπινου οργανισμού (Powers 2004). Όταν μια ελεύθερη ρίζα αντιδρά με ένα μόριο, παράγεται μια νέα ρίζα, και ακολουθούν κάποιες

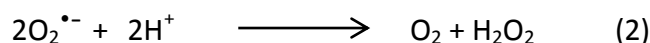
αλυσιδωτές αντιδράσεις, που θα μπορούσαν να επηρεάσουν αρνητικά τη φυσιολογική λειτουργία σημαντικών βιομορίων, όπως τα λιπίδια (Halliwell & Chirico 1993), οι πρωτεΐνες (Grune 1997) ή το DNA (Dizdaroglu 2002).

Οι ελεύθερες ρίζες διακρίνονται κυρίως σε δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) και αζώτου (RNS). Τα δραστικά είδη αζώτου (RONS) παράγονται ως ενδιάμεσα των αντιδράσεων οξειδωαναγωγής που οδηγούν στην μετροπή του  $O_2$  σε  $H_2O$  (Halliwell 2007). Τα ROS περιλαμβάνουν το ανιόν υπεροξειδίου ( $O_2^{\bullet-}$ ), τη ρίζα υδροξυλίου ( $OH^{\bullet}$ ), την υπεροξυλική ρίζα ( $ROO^{\bullet}$ ), την αλκοξυλική ρίζα ( $RO^{\bullet}$ ), και υδρουπεροξυλική ρίζα ( $HO_2^{\bullet}$ ), ενώ τα δραστικά είδη αζώτου (RNS) περιλαμβάνουν το μονοξείδιο του αζώτου ( $NO^{\bullet}$ ) και το  $NO_2^{\bullet}$ . Οι ROS και RNS περιλαμβάνουν όχι μόνο τις ρίζες οξυγόνου και αζώτου, αλλά και κάποιες μη-ρίζες παράγωγα των  $O_2$  και  $N_2$ , όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ), το υποχλωριώδες οξύ (HOCl), το όζον ( $O_3$ ), και το υπεροξυνιτρικό ανιόν ( $ONOO^-$ ), τα οποία λόγω της υψηλής χημικής τους δραστηριότητας έχουν την ικανότητα να επιδεινώνουν το οξειδωτικό στρες. Οι μηχανισμοί, με τους οποίους παράγονται κάποιες από τις παραπάνω ρίζες, καθώς και η σημασία τους στο να επηρεάζουν τις λειτουργίες του ανθρώπινου σώματος, συζητείται στις επόμενες παραγράφους.

**Ανιόν υπεροξειδίου:** Η αναγωγή του οξυγόνου οδηγεί στην παραγωγή ανιόντων υπεροξειδίου ( $O_2^{\bullet-}$ ) όπως φαίνεται στην εξίσωση (1).



Το ανιόν υπεροξειδίου που δημιουργείται έχει είτε οξειδωτική λειτουργία, όπου ανάγεται σε υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) είτε αναγωγική λειτουργία, κατά την οποία οξειδώνεται πάλι σε οξυγόνο. Όπως φαίνεται στην Εξίσωση 2, από την οξειδοαναγωγή δύο ανιόντων υπεροξειδίου σχηματίζεται υπεροξείδιο του υδρογόνου και οξυγόνο

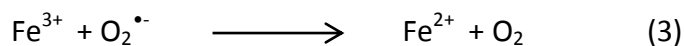


Η αντίδραση μπορεί να λάβει χώρα αυθόρμητα, αλλά η ταχύτητα της αντίδρασης υπό φυσιολογικές συνθήκες είναι σημαντικά μεγαλύτερη όταν καταλύεται από τη δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) ( $1,9 - 2,3 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  έναντι  $1,2 \times 10^6 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ). Το υπεροξείδιο του υδρογόνου μπορεί να σχηματίσει μεγάλο αριθμό οξειδωτικών ουσιών, ωστόσο, 2 από τα πιο δραστικά μόρια είναι η ρίζα υδροξυλίου ( $\text{OH}^\bullet$ ) και υποχλωριώδες οξύ ( $\text{HOCl}$ ).

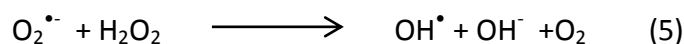
**Ρίζα υδροξυλίου:** Η ρίζα υδροξυλίου σχηματίζεται υπό την παρουσία μετάλλου, για παράδειγμα δισθενούς σιδήρου ( $\text{Fe}^{2+}$ ), όταν το υπεροξείδιο αντιδρά με υπεροξείδιο του υδρογόνου για την παραγωγή της ρίζας υδροξυλίου. Η αντίδραση του σιδήρου που



καταλύεται με υπεροξείδιο του υδρογόνου είναι γνωστή ως Haber-Weiss reaction (Εξισώσεις 3, 4, και 5).

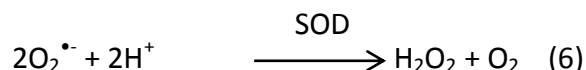


Καθαρή εξίσωση:



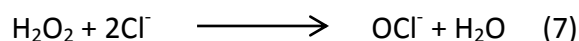
**Υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ):** Όπως αναφέρθηκε ήδη, το υπεροξείδιο του υδρογόνου  $\text{H}_2\text{O}_2$  δεν αποτελεί από μόνο του μια ελεύθερη ρίζα, αλλά περιλαμβάνεται στις ROS λόγω της υψηλής χημικής δραστηριότητας και της ικανότητας να επιδεινώσει περαιτέρω το οξειδωτικό στρες. Παράγεται διαρκώς in vivo σε πολλούς ιστούς, και μπορεί να σχηματιστεί με την προσθήκη κατιόντων υδρογόνου προς  $\text{O}_2^{\bullet-}$  μέσω μιας χημικής διαδικασίας που ονομάζεται αυτοξειδοαναγωγή. Ο σχηματισμός καταλύεται από το ένζυμο δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) (Halliwell 2007) (εξίσωση 6).

*Δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD)*



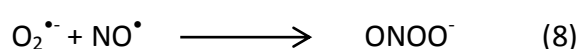
Αν και το  $\text{H}_2\text{O}_2$  δεν είναι από τα πιο δραστικά είδη, μπορεί να αδρανοποιεί απευθείας ορισμένα ένζυμα μέσω της οξείδωσης τους, όπως το γλυκολυτικό ένζυμο γλυκεραλδεϋδική-3-φωσφορική αφυδρογονάση (G3PDH), καθώς και ορισμένες πρωτεϊνικές φωσφατάσες και κασπάσες που εμπλέκονται στην διαδικασία της απόπτωσης (Halliwell 1993). Η  $\text{H}_2\text{O}_2$  επίσης έχει την ικανότητα να διασχίζει τις κυτταρικές μεμβράνες και να αντιδρά με το σίδηρο και το χαλκό (αντίδραση Fenton) που σχηματίζουν την αντιδραστική ρίζα  $\text{OH}^{\bullet}$ . Τέλος η πλέον σημαντική λειτουργία του  $\text{H}_2\text{O}_2$  είναι ότι αλληλεπιδρά σημαντικά με τις πρωτεΐνες της στοιβάδας της αίμης να προκαλεί οξειδωτική βλάβη (Halliwell 2007).

**Υποχλωριώδες οξύ:** Το υποχλωριώδες οξύ σχηματίζεται από το υπεροξείδιο του υδρογόνου και το χλώριο σε μια αντίδραση που καταλύεται τη μυελοϋπεροξειδάση (Εξίσωση 7).



**Ρίζα νιτρικού οξέος:** Η  $\text{NO}^{\bullet}$  συντίθεται in vivo στους βιολογικούς ιστούς με τη δράση ειδικών ενζύμων, όπως η συνθάση του νιτρικού οξειδίου (NOSs), που μετατρέπει την L-

αργινίνη σε κιτροουλίνη (Pryor 2000, Ghafourifar 2005). Το μονοξείδιο του αζώτου είναι ένα τυπικό παράδειγμα της ευεργετικής δράσης των ελευθέρων ριζών, σε αρκετές φυσιολογικές διαδικασίες, συμπεριλαμβανομένης της νευροδιαβίβασης (Knott 2009), της ρύθμιση της πίεσης του αίματος (Halliwell 1993), των μηχανισμών άμυνας, της χαλάρωσης των λείων μυών (Halliwell 1993) και της ρύθμισης του ανοσοποιητικού συστήματος (Valko 2007). Επιπρόσθετα, λόγω της υψηλής δραστηριότητάς του με άλλες ελεύθερες ρίζες in vivo, το μονοξείδιο του αζώτου  $\text{NO}^\bullet$  εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες. Έτσι, η ικανότητα του να εξουδετερώνει τις ρίζες  $\text{OH}^\bullet$  και  $\text{RO}_2^\bullet$ , το καθιστά έναν ισχυρό αναστολέα της υπεροξειδωσής των λιπιδίων (Denicola 2002) παρέχοντας με αυτόν τον τρόπο προστασία κατά της αθηροσκλήρωσης. Από την άλλη πλευρά, το  $\text{NO}^\bullet$  μπορεί να προκαλέσει βλάβη στις πρωτεΐνες, τα λιπίδια και το DNA (Rahal 2014), και εμπλέκεται σε πολλές νευροεκφυλιστικές ασθένειες, συμπεριλαμβανομένης της νόσου του Πάρκινσον, της νόσου του Alzheimer, και του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου (Knott 2009). Επιπρόσθετα, το μονοξείδιο του αζώτου  $\text{NO}^\bullet$  και το  $\text{O}_2^{\bullet-}$  μπορεί να αντιδράσουν μαζί και να παραχθούν σημαντικές ποσότητες από πολύ πιο οξειδωτικά δραστικά μόρια, όπως το περοξυνιτρώδους ανιόν ( $\text{ONOO}^-$ ) (Εξίσωση 8), το οποίο είναι ένας ισχυρός οξειδωτικός παράγοντας που μπορεί να προκαλέσει κατακερματισμό του DNA (Valko 2007) και οξείδωση των λιπιδίων (Carr 2000). Το σχηματιζόμενο νιτρικό υπεροξείδιο έχει σχετικά μεγάλο χρόνο ημιζωής και είναι σε θέση να διασχίσει τα τοιχώματα των μεμβρανών.

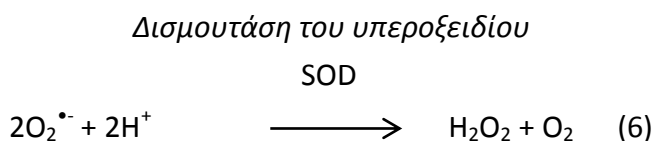


## 2.3. Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί του ανθρώπινου οργανισμού

### 2.3.1. Ενζυμικοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί

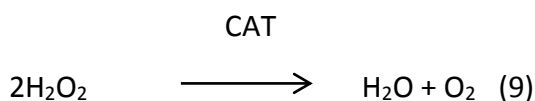
Τα ενζυμικά αντιοξειδωτικά βοηθούν στην απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών, με τη μετατροπή τους σε υπεροξειδίο του υδρογόνου και στη συνέχεια σε νερό. Αυτό γίνεται μέσω μιας διαδικασίας πολλών σταδίων και απαιτούνται μια σειρά από συμπαραγοντες μέταλλα και ιχνοστοιχεία, όπως ο ψευδάργυρος, ο χαλκός, το μαγγάνιο και ο σίδηρος. Τα ενζυμικά αντιοξειδωτικά δεν μπορούν να χορηγηθούν με συμπληρώματα, αλλά παράγονται στο σώμα μας.

**Η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD):** Μπορεί να διασπάσει το υπεροξειδίο σε υπεροξειδίο του υδρογόνου και οξυγόνο, με τη βοήθεια του χαλκού, του ψευδαργύρου, του μαγγανίου και του σιδήρου. Βρίσκεται, σχεδόν, σε όλα τα αερόβια κύτταρα και τα εξωκυτταρικά υγρά. Η SOD καταλύει τη μετατροπή του  $O_2^{\bullet -}$  σε  $H_2O_2$ . Υπάρχει σε τρεις ισομορφές και όλες απαιτούν την ύπαρξη ενός οξειδοαναγωγικά ενεργού μετάλλου, έτσι ώστε να επιτευχθεί η καταλυτική διάσπαση του  $O_2^{\bullet -}$  (Powers & Jackson, 2008). Από αυτές τις ισομορφές της δισμουτάσης του υπεροξειδίου, οι 2 βρίσκονται ενδοκυττάρια ενώ η τρίτη βρίσκεται εξωκυττάρια (Hearn 1999). Οι τρεις ισομορφές της SOD καταλύουν τη μετατροπή του  $O_2^{\bullet -}$  σε  $H_2O_2$ . (Hearn 1999). Κατά την διάρκεια της ηρεμίας το μεγαλύτερο μέρος του παραγόμενου  $O_2^{\bullet -}$  από τα μιτοχόνδρια ανάγεται από τη μιτοχονδριακή SOD, ενώ το υπόλοιπο διαχέεται στο κυτταρόπλασμα (Powers & Lennon, 1999). Στα μυϊκά κύτταρα το 65-85% της δραστηριότητας της SOD εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα (Das 1997). Η SOD θεωρείται ως ένα από τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά ένζυμα απέναντι σε καταστάσεις υπέρμετρης παραγωγής ελευθέρων ριζών (Michiels 1994).



**Η καταλάση (CAT):** Μετατρέπει το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο, με τη χρήση σιδήρου και μαγγανίου σαν συμπαραγόντες (Εξίσωση 9). Τελειώνει τη διαδικασία αποτοξίνωσης που ξεκινά η SOD. Η καταλάση απαντάται σε όλα τα κύτταρα και κυρίως στα ερυθροκύτταρα, στα νεφρά και στο ήπαρ (Masters 1986). Επίσης υπάρχει στα υπεροξεισώματα, στα μιτοχόνδρια και στον πυρήνα. Είναι ένα τετραμερές ένζυμο το οποίο αποτελείται από 4 πολυπεπτιδικές αλυσίδες μεγέθους τουλάχιστον 500 αμινοξέων. Σε αυτό το τετραμερές υπάρχουν 4 πορφυρινικές ομάδες αίμης, οι οποίες επιτρέπουν στην καταλάση να αντιδρά με το  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Halliwell & Gutteridge, 2007).

*Η δράση της καταλάσης*

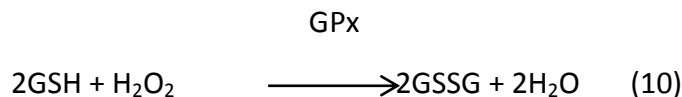


***Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) και η αναγωγή της γλουταθειόνης:***

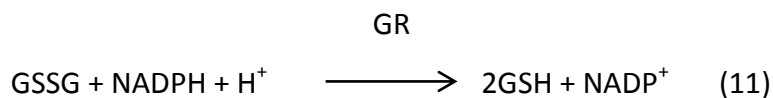
Αποτελούν ένζυμα που περιέχουν σελήνιο που βοηθούν να διασπαστούν το υπεροξείδιο του υδρογόνου και τα οργανικά υπεροξείδια σε αλκοόλες. Είναι πιο άφθονα στο ήπαρ. (Close & McArdle 2007, Halliwell & Gutteridge 2007, Powers & Jackson 2008).

Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα και τα μιτοχόνδρια και η δράση της αποτελεί μία εναλλακτική πορεία για τη διάσπαση του  $H_2O_2$  (Brigelius-Flohe, 2006). Η GPx αποτελεί ένα πολύ σημαντικό ενδοκυτταρικό αντιοξειδωτικό ένζυμο για τα λιπίδια των μεμβρανών, τις πρωτεΐνες και το DNA (Ji 1999). Για την δράση της GPx χρειάζεται η προμήθεια ηλεκτρονίων από την GSH, η οποία οξειδώνεται και σχηματίζει την οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG) (Εξίσωση 10). Στην συνέχεια η GSSG αναγεννάται σε GSH με την δράση της αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GR) με το NADPH ως αναγωγικό μέσο (Halliwell & Gutteridge, 2007) (Εξίσωση 11).

*Η δράση της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης*



*Η αναγέννηση της ανηγμένης γλουταθειόνης*



### **2.3.2. Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά μόρια**

Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά μόρια αποτελούν οι βιταμίνες και οι προβιταμίνες (βιταμίνη E, βιταμίνη C, και β-καροτένιο), τα φλαβονοειδή και πολυφαινόλες, οι πρωτεΐνες

ή πεπτίδια που περιέχουν ομάδες θειόλης (κυρίως γλουταθειόνη), και διάφορες άλλες ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους, όπως το συνένζυμο Q, ουρικό οξύ, χολερυθρίνη (Konig 2001), αλλά και ορισμένα συστατικά του αίματος (Halliwell 2007). Υπό κανονικές συνθήκες, υπάρχει μια ισορροπία μεταξύ της δραστηριότητας και των ενδοκυτταρικών επιπέδων αυτών των αντιοξειδωτικών. Αυτή η ισορροπία είναι απαραίτητη για την επιβίωση και την υγεία του οργανισμού (Valko 2007).

**Γλουταθειόνη:** Είναι μια από τις πιο κρίσιμες μη ενζυμικές αντιοξειδωτικές ουσίες του ανθρώπινου οργανισμού, που αποτελεί τον κύριο ρυθμιστή της ενδοκυτταρικής ομοιοστατικής οξειδοαναγωγής. Η γλουταθειόνη είναι ένα τριπεπτίδιο, και στο ανθρώπινο σώμα μπορεί να συντεθεί με την αμινο Ε-κυστεΐνη, L-γλουταμινικό οξύ, και γλυκίνη. Η σουλφυδρυλική ομάδα (SH) της κυστεΐνης χρησιμεύει ως δότης πρωτονίου και είναι υπεύθυνη για τη βιολογική δράση της (Halliwell 2007). Η γλουταθειόνη είναι ένα μόριο που παράγεται σε όλα τα όργανα, ειδικά στο ήπαρ (Pastore 2003) η οποία τροφοδοτεί το 90% του κυκλοφορούντος GSH (Ji 1995). Είναι ιδιαίτερα άφθονη στο κυτταρόπλασμα, πυρήνες, και τα μιτοχόνδρια και αποτελεί το κύριο διαλυτό αντιοξειδωτικό στα κυτταρικά διαμερίσματα (Masella 2005). Η γλουταθειόνη έχει προστατευτικό ρόλο ενάντια στο οξειδωτικό στρες (Masella 2005). Ένας από τους κύριους ρόλους της είναι η δράση της ως συμπαραγοντας αρκετών ενζύμων αποτοξίνωσης που συμμετέχουν στην προστασία του κυττάρου, όπως η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) και η τρανσφεράση της γλουταθειόνης. Ένας άλλος κρίσιμος ρόλος της γλουταθειόνης είναι η συμμετοχή στη μεταφορά των αμινοξέων μέσω της μεμβράνης του πλάσματος. Επιπροσθέτως, η

γλουταθειόνη ενώνεται με τη ρίζα υδροξυλίου, αποτοξινώνει το υπεροξειδίο του υδρογόνου και τα υπεροξειδία λιπιδίων με την καταλυτική δράση της υπεροξειδάσης γλουταθειόνης. Επιπλέον, η γλουταθειόνη είναι σε θέση να μετατρέπει ξανά τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά μόρια όπως οι βιταμίνες C και E στις ενεργές μορφές τους.

Η γλουταθειόνη απαντάται σε δύο δραστικές μορφές, την ανοιγμένη γλουταθειόνη (GSH) και την οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG). Σε υγιή κύτταρα και ιστούς, περισσότερο από το 90% του συνόλου της γλουταθειόνης βρίσκεται σε ανοιγμένη μορφή (GSH) και λιγότερο από 10% απαντάται με την οξειδωμένη μορφή της (GSSG). Με την παρουσία του  $H_2O_2$  και υδροϋπεροξειδίων, η ενδοκυτταρική γλουταθειόνη οξειδώνεται ταχέως σε GSSG, αλλά μειώνεται γρήγορα προς GSH με τη δράση του ενζύμου της αναγωγάσης της γλουταθειόνης, χρησιμοποιώντας NADPH ως δότη ηλεκτρονίων, σε συνθήκες χαμηλού στρες. Εάν το κύτταρο δεν είναι σε θέση να μειώσει GSSG προς GSH, η αύξηση του GSSG μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης του οξειδωτικού στρες (Clarkson 2000), και ο λόγος της GSH/GSSG χρησιμοποιείται ως αξιόπιστη μέτρηση του οξειδωτικού στρες (Ji 1995).

**Ουρικό οξύ:** Αποτελεί το τελικό προϊόν του καταβολισμού των πουρινών, που παράγεται από υποξανθίνη και ξανθίνη με τη δράση των ενζύμων της οξειδάσης της ξανθίνης και αφυδρογονάσης της ξανθίνης. Ο κύριος αντιοξειδωτικός ρόλος του ουρικού οξέος είναι να παρέχει προστασία έναντι της υπεροξειδωσής των λιπιδίων με το να δεσμεύει το  $OH^\bullet$ ,  $O_2^{\bullet-}$  και κάθε μονήρες οξυγόνο (Wayner 1987, Ames 1981). Επιπρόσθετα, το ουρικό οξύ δεσμεύει χηλικά τα ιόντα μεταλλικών, όπως τα ιόντων σιδήρου και χαλκού, ελαχιστοποιώντας έτσι την δυνητική των μεταλλικών ιόντων στο να καταλύουν



αντιδράσεις ελευθέρων ριζών (Halliwell 2007). Το ουρικό οξύ αποτελεί τον κύριο ρυθμιστή της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) του πλάσματος (Bartosz 2003), το οποίο αναφέρεται στην ποσότητα του οξειδωτικού μορίων που έχουν εξουδετερωθεί από το σύνολο των αντιοξειδωτικών ουσιών (Bartosz 2003).

**Χολερυθρίνη:** Είναι το τελικό προϊόν του καταβολισμού της αιμοσφαιρίνης και μαζί με το ουρικό οξύ, ένα από τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά του πλάσματος. Η χολερυθρίνη κυκλοφορεί στο πλάσμα συνδεδεμένη με τη λευκωματίνη, και καταστέλλει την οξείδωση των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών (Stocker 1987). Περίπου το 80% της χολερυθρίνης προκύπτει από τον καταβολισμό της αιμοσφαιρίνης από γηρασμένα ερυθροκύτταρα του αίματος (Maines 1988), ενώ το υπόλοιπο προέρχεται από μυοσφαιρίνη, καταλάση και κυτοχρώματα. Επίσης έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες καθώς χρησιμοποιείται ως δείκτης αιμόλυσης που δημιουργείται από τον καταβολισμό των ερυθροκύτταρων (Baranano 2002).

**Συνένζυμο Q10:** Το συνένζυμο Q10 ή αλλιώς ουβικινόνη είναι ένα μεγάλο μόριο το οποίο φέρει υδρογόνα (Halliwell & Gutteridge, 2007). Είναι μια ουσία, που βρίσκεται σε μικρές ποσότητες σε κάποιες τροφές, αλλά συντίθεται και σε διάφορους ιστούς. Η βιοσύνθεση του από το αμινοξύ τυροσίνη είναι μια σύνθετη διαδικασία που απαιτεί τη συμβολή βιταμινών (κυρίως του συμπλέγματος B) και αρκετών ιχνοστοιχείων. Είναι από τα βασικότερα συστατικά της αναπνευστικής αλυσίδας των κυττάρων ενώ βρίσκεται και σε άλλες κυτταρικές μεμβράνες και λιποπρωτεΐνες. Ο αντιοξειδωτικός του ρόλος οφείλεται

στο ότι προστατεύει τα κύτταρα από τη λιπιδική υπεροξειδωση (Halliwell & Gutteridge, 2007).

**Βιταμίνη E:** Αποτελεί το κυριότερο λιπο-διαλυτό αντιοξειδωτικό των κυτταρικών μεμβρανών και των λιποπρωτεϊνών που σταματά τις αλυσιδωτές αντιδράσεις των λιπιδικών υπεροξειδώσεων και προέρχεται από τη διατροφή. Τέσσερις τοκοφερόλες και τέσσερις τοκοτριενόλες συνθέτουν την δραστικότητα της βιταμίνης E. Η α-τοκοφερόλη είναι η πιο δραστική μορφή, που αντιπροσωπεύει περίπου το 90% της δραστικότητας της βιταμίνης E. Η α-τοκοφερόλη αντιδρά με λιπουπεροξειδικές ρίζες σχηματίζοντας μια υδρο-λιπιδική ρίζα α-τοκοφερόλης προλαμβάνοντας έτσι τη διάδοση της υπεροξειδωσης των λιπιδίων. Επομένως η βιταμίνη E οξειδώνεται και σχηματίζεται η ρίζα α-τοκοφερόλης ( $TO^{\bullet}$ ) και γίνεται αναγωγή των ριζών υπεροξυλίου ( $LOO^{\bullet}$ ) σε λιπιδικά υδροϋπεροξειδία ( $LOOH$ ) (Deaton 2003).

**Βιταμίνη C:** Είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη που αντιπροσωπεύει την αντιοξειδωτική άμυνα στο πλάσμα. Η βιταμίνη C αντιδρά με τις ρίζες  $O_2^{\bullet-}$ ,  $OH^{\bullet}$  και με το μονήρες οξυγόνο (Clarkson 2000, Cesari 2004), επομένως είναι ένας ισχυρός αναστολέας της υπεροξειδωσης των λιπιδίων. Επιπλέον, η βιταμίνη C αναστέλλει την υπεροξειδωση των λιπιδίων που επάγεται από την αιμοσφαιρίνη ή μυοσφαιρίνη είτε από ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα και  $ROO^{\bullet}$  (Halliwell 2007). Η βιταμίνη C σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να δρα ως προ-οξειδωτικό, καθώς μπορεί να μετατρέψει το σίδηρο από την ανενεργή τρισθενή μορφή ( $Fe^{+3}$ ) σε δραστική μορφή σιδήρου ( $Fe^{+2}$ ) (Powers 2004). Ο δισθενής

σιδήρος με τη σειρά του μπορεί να αντιδράσει με  $H_2O_2$ , και να οδηγήσει στο σχηματισμό ρίζας  $HO^\bullet$  μέσω της αντίδρασης Fenton, η οποία μπορεί να ξεκινήσει την υπεροξειδωση των λιπιδίων.

**Πολυφαινόλες:** Αποτελούν μια άλλη μεγάλη κατηγορία μη ενζυμικών φυτικών αντιοξειδωτικών (Halliwell & Gutteridge, 2007). Αποτελούνται από έναν τουλάχιστον αρωματικό δακτύλιο, οι άνθρακες του οποίου είναι συνδεδεμένοι με μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες (-OH). Έχουν βρεθεί πάνω από 8000 πολυφαινολικές ενώσεις στο φυτικό βασίλειο οι οποίες διαιρούνται σε 10 τουλάχιστον κατηγορίες, ανάλογα με τον αριθμό των βενζολικών δακτυλίων και των ομάδων με τις οποίες είναι συνδεδεμένοι οι άνθρακες τους. Τα флаβονοειδή αποτελούν μια σημαντική κατηγορία των πολυφαινολικών ενώσεων. Τα флаβονοειδή αποτελούνται από δύο αρωματικούς δακτυλίους με 15 άτομα άνθρακα, οι οποίοι συνδέονται με έναν πυρηνικό δακτύλιο και έχουν πολλούς πιθανούς υποκαταστάτες. Τα флаβονοειδή όπως κουερσετίνη, η ρεσβερατρόλη, η κουρκουμίνη και κατεχίνες, είναι από τις καλύτερα μελετημένες φαινόλες, οι οποίες περιλαμβάνουν αρκετές χιλιάδες ενώσεις και βρίσκονται σε υψηλά επίπεδα στα σταφύλια και τα προϊόντα αυτών και αποτελούν την κύρια πηγή των флаβονοειδών (Manach 2004). Μία ακόμα πολύ σημαντική κατηγορία πολυφαινολών είναι τα φαινολικά οξέα, η δομή των οποίων είναι απλούστερη από αυτή των флаβονοειδών (Manach 2004). Τα флаβονοειδή δρουν στις ρίζες υπεροξειδίου, σπάζοντας τις αλυσιδωτές αντιδράσεις και αναστέλλοντας έτσι την υπεροξειδωση των λιπιδίων μπορούν επίσης να εξουδετερώνουν άλλες ελεύθερες ρίζες όπως  $RS$ ,  $OH^\bullet$ ,  $NO_2^\bullet$ ,  $ONOOH$  και  $HOO$  (Halliwell 2008). Η αντιοξειδωτική δράση των

πολυφαινολών έγκειται στο γεγονός ότι ανάγουν τις ελεύθερες ρίζες δίνοντας τους ένα άτομο υδρογόνου. Η φαινολική ρίζα που παράγεται στην συνέχεια είναι σχετικά σταθερή και μπορεί να αντιδράσει και με άλλες ελεύθερες ρίζες, αποτρέποντας τις βλαβερές επιδράσεις τους στα βιομόρια. Επιπλέον, οι πολυφαινόλες δεσμεύουν χηλικά ιόντα σιδήρου και χαλκού, τα οποία μέσω των αντιδράσεων Fenton και Haber-Weiss μπορεί να οδηγήσουν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών (Nijveldt 2001). Μπορούν επίσης και αναστέλλουν την ικανότητα της μυελοϋπεροξειδάσης και να οξειδώνουν λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL), επιτυγχάνοντας αποτελέσματα αντι-αθηροσκλήρωσης (Halliwell 2008).

**Συστατικά του αίματος:** Η τρανσφερίνη που αποτελεί την πρωτεΐνη μεταφορά του σιδήρου, και η φερριτίνη που αποτελεί την πρωτεΐνη αποθήκευσης σιδήρου διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση χαμηλών επιπέδων του ελεύθερου σιδήρου (Bacic 2008, Murray 1993), και ως εκ τούτου, περιορίζουν την μετατροπή του  $H_2O_2$  σε  $OH^\bullet$ . Η λακτοφερρίνη που εκκρίνεται από ουδετερόφιλα σε καταστάσεις φλεγμονής, ενεργεί επίσης ως αντιοξειδωτικό με σύνδεση με τα διαθέσιμα ιόντα σιδήρου, βοηθώντας έτσι τη σίδηρο-εξαρτώμενη  $OH^\bullet$  ελεύθερη ρίζα να ελαχιστοποιηθεί (Halliwell 2007). Η σερουλοπλασμίνη και η αλβουμίνη επίσης βοηθούν στην αντιοξειδωτική άμυνα παρέχοντας προστασία σημαντικών στόχων κατά της υπεροξειδωσης των λιπιδίων (π.χ. LDL), μέσω σύνδεσης τους με ιόντα χαλκού που θα μπορούσαν να συμμετάσχουν στις αντιδράσεις Fenton. Η σερουλοπλασμίνη δεσμεύει το 90% του χαλκού που υπάρχει στο πλάσμα, ενώ η αλβουμίνη μεταφέρει το υπόλοιπο 10% (Murray 1993).

### 3. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΣΚΗΣΗ

Κατά τη διάρκεια της άσκησης αυξάνεται η κατανάλωση οξυγόνου, και κατά τον οξειδωτικό μεταβολισμό, το μεγαλύτερο μέρος του οξυγόνου δεσμεύεται και παρουσία υδρογόνου σχηματίζει  $H_2O$  μέσω της αντίδρασης της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης στα μιτοχόνδρια. Εντούτοις, έχει υπολογιστεί ότι μια ποσότητα 2-5% του παραγόμενου οξυγόνου δεν μετατρέπεται πλήρως σε  $H_2O$ , αλλά διαρρέει έξω από την αναπνευστική αλυσίδα, καθώς τόσο η αναγωγή της NADH-ουβικινόνης όσο και εκείνη του κυτοχρώματος c παράγουν  $O_2^{\bullet-}$  (Ji 1995). Είναι γνωστό ότι η κατανάλωση οξυγόνου στους ιστούς και σε ολόκληρο το σώμα αυξάνεται δραματικά κατά τη διάρκεια της έντονης άσκησης και μπορεί να είναι 20-πλάσια στο σώμα και 100-πλάσια στους μυϊκούς ιστούς (Ji 1995). Αποτέλεσμα αυτής της αύξησης, αποτελεί η αύξηση της παραγωγής  $O_2^{\bullet-}$  στα μιτοχόνδρια. Το  $O_2^{\bullet-}$  που σχηματίζεται από την διαρροή οξυγόνου στην αναπνευστική αλυσίδα ανάγεται κατά τη σύνδεση του προς σχηματισμό  $H_2O_2$  μέσω του ενζύμου MnSOD, καθιστώντας δυνατό το σχηματισμό  $OH^{\bullet}$  μέσω των αντιδράσεων Fenton ή Haber-Weiss (Halliwell 2007). Τα μιτοχόνδρια ίσως να αποτελούν τον εκκινητή της παραγωγής ROS και να προκαλούν έτσι οξειδωτικές βλάβες κατά τη διάρκεια της άσκησης. Σύμφωνα με τους Ji

και συν (1999), πράγματι η μιτοχονδριακή υπεροξειδωση των λιπιδίων ενισχύεται μετά την άσκηση, και συνοδεύεται από μείωση του περιεχομένου των θειολών και αδρανοποίηση των οξειδωτικών ενζύμων (Ji 1999). Η μιτοχονδριακή παραγωγή ελευθέρων ριζών ROS έμμεσα υποστηρίζεται από την προσαρμογή των μιτοχονδριακών αντιοξειδωτικών ενζύμων, όπως MnSOD και GPx (Ji 1999).

Τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος παράγουν μεγάλες ποσότητες δραστικών ειδών οξυγόνου (Malm 1999). Σε περιπτώσεις άσκησης που περιλαμβάνει έκκεντρες συστολές και προκαλείται τραυματισμός των μυών και φλεγμονή, η δραστηριότητα των παραπάνω κυττάρων αυξάνεται σημαντικά κατά τη διάρκεια, όσο και μετά την άσκηση, μέσω της καταλυτικής δράσης της οξειδάσης του NADPH και της μυελοϋπεροξειδάσης (Peake 2005, Vollaard 2005). Τα ουδετερόφιλα είναι τα πρώτα κύτταρα που συγκεντρώνονται στην τραυματισμένη περιοχή και μαζί με τα μακροφάγα των ιστών καθαρίζουν την περιοχή μέσω της φαγοκυττάρωσης. Προκαλώντας μια επακόλουθη αύξηση της κατανάλωσης οξυγόνου (oxidative burst), το μοριακό οξυγόνο ανάγεται αρχικά σε ανιόν υπεροξειδίου και στη συνέχεια σε υπεροξειδίο του υδρογόνου το οποίο με τη σειρά του μπορεί να σχηματίσει υποχλωρικό οξύ (Pyne 1996). Ένας αριθμός αντιδράσεων μετά το σχηματισμό της υποχλωρικού οξέος μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή  $\text{OH}^\bullet$  είτε μέσω των αντιδράσεων Fenton είτε μέσω της αντίδρασης του υπεροξειδίου του υδρογόνου με το υποχλωρικό οξύ. Επίσης, το  $\text{O}_2^-$  που παράγεται από πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα μπορεί να απελευθερώσει το σίδηρο της φερριτίνης (Biemond 1984).

Οι κυτοκίνες που απελευθερώνονται από τα ουδετερόφιλα και τους

τραυματισμένους μύες αποτελούν άλλη μια πηγή παραγωγής ελευθέρων ριζών. Αυτές οι κυτοκίνες ενεργοποιούν ένζυμα που οδηγούν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών, όπως την οξειδάση της ξανθίνης (XO) και την κυκλοοξυγενάση-2 (Ji 2007, Hellsten 1997). Επίσης κατά τις ισχαιμικές μυϊκές συσπάσεις, τις ισομετρικές ασκήσεις, ασκήσεις σε υποξικό περιβάλλον ή με διαταραγμένη ροή αίματος λόγω αγγειακών νόσων, οι σκελετικοί μύες μπορεί να υποστούν σημαντική μείωση νουκλεοτιδίων αδενίνης και στις περιπτώσεις αυτές, η οξειδάση της ξανθάνης (XO) μπορεί να αποτελέσει σημαντικό μονοπάτι. Η XO χρησιμοποιεί το μοριακό οξυγόνο ως δότη ηλεκτρονίων κατά τη διάρκεια της αποικοδόμησης των πουρινών προς ουρικό οξύ, με αποτέλεσμα την παραγωγή του  $O_2^{\bullet-}$  και ανιόντων  $H_2O_2$  (McCord & Fridovich, 1968). Έχει διαπιστωθεί ότι η άσκηση υψηλής έντασης οδηγεί στην ενεργοποίηση του μονοπατιού της XO, με επακόλουθη παραγωγή ανιόντων  $O_2^{\bullet-}$  και  $H_2O_2$  (Hellsten 1997).

Η καταστροφή της αιμοσφαιρίνης και μυοσφαιρίνης λόγω της αιμόλυσης που εμφανίζεται μετά από τη μυϊκή βλάβη που προκαλεί η έκκεντρη άσκηση (Theodorou 2011) μπορεί επίσης να συμβάλει στην αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών με την απελευθέρωση μορίων σιδήρου από τα ερυθροκύτταρα, τα οποία με τη σειρά τους μπορούν να συμμετέχουν στις αντιδράσεις Fenton και Haber-Weiss (Gutteridge 1986).

#### 4. Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΔΟΑΝΑΓΩΓΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Όπως αναφέρθηκε στις προηγούμενες ενότητες, το οξειδωτικό στρες δημιουργείται όταν η παραγωγή των ελεύθερων ριζών ξεπερνά την αντιοξειδωτική ικανότητα του ανθρώπινου σώματος, διαταράσσοντας με αυτόν τον τρόπο την οξειδοαναγωγική ισορροπία. Στο αίμα, το οξειδωτικό στρες εκτιμάται μέσα από τις αλλαγές στη συγκέντρωση διάφορων έμμεσων δεικτών, κυρίως υποπροϊόντα από την οξείδωση διαφόρων σημαντικών βιομορίων, των οποίων η αύξηση δηλώνει την υπεροξείδωση των λιπιδίων, των πρωτεϊνών ή του DNA. Ευρέως χρησιμοποιούμενοι δείκτες υπεροξείδωσης των λιπιδίων είναι η μηλονοδιαλδεΐδη (MDA), οι ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), και τα ισοποσάνια, ενώ τα πρωτεϊνικά καρβονύλια (PC) και η 8-υδροξυ-2'-δεοξυγουανοσίνη (8-OHdG) χρησιμοποιούνται συχνά ως δείκτες των κατεστραμμένων πρωτεϊνών και του DNA, αντίστοιχα (Nikolaidis 2008). Επιπλέον, οι αλλαγές στη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών δείχνουν επίσης την παρουσία οξειδωτικού στρες. Τα αντιοξειδωτικά μπορεί είτε να αναρυθμίζονται είτε να μειώνονται, εξαιτίας της προσπάθειας του ανθρώπινου σώματος να καταπολεμήσει την αυξημένη



παραγωγή ελεύθερων ριζών. Οι αντιοξειδωτικές ουσίες που κυρίως ερευνώνται είναι τα ενζυμικά αντιοξειδωτικά SOD, GPx και καταλάση, και τα μη-ενζυμικά αντιοξειδωτικά βιταμίνη C και E και η GSH, καθώς και η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC). Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα αντιπροσωπεύει την ικανότητα ενός ιστού να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες (Nikolaidis 2008). Πράγματι, πλήθος ερευνών αναφέρουν αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών (οξείδωση ενός ή και περισσότερων βιομορίων), καθώς και αλλαγές σε αντιοξειδωτικές ουσίες ως αποτέλεσμα της άσκησης. Η επίδραση της άσκησης στην οξειδοαναγωγική κατάσταση του αίματος συνοψίζεται στον Πίνακα 1.

### ***Οξείδωση των λιπιδίων***

Η αερόβια άσκηση φαίνεται να οδηγεί σε αυξημένη οξείδωση των λιπιδίων (Bulduk 2011, Simpson 2005, Child 1998, Hessel 2000, Rokitzki 1994). Πράγματι, αύξηση των επιπέδων της MDA παρατηρείται μετά το τέλος ενός τεστ παλίνδρομου τρεξίματος 20 m σε γυναίκες παίκτριες του βόλεϋ (Bulduk 2011), αλλά και 48 ώρες μετά από ένα αγώνα δρόμου σε βουνό (Simpson 2005). Επιπλέον, τόσο μία μέγιστη αερόβια δοκιμασία αξιολόγησης της  $VO_{2max}$  διάρκειας 12 min, όσο και 50 min αερόβιας άσκησης (70 – 75%  $VO_{2max}$ ) ακολουθούμενη από μέγιστη δοκιμασία (90% της  $VO_{2max}$ ) οδηγούν σε αύξηση των TBARS (Nikolaidis 2006). Παρομοίως, η MDA αυξάνεται μετά από έναν αγώνα ημιμαραθωνίου (Child 1998), και η συγκέντρωση των οξειδωμένων λιπιδίων παρατηρείται αυξημένη αμέσως μετά από έναν αγώνα μαραθωνίου (Hessel 2000, Rokitzki 1994), η οποία παραμένει σε υψηλότερα επίπεδα από αυτά της ηρεμίας, έως και 8 ημέρες μετά τον αγώνα (Hessel 2000).

Όχι μόνο η πολύ μεγάλης διάρκειας άσκηση, αλλά και η μέτριας διάρκειας και/ή

χαμηλής σχετικά έντασης άσκηση μπορεί να οδηγήσει σε υπεροξείδωση των λιπιδίων. Πράγματι, 40 min αερόβιας άσκησης στο 60%  $VO_{2max}$  αύξησε τα TBARS κατά 50% σε σχέση με τα επίπεδα ηρεμίας (Laaksonen 1999). Παρόμοια, ένας αγώνας καλαθοσφαίρισης οδηγεί σε αύξηση της MDA, η οποία διατηρείται αυξημένη και 24 h μετά τον αγώνα (Chatzinikolaou 2014).

Αναερόβια άσκηση μπορεί επίσης να επιφέρει αλλαγές σε δείκτες λιπιδικής υπεροξείδωσης. Πράγματι, η συγκέντρωση της MDA αυξάνεται μετά από 50 m ελεύθερης κολύμβησης σε 30 sec σε κολυμβήτριες υψηλού επιπέδου (Kafkas 2013). Επίσης, επαναλαμβανόμενα σπριντ οδηγούν σε αύξηση στη συγκέντρωση των TBARS (Escobar 2009).

### ***Οξειδωση των πρωτεϊνών***

Αλλαγή σε δείκτες οξειδωσης των πρωτεϊνών αναφέρεται ως αποτέλεσμα της άσκησης. Τόσο μία μέγιστη αερόβια δοκιμασία αξιολόγησης της  $VO_{2max}$  διάρκειας 12 min, όσο και 50 min αερόβιας άσκησης (70 – 75%  $VO_{2max}$ ) ακολουθούμενη από μέγιστη δοκιμασία (90% της  $VO_{2max}$ ) οδηγούν σε αυξημένη οξειδωση των πρωτεϊνών (Nikolaidis 2006). Τρέξιμο για 30 min στο 80% της  $VO_{2max}$  αυξάνει τα PC τα οποία παραμένουν σε υψηλότερα επίπεδα από την ηρεμία μέχρι και 1 εβδομάδα μετά το τέλος της άσκησης (Bloomer 2006).

Τα επίπεδα των PC που μελετήθηκαν σε αθλητές του μπάσκετ για διάστημα μιας εβδομάδας πριν και μετά την διεξαγωγή ενός αγώνα, αυξήθηκαν μετά τον αγώνα και η

αύξησή τους κορυφώθηκε 24 ώρες μετά, ενώ επανήρθαν στα φυσιολογικά τους επίπεδα τις επόμενες ημέρες (Chatzinikolaou 2014).

Εκτός από την αερόβια, και η αναερόβια άσκηση προκαλεί οξείδωση των πρωτεϊνών. Πράγματι, οι Bloomer και συν (2006), αναφέρουν αύξηση στα PC κατά 74% και κατά 111% μετά από 15 καθίσματα με μπάρα (70% 1ME) και 30 sec ποδηλασίας με μέγιστη ταχύτητα, αντίστοιχα. Παρομοίως, επαναλαμβανόμενα σπριντ προκαλούν αύξηση των επιπέδων των πρωτεϊνικών καρβονυλίων σε νεαρούς αθλητές ποδοσφαίρου (Escobar 2009).

### ***Αλλαγές στη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών ουσιών***

Αλλαγές στη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών ουσιών παρατηρούνται συνήθως σε διάφορες χρονικές στιγμές μετά το τέλος μιας οξείας άσκησης, προφανώς ως αποτέλεσμα της άμυνας του οργανισμού έναντι της αυξημένης παραγωγής ελευθέρων ριζών (Aguilo 2005, Sastre 1992, Simpson 2005, Laaksonen 1999, Andersson 2010, Hessel 2000, Chatzinikolaou 2014).

Ένας αγώνας μαραθωνίου δρόμου αυξάνει τα επίπεδα της GSSG, και μειώνει τη δραστικότητα της GPx, και της SOD και αυτές οι αλλαγές διατηρούνται και για τις επόμενες 8 ημέρες (Hessel 2000). Παρομοίως, εξαντλητική άσκηση σε ποδήλατο (Aguilo 2005) προκαλεί αύξηση στη συγκέντρωση της καταλάσης, της GSSG, του ουρικού οξέος, της βιταμίνης E και της α-τοκοφερόλης, και μείωση της GPx σε επαγγελματίες ποδηλάτες

(Aguilo 2005). Επίσης, ένας αγώνας δρόμου σε βουνό οδηγεί σε αύξηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (Simpson 2005). Τα επίπεδα της GSSG αυξάνονται κατά 72% μετά από τρέξιμο σε δαπεδοεργόμετρο μέχρι εξάντλησης και επιστρέφουν στα επίπεδα πριν από την άσκηση, μία ώρα μετά (Sastre 1992). Επίσης, τρέξιμο σε δαπεδοεργόμετρο για 50 min, ακολουθούμενο από μέγιστη δοκιμασία μέχρι εξάντλησης, οδηγεί σε μειωμένα επίπεδα GSH και αυξημένα επίπεδα GSSG, και προκαλεί αύξηση στη δραστικότητα της καταλάσης (Nikolaidis 2006).

Αλλά και χαμηλότερης έντασης και/ή μικρότερης διάρκειας αερόβια άσκηση επίσης αυξάνει την GSSG και μειώνει την GSH. Πράγματι, 40 min αερόβιας άσκησης σε ποδήλατο στο 60% της  $VO_{2max}$  μειώνει κατά 13% την GSH και αυξάνει κατά 50% την GSSG, αντίστοιχα (Laaksonen 1999). Παρόμοια, μείωση της GSH και αύξηση της GSSG παρατηρείται μετά από μέγιστη δοκιμασία αξιολόγησης της  $VO_{2max}$  διάρκειας περίπου 12 min (Nikolaidis 2006). Ένας αγώνας ποδοσφαίρου 90 min προκαλεί αύξηση της GSSG, του ουρικού οξέος, της ολικής GSH, της  $\alpha$ -τοκοφερόλης και του ασκορβικού οξέος, μείωση στο λόγο της GSH:GSSG, και στις πολυφαινόλες (Andersson 2010). Παρόμοια, ένας αγώνας καλαθοσφαίρισης αυξάνει την GPx, την καταλάση, και την TAC, και μειώνει την GSH, και αυτές οι αλλαγές διαρκούν έως 24 h μετά τον αγώνα (Chatzinikolaou 2014).

Η αναερόβια άσκηση μπορεί επίσης να επιφέρει αλλαγές σε αντιοξειδωτικές ουσίες. Η GSH και η SOD μειώνονται μετά από 50 m ελεύθερης κολύμβησης σε 30 sec σε κολυμβητήριες υψηλού επιπέδου (Kafkas 2013). Παρόμοια, η συγκέντρωση της GSH μειώθηκε αμέσως μετά από ένα μέγιστο Wingate τεστ και παρέμεινε σε χαμηλότερα επίπεδα σε σχέση με την ηρεμία στα 15, 60 και 120 min μετά την δοκιμασία (-14, -23, -29

και -17% αντιστοιχα), ενώ επανήλθε στα φυσιολογικά επίπεδα μετά από 24 ώρες. Αυτή η μείωση ήταν παράλληλη με τη αντίστοιχη αύξηση του λόγου της GSSG/GSH (+27, +27, +26 και +31%, αντίστοιχα) ενώ η συγκέντρωση της οξειδωμένης γλουταθειόνης δεν επηρεάστηκε σημαντικά (Cuevas 2005).

### ***Οξείδωση του DNA***

Μικρής διάρκειας υπερμέγιστη αναερόβια άσκηση μπορεί να οδηγήσει σε οξείδωση του DNA. Πράγματι, μετά από ένα Wingate τεστ, τα επίπεδα της 8-OH-2-δεοξυγουανοσίνης παρουσιάζονται αυξημένα έως και 24 ώρες μετά το τέλος της άσκησης (Cuevas 2005).

**Πίνακας 1.** Επίδραση της άσκησης σε δείκτες οξειδωτικού στρες.

| ΜΕΛΕΤΕΣ                      | ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ  | ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΕΣ  | ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ   |
|------------------------------|---|--|--|
| Aguilo et al. (2000)         | Παρατεταμένη υπομέγιστη άσκηση (80% VO <sub>2max</sub> ) για 90 min                                       | 9 άνδρες αθλητές αντοχής 25,6 ± 4.0 ετών                                       | CAT, GR, GPx: ↓ αμέσως μετά την άσκηση   |
| Bulduk et al. (2011)         | Άσκηση παλίνδρομου τρεξίματος   | 10 γυναίκες αθλήτριες του βόλεϊ & 10 μη αθλούμενες γυναίκες ηλικίας 18-24 ετών | MDA: ↑ αμέσως μετά την άσκηση<br>GSH, CAT: ↓ αμέσως μετά την άσκηση  |
| Child et al. (1998)          | Ημιμαραθώνια διαδρομή   | 17 άνδρες δρομείς 31 ± 4.0 ετών  | MDA, TAC, CK: ↑ αμέσως μετά την άσκηση   |
| Laaksonen et al. (1999)      | Ποδηλασία για 40 min στο 60% VO <sub>2max</sub>   | 14 άνδρες 20 - 30 ετών   | TBARS, GSSG: ↑ 50% αμέσως μετά την άσκηση<br>GSH: ↓ 13% αμέσως μετά την άσκηση   |
| Rokitzki et al. (1994)       | Αγώνας μαραθωνίου δρόμου  | 22 αθλητές δρομείς αποστάσεων ηλικίας 38,5±8,5 ετών                            | TBARS: ↑ μετά τον αγώνα<br>Ουρικό οξύ: ↑ αμέσως μετά, και 24 ώρες μετά τον αγώνα<br>GPx, καταλάση: δεν υπήρχαν αλλαγές                       |
| Chatzinikolaou et al. (2014) | Διεξαγωγή αγώνα ενδιάμεσα από 2 εβδομάδες προπονήσεων   | Αθλητές του μπάσκετ ηλικίας 23.2 ± 2.5 ετών                                    | MDA, PC, SOD, CAT, TAC: ↑ μετά τον αγώνα, κορύφωση 24h μετά τον αγώνα<br><br>GSH: ↓ 24 ώρες μετά τον αγώνα<br>GSSG: ↑ 48 ώρες μετά τον αγώνα |
| Escobar et al. (2009)        | Μικρής διάρκειας (<10sec) επαναλαμβανόμενα σπριντ με μετρήσεις πριν και αμέσως μετά την άσκηση.           | 18 νεαροί αθλητές ποδοσφαίρου ηλικίας 17± 0,5 ετών                             | TBARS, PC, SOD, CAT: ↑ μετά την άσκηση   |
| Hessel et al.(2000)          | Μαραθώνιος αγώνας με αιμοληψίες πριν τον αγώνα, αμέσως μετά τον αγώνα και μετά από 8 μέρες από τον αγώνα. | 18 άνδρες αθλητές μαραθωνοδρόμου μέσης ηλικίας 41.6±6.7                        | LPO, GSSG, SOD, GPx: ↑ αμέσως μετά και 8 μέρες μετά τον αγώνα<br>GSSG/GSH: ↑ μετά τον αγώνα  |
| Kafkas et al. (2013)         | Αναερόβια κολύμβηση (50m)   | 24 γυναίκες κολυμβήτριες   | Αναερόβια άσκηση:  |

|                         |              |  |   |  |
|-------------------------|--------------|--|---|--|
|                         |              | ελεύθερης κολύμβησης για 30sec) vs Αερόβια κολύμβηση (κολύμπι για 800 m σε 12 min)   | ηλικίας 18-21 ετών                                  | MDA: ↑ μετά την άσκηση<br>GSH, SOD: ↓ μετά την άσκηση  |
|                         |              |  |   | Αερόβια άσκηση<br>GSH, SOD: ↑ μετά την άσκηση<br>MDA: δεν υπήρξαν αλλαγές  |
| Simpson et al. (2005)   |              | Αγώνας ανάβασης 7 km με 475m ανάβασης και 475m κατάβασης με αιμοληψίες πριν, αμέσως μετά, και 48 ώρες μετά τον αγώνα             | 7 δρομείς ηλικίας 32±0.8 ετών                       | MDA: ↑ μετά, κορύφωση στις 48 ώρες μετά τον αγώνα  |
| Bloomer et al. (2007)   |              | 15 καθίσματα με μπάρα (70% 1ME) και 30 sec ποδηλασίας με μέγιστη ταχύτητα  | 13 άνδρες αθλητές αντοχής ηλικίας 24±4 χρονών       | PC: ↑ 74% μετά την άσκηση καθισμάτων<br>PC: ↑ 111% μετά την άσκηση 30sec ποδηλασίας  |
| Andersson et al. (2010) |              | Αγώνας ποδοσφαίρου 90 min στη μέση του πρωταθλήματος. Οι αιμοληψίες έγιναν πριν, αμέσως μετά και 21 ώρες μετά το τέλος του αγώνα | 20 γυναίκες αθλήτριες ποδοσφαίρου ηλικίας 22±3 ετών | ↑ GSSG, ουρικό οξύ, α- τοκοφερόλη, αμέσως μετά τον αγώνα<br>GSH/GSSG: ↓ αμέσως μετά τον αγώνα<br>GSH, d-ROMs: δεν υπήρξαν αλλαγές<br>συνόλο πολυφαινολών: ↓ αμέσως μετά τον αγώνα  |
| Cuevas et al. (2005)    | Wingate test |  | 8 επαγγελματίες ποδηλάτες                           | GSH: ↓ στα 15min, 60 min, 120 min και επιστροφή των τιμών σε φυσιολογικά επίπεδα 24 ώρες μετά την άσκηση<br>GSSG/GSH: ↑ στα 15min, 60 min, 120 min και επιστροφή των τιμών σε φυσιολογικά επίπεδα 24 ώρες μετά την άσκηση<br>8-OH-2-δεοξυγουανασίνη: ↑ |

## 5. ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗ ΣΤΑΦΙΔΑ

Η σύγχρονη διατροφική τάση, αναγνωρίζει στη σταφίδα σπουδαίες αρετές. Στο παρελθόν οι σταφίδες αποτελούσαν βασικό στοιχείο της διατροφής των προγόνων μας. Στις μέρες μας υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για τον εμπλουτισμό της διατροφής μας με τροφές πλούσιες σε αντιοξειδωτικές ουσίες (Williamson & Carughi, 2010).

Η κορινθιακή σταφίδα (*vitis vinifera* L.) αποτελεί τον αποξηραμένο καρπό της αμπέλου που καλλιεργείται και επεξεργάζεται εκατοντάδες χρόνια πριν και καταλαμβάνει σήμερα το 8-10% της παγκόσμιας παραγωγής αποξηραμένων φρούτων. Καλλιεργείται κυρίως στην Καλιφόρνια, ενώ η ποικιλία Σουλτανίνα παράγεται κυρίως στην Τουρκία, στο Ιράν στην Αυστραλία, στη δυτική Αφρική και στην Ελλάδα (Chiou 2007). Στην Ελλάδα καλλιεργούνται δύο ποικιλίες σταφίδας, η άσπρη σταφίδα γνωστή ως σουλτανίνα και η μαύρη ποικιλία η λεγόμενη Κορινθιακή. Στη νότια Ελλάδα παράγεται σχεδόν σε αποκλειστικότητα η κορινθιακή σταφίδα και ταξινομείται σε δύο ποιοτικές κατηγορίες. Στην πρώτη κατηγορία εντάσσεται η υψηλής ποιότητας σταφίδα της Βόριας Πελοποννήσου, με ποικιλίες που πήραν το όνομά τους από την εντοπιότητα της καλλιέργειας τους όπως η ποικιλία Βόστιτσα που είναι προϊόν προστατευμένης ονομασίας προέλευσης (ΠΟΠ), καθώς και η ποικιλία Gulf. Δευτερεύουσα κατηγορία αποτελεί η ποικιλία provincial η οποία παράγεται στη δυτική Πελοπόννησο και στα νησιά του Ιονίου κυρίως στη Ζάκυνθο και στην Κεφαλονιά (Chiou 2007). Οι εδαφοκλιματικές συνθήκες, σε συνδυασμό με την επίδραση της θαλάσσιας αύρας και της ηλιοφάνειας, προσδίδουν τα υψηλά ποιοτικά χαρακτηριστικά στην Κορινθιακή σταφίδα (Nikolidaki 2016, Körner 2007). Η κύρια διεργασία παραγωγής έχει να κάνει με την



ξήρανση του καρπού, κυρίως της μαύρης σταφίδας, στον ήλιο για μερικές ημέρες και στη συνέχεια την έκπλησή της με νερό για περαιτέρω επεξεργασία (Williamson 2010).

Οι σκούρες σταφίδες, όπως είναι και η Κορινθιακή ποικιλία σταφίδας, αποτελούν το αποξηραμένο φρούτο της αμπέλου (*Vitis vinifera* L.) και παίρνουν το μαύρο/βαθύ σκούρο μπλέ χρώμα τους από τη συσσώρευση της καφέ/μαύρης χρωστικής μελανίνης που παράγεται από την οξειδωτική δραστηριότητα του πολυφαινολικού περιεχομένου τους και από μη ενζυμικές αντιδράσεις που συμβαίνουν στη σάρκα τους (Williamson 2010). Η διαφορά αυτής της ποικιλίας σε σχέση με άλλες ξανθές ποικιλίες σταφίδας (π.χ. Thompson) οφείλεται στο γεγονός ότι αυτές επεξεργάζονται με ζεστό νερό και διοξείδιο του θείου για να απενεργοποιηθεί η οξείδωση του πολυφαινολικού περιεχομένου που προκαλεί αυτό το σκούρο χρώμα (Williamson 2010, Petrucci 2001).

Τα τελευταία χρόνια αναπτύσσεται μεγάλο επιστημονικό ενδιαφέρον γύρω από προϊόντα σταφυλιού όπως η σταφίδα το οποίο επικεντρώνεται στις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες που θα μπορούσαν να είναι ευεργετικές για τον ανθρώπινο οργανισμό (Kaliora 2008).

### **5.1. ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΣΤΑΦΙΔΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΙΟΥ**

Από διατροφικής άποψης οι σταφίδες αποτελούν πηγή φυτικών ινών, βιταμινών (πυριδοξίνες, ριβοφλαβίνη και θιαμίνη), μετάλλων (κάλιο, σίδηρος και ασβέστιο) και σακχάρων όπως η φρουκτόζη, ενώ δεν περιέχουν σχεδόν καθόλου λίπος ή χοληστερόλη (Kapellios 2013). Μελέτες έχουν δείξει ότι περιέχουν υψηλό

ποσοστό αντιοξειδωτικών ουσιών όπως ανθοκυανίνες (Chiou 2007, Borges 2010, Chesnokova 2015). Επίσης σε σχέση με άλλα αποξηραμένα φρούτα όπως τα μήλα, τα βερίκοκα, τα κράνμπερι, τα σύκα, τα ροδάκινα, και τα αχλάδια, έχει βρεθεί ότι περιέχουν μεγάλο ποσοστό συνολικών φαινολών, φυτοοιστρογόνων, καθώς και ισοφλαβονών, και λιγνάνων (Chang 2016). Επιπροσθέτως, οι σταφίδες ανήκουν στα αποξηραμένα προϊόντα που διαθέτουν χαμηλό, είτε μέτριο γλυκαιμικό δείκτη παρά το υψηλό τους περιεχόμενο σε υδατάνθρακες (Kanellos 2014).

Οι σταφίδες περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις φαινολικών ενώσεων (316-1141 mg γαλλικό οξύ 100 g<sup>-1</sup>), όπως και φαινολικά οξέα (πχ, γαλλικό, κουμαρικό, τρανσκαφταρικό, trans-κουταρικό και φερουλικό οξύ), φλαβον-3-όλες (όπως κατεχίνη και επικατεχίνη), φλαβονόλες (μυρικετίνη, κουερσετίνη, καμφερόλη, ρουτίνη) (Mikkonen 2001, Williamson 2010) και ανθοκυανίνες (όπως μαλβιδίνης-3-O-γλυκοζίτες και οι ακυλιομένοι εστέρες) και είναι από τις πλουσιότερες πηγές ισοφλαβονοειδών (Williamson 2010). Η μαύρη σταφίδα είναι επίσης μια καλή διατροφική πηγή των ανθοκυανινών (Chang 2016), ουσίες που ευθύνονται για το κόκκινο, μοβ και μπλε χρώμα της σταφίδας (Kelebek 2013, Parker 2007, Williamson 2010, Meng 2011). Επίσης σε μελέτη των Chiou και συν (2007) όπου εξετάστηκε το φαινολικό περιεχόμενο ποικιλίας της Κορινθιακής σταφίδας, ανιχνεύτηκαν και άλλες φαινολικές ουσίες και κυρίως βανιλλικό οξύ, καφεϊκό οξύ, γαλλικό οξύ, συριγγικό οξύ, π-κουμαρικό οξύ, πρωτοκατεχυϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, και κουερσετίνη. Το περιεχόμενο των φαινολικών ουσιών της σταφίδας παρουσιάζεται συγκεντρωτικά στον Πίνακα 2 σύμφωνα με τα αποτελέσματα διαφόρων μελετών.

Πίνακας 2. Φαινολικές ουσίες που περιέχονται στη σταφίδα.

| Μελέτες  | Γενικότερη κατηγορία ουσιών | Είδος φαινολικών ουσιών                         | Μονάδα μέτρησης | Ποσότητα ουσίας |
|--|-----------------------------|---|-----------------|-----------------|
| <b>Περιεχόμενο φαινολικών ουσιών στη σταφίδα</b> |                             |   |                 |                 |
| <b>Marquez et al 2012</b>                        | <b>Ανθοκιανίνες</b>         | Κυανιδίνη-3-γλυκοσίλιο                          | mg/L            | 1.16-1.56       |
|  |                             | Δελφινιδίνη-3- γλυκοσίλιο                       |                 | 1.45-1.75       |
|  |                             | Μαλβιδίνη-3- γλυκοσίλιο                         |                 | 47.2-74.1       |
|  |                             | Πελαρφονιδίνη-3-γλυκοσίλιο                      |                 | 0.87-1.04       |
|  |                             | Πεονιδίνη-3-γλυκοσίδιο                          |                 | 20.0-22.7       |
|  |                             | Πετουνιδίνη-3-γλυκοσίδιο                        |                 | 9.34-11.4       |
|  |                             | A-τύπος βιτισίνης μαλβιδίνης-3-ακετυλγλυκοσίδιο |                 | 0.44-0.53       |
|  |                             | B-τύπος βιτισίνης πεονιδίνης-3-γλυκοσίλιο       |                 | 0.38-0.75       |
|  |                             | 0.11-0.12                                       |                 |                 |
|  |                             | Βιτισίνη A                                      |                 | 0.76-0.84       |
|  |                             | Βιτισίνη B                                      |                 | 0.67-0.98       |
|  |                             | Κυανιδίνη-3- ακετυλγλουκοσίλιο                  |                 | 0.39-0.40       |
|  |                             | Δελφινιδίνη-3- ακετυλγλυκοσίλιο                 |                 | 14.3-16.7       |
|  |                             | Μαλβιδίνη-3- ακετυλγλυκοσίλιο                   |                 | 1.56-1.73       |
|  |                             | Μαλβιδίνη-3-καφεολγλυκοσίλιο                    |                 | 3.81-5.57       |
|  |                             | Πεονιδίνη-3-ακετυλγλυκοσίδιο                    |                 | 5.17-6.33       |
|  |                             | Πετουνιδίνη-3-ακετυλγλυκοσίδιο                  |                 | 2.86-2.95       |
|  |                             | Πετουνιδίνη -3-καφεολγλυκοσίλιο                 |                 | 2.36-2.54       |
|  |                             | Πετουνιδίνη -3<br>κουμαρουλγλυκοσίλιο           |                 |                 |
| <b>Williamson &amp; Carughi 2010</b>             | <b>Φλαβονόλες</b>           | Ισοχαμβετίνη 3-O-γλυκοσίλιο                     | mg/100g         | 1.25            |
|  |                             | Καμφερόλη                                       | FW              | 0.06            |
|  |                             | Κουεσεντίνη-3-O-ρουτινοσίνη                     |                 | 0.71            |
|  |                             | Κουεσεντίνη-3-O-γλουκουροσίνη                   |                 | 0.06            |
|  |                             | Κουεσεντίνη-3-O-γλουκοσίνη                      |                 | 2.1             |
|  |                             | Κουερσεντίνη                                    |                 | 0.29            |
| <b>Chiou et al 2007</b>                          | <b>Φαινολικά οξέα</b>       | Καφεϊκό οξύ                                     | mg/100g         | 0.63            |
|  |                             | Κιναμικό οξύ                                    | FW              | 0.16            |
|  |                             | Φερουλικό οξύ                                   |                 | 0.32            |
|  |                             | Γαλλικό αξύ                                     |                 | 0.69            |
|  |                             | p-Κουμαρικό οξύ                                 |                 | 0.36            |
|  |                             | p-Υδροξυβενζοϊκό οξύ                            |                 | 0.23            |
|  |                             | p- Υδροξυφαινυλακετυλικό οξύ                    |                 | 0.12            |
|  |                             | Πρωτοκατεχικό οξύ                               |                 | 0.44            |
|  |                             | Συριγγικό οξύ                                   |                 | 0.34            |
|  |                             | Βανιλικό οξύ                                    |                 | 1.21            |

---

|                                  |     |
|----------------------------------|-----|
| 3,4-δευδροξύ φαινυλακετυλικό οξύ | 0.1 |
|----------------------------------|-----|

---

|                            |                       |                           |         |        |
|----------------------------|-----------------------|---------------------------|---------|--------|
| <b>Meng et al<br/>2011</b> | <b>Φλαβονόλες</b>     | Κουερσεντίνη              | μg/g DW | 253    |
|                            |                       | Ρουτίνη                   |         | 44.76  |
| <b>Meng et al<br/>2011</b> | <b>Φαινολικά οξέα</b> | Γαλλικό οξύ               | μg/g DW | 1.59   |
|                            |                       | Φερουλικό οξύ             |         | 17.37  |
|                            |                       | p-Κουμαρικό οξύ           |         | 8.6    |
|                            |                       | Σαλυκυλικό οξύ            |         | 61.23  |
|                            |                       | Συριγγικό οξύ             |         | 17.87  |
|                            |                       | 3,4-δευδροξύ βενζοϊκό οξύ |         | 510.94 |

---

## 5.2. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ

Η εκτεταμένη χρήση των σταφυλιών και προϊόντων σταφυλιού όπως η σταφίδες στον τομέα της έρευνας οφείλεται κυρίως στο αντιοξειδωτικό δυναμικό τους που αποδίδεται στο περιεχόμενο τους σε φλαβονοειδή (Chopra 2000, Karadeniz 2000). Τα φλαβονοειδή αποτελούν μέρος μιας μεγαλύτερης κατηγορίας μορίων που είναι οι φαινολικές ενώσεις. Είναι ισχυρές αντιοξειδωτικές ουσίες και έχουν επίσης αρκετές λειτουργικές δυνατότητες, οι οποίες μπορεί να έχουν θετικές επιπτώσεις στην υγεία. Υπάρχουν πάνω από 4000 διαφορετικά φλαβονοειδή σύμφωνα με αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν σε τρόφιμα φυτικής προέλευσης (Andreae 2009, Hong 1990). Τα φλαβονοειδή έχουν τη μοναδική ικανότητα να λειτουργούν τόσο σε περιβάλλον υδατικής φάσης όσο και σε περιβάλλον λιπαρής φάσης του οργανισμού (Hollman 1999). Η δομική τους πολυμορφία, τους δίνει ένα

πλεονέκτημα έναντι άλλων θρεπτικών αντιοξειδωτικών που μπορούν να δρουν μόνο σε μία από τις δύο φάσεις όπως είναι η περίπτωση της λιποδιαλυτής αλφα-τοκοφερόλης και του υδατοδιαλυτού ασκορβικού οξέος.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα του φαινολικού περιεχομένου της Κορινθιακής σταφίδας μελετήθηκε από τους Chiou και συν (2007). Τρεις ποικιλίες μαύρης σταφίδας από την περιοχή του Κορινθιακού κόλπου Βοστίτσα, Προβίντσια και Γκάλφ χρησιμοποιήθηκαν για την διερεύνηση της επίδρασης τους στη μεταβολική οδό της ρίζας DPPH. Σύμφωνα με τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε, όσο μικρότερη ποσότητα εκχυλίσματος Κορινθιακής σταφίδας χρειάζεται για την εξουδετέρωση της μισής ποσότητας του DPPH, τόσο υψηλότερη είναι η αντιοξειδωτική ικανότητά της. Στον Πίνακα 3 παρουσιάζεται η ποσότητα της κορινθιακής σταφίδας σε (mg) που απαιτείται για τη μείωση της αρχικής συγκέντρωσης DPPH κατά 50% (EC50) σύμφωνα με την παραπάνω μελέτη (Chiou et al 2007).

**Πίνακας 3.** Ποσότητα της κορινθιακής σταφίδας σε (mg) που απαιτείται για τη μείωση της αρχικής συγκέντρωσης DPPH κατά 50% (EC50)\*.

| Ποικιλία σταφίδας              | Ελληνικής | Δείγματα        | Ποσότητα στη σταφίδα (mg) |
|--------------------------------|-----------|-----------------|---------------------------|
| <b>Βοσπιτσιάνικη-Vostizza</b>  |           | V1a             | 4.3                       |
|                                |           | V2a             | 3.8                       |
|                                |           | V3a             | 6.2                       |
|                                |           | Μέση τιμή(n=6)b | 4.9±1.5                   |
| <b>Περιοχή του κόλπου-Gulf</b> |           | G1a             | 5.9                       |
|                                |           | G2a             | 5.3                       |
|                                |           | G3a             | 5.8                       |
|                                |           | Μέση τιμή(n=6)b | 5.6±0.5                   |

|                              |                 |         |
|------------------------------|-----------------|---------|
| <b>Προβίντσια-Provincial</b> | Oa              | 5.0     |
|                              | Ma              | 6.5     |
|                              | Za              | 4.9     |
|                              | Μέση τιμή(n=6)b | 5.4±1.5 |

\* Chiou et al 2007.

### 5.3. ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ ΣΕ ΔΕΙΚΤΕΣ ΥΓΕΙΑΣ

Μελέτες έχουν δείξει ότι οι σταφίδες και τα προϊόντα σταφυλιού προάγουν την υγεία και προστατεύουν από διάφορες ασθένειες, καθώς τα ποικίλα θρεπτικά συστατικά και οι φυτοχημικές ενώσεις που περιέχουν (Goralan 2012, Xia 2010) φαίνεται να έχουν ποικίλες ευεργετικές ιδιότητες, μεταξύ των οποίων αντιοξειδωτικές (Nielsen 2005, Young 1999, Rosenblat 2010), αντιμικροβιακές (Lengsfeld 2004, Sivarooban 2008, Papadopoulou 2005, Nohynek 2006), και αντικαρκινικές ιδιότητες. Οι πιθανοί μηχανισμοί δράσης των φλαβονοειδών στον οργανισμό περιλαμβάνουν την άμεση εξουδετέρωση ορισμένων ειδών ελευθέρων ριζών, την καταστολή της υπεροξειδωσής των λιπιδίων και την προστασία του DNA, την απενεργοποίηση καρκινογόνων ουσιών, την αναστολή της έκφρασης μεταλλαγμένων γονιδίων που προάγουν την καρκινογένεση, καθώς και την αποτοξίνωση των ξеноβιοτικών ουσιών (Hollman 1999).

Οι ανθοκυανίνες της μαύρης σταφίδας, φαίνεται να αυξάνουν τα αντιοξειδωτικά ένζυμα GPx και SOD, σε άτομα με υπερλιπιδαιμία (Nielsen 2005). Οι Young και συν (1999), μελέτησαν την επίδραση των φλαβονοειδών, ειδικότερα της κουερσετίνης της μαύρης σταφίδας ως προς τις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες. Παρατηρήθηκε αύξηση της δραστηριότητας της GPx και μείωση της οξειδωσής των

λιπιδίων στο πλάσμα του αίματος σε υγιή άτομα μετά την καθημερινή κατανάλωση για μία εβδομάδα χυμού από μαύρη σταφίδα και μήλο πλούσιο σε κουερσετίνη (Young 1999). Σε μια άλλη μελέτη η χορήγηση χυμού μαύρης σταφίδας σε υγιείς ανθρώπους προκάλεσε αναστολή της παραγωγής ιόντων χαλκού σε ποσοστό 94% που οδήγησε σε μείωση της οξειδωσης της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας LDL. Στην ίδια μελέτη, παρατηρήθηκε αύξηση στον ορό του αίματος των επιπέδων της σουλφυδρυλομάδας (SH) και των παραοξονασών 1(PON1), παραγόντων που σχετίζονται με την αναστολή του οξειδωτικού στρες, μέσα σε δύο ώρες από την κατανάλωση του χυμού μαύρης σταφίδας (Rosenblat 2010).

Τα συστατικά των σταφυλιών και της σταφίδας, φαίνεται να έχουν αντιμικροβιακή δράση. Πράγματι, υψηλού μοριακού βάρους γαλακτάνες που βρέθηκαν στο εκχύλισμα σταφυλιών φαίνεται να έχουν θετική επίπτωση σε γαστρικά έλκη καθώς δρουν ενάντια στο ελικοβακτήριο του Πυλωρού στο γαστρικό βλεννογόνο του οργανισμού, μεταφέροντας αυτές τις προστατευτικές ιδιότητες σε όλο το τμήμα του δωδεκαδακτύλου (Lengsfeld 2004). Αν και είναι άγνωστος ο μηχανισμός, η αντιμικροβιακή αυτή δράση ενδέχεται να οφείλεται στον αποκλεισμό των αλληλεπιδράσεων μεταξύ του βλεννογόνου των επιθηλιακών κυττάρων και των επιφανειακών υποδοχών του οργανισμού. Επίσης, οι φαινολικές ενώσεις σταφυλιών φαίνεται να προκαλούν αναστολή της ανάπτυξης του παθογόνου μικροοργανισμού *Listeria monocytogenes* (Rodriguez-Vaquero 2007, Luther 2007), της *salmonella typhimurium* (Sivarooban 2008), καθώς και των παθογόνων *Staphylococcus aureus* (Papadopoulou 2005, Radovanovic 2009, Rotava 2009), *Escherichia coli* (Papadopoulou 2005, Radovanovic 2009, Rotava 2009), *Candida albicans* (Papadopoulou 2005, Nohynek 2006), τη σαλμονέλα, του *Bacillus cereus* και

του *Campylobacter jejuni* (Nohynek 2006). Επίσης, οι ανθοκυανίνες του εκχυλίσματος της μαύρης σταφίδας αναστέλλουν τη δράση των πρωτεϊνών της περιοδοντίτιδας (Santos 2011), αλλά και του ιού του έρπητα τύπου 1 (Suzutani 2003). Επιπλέον, οι ανθοκυανίνες της μαύρης σταφίδας έχει αποδειχθεί ότι παρουσιάζουν ισχυρή δραστηριότητα έναντι του ιού της γρίπης Α και Β (Knox 2001).

Αρκετές κλινικές μελέτες αναφέρουν ευεργετικές επιδράσεις της μαύρης σταφίδας στο καρδιαγγειακό σύστημα. Έχει αποδειχθεί ότι οι το έλαιο του ενδοσπερμίου μαύρης σταφίδας, λόγω της σύστασής του σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως το γ-λινολενικό οξύ, αναστέλλει τον σχηματισμό ινωμάτων, ενισχύοντας έτσι την αντιπηκτική δράση του οργανισμού (Stone 1995) και προκαλώντας μείωση της LDL χοληστερόλης στο πλάσμα του αίματος συγκριτικά με τη χορήγηση ιχθυελαίου (Tahvonon 2005). Η χορήγηση 500 ml χυμού μαύρης σταφίδας σε ασθενείς με περιφερική αρτηριοπάθεια, μείωσε τα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (Dalgard 2009). Τα υψηλά επίπεδα πολυφαινολικών ουσιών και τοκοφερολών που περιέχονται στο ενδοσπέρμιο της μαύρης σταφίδας, φαίνεται να αναστέλλουν την οξειδωτική βλάβη του DNA, των λιπιδίων και των πρωτεϊνών που σχετίζονται με τη στεφανιαία νόσο, κυρίως σε ότι αφορά την δημιουργία αθηρωματικών πλακών (Helbig 2009). Η κατανάλωση μίας κούπας σταφίδας την ημέρα, μειώνει την LDL χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια και την προσκόλληση των μονοκυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο, προλαμβάνοντας έτσι την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης (Puglisi 2008). Επιπλέον, σε ασθενείς με υπερλιπιδαιμία η χορήγηση κάψουλας ελαίου μαύρης σταφίδας οδήγησε σε αύξηση της HDL-C πρωτεΐνης του ορού του αίματος και παράλληλα σε μείωση των επιπέδων των



τριγλυκεριδίων και της ολικής χοληστερόλης βελτιώνοντας έτσι το προφίλ των λιπιδίων (Falin 2010).

Ευεργετικές επιδράσεις της σταφίδας αναφέρονται επίσης και σχετικά με το νευρικό σύστημα. Κλινική μελέτη που έγινε σε ασθενείς που υπέστησαν εγκεφαλικό επεισόδιο, έδειξε ότι η χορήγηση μαύρης σταφίδας βελτίωσε τη σύνθεση λιπαρών οξέων στον ορό του αίματος. Η βελτίωση της σύνθεσης λιπαρών οξέων στον ορό αντισταθμίζει το φτωχό προφίλ των λιπιδίων, που συχνά προκαλεί ή συνδέεται με τις συνθήκες εγκεφαλικού επεισοδίου (Diboune 1992).

In vitro μελετες δείχνουν ότι η μαύρη σταφίδα έχει ευεργετική δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων (Boivin 2007, Olsson 2004). Συγκεκριμένα βρέθηκε ότι το εκχύλισμα σταφίδας αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των καρκίνου του παχέος εντέρου (Olsson 2004, Wu 2007, Boivin 2007), του καρκίνου του μαστού (Olsson 2004, Boivin 2007), του καρκίνου του προστάτη (Boivin 2007, Hudson 2007) και του καρκίνου του ήπατος (Bishayee 2010, Ramos 2005). Οι Boivin και συν (2007) μελέτησαν το αντικαρκινικό δυναμικό από 13 βρώσιμα είδη μούρων στην επίδραση στο στομάχι, στο παχύ έντερο στο μαστό και στον προστάτη. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μαύρη σταφίδα κατείχε τη δεύτερη καλύτερη δράση έναντι του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων. Μελέτη in vivo κατά την οποία χορηγήθηκε το έλαιο του καρπού μαύρων σταφίδων που είναι πλούσιο σε γ-λινολενικό οξύ (GLA), σε μοντέλα ποντικών, έδειξε καταστολή του μεταστατικού καρκίνου του μαστού στους πνεύμονες των ποντικών (Karmali 1993). Οι Kaliora και συν (2008), μελέτησαν την επίδραση τριών ελληνικών ποικιλιών σταφίδας Βοστίτσια, Νεμέας, Μεσσηνία και Σουλτανίνα σε κύτταρα με γαστρικό

καρκίνο, και διαπίστωσαν ότι το εκχύλισμα μεθανόλης από τις σταφίδες περιορίζει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό.

## **6. Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΟΡΙΝΘΙΑΚΗΣ ΣΤΑΦΙΔΑΣ ΣΕ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΑΣΚΗΣΗ**

Παρά το γεγονός ότι διάφορες μελέτες αποδίδουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες στη σταφίδα, τα δεδομένα σχετικά με την επίδραση της σταφίδας στην οξειδοαναγωγική κατάσταση του αίματος κατά την άσκηση είναι πολύ περιορισμένα. Από όσο γνωρίζουμε, καμία μελέτη ως τώρα δεν έχει ερευνήσει την επίδραση της οξείας χορήγησης της κορινθιακής σταφίδας στην απόκριση δεικτών οξειδωτικού στρες μετά από παρατεταμένη αερόβια άσκηση. Μόνο μία μελέτη διερεύνησε την πιθανή διαφορετική απόκριση σε δείκτες οξειδωτικού στρες μετά από άσκηση, ως αποτέλεσμα της χρόνιας χορήγησης σταφίδας (Skaranska-Stejnborn 2006).

Οι Skaranska-Stejnborn και συν (2006), εξέτασαν την επίδραση της χρόνιας χορήγησης ακατέργαστης μαύρης σταφίδας με τη μορφή εκχυλίσματος στην οξειδοαναγωγική ισορροπία του οργανισμού μετά από ένα μέγιστο τεστ κωπηλάσιας. Στη μελέτη συμμετείχαν δυο ομάδες κωπηλατών, η ομάδα του εκχυλίσματος και η ομάδα του εικονικού σκευάσματος, οι συμμετέχοντες των οποίων ελάμβαναν είτε 250 mg ακατέργαστης σταφίδας είτε το εικονικό σκεύασμα,

3 φορές την ημέρα για 6 εβδομάδες. Μέγιστη δοκιμασία κωπηλασίας 2000 m πραγματοποιήθηκε πριν από την περίοδο της χορήγησης σταφίδας και μετά την περίοδο χορήγησης των 6 εβδομάδων. Συλλογή δειγμάτων αίματος έγινε πριν από τη δοκιμασία, καθώς και 1 min και 20 h μετά το τέλος της δοκιμασίας, για την εκτίμηση της SOD, της GPx, της TAC και των TBARS. Η χορήγηση της σταφίδας οδήγησε σε χαμηλότερη δραστικότητα της SOD σε ηρεμία, και χαμηλότερη δραστικότητα της SOD και της GPx στις 24 h μετά το τέλος της δοκιμασίας σε σχέση με την ομάδα του εικονικού σκευάσματος. Επίσης, η χορήγηση σταφίδας οδήγησε σε χαμηλότερη συγκέντρωση των TBARS στις 24 h μετά την άσκηση, τόσο σε σχέση με τα επίπεδα πριν τη χορήγηση, όσο και σε σχέση με την ομάδα του εικονικού σκευάσματος. Τέλος, η χορήγηση σταφίδας οδήγησε σε υψηλότερη TAC στις 24 h σε σχέση με την ομάδα του εικονικού σκευάσματος. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν την ικανότητα της σταφίδας να αυξήσει την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού έναντι στο οξειδωτικό στρες που δημιουργείται ως αποτέλεσμα μέγιστης αερόβιας άσκησης (Skarpanka-Stejnborn 2006).

## **7. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

### **7.1. Συμμετέχοντες**

Έντεκα υγιείς καλά προπονημένοι ενήλικες άνδρες (18 – 45 ετών) συμμετείχαν στην παρούσα διασταυρούμενη, τυχαιοποιημένη μελέτη. Κριτήρια συμμετοχής αποτελούσαν α) φυσιολογικός δείκτης μάζας σώματος, β) απουσία των μυοσκελετικών τραυματισμών των κάτω άκρων, γ) απουσία κάθε μεταβολικής νόσου, δ) μη κατανάλωση φαρμάκων/συμπληρωμάτων διατροφής και ε) αερόβια ικανότητα >30ml/kg/min. Οι συμμετέχοντες έδωσαν την έγγραφη συγκατάθεσή τους να συμμετάσχουν στη μελέτη αφού ενημερώθηκαν σχετικά με όλους τους κινδύνους, δυσκολίες και οφέλη αναφορικά με τη μελέτη. Οι διαδικασίες ήταν σύμφωνες με την διακήρυξη του Ελσίνκι του 1975, όπως αναθεωρήθηκε το 2000. Η μελέτη εγκρίθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής του Τμήματος Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

### **7.2. Σχεδιασμός μελέτης**

Οι συμμετέχοντες επισκέφτηκαν το εργαστήριο τέσσερις φορές συνολικά. Κατά την πρώτη επίσκεψη, μετρήθηκε η σωματική μάζα με απόκλιση 0,05 kg (Beam Balance 710, Seca, Birmingham, United Kingdom) με τους συμμετέχοντες να είναι ντυμένοι ελαφρά και χωρίς παπούτσια. Το σωματικό ύψος μετρήθηκε με απόκλιση 0.5 εκατοστά (Stadiometer 208, Seca). Το ποσοστό σωματικού λίπους υπολογίστηκε από το πάχος 7 δερματικών πτυχών (μέσος όρος 2 μετρήσεις κάθε πτυχής), με τη χρήση δερματοπτυχόμετρου Harpenden (John Bull, St Albans, United Kingdom). Για τον υπολογισμό του σωματικού λίπους χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση του Siri. Η  $VO_{2max}$  των συμμετεχόντων εκτιμήθηκε μέσω ενός αναλυτή αερίων (CareFusion, Viasis). Τόσο το πρωτόκολλο για την εκτίμηση της  $VO_{2max}$  όσο και το πρωτόκολλο άσκησης πραγματοποιήθηκαν σε ένα κυκλοεργόμετρο (Cycloergometer, Monark 834, ERGOMED C, Sweeden). Κατά την δεύτερη επίσκεψή τους, οι συμμετέχοντες πραγματοποίησαν το πρωτόκολλο άσκησης αφού επιλέχθηκε τυχαία μία από τις τρεις πειραματικές συνθήκες (κορινθιακή σταφίδα – γλυκόζη – νερό). Κατά τη διάρκεια της τρίτης και της τέταρτης επίσκεψης τους, οι συμμετέχοντες εκτέλεσαν το ίδιο πρωτόκολλο άσκησης με μία από τις υπόλοιπες δύο συνθήκες. Μεταξύ της πρώτης, δεύτερης και τρίτης συνθήκης, μεσολαβούσε μία περίοδος έκπλυσης τριών εβδομάδων. Πριν από κάθε συνεδρία, αλλά και κατά τη διάρκεια των συνεδριών, οι συμμετέχοντες ενυδατώνονταν, καθώς κατανάλωναν 3ml/kg BΣ νερό 30 λεπτά πριν την άσκηση, ενώ 3ml/kg BΣ νερό κάθε 15 λεπτά κατά τη διάρκεια άσκησης, και 8ml/kg BΣ νερό μετά την άσκηση. Δείγματα αίματος συλλέχθηκαν πριν από την κατανάλωση υδατανθράκων ή νερού), 30 λεπτά μετά την κατανάλωση των υδατανθράκων ή του νερού (πριν από την άσκηση) και στα 30, 60, 90 λεπτά κατά τη διάρκεια της άσκησης, στο τέλος της άσκησης (μετά από την εξάντληση (TT)) και 60

λεπτά μετά το τέλος της άσκησης, για την εκτίμηση της γλουταθειόνης, της καταλάσης, της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC), των πρωτεϊνικών καρβονυλίων (PC), των ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), και του ουρικού οξέος.

### **7.3. Χορήγηση της κορινθιακής σταφίδας**

Σε όλες τις συνθήκες, η χορήγηση συμπληρώματος πραγματοποιήθηκε 30 λεπτά πριν από την άσκηση. Οι συμμετέχοντες έλαβαν οδηγίες να καταναλώσουν ολόκληρη την ποσότητα του συμπληρώματος μέσα σε χρονικό διάστημα 5 λεπτών. Η γλυκόζη χρησιμοποιήθηκε ως το συμπλήρωμα αναφοράς με το οποίο συγκρίθηκαν οι σταφίδες και το νερό. Οι συμμετέχοντες κατανάλωναν 1,5 g/kg σωματικού βάρους γλυκόζης σε υγρή μορφή (συγκέντρωση του διαλύματος γλυκόζης: 100 gr/250 mL).

Η κατανάλωση κορινθιακής σταφίδας αποτελούσε την πειραματική συνθήκη. Λαμβάνοντας υπόψη μια περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες του 55% για τις σταφίδες, οι συμμετέχοντες κατανάλωναν την ποσότητα σε σταφίδες που περιείχε ίση ποσότητα υδατανθράκων με το συμπλήρωμα της γλυκόζης συν την αντίστοιχη ποσότητα νερού (που θα λάμβαναν οι συμμετέχοντες με το διάλυμα στη συνθήκη της γλυκόζης).

Στη συνθήκη του νερού, δεν επιτρέπονταν η κατανάλωση κάθε είδους τροφίμων ή ποτών από τους συμμετέχοντες εκτός από το προβλεπόμενο νερό, που ήταν 3 ml/kg BΣ νερό 30 λεπτά πριν την άσκηση.

#### **7.4. Πρωτόκολλο εκτίμησης της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου**

Οι συμμετέχοντες πραγματοποίησαν προθέρμανση 8 λεπτών (80-100 rpm και 50 W) σε κυκλοεργόμετρο Monark (Monark, Vansbro, Σουηδία) ακολουθούμενη από 5 λεπτά διατακτικές ασκήσεις των κάτω άκρων. Στη συνέχεια, αξιολογήθηκε η αερόβια ικανότητα των συμμετεχόντων στο ίδιο κυκλοεργόμετρο. Ζητήθηκε από τους συμμετέχοντες να κάνουν ποδήλατο με σταθερή ταχύτητα στις 60-70 περιστροφές το λεπτό μέχρι την εξάντληση. Κατά την αξιολόγηση, πρόσθετο βάρος προστέθηκε ως εξής: 1 kg στο πρώτο λεπτό, 0,5 kg στο δεύτερο λεπτό και στη συνέχεια 0,5 kg κάθε 2 λεπτά. Η δοκιμασία τερματίζονταν όταν οι συμμετέχοντες δεν μπορούσαν να διατηρήσουν την προκαθορισμένη ταχύτητα. Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της αξιολόγησης, οι συμμετέχοντες είχαν συνδεθεί με έναν αναλυτή αερίων (CareFusion), για την καταγραφεί το εισπνεόμενο οξυγόνο και στον εκπνεόμενο διοξείδιο του άνθρακα, το αναπνευστικό πηλίκο, ο αριθμός των αναπνοών ανά λεπτό, ο αερισμός και η απόλυτη (L/min) και σχετική με το σωματικό βάρος κατανάλωση οξυγόνου (ml/kg/min). Επιπλέον, οι καρδιακοί παλμοί παρακολουθούνταν σε ολόκληρη τη δοκιμασία και καταγράφονταν κάθε λεπτό.

#### **7.5. Πρωτόκολλο άσκησης**

Πριν από το πρωτόκολλο άσκησης, οι συμμετέχοντες εκτελούσαν την ίδια προθέρμανση που χρησιμοποιήθηκε κατά την αξιολόγηση της  $VO_{2max}$ . Το πρωτόκολλο άσκησης αποτελούνταν από 90 λεπτά ποδηλασίας στο 70% - 75%  $VO_{2max}$ , συν μια δοκιμασία (TT) στο 95% της  $VO_{2max}$  μέχρι την εξάντληση. Κατά τα

πρώτα 5-10 λεπτά της άσκησης, οι συμμετέχοντες είχαν συνδεθεί με έναν αναλυτή αερίων (CareFusion, Viasis), μέχρι να επιτευχθεί η επιθυμητή σταθερή κατάσταση (70% - 75%  $VO_{2max}$ ), και στη συνέχεια, κάθε 15 λεπτά για να εξασφαλιστεί ότι η σταθερή κατάσταση διατηρούνταν σε όλη τη διάρκεια (90 min) της άσκησης. Ο καρδιακός παλμός επίσης καταγράφονταν κατά τη διάρκεια της άσκησης ώστε να παράσχει μια επιπλέον επιβεβαίωση της σταθερής κατάστασης.

### **7.6. Συλλογή δειγμάτων αίματος**

Δείγματα αίματος (10 mL) συλλέχθηκαν από τη βασιλική φλέβα για τη συλλογή πλάσματος και ερυθροκυτταρικού αιμολύματος σύμφωνα με προηγούμενη μελέτη (Θεοδώρου 2010). Μία ποσότητα αίματος (1.5 mL) συλλέχθηκε σε σωλήνες με EDTA για την εκτίμηση των αιματολογικών παραμέτρων. Για τον ορό, αίμα συλλέχθηκε σε σωλήνες που περιέχουν παράγοντα πήξης και μετά από την παραμονή για 20 λεπτά ώστε να πήξει, αυτό φυγοκεντρήθηκε στα 1370 x g για 10 λεπτά στους 4°C, και συλλέχθηκε ο ορός. Το πλάσμα, το ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα και ο ορός, μοιράστηκαν σε ισόποσες ποσότητες και αποθηκεύτηκαν στους -80°C, ενώ αποψύχθηκαν μόνο μία φορά πριν από τις αναλύσεις.

### **7.7. Εκτίμηση δεικτών οξειδωτικού στρες**

Οι ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), τα πρωτεϊνικά καρβονύλια (PC), η ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH), η καταλάση (CAT),



και η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC), εκτιμήθηκαν σε ένα σπεκτροφωτόμετρο (HITACHI, U-1900).

Το ουρικό οξύ εκτιμήθηκε σε βιοχημικό αναλυτή (Z 1145, Zafirooulos Diagnostica, Athens, Greece) με χημικά αντιδραστήρια του εμπορίου (Zafirooulos Diagnostica, Athens, Greece). Τα δείγματα αναλύθηκαν δύο φορές.

### **7.8. Ανάλυση διατροφής**

Από τους συμμετέχοντες ζητήθηκε να ακολουθήσουν τις διατροφικές τους συνήθειες και να καταγράφουν τη διατροφή τους για 3 ημέρες πριν από την έναρξη της πρώτης πειραματικής συνθήκης. Οι συμμετέχοντες έλαβαν ένα αντίγραφο της διατροφής τους και τους ζητήθηκε να ακολουθήσουν την ίδια ακριβώς δίαιτα τριών ημερών πριν τη δεύτερη και τρίτη πειραματική συνθήκη. Η διατροφή των συμμετεχόντων αναλύθηκε με το πρόγραμμα ScienceFit Diet 200A (Science Technologies, Athens, Greece).

## 8. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η κανονική κατανομή των δειγμάτων αναλύθηκε με το Kolmogorov-Smirnov test. Οι μεταβλητές με μη κανονική κατανομή μετατράπηκαν σε λογάριθμο όπως έχει προηγουμένως αναφερθεί (Brown 1997). Μετά την λογαριθμική μετατροπή, η κατανομή η λοξότητα των κατανομών έτεινε προς τη συμμετρία. Περιγραφική στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε για την περιγραφή των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών στις βασικές μετρήσεις.

Για να εξεταστούν τυχόν διαφορές στους δείκτες οξειδωτικού στρες μεταξύ των τριών διαφορετικών πειραματικών συνθηκών στο χρόνο, εφαρμόστηκε ανάλυση διακύμανσης 2 παραγόντων {[συνθήκη (κορινθιακή σταφίδα, γλυκόζη, νερό)] x χρόνος [πριν την κατανάλωση συμπληρώματος, 30 min μετά την κατανάλωση συμπληρώματος (πριν την άσκηση), 30 min, 60 min, 90 min κατά τη

διάρκεια της άσκησης, αμέσως μετά την εξάντληση (ΤΤ), 1 h μετά το τέλος της άσκησης]], με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις στον παράγοντα χρόνο.

Όπου υπήρξαν στατιστικά σημαντικές κύριες επιδράσεις ή αλληλεπιδράσεις μεταξύ των παραγόντων, εφαρμόστηκαν ζευγαρωτές συγκρίσεις του Sidak. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο  $p < 0.05$ . Για τις στατιστικές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS, version PASW 18.0 (SPSS Inc., Chicago, Ill.) Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τυπικό σφάλμα ( $M \pm SEM$ ).

## 9. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 9.1. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και ανάλυση διατροφής

Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και η ανάλυση της διατροφής των συμμετεχόντων παρουσιάζονται στον Πίνακα 4 και Πίνακα 5, αντίστοιχα.

**Πίνακας 4.** Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων.

| Μεταβλητή                      | Mean $\pm$ SEM  |
|--------------------------------|-----------------|
| Σωματική μάζα (kg)             | 74.2 $\pm$ 3.28 |
| Σωματικό ύψος (cm)             | 172.1 $\pm$ 2.5 |
| Ποσοστό σωματικού λίπους (%)   | 13.7 $\pm$ 1.5  |
| VO <sub>2max</sub> (ml/kg/min) | 45.5 $\pm$ 1.9  |

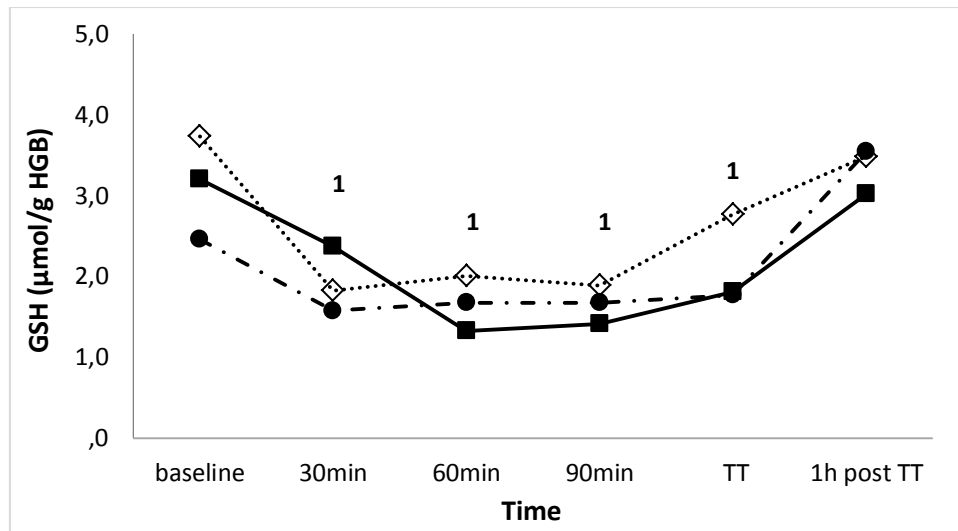
**Πίνακας 5.** Ανάλυση διατροφής των συμμετεχόντων.

| <b>Μεταβλητή</b> | <b>Mean ± SEM</b> |
|------------------|-------------------|
| Ενέργεια (Kcal)  | 1824 ± 300.8      |
| Πρωτεΐνες        | 49.2 ± 9.5        |
| Υδατάνθρακες     | 175 ± 46.3        |
| Λίπη             | 77.4 ± 26.5       |
| Βιταμίνη C       | 62.1 ± 20.6       |
| Βιταμίνη E       | 9.6 ± 3.9         |

## 9.2. Δείκτες οξειδωτικού στρες

### Γλουταθειόνη

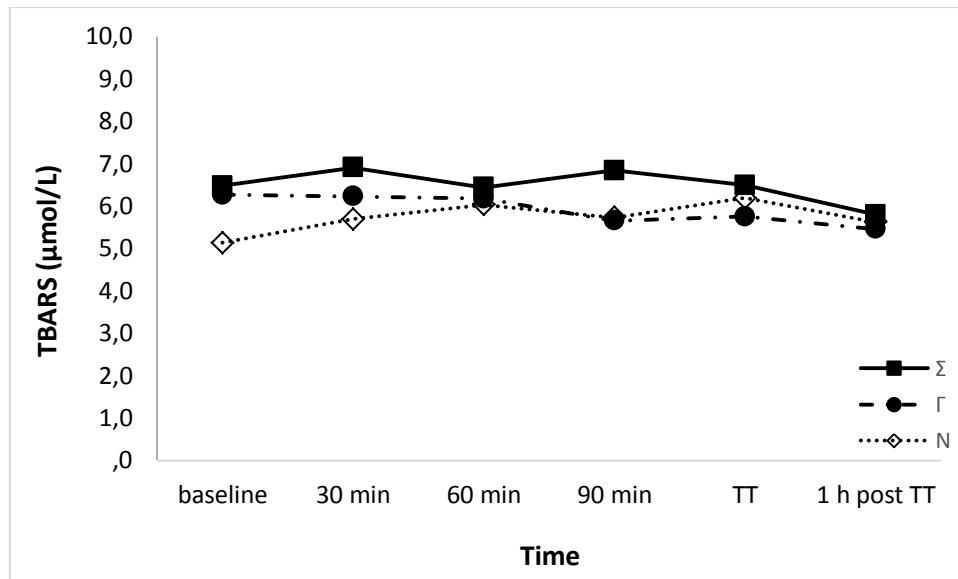
Υπήρξαν σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση της GSH ως αποτέλεσμα της άσκησης [ $F_{(2.535, 90)} = 13.465, p < .001$ ]. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα της GSH ( $\mu\text{mol/g Hb}$ ) μειώθηκαν στα 30, 60, 90 min άσκησης και μετά το ΤΤ, σε σχέση με τα πριν από την άσκηση επίπεδα, ενώ επανήλθαν στα πριν από την άσκηση επίπεδα 1 h μετά το τέλος της άσκησης (Εικόνα 1). Η χορήγηση κορινθιακής σταφίδας δεν προκάλεσε διαφορετικές αποκρίσεις στη συγκέντρωση της GSH συγκριτικά με τη γλυκόζη και το νερό σε όλη τη διάρκεια του πειράματος (Εικόνα 1).



**Εικόνα 1.**  $M \pm SEM$  GSH μετά από συμπληρωματική χορήγηση κορινθιακής σταφίδας (■), γλυκόζης (●) και νερού (◇) κατά τη διάρκεια, και μετά το τέλος παρατεταμένης άσκησης. <sup>1</sup>Σημαντική διαφορά σε σχέση με τα επίπεδα πριν την άσκηση σε όλες τις συνθήκες.

### TBARS

Η άσκηση δεν επηρέασε σημαντικά τη συγκέντρωση των TBARS [ $F_{(5, 105)} = 1.246, p > .05$ ] (Εικόνα 2). Δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές στην συγκέντρωση των TBARS ( $\mu\text{mol/L}$ ) μεταξύ της συνθήκης της κορινθιακής σταφίδας, της γλυκόζης και του νερού στις διάφορες χρονικές στιγμές μέτρησης (Εικόνα 2).

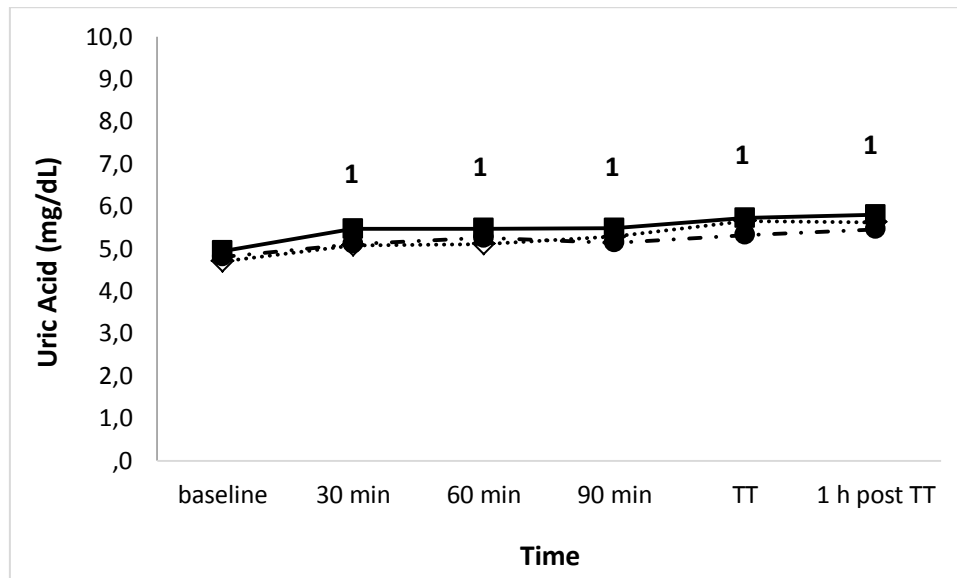


**Εικόνα 2.**  $M \pm SEM$  TBARS μετά από συμπληρωματική χορήγηση κορινθιακής σταφίδας (■), γλυκόζης (●) και νερού (◇) κατά τη διάρκεια, και μετά το τέλος παρατεταμένης άσκησης.

### Ουρικό οξύ

Υπήρξαν σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση του ουρικού οξέος ως αποτέλεσμα της άσκησης [ $F_{(2,212, 85)} = 20.429, p < .001$ ]. Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση του ουρικού οξέος (mg/dL) αυξήθηκε στα 30, 60, 90 min άσκησης και μετά το TT, και παρέμεινε σε υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με τα πριν από την άσκηση επίπεδα και για 1 h μετά το τέλος της άσκησης (Εικόνα 3). Η χορήγηση κορινθιακής σταφίδας

δεν προκάλεσε διαφορετικές αποκρίσεις στη συγκέντρωση του ουρικού οξέος συγκριτικά με τη γλυκόζη και το νερό σε όλη τη διάρκεια του πειράματος (Εικόνα 3).



**Εικόνα 3.**  $M \pm SEM$  Ουρικό οξύ μετά από συμπληρωματική χορήγηση κορινθιακής σταφίδας (■), γλυκόζης (●) και νερού (◇) κατά τη διάρκεια, και μετά το τέλος παρατεταμένης άσκησης. <sup>1</sup>Σημαντική διαφορά σε σχέση με τα επίπεδα πριν την άσκηση σε όλες τις συνθήκες.

## 10. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη, από όσο γνωρίζουμε, είναι η πρώτη μελέτη που ερευνά την επίδραση της οξείας χορήγησης υδατανθράκων με τη μορφή της Κορινθιακής σταφίδας πριν από παρατεταμένη άσκηση μέτριας έντασης, ακολουθούμενη από μέγιστη δοκιμασία μέχρι εξάντλησης, σε δείκτες οξειδωτικού στρες κατά τη διάρκεια, αλλά και μετά την άσκηση. Η επίδραση της χορήγησης υδατανθράκων με τη μορφή Κορινθιακής σταφίδας μελετήθηκε συγκριτικά με την επίδραση της

χορήγησης υδατανθράκων με τη μορφή γλυκόζης ή τη χορήγηση νερού. Από τα αποτελέσματα της μελέτης δεν προέκυψε διαφορετική απόκριση των δεικτών που μελετήθηκαν μεταξύ των τριών διαφορετικών συνθηκών. Τόσο η χορήγηση Κορινθιακής σταφίδας, όσο και η χορήγηση γλυκόζης ή νερού οδήγησαν σε παρόμοιες αλλαγές στους δείκτες οξειδωτικού στρες που μελετήθηκαν.

### ***Επίδραση της άσκησης***

Στην παρούσα μελέτη, η άσκηση οδήγησε σε μείωση των επιπέδων της GSH στα 30, 60, 90 min άσκησης, αλλά και αμέσως μετά την εξάντληση. Η GSH, επανήλθε στα επίπεδα ηρεμίας 1 h μετά το τέλος της άσκησης. Αυτό το εύρημα, συμφωνεί με τα αποτελέσματα των περισσότερων μελετών οι οποίες επίσης αναφέρουν μείωση των επιπέδων της GSH μετά από άσκηση (Nikolaidis 2006, Laaksonen 1999, Anderson 2010, Kafkas 2013, Cuevas 2005). Αυτή η μείωση στα επίπεδα της GSH μετά από οξεία άσκηση, πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι αυξάνεται η χρησιμοποίησή της για την καταπολέμηση της αυξημένης παραγωγής ελευθέρων ριζών, με αποτέλεσμα να μειώνεται η συγκέντρωσή της.

Αντίθετα με την GSH, στην παρούσα μελέτη, το ουρικό οξύ αυξήθηκε στα 30, 60, 90 min άσκησης, αλλά και αμέσως μετά την εξάντληση, και παρέμεινε σε υψηλότερα επίπεδα από αυτά της ηρεμίας και 1 h μετά το τέλος της άσκησης. Αύξηση στη συγκέντρωση του ουρικού οξέος έχει επίσης αναφερθεί μετά από έναν αγώνα μαραθωνίου και παρέμεινε αυξημένη και 24 h μετά (Rokitzki 1994). Είναι γνωστό ότι το ουρικό οξύ αποτελεί ένα από τα κυριότερα αντιοξειδωτικά του πλάσματος (Ames 1981). Επίσης, έχει βρεθεί ότι το ουρικό οξύ προστατεύει τα



ερυθροκύτταρα ενάντια στη λιπιδική υπεροξείδωση σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις (Ames 1981). Η αύξηση της συγκέντρωσης του ουρικού οξέος στην παρούσα μελέτη, αλλά και σε άλλες μελέτες, πιθανώς αποτελεί μια προστατευτική απόκριση ενάντια στην αύξηση των ελευθέρων ριζών εξαιτίας της άσκησης.

Στην παρούσα μελέτη, δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στην οξείδωση των λιπιδίων ως αποτέλεσμα της άσκησης, καθώς δεν υπήρξαν σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα των TBARS. Φαίνεται πως η αυξημένη χρησιμοποίηση της GSH, αλλά και η αναρύθμιση του ουρικού οξέος, λειτούργησαν αποτελεσματικά έναντι της παραγωγής ελευθέρων ριζών, και απέτρεψαν την οξείδωση των λιπιδίων. Παρόμοια, στη μελέτη των Bloomer και συν (2006), δεν παρατηρήθηκε αλλαγή στην οξείδωση των λιπιδίων μετά από τρέξιμο 30 min στο 80% της  $VO_{2max}$ . Τα παραπάνω αποτελέσματα, έρχονται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα άλλων μελετών στις οποίες η λιπιδική υπεροξείδωση αυξάνεται (Morillas-Ruiza 2006, Bulduk 2011, Child 1998, Simpson 2005, Laaksonen 1999), ή ακόμα και μειώνεται (Rokitzi 1994) μετά από άσκηση. Το γεγονός ότι δεν παρατηρήθηκε αλλαγή στην οξείδωση των λιπιδίων στην παρούσα μελέτη, δεν σημαίνει απαραίτητα ότι δεν υπήρξαν μεταβολές σε άλλους δείκτες οξείδωσης, όπως για παράδειγμα σε δείκτες οξείδωσης των πρωτεϊνών ή του DNA, όπως έχει συμβεί και σε προηγούμενες μελέτες (Chatzinikolaou 2014, Bloomer 2006, Escobar 2009). Δυστυχώς, στην παρούσα μελέτη, δεν εξετάστηκαν αυτοί οι δείκτες, γεγονός που αποτελεί περιορισμό της μελέτης.

### ***Επίδραση της χορήγησης Κορινθιακής σταφίδας***

Η χορήγηση κορινθιακής σταφίδας πριν από την άσκηση στην παρούσα μελέτη, δεν οδήγησε σε διαφορετικές αποκρίσεις των δεικτών οξειδωτικού στρες που μελετήθηκαν. Οι αλλαγές που παρατηρήθηκαν ως αποτέλεσμα της άσκησης στην GSH, και το ουρικό οξύ, ήταν παρόμοιες σε όλες τις συνθήκες. Δυστυχώς, δεν υπάρχουν αντίστοιχα προηγούμενα δεδομένα, ώστε να μπορούμε να συγκρίνουμε τα αποτελέσματα της μελέτης μας με τα αποτελέσματα άλλων μελετών. Το γεγονός ότι, παρά τις ενδείξεις στη βιβλιογραφία για την αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα της σταφίδας (Chiou 2007, Nielsen 2005, Young 1999), δεν υπήρξε διαφορετική απόκριση των δεικτών οξειδωτικού στρες στη συνθήκη της σταφίδας έναντι των άλλων συνθηκών, μπορεί να οφείλεται στη σχετικά μικρή ένταση της άσκησης, η οποία δεν ήταν αρκετή να οδηγήσει σε σημαντική οξείδωση των βιομορίων. Πιθανώς άσκηση μεγαλύτερης έντασης αλλά και διάρκειας, που θα οδηγούσε σε υψηλότερη παραγωγή ελευθέρων ριζών, να είχε ως αποτέλεσμα τη διαφορετική απόκριση των δεικτών που μελετήθηκαν μεταξύ των τριών διαφορετικών συνθηκών.

Αντίθετα με τα δικά μας αποτελέσματα, η μοναδική προηγούμενη μελέτη που χορήγησε σταφίδα σε μορφή εκχυλίσματος, αναφέρει χαμηλότερα επίπεδα TBARS, χαμηλότερη δραστικότητα της SOD και της GPx, και υψηλότερη TAC στις 24 h μετά το τέλος μιας μέγιστης δοκιμασίας κωπηλασίας, σε σχέση με την ομάδα του εικονικού σκευάσματος (Skarpranska-Stejnborn 2006). Σε αυτή τη μελέτη όμως, η χορήγηση του εκχυλίσματος σταφίδας ήταν χρόνια (6 εβδομάδες), σε αντίθεση με τη δική μας μελέτη όπου η χορήγηση της σταφίδας ήταν οξεία (30 min πριν την άσκηση). Επίσης, η χορήγηση της σταφίδας έγινε με τη μορφή εκχυλίσματος. Περισσότερες μελέτες χρειάζονται προκειμένου να βγουν έγκυρα συμπεράσματα

σχετικά με την επίδραση της Κορινθιακής σταφίδας σε δείκτες οξειδωτικού στρες, ως αποτέλεσμα της άσκησης.

## **11. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Η παρούσα μελέτη ήταν η πρώτη που διερεύνησε αν η χορήγηση Κορινθιακής σταφίδας θα μπορούσε να οδηγήσει σε διαφορετική απόκριση δεικτών οξειδωτικού στρες σε παρατεταμένη αερόβια άσκηση, συγκριτικά με τη χορήγηση γλυκόζης ή νερού. Η χορήγηση της Κορινθιακής σταφίδας δεν προκάλεσε διαφορετική απόκριση, καθώς οι αλλαγές στους δείκτες που μελετήθηκαν ήταν

παρόμοιες και στις τρεις συνθήκες. Πιθανώς ένα διαφορετικό πρωτόκολλο άσκησης που θα προκαλούσε μεγαλύτερη παραγωγή ελευθέρων ριζών να οδηγούσε σε διαφορετική απόκριση. Επίσης, χορήγηση της σταφίδας με διαφορετική μορφή, π.χ. σε τη μορφή εκχυλίσματος ή χυμού, να οδηγούσε σε μεγαλύτερη απορρόφηση των αντιοξειδωτικών συστατικών και κατ' επέκταση σε διαφορετική απόκριση των αντιοξειδωτικών ουσιών που μελετήθηκαν μεταξύ των τριών συνθηκών.

Η παρούσα μελέτη διερεύνησε την οξεία χορήγηση της Κορινθιακής σταφίδας σε δείκτες οξειδωτικού στρες. Τόσο η οξεία, όσο και η χρόνια χορήγηση Κορινθιακής σταφίδας δεν έχει μελετηθεί επαρκώς, επομένως μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να τις συμπεριλάβουν εξίσου, στον πειραματικό σχεδιασμό.

Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκαν τα TBARS ως δείκτες οξείδωσης των λιπιδίων. Δεν μελετήθηκαν δείκτες οξείδωσης άλλων σημαντικών βιομορίων όπως, οι πρωτεΐνες ή το DNA. Μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να εξετάσουν την επίδραση της χορήγησης Κορινθιακής σταφίδας και σε αυτούς τους δείκτες.

## 12. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aguilo, A., Tauler, P., Gimeno, I., Fuentespina, E., Pons, A., (2000). Changes in erythrocyte antioxidant enzymes during prolonged submaximal exercise. *BioFactors*, 11, 27-30.
- Aguilo, A., Tauler, P., Fuentespina, E., Tur, J. A., Cordova, A., Pons, A. (2005). Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiology & Behavior* 84: 1 –7.
- Ames, B., Cathcart, R., Schwiers, E., Hochstein, P., (1981). Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 78, (11), 6858-6862.

- Andersson, H., Karlsen, A., Blomhoff, R., Raastad, T., Kadi, F., (2010). Plasma antioxidant responses and oxidative stress following a soccer game in elite female players. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in sports*, 20, 600-608.
- Andreae, M., (2009). Value of raisins for reduction of oxidative stress, endothelial dysfunction, and inflammation in obesity. Master of Science in Human Nutrition, Foods and Exercise, Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Bacic, G., Spasojevic, I., Secerov, B., Mojovic, M., (2008). Spin-trapping of oxygen free radicals in chemical and biological systems: new traps, radicals and possibilities. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 69,(5), 1354-1366. doi: 10.1016/j.saa.2007.09.047
- Baranano, D., Rao, M., Ferris, C., Snyder, S., (2002). Biliverdin reductase: a major physiologic cytoprotectant. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99,(25), 16093-16098. doi: 10.1073/pnas.252626999
- Bartosz, G., (2003). Total antioxidant capacity. In H. Spiegel (Ed.), *Advances in clinical chemistry*, (Vol. 37). USA: Academic Press.
- Bhat, A., Dar, K., Anees, S., Zargar, M., Masood, A., Sofi, M., Ganje, S., (2015). Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases; a mechanistic insight. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 74, 101-110.
- Biemond, P., van Eijk, H., Swaak, A., & Koster, J., (1984). Iron mobilization from ferritin by superoxide derived from stimulated polymorphonuclear leukocytes. Possible mechanism in inflammation diseases. *J Clin Invest*, 73,(6), 1576-1579. doi: 10.1172/JCI111364
- Bishayee, A., Mbimba, T., Thoppil, R., Haznagy-Radnai, E., Sipos, P., Darvesh, A., Folkesson, H., Hohmann, J., (2011). Anthocyanin-rich black currant (*Ribes nigrum* L.) extract affords chemoprevention against diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinogenesis in rats. *Journal Nutrition and Biochemistry*, 22, 1035–1046.
- Bloomer, R., Goldfarb, A. H., and McKenzie, M. J. (2006). Oxidative Stress Response to Aerobic Exercise: Comparison of Antioxidant Supplements. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 10, 411-417.
- Brigelius-Flohe, R., (2006). Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors. *Biol Chem*, 387,(10-11), 1329-1335.
- Brown, S.J., Child, R.B., Day, S.H., & Donnelly, A.E. (1997). Exercise-induced skeletal muscle damage and adaptation following repeated bouts of eccentric muscle contractions. *J Sports Sci*, 15(2), 215-222. doi: 10.1080/026404197367498
- Boivin, D., Blanchette, M., Barrette, S., Moghrabi, A., Beliveau, R., (2007). Inhibition of cancer cell proliferation and suppression of TNF induced activation of NF- $\kappa$ B by edible berry juice. *Anticancer Recherche*, 27, 937–948.
- Borges, G., Degeneve, A., Mullen, W., Crozier, A., (2010). Identification of Flavonoid and Phenolic Antioxidants in Black Currants, Blueberries, Raspberries, Red

- Currants, and Cranberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 3901-3909.
- Bulduk, E., Ergene, N., Baltaci, A., Gumus, H., (2011). Plasma antioxidant responses and oxidative stress following a 20 meter shuttle run test in female volleyball players. *International journal of Human Sciences*, 8,(2), 1303-5134.
- Carr, A.C., McCall, M.R., & Frei, B. (2000). Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species: reaction pathways and antioxidant protection. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 20,(7), 1716-1723.
- Cesari, M., Pahor, M., Bartali, B., Cherubini, A., Penninx, B.W., Williams, G.R., Atkinson, H., Martin, A., Guralnik, J., Ferrucci, L., (2004). Antioxidants and physical performance in elderly persons: the Invecchiare in Chianti (InCHIANTI) study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, (2), 289-294.
- Chang, S., Alasalvar, C., Shahidi, F., (2016). Review of dried fruits: Phytochemicals, antioxidant efficacies, and health benefits. *Journal of Functional Foods*, 21, 113-132.
- Chatzinikolaou, A., Draganidis, D., Avlonitia, A., Karipidis, A., Jamurtas, A., Skevakic, C., Tsoukas, D., Sovatzidis, A., Theodorou, A., Kambas, A., Papassotiriou, I., Taxildaris, K., Fatouros I., (2014). The microcycle of inflammation and performance change after a basketball match. *Journal of Sports Sciences*, 32,(9), 870-882.
- Che, M., Wang, R., Wang, H.Y., Zheng, X., (2015). Expanding roles of superoxide dismutases in cell regulation and cancer. *Drug Discov Today*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2015.10.001>.
- Chesnokova, N., Levochkina, L., Kuznetsova, A., Zakharyan, R., (2015). The Use of Anthocyanin of Black Currant and Polysaccharides in the Production of Sweet Dishes. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 8, (2), 697-703.
- Chiou, A., Karathanos V., Mylona A., Salta F., Preventi F., (2007). Currants (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolics and antioxidant activity. *Food Chemistry* 102, 516–522.
- Chiou A., Panagopoulou, E., Gatzali, F., Marchi, S., Karathanos, V., (2014). Anthocyanins content and antioxidant capacity of Corinthian currants. *Food Chemistry*, 146, 157-165.
- Child, R., Wilkinson, D., Fallowfield, J., Donnelly, A., (1998). Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 30, (11), 1603-1607.
- Chopra M, Fitzsimons P., Strain J., Thurnham D., Howard A. (2000). Nonalcoholic Red Wine Extract and Quercetin Inhibit LDL Oxidation without Affecting Plasma Antioxidant Vitamin and Carotenoid Concentrations. *Clinical Chemistry* 46, 1162-1170.
- Clarkson, P., Thompson, H., (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *American Journal of Clinical Nutrition*, (72), 637S-646S.
- Close, G., McArdle, F., (2007). Antioxidants and Free Radicals. In D. MacLaren, *Nutrition and Sport*, 153-175.
- Cooper, C., Volvaard, N., Choueiri, T., Wilson, M., (2002). Exercise, free radicals and

- oxidative stress. *Biochemistry Society Transactions*, 30, (2), 280-285. doi: 10.1042.
- Cuevas, M., Almar, M., Garcia-Glez, J., Garcia-Lopez, D., De Paz, J., Alvear-Ordes, I., Gonzalez-Gallego, J., (2005). Changes in oxidative stress markers and NF- $\kappa$ B activation induced by sprint exercise. *Free Radical Research*, 39, (4), 431-439.
- Dalgard, C., Nielsen, F., Morrow, J., Enghusen-Poulsen, E., Jonung, T., Horder, M., De Maat, M., (2009). Supplementation with orange and blackcurrant juice, but not vitamin E, improves inflammatory markers in patients with peripheral arterial disease, *British Journal of Nutrition*, 101, 263–269.
- Das, K., Lewis-Molock, Y., White, C., (1997). Elevation of manganese superoxide dismutase gene expression by thioredoxin. *American Journal Respiration and Cell Molecular Biology*, 17,(6), 713-726.
- Deaton, C., Marlin, D., (2003). Exercise-Associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 2, (3), 278-291.
- Denicola, A., Batthya, C., Lissi, E., Freeman, B., Rubbo, H., Radi, R., (2002). Diffusion of Nitric Oxide into Low Density Lipoprotein. *The Journal of Biological Chemistry*, 277,(2), 932-936.
- Diboune, M., Ferard, G., Ingenbleek, Y., Tulasne, P., Calon, B., Hasselmann, M., Sauder, S., Spielmann, S., Metais, P., (1992). Composition of phospholipid fatty acids in red blood cellmembranes of patients in intensive care units: effects of differentintakes of soybean oil, medium-chain triglycerides, and blackcurrant seed oil. *Journal of Parenteric Enteral Nutrition*, 16, 136–141.
- Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Blrincioglu, M., & Rodriguez, H. (2002). Free-radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement *Free Radical Biology & Medicine*, 32, (11), 1102-1115.
- Elnakish, M., Hassanain, H., Janssen, P., Angelos, M., Khan, M., (2013). Emerging role of oxidative stress in metabolic syndrome and cardiovascular diseases: important role of Rac/NADPH oxidase. *Journal Pathology*, 231, 290-300.
- Escobar, M., Oliveira, M., Behr, G., Zanotto-Filho, A., Ilha, L., Cunha, G., Oliveira, A., Moreira, J., (2009). Oxidative Stress in Young Football (Soccer) Players in Intermittent High Intensity Exercise Protocol. *Journal of Exercise Physiology online*, 12, (5), 1-10.
- Evans W.J. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr*, 72(suppl):647S–52S.
- Falin, Z., Zhenyu, W., Yan, H., Tao, Z., Kang, L., (2010). Efficacy of blackcurrant oil soft capsule, a Chinese herbal drug, in hyperlipidemia treatment. *Phytothermal Research*, 24, S209–S213.
- Ghafourifar, P., Asbury, M., Joshi, S., Kincaid, E., (2005). Determination of mitochondrial nitric oxide synthase activity. *Methods in Enzymology*, 396, 424-444.
- Gomez-Cabrera, M., Borrás, C., Pallardo, F., Sastre, J., Ji, L., Vina, J., (2005). Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. *Journal of Physiology*, 567, (1), 113-120.
- Gomez-Cabrera, M., Domenech, E., Romagnoli, M., Arduini, A., Borrás, C., Pallardo, F.

- V., et al. (2008). Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87, (1), 142-149.
- Gopalan, A., Reuben, S., Ahmed, S., Darvesh, A., Hohmann, J., Bishayee, A., (2012). The health benefits of blackcurrants. *Food & Function*, 3, 795-809.
- Grune, T., Reinheckel, T., & Davies, K., (1997). Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. *FASEB Journal*, 11, (7), 526-534.
- Gutteridge, J., (1986). Iron promoters of the Fenton reaction and lipid peroxidation can be released from haemoglobin by peroxides. *FEBS Letters*, 201, (2), 291-295.
- Halliwell, B., Gutteridge, J., (2007). *Free radicals in biology and medicine*. (4th ed). Oxford University Press Inc. New York, USA.
- Halliwell, B. (2001). Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs and Aging*, 18,(9), 685-716.
- Halliwell, B., Chirico, S. (1993). Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 57, (5), 715S-724S; discussion 724S-725S.
- Halliwell, B. (2008). Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? *Arch Biochem Biophys*, 476, (2), 107-112. doi: 10.1016/j.abb.2008.01.028.
- Hearn, A., Tu, C., Nick, H., Silverman, D., (1999). Characterization of the product-inhibited complex in catalysis by human manganese superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, 274, (35), 24457-24460.
- Helbig, D., Wagner, A., Glei, M., Basu, S., Schubert, R., Jahneis, G., (2009). Blackcurrant seed press residue increases tocopherol concentrations in serum and stool whilst biomarkers in stool and urine indicate increased oxidative stress in human subjects. *British Journal of Nutrition*, 102, 554–562.
- Hellsten, Y., Frandsen, U., Orthenblad, N., Sjodin, B., Richter, E., (1997). Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise: a role in inflammation. *Journal of Physiology*, 498, (1), 239-248.
- Hessel, E., Haberland, A., Muller, M., Lerche, D., Schimke, I., (2000). Oxygen radical generation of neutrophils: a reason for oxidative stress during marathon running. *Clinica Chimica Acta*, 298, 145-156.
- Hong V, Wrolstad, R., (1990). Use of HPLC separation/photodiode array detection for Characterization of anthocyanins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 38, 708-715.
- Hollman P., Katan, M., (1999). Dietary Flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*, 37, 937-942.
- Hudson, T., Hartle, D., Hursting, S., Nunez, N., Wang, T., Young, H., Arany, P., Green, J., (2007). Inhibition of prostate cancer growth by muscadine grape skin extract and resveratrol through distinct mechanisms. *Cancer Research*, 67, 8396–8405.
- Jenner, P., (2003). Oxidative stress in Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, 53, (3), S26-36, discussion S36-28. doi: 10.1002/ana.10483.



- Ji, L., (2007). Antioxidant signaling in skeletal muscle: a brief review. *Experimental Gerontology*, 42, (7), 582-593. doi: 10.1016/j.exger.2007.03.002.
- Ji, L., (2008). Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. *Free Radical and Biological Medicine*, 44, (2), 142-152. doi: 10.1016/j.freeradbiomed. 2007.02.031.
- Ji, L., (1999). Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Experimental Biological Medicine*, 222, (3), 283-292.
- Ji, L., (1995). Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. *Free Radic Biological Medicine*, 18, (6), 1079-1086.
- Kafkas, M., Kafkas, A., Karabulut, A., Hazar, M., Savas, S., (2013). The effect of aerobic and anaerobic swimming exercise on mda, sod and gsh levels of elite swimmers. *HealthMED*, 7, (8).
- Kalafati, M., Jamurtas A. Z., Nikolaidis, M., Paschalis, G. V., Theodorou, A. A., Sakellariou, G. K., Koutedakis, Y., Kouretas, D. (2010). Ergogenic and Antioxidant Effects of Spirulina Supplementation in Humans. *Med. Sci. Sports Exerc.*, Vol. 42, No. 1, pp. 142–151.
- Kaliora, A., Kountouri, A., Karathanos, V., Koumbi, L., Papadopoulos, N., Andrikopoulos, N., (2008). Effect of Greek Raisins (*Vitis Vinifera* L.) from different origins on gastric cancer cell growth. *Nutrition and Cancer* 60, (6), 792-799.
- Kanellos, P., Kaliora, A., Tentolouris N., Argiana, V., Perrea, D., Kalogeropoulos, N., Kountouri, A., Karathanos, V., (2014). Apilot randomized controlled trial to examine the health outcomes of raisin consumption in patients with diabetes. *Nutrition*, 30, 358-364.
- Kanellos, P., Kaliora, A., Gioxari, A., Christopoulou, G., Kalogeropoulos, N., Karathanos, V., (2013). Absorption and Bioavailability of Antioxidant Phytochemicals and Increase of Serum Oxidation Resistance in Healthy Subjects Following Supplementation with Raisins. *Plant Foods Human Nutrition*, 68, 411-415.
- Karadeniz F., Durst R., Wrolstad R., (2000). Polyphenolic composition of raisins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5343–5350.
- Karmali, R., Adams, L., Trout, J., (1993). Plant and marine n-3 fatty acids inhibit experimental metastasis of rat mammary adenocarcinoma cells, Prostaglandins, Leukotrienes Essent. Fatty Acids, 48, 309–314.
- Kelebek, H., Jourdes, M., Selli, S., Teissedre, P., (2013). Comparative evaluation of the phenolic content and antioxidant capacity of sun-dried raisins. *Journal of Science and Food Agricultural*, 93, 2969-2972.
- Knott, A. B. & Bossy-Wetzel, E. (2009). Nitric Oxide in Health and Disease of the Nervous System. *Antioxid. Redox Signal.*, 11: 541–553.
- Knox, Y., Hayashi, K., Suzutani, T., Ogaswara, M., Yoshida, I., Shiina, R., Tsukui, A., Terahara, N., Azuma, M., (2001). Activity of anthocyanins from fruit extract of *Ribes nigrum* L. against influenza A and B viruses, *Acta Virologica*, 45, 209–215.
- Kojda, G., Harrison, D., (1999). Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc Res*, 43, (3), 562-571.
- Konig, D., Wagner, K., Elmadfa, I., Berg, A., (2001). Exercise and oxidative stress:

- significance of antioxidants with reference to inflammatory, muscular, and systemic stress. *Exerc Immunol Rev*, (7), 108-133.
- Körner, C., (2007). The use of "altitude" in ecological research. *Trends in Ecology & Evolution*, 22, 569–574.
- Laaksonen, D., Atalay, M., Niskanen, L., Uusitupa, M., Hanninen, O., Sen, C., (1999). Blood glutathione homeostasis as a determinant of resting and exercise-induced oxidative stress in young men. *Redox Rep.* 4 (1\_/2), 53\_/59.
- Lengsfeld, C., Deters A., Faller, G., Hensel, A., (2004). High molecular weight polysaccharides from blackcurrant seeds inhibit adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa, *Plantation Medicine*, 70, 620–626.
- Maines, M., (1988). Heme oxygenase: function, multiplicity, regulatory mechanisms, and clinical applications. *FASEB J*, 2, (10), 2557-2568.
- Malm, C., Lenkei, R., Sjodin, B., (1999). Effects of eccentric exercise on the immune system in men. *J Appl Physiol*, 86, (2), 461-468.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L., (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Americal Journal of Clinical Nutritions*, 79, (5), 727-747.
- Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., Giovannini, C., (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16, (10), 577-586.  
doi:10.1016/j.jnutbio.2005.05.013.
- Masters, C., Pegg, M., Crane, D., (1986). On the multiplicity of the enzyme catalase in mammalian liver. *Molecular Cell Biochemistry*, 70, (2), 113-120.
- McArdle, A., Vasilaki, A., Jackson, M., (2002). Exercise and skeletal muscle ageing: cellular and molecular mechanisms. *Ageing Research*, 1, (1), 79-93.
- McCord, J.M., & Fridovich, I. (1968). The reduction of cytochrome c by milk xanthine oxidase. *Journal of Biological Chemistry*, 243, (21), 5753-5760.
- Meng, J., Fang, Y., Zhang, A., Chen, S., Xu, T., Ren, Z., Han, G., Liu, J., Li, H., Zhang, Z., & Wang, H., (2011). Phenolic content and antioxidant capacity of Chinese raisins produced in Xinjiang Province. *Food Research International*, 44, 2830-2836.
- Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O., & Remacle, J. (1994). Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic Biol Med*, 17(3), 235-248.
- Mikkonen, T., Maatta, K., Hukkanen, A., Kokko, H., Torronen, A., Karenlampi, S., Karjalainen, R., (2001). Flavonol content varies among blackcurrant cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3274–3277.
- Morillas-Ruiz, J., Villegas Garcia, J., Lopez, F., Vidal-Guevara, M., Zafrilla, P. (2006). Effects of polyphenolic antioxidants on exercise-induced oxidative stress. *Clinical Nutrition*, 25, 444-453.
- Murrey, R., Granner, D., Mayes, P., Rodwell, V., (1993). *Harper's Biochemistry*: Appleton & Lange, Norwalk, Connecticut.
- Nielsen, L., Dragsted, G., Ravn-Haren, R., Freese and S. E., Rasmussen, A., (2005). Absorption and excretion of blackcurrant anthocyanins in humans and Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2813–2820.

- Nijveldt, R., van Nood, E., van Hoorn, D., Boelens, P., van Norren, K., van Leeuwen, P.,  
(2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74, (4), 418-425.
- Nikolaidis, M., Jamurtas, A., Paschalis, V., Fatouros, I., Koutedakis, Y., Kouretas, D.,  
(2008). The Effect of Muscle-Damaging Exercise on Blood and Skeletal Muscle Oxidative Stress. Magnitude and Time-Course Considerations. *Sports Med*, 38, (7), 579-606.
- Nikolaidis, M. G., Jamurtas, A. Z., Paschalis, V., Kostaropoulos, I. A., Kladi-Skandali, A., Balamitsi, V., Koutedakis, Y., and Kouretas, D. (2006). Exercise-Induced Oxidative Stress in G6PD-Deficient Individuals. *Med. Sci. Sports Exerc.*, Vol. 38, No. 8, pp. 1443–1450.
- Nikolidaki, E., Chiou, A., Christea, M., Gkegka, P., Karvelas, M., Karathanos, V., (2016).  
Sun dried Corinthian currant (*Vitis Vinifera* L., var. *Apyrena*) simple sugar profile and macronutrient characterization. *Food Chemistry*, S0308-8146(16)31695-8, FOCH20058.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.070>
- Nohynek, L., Alakomi, H., Kahkonen, M., Heinonen, M., Helander, I., Oksman-Caldentey, K., Puupponen-Pimia, R., (2006). Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. *Nutrition Cancer*, 54, 18–32.
- Olsson, M., Gustavsson, K., Andersson, S., Nilsson, A., Duan, R., (2004). Inhibition of cancer cell proliferation in vitro by fruit and berry extracts and correlations with antioxidant levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 7264–7271.
- Papadopoulou, C., Soulti, K., Roussis, I., (2005). Potential antimicrobial activity of red and white wine phenolic extracts against strains of *Taphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *Food Technology and Biotechnology*, 43, 41–46.
- Parker, T., Wang, X., Pazmino, J., Engeseth, N., (2007). Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Grapes, Sun-Dried Raisins, and Golden Raisins and Their Effect on ex Vivo Serum Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8472-8477.
- Pastore, A., Federici, G., Bertini, E., & Piemonte, F. (2003). Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin Chim Acta*, 333, (1), 19-39.
- Peake, J., Nosaka, K., & Suzuki, K. (2005). Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exercise Immunology*, 11, 64-85.
- Petrucci, V., (2001). *Raisin Grape Varieties. A treatise on raisin production, processing and marketing.* Clovis (Calif): Malcom Media Press.
- Powers, S., DeRuisseau, K., Quindry, J., Hamilton, K., (2004). Dietary antioxidants and exercise. *J Sports Sci*, 22. (1), 81-94. doi: 10.1080/0264041031000140563.
- Powers, S., Jackson, M., (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiology* 88, (4), 1243-1276.
- Powers, S., Lennon, S., (1999). Analysis of cellular responses to free radicals: focus on

- exercise and skeletal muscle. *Proceeding of the Nutrition Society*, 58, (4), 1025-1033
- Pryor, W., (2000). Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Radical of Biological Medicene*, 28, (1), 141-164.
- Puglisi, M., Vaishnav, U., Shrestha, S., Torres-Gonzalez, M., Wood, R., Volek, J., Fernandez, M., (2008). Raisins and additional walking have distinct effect on plasma lipids and inflammatory cytokines. *Lipids in Health and Disease*, 7, (14), doi: 10.1186 /1476-511X-7-14
- Pyne, D., Baker, M., Smith, J., Telford, R., Weidemann, M., (1996). Exercise and the neutrophil oxidative burst: biological and experimental variability. *Euroian Journal of Applied Physiology Occupational Physiology*, 74, (6), 564-571.
- Radovanovic, A., Radovanovic, B., Jovancevic, B., (2009). Free radical scavenging and antibacterial activities of southern Serbian red wines. *Food Chemistry*, 117, 326–331.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomedical Research International*, 761264. doi: 10.1155/2014/761264.
- Ramos, S., Alia, M., Bravo, L., Goya, L., (2005). Comparative effects of food-derived polyphenols on the viability and apoptosis of a human hepatoma cell line (HepG2). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53, 1271–1280.
- Reid, M., (2001). Invited Review: redox modulation of skeletal muscle contraction what we know and what we don't. *J Appl Physiol*, 90, (2), 724-731.
- Reid, M., Shoji, T., Moody, M., Entman, M., (1992). Reactive oxygen in skeletal muscle.  
 II. Extracellular release of free radicals. *Journal of Applied Physiology*, 73, (5), 1805-1809.
- Rodriguez-Vaquero, M., Alberto, M., Manca-de-Nadra, M., (2007). Influence of Phenolic compounds from wines on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 18, 587–593.
- Rokitzki, L., Logemann, E., Sagredos, A.N., Murphy, M., Wetzel-Roth, W., Keul, J., (1994). Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiology. Scand.* 151, 149-158.
- Rosenblat, M., Volkova, N., Attias, J., Mahamid, R., Aviram, M., (2010). Consumption of polyphenolic-rich beverages (mostly pomegranate and blackcurrant juices) by healthy subjects for a short term increased serum antioxidant status, and the serum's ability to attenuate macrophage cholesterol accumulation. *Food Function*, 1, 99–109.
- Rotava, R., Zanella, I., da Silva, L., Manfron, M., Ceron, C., Alves, S., Karkow, A., Santos, J., (2009). Antibacterial, antioxidant and tanning activity of grape by-product. *Cienc Rural*, 39, 941–944.
- Santos, J., Bergeron, V., Grenier, D., (2011). Inhibition of host and bacteria-derived proteinases by natural anthocyanins, *Journal of Periodontal Research.*, 2011, 46, 550–557.
- Sastre, J., Asensi, M., Gasgo, E., Pallardo, F., Ferrero, J., Furukawa, T., Vina, J., (1992). Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. *American Journal of Physiology* 263, R992 - R995.

- Simpson, R., Wilson, M., Black, J., Ross, J., Whyte, G., Guy, K., James, G., (2005). Immune Alterations, Lipid Peroxidation, and Muscle Damage Following a Hill Race. *Canadian Society for Exercise Physiology*, 30, (2), 196-211.
- Sivarrooban, T., Hettiarachchy, N., Johnson, M., (2008). Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. *Food Research Institute*, 41, 781–785.
- Skarpanska-Stejborn, A., Basta, P., Pilaczynska-Szczesniak, L., (2006). The influence of supplementation with the black currant (*Ribes nigrum*) extract on selected prooxidative-antioxidative balance parameters in rowers. *Studies in physical culture and tourism*, 13, 2, 66-400.
- Stocker, R., Yamamoto, Y., McDonagh, A.F., Glazer, A.N., & Ames, B.N. (1987). Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 235(4792), 1043-1046.
- Stone, D., Hawke, M., LaMonte, M., Kittner, S., Acosta, J., Corretti, M., Sample, C., Price, T., Plotnick, G., (1995). Ulcerated atherosclerotic plaques in the thoracic aorta are associated with cryptogenic stroke: a multiplane transesophageal echocardiographic study. *American Heart Journal*, 130, 105–108.
- Suzutani, T., Ogasawara, M., Yoshida, I., Azuma M., Knox, Y., (2003). Anti-herpes virus activity of an extract of *Ribes nigrum* L. *Phytotheral. Research*, 17, 609–613.
- Tabart, J., Kevers, C., Evers D., Dommès, J., (2011). Ascorbic acid, phenolic acid, flavonoid, and carotenoid profiles of selected extracts from *Ribes nigrum*, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 59, 4763–4770.
- Tahvonen, R., Schwab, U., Linderborg, K., Mykkanen, H., Kallio, H., (2005). Blackcurrant seed oil and fish oil supplements differ in their effects on fatty acid profiles on plasma lipids, and concentrations of serum total and lipoprotein lipids, plasma glucose and insulin. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 16, 353–359.
- Theodorou, A.A., Nikolaidis, M.G., Paschalis, V., Koutsias, S., Panayiotou, G., Fatouros, I.G., Koutedakis, Y., Jamurtas, A.Z. (2011). No effect of antioxidant supplementation on muscle performance and blood redox status adaptations to eccentric training. *Am J Clin Nutr*, 93(6), 1373-1383. doi: 10.3945/ajcn.110.009266
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M., Mazur, M., Telser, J., (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemical Cell Biology*, 39,(1), 44-84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001
- Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M., (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemical Biological Interaction*, 160, (1), 1-40. doi: 10.1016/j.cbi.2005.12.009.
- Vollaard, N., Shearman, J., Cooper, C., (2005). Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. *Sports Medicine*, 35,(12), 1045-1062.
- Wayner, D., Burton, G., Ingold, K., Barclay, L., Locke, S., (1987). The relative

- contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxy radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochimica et Biophysica Acta*, 924, (3), 408-419.
- Williamson, G., Carughi, A., (2010). Polyphenol content and health benefits of raisins. *Nutrition Research*, 30, 511-519.
- Wu, Q., Koponen, J., Mykkanen, H., Torronen, A., (2007). Berry phenolic extracts modulate the expression of p21WAF1 and Bax but not Bcl-2 in HT-29 colon cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 1156–1163.
- Xia, E., Deng, G., Guo, Y., Li, H., (2010). Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *Journal of Molecular Sciences*, 11, 622-646.
- Young, J., Nielsen, S., Haraldsdottir, J., Daneshvar B., Lauridsen, S., Knuthsen, P., Crozier, A., Sandstrom, B., Dragsted, L., (1999). Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 87-94.