



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
**ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ,
ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ, ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ**

ΑΛΒΑΝΟΥ ΜΑΡΙΑ



ΛΑΡΙΣΑ 2021

**ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΟΞΕΙΔΟΑΝΑΓΩΓΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΗΠΑΤΟΣ ΚΑΙ
ΜΥΟΣ (ΨΟΪΤΗΣ, ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ, ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ) ΑΙΓΟΠΡΟΒΑΤΩΝ
ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΦΥΛΩΝ, ΦΥΛΟΥ ΚΑΙ ΣΤΑΔΙΟΥ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΕ
ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΚΑΙ ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ
ΣΕΙΡΕΣ**

**STUDY OF REDOX STATUS OF LIVER AND MUSCLE TISSUES ORIGINATED
FROM SMALL RUMINANT'S OF DIFFERENT BREEDS, DEVELOPMENTAL
STAGES AND SEX IN CELL-FREE AND CANCER CELL LINES SYSTEMS**

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δημήτριος Κουρέτας (επιβλέπων): Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών - Τοξικολογίας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Αριστείδης Βεσκούκης: Επίκουρος Καθηγητής του Τμήματος Διαιτολογίας και Διατροφολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Γεώργιος Αρσένος: Καθηγητής του Τμήματος Κτηνιατρικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

«Η εργασία υλοποιήθηκε στο πλαίσιο της Δράσης ΕΡΕΥΝΩ – ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ -ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ και συγχρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση και εθνικούς πόρους μέσω του Ε.Π. Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα & Καινοτομία (ΕΠΑνΕΚ)»



ΕΠΑνΕΚ 2014–2020
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΕΠΙΧΕΙΡΗΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

GReQuM **Greek Quality Meat**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Οφείλω να ευχαριστήσω όλους τους ανθρώπους που συνέβαλαν με οποιονδήποτε τρόπο στην εκπόνηση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής, η οποία πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Πιο συγκεκριμένα, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή Δημήτριο Κουρέτα για την δυνατότητα συμμετοχής που μου παρείχε στα καινοτόμα ερευνητικά του προγράμματα ως μέλος της ομάδας του εργαστηρίου Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών αλλά και για την πολύτιμη συνεισφορά του καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας. Επίσης, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε για την ανάληψη του συγκεκριμένου θέματος.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την υποψήφια διδάκτορα Ζωή Σκαπέρδα για την καθοριστική συμβολή της στον σχεδιασμό και διεξαγωγή των πειραμάτων αλλά και για τον πολύτιμο χρόνο που αφιέρωσε για την επίλυση οποιουδήποτε πιθανού προβλήματος. Επίσης, η ψυχολογική στήριξη που μου παρείχε, οι συμβουλές αλλά και η εμπιστοσύνη που μου έδειχνε ήταν απόλυτα ωφέλιμη για την ομαλή διεξαγωγή της διατριβής μου.

Τέλος, θα ήταν παράλειψη μου αν δεν απέδιδα τις ευχαριστίες μου σε όλα τα μέλη του εργαστηρίου Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών τα οποία συνέβαλαν μεμονωμένα για την δημιουργία θετικού και εποικοδομητικού κλίματος αλλά και για το πνεύμα συνεργασίας που διακατείχε το εργαστήριο όλους αυτούς του μήνες. Πιο συγκεκριμένα θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την Ελένη, την Μαρία, τον Περικλή, τον Χρήστο και την Σωτηρίνα που μεμονωμένα συνέβαλαν στην διεξαγωγή της παρούσας διπλωματικής.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	13
ABSTRACT	15
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	17
1.1 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ	17
1.2 ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ (REACTIVE SPECIES)	19
1.2.1 ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ (REACTIVE OXYGEN SPECIES)	19
1.2.2 ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΑΖΩΤΟΥ (REACTIVE NITROGEN SPECIES RNS)	21
1.2.3 ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΘΕΙΟΥ ΚΑΙ ΧΛΩΡΙΟΥ	22
1.3 ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΜΟΡΦΩΝ ΟΞΥΓΟΝΟΥ IN VIVO	22
1.3.1 ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΠΗΓΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ	22
1.3.2 ΕΞΩΓΕΝΕΙΣ ΠΗΓΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ	25
1.4 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ	26
1.4.1 ΑΡΝΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ - ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΒΛΑΒΩΝ ΣΕ ΔΟΜΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	26
1.4.2 ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ	29
1.5 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ	30
1.5.1 ΕΝΖΥΜΙΚΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ	31
1.5.2 ΜΗ ΕΝΖΥΜΙΚΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ	34
1.6 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ	37
1.6.1 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ ΜΗΡΥΚΑΣΤΙΚΩΝ	38
1.7 ΑΙΓΟΠΡΟΒΑΤΟΤΡΟΦΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ	39
1.7.1 ΠΡΟΒΑΤΟΤΡΟΦΙΑ	40
1.7.2 ΑΙΓΟΤΡΟΦΙΑ	44
1.8 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΡΕΑΤΟΣ	48
2. ΣΚΟΠΟΣ	51
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	52
3.1 ΥΛΙΚΑ	52
3.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ	53
3.3 ΜΕΘΟΔΟΙ	54
3.3.1 ΙΣΤΟΛΗΨΙΑ	54
3.3.2 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΙΣΤΩΝ - ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΣΗ	54
3.3.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΥΝΟΛΙΚΗΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ BRADFORD	54
3.3.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ (GSH)	55
3.3.5 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ H ₂ O ₂	56
3.3.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ (TAC-TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY)	57

3.3.7	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΠΟΥ ΑΝΤΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΟ ΘΕΙΟΒΑΡΒΙΤΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ (TBARS)	59
3.3.8	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ	60
3.3.9	ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ HEPG2	62
3.3.10	ΕΠΙΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	63
3.3.11	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΜΑΤΟΣ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΧΤΤ	64
3.3.12	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ GSH ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ	65
3.3.13	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ROS ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ	66
3.3.14	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	67

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ **68**

4.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΤΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΗΠΑΤΟΣ ΚΑΙ ΜΥΟΣ (ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ, ΨΟΪΤΗΣ) ΣΕ ΑΙΓΕΣ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ **68**

4.1.1	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΑΝΗΓΜΕΝΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ (GSH) ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ	68
4.1.2	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ H ₂ O ₂ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ	69
4.1.3	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ (TAC) ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ	70
4.1.4	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ (TBARS) ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ	71
4.1.5	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ (CARBS) ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ	73

4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΤΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΗΠΑΤΟΣ ΚΑΙ ΜΥΟΣ (ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ, ΨΟΪΤΗΣ) ΣΕ ΠΡΟΒΑΤΑ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ **75**

4.2.1	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΑΝΗΓΜΕΝΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ (GSH) ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ	75
4.2.2	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ H ₂ O ₂ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ	76
4.2.3	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ (TAC) ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ	77
4.2.4	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ (TBARS) ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ	78
4.2.5	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ (CARBS) ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ	79

4.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΤΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΗΠΑΤΟΣ ΚΑΙ ΜΥΟΣ (ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ, ΨΟΪΤΗΣ) ΣΕ ΠΡΟΒΑΤΑ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ **81**

4.3.1	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΑΝΗΓΜΕΝΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ (GSH) ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ	81
4.3.2	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ H ₂ O ₂ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ	82
4.3.3	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ (TAC) ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ	83
4.3.4	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ (TBARS) ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ	85
4.3.5	ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ (CARBS) ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ	86

4.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ **88**

4.4.1	ΧΤΤ	88
-------	-----	----

4.4.2 ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΤΩΝ ΑΙΓΟΠΡΟΒΑΤΩΝ ΣΤΑ ΕΝΔΟΓΕΝΗ ΕΠΙΠΕΔΑ GSH ΚΑΙ ROS ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ HERG2 ΜΕΣΩ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑΣ ΡΟΗΣ 88

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ 90

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 101

Κατάλογος Εικόνων

ΕΙΚΟΝΑ 1. ΑΠΛΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΟΜΟΛΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΤΕΡΟΛΥΤΙΚΗΣ ΔΙΑΣΠΑΣΗΣ ΕΝΟΣ ΟΜΟΙΟΠΟΛΙΚΟΥ ΔΕΣΜΟΥ ΣΤΗΝ ΧΗΜΙΚΗ ΕΝΩΣΗ Α-Β.	17
ΕΙΚΟΝΑ 2. ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ (ΓΑΛΛΑΡΗΣ, 2015)	18
ΕΙΚΟΝΑ 3. ΤΑ ΒΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΠΟΥ ΚΑΤΑΛΥΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΟΞΕΙΔΑΣΗ ΤΗΣ ΞΑΝΘΙΝΗΣ (ΓΑΛΛΑΡΗΣ, 2015)	24
ΕΙΚΟΝΑ 4. ΕΞΩΓΕΝΕΙΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ	26
ΕΙΚΟΝΑ 5. ΑΛΥΣΙΔΩΤΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΟΙ ΟΠΟΙΕΣ ΟΔΗΓΟΥΝ ΣΤΗΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΑΚΟΡΕΣΤΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ (ΓΑΛΛΑΡΗΣ, 2015)	27
ΕΙΚΟΝΑ 6. ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΥ ΚΑΤΑΛΥΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΤΑΛΑΣΗ	31
ΕΙΚΟΝΑ 7. ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΥ ΚΑΤΑΛΥΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗ ΔΙΣΜΟΥΤΑΣΗ ΤΟΥ ΣΟΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΥ	32
ΕΙΚΟΝΑ 8. ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΥ ΚΑΤΑΛΥΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ	32
ΕΙΚΟΝΑ 9. Η ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΩΝ ΟΞΕΙΔΟΑΝΑΓΩΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΕΧΟΥΝ ΩΣ ΤΕΛΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ. ΡΡΡ=ΠΟΡΕΙΑ ΤΩΝ ΦΩΣΦΟΡΙΚΩΝ ΠΕΝΤΟΣΩΝ ΣΤΗ ΓΛΥΚΟΛΥΣΗ, ΔΡΗ= ΒΑΘΜΙΔΩΣΗ ΡΗ ΜΕΤΑΞΥ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΗΣ ΜΗΤΡΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΜΕΜΒΡΑΝΙΚΟΥ ΧΩΡΟΥ (ΓΑΛΛΑΡΗΣ, 2015)	33
ΕΙΚΟΝΑ 10. ΟΡΙΣΜΟΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ	38
ΕΙΚΟΝΑ 11. ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΑΙΓΕΙΟΥ ΚΡΕΑΤΟΣ (ΥΠ.Α.Α.Τ., 2010)	40
ΕΙΚΟΝΑ 12. ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΚΡΕΑΤΟΣ (ΥΠ.Α.Α.Τ., 2010)	40
ΕΙΚΟΝΑ 13. ΠΡΟΒΑΤΑ ΠΟΥ ΑΝΗΚΟΥΝ ΣΤΗΝ ΚΑΡΑΓΚΟΥΝΙΚΗ ΦΥΛΗ. HTTP://WWW.MINAGRIC.GR/IMAGES/STORIES/DOCS/AGROTIS/AIGOPROBATAS/FILES_AIGOPROBATON/FILI_KARAGKOUNIKI.PDF	42
ΕΙΚΟΝΑ 14. ΠΡΟΒΑΤΑ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ HTTP://WWW.MINAGRIC.GR/IMAGES/STORIES/DOCS/AGROTIS/AIGOPROBATAS/FILES_AIGOPROBATON/FILI_CHIU.PDF	43
ΕΙΚΟΝΑ 15. ΠΡΟΒΑΤΑ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΛΑΚΩΝ. HTTPS://EN.WIKIPEDIA.ORG/WIKI/ROQUEFORT	43
ΕΙΚΟΝΑ 16. ΠΡΟΒΑΤΑ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΑΣΣΑΦ. HTTPS://EN.WIKIPEDIA.ORG/WIKI/ASSAF_SHEEP	44
ΕΙΚΟΝΑ 17. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ ΑΙΓΩΝ. ΠΗΓΗ: ΚΟΥΤΣΟΥΛΗ, 2015	45
ΕΙΚΟΝΑ 18. ΑΙΓΑ ΤΗΣ ΣΚΟΠΕΛΙΤΙΚΗΣ ΦΥΛΗΣ. ΠΗΓΗ: HTTP://WWW.MINAGRIC.GR/IMAGES/STORIES/DOCS/AGROTIS/AIGOPROBATAS/FILES_AIGOPROBATON/FILI_SKOPELOU_AIGA.PDF	46
ΕΙΚΟΝΑ 19. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΣΑΑΝΕΝ. ΠΗΓΗ: HTTPS://EN.WIKIPEDIA.ORG/WIKI/SAANEN_GOAT	46
ΕΙΚΟΝΑ 20 MARZO D.D. & NICASTRO F., 2018. THE JONICA AND MALTESE GOAT BREEDS REARED IN DIFFERENT REGIONS OF ITALY. HTTPS://DOI.ORG/10.1007/978-3-319-71294-9_12	47
ΕΙΚΟΝΑ 21. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΑΛΠΙΝ. ΠΗΓΗ: HTTPS://EN.WIKIPEDIA.ORG/WIKI/ALPINE_GOAT#/MEDIA/FILE:TROUPEAU_CHEVRES_ALPINES201.JPG	47
ΕΙΚΟΝΑ 22. ΘΗΛΥΚΑ ΑΤΟΜΑ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΜΟΥΡΘΙΑΝΟ-ΓΡΑΝΑΔΙΝΑ. ΠΗΓΗ: HTTPS://LINK.SPRINGER.COM/CHAPTER/10.1007/978-3-319-71294-9_15	48
ΕΙΚΟΝΑ 23. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ (Σ.Α.: ΣΤΑΔΙΟ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ)	53
ΕΙΚΟΝΑ 24. ΕΙΚΟΝΕΣ ΑΠΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ ΗΡΡG2. ΣΤΗ ΔΕΞΙΑ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑ ΑΠΕΙΚΟΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΕ ΧΑΜΗΛΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ ΕΝΩ ΣΤΗΝ ΔΕΞΙΑ ΣΕ ΥΨΗΛΗ. ΠΗΓΗ: HTTPS://WWW.LGCSTANDARDS-ATCC.ORG/PRODUCTS/ALL/HB-8065.ASPX?GEO_COUNTRY=GR-CHARACTERISTICS	62
ΕΙΚΟΝΑ 25. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΑΝΗΓΜΕΝΗΣ GSH ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ	68
ΕΙΚΟΝΑ 26.ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΑΝΗΓΜΕΝΗΣ GSH ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ.(ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, ΞΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ)	69
ΕΙΚΟΝΑ 27. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ H ₂ O ₂ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ.	69

EΙΚΟΝΑ 28. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ Η ₂ O ₂ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ. (ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, \$ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ).	70
EΙΚΟΝΑ 29. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ (ΤΑC) ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ.	70
EΙΚΟΝΑ 30. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ (ΤΑC) ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ. (ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, \$ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ).	71
EΙΚΟΝΑ 31. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ	71
EΙΚΟΝΑ 32. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ (ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, \$ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ).	72
EΙΚΟΝΑ 33. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ	73
EΙΚΟΝΑ 34. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΑΙΓΩΝ ΤΗΣ ΕΓΧΩΡΙΑΣ ΦΥΛΗΣ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ (ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, \$ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35%).	73
EΙΚΟΝΑ 35. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΑΝΗΓΜΕΝΗΣ GSH ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ.	75
EΙΚΟΝΑ 36. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΑΝΗΓΜΕΝΗΣ GSH ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ.(ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, \$ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ).	75
EΙΚΟΝΑ 37. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ Η ₂ O ₂ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ.	76
EΙΚΟΝΑ 38. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ Η ₂ O ₂ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ. (ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, \$ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ).	76
EΙΚΟΝΑ 39. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ (ΤΑC) ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ	77
EΙΚΟΝΑ 40. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ (ΤΑC) ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ. (ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, \$ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ)	77
EΙΚΟΝΑ 41. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ.	78
EΙΚΟΝΑ 42. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ. (ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, \$ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ).	78
EΙΚΟΝΑ 43. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ	79
EΙΚΟΝΑ 44. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΤΗΣ ΦΥΛΗΣ ΧΙΟΥ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ. (ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, \$ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ)	79
EΙΚΟΝΑ 45. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΑΝΗΓΜΕΝΗΣ GSH ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ	81
EΙΚΟΝΑ 46. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΑΝΗΓΜΕΝΗΣ GSH ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ.	

(ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, ΞΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ).	82
ΕΙΚΟΝΑ 47. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ Η2Ο2 ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ.	82
ΕΙΚΟΝΑ 48. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ Η2Ο2 ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ. (ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, ΞΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ)	83
ΕΙΚΟΝΑ 49. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ (ΤΑC) ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ	83
ΕΙΚΟΝΑ 50. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ (ΤΑC) ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ. (ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, ΞΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ)	84
ΕΙΚΟΝΑ 51. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ.	85
ΕΙΚΟΝΑ 52. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ. (ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, ΞΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ).	85
ΕΙΚΟΝΑ 53. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ	86
ΕΙΚΟΝΑ 54. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΕΓΧΩΡΙΩΝ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΜΕΝΩΝ ΦΥΛΩΝ: Α)ΔΙΑΦΡΑΓΜΑ, Β)ΗΠΑΡ C) ΤΕΤΡΑΚΕΦΑΛΟΣ D) ΨΟΪΤΗΣ (ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ: *ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΘΗΛΥΚΑ, #ΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 25% ΑΡΣΕΝΙΚΑ, ΞΣΕ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΤΑ 35% ΘΗΛΥΚΑ).	86
ΕΙΚΟΝΑ 55. (Α): ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΕΝΔΟΓΕΝΟΥΣ GSH ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΜΑΤΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΙΣΤΩΝ ΑΙΓΟΠΡΟΒΑΤΩΝ ΜΕ ΧΑΜΗΛΑ ΚΑΙ ΥΨΗΛΑ ΕΠΙΠΕΔΑ GSH ΜΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΛΕΓΧΟΥ. (Β): ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΕΝΔΟΓΕΝΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ROS ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΜΑΤΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΙΣΤΩΝ ΑΙΓΟΠΡΟΒΑΤΩΝ ΜΕ ΧΑΜΗΛΑ ΚΑΙ ΥΨΗΛΑ ΕΠΙΠΕΔΑ GSH ΜΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΛΕΓΧΟΥ.	89

Κατάλογος Πινάκων

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ (REACTIVE OXYGEN SPECIES-ROS)	20
ΠΙΝΑΚΑΣ 2. ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΤΙΚΟΣ ΠΙΝΑΚΑΣ ΜΕ ΤΑ ΕΝΔΟΓΕΝΗ ΚΑΙ ΤΑ ΕΞΩΓΕΝΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	37
ΠΙΝΑΚΑΣ 3. ΑΥΤΟΧΘΟΝΕΣ ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΦΥΛΕΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ	41
ΠΙΝΑΚΑΣ 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΙΣ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ	52
ΠΙΝΑΚΑΣ 5. ΒΗΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ	56
ΠΙΝΑΚΑΣ 6. ΒΗΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ H ₂ O ₂	57
ΠΙΝΑΚΑΣ 7. ΒΗΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ	58
ΠΙΝΑΚΑΣ 8. ΒΗΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΠΟΥ ΑΝΤΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΟ ΘΕΙΟΒΑΡΒΙΤΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ	59
ΠΙΝΑΚΑΣ 9. ΒΗΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ	61
ΠΙΝΑΚΑΣ 10. ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΗ ΣΤΗΛΗ ΑΝΑΓΡΑΦΟΝΤΑΙ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΠΙΛΕΧΘΗΚΑΝ. ΣΤΗΝ ΔΕΥΤΕΡΗ ΣΤΗΛΗ ΑΝΑΓΡΑΦΟΝΤΑΙ ΟΙ ΤΙΜΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΤΟΥ ΚΑΘΕ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΤΡΙΤΗ ΣΤΗΛΗ ΟΙ ΤΙΜΕΣ GSH ΤΟΥ ΚΑΘΕ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ.	63
ΠΙΝΑΚΑΣ 11. ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΤΟΥ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΜΑΤΟΣ ΣΤΙΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ. ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΗ ΣΤΗΛΗ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ ΤΟ ΟΝΟΜΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ. ΣΤΙΣ ΕΠΟΜΕΝΕΣ ΤΡΕΙΣ ΣΤΗΛΕΣ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ Η ΠΑΡΑΤΗΡΟΥΜΕΝΗ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑ % ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΜΑΤΟΣ 3 ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ (33, 16, 8) ML/ML. ΤΑ ΚΕΛΙΑ ΜΕ ΤΟ ΠΙΟ ΣΚΟΥΡΟ ΜΠΛΕ ΥΠΟΓΡΑΜΜΙΖΟΥΝ ΤΙΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΚΑΘΕ ΟΜΟΓΕΝΟΠΟΙΗΜΑΤΟΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΑΛΛΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΑΡΑΤΗΡΟΥΜΕΝΗ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥΣ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗ ΣΕ ΠΟΣΟΣΤΟ %.	88

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μια από τις βασικές προκλήσεις της σημερινής κοινωνίας είναι η ανάπτυξη του κτηνοτροφικού τομέα μέσω την βελτίωσης των συνθηκών της εκτροφής των ζώων αλλά και της διασφάλισης παραγωγής υψηλής ποιότητας προϊόντων. Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί πως οι εντατικοί ρυθμοί ανάπτυξης των παραγωγικών ζώων έχουν οδηγήσει στην εμφάνιση αρκετών προβλημάτων σχετικών με την υγεία τους. Επομένως καθίσταται κατανοητό πως διαμέσου της συνολικής ευημερίας των ζώων μπορεί να επιτευχθεί αύξηση στην παραγωγικότητα τους, στην ποιότητα των προϊόντων και επομένως βελτίωση της εμπορικής τους αξίας αλλά και εξάλειψη των προβληματισμών που διακατέχουν τους καταναλωτές σχετικά με την ποιότητα των προϊόντων. Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω, καθίσταται σαφής η σημασία της διερεύνησης των επιπέδων του οξειδωτικού στρες στους ιστούς των παραγωγικών ζώων αλλά και η συνολική επίδραση των ομογενοποιημάτων τους στο οξειδοαναγωγικό δυναμικό καρκινικών κυττάρων HepG2. Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή αξιολογήθηκαν τα επίπεδα οξειδοαναγωγικής κατάστασης 72 αιγοπροβάτων που ανήκαν στις εξής τρεις κύριες ομάδες: εγχώρια φυλή αιγών, φυλή προβάτων Χίου, εγχώρια διασταυρωμένη φυλή προβάτων. Επιπλέον στην ανάλυση συμπεριλήφθηκαν και οι παράγοντες του σταδίου ανάπτυξης και του φύλου. Πιο αναλυτικά, μελετήθηκαν τα επίπεδα της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH), της αποικοδόμησης του H_2O_2 (CAT), της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC), των ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) και τα επίπεδα καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών (CARBS) ως δείκτες οξείδωσης λιπιδίων και πρωτεϊνών αντίστοιχα με φασματοφωτομετρικές μεθόδους. Στους ιστούς που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση συγκαταλέγονται οι εξής: ήπαρ, ψοϊτης, τετρακέφαλος και διάφραγμα. Επιπροσθέτως, με σκοπό την εκτίμηση της επίδρασης των ομογενοποιημάτων των ιστών σε καρκινικά κύτταρα HepG2 εξετάστηκε η επίδραση τους στα ενδοκυτταρικά επίπεδα των ελευθέρων ριζών ROS και της GSH με κυτταρομετρία ροής. Τα αποτελέσματα έδειξαν, αρκετές διαφορές στις διαφορετικές μεταβλητές που λήφθηκαν υπόψιν στην ανάλυση. Αξίζει να σημειωθεί πως τα επίπεδα της GSH σημείωσαν στατιστικά σημαντική μείωση στο στάδιο ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με το στάδιο ανάπτυξης 25%. Όσον αφορά τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη μελέτη του ρυθμού αποικοδόμησης του H_2O_2 φάνηκε πως και τα δύο φύλα ασκούν στατιστικά σημαντική επίδραση στα επίπεδα του δείκτη. Επιπλέον, αύξηση των επιπέδων της TAC

σημειώθηκε στα ζώα του σταδίου ανάπτυξης 35%. Επίσης, η μεταβλητή του φύλου φάνηκε να επηρεάζει στατιστικά σημαντικά τα επίπεδα του βιοδείκτη. Επιπροσθέτως, όσον αφορά τους δείκτες των TBARS και των CARBS παρατηρήθηκε πως το στάδιο ανάπτυξης των ζώων είχε στατιστικά σημαντική επίδραση στα επίπεδα τους. Τα παρατηρούμενα αποτελέσματα μπορούν να αποδοθούν στον απογαλακτισμό των ζώων που πραγματοποιείται κατά την μετάβαση των ζώων από το στάδιο 25% στο 35% και το αυξημένο οξειδωτικό στρες που βιώνουν τα ζώα τη συγκεκριμένη περίοδο. Επιπλέον, οι ορμόνες των φύλων (οιστρογόνα και τεστοστερόνη) φαίνεται να χαρακτηρίζονται από αντιοξειδωτικές ικανότητες που επιδρούν στο οξειδοαναγωγικό προφίλ των ζώων. Τέλος, τα ομογενοποιημένα των ιστών, δεν επηρέασαν στατιστικώς σημαντικά τα ενδοκυτταρικά επίπεδα της GSH ωστόσο φάνηκε να μειώνουν τα επίπεδα των ROS. Με βάση τα όσα αναφέρθηκαν, καθίσταται επιτακτική η ανάγκη περαιτέρω διερεύνησης σχετικά με τα βασικά επίπεδα οξειδοαναγωγικών ζώων και η επακόλουθη ταυτοποίηση τους ως δείκτης πρόβλεψης για την ποιότητα του κρέατος με νέες καινοτόμες μεθόδους οι οποίες αφενός θα συμβάλουν στην αύξηση της προστιθέμενης αξίας του κρέατος και αφετέρου θα πιστοποιήσουν την ευζωία των παραγωγικών ζώων αλλά και θα αποτελέσουν κίνητρο για την περαιτέρω ανάπτυξη του κτηνοτροφικού κλάδου.

ABSTRACT

One of the basic challenges of today's society is to develop the animal husbandry sector through improvements on the conditions of raising livestock but also maintaining high-quality products. In recent years, it has been observed that intense rhythms of breeding of productive animals has led to the appearance of several animal-health related issues. By supporting the overall welfare of the animals, we can achieve an increase in their productivity, an improvement in the quality of their products, and, hence, of their market value, and also eradicate problems and issues that trouble consumers regarding the quality of the products. Based on the above, studying the levels of oxidative stress in blood and tissues of production animals, as well as, researching the collective effects of their homogenised products on the redox potential of cancer cells, becomes of increasing and evident importance. This master's thesis evaluated the levels of redox status of 72 sheep and goats, belonging the following three major groups: indigenous goat breed, Chios sheep breed and a mixed sheep breed. Furthermore, the data analysis involved the factors of stage development and gender of each animal sample. Specifically, this thesis studied the levels of reduced glutathione (GSH), the decomposition hydrogen peroxide (CAT), the total antioxidant capacity (TAC), the species that react with thiobarbituric acids (TBARS) and the levels of protein carbonyls (CARBS), as indicators of lipid peroxidation and protein carbonylation respectively, using spectrophotometric methods. The tissues sampled for analysis include: liver, psoas major, quadricep and diaphragm. Additionally, in order to estimate the effects of homogenised samples of tissues on cancer cells (HepG2), the levels of free radicals (reactive oxygen species, ROS) and reduced glutathione (GSH) were measured in the cancer cells, using flow cytometry. The results of all the aforementioned studies showed statistically significant differences across the multiple variables analysed and discovered a significant reduction in GSH levels in the 35% developmental stage compared to the 25%. Regarding the results of the hydrogen peroxide decomposition, the levels of the indicator were significantly affected by the sex of the animal. Moreover, at the developmental stage of 35%, a significant increase on TAC is noted, while the variable of sex shows significant influence on the same biomarker, but with the effect of it differing across the different breeds. With regard to the biomarkers that study lipid peroxidation (TBARS) and protein carbonylation (CARBS), the deciding factor on the levels of oxidative stress damage seems to be, the developmental stage

and not the sex, whose involvement shows no statistical significance. The observed results can be justified by the process of weaning of the animals that occurs in the transition from the developmental stage of 25% to 35% and the oxidative stress the animals experience in that period. Additionally, the sex hormones (oestrogen and testosterone) showcase a range of antioxidant characteristics that could affect the redox profile of the animal. Finally, the homogenized samples of tissues have not influenced significantly the intracellular levels of GSH in cancer cells but a decrease of ROS levels has been noted. Based on the aforementioned observations, the great heterogeneity that exists in the meat that is consumed is explored and the need for further studies for determining and characterising meat is discussed. These methods should aim to increase the added nutritional value of the meat and also ensure the well-being of the production animals, becoming a central motive for further development of the livestock sector.

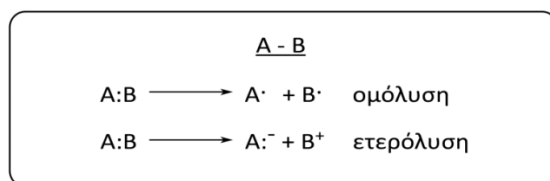
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ελεύθερες ρίζες

Ο όρος “ελεύθερη ρίζα” (Free radical) εκφράζει κάθε άτομο ή μόριο που έχει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στιβάδα. Παρόλο που η μελέτη των ελεύθερων ριζών είχε εδραιωθεί πριν από πολλά χρόνια, η σημασία τους εκτιμήθηκε σχετικά πρόσφατα μετά από την ανακάλυψη της συμμετοχής τους σε διάφορους μηχανισμούς που προκαλούν τοξικότητα αλλά και σε παθολογικές καταστάσεις (Halliwell and Gutteridge, 2007).

Αργότερα, αποδείχθηκε πως μέσω της εξέλιξης, αυτοί οι φαινομενικά τοξικοί παράγοντες έχουν αποκτήσει ρυθμιστικούς ρόλους καθώς φαίνεται να συμμετέχουν σε μονοπάτια μεταγωγής σήματος σε κυτταρικό επίπεδο ως διαμεσολαβητές (redox signaling) (Γάλαρης, 2015).

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να δημιουργηθούν είτε από οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, είτε από την ομολυτική διάσπαση ενός ομοιοπολικού δεσμού και τον επακόλουθο διαμοιρασμό του ζεύγους των ηλεκτρονίων του δεσμού (Pham-Huy et al., 2008). Η ομολυτική διάσπαση απαντάται σε πληθώρα αντιδράσεων και στην πλειοψηφία των περιπτώσεων είναι απαραίτητη η παροχή κάποιας μορφής ενέργειας (π.χ. θερμότητας ή ακτινοβολίας) (Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Απλοποιημένη απεικόνιση ομολυτικής και ετερολυτικής διάσπασης ενός ομοιοπολικού δεσμού στην χημική ένωση A-B.

Κατά κύριο λόγο, οι νεοσχηματιζόμενες ελεύθερες ρίζες είναι ιδιαίτερα δραστικές καθώς έχουν την τάση να αποσπών ηλεκτρόνια από άλλα γειτονικά μόρια με σκοπό να συμπληρώσουν το ηλεκτρονιακό τους ισοζύγιο. Ωστόσο, υπάρχουν περιπτώσεις ελευθέρων ριζών που έχουν την τάση να αντιδρούν εξειδικευμένα με κάποια μόρια στόχους αποκτώντας μεγάλη φυσιολογική σημασία (Εικόνα 2) (Γάλαρης, 2015).

HO^\bullet	Cl^\bullet	Πάρα πολύ δραστικές
R-COO^\bullet	R-CO^\bullet	Πολύ δραστικές
$\text{O}_2^{\bullet-}$	NO^\bullet	Λιγότερο δραστικές
Asc^\bullet		Σταθερές

Εικόνα 2. Παραδείγματα ελευθέρων ριζών με διαφορετικές προοξειδωτικές ικανότητες (Γάλαρης, 2015)

Ο καθηγητής H.J.H. Fenton το 1894 περιέγραψε την πρώτη γνωστή περίπτωση αντίδρασης στην οποία φαίνεται να εμπλέκονται ελεύθερες ρίζες (Fenton, 1894).

Κάποια χρόνια αργότερα, γίνεται αναφορά στο πρώτο οργανικό μόριο, την τριφαινυλομεθυλο-ελεύθερη ρίζα από τον Gomberg (Gomberg, 1900). Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να αποφέρουν καταστροφικές συνέπειες στα κύτταρα καθώς έχουν την ικανότητα αντίδρασης με το σύνολο των βασικών τους συστατικών. Οι αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών επάγουν αλυσιδωτές αντιδράσεις με αποτέλεσμα την παραγωγή νέων ελευθέρων ριζών καταλήγοντας σε ένα φαύλο κύκλο. Σε περίπτωση που δεν ανασταλούν αυτές οι αντιδράσεις, οι συνέπειες για τα συστατικά των κυττάρων θα αποβούν καταστροφικές.

Η αναστολή αυτών των αλυσιδωτών αντιδράσεων των ελευθέρων ριζών μπορεί να πραγματοποιηθεί με δύο διακριτούς τρόπους. Ο πρώτος, και εξαιρετικά σπάνιος, αφορά το σχηματισμό ενός ομοιοπολικού δεσμού από την αντίδραση δύο ελευθέρων ριζών και την συνεισφορά δύο ηλεκτρονίων ένα από κάθε μία. Ο δεύτερος τρόπος αφορά την αντίδραση της ελεύθερης ρίζας με ένα άλλο μόριο έστω Q (πχ βιταμίνη C) και ως αποτέλεσμα το σχηματισμό μιας νέας ελεύθερης ρίζας Q^\bullet . Η νεοσχηματιζόμενη ελεύθερη ρίζα ωστόσο, ανήκει στην κατηγορία των μη δραστικών ελευθέρων ριζών και συνεπώς τερματίζεται η αλυσίδα των διαδοχικών αντιδράσεων.

1.2 Δραστικές μορφές (Reactive species)

Οι δραστικές μορφές εντάσσονται σε τέσσερις επιμέρους κατηγορίες σύμφωνα με το κεντρικό τους άτομο. Πιο αναλυτικά αυτές είναι οι δραστικές μορφές οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS), οι δραστικές μορφές αζώτου (reactive nitrogen species, RNS), οι δραστικές μορφές θείου (reactive sulphur species, RSS) και οι δραστικές μορφές χλωρίου (reactive chlorine species, RCS), οι οποίες προκύπτουν από το O, το N, το S και το Cl, αντιστοίχως (Veskoukis et al., 2012).

1.2.1 Δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive oxygen species)

Ο όρος «δραστικές μορφές οξυγόνου» χρησιμοποιείται στη βιβλιογραφία για να περιγράψει ενώσεις που προκύπτουν ύστερα από αντίδραση με το μοριακό οξυγόνο (O_2) και είναι πιο δραστικές από αυτό (Halliwell, 2015). Όλες οι παραγόμενες ρίζες με κεντρικό άτομο το οξυγόνο, ανήκουν στις δραστικές μορφές οξυγόνου, αλλά δεν ισχύει απαραίτητα και το αντίστροφο. Δηλαδή Όλες δραστικές μορφές οξυγόνου δεν αποτελούν απαραίτητα και ελεύθερες ρίζες. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, παρόμοιοι όροι όπως «Δραστικές μορφές αζώτου», «δραστικές μορφές χλωρίου» και «δραστικές μορφές θείου» αναφέρονται σε αντίστοιχες δομές με κεντρικά άτομα αντί για το οξυγόνο, το άζωτο, το χλώριο και το θείο (Halliwell, 2015).

Είναι γνωστό πως το οξυγόνο που υπάρχει στην ατμόσφαιρα είναι ζωτικής σημασίας για τα έμβια όντα. Ωστόσο, παρόλο που βρίσκεται άφθονο σε όλα τα βιολογικά συστήματα, ταυτόχρονα αποτελεί και την κύρια αιτία δημιουργίας ελεύθερων ριζών σε όλες τις μορφές ζωής που το αξιοποιούν. Οι Gershman και Gilbert, το 1954, πρώτοι απέδωσαν την τοξικότητα του οξυγόνου στις ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται από αυτό.

Στα μιτοχόνδρια, κατά την οξειδωτική φωσφορυλίωση καταναλώνεται οξυγόνο. Ακόμα και κάτω υπό φυσιολογικές συνθήκες, ένα ποσοστό οξυγόνου ανάγεται και δημιουργούνται ενδιάμεσες μορφές αναγωγής του.

Συμπερασματικά λοιπόν, διάφορες παραγόμενες ενώσεις όπως είναι το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) αλλά και η ρίζα του υδροξυλίου (OH^\bullet), είναι φανερό πως προκύπτουν και από την καθημερινή κυτταρική αναπνοή.

Ωστόσο, όταν παρατηρείται αύξηση αυτών των ενδιάμεσων ενώσεων εμφανίζεται και συσχέτιση με παθολογικές καταστάσεις. Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται κάποιες από αυτές τις ενώσεις:

Πίνακας 1. Δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive oxygen species-ROS)

Ένωση	Όνομα
Ελεύθερες ρίζες	
$O_2^{\cdot-}$	Ανιόν σουπεροξειδίου
HO_2^{\cdot}	Υδροπεροξειδική ρίζα
OH^{\cdot}	Ρίζα υδροξυδίου
RO^{\cdot}	Ρίζα αλκοξειδίου
ROO^{\cdot}	Ρίζα υπεροξειδίου
Μη ελεύθερες ρίζες	
H_2O_2	Υπεροξείδιο του υδρογόνου
$ROOH$	Οργανικά υδροπεροξείδια
1O_2	Μονήρες οξυγόνο
O_3	Όζον

Όσον αφορά τη χημική δομή του οξυγόνου υπάρχει ένα παράδοξο το οποίο αναφέρεται στην ηλεκτρονιακή του δομή. Το μόριο του οξυγόνου διαθέτει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια με την ίδια στροφορμή στις εξωτερικές του υποστιβάδες. Σύμφωνα με τον ορισμό των ελεύθερων ριζών θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως διπλή ελεύθερη ρίζα. Στο χαρακτηριστικό αυτό του O_2 οφείλεται και η σχετικά μικρή οξειδωτική του ικανότητα. Αντιθέτως, στο διεγερμένο μοριακό οξυγόνο (μονήρες O_2 ή singlet O_2) τα δύο ηλεκτρόνια αρχικά αποκτούν αντιπαράλληλη στροφορμή σε διαφορετικά τροχιακά και καθιστούν το μονήρες οξυγόνο ένα εξαιρετικά δραστικό οξειδωτικό μέσο (Γάλαρης, 2015).

Η ρίζα του OH^{\cdot} πιθανώς να είναι στην πληθώρα των περιπτώσεων βλαβερή, ωστόσο άλλες (λιγότερο δραστικές) μορφές είναι χρήσιμες *in vivo*. Για παράδειγμα το ανιόν του σουπεροξειδίου $O_2^{\cdot-}$ παράγεται από τα φαγοκύτταρα και στοχεύει στην εξουδετέρωση των βακτηρίων (Halliwell, 2015). Ωστόσο εκτεταμένη παραγωγή $O_2^{\cdot-}$ *in vivo* οδηγεί στον σχηματισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου H_2O_2 . Το H_2O_2 διαθέτει πληθώρα χρήσιμων λειτουργιών όπως για παράδειγμα την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB από τον παράγοντα νέκρωσης όγκων TNF-α (Halliwell and Gutteridge, 2015) αλλά και την ενδοκυτταρική σηματοδότηση (Forman

et al., 2010; Rhee *et al.*, 2012). Το H₂O₂ είναι ασθενές οξειδωτικό μέσο ωστόσο σε συνδυασμό με ιόντα σιδήρου και χαλκού μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή πολύ δραστηκήςOH• (Halliwell, 2015).

1.2.2 Δραστικές μορφές αζώτου (Reactive Nitrogen Species RNS)

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως οι δραστικές μορφές στις οποίες συμμετέχει το άζωτο ως κεντρικό άτομο, ονομάζονται *δραστικές μορφές αζώτου*. Σε αυτές συγκαταλέγονται οι εξής ενώσεις : μονοξειδίο (NO•) και διοξειδίο του αζώτου (NO₂•) , αλλά και αζωτούχες ενώσεις που δεν είναι ελεύθερες ρίζες αλλά οξειδωτικοί παράγοντες ή μπορούν εύκολα να μετατραπούν σε ελεύθερες ρίζες, όπως το υπεροξυνιτρώδες ανιόν (ONOO⁻), το νιτρώδες/νιτρικό ανιόν και το νιτρώδες οξύ (HNO₂) (Giles *et al.*, 2017, Sies *et al.*, 2017).

Παρόλο που το NO• αποτελεί ελεύθερη ρίζα, είναι σχετικά αδρανές με δραστικότητα παρόμοια με αυτή του μοριακού οξυγόνου με τα δύο ασύζεκτα ηλεκτρόνια (Beckman and Koppenol, 1996). Το σύνολο των χαρακτηριστικών του NO• καθιστά ικανή την διάχυσή του διαμέσου των βιολογικών μεμβρανών και την αντίδραση του με συγκεκριμένα μόρια-στόχους. Ένα από τα μόρια που αντιδρά είναι και το ανιόν του σουπεροξειδίου (O₂⁻) και η αντίδραση έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ONOO⁻, το οποίο αποτελεί και τον κύριο διαμεσολαβητή της τοξικής δράσης του NO• (Szabo, Ischiropoulos *et al.*, 2007).

Στη δεκαετία του 1980 έγινε γνωστό πως το NO• αποτελεί έναν κομβικό παράγοντα καθώς εμπλέκεται στη ρύθμιση διάφορων φυσιολογικών μηχανισμών όπως η θρόμβωση, η μετάδοση νευρικών ώσεων, στην ανοσολογική απόκριση και στην πίεση του αίματος. Το αμινοξύ αργινίνη καταλύει τη σύνθεση του NO μέσω τριών διαφορετικών ισομορφών του ενζύμου “συνθάση του NO” (NOS): η πρώτη βρίσκεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα (eNOS), η δεύτερη στα νευρικά κύτταρα (nNOS) και η τρίτη παράγεται μετά την επαγωγή της από συγκεκριμένα διεγερτικά μόρια σε διάφορους ιστούς (Feng, 2012).

1.2.3. Δραστικές μορφές θείου και χλωρίου

Στις RSS συγκαταλέγονται μεταξύ άλλων η ριζά θειωλίου (RS^\bullet), τα σουλφοξειδία ($RS(O)SR'$ και $RS(O)_2SR'$), το δισουλφίδιο (RSSR), το θεινικό (σουλφενικό) οξύ (RSOH) και το θεινικό (σουλφινικό) οξύ (RSO_2H) (Giles et al., 2017).

Στις RCS εντάσσονται το άτομο του χλωρίου (Cl^\bullet), το υποχλωριώδες οξύ ($HClO$) το υποχλωριώδες ανιόν (OCl^-), και οι χλωραμίνες ($RNHCl$). Τέλος, αναφέρονται οι δραστικές μορφές καρβονυλίου (RCS) (Sies et al, 2017).

1.3 Δημιουργία δραστικών μορφών οξυγόνου in vivo

Η παραγωγή ελευθέρων ριζών στα κύτταρα αποτελεί συχνό φαινόμενο στους αερόβιους οργανισμούς. Η δημιουργία των ελευθέρων ριζών επιτυγχάνεται διαμέσου διαφόρων φυσικών και βιοχημικών διεργασιών (Γάλαρης, 2015). Η παραγωγή τους οφείλεται τόσο σε ενδογενείς όσο και σε εξωγενείς παράγοντες.

1.3.1 Ενδογενείς πηγές παραγωγής ελευθέρων ριζών

Στις ενδογενείς πηγές συγκαταλέγονται αυτές που οδηγούν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών στο εσωτερικό των κυττάρων και απελευθερώνονται εντός των κυττάρων ή στην εξωκυττάρια περιοχή. Ο ενδοκυτταρικός σχηματισμός των ελεύθερων ριζών μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω ενζυμικών και μη ενζυμικών αντιδράσεων (Pham-Huy et al., 2008).

1.3.1.1 Φαγοκύτωση και αναπνευστική έκρηξη

Ο κύριος φαγοκυτταρικός μηχανισμός του αίματος είναι τα ουδετερόφιλα. Αυτά μαζί με τα μακροφάγα και άλλα «επαγγελματικά» φαγοκύτταρα όταν διεγείρονται, πολλαπλασιάζονται και παράγουν μεγάλες ποσότητες ριζών O_2^- . Το O_2^- που παράγεται μέσω μιας διαδικασίας που καταλύεται από ένα ενζυμικό σύμπλοκο που βρίσκεται στα φαγοκύτταρα, ονομάζεται «NADPH οξειδάση» (Birben et al., 2012). Υπό φυσιολογικές συνθήκες η NADPH οξειδάση βρίσκεται στην αδρανή μορφή της και οι υπομονάδες της εντοπίζονται τόσο στο κυτταρόπλασμα όσο και στην μεμβράνη. Με την ενεργοποίηση της NADPH οξειδάσης αυξάνεται σε μεγάλο βαθμό η κατανάλωση O_2 από τα φαγοκύτταρα, φαινόμενο που ονομάζεται «αναπνευστική έκρηξη» ή

«οξειδωτική έκρηξη», αφού το οξυγόνο καταναλώνεται από ένα ενζυμικό σύστημα στην μεμβράνη που δε συσχετίζεται με την αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων. Στη συνέχεια, το O_2^- μετατρέπεται ενζυμικά (μέσω δράσης SOD) και μη σε H_2O_2 (Veskoukis et al., 2012). Ωστόσο, οι ενώσεις O_2^- και H_2O_2 δεν αποτελούν ισχυρά οξειδωτικά μόρια για αυτό και δεν μπορούν πάντα να συμβάλουν αποτελεσματικά στην καταπολέμηση των παθογόνων. Συνεπώς, εκλύονται και άλλα κυτταροπλασματικά κυστίδια στα οποία περιέχεται η αιμοπρωτεΐνη με ενζυμική δράση “μυελοπεροξειδάση” (MPO). Η MPO καταλύει την παρακάτω αντίδραση με αποτέλεσμα την παραγωγή υποχλωριώδους οξέος (Hampton, Kettle et al., 1998) :



Συμπερασματικά, τα φαγοκύτταρα σε συνδυασμό με διαφορετικά ένζυμα συμβάλουν στην άμυνα έναντι των παθογόνων, μέσω της παραγωγής ισχυρών προ-οξειδωτικών μορίων (Γάλαρης, 2015).

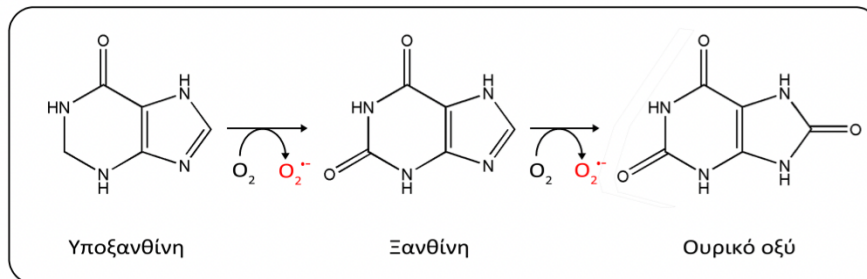
1.3.1.2 Μιτοχόνδρια και αναπνευστική αλυσίδα

Τα μιτοχόνδρια αποτελούν τα εργοστάσια παραγωγής ενέργειας των κυττάρων καθώς είναι το σημείο όπου η παραγόμενη ενέργεια από τα ηλεκτρόνια της αναπνευστικής αλυσίδας μετατρέπεται σε ATP. Ωστόσο, αποτελούν μία από τις κυριότερες πηγές παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου καθώς από την ροή των ηλεκτρονίων διαφεύγουν ηλεκτρόνια τα οποία μεταφέρονται απευθείας στο οξυγόνο και παράγεται O_2^- αλλά και H_2O_2 (Halliwell, 2015; Cadenas and Davies, 2000; Chance et al., 1979).

Αν και τα ακριβή σημεία διαφυγής των ηλεκτρονίων δεν είναι γνωστά, στην πληθώρα των περιπτώσεων φαίνεται να οφείλεται στις φλαβοπρωτεΐνες του συμπλόκου I, στην ελεύθερη ρίζα του συνενζύμου Q και στο σύμπλοκο III (Glasauer & Chandel, 2013). Αξίζει αν σημειωθεί πως το παραγόμενο O_2^- και H_2O_2 επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τις φυσιολογικές λειτουργίες των κυττάρων (Cadenas and Davies, 2000).

1.3.1.3 Οξειδάση της ξανθίνης

Το ένζυμο οξειδάση της ξανθίνης καταλύει την οξείδωση τόσο της υποξανθίνης όσο και της ξανθίνης σε ουρικό οξύ. Η παραπάνω αντίδραση οδηγεί στην ταυτόχρονη παραγωγή O_2^- και H_2O_2 μέσω της αναγωγής του O_2 (Εικόνα 4).



Εικόνα 3. Τα βήματα της αντίδρασης που καταλύονται από την οξειδάση της ξανθίνης (Γάλαρης, 2015)

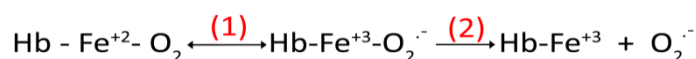
Ωστόσο κάτω από φυσιολογικές συνθήκες οι παραπάνω αντιδράσεις καταλύονται από την αφυδρογονάση της ξανθίνης η οποία ανάγει το NAD^+ σε $NADH$. Συνεπώς, υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν παρατηρείται *in vivo* παραγωγή O_2^- από την οξειδάση της ξανθίνης. Σε περιπτώσεις τραυματισμού των ιστών ή κατά τη διάρκεια έντονης άσκησης, όπως για παράδειγμα κατά την επαναιμάτωση μετά από μια περίοδο ισχαιμίας, είναι δυνατόν να προκαλείται η μετατροπή της αφυδρογονάσης της ξανθίνης σε οξειδάση της ξανθίνης με αποτέλεσμα τη δημιουργία O_2^- .

1.3.1.4 Υπεροξειδισώματα

Έχει παρατηρηθεί πως και τα υπεροξειδισώματα συμβάλουν καταλυτικά στην παραγωγή και στην απομάκρυνση των ελευθέρων ριζών (Bonekamp et al., 2009). Στα υπεροξειδισώματα συναντώνται εδράζονται ένζυμα, οι οξειδάσες που συνεισφέρουν στην αποικοδόμηση κάποιων υποστρωμάτων. Τέτοια υποστρώματα είναι οι πουρίνες, τα λιπαρά οξέα, τα d-αμινοξέα και το ουρικό οξύ που καταλύονται από την οξειδάση της ξανθίνης, την οξειδάση του ακετυλοσυνενζύμου A, την οξειδάση των d-αμινοξέων και την ουρική οξειδάση. Όλες οι παραπάνω αντιδράσεις συμβάλουν στην παραγωγή H_2O_2 . Στη συνέχεια μέσω της καταλάσης το H_2O_2 ανάγεται σε H_2O και O_2 . (Angermüller et al., 2009).

1.3.1.5 Αιμοσφαιρίνη

Η αιμοσφαιρίνη φαίνεται να υφίσταται οξείδωση καθημερινά σε ποσοστό που φτάνει το 3%. Ο μηχανισμός οξείδωσης απεικονίζεται παρακάτω:



1.3.1.6 Αντιδράσεις αυτό-οξειδωσης

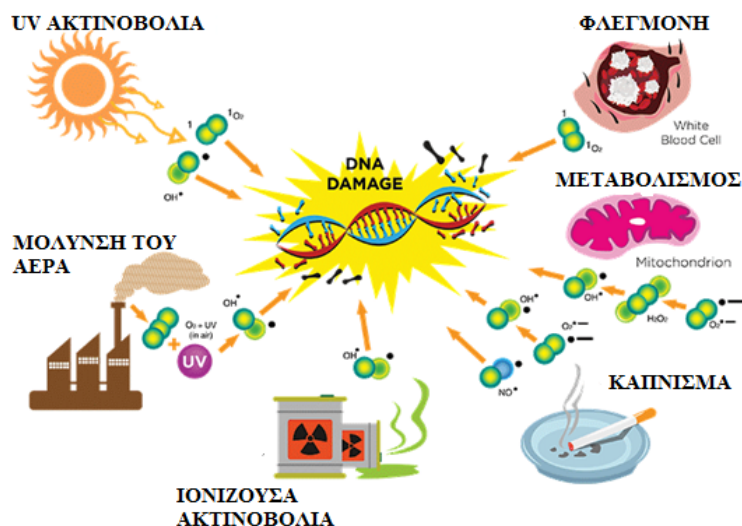
Αρκετά μόρια που έχουν σημαντικούς βιολογικούς ρόλους, έχουν την ικανότητα αυτοοξειδωσης σχηματίζοντας $\text{O}_2 \cdot^-$. Τέτοια μόρια είναι οι τετραϋδροπτερίνες, οι θειολικές ενώσεις (περιέχουν μια $-\text{SH}$ ομάδα), ο νευροδιαβιβαστής ντοπαμίνη, οι ορμόνες αδρεναλίνη, νοραδρεναλίνη και L-DOPA (διυδροξυφαινυλαλανίνη), οι ανηγμένες φλαβοενώσεις (FMNH_2 και FADH_2) και πολλές άλλες. Στη συνέχεια, το $\text{O}_2 \cdot^-$ που παράγεται συνεισφέρει στην περαιτέρω οξειδωση των προαναφερόμενων μορίων με έναν καταρράκτη πολύπλοκων και αγνώστων αντιδράσεων. Οι αντιδράσεις αυτές ευνοούνται παρουσία ιόντων μετάλλων μετάπτωσης, κυρίως σιδήρου, ενώ είναι πολύ πιθανόν όλες οι αντιδράσεις αυτό-οξειδωσης να απαιτούν την ύπαρξη ιόντων μετάλλων μετάπτωσης. (Γάλαρης, 2015).

1.3.1.7 Ενζυμικό σύστημα του κυτόχρωματος P450

Έχει παρατηρηθεί πως από τα ένζυμα του κυτόχρωματος P-450 μπορούν να προκύψουν ρίζες $\text{O}_2 \cdot^-$. Οι ρίζες $\text{O}_2 \cdot^-$ προέρχονται από το μοριακό οξυγόνο κατά την πρόσληψη ενός ηλεκτρονίου από το κυτόχρωμα P-450 και με την πρόσληψη ενός ηλεκτρονίου από τη νευρωνική συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου (nNOS) ή την ενδοθηλιακή συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου (eNOS) (Fang et al., 2002).

1.3.2 Εξωγενείς πηγές παραγωγής ελευθέρων ριζών

Εξωγενείς πηγές ελευθέρων ριζών μπορούν να αποτελέσουν οι περιβαλλοντικοί ρύποι, τα βαρέα μέταλλα (Cd, Hg, Pb, Fe και As), συγκεκριμένα φαρμακευτικά σκευάσματα (κυκλοσπορίνη, τακρόλιμους, γενταμυκίνη, μπλεομυκίνη) και χημικοί διαλύτες. Επίσης, κάποιες τεχνικές μαγειρέματος (καπνιστό κρέας, χρησιμοποιημένο λάδι, λίπος), ο καπνός που προέρχεται από το τσιγάρο, οι υπερϊώδεις και ιονίζουσες ακτινοβολίες αλλά και η κατανάλωση αλκοόλ αποτελούν σημαντικές πηγές παραγωγής ελευθέρων ριζών. Κατά την είσοδο τους στον οργανισμό οι παραπάνω ενώσεις μπορούν να αποικοδομηθούν ή να μεταβολιστούν με αποτέλεσμα την παραγωγή ελευθέρων ριζών (Pizzino et al., 2017) (Εικόνα 5).



Εικόνα 4. Εξωγενείς παράγοντες παραγωγής ελευθέρων ριζών

1.4 Βιολογική δράση ελευθέρων ριζών

1.4.1 Αρνητικές επιδράσεις - Μοριακοί μηχανισμοί πρόκλησης βλαβών σε δομικά κυτταρικά συστατικά

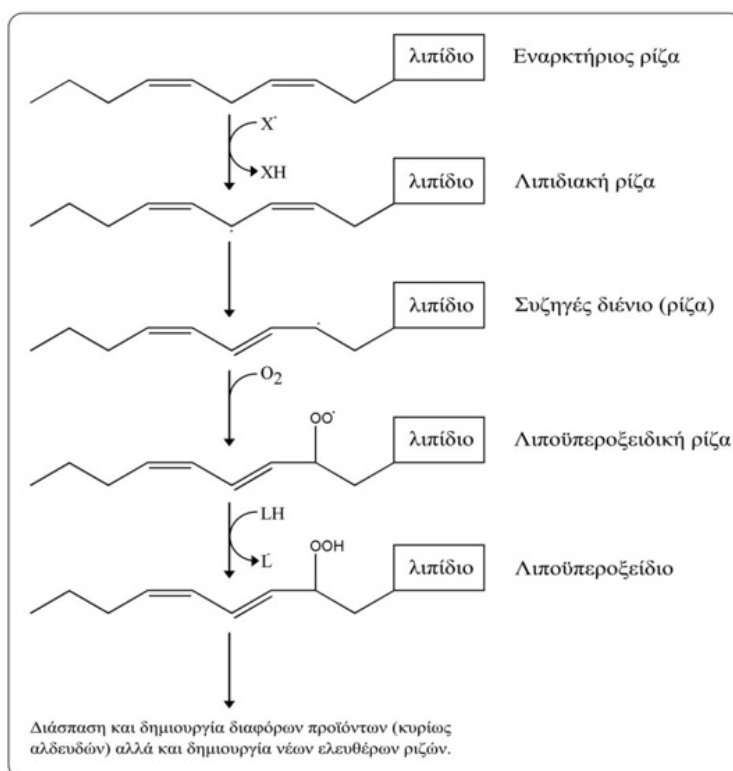
1.4.1.1 Υπεροξειδωση των λιπιδίων

Ο μηχανισμός αντίδρασης των ελευθέρων ριζών με τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) έχει μελετηθεί εκτενώς. Λιπιδική υπεροξειδωση ονομάζεται η διαδικασία κατά την οποία τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα συνδέονται με τα φωσφολιπίδια των μεμβρανών και των λιποπρωτεϊνών και πραγματοποιείται όταν οι μηχανισμοί άμυνας των κυττάρων δεν είναι πλέον αποτελεσματικοί. Το παραπάνω φαινόμενο οδηγεί στην παραγωγή ελευθέρων ριζών (Γάλαρης, 2015).

Συνήθως, η υπεροξειδωση προκύπτει όταν μια οποιαδήποτε ελεύθερη ρίζα, είναι τόσο δραστική, που οδηγεί στην απόσπαση ενός ατόμου υδρογόνου ($H\cdot$) από μια μεθυλομάδα. Αποτελεσματικά, δημιουργείται μια λιπιδική ελεύθερη ρίζα άνθρακα ($L\cdot$).

Η παραγόμενη ρίζα ανασυνδυάζεται τάχιστα με ηλεκτρόνια από γειτονικούς διπλούς δεσμούς, γεγονός που συμβάλει στη δημιουργία μιας νέας ελεύθερης ρίζας. Το φαινόμενο επαναλαμβάνεται και ως συνέπεια παρατηρείται συσσώρευση των υπεροξειδίων των λιπαρών οξέων που διασπώνται και διαιωρίζουν την επέκταση των

αλυσιδωτών αντιδράσεων. Σε περίπτωση που ο τερματισμός των αλυσιδωτών αντιδράσεων δεν πραγματοποιηθεί έγκαιρα η οξειδωση των μεμβρανών είναι ολοκληρωτική και ο θάνατος των κυττάρων αναπόφευκτο γεγονός (Εικόνα 6) (Γάλαρης, 2015).



Εικόνα 5. Αλυσιδωτές αντιδράσεις οι οποίες οδηγούν στην υπεροξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Γάλαρης, 2015)

Μέσα σε ένα γενικότερο πλαίσιο, η υπεροξειδωση των λιπιδίων συμβάλει στη μειωμένη ρευστότητα και αυξημένη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης σε μόρια όπως το Ca^{2+} και τα H^+ . Επιπλέον οδηγεί σε απενεργοποίηση μεμβρανικών ενζύμων. Η βιταμίνη E αποτελεί τον κυριότερο παράγοντα που αναστέλλει την λιπιδική υπεροξειδωση και ανήκει σε μία ευρύτερη κατηγορία παρόμοιων ενώσεων που ονομάζονται τοκοφερόλες (Γάλαρης, 2015).

Από τις αντιδράσεις των ROS με τα λιπίδια των μεμβρανών αρχικά σχηματίζονται τα λιπιδικά υδροϋπεροξειδία (LOOH). Αυτά έχουν την δυνατότητα να αποσυντεθούν σε αλδεϋδες, όπως η μηλονική διαλδεϋδη (MDA) και η 4-υδροξυενενάλη (4-HNE), ή να σχηματίσουν κυκλικό ενδοπεροξειδίο, ισοπροστάνια και υδρογονάνθρακες (Kunwar & Priyadarsini, 2011). Η MDA έχει παρατηρηθεί πως αποτελεί το πιο μεταλλαξιγόνο

προϊόν της υπεροξειδωσής των λιπιδίων, σε σύγκριση με την 4-HNE που αποτελεί το πιο τοξικό (Ayala et al., 2014).

1.4.1.2 Πρόκληση βλαβών στα νουκλεϊκά οξέα

Το DNA και το RNA είναι αρκετά επιρρεπή απέναντι σε οξειδωτικές βλάβες και μπορεί να οδηγήσουν σε επιπλοκές στην αντιγραφή και την μετάφραση και ως συνέπεια να υπάρχουν δυσλειτουργίες στην έκφραση των πρωτεϊνών. Επιπροσθέτως, οι μεταλλάξεις που ενδέχεται να προκύψουν από το οξειδωτικό στρες μπορεί να συμβάλουν στην εκδήλωση παθολογικών καταστάσεων και να οδηγήσουν ακόμα και στην απόπτωση των κυττάρων. Με βάση τα πειραματικά δεδομένα το κύριο αίτιο πρόκλησης οξειδωτικών βλαβών στο DNA είναι η ρίζα του υδροξυλίου. Στις βλάβες που μπορεί να προκληθούν στο DNA συγκαταλέγονται η μονόκλωνη ή και δίκλωνη ρήξη της διπλής έλικας, τροποποιήσεις και απαλοιφές στις βάσεις του DNA αλλά και δυσλειτουργίες στο μηχανισμό επιδιόρθωσης του DNA (Kryston et al., 2011; Kohen & Nyska, 2002; Cooke et al., 2006).

Πρακτικά είναι εφικτή η οξειδωτική τροποποίηση του συνόλου των βάσεων του DNA ωστόσο έχει παρατηρηθεί πως περισσότερο ευαίσθητες είναι η κυτοσίνη και ιδιαίτερα η θυμίνη. Ωστόσο, υπάρχουν επιδιορθωτικοί μηχανισμοί που συμβάλουν στην αντικατάσταση των οξειδωμένων βάσεων του DNA από μη οξειδωμένες (π.χ. το ένζυμο MTH1 που υδρολύει τις οξειδωμένες πουρίνες αποτρέποντας την ενσωμάτωσή τους στο DNA) (Rudling et al., 2017).

1.4.1.3 Πρόκληση βλαβών στις πρωτεΐνες

Οι ελεύθερες ρίζες έχουν αρνητική επίδραση στις πρωτεΐνες και τα αμινοξέα καθώς μέσω της οξείδωσής τους οδηγούν στη δημιουργία πρωτεϊνικών καρβονυλίων και οξειδωμένων αμινοξέων. Τα πρωτεϊνικά καρβονύλια και τα οξειδωμένα αμινοξέα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση του οξειδωτικού στρες αλλά και του κατακερματισμού των πρωτεϊνών. Υπάρχουν αμινοξέα που είναι επιρρεπή στη δράση των ελευθέρων ριζών με αποτέλεσμα την παραγωγή αλδεϋδικών και κετονικών ομάδων στα μόρια τους. Σε αυτά τα αμινοξέα ανήκουν η λυσίνη, η ιστιδίνη, η προλίνη και η αργινίνη. Όταν η καρβονυλίωση δεν πραγματοποιηθεί σε πολύ μεγάλο βαθμό παραμένει αναστρέψιμη. Ωστόσο, σε πληθώρα περιπτώσεων έχει παρατηρηθεί πως οι ROS αποτρέπουν το αναστρέψιμο μονοπάτι (Szweida et al., 2002). Οι θειολικές ομάδες

του κατάλοιπου της κυστεΐνης μπορούν να οξειδωθούν σε εξαιρετικά δραστικά μόρια και να οδηγήσουν στη δημιουργία σουλφο-υπεροξειδικών ριζών (SOO.) και δισουλφιδικών δεσμών (R-S-S-R') που στην συνέχεια έχουν την ικανότητα αντίδρασης με τη θειολική ομάδα της γλουταθειόνης.

Όπως γίνεται αντιληπτό, οι αλλαγές που πραγματοποιούνται μέσω της οξείδωσης των πρωτεϊνών οδηγεί σε τροποποιήσεις στη διαμόρφωση τους αλλά και της λειτουργίας τους. Εφόσον οι υποδοχείς, τα αντισώματα και τα ένζυμα αποτελούν πρωτεϊνικά μόρια οι βιολογικές επιπτώσεις είναι πολύ δυσμενείς (Halliwell & Gutteridge 2007).

1.4.2 Θετικές επιδράσεις ελευθέρων ριζών

Όταν διατηρούνται σε χαμηλές ή μέτριες συγκεντρώσεις, οι ελεύθερες ρίζες συμβάλουν σημαντικά στην ομοιόσταση του οργανισμού. Για παράδειγμα, είναι απαραίτητες για τη σύνθεση κυτταρικών δομών αλλά και για την άμυνα του οργανισμού ενάντια στα παθογόνα (Pizzino et al., 2017). Πιο συγκεκριμένα, τα φαγοκύτταρα συνθέτουν και αποθηκεύουν ελεύθερες ρίζες με σκοπό την απελευθέρωση τους για την καταστροφή των παθογόνων (Droge, 2002; Young & Woodside, 2001). Επιπλέον ο καθοριστικός ρόλος των δραστικών μορφών οξυγόνου έχει μελετηθεί σε ασθενής με χρόνια κοκκιωματώδη νόσο, οι οποίοι αδυνατούν να συνθέσουν $O_2^{\bullet-}$ και είναι επιρρεπής σε πολλές λοιμώξεις (Valko et al., 2007; Droge, 2002). Επίσης, οι ελεύθερες ρίζες εμπλέκονται σε μια πληθώρα σηματοδοτικών μονοπατιών. Η πιο γνωστή ένωση που ανήκει στις ελεύθερες ρίζες και συμπεριφέρεται ως σηματοδοτικό μόριο είναι το NO (Pacher et al., 2007; Genestra, 2007; Halliwell, 2007). Τέλος, ακόμα μια φυσιολογική δραστηριότητα των ελευθέρων ριζών είναι η εμπλοκή τους στην επαγωγή της μίτωσης (Pizzino et al., 2017).

1.5 Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί

Ως αντιοξειδωτικό ορίζεται κάθε ουσία που καθυστερεί, προλαμβάνει ή απομακρύνει την οξειδωτική βλάβη σε/από ένα μόριο - στόχο (Gutteridge & Halliwell, 2010). Ο ρόλος τους είναι η εξουδετέρωση της περίσσειας των ελευθέρων ριζών, η προστασία των κυττάρων από τις τοξικές επιδράσεις των ελευθέρων ριζών, καθώς και η πρόληψη των ασθενειών (Sailaja Rao et al., 2011).

Τα αντιοξειδωτικά διαχωρίζονται σε δυο κύριες κατηγορίες, τα ενζυμικά και τα μη ενζυμικά. Στα αντιοξειδωτικά της πρώτης αμυντικής γραμμής εναντίον του οξειδωτικού στρες ανήκουν οι οικογένειες της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx), της καταλάσης (CAT) και της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD). Στα αντιοξειδωτικά της δεύτερης αμυντικής γραμμής συγκαταλέγονται η αναγωγή της γλουταθειόνης (GR) και την αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης (G6PD), τα οποία δεν αντιδρούν άμεσα με τις ελεύθερες ρίζες αλλά υποστηρίζουν τα αντιοξειδωτικά της πρώτης αμυντικής γραμμής (Shebis et al., 2013).

Επιπλέον η ταξινόμηση των αντιοξειδωτικών πραγματοποιείται μέσω της πηγής προέλευσης τους. Πιο αναλυτικά διαχωρίζονται σε εξωγενή και ενδογενή. Στα εξωγενή που προσλαμβάνονται μέσω της τροφής συγκαταλέγονται οι φαινόλες, τα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή, τις βιταμίνες, τα καροτενοειδή και τα μεταλλικά στοιχεία (He et al., 2017). Στα ενδογενή συμπεριλαμβάνονται τα ένζυμα, τα μόρια χαμηλού μοριακού βάρους και οι συμπράγοντες ενζύμων. Πιο αναλυτικά, στα ενδογενή συγκαταλέγονται η γλουταθειόνη (GSH), η θειορεδοξίνη (Trx), η γλουταρεδοξίνη (Grx), το λιποϊκό οξύ, η μελατονίνη, το συνένζυμο Q10 (CoQ), το ουρικό οξύ, η χολερυθρίνη και οι μεταλλικές χηλικές πρωτεΐνες και η παραγωγή τους πραγματοποιείται μέσω ενδογενών μεταβολικών οδών. (Ratnam et al., 2006). Τέλος, ένας ακόμη τρόπος κατηγοριοποίησης των αντιοξειδωτικών που αναφέρεται στην βιβλιογραφία είναι σύμφωνα με τον μηχανισμό δράσης τους, σε πρωτογενή και σε δευτερογενή. Οι λειτουργίες των πρωτογενών αφορούν την εκκαθάριση των ελευθέρων ριζών, τη διακοπή των αλυσιδωτών αντιδράσεων και την αντίδραση με τις λιπιδικές ρίζες (Hamid et al., 2010). Οι λειτουργίες των δευτερογενών μηχανισμών αφορούν την αναγέννηση των πρωτογενών αντιοξειδωτικών και την απομάκρυνση του μονήρους οξυγόνου, την απενεργοποίηση των μετάλλων και την αναστολή των λιπιδικών υδροϋπεροξειδίων (Francenia Santos-Sánchez et al., 2019).

1.5.1 Ενζυμικοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί

1.5.1.1 Καταλάση (CAT)

Το ένζυμο καταλάση καταλύει την παρακάτω αντίδραση και έχει βρεθεί στην πλειοψηφία των αερόβιων οργανισμών:



Εικόνα 6. Αντίδραση που καταλύεται από την καταλάση

Στα ζώα κατά κύριο λόγο υπάρχει σε υψηλότερη συγκέντρωση στο ήπαρ και στα ερυθροκύτταρα. Στον εγκέφαλο, στην καρδιά και στους μύες η συγκέντρωση είναι χαμηλότερη (Azat Aziz et al., 2019). Συνήθως απαντάται στα υπεροξυσώματα και ο ρόλος της είναι η διάσπαση του H_2O_2 που παράγεται κατά την οξείδωση των λιπαρών οξέων, σε O_2 και H_2O (Francenia Santos- Sánchez et al., 2019).

Η καταλάση των θηλαστικών είναι ένα ομοτετραμερές, όπου η κάθε υπομονάδα έχει μοριακή μάζα 60 kDa και περιέχει την πορφυρίνη της αίμης που ονομάζεται πρωτοπορφυρίνη IX, στην ενεργό περιοχή (Kirkman & Gaetani, 2007). Ο σίδηρος και το μαγγάνιο χρησιμοποιούνται ως συμπαραγόντες από την καταλάση με σκοπό την αποικοδόμηση του H_2O_2 σε O_2 και H_2O (Francenia Santos-Sánchez et al., 2019). Φαίνεται πως η καταλάση έχει μεγάλη αποτελεσματικότητα λόγω της ικανότητας την να αποικοδομεί εκατομμύρια μόρια H_2O_2 ανά δευτερόλεπτο ($\sim 10^7$ M / sec) (Goyal & Basak, 2010).

1.5.1.2 Δισμουτάσες του σουπεροξειδίου (SODs)

Τα ένζυμα που ανήκουν σε αυτήν την κατηγορία συμβάλουν στην εξουδετέρωση των ROS και συγκαταλέγονται στους πρώτους μηχανισμούς άμυνας που ενεργοποιούνται σε περιπτώσεις αυξημένου οξειδωτικού στρες (Finaud et al., 2006). Η συμβολή τους στην εκκαθάριση των ανιόντων σουπεροξειδίου (O_2^-) από τα μιτοχόνδρια είναι καταλυτική, ωστόσο μικρό ποσοστό καταφέρνει να ξεφύγει και να διαχυθεί στον κυτταροπλασματικό χώρο. Πιο αναλυτικά η αντίδραση που καταλύεται αναγράφεται παρακάτω (Εικόνα 8) (Noor et al., 2002):



Εικόνα 7. Αντίδραση που καταλύεται από τη δισμουτάση του σουπεροξειδίου

Οι δισμουτάσες του σουπεροξειδίου (SODs) είναι μεταλλοένζυμα (Ighodaro & Akinloye, 2018) και αυτές που εντοπίζονται στους ιστούς των θηλαστικών διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με τα μέταλλα που χρησιμοποιούν ως συμπαραγόντες, αλλά και το μέταλλο που περιέχεται στο ενεργό τους κέντρο και συνεισφέρει στη δράση τους. Πιο συγκεκριμένα διαχωρίζονται σε: υπεροξειδική δισμουτάση του χαλκού-ψευδαργύρου (Cu/Zn-SOD ή SOD1) που εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων, σε υπεροξειδική δισμουτάση του μαγγανίου (Mn-SOD ή SOD2) που εντοπίζεται στα μιτοχόνδρια και σε υπεροξειδική δισμουτάση του σιδήρου (Fe-SOD ή SOD3) που εντοπίζεται στον εξωκυττάριο χώρο (Noor et al., 2002).

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται πως εντοπίστηκε σε στρεπτομύκητες και μία τέταρτη κατηγορία δισμουτασών που όπως φαίνεται σχετίζεται με το νικέλιο. (Aguilar et al., 2016).

1.5.1.3 Υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης GPx

Ακόμη μια ομάδα ενζύμων που έχουν την ικανότητα απομάκρυνσης του H₂O₂ είναι οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης που χρησιμοποιούν τα ηλεκτρόνια από την οξείδωση του τριπεπτιδίου της γλουταθειόνης (GSH) για την αναγωγή του H₂O₂ σε H₂O ή αντίστοιχες αλκοόλες (Margis et al., 2008) (Εικόνα 8). Η αντίδραση απεικονίζεται παρακάτω:



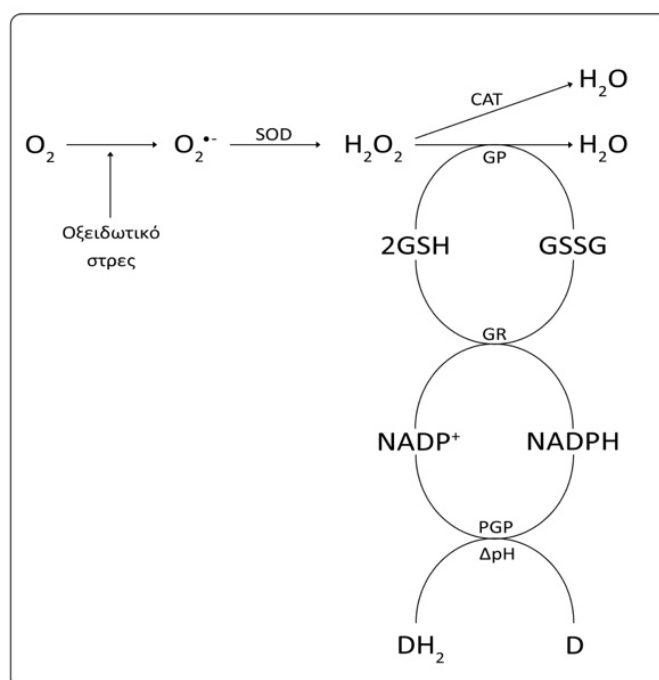
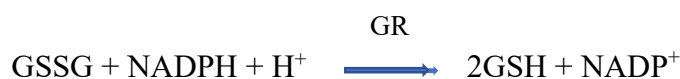
Εικόνα 8. Αντίδραση που καταλύεται από την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης

Οι GPx βρίσκονται στον οργανισμό σε δύο μορφές, εξαρτώμενες ή μη από το σελήνιο. Κάθε μία από τις δύο μορφές διαθέτει διαφορετικές υπομονάδες αλλά και διαφορετικές ενεργές περιοχές (Aguilar et al., 2016). Στην πληθώρα των περιπτώσεων το πόσο

δραστικές είναι οι GPx εξαρτώνται από το μικροθρεπτικό συμπαράγοντα σελήνιο, και αναφέρονται συχνά ως περοξειδάσες της σεληνοκυστεΐνης (Ighodaro & Akinloye, 2018). Η υπεροξειδάση της GSH αποδεικνύεται πως συμβάλει κυρίως για στον μεταβολισμό του H₂O₂ αλλά και άλλων υπεροξειδίων που βρίσκονται στο υδρόφιλο περιβάλλον του κυτοπλάσματος και της μιτοχονδριακής μήτρας (Brigelius- Flohe and Maiorino, 2013).

1.5.1.4 Αναγωγή της γλουταθειόνης (GR)

Υπο φυσιολογικές συνθήκες, στα κύτταρα του οργανισμού ο λόγος της ανηγμένης προς την οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSH/GSSG) αγγίζει τιμές που βρίσκονται εντός ενός εύρους 50-100. Σε περιπτώσεις που αυτή η τιμή εμφανίζει μεγάλη μείωση κάτω από ένα όριο παρατηρούνται σημαντικές επιπτώσεις σε βασικές λειτουργίες που συνεπάγονται με την σύνθεση των πρωτεϊνών και την έκφραση των γονιδίων. Η οξειδωμένη γλουταθειόνη που έχει παραχθεί από την υπεροξειδάση της GSH πρέπει να αναχθεί από την αναγωγή της γλουταθειόνης στην ανηγμένη μορφή της γλουταθειόνης με ταυτόχρονη οξείδωση του NADPH Η αντίδραση αναγράφεται παρακάτω (Piggott & Karuso, 2007) (Εικόνα 10):



Εικόνα 9. Η αλληλουχία των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων που προκαλούνται από το οξειδωτικό στρες και έχουν ως τελικό αποτέλεσμα την αντιμετώπισή του. PGP=πορεία των φωσφορικών πεντοζών στη γλυκόλυση, ΔpH=βαθμίδωση pH μεταξύ μιτοχονδριακής μήτρας και διαμεμβρανικού χώρου (Γάλαρης, 2015)

Το NADPH που οξειδώνεται στην παραπάνω αντίδραση προέρχεται κατά κύριο λόγο από το μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών (Γαλαρης, 2015).

1.5.2 Μη ενζυμικοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί

1.5.2.1 Γλουταθειόνη (GSH)

Η γλουταθειόνη είναι ένα τριπεπτίδιο μικρού μοριακού βάρους το οποίο υπάρχει στα ζώα τα φυτά και ορισμένα βακτήρια. Η σύνθεσή της πραγματοποιείται *de novo* από τα εξής τρία αμινοξέα: γλυκίνη (Glu), κυστεΐνη (Cys) και γλουταμινικό οξύ (Gly) (Townsend et al., 2003). Επίσης η γλουταθειόνη είναι η κυριότερη θειόλη των κυττάρων και οι ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις της κυμαίνονται από 1.0 έως 10.0 mM. Σε ποσοστό >95% η γλουταθειόνη ενδοκυτταρικά εντοπίζεται στην ανηγμένη της μορφή ωστόσο σε ένα ποσοστό μπορεί να οξειδωθεί δημιουργώντας δισουλφιδικούς δεσμούς (Lu, 2013). Η οξείδωση μπορεί να πραγματοποιηθεί με κάποιο δεύτερο μόριο γλουταθειόνης με αποτέλεσμα την παραγωγή δισουλφιδικής-οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG) ή με κάποια άλλα μόρια που να περιέχουν θειολικές ομάδες (Ribas et al., 2014). Φυσιολογικά η ανηγμένη μορφή της γλουταθειόνης βρίσκεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο, τα μιτοχόνδρια και τον πυρήνα. Η γλουταθειόνη έχει ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα και για αυτό χαρακτηρίζεται ως ο κύριος μη ενζυμικός αντιοξειδωτικός μηχανισμός των κυττάρων. Στην αντιοξειδωτική της δράση συνεισφέρει η σουλφυδρυλική ομάδα (-SH) της κυστεΐνης αναλαμβάνοντας τον ρόλο δότη πρωτονίων στις ελεύθερες ρίζες. Επιπλέον, όπως ήδη αναφέρθηκε η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης την χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα κατά την διάρκεια αποτοξικοποίησης των κυττάρων από πληθώρα μορίων (πχ ηλεκτρόφιλα μόρια, υπεροξείδιο του υδρογόνου, λιποϋπεροξειδικές ρίζες). Τέλος, έχει παρατηρηθεί πολλές φορές η δράση της ως συμπάροντας ενζύμων που συμβάλλουν στους αμυντικούς μηχανισμούς του οργανισμού εναντίον του οξειδωτικού στρες (Lu, 2013).

Έχει παρατηρηθεί πως στις περιπτώσεις οξειδοαναγωγικής ισορροπίας η αναλογία GSH και της GSSG παραμένει σταθερή. Ωστόσο, σε συνθήκες αυξημένου οξειδωτικού στρες ο λόγος GSH/GSSG φαίνεται να μεταβάλλεται. Συνήθως, σε αυτές τις περιπτώσεις η συγκέντρωση της GSH εμφανίζει μείωση ενώ της GSSG εμφανίζει αύξηση δεδομένης της κατανάλωσης της GSH με απώτερο σκοπό την εξουδετέρωση

των ελευθέρων ριζών. Εν τέλει με την δράση της αναγωγάσης της γλουταθειόνης η ισορροπία των δύο μορφών επανέρχεται στο φυσιολογικό. (Lu, 2013).

1.5.2.2 Βιταμίνη C (Ασκορβικό οξύ)

Η βιταμίνη C περιέχεται στην πλειοψηφία των φυτικών τροφών και αποτελεί βασικό ιχνοστοιχείο της διατροφής του ανθρώπου (Griffiths & Lunec, 2001). Ωστόσο ο άνθρωπος και κάποια ακόμη ανώτερα θηλαστικά δεν διαθέτουν την ικανότητα σύνθεσης ασκορβικού οξέος λόγω συσσωρευμένων μεταλλάξεων στο γονίδιο του ενζύμου που εμπλέκεται στο τελευταίο στάδιο του βιοχημικού μονοπατιού που συντελεί στη σύνθεσή του. (De Tullio, 2011). Για πρώτη φορά στην ιστορία το ασκορβικό οξύ απομονώθηκε από τον Ούγγρο βιοχημικό Szent-Gyorgyi το 1928 (Γάλαρης, 2015). Ο κύριος ρόλος για τον οποίο και έχει χαρακτηριστεί η συγκεκριμένη βιταμίνη είναι η αντιοξειδωτική της δράση καθώς δρα ως τελικός δότης ηλεκτρονίων, εξουδετερώνοντας τις ROS και τις RNS. Επιπλέον έχει την ικανότητα αντίδρασης με την οξειδωμένη βιταμίνη E με αποτέλεσμα την αναγωγή της στη μη οξειδωμένη μορφή (Kawashima et al., 2014; Ashor, 2016).

Η αντιοξειδωτική δράση του ασκορβικού όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είναι αναμφισβήτητη, ωστόσο αξίζει να αναφερθεί πως σε κλινικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στις οποίες οι αντιοξειδωτικές ενώσεις όπως το ασκορβικό οξύ χρησιμοποιήθηκαν ως συμπληρώματα, δεν κατάφεραν να αποδείξουν τη συσχέτιση των αντιοξειδωτικών με κάποια άλλη σημαντική ωφέλεια. (Cook et al., 2007; Heart Protection Study Collaborative, 2002; Hercberg et al., 2004; Lykkesfeldt & Poulsen, 2010).

1.5.2.3 Βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη)

Ο όρος βιταμίνη E ήρθε στο προσκήνιο για πρώτη φορά από τους Evans and Bishop το 1922 με σκοπό την περιγραφή ενός παράγοντα που προσλαμβάνεται μέσω της διατροφής και φαίνεται να διαδραματίζει κύριο ρόλο στην αναπαραγωγή των ποντικών (Evans and Bishop, 1922). Αποτελείται από τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες. Η α-τοκοφερόλη είναι η πιο σημαντική ανάμεσα στα οκτώ μέλη της ομάδας αν και δεν παρουσιάζει την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση. Η βασικότερη αντιοξειδωτική δράση της βιταμίνης E είναι η αναστολή την λιπιδικής υπεροξειδωσης (Ryan et al., 2010).

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, είναι χρήσιμο να τονιστεί πως οι συνέπειες των αντιοξειδωτικών παραγόντων δεν είναι σίγουρο ότι οφείλονται αποκλειστικά και μόνο στην αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Σε πληθώρα μελετών καταδεικνύεται πως η δράση της α-τοκοφερόλης εμπεριέχει μηχανισμούς που δεν σχετίζονται με την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. (Azzi, 2007; Fanali et al., 2013; Zingg & Azzi, 2004; Zingg et al., 2013).

1.5.2.4 Πολυφαινόλες

Τρόφιμα όπως: λαχανικά & φρούτα, δημητριακά αλλά και ποτά (καφές, κακάο, κρασί, τσάι) αποτελούν πολύ σημαντικές πηγές πολυφαινόλων. Οι πολυφαινόλες είναι ουσίες φυτικής προέλευσης και κατηγοριοποιούνται σύμφωνα με την προέλευση τους, τη χημική δομή τους και τη βιολογική τους λειτουργία (Tsao, 2010). Οι φαινόλες χαρακτηρίζονται από ισχυρή αντιοξειδωτική δράση λόγω των φαινολικών συστατικών τους τα οποία συμβάλλουν στην εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών με ποικίλους τρόπους. Πιο συγκεκριμένα, στοχεύουν στην παύση διάδοσης των αλυσιδωτών αντιδράσεων της λιπιδικής υπεροξειδωσης, στον καθαρισμό των ελευθέρων ριζών αλλά και στην σταθεροποίηση των υδρουπεροξειδίων και των μεταλλικών προοξειδωτικών (Zhang & Tsao, 2016).

1.5.2.5 Ουβικινόνη ή συνένζυμο Q

Το συνένζυμο Q10 είναι ένα μικρό λιπόφιλο μόριο. Βρίσκεται στις κυτταρικές μεμβράνες και είναι ιδιαίτερα γνωστό για το ρόλο του στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στις μιτοχονδριακές μεμβράνες κατά την αερόβια κυτταρική αναπνοή (Garrido-Maraver et al., 2014). Το Q10 διαθέτει διττό ρόλο καθώς δρα ως αντιοξειδωτικό άμεσα απέναντι στις ρίζες υπεροξυλίου αλλά και έμμεσα μέσω της αναγέννησης των βιταμινών C και E. (Littarru & Tiano, 2007).

1.5.2.6 Ουρικό οξύ

Ως τελικό προϊόν του μονοπατιού του μεταβολισμού των πουρινών, το ουρικό οξύ κατέχει μια από τις πρώτες θέσεις των πιο ισχυρών αντιοξειδωτικών του πλάσματος. Οι επιδράσεις του στον οργανισμό χαρακτηρίζονται από αμμεσότητα καθώς δρα εναντίον των εξής μορίων : $^1\text{O}_2$, HOCl , ρίζες υπεροξυλίου, ONOO και O_3 . Επιπροσθέτως το ουρικό οξύ έχει την ικανότητα σχηματισμού σταθερών συμπλόκων

με ιόντα μετάλλων (πχ Fe^{+3}). Ως αποτέλεσμα ο Fe^{3+} δεν μπορεί πλέον να δράσει προ-οξειδωτικά, προστατεύοντας με αυτόν τον τρόπο την οξείδωση της βιταμίνης C και E αλλά και την υπεροξείδωση των λιπιδίων (Finaud et al., 2006).

1.5.2.7 Σελήνιο

Αναφέρεται εκτενώς στην βιβλιογραφία η πολύ υψηλή σημασία του ιχνοστοιχείου σεληνίου (Se) στη διατήρηση της υγείας του οργανισμού. Ο βιολογικός του ρόλος συνδέεται με το αμινοξύ της σελινοκυστεΐνης, το οποίο εμπεριέχεται στις πρωτεϊνικές αλληλουχίες (Kielczykowska et al., 2018). Στις σελινοπρωτεΐνες συγκαταλέγονται η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) και η αναγωγάση της θειορεδοξίνης (TrxR) συμβάλλουν όπως αναφέρθηκε και παραπάνω ως ενεργά αντιοξειδωτικά στη διατήρηση της οξειδωτικής ισορροπίας (Wang et al., 2017).

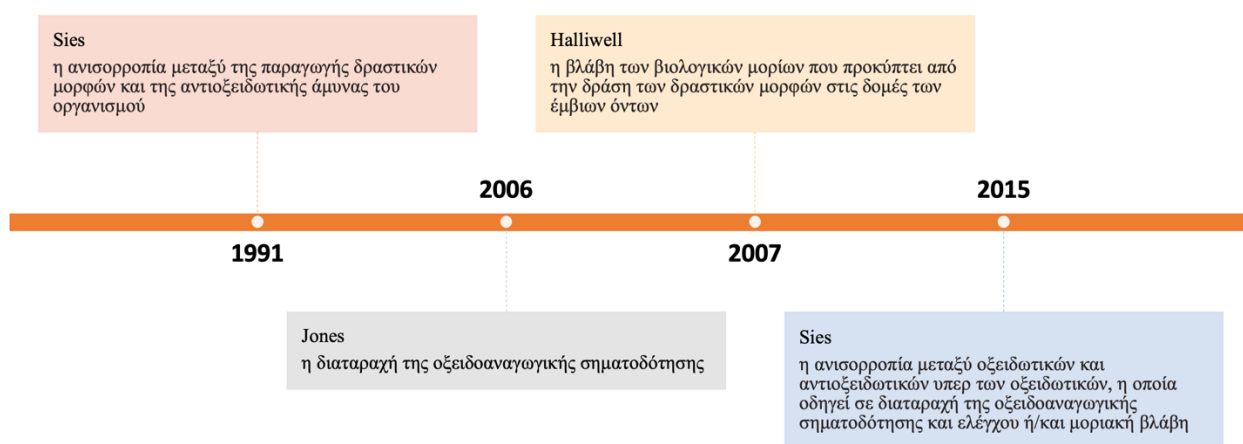
Πίνακας 2. Συγκεντρωτικός πίνακας με τα ενδογενή και τα εξωγενή αντιοξειδωτικά

Ενδογενή	Εξωγενή
<p>Ενζυμικά:</p> <ul style="list-style-type: none">• Καταλάση (CAT)• Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx)• Αναγωγάση της γλουταθειόνης (GR)• Δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD) <p>Μη ενζυμικά:</p> <ul style="list-style-type: none">• Ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH)• Ουρικό οξύ• Συνένζυμο Q10• Αλβουμίνη	<p>Μη ενζυμικά:</p> <ul style="list-style-type: none">• Βιταμίνη C• Βιταμίνη E• Σελήνιο• Πολυφαινόλες

1.6 Οξειδωτικό στρες

Ο όρος “οξειδωτικό στρες” έχει χαρακτηριστεί στο παρελθόν ως: «η ανισορροπία μεταξύ της παραγωγής δραστικών μορφών και της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού» (Sies, 1991). Επίσης, έχει οριστεί ως μια διαταραχή της ισορροπίας των προοξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών υπέρ των πρώτων, η οποία οδηγεί σε πιθανή δυσλειτουργία. Το 2006, διατυπώθηκε ο ορισμός του οξειδωτικού στρες ως “διαταραχή της οξειδοαναγωγικής σηματοδότησης” (Jones, 2006). Αργότερα από τους Matthew Whiteman & Halliwell η οξειδωτική βλάβη ορίστηκε ως «η βλάβη των βιολογικών μορίων που προκύπτει από τη δράση των δραστικών μορφών στις δομές των έμβιων όντων» (Halliwell, 2007). Αυξημένα επίπεδα οξειδωτικής βλάβης μπορούν να

προκύπτουν όχι μόνο από το οξειδωτικό στρες αλλά και από την αδυναμία των συστημάτων επιδιόρθωσης αυτών των βλαβών (Halliwell, 2007). Τέλος, η πιο πρόσφατη αναφορά έγινε το 2015 από τον Sies ως μια ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών υπέρ των οξειδωτικών, η οποία οδηγεί σε διαταραχή της οξειδοαναγωγικής σηματοδότησης και ελέγχου ή/και μοριακή βλάβη (Sies, 2015) (Εικόνα 11).



Εικόνα 10. Ορισμοί οξειδωτικού στρες

1.6.1 Οξειδωτικό στρες και υγεία μηρυκαστικών

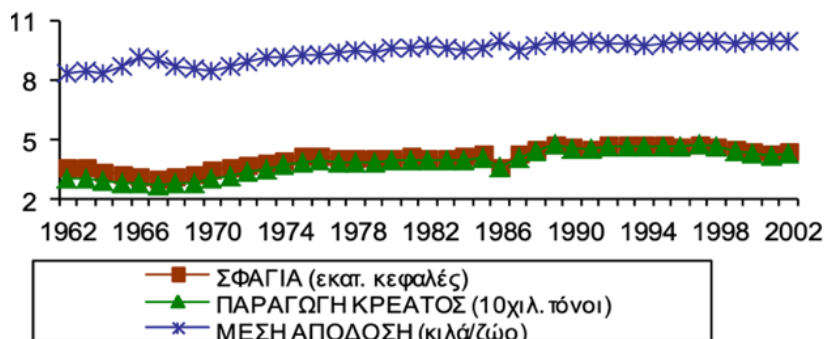
Σε πληθώρα μελετών έχει καταγραφεί πως το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται σε αρκετές παθολογικές καταστάσεις των κτηνοτροφικών ζώων (μαστίτιδα, σήψη, εντερίτιδα, παθήσεις αρθρώσεων, φλεγμονές αναπνευστικής οδού, πνευμονία) (Lykkesfeldt & Svendsen, 2007). Πιο συγκεκριμένα όσον αφορά τα μηρυκαστικά, η μαστίτιδα έχει χαρακτηριστεί ως η ασθένεια που ταλανίζει σε μεγαλύτερο βαθμό τα γαλακτοπαραγωγικά ζώα. Παρόλες τις προσπάθειες για βελτιώσεις που έχουν πραγματοποιηθεί στις πρακτικές διαχείρισης των ζώων παραμένει ένας βασικός λόγος οικονομικής απειλής παγκοσμίως (Celi, 2011). Επίσης, η δηλητηρίαση από νιτρικά συμβάλλει στην αύξηση του οξειδωτικού στρες στα γαλακτοπαραγωγικά μηρυκαστικά. Προκαλείται από την αυξημένη περιεκτικότητα της τροφής σε αντιοξειδωτικά και πιο συγκεκριμένα σε θειολικές ενώσεις. Επιπλέον, κατά τη μεταφορά των ζώων φαίνεται πως αυτά βιώνουν μια πληθώρα στρεσογόνων καταστάσεων που μπορεί να οδηγήσει σε απώλειες στην αποδοτικότητα. Από τη συσχέτιση οξειδωτικού στρες και των ασθενειών δεν μπορούν να λείπουν οι

αναπαραγωγικές δυσλειτουργίες αλλά και οι ασθένειες που έχουν άμεσο αντίκτυπο στην παραγωγικότητα. Πιο συγκεκριμένα, στις παραπάνω συγκαταλέγονται η διατήρηση του πλακούντα, μετατόπιση του ηνύστρου, κέτωση, οξέωση, λιπώδες ήπαρ, υποκαλιαιμία, υπομαγνησισαιμία και λαμινίτιδα (Mulligan & Doherty, 2008). Πολλές μελέτες, καταδεικνύουν την παρουσία οξειδωτικού στρες σε ανθρώπους και ζώα τα οποία έχουν προσβληθεί από παράσιτα. Οι λοιμώξεις του γαστρεντερικού συστήματος των μηρυκαστικών από νηματώδη είναι συχνές και ευρέως διαδεδομένες. Τέλος, το οξειδωτικό στρες φαίνεται να εμπλέκεται στην λεπτοσπείρωση όπου σε βοοειδή έχει παρατηρηθεί αύξηση της MDA και μείωση των επιπέδων της GSH (Erdogan et al., 2008).

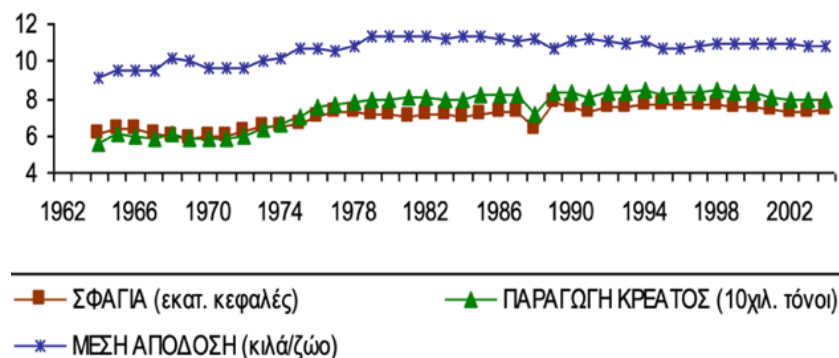
1.7 Αιγοπροβατοτροφία στην Ελλάδα

Τα μικρά μηρυκαστικά συνήθως εκτρέφονται όλα μαζί. Επομένως είναι αρκετά συνηθισμένη η αναφορά στον όρο «αιγοπροβατοτροφία». Η αιγοπροβατοτροφία ξεκίνησε πριν από χιλιάδες χρόνια με παραδοσιακές μεθόδους και ασκείται μέχρι και σήμερα. Πέρα από τα οικονομικά της οφέλη, η εκτροφή των αιγοπροβάτων είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τις κοινωνικές και πολιτιστικές αξίες της χώρας μας. Ωστόσο, σήμερα έρχεται αντιμέτωπη με πληθώρα προκλήσεων και κινδύνων που προκύπτουν από ένα ταχέως και συνεχώς εξελισσόμενο περιβάλλον. Όπως είναι γνωστό η αιγοπροβατοτροφία στην Ελλάδα συμβάλει κατά κύριο λόγο στην κρεοπαραγωγή, την παραγωγή γάλακτος και τυροκομικών προϊόντων. Σύμφωνα με τα στοιχεία της ΕΛΣΤΑΤ το 2000 (Ελληνική Στατιστική Αρχή, 2000) τα πρόβατα και οι αίγες που εκτρέφονται στην Ελλάδα ανέρχονταν σε 9 και 5,3 εκατομμύρια αντίστοιχα. Η αιγοπροβατοτροφία αποτελεί τον πιο σημαντικό κλάδο της Ελληνικής κτηνοτροφίας καθώς τα προϊόντα της αντιπροσωπεύουν το 8 % της συνολικής Ακαθάριστης Αξίας της Γεωργικής Παραγωγής και το 33% της συνολικής Ακαθάριστης Αξίας της Ζωικής Παραγωγής (Ελληνική Στατιστική Αρχή, 2004). Ανεξαρτήτως οικονομικών στοιχείων, η αιγοπροβατοτροφία είναι εξίσου σημαντική διότι συμβάλει στην παραγωγή προϊόντων ύψιστης σημασίας (γαλα-κρέας) για την διατροφή του πληθυσμού, αλλά και στην παροχή των πρώτων υλών σε μεταποιητικές μονάδες (γαλακτοβιομηχανίες, τυροκομεία, σφαγεία) (Μπιζέλης). Η Ελλάδα βρίσκεται στην τέταρτη και πρώτη θέση στην παραγωγή πρόβειου και κατσικίσιου κρέατος αντίστοιχα μεταξύ των ευρωπαϊκών χωρών (European Union, 2020) (Economou *et al.*, 2020). Στις παρακάτω εικόνες

απεικονίζεται διαγραμματικά η εξέλιξη της παραγωγής αίγιου και πρόβειου κρέατος το χρονικό διάστημα 1962-2002 (Εικόνα 12 & Εικόνα 13).



Εικόνα 11. Εξέλιξη της παραγωγής αίγιου κρέατος (Υπ.Α.Α.Τ., 2010)



Εικόνα 12. Εξέλιξη της παραγωγής πρόβειου κρέατος (Υπ.Α.Α.Τ., 2010)

1.7.1 Προβατοτροφία

Η ταξινόμηση των φυλών προβάτων μπορεί να γίνει σύμφωνα με τρία διαφορετικά κριτήρια: τον τύπο του αποδιδόμενου μαλλιού (τριχοπρόβατα, αναμικτόμαλλα, ομοιόμαλλα, μερινόμαλλα), την παραγωγική κατεύθυνση (κρεοπαραγές, γαλακτοπαραγωγές, εριοπαραγωγές), το μήκος (μακρύουρες, βραχύουρες) και το εύρος της ουράς (λεπτόουρα, πλατύουρα-παχύουρα). Οι ελληνικές φυλές ανήκουν στο γαλακτοπαραγωγό τύπο και στην πλειοψηφία τους αποτελούνται από λεπτόουρες, μακρύουρες, αναμικτόμαλλες φυλές. Τα γαλακτοπαραγωγά πρόβατα διακρίνονται από μικρή σχετικά σωματική ανάπτυξη, περιορισμένη μυϊκή κάλυψη του κορμού, μέτριες αποδόσεις αλλά άριστη προσαρμογή στις τοπικές συνθήκες εκτροφής τους. Τα γαλακτοπαραγωγικά πρόβατα εκτρέφονται κυρίως στις χώρες γύρω από τη Μεσόγειο. Όσον αφορά τις μορφές εκμετάλλευσης των προβάτων αυτές περιορίζονται σε

εκτατικού τύπου, παραδοσιακή και εντατικού τύπου αλλά και τις τυχόν ενδιάμεσες παραλλαγές τους. Η εκτατική μορφή εκμετάλλευσης, σχετίζεται με πρακτικές που έχουν αναπτυχθεί στη διάρκεια της μακρόχρονης εφαρμογής της στον ελλαδικό χώρο και εφαρμόζεται κατά κύριο λόγο σε ορεινές, ημιορεινές ή νησιωτικές περιοχές με φτωχά εδάφη σε θρεπτικά συστατικά και έντονο ανάγλυφο. Η εντατική μορφή εκμετάλλευσης εφαρμόζεται κατά βάση σε πεδινές περιοχές που βρίσκονται κοντά σε αστικά κέντρα και παρουσιάζει ανάπτυξη τα τελευταία χρόνια.

Ωστόσο, από τους περισσότερους κτηνοτρόφους πραγματοποιήθηκαν εισαγωγές με ορισμένες ξένες βελτιωμένες φυλές. Στη συνέχεια αυτές οι φυλές είτε αντικαταστάθηκαν, είτε διασταυρώθηκαν με τις αυτόχθονες φυλές με αποτέλεσμα οι δεύτερες να μειωθούν δραματικά σε αριθμό, να απειλούνται με εξαφάνιση ή να έχουν ήδη εξαφανιστεί.

Οι πιο σημαντικές διεθνείς γαλακτοπαραγωγές φυλές είναι οι εξής: East Friesian, Lacaune, Assaf, Sarda. Οι αυτόχθονες ελληνικές φυλές προβάτων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3) :

Πίνακας 3. Αυτόχθονες ελληνικές φυλές προβάτων

ΚΑΝΟΝΙΚΗ	ΕΥΑΙΣΘΗΤΗ	ΕΠΙΣΦΑΛΗΣ	ΥΠΟ ΕΞΑΦΑΝΙΣΗ	ΕΞΑΦΑΝΙΣΜΕΝΗ	ΑΓΝΩΣΤΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ
Χίου	Σερρών	Σαρακατσάνικο	Θράκης	Λευκίμμης	Σητείας
Μυτιλήνης (Λέσβος)	Καλαρρύτεκο	Βλάχικο (Ορεινό Ηπείρου)	Πελαγονίας (Φλώρινα)	Ρουμλουκίου	Αιγαίου
Άρτας (Φριζάρτας)	Καρύστου	Ζάκυνθος	Άργους	Καταφυγίου	Σκύρου
Καραγκούνικο	Ανωγείων	Αγρινίου	Κοκοβίτικο	Αρβαντοβλάχικο	
Σφακίων	Αστερουσίων	Κύμης	Ικαρίας (Ευδήλου)	Δράμας	
	Σκοπέλου		Σαμοθράκης	Χαλκιδικής	
	Κατσικά				
	Πηλίου				
	Κεφαλονιάς				

Από τις παραπάνω οι πιο σημαντικές αυτόχθονες γαλακτοπαραγωγικές φυλές είναι οι εξής : Χίου, Άρτας και Καραγκούνικη αλλά και οι διασταυρώσεις τους.

1.7.1.1 Καραγκούνικη φυλή

Εγχώρια ελληνική φυλή προβάτων που χαρακτηρίζεται από μεγάλο σώμα συγκριτικά με τις υπόλοιπες εγχώριες φυλές. Διαθέτει λεπτή, μακριά ουρά με έντονα κυρτό επιρρίνιο. Οι χρωματισμοί του ποικίλουν από λευκό έως και μαύρο. Ωστόσο σήμερα τα περισσότερα ζώα της φυλής είναι λευκά και διαθέτουν κηλίδες μαύρου χρώματος στα άκρα και στο πρόσωπό τους, οι οποίες καταλαμβάνουν διαφορετική έκταση. Διαβιούν κυρίως στα πεδινά λιβάδια της Θεσσαλίας, έχουν μειωμένο το ένστικτο του κοπαδιάσματος και χαρακτηρίζονται από αυξημένη γονιμότητα (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων) (Εικόνα 14).



Εικόνα 13. Πρόβατα που ανήκουν στην καραγκούνικη φυλή.

http://www.minagric.gr/images/stories/docs/agrotis/Aigoprobaton/Files_Aigoprobaton/fili_karagkouniki.pdf

1.7.1.2 Φυλή Χίου

Συναντάται σε όλη την Ελλάδα και κυρίως στην κεντρική Μακεδονία. Είναι μεγαλόσωμο πρόβατο, με λευκούς χρωματισμούς και μαύρους μαστούς και κηλίδες διαφορετικής έκτασης. Το επιρρίνιο είναι κυρτό και η ουρά του χαρακτηρίζεται ως πλατιά. Σχετικά με την κρεοπαραγωγή της συγκεκριμένης φυλής αναφέρεται πως ποσοτικά είναι αρκετά ικανοποιητική ωστόσο ποιοτικά έχει μειονεκτήματα.

Αποτελεί την πιο γνωστή ελληνική φυλή προβάτων στο εξωτερικό και είναι δημοφιλής σε όλη την Ελλάδα λόγω των υψηλών αποδόσεων σε γάλα αλλά και την προσαρμοστικότητα της σε ποικίλες κλιματολογικές συνθήκες (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων) (Εικόνα 15).



Εικόνα 14. Πρόβατα της φυλής Χίου
http://www.minagric.gr/images/stories/docs/agrotis/Aigoprobata/Files_Aigoprobaton/fili_xiou.pdf

1.7.1.3 Φυλή Λακών (Lacaune)

Αποτελεί την κύρια γαλακτοπαραγωγό φυλή της Γαλλίας. Το γάλα του χρησιμοποιείται για την παραγωγή του τυριού ροκφόρ. Είναι μεγαλόσωμο πρόβατο, λευκού χρώματος με μειωμένη εριοκάλυψη και χωρίς κέρατα. Συναντάται σε μεγάλα κοπάδια που εφαρμόζεται ημι-εντατικό σύστημα εκτροφής. Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται εκτεταμένη εισαγωγή του στην Ελλάδα και εντατικές διασταυρώσεις με τις εγχώριες φυλές (Εικόνα 16).



Εικόνα 15. Πρόβατα της φυλής Λακών. <https://en.wikipedia.org/wiki/Roquefort>

1.7.1.4 Φυλή Ασσάφ (Assaf)

Δημιουργήθηκε από διασταυρώσεις των φυλών Awassi και East Friesian στο Ισραήλ κατά τις δεκαετίες 1950 και 1960 (Εικόνα 17).



Εικόνα 16. Πρόβατα της φυλής Ασσάφ. https://en.wikipedia.org/wiki/Assaf_sheep

1.7.2 Αιγοτροφία

Στις πιο σημαντικές διεθνείς γαλακτοπαραγωγικές φυλές αιγών συγκαταλέγονται οι: (Σαάνεν) Saanen, Alpine, Murciana-Granandina, Maltese ενώ οι ελληνικές φυλές αιγών έχουν διαχωριστεί σε δύο στην εγχώρια ελληνική αίγα και την αίγα Σκοπέλου. Για τον περαιτέρω χαρακτηρισμό τους απαιτείται συστηματική και επισταμένη διερεύνηση του γενετικού τους υλικού με εκσυγχρονισμένες μοριακές τεχνικές (Μπιζέλης, 2018). Στην Ελλάδα εκτρέφονται κυρίως γαλακτοπαραγωγικές φυλές αιγών. Οι αίγες που εκτρέφονται στην Ελλάδα αποτελούν στην πλειοψηφία τους προϊόντα διασταυρώσεων της εγχώριας φυλής με τράγους εισαγόμενων φυλών. (Alpine, Saanen, Maltese). Οι διασταυρώσεις αυτές πραγματοποιούνται ανεξέλεγκτα εδώ και περίπου 30 χρόνια, με ελλιπή τήρηση κανόνων υγιεινής και χωρίς την λήψη μέτρων για αποφυγή ασθενειών. Ως αποτέλεσμα των παραπάνω διασταυρώσεων, οι πληθυσμοί των καθαρόαιμων πληθυσμών αιγών που ανήκουν στην εγχώρια φυλή έχουν μειωθεί σε μεγάλο βαθμό (Παύλου, 2011).

1.7.2.1 Εγχώριος πληθυσμός αιγών

Ο εγχώριος πληθυσμός αιγών αποτελείται από ζώα τα οποία δεν έχουν προσδιοριστεί γενετικά και χαρακτηρίζονται από μεγάλη παραλλακτικότητα σε μορφολογικά και παραγωγικά χαρακτηριστικά. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί πως από τον εγχώριο πληθυσμό ξεχωρίζει η αίγα Σκοπέλου. Οι εγχώριες αίγες φέρουν κέρατα και όσον αφορά το τρίχωμα τους είναι μακρύ και διαθέτει ποικίλους χρωματισμούς (μονόχρωμα μαύρα, λευκά, καστανά ή συνδυασμοί τους) (Κουτσούλη, 2015) (Εικόνα 18).



Εικόνα 17. Πληθυσμός εγχώριας φυλής αιγών. Πηγή: Κουτσούλη, 2015

1.7.2.2 Φυλή Σκοπέλου

Η συγκεκριμένη φυλή κατάγεται από το ομώνυμο νησί και εκτρέφεται στις Σποράδες και σε ορισμένες περιοχές της Μαγνησίας. Ο χρωματισμός της είναι έντονος και κυριαρχεί το ερυθρόφαιο με ή χωρίς λευκές κηλίδες (Κουτσούλη, 2015) (Εικόνα 19).



Εικόνα 18. Αίγα της σκοπελίτικης φυλής. Πηγή: http://www.minagric.gr/images/stories/docs/agrotis/Aigoprobata/Files_Aigoprobaton/fili_skopelou_aiga.pdf

1.7.2.3 Φυλή Σάανεν (Saanen)

Έχει καταγωγή από την κοιλάδα του ποταμού Saanen που βρίσκεται στη Βέρνη της Ελβετίας. Αποτελεί την πολυπληθέστερη και πιο γαλακτοπαραγωγική φυλή της Ελβετίας. Έχουν πραγματοποιηθεί διασταυρώσεις με εγχώριους πληθυσμούς με σκοπό την γενετική τους βελτίωση. Το χρώμα της είναι λευκό και συνήθως χαρακτηρίζεται από την απουσία κεράτων (Κουτσούλη, 2015) (Εικόνα 20).



Εικόνα 19. Πληθυσμός αιγών της φυλής Σαάνεν. Πηγή: https://en.wikipedia.org/wiki/Saanen_goat

1.7.2.4 Φυλή Μάλτας (Malta)

Κατάγεται από το νησί της Μάλτας και στην Ελλάδα είναι γνωστή εδώ και πολλά χρόνια λόγω της διάδοσης της σε ολόκληρη τη Μεσόγειο με σκοπό την βελτίωση των τοπικών πληθυσμών. Συνήθως δεν φέρει κέρατα και έχει βραχύ ή μικρό τρίχωμα, με μεγάλα συνήθως κρεμάμενα αυτιά (Κουτσούλη, 2015) (Εικόνα 21).



Εικόνα 20 Marzo D.D. & Nicastro F., 2018. The Jonica and Maltese Goat Breeds Reared in Different Regions of Italy. https://doi.org/10.1007/978-3-319-71294-9_12

1.7.2.5 Φυλή Αλπιν (Alpine)

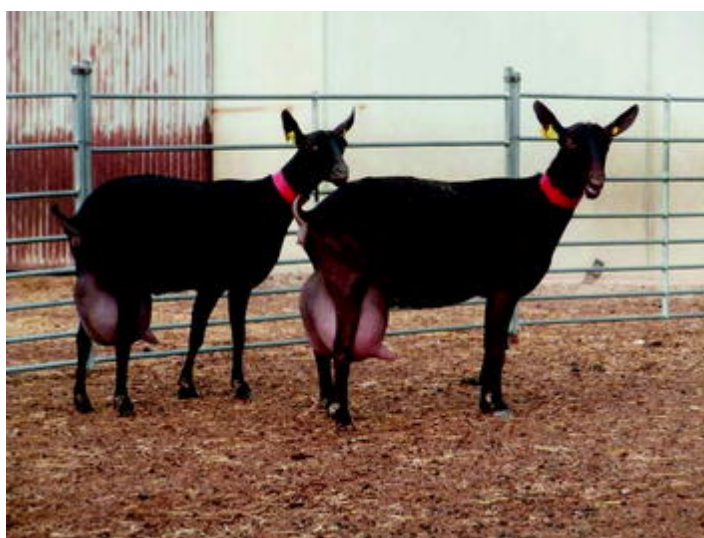
Προέρχεται από την Γαλλία. Είναι μεγαλόσωμη με κοντό τρίχωμα και διάφορους χρωματισμούς εκτός του λευκού. Έχει εισαχθεί και στην Ελλάδα (Κουτσούλη, 2015) (Εικόνα 22).



Εικόνα 21. Πληθυσμός αγρών της φυλής Αλπιν. Πηγή: https://en.wikipedia.org/wiki/Alpine_goat#/media/File:Troupeau_chèvres_alpines201.jpg

1.7.2.6 Φυλή Μουρθιάνο-Γραναδίνα (Murciano-Granadina)

Η ονομασία της φυλής προέρχεται από την περιοχή Μούρθια και Γρανάδα της Ισπανίας, όπου και γίνεται η αναπαραγωγή της. Τα χαρακτηριστικά των αιγών είναι αρκετά ξεκάθαρα με επικρατέστερο χρώμα το μαύρο ή το καφέ (Delgado et al, 2018) (Εικόνα 23).



Εικόνα 22. Θηλυκά άτομα της φυλής Μουρθιάνο-Γραναδίνα. Πηγή: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-71294-9_15

1.8 Οξειδωτικό στρες και ποιότητα κρέατος

Η ποιότητα του κρέατος μπορεί να εκτιμηθεί από μετρήσιμα αλλά και μη μετρήσιμα χαρακτηριστικά τα οποία εμφανίζουν άμεση συσχέτιση με τις προτιμήσεις των καταναλωτών (Elmasry *et al.*, 2012). Στα χαρακτηριστικά του κρέατος περιλαμβάνονται τα οργανοληπτικά (εμφάνιση, γεύση, άρωμα, σύσταση, τρυφερότητα) και η θρεπτική αξία που αφορά τη συγκέντρωση των μακροθρεπτικών (υγρασία, κορεσμένα και ακόρεστα λιπαρά, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες) και μικροθρεπτικών/ιχνοστοιχείων (βιταμίνες, μέταλλα). Ωστόσο τα ποιοτικά χαρακτηριστικά (ικανότητα κατακράτησης νερού, pH, ενεργότητα του νερού, οξειδωτικό δυναμικό) του κρέατος δεν αναγράφονται στη συσκευασία με αποτέλεσμα να μην γίνονται αντιληπτά από τους καταναλωτές. Παρόλα αυτά, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά είναι εκείνα που ορίζουν την ποιότητα του κρέατος με ένα μετρήσιμο και αντικειμενικό τρόπο (Economou *et al.*, 2020).

Το οξειδωτικό στρες που προκαλείται στους ιστούς έχει ως αποτέλεσμα τη λειτουργική και δομική καταστροφή των οργανιδίων των κυττάρων και κατ' επέκταση των ιστών (Falowo et al., 2014). Επίσης, αναφέρεται πως η υψηλή παραγωγή ελευθέρων ριζών συμβάλλει στην υποβάθμιση της ποιότητας του κρέατος και επηρεάζει την τρυφερότητά του. Απόδειξη του παραπάνω ισχυρισμού αποτελεί η επίδραση του οξειδωτικού στρες στη μείωση του ενδομυϊκού κολλαγόνου. Επιπλέον, πρόβλημα της βιομηχανίας κρέατος αποτελεί και η μη σταθερή ποιότητά του όσον αφορά την τρυφερότητά του, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στην αύξηση των ελεύθερων ριζών κατά την έκθεση των ζώων σε διαφορετικές μορφές στρεσογόνων καταστάσεων (π.χ. εντατική εκτροφή, συνθήκες ενσταβλισμού) (Falowo et al., 2014).

Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό πως θα ήταν χρήσιμο για τους καταναλωτές η ενημέρωση τους σχετικά με την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κρέατος με αποτέλεσμα την καλύτερη & σταθερότερη ποιότητα στην αγορά του προϊόντος. Επιπροσθέτως, είναι γνωστό ότι το οξειδωτικό στρες επηρεάζει την ποιότητα και τη γεύση του παραγόμενου κρέατος, επομένως το όφελος του βελτιωμένου οξειδοαναγωγικού προφίλ έχει διττό ρόλο καθώς θα βελτιωθεί η ποιότητα και η γεύση αυτού αποκτώντας υψηλότερη προστιθέμενη αξία και μεγαλύτερο οικονομικό όφελος για τους παραγωγούς (Economou *et al.*, 2020).

Σύμφωνα με έρευνα που δημοσιεύτηκε από τους Arsenos *et al.* (2006), μελετήθηκε η σύσταση του πρόβειου κρέατος σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης, υπογραμμίζοντας την πιθανότητα αύξησης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων μετά από διατροφή με σανό μηδικής. Επιπλέον, σε παρόμοια μελέτη από τους Samouris *et al.* (2011) αναφέρεται πως το προφίλ των λιπαρών οξέων του πρόβειου κρέατος δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντική οξείδωση μετά από κατάψυξη 10 ημερών. Τέλος, μετά από εξέταση των χαρακτηριστικών του κρέατος από πρόβατα που ανήκουν στη φυλή Χίου φαίνεται πως υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του φύλου των ζώων και του χρώματος του κρέατος, με τα θηλυκά να χαρακτηρίζονται από κρέας κατώτερης ποιότητας λόγω του χαμηλότερου ρυθμού ανάπτυξης και την υψηλότερη περιεκτικότητα σε λιπαρά (Tsolakidi, 2007). Όσον αφορά το κατσίκισιο κρέας φαίνεται πως η γεύση και το άρωμά του εξαρτώνται από πληθώρα χαρακτηριστικών που επηρεάζονται από τη φυλή, την περιεκτικότητα σε λιπαρά, την ηλικία, τον ιστό, την διατροφή και τον τρόπο μαγειρέματος. Επίσης μελέτη σχετικά με το κατσίκισιο κρέας

από ντόπιες φυλές αναφέρει ποσοστό περιεκτικότητας σε νερό 74.2%, συνολικής πρωτεΐνης 19.9%, λιπαρών 4.9% (Arsenos et al., 2009).

2. ΣΚΟΠΟΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή διεξήχθη στο Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών. Αξιοποιώντας μη παρεμβατικά πειραματικά πρωτόκολλα και μεθοδολογίες στοχεύει στον προσδιορισμό της οξειδοαναγωγικής κατάστασης δειγμάτων ιστών ήπατος και τριών διαφορετικών μυών (διάφραγμα, τετρακέφαλος, ψοϊτής), διαφορετικών φυλών αιγοπροβάτων, λαμβάνοντας υπόψιν δύο επιπρόσθετες παραμέτρους των ζώων (φύλο, στάδιο ανάπτυξης). Στους δείκτες που μελετήθηκαν συγκαταλέγονται ο ρυθμός αποικοδόμησης H_2O_2 , τα επίπεδα της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH), η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC – Total Antioxidant Capacity), οι ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS – Thiobarbituric Acid Reactive Substances) σαν δείκτης λιπιδικής υπεροξειδωσης και τα πρωτεϊνικά καρβονύλια (CARBS- Protein Carbonyls) σαν δείκτης πρωτεϊνικής οξείδωσης. Οι προαναφερόμενοι δείκτες αποτελούν βασικούς βιοδείκτες προσδιορισμού του επιπέδου του οξειδωτικού στρες και κατ' επέκταση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης των έμβιων οργανισμών. Τέλος, τα ομογενοποιημένα που απομονώθηκαν από τους ιστούς των αιγοπροβάτων ελέγχθηκαν σε μία κυτταρική σειρά (HepG2) με στόχο τον έλεγχο της επίδρασης τους στο οξειδοαναγωγικό δυναμικό του κυττάρου μέσω της μέτρησης των επιπέδων ROS και GSH με κυτταρομετρία ροής. Απώτερο σκοπό της συλλογής των δεδομένων που προκύπτουν από τα παραπάνω πειραματικά δεδομένα αποτελεί η χρήση τους στην δημιουργία μιας βάσης δεδομένων σχετικά με την ποιότητα του κρέατος των αιγοπροβάτων αλλά και άλλων παραγωγικών ζώων ελληνικής εκτροφής. Η συγκεκριμένη βάση δεδομένων θα παρέχει χρήσιμες πληροφορίες στους καταναλωτές αλλά ταυτόχρονα θα ενισχύει και το κέρδος των παραγωγών, δίνοντας προστιθέμενη αξία στο κρέας.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Υλικά

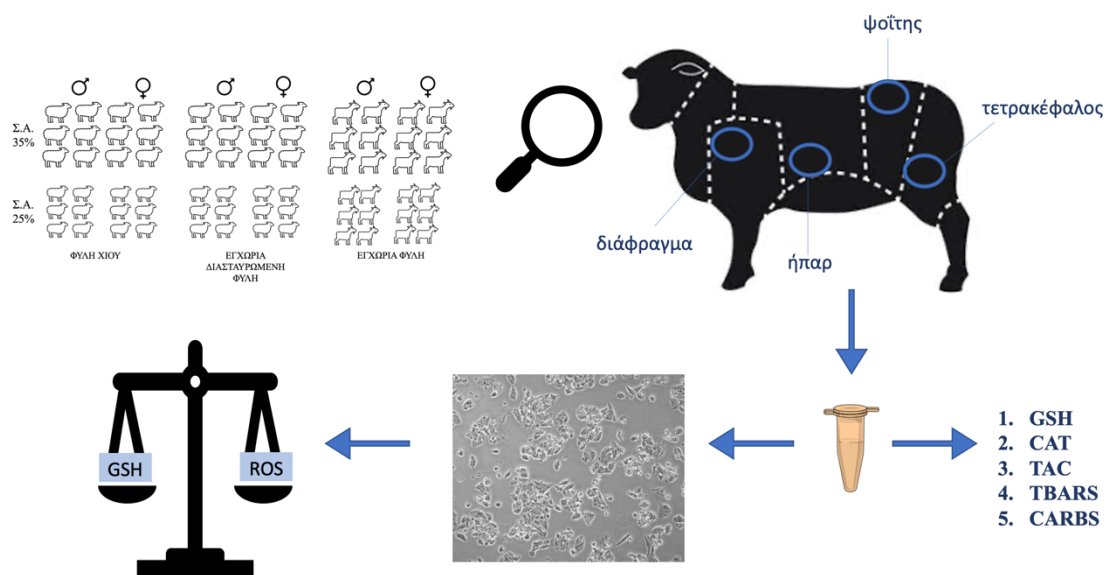
Στον παρακάτω πίνακα αναγράφονται τα αντιδραστήρια τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή (Πίνακας 4).

Πίνακας 4. Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στις φασματοφωτομετρικές μεθόδους

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ		
GSH		
Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 67 mM (pH 7,95)	<ul style="list-style-type: none"> MB (KH₂PO₄): 136 g/mol MB (Na₂HPO₄): 178 g/mol 	<ul style="list-style-type: none"> 25 ml KH₂PO₄ (67mM) 475 ml Na₂HPO₄ (67mM)
DTNB (1 mM) σε 1% κιτρικό νάτριο σε dH ₂ O	<ul style="list-style-type: none"> MB {DTNB [5,5'-διθειο-δισ (2 νιτροβενζοϊκό οξύ)]}: 396,35 g/mol MB [Κιτρικό νάτριο (C₆H₅O₇ * 2H₂O, διένυδρο τρι-νάτριο)]: 294,10 g/mol 	<ul style="list-style-type: none"> 1 g κιτρικού νατρίου σε 100 ml dH₂O 0,0396 g DTNB
CAT		
Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 67 mM (pH 7,4)	<ul style="list-style-type: none"> MB (KH₂PO₄): 136 g/mol MB (Na₂HPO₄): 178 g/mol 	<ul style="list-style-type: none"> 100 ml KH₂PO₄ (67mM) 400 ml Na₂HPO₄ (67mM)
Διάλυμα H ₂ O ₂ (30%)		
TAC		
Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 10 mM (pH 7,4)	<ul style="list-style-type: none"> MB (KH₂PO₄): 136 g/mol MB (Na₂HPO₄): 178 g/mol 	<ul style="list-style-type: none"> 100 mL KH₂PO₄ (10 mM) 400 ml Na₂HPO₄ (10mM)
DPPH (2,2-διφαινυλ-1 πικρυλυδραζόλιο) 0,1 mM	<ul style="list-style-type: none"> MB: 394,32 g/mol 	<ul style="list-style-type: none"> 0,02 g DPPH-5 ml μεθανόλη (10 mM) Αραίωση 100 φορές (0,1mM)
TBARS		
Tris-HCl 200 mM (pH 7,4)	<ul style="list-style-type: none"> MB (Tris): 121,14 MB (HCl): 36,46 (stock 37%) [10,1 N] 	<ul style="list-style-type: none"> 0,61 g σε 25 ml dH₂O 42 ml HCl (0.1 N)
Διάλυμα Na ₂ SO ₄ (2M)-TBA (55 mM) (φτιάχνεται τη μέρα του πειράματος)	<ul style="list-style-type: none"> MB (TBA): 144,1 g/mol MB (Na₂SO₄): 142,04 g/mol 	<ul style="list-style-type: none"> 2,84 g Na₂SO₄ και 0,08 g θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA) 10 ml dH₂O
CARBS		
Διάλυμα HCl	<ul style="list-style-type: none"> MB 36,46 g/mol, απόθεμα 37% (ισο με 10,1 N) 	<ul style="list-style-type: none"> 24,6 ml από το 37% HCl (ισο με 10,1 N HCl) 100 ml dH₂O
DNPH (2,4-δινιτροφαιλυδραζίνη, C ₆ H ₆ N ₄ O ₄) (14 mM) (φτιάχνεται τη μέρα του πειράματος)	<ul style="list-style-type: none"> MB (DNPH): 198,1 g/mol 	<ul style="list-style-type: none"> 0,2833 g DNPH 100 ml 2,5 N HCl
Ουρία (CH ₄ N ₂ O) (5M)	<ul style="list-style-type: none"> MB: 60,06 g/mol 	<ul style="list-style-type: none"> 30 g ουρίας 100 ml dH₂O
GSH, TBARS, CARBS		
TCA (τριχλωροοξικό οξύ, C ₂ HCl ₃ O ₂)	<ul style="list-style-type: none"> MB: 163,39 g/mol 	<ul style="list-style-type: none"> 1 kg σκόνη TCA 1 L dH₂O

3.2 Πειραματικός σχεδιασμός

Τα 72 αιγοπρόβατα που συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα διατριβή διαχωρίζονται σε 12 διαφορετικές ομάδες. Η μελέτη, περιλαμβάνει παραγωγικά ζώα ελληνικής εκτροφής τα οποία προέρχονται από την ευρύτερη περιοχή της Ελασσόνας και της Χαλάστρας από. Αρχικά, τα παραγωγικά ζώα διαχωρίζονται σε δύο είδη, το είδος των προβάτων (*Ovis aries*) και το είδος των αιγών (*Capra aegagrus hircus*). Οι αίγες ανήκαν στην εγχώρια φυλή αιγών και τα πρόβατα στην παχύουρη φυλή Χίου και σε κάποια εγχώρια διασταυρούμενη φυλή (διασταυρώσεις προβάτων μεταξύ των φυλών Χίου, Καραγκούνικης, Λακών) που αφορά λεπτόουρα πρόβατα. Η κάθε μία από τις τρεις προαναφερόμενες ομάδες αποτελούνταν από 24 αιγοπρόβατα εκ των οποίων τα 12 ήταν θηλυκά και τα 12 αρσενικά. Επιπλέον, λήφθηκε υπόψιν και η παράμετρος του σταδίου ανάπτυξης. Πιο συγκεκριμένα, τα 6 θηλυκά και τα 6 αρσενικά κάθε ομάδας βρίσκονταν στο στάδιο ανάπτυξης 25% και τα υπόλοιπα (6 αρσενικά και 6 θηλυκά) στο στάδιο ανάπτυξης 35% (Εικόνα 24).



Εικόνα 23. Απεικόνιση του πειραματικού σχεδιασμού (Σ.Α.: Στάδιο Ανάπτυξης)

3.3 Μέθοδοι

3.3.1 Ιστοληψία

Για τη λήψη των ιστών, τα αιγοπρόβατα μεταφέρθηκαν σε ειδικά κελιά. Πριν τη σφαγή, με ειδική συσκευή πραγματοποιήθηκε η αναισθητοποίησή τους με σκοπό την ελαχιστοποίηση του πόνου. Το προσωπικό που τέλεσε τις διαδικασίες ήταν απόλυτα εξειδικευμένο τηρώντας τις διαδικαστικές νομοθεσίες της βιομηχανίας.

Μετά την αναισθητοποίηση των αιγοπροβάτων ακολούθησε η μεταφορά τους στην ειδική γραμμής παραγωγής όπου και πραγματοποιήθηκε η σφαγή και η αφαίμαξη των ζώων (εντός 60 δευτερολέπτων από την στιγμή της αναισθητοποίησης). Από κάθε σφάγιο, με χρήση ειδικού νυστεριού, συλλέχθηκαν οι εξής ιστοί: ήπαρ, ψοϊτης, τετρακέφαλος μυς και διάφραγμα. Τα δείγματα των παραπάνω ιστών τοποθετήθηκαν σε ειδικές κασέτες και μεταφέρθηκαν σε υγρό άζωτο και αμέσως μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας σε υπερκατάψυξη (-80 °C), όπου και διατηρήθηκαν μέχρι την βιοχημική τους ανάλυση.

3.3.2 Επεξεργασία ιστών - Ομογενοποίηση

Για την ομογενοποίηση των ιστών ζυγίστηκαν 0,2-0,25 g ιστού και τοποθετήθηκαν μέσα σε ειδικά tubes ομογενοποίησης. Στη συνέχεια, στα tubes προστέθηκε διάλυμα PBS με μείγμα αναστολέων πρωτεασών σε αναλογία ιστού-PBS 1:3. Τα tubes τοποθετήθηκαν σε ειδικό ομογενοποιητή για χρονικό διάστημα 30 δευτερολέπτων στην υψηλότερη ταχύτητα. Τέλος, ακολούθησε φυγοκέντρηση για 5 λεπτά στα 15.000 g σε θερμοκρασία 5 °C και το υπερκείμενο από κάθε δείγμα μεταφέρθηκε σε νέο Eppendorf το οποίο και διατηρήθηκε στην υπερκατάψυξη των -80 °C μέχρι την περαιτέρω βιοχημική ανάλυση. Το σύνολο των διαδικασιών πραγματοποιήθηκε μέσα στο πάγο.

3.3.3 Προσδιορισμός συνολικής ποσότητας πρωτεΐνης με τη χρήση του αντιδραστηρίου Bradford

Αρχικά, ήταν απαραίτητη η δημιουργία μιας πρότυπης καμπύλης με τη χρήση της πρωτεΐνης αλβουμίνης. Έπειτα χρησιμοποιώντας την καμπύλη αλβουμίνης ως πρότυπη πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός της συνολικής ποσότητας της πρωτεΐνης των δειγμάτων με τη χρήση του αντιδραστηρίου Bradford. Πιο αναλυτικά, για την

ποσότητα της πρωτεΐνης χρησιμοποιήθηκαν οι συντελεστές (α , β), που προέκυψαν από την εξίσωση της πρότυπης καμπύλης της αλβουμίνης σε mg / ml και η εξίσωση η οποία ήταν της μορφής $y = ax + \beta$.

Η συγκεκριμένη μέθοδος βασίζεται στην αλληλεπίδραση της χρωστικής Coomassie Brilliant Blue G-250 του αντιδραστηρίου με τα αμινοξέα των πρωτεϊνών. Ως αποτέλεσμα παρατηρείται σχηματισμός προϊόντος το οποίο έχει μπλε χρώμα. Η οπτική απορρόφηση μετρήθηκε στα 595 nm (Bradford, 1976). Για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν 2 επαναλήψεις.

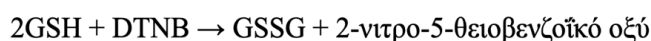
Για τη διεξαγωγή του πειράματος πραγματοποιήθηκε:

- ❖ Αραίωση των δειγμάτων 1/30 (10 μ l δείγματος σε 290 μ l PBS)
- ❖ Προσθήκη 20 μ l αραιωμένου δείγματος και 1 ml αντιδραστήριο Bradford (Blank: αντί για 20 μ L δείγμα, προσθέτω 20 μ L PBS)
- ❖ Vortex
- ❖ Επώαση 15 λεπτών στο σκοτάδι
- ❖ μέτρηση οπτικής απορρόφησης στα 595nm με γυάλινη κυψελίδα

3.3.4 Προσδιορισμός της γλουταθειόνης (GSH)

Αρχή μεθόδου

Η μέτρηση της ανηγμένης γλουταθειόνης προκύπτει από την παραγωγή έγχρωμου προϊόντος το οποίο απορροφάει στα 412 nm. Πιο αναλυτικά, όταν η GSH αντιδρά με το DTNB παράγονται GSSG και 2-νιτρο-5-θειοβενζοϊκό οξύ. Η χημική αντίδραση είναι η εξής :



Όπως φαίνεται παραπάνω η GSH οξειδώνεται από το DTNB και το έγχρωμο προϊόν που προκύπτει είναι το 2-νιτρο-5-θειοβενζοϊκό οξύ. Έπειτα η GSH ανακυκλώνεται από την αναγωγή της GSSG με τη δράση του ενζύμου αναγωγάση της γλουταθειόνης.

Πειραματική διαδικασία

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 5) αναγράφεται η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε στην παρούσα διατριβή.

Πίνακας 5. Βήματα πειραματικής διαδικασίας του προσδιορισμού της γλουταθειόνης

Πειραματική διαδικασία (GSH)		
Καθαρισμός δειγμάτων: Ανάμειξη 100 μl ομογενοποιημένου ιστού & 100 μl 5% TCA Φυγοκέντρωση του μίγματος στα 15.000 g για 5 λεπτά στους 25 °C		
Μεταφορά του υπερκλειμένου σε νέο Eppendorf		
Ανάμειξη των εξής αντιδραστηρίων:		
	Δείγμα ελέγχου	Δείγμα
Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 67 mM, pH 7,95	660 μL	660 μL
PBS	20 μL	-
Καθαρισμένο ομογενοποίημα	-	20 μL
DTNB 1 mM σε 1% κιτρικό νάτριο σε dH₂O	330 μL	330 μL
Επώαση 15 λεπτών στο σκοτάδι		
Μέτρηση οπτικής απορρόφησης 412 nm		

Υπολογισμοί

Δραστικότητα GSH (μmol/mg total prot.) = $(\text{Abs δείγματος} - \Delta\text{abs τυφλού}/13.6) \times 2 \times 4$ (λόγω αραιώσεων) $\times 50.5$ / Συγκ. πρωτεΐνης (mg/mL)

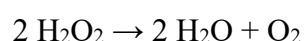
Όπου:

- 13,6 (L / mmol / cm): συντελεστής μοριακής απόσβεσης του DTNB
- 50,5: συντελεστής αραιώσης (DF), προκύπτει διαιρώντας τον τελικό όγκο (1010 μl) με τον όγκο του δείγματος (20 μl) ($1010/20 = 50,5$)
- 4: αραιώση κατά την ομογενοποίηση
- 2: αραιώση με TCA 5% (50 μl / 50 μl)

3.3.5 Προσδιορισμός του ρυθμού αποικοδόμησης του H₂O₂

Αρχή μεθόδου

Το υπεροξειδίο του υδρογόνου προκύπτει από το μεταβολισμό και είναι ένα ιδιαίτερα τοξικό μόριο για τον οργανισμό. Η καταλάση είναι ένα ένζυμο που καταλύει τη διάσπαση του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε δύο μη τοξικά μόρια για τον οργανισμό, το νερό και το οξυγόνο. Η αντίδραση που καταλύεται από την καταλάση είναι η εξής :



Πειραματική διαδικασία

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 6) αναγράφεται η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε στην παρούσα διατριβή.

Πίνακας 6. Βήματα πειραματικής διαδικασίας υπολογισμού του ρυθμού αποικοδόμησης του H_2O_2

<u>Πειραματική διαδικασία (CAT)</u>	
Σε ειδικούς πλαστικούς δοκιμαστικούς σωλήνες έγινε ανάμειξη των εξής αντιδραστηρίων:	
	Δείγμα
Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 67 mM, pH 7,4	2.990 μ L
Ομογενοποίηση ιστού (στο ήπαρ πραγματοποιήθηκε αραιώση 1/40)	5 μ L
Ανάδευση & Επώαση 10 λεπτών στους 37 °C	
Μεταφορά του περιεχομένου σε κυψελίδα Quartz και προσθήκη 5 μ l 30% H_2O_2	
Ανάμειξη με parafilm & μέτρηση οπτικής απορρόφησης των δειγμάτων στα 240 nm στα 5 και στα 125 δευτερόλεπτα	

Υπολογισμοί

H_2O_2 decomposition (U/mg total protein) = (Δ Abs sample/min / 40) x (75 x 1000 x 4 x αντίστοιχη αραιώση που μπορεί να έγινε σε κάθε ιστό για το πρωτόκολλο / Conc. Protein (mg/mL)

Όπου:

- 40 (L / mol / cm): μοριακός συντελεστής απόσβεσης του H_2O_2 , που πολλαπλασιάζεται με το 1000 για να μετατραπεί από mol / L σε μ mol / ml
- 75: συντελεστής αραιώσης, προκύπτει διαιρώντας τον τελικό όγκο (3000 μ l) με τον όγκο του δείγματος (40 μ l) ($3000/40 = 75$)
- 4: αραιώση του δείγματος (1/4) κατά την ομογενοποίηση
- U = μ mol / λεπτό, Δ Abs (min) = η μεταβολή στην απορρόφηση σε ένα λεπτό.

3.3.6 Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC-Total Antioxidant Capacity)

Αρχή μεθόδου

Διάφορα συστατικά που περιέχονται στο πλάσμα του αίματος αλλά και στους ιστούς έχουν την ικανότητα να εξουδετερώνουν ένα μέρος ελευθέρων ριζών στο κυτταρικό περιβάλλον. Ο πιο συχνός και αξιόπιστος τρόπος προσδιορισμού της παραπάνω ικανότητας είναι η μέτρηση της TAC σαν σύνολο αλλά και το άθροισμα της αντιοξειδωτικής ικανότητας κάθε συστατικού ξεχωριστά.

Στη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία, η αναγωγή της ρίζας DPPH[•] (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) προς σχηματισμό της υδραζίνης (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine) προσδιορίστηκε με φωτομετρηση στα 520 nm.

Πειραματική διαδικασία

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7) αναγράφεται η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε στην παρούσα διατριβή.

Πίνακας 7. Βήματα πειραματικής διαδικασίας προσδιορισμού της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας

<u>Πειραματική διαδικασία (TAC)</u>		
Πραγματοποιήθηκε ανάμειξη των εξής αντιδραστηρίων:		
	Δείγμα ελέγχου	Δείγμα
Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 10 mM (pH 7,4)	500 μ L	460 μ L
DPPH 0.1 mM	500 μ L	500
Ομογενοποιημένος ιστός (Αραίωση ½)	-	40 μ L
Επώαση 60 λεπτών στο σκοτάδι		
Φυγοκέντρωση στα 15.000 g για 3 λεπτά στους 25°C		
Μέτρηση οπτικής απορρόφησης 520 nm		

Υπολογισμοί

Τα αποτελέσματα μπορούν να εκφραστούν ως:

i) % μείωση της απορρόφησης (Abs) σε σχέση με το τυφλό: % Abs μείωση = (Abs τυφλού – Abs δείγματος) / Abs τυφλού x 100

ii) μ mol DPPH που ανήχθησαν/ mL ιστού: (% Abs μείωση / 100) x 50 x 25 x 4.x 2] / 1000

Όπου:

- 100: μετατροπή της μείωσης της απορρόφησης σε ποσοστό απορρόφησης
- 50: συγκέντρωση του DPPH στην κυψελίδα είναι 50 μ mol / L κυψελίδας.
- 25: αραίωση του δείγματος στην κυψελίδα (1000 μ l στην κυψελίδα / 40 μ l δείγματος ιστού στην κυψελίδα = 25)
- 4: αραίωση του ιστού κατά την ομογενοποίηση
- 2: αραίωση του δείγματος κατά ½ στη μέθοδο
- 1000: μετατροπή των L του δείγματος σε ml του δείγματος

Η κανονικοποίηση για τη συγκέντρωση της συνολικής πρωτεΐνης έγινε με τον ακόλουθο τύπο: **mmol DPPH (mmol / mg συνολικής πρωτεΐνης) = mmol DPPH nmol / ml / συγκέντρωση συνολικής πρωτεΐνης mg / ml**

3.3.7 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS)

Αρχή της μεθόδου

Σε συνθήκες οξειδωτικού στρες στο περιβάλλον του κυττάρου δημιουργούνται υπεροξειδία των λιπιδίων, τα οποία προκύπτουν από την οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Όταν τα υπεροξειδία των λιπιδίων διασπαστούν παράγεται η μαλονδιαλδεΰδη, η οποία αντιδρά με το θειοβαρβιτουρικό οξύ με αναλογία μαλονδιαλδεΰδης προς θειοβαρβιτουρικό οξύ 1/2. Το προϊόν που παράγεται μετράται φωτομετρικά στα 530nm και η μέθοδος αποτελεί δείκτη υπεροξειδωσις των λιπιδίων.

Πειραματικό πρωτόκολλο

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 8) αναγράφεται η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε στην παρούσα διατριβή.

Πίνακας 8. Βήματα πειραματικής διαδικασίας προσδιορισμού της συγκέντρωσης των ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ

<u>Πειραματική διαδικασία (TBARS)</u>		
Σε πλαστικούς δοκιμαστικούς σωλήνες Falcon (15 ml) προστέθηκαν:		
	Δείγμα ελέγχου	Δείγμα
TCA 35%	500 μL	500 μL
PBS	100 μL	-
Ομογενοποίηση ιστού	-	100 μL
Tris-HCl 200 mM, pH 7,4	500 μL	500 μL
Vortex & Επώαση 10 λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου		
Προσθήκη 1 ml Na ₂ SO ₄ (2M)-TBA (55 mM)		
Vortex & Επώαση 45 λεπτών στους 95 °C στο υδατόλουτρο		
Μεταφορά δειγμάτων σε πάγο και επώαση 15 λεπτά		
Προσθήκη 1 ml 70% TCA & Vortex		
Μεταφορά 1 ml από κάθε falcon σε νέο Eppendorf & φυγοκέντρωση στα 11.200 g για 3 λεπτά στους 25 °C		
Μεταφορά υπερεκκενμένου με πιπέτα & Μέτρηση οπτικής απορρόφησης στα 530 nm		

Υπολογισμοί

Συγκέντρωση των TBARS (nmol/mg total protein) = (Abs δείγματος – Abs τυφλού) /
0.156 x 31 x 4 x 3

Όπου:

- 31: συντελεστής αραίωσης (προκύπτει από 3100 μL τελικό όγκο / 100 μL όγκο του ομογενοποιημένου ιστού = 31)
- 0.156: συντελεστής μοριακής απόσβεσης* της MDA
- 10^{-6} : μετατροπή των mol/L σε $\mu\text{mol/L}$
- 4: αραίωση ομογενοποίησης,
- 3: 3 φορές αραίωση δείγματος κατά τη μέτρηση

* Ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης μιας ουσίας ισούται με την απορρόφηση της ουσίας αυτής σε συγκέντρωση 1 mol/L.

3.3.8 Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των πρωτεϊνικών καρβονυλίων

Αρχή της μεθόδου

Τα πρωτεϊνικά καρβονύλια είναι ένας αξιόπιστος δείκτης οξείδωσης των πρωτεϊνών και χρησιμοποιείται ευρέως λόγω της σταθερότητας αυτών των μορίων. Οι καρβονυλικές ομάδες (αλδεΐδες και κετόνες) που αποτελούνται από ένα άτομο άνθρακα σε διπλό δεσμό με ένα άτομο οξυγόνου $\text{C}=\text{O}$, ως συνήθως αποτελούν μέρος σε άλλες μεγαλύτερες λειτουργικές ομάδες. Παράγονται κυρίως στις προσθετικές ομάδες της προλίνης (pro), της αργινίνης (arg), της λυσίνης (lys) και της θρεονίνης (thr). Ο σχηματισμός των καρβονυλίων συνήθως ανιχνεύεται με την αντίδρασή τους με το DNP (2,4-δινιτροφαινυλδραζίνη) προς σχηματισμό του 2,4-δινιτροφαινυλδραζονίου, που απορροφά στα 375nm. Ο προσδιορισμός των καρβονυλίων βασίστηκε στη μέθοδο Patsoukis et. al., (2004).

Πειραματικό πρωτόκολλο

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 9) αναγράφεται η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε στην παρούσα διατριβή.

Πίνακας 9. Βήματα πειραματικής διαδικασίας προσδιορισμού της συγκέντρωσης των πρωτεϊνικών καρβονυλίων

Πειραματική διαδικασία (CARBS)		
Σε Eppendorf προστέθηκαν και αναδεύτηκαν: 50 μl ομογενοποιημένου ιστού & 50 μl 20% TCA (για τον κατακρημισμό των πρωτεϊνών)		
Επώαση 15 λεπτών σε πάγο & φυγοκέντρηση στα 15.000 g για 5 λεπτά στους 4 °C Απομάκρυνση υπερκειμένου και προσθήκη στο ίζημα:		
	Δείγμα ελέγχου	Δείγμα
DNPH 14 mM (διαλυμένο σε HCl 2,5N)	-	500 μL
HCl 2.5N	500 μL	-
Διάλυση του ιζήματος με πιπέτα & Vortex		
Επώαση για 60 λεπτά στο σκοτάδι με ενδιάμεσα Vortex κάθε 15 λεπτά		
Φυγοκέντρηση στα 15.000 g για 5 λεπτά στους 4 °C		
Απομάκρυνση υπερκειμένου & προσθήκη 1 ml 10% TCA		
Vortex & Φυγοκέντρηση στα 15.000 g για 5 λεπτά στους 4 °C		
Απομάκρυνση υπερκειμένου & προσθήκη 1 ml διαλύματος αιθανόλης-οξικού αιθυλεστέρα (1:1 v:v)		
Vortex & Φυγοκέντρηση στα 15.000 g για 5 λεπτά στους 4 °C		
Απομάκρυνση υπερκειμένου & προσθήκη 1 ml διαλύματος ουρίας (5M) (pH 2,3)		
Ανάδευση και επώαση 37 °C για 15 λεπτά		
Φυγοκέντρηση στα 15.000 g για 3 λεπτά στους 4 °C		
Μέτρηση οπτικής απορρόφησης στα 375 nm		

Υπολογισμοί

Συγκέντρωση πρωτεϊνικών καρβονυλίων (nmol/mg total prot.): Αδείγματος- Α τυφλού / 0,022 × 1000 / 50 x 4 x 2 / Συγκ. πρωτεΐνης (mg/mL)

Όπου:

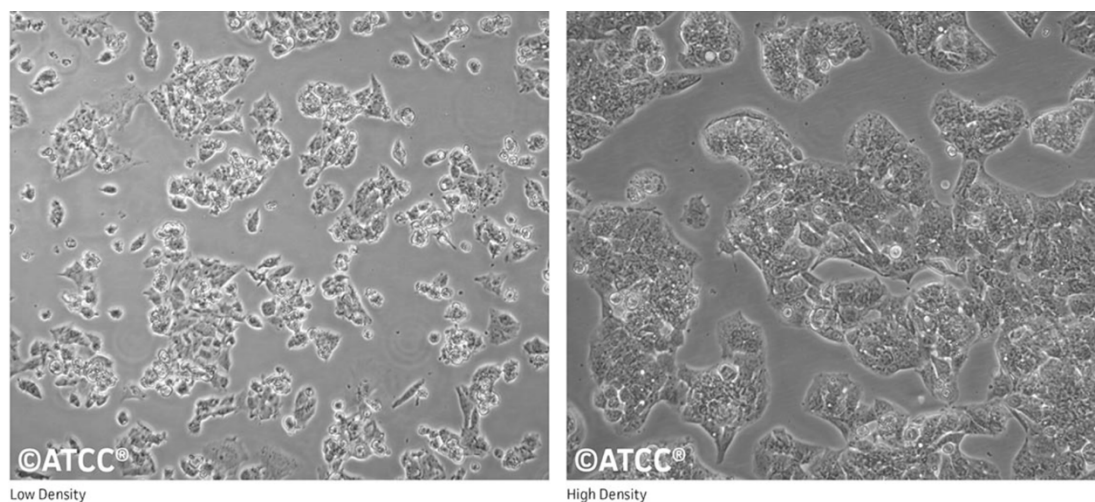
- 0,022: 22 L / mmol / cm = με 22 mL / μmol / cm = 0,022 ml / nmol / cm. Ο μοριακός συντελεστής απόσβεσης του DNPH είναι 22 mM / cm
- 1000/50: συντελεστής αραίωσης (1000 μl στην κυψελίδα / 50 μl του δείγματος)
- 4: αραίωση (1/4) κατά την ομογενοποίηση
- 2: αραίωση του δείγματος (1/2)

Η κανονικοποίηση για τη συγκέντρωση της συνολικής πρωτεΐνης πραγματοποιήθηκε με τον ακόλουθο τύπο: **Συγκέντρωση πρωτεϊνικών καρβονυλίων (nmol / mg πρωτεΐνης)** = συγκέντρωση καρβονυλίων nmol / ml / συγκέντρωση συνολικής πρωτεΐνης mg / ml

Κυτταροκαλλιέργειες

3.3.9 Καλλιέργεια της κυτταρικής σειράς HepG2

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ηπατικά επιθηλιακά κύτταρα ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (ATCC® HB-8065™) (Εικόνα 30).



Εικόνα 24. Εικόνες από μικροσκόπιο της κυτταρικής σειράς HepG2. Στη δεξιά φωτογραφία απεικονίζονται σε χαμηλή πυκνότητα ενώ στην δεξιά σε υψηλή. Πηγή: https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/HB-8065.aspx?geo_country=gr-characteristics

Η κυτταρική σειρά καλλιεργήθηκε σε φλάσκες επιφάνειας T75 cm², με τη χρήση του θρεπτικού υλικού DMEM στο οποίο προστέθηκαν 10% ορός FBS και 1% διάλυμα αντιβιοτικών ουσιών. Οι καλλιέργειες διατηρήθηκαν σε κλίβανο με θερμοκρασία 37 °C και 5% συγκέντρωση CO₂. Οι καλλιέργειες παρέμεναν στο εσωτερικό της φλάσκας ώσπου να καλυφθεί το 70-80% της επιφάνειάς της, ανανεώνοντας το θρεπτικό ανά 2-3 μέρες. Η ανακαλλιέργεια πραγματοποιήθηκε μέσω της αποκόλλησης των κυττάρων από την επιφάνεια της φλάσκας με την προσθήκη 5 ml θρυψίνης (0,25%) και επακόλουθη επώαση 3 λεπτών στους 37°C. Μετά την επώαση στη φλάσκα προστέθηκαν 9 ml θρεπτικού και φυγοκέντριση των κυττάρων στους 4°C, 1200g για 5 λεπτά. Ακολούθησε απομάκρυνση του υπερκειμένου και επαναδιάλυση του ιζήματος σε 5ml θρεπτικού εμπλουτισμένου με 10% ορόFBS και 1% διάλυμα αντιβιοτικών ουσιών. Έπειτα τα κύτταρα χωρίστηκαν σε νέες φλάσκες, μετά από μέτρηση τους σε πλάκα Neubauer έτσι ώστε σε κάθε φλάσκα να μεταφερθούν περίπου 1.000.000 κύτταρα και ακολούθησε προσθήκη θρεπτικού εμπλουτισμένου με 10% ορού FBS και 1% διάλυμα αντιβιοτικών ουσιών σε τελικό όγκο 10 ml. Όλες οι διαδικασίες χειρισμού των κυττάρων πραγματοποιήθηκαν σε θάλαμο ρεύματος αέρα συνεχούς ροής (Laminar

airflow) με σκοπό την αποφυγή των επιμολύνσεων. Πριν την έναρξη διεξαγωγής των πειραμάτων απαραίτητη ήταν η χρήση UV ακτινοβολίας για 20 λεπτά, για την αποστείρωση του χώρου.

3.3.10 Επιλογή δειγμάτων

Συνολικά επιλέχθηκαν 10 δείγματα ιστών αιγοπροβάτων με σκοπό τον έλεγχο της επίδρασής τους στο οξειδοαναγωγικό προφίλ των κυττάρων. Πιο αναλυτικά, επιλέχθηκαν 4 δείγματα ήπατος, 2 ψοίτη, 3 τετρακεφάλου και 1 διαφράγματος. Τα 5 από αυτά (1, 3, 5, 7 & 8) είχαν χαμηλές τιμές γλουταθειόνης οι οποίες κυμαίνονταν από 0,01-0,02 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein και τα υπόλοιπα 5 (2, 4, 6, 9 & 10) υψηλές τιμές γλουταθειόνης που κυμαίνονταν από 0,03-0,08 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein σύμφωνα με τις φασματοφωτομετρικές μεθόδους προσδιορισμού. Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται αναλυτικά τα δείγματα τα οποία επιλέχθηκαν καθώς επίσης η ποσότητα πρωτεΐνης που περιείχε το κάθε δείγμα και η τιμή GSH σε $\mu\text{mol}/\text{mg}$ πρωτεΐνης (πίνακας 10).

Πίνακας 10. Στην πρώτη στήλη αναγράφονται τα δείγματα τα οποία επιλέχθηκαν. Στην δεύτερη στήλη αναγράφονται οι τιμές πρωτεΐνης του κάθε δείγματος και στην τρίτη στήλη οι τιμές GSH του κάθε δείγματος.

SAMPLE	PROTEIN CONCENTRATION (mg/ml)	GSH ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein)
1	69,99	0,02
2	216,05	0,03
3	94,56	0,01
4	191,13	0,03
5	124,16	0,01
6	204,50	0,03
7	115,13	0,01
8	99,82	0,01
9	187,79	0,08
10	89,30	0,07

Η ομογενοποίηση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο που αναφέρεται παραπάνω (3.2.4).

3.3.11 Προσδιορισμός της κυτταροτοξικής δράσης του ομογενοποιημένου με τη μέθοδο ΧΤΤ

Αρχή της μεθόδου

Η συγκεκριμένη μέθοδος πραγματοποιήθηκε με σκοπό τον προσδιορισμό εκείνης της συγκέντρωσης του ομογενοποιημένου των ιστών, η οποία προκαλεί κυτταροτοξικότητα στην υπό μελέτη κυτταρική σειρά. Ως κυτταροτοξική χαρακτηρίζεται η συγκέντρωση του ομογενοποιημένου στην οποία παρατηρείται κυτταρικός θάνατος που υπερβαίνει το 20%. Η μέθοδος ΧΤΤ αποτελεί μια χρωματομετρική δοκιμασία κατά την οποία γίνεται ποσοτικοποίηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της βιωσιμότητας των κυττάρων (Stevens & Olsen, 1993). Πιο αναλυτικά, βασίζεται στον μεταβολισμό του τετραμμωνιακού άλατος ΧΤΤ προς την αντίστοιχη φορμαζάνη από τις αφυδρογονάσες των μιτοχονδρίων. Η μετατροπή αυτή πραγματοποιείται μόνο στα ζωντανά κύτταρα. Επομένως, η ποσότητα της φορμαζάνης που δημιουργείται σχετίζεται με τον αριθμό των μεταβολικά ενεργών κυττάρων στην καλλιέργεια. Η φορμαζάνη έχει πορτοκαλί χρώμα και μέγιστο απορρόφησης στα 450 nm.

Πειραματικό μέρος

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε απομάκρυνση των κυττάρων από την φλάσκα με θρυψινοποίηση όπως αναλύθηκε παραπάνω. Έπειτα, με χρήση της πλάκας Neubauer υπολογίστηκαν τα μl στα οποία περιέχονται 10.000 κύτταρα με σκοπό να μεταφερθούν σε κάθε πηγαδάκι μιας πλάκας 96 θέσεων. Μετά το διαμοιρασμό των κυττάρων στα πηγαδάκια, προστέθηκαν 150 μl θρεπτικού εμπλουτισμένου με 10% FBS και 1% διάλυμα αντιβιοτικών και ακολούθησε επώαση των κυττάρων για 24 ώρες στον κλίβανο στους 37°C. Μετά το πέρας των 24 ωρών το θρεπτικό αντικαταστάθηκε από την προσθήκη διαφορετικών συγκεντρώσεων ομογενοποιημάτων που περιείχαν πρωτεΐνη εύρους 8-66 mg/ml που προέκυψαν ύστερα από μέτρηση της αντίστοιχης ποσότητας πρωτεΐνης (σύμφωνα με τη μέθοδο Bradford) και θρεπτικού χωρίς FBS σε τελικό όγκο 100μl. Στη συνέχεια, ακολούθησε ακόμα μία 24ωρη επώαση των κυττάρων στον κλίβανο στους 37°C και προσθήκη του αντιδραστηρίου ΧΤΤ. Μετά την προσθήκη του αντιδραστηρίου ακολούθησε επώαση στους 37°C για 4 ώρες. Για την εκτίμηση του αποτελέσματος, πραγματοποιήθηκε φωτομέτρηση στα 450 και τα 630 nm σε ELISA plate reader καθώς επίσης και χρήση του λογισμικού επεξεργασίας

Gene5. Οι τιμές που λήφθηκαν από τα 630 nm αφαιρέθηκαν από τις τιμές των 450 nm με σκοπό την κανονικοποίηση των τιμών μεταξύ των 96 πηγαδιών της πλάκας. Σε κάθε πλάκα 96 θέσεων υπολογίστηκαν και τρεις διαφορετικού τύπου μάρτυρες. Πιο συγκεκριμένα, σε ένα πηγαδάκι δεν προστέθηκαν καθόλου κύτταρα και θρεπτικό, σε ένα προστέθηκε μόνο θρεπτικό χωρίς καθόλου ομογενοποίηση, ενώ για κάθε συγκέντρωση ομογενοποιήματος υπήρχε και το τυφλό του, δηλαδή πηγαδάκι που είχε τη συγκέντρωση του ομογενοποιήματος με το θρεπτικό χωρίς κύτταρα, με σκοπό τη μέτρηση της απορρόφησης που οφείλεται στο θρεπτικό και τα κύτταρα.

Η %-βιωσιμότητα των κυττάρων προσδιορίστηκε ως εξής:

$$\% \text{ βιωσιμότητα} = [(\text{Abs μάρτυρα} - \text{Abs Δείγματος}) / \text{Abs μάρτυρα}] \times 100\%$$

Όπου:

Abs μάρτυρα: Η οπτική απορρόφηση του μάρτυρα

Abs δείγματος: Η οπτική απορρόφηση του δείγματος

3.3.12 Προσδιορισμός επιπέδων GSH με κυτταρομετρία ροής

Ο προσδιορισμός των επιπέδων της ανηγμένης γλουταθειόνης στα κύτταρα μετά την επώαση των ομογενοποιημάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της χρωστικής Thiol Green Dye η οποία έχει την ικανότητα της απευθείας πρόσδεσης στη γλουταθειόνη. Η πειραματική διαδικασία συνοψίζεται στα παρακάτω βήματα :

- 1) Επίστρωση 300.000-400.000 κυττάρων σε πλάκα 6 θέσεων μετά από μέτρηση με πλάκας Neubauer και προσθήκη 1 ml θρεπτικού εμπλουτισμένου με FBS και αντιβιοτικά
- 2) Επώαση στους 37°C στον κλίβανο για 24 ώρες
- 3) Αφαίρεση θρεπτικού και χορήγηση μίγματος ομογενοποιημάτων με θρεπτικό χωρίς FBS σε τελικό όγκο 1 ml
- 4) Επώαση στους 37°C στον κλίβανο για 24 ώρες
- 5) Αφαίρεση θρεπτικού και ουσίας και πλύση των κυττάρων με 1 ml PBS
- 6) Προσθήκη 250 μl θρυψίνης και επώαση για 30 δευτερόλεπτα στους 37°C στον κλίβανο
- 7) Προσθήκη 1 ml θρεπτικού εμπλουτισμένου με FBS και αντιβιοτικά σε κάθε πηγαδάκι

- 8) Μεταφορά των κυττάρων σε Eppendorf tubes 1,5 ml
- 9) Φυγοκέντριση σε 1200 g στους 4⁰C για 5 λεπτά
- 10) Αφαίρεση υπερκευμένου και επαναδιάλυση ιζήματος σε 1ml PBS
- 11) Επανάληψη βημάτων 9 & 10
- 12) Προσθήκη 5μl χρωστικής Thiol Green Dye
- 13) Επώαση στον κλίβανο στους 37⁰C για 30 λεπτά
- 14) Φυγοκέντριση σε 1200 g στους 4⁰C για 5 λεπτά
- 15) Αφαίρεση υπερκευμένου, επαναδιάλυση ιζήματος σε 350 μl PBS και μεταφορά των δειγμάτων στα ειδικά σωληνάκια του κυτταρομέτρου
- 16) Μέτρηση των δειγμάτων με τη χρήση του κυτταρομέτρου ροής FACScalibur

Για την μελέτη του πληθυσμού των κυττάρων λήφθηκαν υπόψιν οι παράμετροι Forward Scatter (FSC) και Side Scatter (SSC) με σκοπό τον καθορισμό του μεγέθους και της πολυπλοκότητας των κυττάρων αντίστοιχα. Συνολικά μετρήθηκαν 10.000 κύτταρα για κάθε δείγμα και η ένταση του φθορισμού της χρωστικής υπολογίστηκε σε λογαριθμική κλίμακα με τη χρήση του λογισμικού BD Cell Quest.

3.3.13 Προσδιορισμός των επιπέδων των ROS με κυτταρομετρία ροής

Ο προσδιορισμός των επιπέδων των ελευθέρων ριζών στα κύτταρα μετά την επώαση των ομογενοποιημάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της χρωστικής DCF-DA, η οποία αρχικά από-ακετυλιώνεται μέσω ενδογενών εστερασών και μετέπειτα οξειδώνεται από τις ROS στην φθορίζουσα DCF. Τα βήματα που ακολουθήθηκαν συνοψίζονται παρακάτω:

- 1) 1-5 ομοίως με τα βήματα της διαδικασίας του προσδιορισμού της γλουταθειόνης που αναφέρθηκε παραπάνω
- 2) Προσθήκη 1,5 ml χρωστικής DCF-DA διαλυμένης σε PBS
- 3) Επώαση για 45 λεπτά στον κλίβανο στους 37⁰C
- 4) Αφαίρεση χρωστικής
- 5) Προσθήκη 250 μl θρυψίνης και επώαση για 30 δευτερόλεπτα στους 37⁰C στον κλίβανο
- 6) Προσθήκη 1 ml PBS σε κάθε πηγαδάκι
- 7) Μεταφορά των κυττάρων σε Eppendorf tubes 1,5 ml
- 8) Φυγοκέντριση σε 1200 g στους 4⁰C για 5 λεπτά

- 9) Αφαίρεση υπερκειμένου και επαναδιάλυση ιζήματος σε 350 μl PBS και μεταφορά των δειγμάτων στα ειδικά σωληνάκια του κυτταρομέτρου
- 10) Μέτρηση των δειγμάτων με τη χρήση του κυτταρομέτρου ροής FACScalibur

Για την μελέτη του πληθυσμού των κυττάρων λήφθηκαν υπόψιν οι παράμετροι Forward Scatter (FSC) και Side Scatter (SSC) με σκοπό τον καθορισμό του μεγέθους και της πολυπλοκότητας των κυττάρων αντίστοιχα. Συνολικά μετρήθηκαν 10.000 κύτταρα για κάθε δείγμα και η ένταση του φθορισμού της χρωστικής χρωστικής υπολογίστηκε σε λογαριθμική κλίμακα με τη χρήση του λογισμικού BD Cell Quest.

3.3.14 Στατιστική Ανάλυση

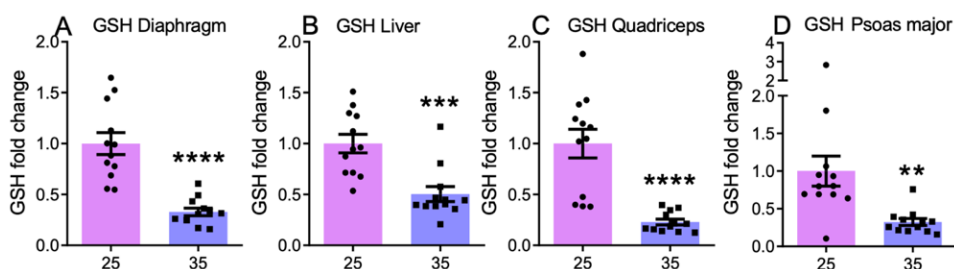
Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν, ως fold change \pm SEM ενώ η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου GraphPad Prism. Συγκεκριμένα, εκτελέστηκε ανάλυση t-test χρησιμοποιώντας επίπεδο σημαντικότητας $*p < 0.05$ για τη σύγκριση μεταξύ της παραμέτρου του σταδίου ανάπτυξης των αιγοπροβάτων και συγκεκριμένα μεταξύ του σταδίου ανάπτυξης 25% και 35% (ανεξάρτητη μεταβλητή) για τον κάθε ξεχωριστό δείκτη οξειδοαναγωγικής κατάστασης (εξαρτημένη μεταβλητή). Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε διπλή ανάλυση διασποράς (Two-Way ANOVA), με την επιλογή των παραμέτρων Tukey προσδιορίζοντας το επίπεδο σημαντικότητας σε $*p < 0.05$ για τη σύγκριση των παραμέτρων σταδίου ανάπτυξης και φύλου (δύο ανεξάρτητες μεταβλητές) για τον κάθε ξεχωριστό δείκτη οξειδοαναγωγικής κατάστασης (εξαρτημένη μεταβλητή). Στη συνέχεια για την ανάλυση των αποτελεσμάτων του κυτταρομέτρου χρησιμοποιήθηκε το ίδιο στατιστικό πακέτο και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως % μεταβολή των δειγμάτων στα επίπεδα GSH και ROS σε σχέση με το control.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στα διαγράμματα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων 5 δεικτών οξειδωτικού στρες στους ιστούς αιγών που μελετήθηκαν, συμπεριλαμβανομένων των μεταβλητών του φύλου και του σταδίου ανάπτυξης.

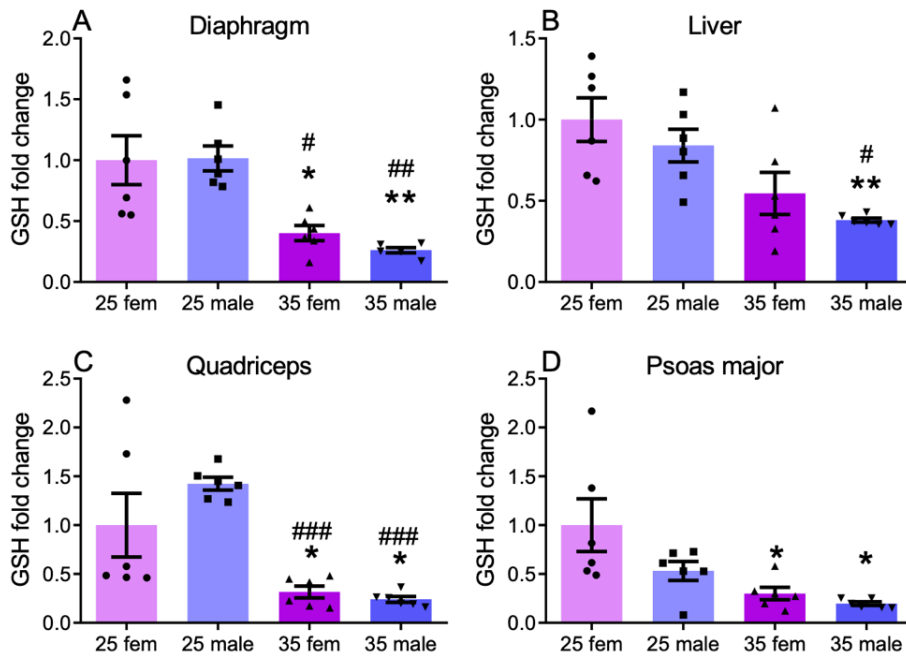
4.1 Αποτελέσματα φασματοφωτομετρικών μετρήσεων των δεικτών του οξειδωτικού στρες στους ιστούς ήπατος και μύος (διάφραγμα, τετρακέφαλος, ψοϊτής) σε αίγες της εγχώριας φυλής

4.1.1 Εκτίμηση των επιπέδων της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) σε ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής



Εικόνα 25. Εκτίμηση των επιπέδων ανηγμένης GSH στους ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής: A) διάφραγμα, B) ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοϊτής

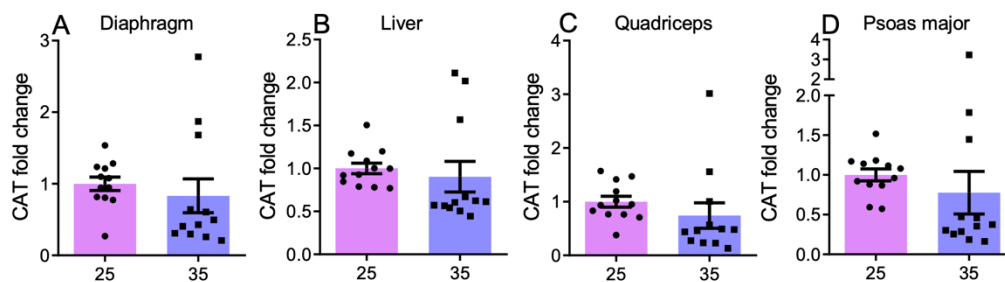
Σύμφωνα με τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα της ανηγμένης γλουταθειόνης των αιγών που βρίσκονται στο 25% στάδιο ανάπτυξης σε σύγκριση με τις αίγες που βρίσκονται στο 35% στάδιο ανάπτυξης ανεξαρτήτου ιστού (Εικόνα 31).



Εικόνα 26. Εκτίμηση των επιπέδων ανηγμένης GSH στους ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής: Α) διάφραγμα, Β) ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης. (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, \$σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά)

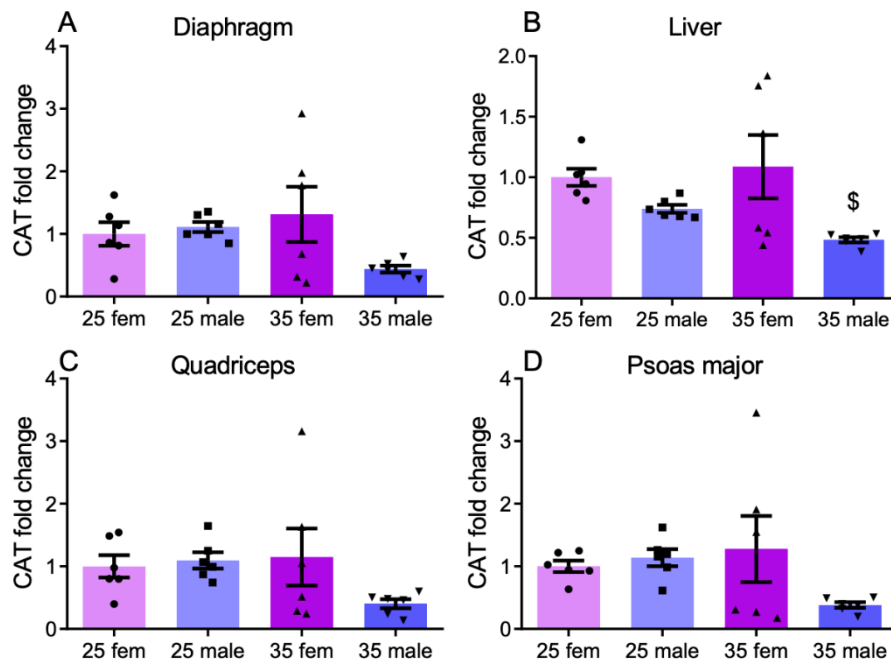
Σε συμφωνία με το προηγούμενα διαγράμματα σημειώνεται στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της GSH στο στάδιο ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με το στάδιο ανάπτυξης 25% ανεξαρτήτως ιστού (Εικόνα 32).

4.1.2 Εκτίμηση του ρυθμού αποικοδόμησης του H₂O₂ σε ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής



Εικόνα 27. Εκτίμηση του ρυθμού αποικοδόμησης του H₂O₂ στους ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής: Α) διάφραγμα, Β) ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης.

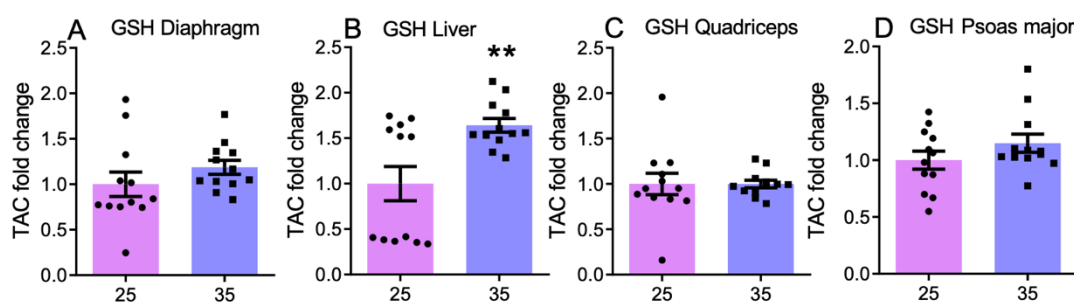
Στα παραπάνω διαγράμματα δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική μεταβολή στα επίπεδα ρυθμού αποικοδόμησης του H₂O₂ (Εικόνα 33).



Εικόνα 28. Εκτίμηση του ρυθμού αποικοδόμησης του H_2O_2 στους ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης. (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, \$σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά).

Τα αποτελέσματα των παραπάνω διαγραμμάτων καταδεικνύουν στατιστικά σημαντικά μειωμένα επίπεδα ρυθμού αποικοδόμησης του H_2O_2 στα αρσενικά που βρίσκονται στο στάδιο ανάπτυξης 35% σε σχέση με τα θηλυκά του αντίστοιχου σταδίου στους ηπατικούς ιστούς (Εικόνα 34).

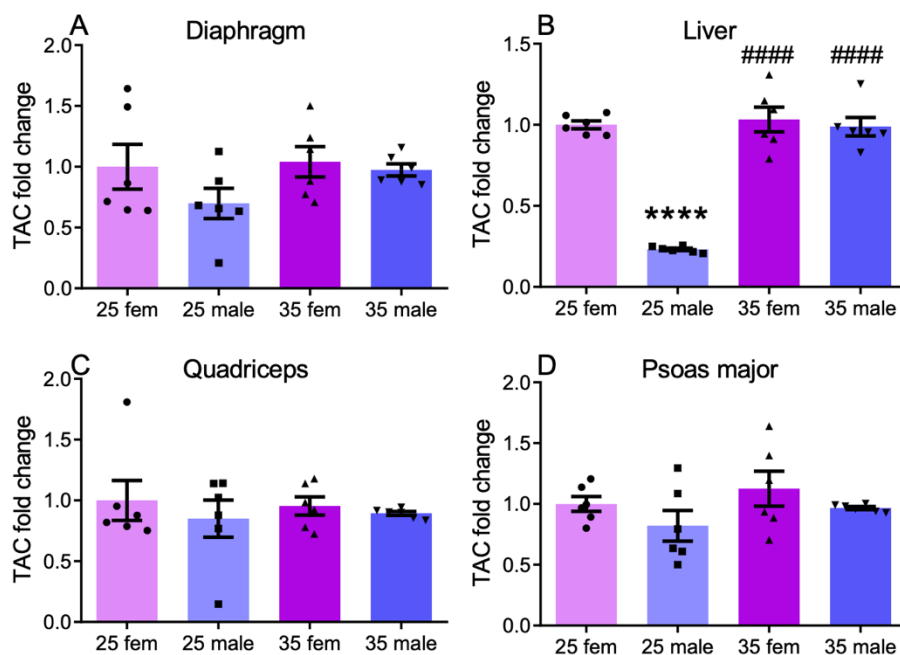
4.1.3 Εκτίμηση των επιπέδων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) σε ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής



Εικόνα 29. Εκτίμηση των επιπέδων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) στους ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης.

Μετά από μελέτη των παραπάνω διαγραμμάτων υπογραμμίζεται η στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στα ζώα του

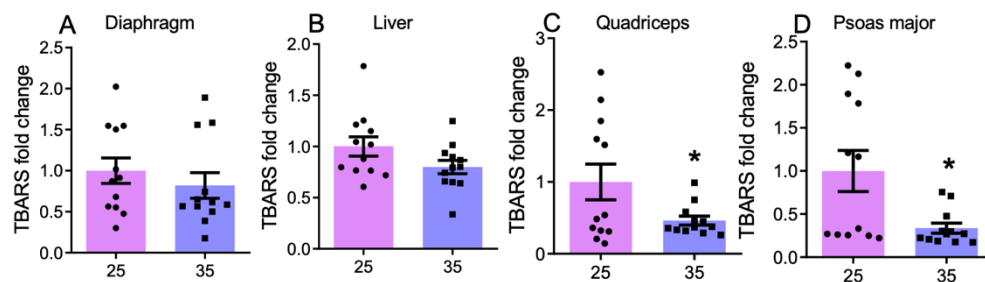
σταδίου ανάπτυξης 25% σε σύγκριση με αυτά του σταδίου ανάπτυξης 35% στους ιστούς του ήπατος (Εικόνα 35).



Εικόνα 30. Εκτίμηση των επιπέδων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) στους ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης. (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, §σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά).

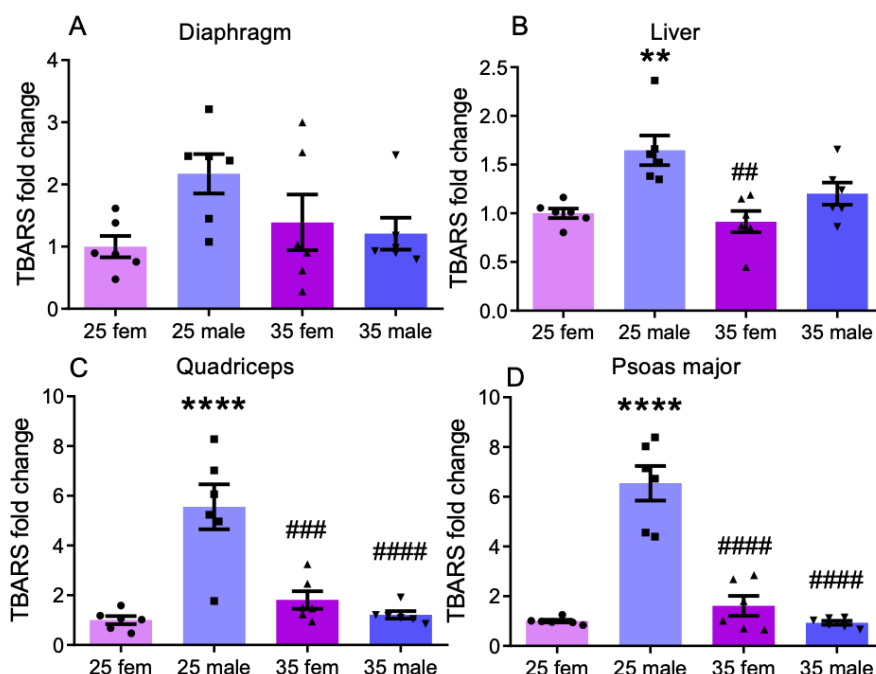
Συμπληρωματικά, σημειώνονται στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των αιγών και των δύο φύλων που βρίσκονται στο στάδιο ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τα αρσενικά που βρίσκονται στο στάδιο ανάπτυξης 25% στους ηπατικούς ιστούς (Εικόνα 36).

4.1.4 Εκτίμηση των επιπέδων υπεροξειδωσης των λιπιδίων (TBARS) σε ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής



Εικόνα 31. Εκτίμηση των επιπέδων υπεροξειδωσης των λιπιδίων στους ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης

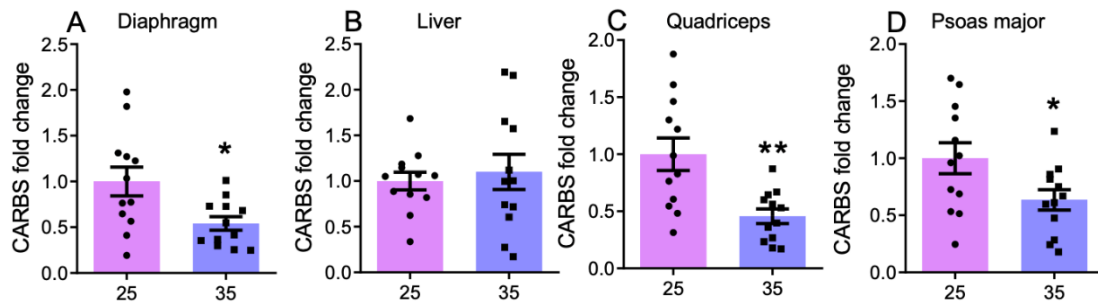
Στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρήθηκαν μειωμένα επίπεδα των τιμών του δείκτη των ζώνων του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με το στάδιο ανάπτυξης 25% στους ιστούς του ψοϊτή και του τετρακεφάλου (Εικόνα 37).



Εικόνα 32. Εκτίμηση των επιπέδων υπεροξειδωσής των λιπιδίων στους ιστούς αγών της εγχώριας φυλής: A) διάφραγμα, B) ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοϊτής (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, \$σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά).

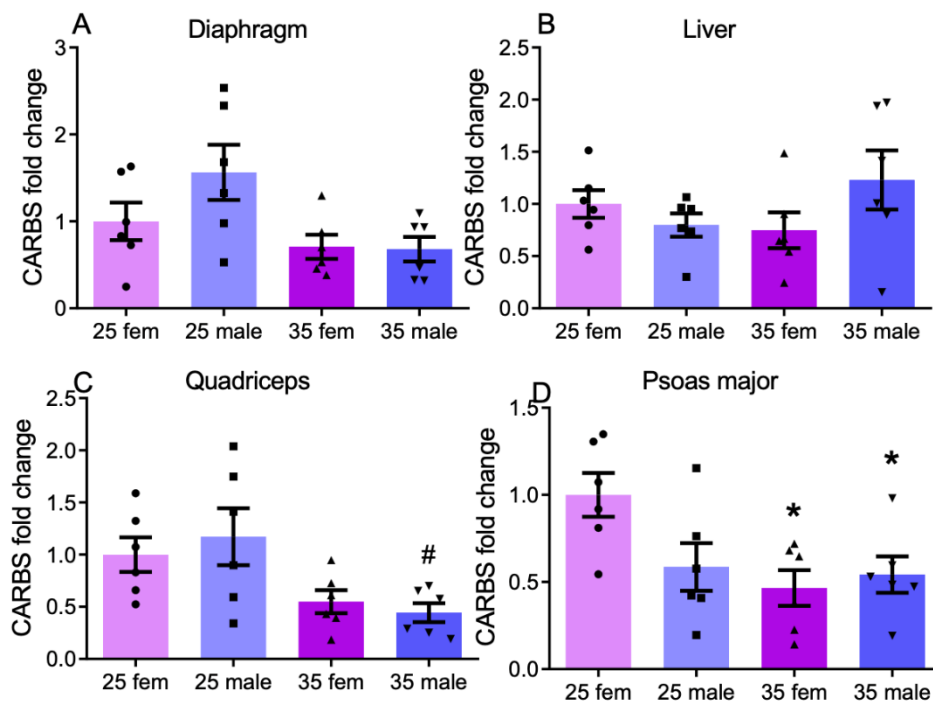
Με βάση τα αποτελέσματα των παραπάνω διαγραμμάτων μπορούν να εξαχθούν οι εξής στατιστικά σημαντικές παρατηρήσεις: μείωση των επιπέδων υπεροξειδωσής των λιπιδίων στις αίγες του σταδίου ανάπτυξης 35% και των δύο φύλων σε σχέση με τα ζώα του σταδίου ανάπτυξης 25% στους ιστούς του ψοϊτή και του τετρακέφαλου, μείωση των επιπέδων υπεροξειδωσής των λιπιδίων στις θηλυκές αίγες του σταδίου ανάπτυξης 25% σε σχέση με τις αρσενικές αίγες του ίδιου σταδίου ανάπτυξης στους ιστούς του ήπατος, του τετρακέφαλου και του ψοϊτή καθώς επίσης και μείωση των επιπέδων υπεροξειδωσής των λιπιδίων στις αρσενικές αίγες του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με αυτές του σταδίου ανάπτυξης 25% (Εικόνα 38).

4.1.5 Εκτίμηση των επιπέδων πρωτεϊνικών καρβονυλίων (CARBS) σε ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής



Εικόνα 33. Εκτίμηση των επιπέδων πρωτεϊνικών καρβονυλίων στους ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης

Μετά από την μελέτη των παραπάνω διαγραμμάτων, παρουσιάζεται στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων πρωτεϊνικών καρβονυλίων στα ζώα του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τα ζώα του σταδίου ανάπτυξης 25% στους ιστούς του διαφράγματος, του τετρακεφάλου και του ψοίτη (Εικόνα 39).



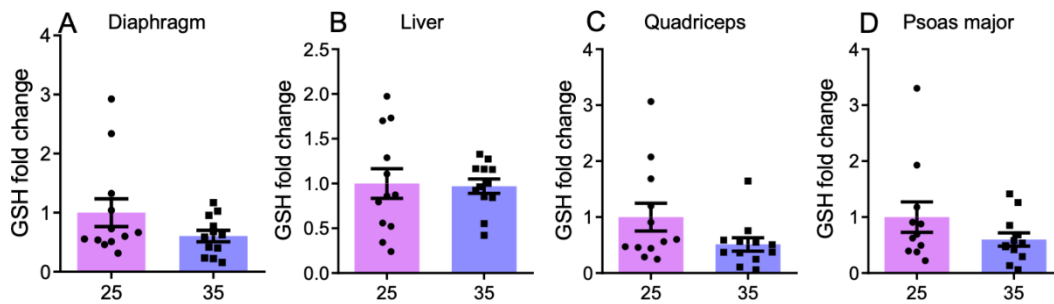
Εικόνα 34. Εκτίμηση των επιπέδων πρωτεϊνικών καρβονυλίων στους ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, ∇σε σύγκριση με τα 35).

Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των παραπάνω διαγραμμάτων παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων των πρωτεϊνικών καρβονυλίων των αιγών του σταδίου ανάπτυξης 35% και των δύο φύλων σε σύγκριση με τις αίγες του σταδίου

ανάπτυξης 25%. Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων των πρωτεϊνικών καρβονυλίων των αρσενικών αιγών του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τις αρσενικές αίγες του σταδίου ανάπτυξης 25% στους ιστούς του τετρακέφαλου και των θηλυκών αιγών του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τις θηλυκές αίγες του σταδίου ανάπτυξης 25% στους ιστούς του ψοίτη (Εικόνα 40).

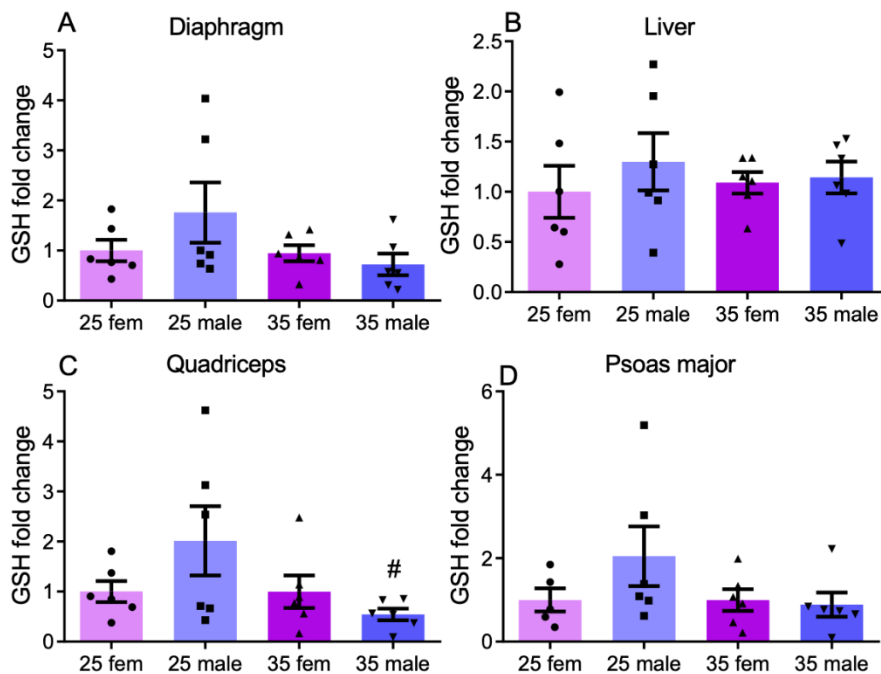
4.2 Αποτελέσματα φασματοφωτομετρικών μετρήσεων των δεικτών του οξειδωτικού στρες στους ιστούς ήπατος και μυός (διάφραγμα, τετρακέφαλος, ψοϊτής) σε πρόβατα της φυλής Χίου

4.2.1 Εκτίμηση των επιπέδων της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) σε ιστούς αιγών της εγχώριας φυλής



Εικόνα 35. Εκτίμηση των επιπέδων ανηγμένης GSH στους ιστούς προβάτων της φυλής Χίου: Α) διάφραγμα, Β) ήπαρ, C) τετρακέφαλος, D) ψοϊτής.

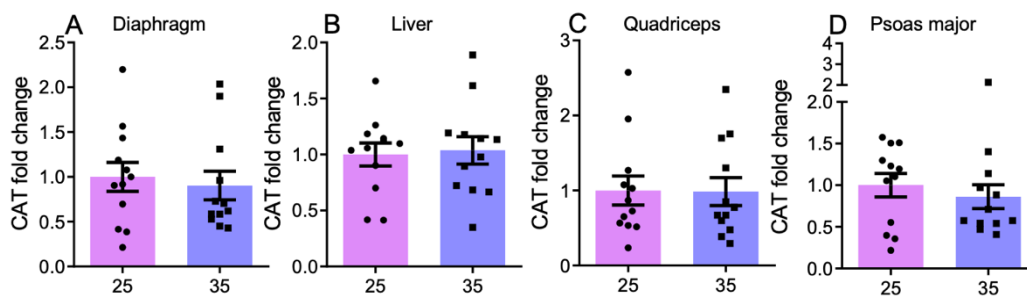
Στα παραπάνω διαγράμματα δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική μεταβολή των επιπέδων της ανηγμένης γλουταθειόνης (Εικόνα 41).



Εικόνα 36. Εκτίμηση των επιπέδων ανηγμένης GSH στους ιστούς προβάτων της φυλής Χίου: Α) διάφραγμα, Β) ήπαρ, C) τετρακέφαλος, D) ψοϊτής. (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, §σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά).

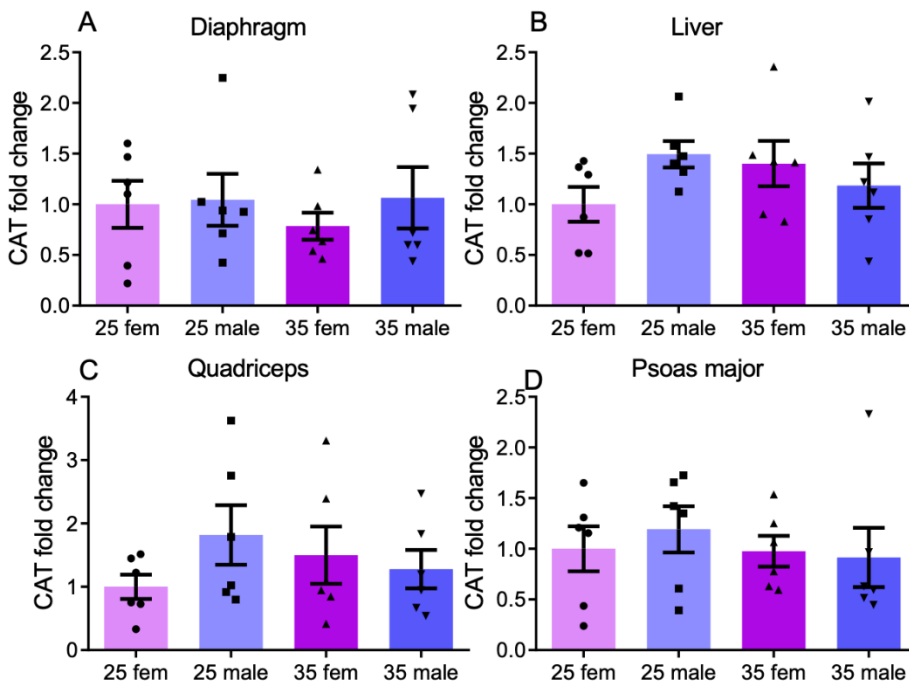
Σύμφωνα με τα παραπάνω διαγράμματα σημειώθηκε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της ανηγμένης γλουταθειόνης στα αρσενικά πρόβατα του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τα αρσενικά πρόβατα του σταδίου ανάπτυξης 25% στους ιστούς του τετρακεφάλου (Εικόνα 42).

4.2.2 Εκτίμηση του ρυθμού αποικοδόμησης του H₂O₂ σε ιστούς προβάτων φυλής Χίου



Εικόνα 37. Εκτίμηση του ρυθμού αποικοδόμησης του H₂O₂ στους ιστούς προβάτων της φυλής Χίου: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης.

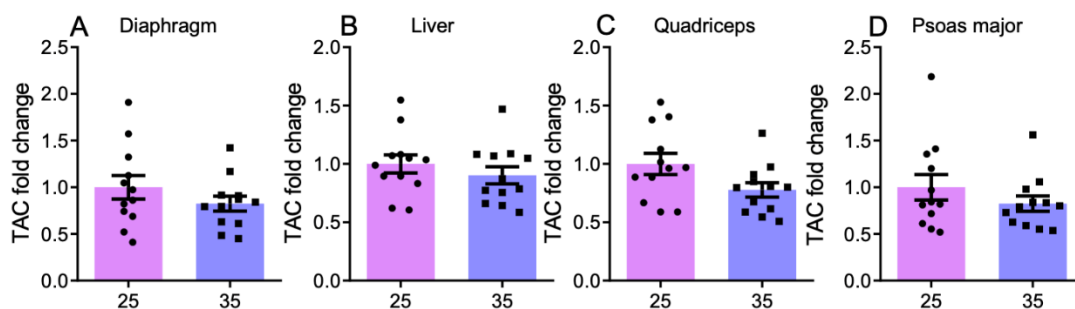
Στα παραπάνω διαγράμματα δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική μεταβολή των επιπέδων του ρυθμού αποικοδόμησης του H₂O₂ (Εικόνα 43).



Εικόνα 38. Εκτίμηση του ρυθμού αποικοδόμησης του H₂O₂ στους ιστούς προβάτων της φυλής Χίου: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης. (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, \$σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά).

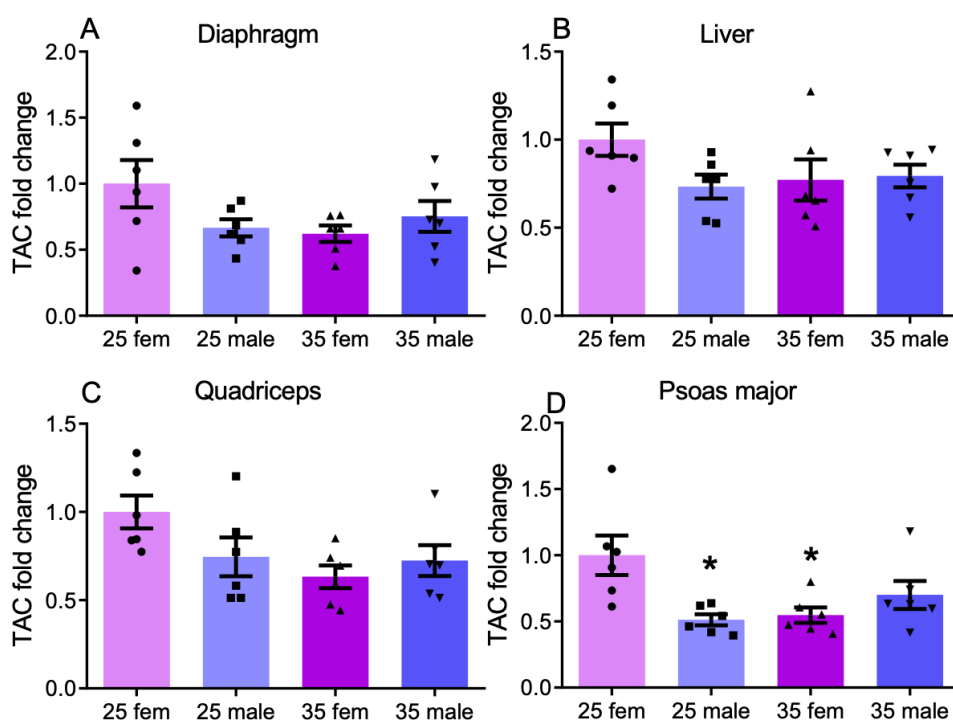
Στα παραπάνω διαγράμματα δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική μεταβολή των επιπέδων του ρυθμού αποικοδόμησης του H₂O₂ (Εικόνα 44).

4.2.3 Εκτίμηση των επιπέδων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) σε ιστούς προβάτων φυλής Χίου



Εικόνα 39. Εκτίμηση των επιπέδων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) στους ιστούς προβάτων της φυλής Χίου: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης

Στα παραπάνω διαγράμματα δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική μεταβολή των επιπέδων του δείκτη TAC (Εικόνα 45).

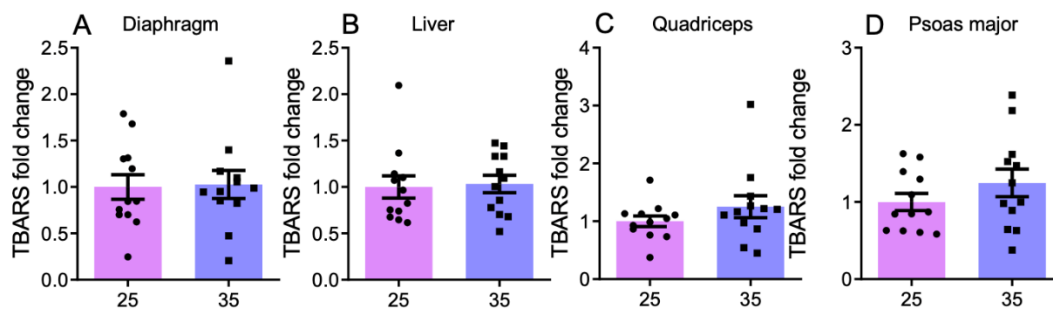


Εικόνα 40. Εκτίμηση των επιπέδων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) στους ιστούς προβάτων της φυλής Χίου: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης. (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, §σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά)

Μετά από την μελέτη των παραπάνω διαγραμμάτων, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στα θηλυκά πρόβατα του σταδίου ανάπτυξης 25% σε σύγκριση με τα αρσενικά πρόβατα του

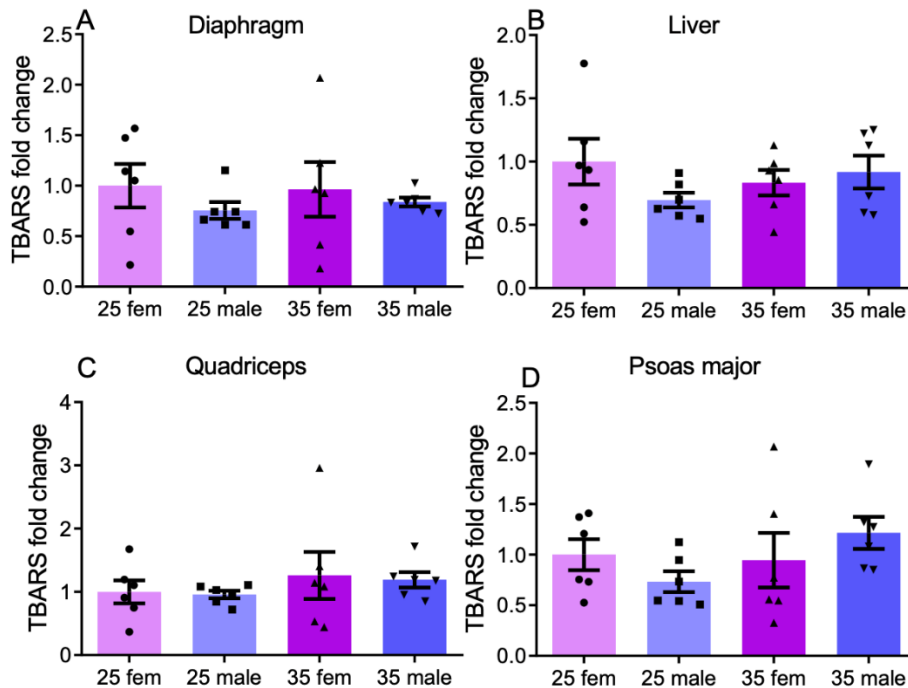
σταδίου ανάπτυξης 25% στους ιστούς του ψοϊτή. Επιπλέον, σημειώθηκε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στα θηλυκά του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τα θηλυκά του σταδίου ανάπτυξης 25% στους ιστούς του ψοϊτή (Εικόνα 46).

4.2.4 Εκτίμηση των επιπέδων υπεροξειδωσης των λιπιδίων (TBARS) σε ιστούς προβάτων φυλής Χίου



Εικόνα 41. Εκτίμηση των επιπέδων υπεροξειδωσης των λιπιδίων στους ιστούς προβάτων της φυλής Χίου: Α) διάφραγμα, Β) ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοϊτής.

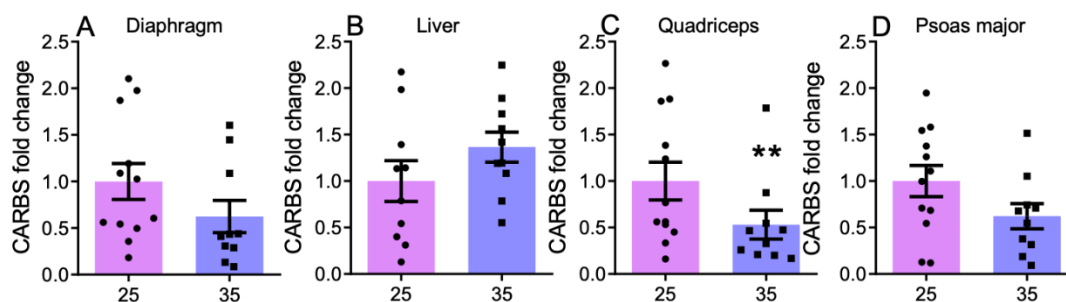
Στα παραπάνω διαγράμματα δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική μεταβολή των επιπέδων του δείκτη TBARS (Εικόνα 47).



Εικόνα 42. Εκτίμηση των επιπέδων υπεροξειδωσης των λιπιδίων στους ιστούς προβάτων της φυλής Χίου: Α) διάφραγμα, Β) ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοϊτής. . (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, \$σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά).

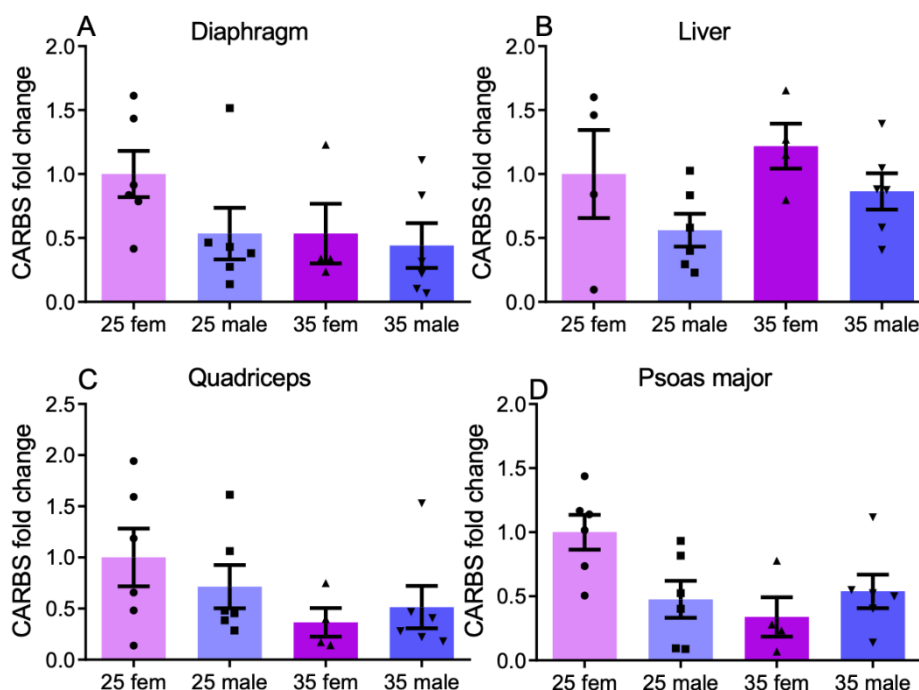
Στα παραπάνω διαγράμματα δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική μεταβολή των επιπέδων του δείκτη TBARS (Εικόνα 48).

4.2.5 Εκτίμηση των επιπέδων πρωτεϊνικών καρβονυλίων (CARBS) σε ιστούς προβάτων φυλής Χίου



Εικόνα 43. Εκτίμηση των επιπέδων πρωτεϊνικών καρβονυλίων στους ιστούς προβάτων της φυλής Χίου: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης

Στατιστικά σημαντικά μειωμένα εμφανίστηκαν τα επίπεδα πρωτεϊνικών καρβονυλίων στα ζώα του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τα ζώα του σταδίου ανάπτυξης 25% στους ιστούς του τετρακεφάλου (Εικόνα 49).

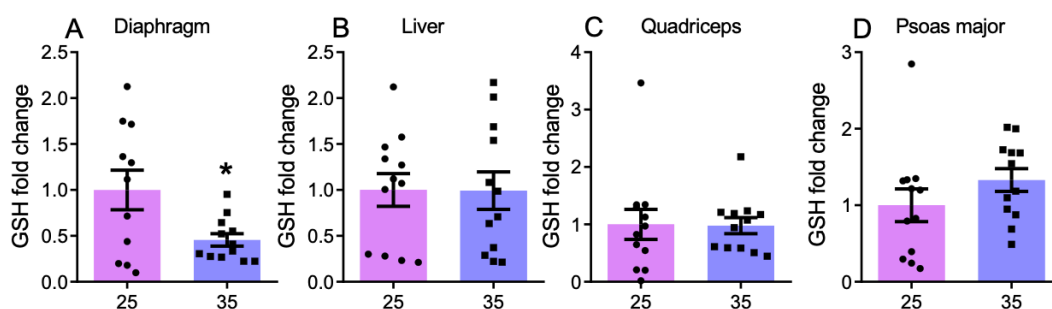


Εικόνα 44. Εκτίμηση των επιπέδων πρωτεϊνικών καρβονυλίων στους ιστούς προβάτων της φυλής Χίου: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης. (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, \$σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά)

Στα παραπάνω διαγράμματα δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική μεταβολή των επιπέδων του δείκτη CARBS (Εικόνα 50).

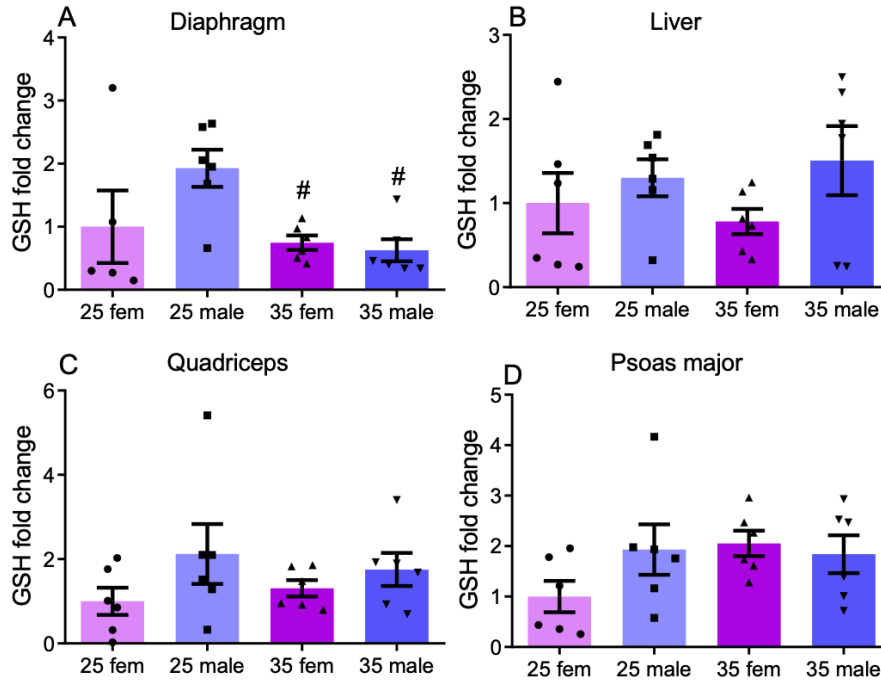
4.3 Αποτελέσματα φασματοφωτομετρικών μετρήσεων των δεικτών του οξειδωτικού στρες στους ιστούς ήπατος και μυός (διάφραγμα, τετρακέφαλος, ψοϊτης) σε πρόβατα εγχώριων διασταυρωμένων φυλών

4.3.1 Εκτίμηση των επιπέδων της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) σε ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών



Εικόνα 45. Εκτίμηση των επιπέδων ανηγμένης GSH στους ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών: Α) διάφραγμα, Β) ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοϊτης

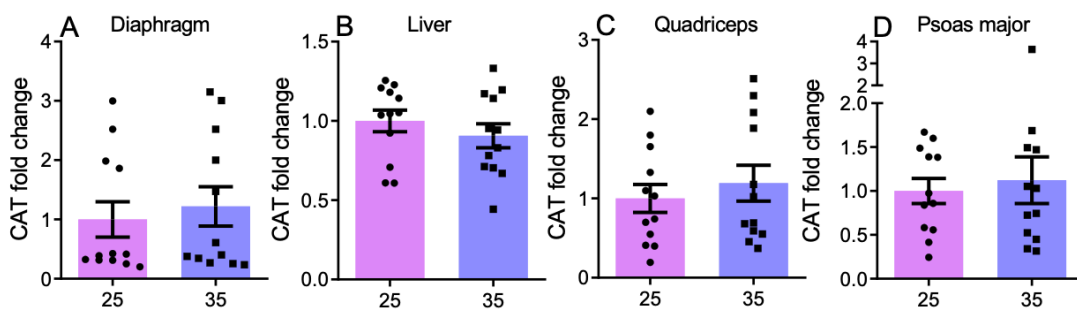
Στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικά μειωμένα επίπεδα της ανηγμένης γλουταθειόνης στα ζώα που ανήκουν στο στάδιο ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τα ζώα που ανήκουν στο στάδιο ανάπτυξης 25% στους ιστούς του διαφράγματος (Εικόνα 51).



Εικόνα 46. Εκτίμηση των επιπέδων ανηγμένης GSH στους ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών: A) διάφραγμα, B) ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης. (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, \$σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά).

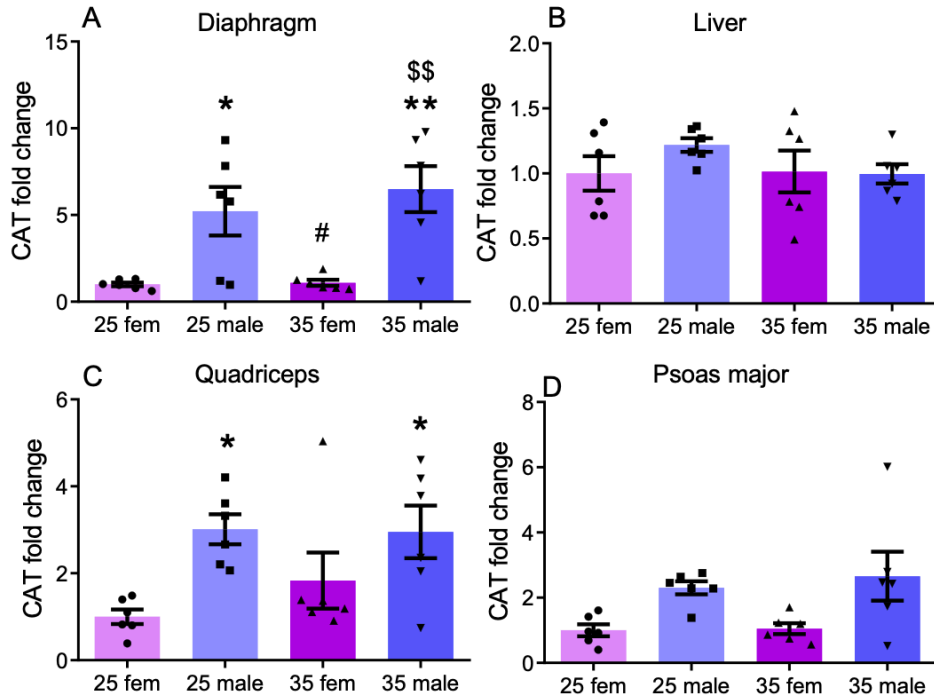
Σε συμφωνία με τα παραπάνω διαγράμματα στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της ανηγμένης γλουταθειόνης σημειώθηκε στα αρσενικά που ανήκουν στο στάδιο ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τα αρσενικά του σταδίου ανάπτυξης 25% στους ιστούς του διαφράγματος (Εικόνα 52).

4.3.2 Εκτίμηση του ρυθμού αποικοδόμησης του H_2O_2 σε ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών



Εικόνα 47. Εκτίμηση του ρυθμού αποικοδόμησης του H_2O_2 στους ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών: A) διάφραγμα, B) ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης.

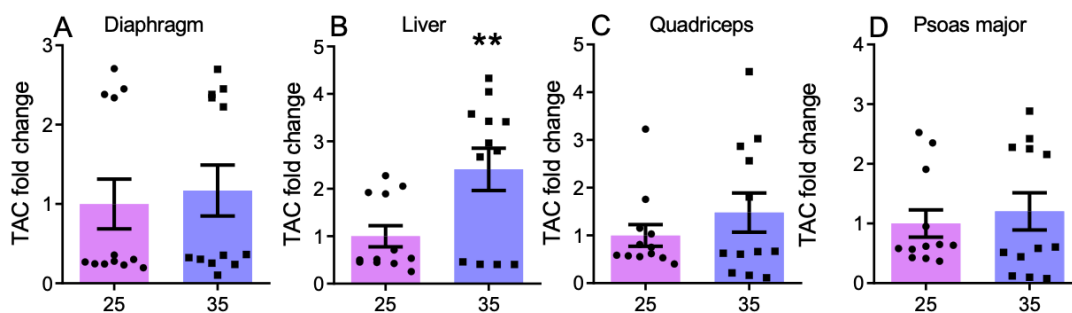
Στα παραπάνω διαγράμματα δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική μεταβολή των επιπέδων του ρυθμού αποικοδόμησης του H_2O_2 . (Εικόνα 53)



Εικόνα 48. Εκτίμηση του ρυθμού αποικοδόμησης του H_2O_2 στους ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης. (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, \$\$σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά)

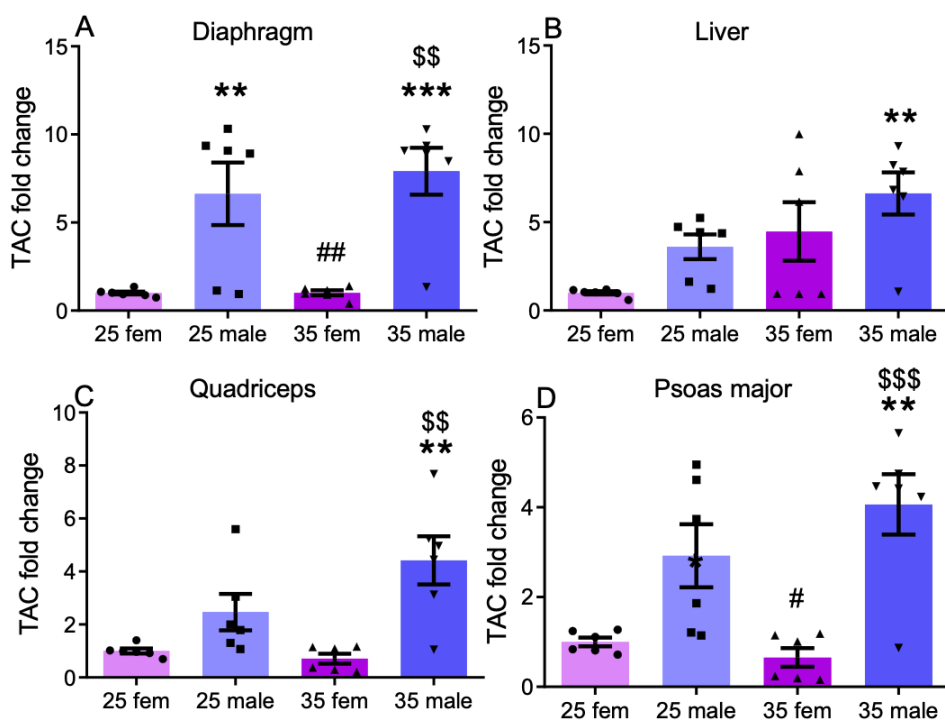
Στα παραπάνω διαγράμματα παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα ρυθμού αποικοδόμησης του H_2O_2 στα θηλυκά σε σύγκριση με τα αρσενικά πρόβατα στους ιστούς του διαφράγματος και των δύο σταδίων ανάπτυξης. Επιπλέον, σημειώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων του ρυθμού αποικοδόμησης του H_2O_2 στα αρσενικά του σταδίου ανάπτυξης 25% σε σύγκριση με τα θηλυκά του ίδιου σταδίου ανάπτυξης στους ιστούς του τετρακεφάλου (Εικόνα 54).

4.3.3 Εκτίμηση των επιπέδων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) σε ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών



Εικόνα 49. Εκτίμηση των επιπέδων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) στους ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης

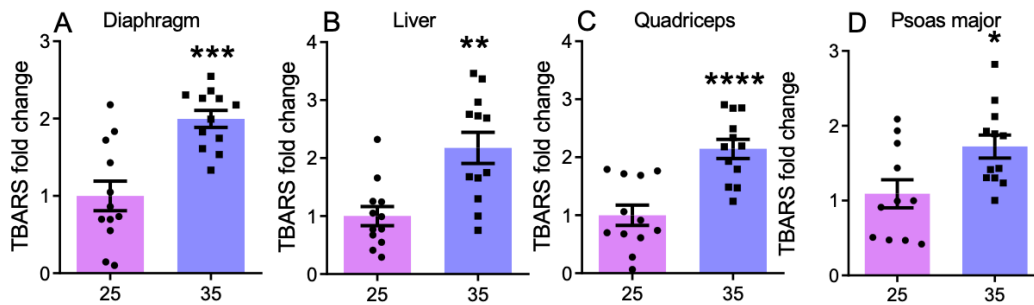
Σύμφωνα με τα παραπάνω διαγράμματα σημειώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στα πρόβατα που ανήκουν στο στάδιο ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τα πρόβατα που ανήκουν στο στάδιο ανάπτυξης 25% στους ηπατικούς ιστούς (Εικόνα 55).



Εικόνα 50. Εκτίμηση των επιπέδων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) στους ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτη. (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, \$σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά)

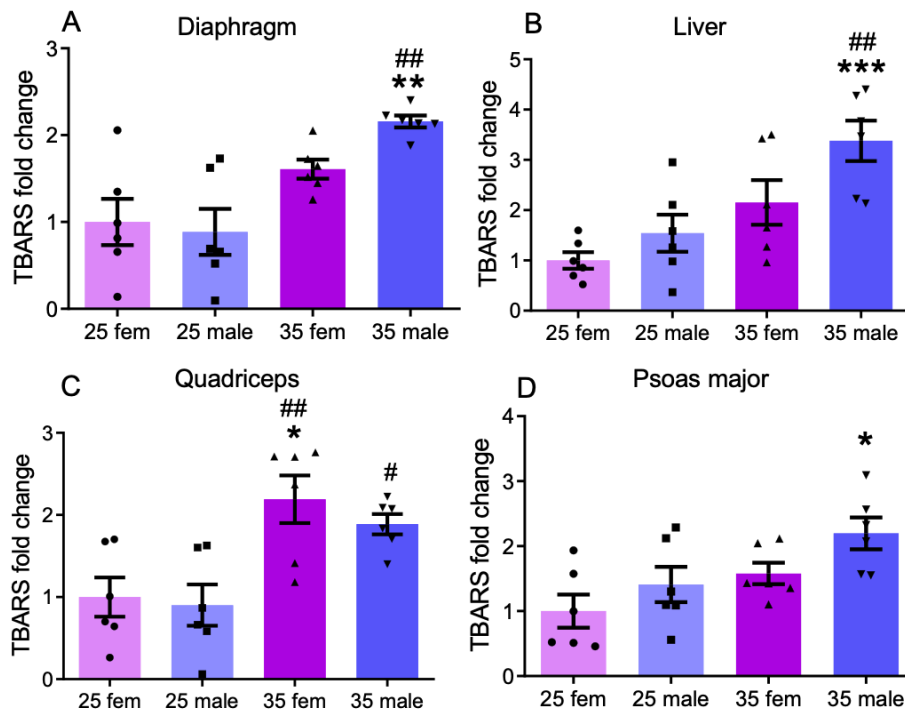
Σύμφωνα με τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στα αρσενικά πρόβατα σε σύγκριση με τα θηλυκά πρόβατα στους ιστούς του διαφράγματος καθώς επίσης και αυξημένα επίπεδα ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στα αρσενικά πρόβατα του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σχέση με τα θηλυκά του αντίστοιχου σταδίου ανάπτυξης στους ιστούς του τετρακεφάλου και του ψοίτη (Εικόνα 56).

4.3.4 Εκτίμηση των επιπέδων υπεροξειδωσης των λιπιδίων (TBARS) σε ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών



Εικόνα 51. Εκτίμηση των επιπέδων υπεροξειδωσης των λιπιδίων στους ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης.

Στα παραπάνω διαγράμματα, φάνηκε μείωση των επιπέδων υπεροξειδωσης των λιπιδίων στα πρόβατα που ανήκουν στο στάδιο ανάπτυξης 25% σε όλους τους ιστούς που μελετήθηκαν (Εικόνα 57).

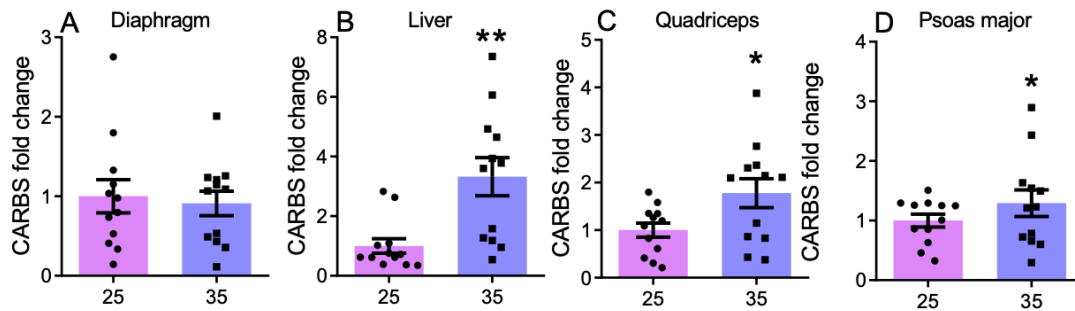


Εικόνα 52. Εκτίμηση των επιπέδων υπεροξειδωσης των λιπιδίων στους ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης. (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, §σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά).

Σύμφωνα με τα παραπάνω διαγράμματα στα επίπεδα υπεροξειδωσης των λιπιδίων σημειώθηκε αύξηση στα αρσενικά πρόβατα που ανήκουν στο στάδιο ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τα αρσενικά που ανήκουν στο στάδιο ανάπτυξης 25% στους ιστούς του ήπατος, του διαφράγματος και του τετρακεφάλου. Επιπλέον, αυξημένα επίπεδα υπεροξειδωσης λιπιδίων παρατηρήθηκαν στα θηλυκά πρόβατα που ανήκουν στο

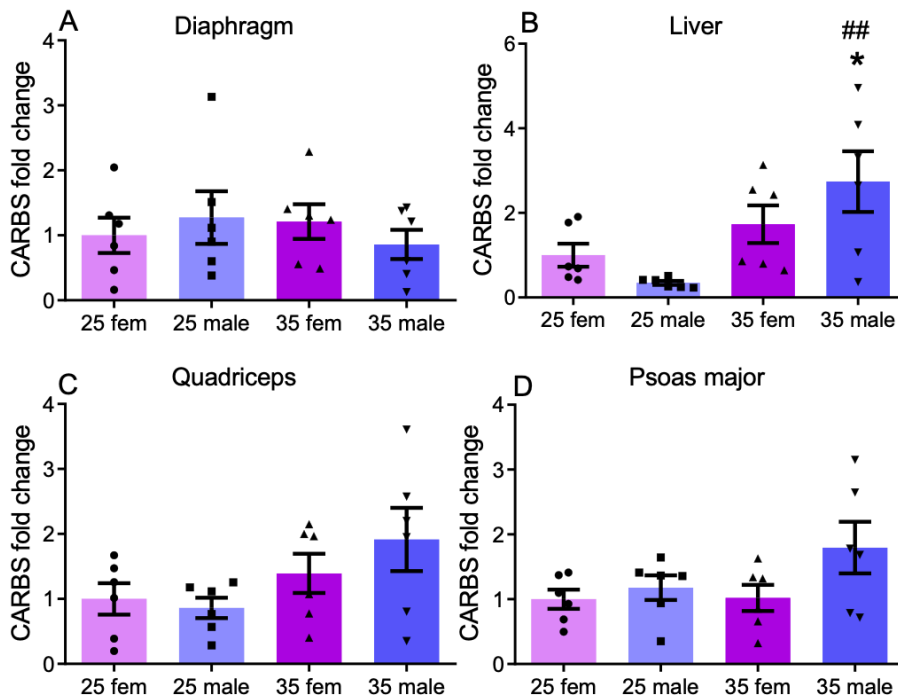
στάδιο ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τα θηλυκά που ανήκουν στο στάδιο ανάπτυξης 25% στους ιστούς του τετρακεφάλου (Εικόνα 58).

4.3.5 Εκτίμηση των επιπέδων πρωτεϊνικών καρβονυλίων (CARBS) σε ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών



Εικόνα 53. Εκτίμηση των επιπέδων πρωτεϊνικών καρβονυλίων στους ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης

Στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων των πρωτεϊνικών καρβονυλίων παρατηρήθηκε στα πρόβατα που ανήκουν στο στάδιο ανάπτυξης 25% σε σύγκριση με τα ζώα που ανήκουν στο στάδιο 35% στους ιστούς του ήπατος, του τετρακεφάλου και του ψοίτη (Εικόνα 59).



Εικόνα 54. Εκτίμηση των επιπέδων πρωτεϊνικών καρβονυλίων στους ιστούς προβάτων εγχώριων διασταυρωμένων φυλών: Α)διάφραγμα, Β)ήπαρ C) τετρακέφαλος D) ψοίτης (στατιστικά σημαντικές διαφορές: *σε σύγκριση με τα 25% θηλυκά, #σε σύγκριση με τα 25% αρσενικά, †σε σύγκριση με τα 35% θηλυκά).

Τα επίπεδα πρωτεϊνικών καρβονυλίων σημείωσαν αύξηση στα αρσενικά πρόβατα που ανήκουν στο στάδιο ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τα αρσενικά ζώα που ανήκουν στο στάδιο 25% στα ηπατικά δείγματα.

4.4 Αποτελέσματα κυτταροκαλλιιεργειών

4.4.1 ΧΤΤ

Μέσω της μεθόδου ΧΤΤ προσδιορίστηκαν οι κυτταροτοξικές συγκεντρώσεις του ομογενοποιημάτος προκειμένου να ακολουθήσει ο υπόλοιπος πειραματικός σχεδιασμός. Οι συγκεντρώσεις οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν προσδιορίστηκαν σύμφωνα με την συγκέντρωση πρωτεΐνης των ομογενοποιημάτων. Το εύρος συγκεντρώσεων πρωτεΐνης που χρησιμοποιήθηκε ήταν 8-66 mg/ml. Το κατώφλι θνητότητας που χρησιμοποιήθηκε είχε εύρος 20-30%

Τα δείγματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις και τις τιμές θνησιμότητας απεικονίζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 11):

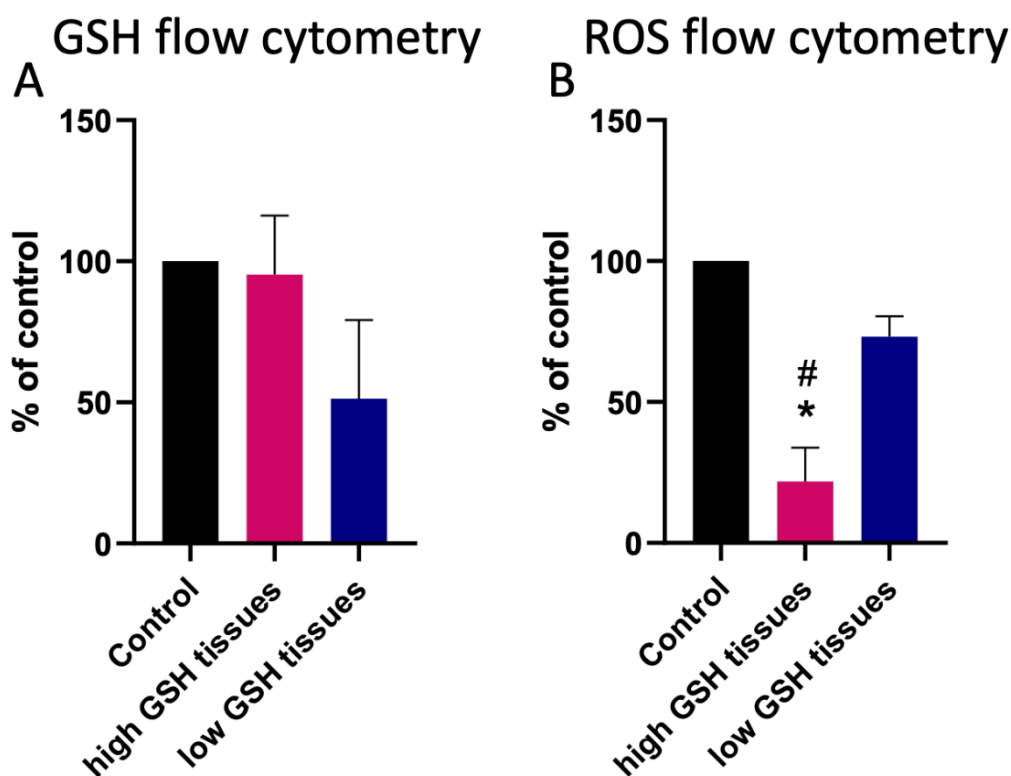
Πίνακας 11. Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για την χορήγηση του ομογενοποιημάτος στις κυτταρικές σειρές. Στην πρώτη στήλη αναγράφεται το όνομα του δείγματος. Στις επόμενες τρεις στήλες αναγράφεται η παρατηρούμενη θνησιμότητα % μετά από χορήγηση ομογενοποιημάτος 3 διαφορετικών συγκεντρώσεων (33, 16, 8) ml/ml. Τα κελιά με το πιο σκούρο μπλε υπογραμμίζουν τις συγκεντρώσεις κάθε ομογενοποιημάτος που χρησιμοποιήθηκε αλλά και την παρατηρούμενη κυτταροτοξικότητα τους εκφρασμένη σε ποσοστό %.

Samples	Protein concentration (mg/ml)		
	33	16	8
	Observed cytotoxicity		
ΓΗ3	37,36	22,67	4,83
ΓΗ5	33,68	27,49	20,08
ΓΨ4	17,75	4,27	8,73
ΓΤ5	26,39	20,26	5,76
ΓΔ3	27,13	30,98	20,15
ΓΗ4	55,01	18,77	1,02
ΓΤ3	25,09	1,48	0,54
ΓΨ5	27,98	20,09	14,05
Τ18	23,71	20,15	19,08
Η18	47,57	24,85	12,03

4.4.2 Αποτίμηση της επίδρασης των ομογενοποιημάτων από τους ιστούς των αιγοπροβάτων στα ενδογενή επίπεδα GSH και ROS της κυτταρικής σειράς HepG2 μέσω κυτταρομετρίας ροής

Στα ενδογενή επίπεδα γλουταθειόνης των κυττάρων δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική μεταβολή στα δείγματα κυττάρων ελέγχου στα οποία χορηγήθηκε ομογενοποιημάτα ιστών προβάτων των δύο κατηγοριών, υψηλών επιπέδων γλουταθειόνης και χαμηλών επιπέδων γλουταθειόνης, όπως αυτά

προσδιορίστηκαν από τη φωτομετρική μέθοδο προηγουμένως, σε σύγκριση με το δείγμα έλεγχου που δεν περιέχει ομογενοποίηση. Ωστόσο, όσον αφορά τα ενδογενή επίπεδα ROS των κυττάρων παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων τους στα δείγματα που χορηγήθηκε ομογενοποίηση ιστού προβάτων που χαρακτηρίζονταν από υψηλά επίπεδα γλουταθειόνης σε σύγκριση με το δείγμα ελέγχου. Ταυτόχρονα τα επίπεδα ROS στα κύτταρα της ομάδας που έγινε χορήγηση ιστών με υψηλά επίπεδα GSH εμφανίζονται στατιστικά σημαντικά μειωμένα σε σύγκριση με τα επίπεδα στα κύτταρα της ομάδας ιστών που έχει χαμηλά επίπεδα GSH. Επιπλέον είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι τα κύτταρα που χορηγήθηκαν δείγματα ιστών με χαμηλά επίπεδα γλουταθειόνης δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση σε σχέση με τα κύτταρα ελέγχου.



Εικόνα 55. (A): Σύγκριση των επιπέδων ενδογενούς GSH των κυττάρων μετά από χορήγηση ομογενοποιημένου δειγμάτων ιστών αιγοπροβάτων με χαμηλά και υψηλά επίπεδα GSH με δείγματα ελέγχου. (B): Σύγκριση των ενδογενών επιπέδων ROS των κυττάρων μετά από χορήγηση ομογενοποιημένου δειγμάτων ιστών αιγοπροβάτων με χαμηλά και υψηλά επίπεδα GSH με δείγματα ελέγχου.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σύμφωνα με τον Οργανισμό Food and Agriculture Organization of the United Nations οι ανάγκες της κατανάλωσης κρέατος σε παγκόσμια κλίμακα φαίνεται πως έχουν διπλασιαστεί τα τελευταία 50 χρόνια και εκτιμάται πως θα αυξηθεί ακόμα 10% την επερχόμενη δεκαετία (Skaperda et al., 2019). Επομένως, μια από τις βασικές προκλήσεις της σημερινής κοινωνίας είναι η ανάπτυξη του κτηνοτροφικού τομέα μέσω την βελτίωσης των συνθηκών της εκτροφής των ζώων αλλά και της διασφάλισης παραγωγής υψηλής ποιότητας προϊόντων (Skaperda et al., 2019). Σε εθνικό επίπεδο, η κτηνοτροφία έχει ενεργή συμβολή στην περιφερειακή αγροτική ανάπτυξη αλλά και στην διατήρηση κοινωνικού ιστού στις επαρχίες (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων-Ελληνική Κτηνοτροφία, 2011). Τα παραγόμενα κτηνοτροφικά προϊόντα συμπεριλαμβάνουν: κρέας, γάλα, γαλακτοκομικά προϊόντα, μαλλί. Επίσης, τα παραπροϊόντα της κτηνοτροφίας (δέρμα, κέρατα, κοπριά) μπορούν εξίσου να χρησιμοποιηθούν. Γίνεται λοιπόν αντιληπτό από τα παραπάνω πως για την παραγωγή υψηλής ποιότητας κτηνοτροφικών προϊόντων είναι απαραίτητη η διατήρηση σε υψηλό επίπεδο της ευζωίας των παραγωγικών ζώων.

Τα τελευταία 40 χρόνια έχει θεσπιστεί από την Ε.Ε. σαφές νομοθετικό πλαίσιο σχετικά με την ευζωία των ζώων. Οι λόγοι που συντρέχουν στην διαμόρφωση του πλαισίου αυτού είναι κυρίως ανθρωποκεντρικοί αλλά και οικονομικοί (Skaperda et al., 2019). Πιο αναλυτικά, μέσω της εφαρμογής κανόνων που στοχεύουν στην βελτιστοποίηση της εκτροφής των ζώων και της συνολικής ευζωίας τους, οδηγούν σε τελικά προϊόντα με αυξημένη προστιθέμενη αξία αλλά και ταυτόχρονα υπάρχει μεγαλύτερη εμπιστοσύνη των καταναλωτών για την ασφάλεια και την ποιότητα αυτών των προϊόντων.

Ωστόσο, παρά την αυστηρότητα της νομοθεσίας της Ε.Ε. αναφέρονται περιπτώσεις προσπάθειας παραβίασης των κανόνων. Ως αποτέλεσμα της ανεξέλεγκτης εκτροφής των ζώων, έχει γίνει εκτεταμένη αναφορά στην βιβλιογραφία σχετικά με τις ασθένειες που προκαλούνται. Μεταξύ αυτών των παθολογικών καταστάσεων συγκαταλέγονται: σήψη, μαστίτιδα, εντερίτιδα, πνευμονία, παθήσεις των αρθρώσεων, φλεγμονή της αναπνευστικής οδού (Lykkesfeldt and Svendsen, 2007). Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις πως το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται στην πλειοψηφία των παθολογικών αυτών

καταστάσεων (Lykkesfeldt and Svendsen, 2007). Με σκοπό τον προσδιορισμό του επιπέδου του οξειδωτικού στρες στα κτηνοτροφικά ζώα αλλά και την συμβολή του στη διατήρηση της ευζωίας των παραγωγικών ζώων, ένα μεγάλο εύρος βιοδεικτών έχει χρησιμοποιηθεί (Skaperda et al., 2019).

Αρκετές κλινικές μελέτες έχουν διεξαχθεί με σκοπό την διερεύνηση της επίδρασης χορήγησης αντιοξειδωτικών στην πρόληψη των ασθενειών (Smith et al., 1984; Weiss et al., 1990). Επιπλέον, ερευνητικές μελέτες έχουν ασχοληθεί με την επίδραση των αντιοξειδωτικών σε πρόβατα και βοοειδή προσδίδοντας υπεραξία στα παραγόμενα προϊόντα (κρέας και γάλα) (Lobon et al., 2017, Castillo et al., 2013). Σχετικά αποτελέσματα σχετικά με την βελτίωση του οξειδοαναγωγικού προφίλ έχουν προκύψει από πολλές έρευνες συμπεριλαμβανομένου και αρκετές της ομάδας του εργαστηρίου μας. Πιο αναλυτικά, χορήγηση τροφής εμπλουτισμένης με στέμφυλα έδειξε σημαντική βελτίωση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών σχεδόν στους περισσότερους ιστούς χοίρων (Kafantaris et al., 2018), βελτίωση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης σε κοτόπουλα (Makri et al., 2017), και ενισχυμένη ανάπτυξη προβιοτικών βακτηρίων και αναστολή της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών σε αρνιά (Kafantaris et al., 2017). Το ενδιαφέρον έχει στραφεί τα τελευταία χρόνια στην χορήγηση ήπιων προοξειδωτικών (όπως είναι οι πολυφαινόλες) με σκοπό την ενεργοποίηση του NrF2 και την αύξηση των επιπέδων της ανηγμένης GSH και άλλων αντιοξειδωτικών ενζύμων (Gutteridge & Halliwell, 2018).

Παρά την πολύ καλά εδραιωμένη συσχέτιση μεταξύ του οξειδωτικού στρες και των διάφορων ασθενειών η προσπάθεια αναχαίτησής τους μέσω της χορήγησης αντιοξειδωτικών φαίνεται αποθαρρυντική (Lykkesfeldt and Svendsen, 2007). Συμπερασματικά, δεν έχει καταστεί εφικτή η άμεση σύνδεση των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων με χαμηλότερη πιθανότητα εκδήλωσης ασθενειών ή θανάτου (Lykkesfeldt and Svendsen, 2007). Ωστόσο, σύμφωνα με τις τελευταίες επικρατούσες μελέτες, η ανεξέλεγκτη χορήγηση αντιοξειδωτικών είναι πιθανό να επηρεάσει αρνητικά την καλή διαβίωση των ζώων μέσω της δράσης αυτών ως προοξειδωτικών παραγόντων (Bouwstra et al., 2010a, b, Rizzo et al., 2013, Abuelo et al., 2015). Ταυτόχρονα η βιοδιαθεσιμότητα των αντιοξειδωτικών όπως αυτή των πολυφαινολών εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως ο τύπος της πολυφαινόλης, η επιλεκτική μεταφορά στον κάθε ιστό καθώς και η φυσιολογική κατάσταση του ζώου, για αυτό και

κρίνεται πολύ δύσκολη η εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων για την επίδρασή τους (Hashem et al., 2020). Περαιτέρω έρευνα στο συγκεκριμένο τομέα απαιτείται για την διαλεύκανση αυτής της συσχέτισης (Lykkesfeldt and Svendsen, 2007).

Το καινοτόμο πρόγραμμα «GreQum» σχετίζεται με την εφαρμογή καινοτόμων τεχνολογιών με σκοπό την αύξηση της ανταγωνιστικότητας του ελληνικού κρέατος. Για τον σκοπό αυτό, αξίζει να διερευνηθεί η οξειδοαναγωγική κατάσταση του αίματος αλλά και οι διάφοροι ιστοί που προέρχονται από τα ίδια παραγωγικά ζώα ελληνικής εκτροφής. Το συγκεκριμένο πρόγραμμα πέρα από την μελέτη συγκεκριμένων δεικτών οξειδοαναγωγικής κατάστασης στο αίμα και στους ιστούς των ζώων αφορά και την διερεύνηση ποικίλων δεδομένων σχετικά με ποιοτικά χαρακτηριστικά του κρέατος των ίδιων ζώων. Στα παραπάνω δεδομένα ανήκουν τα θρεπτικά (περιεκτικότητα κορεσμένων/ακόρεστων λιπαρών) και οργανοληπτικά (χρώμα, γεύση, άρωμα, τρυφερότητα, ανάπτυξη και σύνθεση μυϊκών ινών) χαρακτηριστικά του κρέατος. Ταυτόχρονα λαμβάνονται υπόψη η κατάσταση της υγείας του ζώου, το φύλο και το στάδιο βιολογικής και σωματικής ανάπτυξης. Ως αποτέλεσμα της συλλογής των παραπάνω δεδομένων, θα σχηματιστεί μια γενική εικόνα που θα παρέχει χρήσιμες πληροφορίες σε παραγωγούς και καταναλωτές για το τελικό προϊόν από παραγωγικά ζώα τα οποία δεν έχουν υποστεί κανενός είδους παρεμβατική μέθοδο, γεγονός που προσδίδει στα αποτελέσματα του προγράμματος μεγαλύτερη αξία. Τέλος, τα δεδομένα που θα συλλεχθούν θα έχουν πρακτική εφαρμογή καθώς καθίσταται εφικτή η ανάδειξη της ποιότητας του ελληνικού κρέατος για τους καταναλωτές, η προστιθέμενη αξία στα παραγόμενα προϊόντα αλλά και η ενίσχυση του εξαγωγικού και αναπτυξιακού δυναμικού των συγκεκριμένων τροφίμων για τους παραγωγούς.

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή επικεντρώνεται κυρίως στον τομέα της αιγοπροβατοτροφίας και εκπονήθηκε στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών οργανισμών. Πιο συγκεκριμένα, αφορά την μελέτη της οξειδοαναγωγικής κατάσταση σε ιστούς ήπατος και μυός από 24 αίγες του είδους *Capra aegagrus hircus* και 48 πρόβατα του είδους *Ovis aries*. Οι δείκτες που συμπεριλήφθηκαν στην παραπάνω μελέτη ήταν οι εξής: ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH), ρυθμός αποικοδόμησης H₂O₂, ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC – Total Antioxidant Capacity), ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS – Thiobarbituric Acid Reactive Substances) και πρωτεϊνικά καρβονύλια (CARBS- Protein Carbonyls).

Αξίζει να σημειωθεί πως η επιλογή των συγκεκριμένων ιστών δεν έγινε τυχαία αλλά σύμφωνα με κάποια κριτήρια. Πιο αναλυτικά, το ήπαρ αποτελεί το κύριο μεταβολικό μέσο των ξενοβιοτικών ουσιών και αποτελεί κομβικό όργανο διαφόρων λειτουργιών όπως η πρωτεϊνοσύνθεση και η παραγωγή ουσιών που συμβάλουν στην πέψη. Επιπροσθέτως, το ήπαρ αποτελεί έναν από τους κύριους στόχους των δραστικών μορφών και ενδέχεται διάφοροι τύποι κυττάρων του να εκτίθενται σε μεγαλύτερο βαθμό ή να εμφανίζουν μεγαλύτερη ευαισθησία απέναντι στο οξειδωτικό στρες. Διάφορα μόρια κυτοκινών που μπορούν να παραχθούν από ηπατικά κύτταρα έχει παρατηρηθεί πως μπορεί να συμβάλουν στην εμφάνιση φλεγμονής ακόμα και απόπτωσης. Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω, φαίνεται πως στο ήπαρ ήταν αναγκαία η σύσταση ενός ισχυρού αντιοξειδωτικού συστήματος με σκοπό την διατήρηση του οξειδοαναγωγικού ισοζυγίου. (Sha Li et al., 2015). Όσον αφορά την επιλογή των υπόλοιπων ιστών, πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την καταναλωτική προτίμηση των προϊόντων κρέατος αλλά και με βάση τον διαφορετικό βαθμό οξειδωτικής καταπόνησης που υφίστανται οι ιστοί των παραγωγικών ζώων κατά την διάρκεια της ζωής τους. Πιο συγκεκριμένα ο διαφραγματικός μυς συμβάλει καθοριστικά στην διαδικασία της αναπνοής και υφίσταται υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες. Επίσης πολλές ασθένειες έχουν συσχετιστεί με την παραγωγή υψηλών επιπέδων ROS που συνέβαλαν στην υπερ- ή δυσλειτουργία του διαφράγματος (Zuo et al., 2014). Ο τετρακέφαλος μηριαίος μυς είναι ο πιο ογκώδης μυς του ανθρώπινου σώματος. Ευθύνεται για λειτουργίες όπως η διάρθρωση του γονάτου και η κάμψη του γονάτου. Το οξειδωτικό στρες που υφίσταται είναι μεγάλο ωστόσο δεν ξεπερνά αυτό του διαφράγματος (Bordoni & Varacallo, 2020). Τέλος, ο ψοϊτής μυς διατελεί κομβικό παράγοντα της κίνησης αλλά και της στατικής κατάστασης καθώς προσφέρει σταθερότητα στην σπονδυλική στήλη. Ο ψοϊτής είναι ο μυς που χαρακτηρίζεται από χαμηλότερα επίπεδα οξειδωτικούς στρες σε σύγκριση με όλους τους προαναφερόμενους.

Επιπροσθέτως, η επιλογή των συγκεκριμένων δεικτών πραγματοποιήθηκε καθώς συμβάλουν στην εκτίμηση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης των έμβιων οργανισμών και μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς και τους μηχανισμούς άμυνας τους. Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά την αξιολόγηση των επιπέδων της γλουταθειόνης, είναι ένας αξιόπιστος δείκτης καθώς η γλουταθειόνη αποτελεί βασικό μόριο της άμυνας του οργανισμού απέναντι στις

ελεύθερες ρίζες καθώς οξειδώνεται με σκοπό την αναγωγή τους. Λαμβάνοντας υπόψη τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα και των τριών φυλών αιγοπροβάτων που συμπεριλήφθηκαν στην προκειμένη εργασία παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα της γλουταθειόνης στις αίγες εγχώριας φυλής του σταδίου ανάπτυξης 25% σε όλους του ιστούς. Επιπλέον, παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων της γλουταθειόνης στα πρόβατα της φυλής Χίου του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με αυτά του σταδίου ανάπτυξης 25% στους ιστούς του τετρακεφάλου. Αντιστοίχως, παρόμοια αποτελέσματα μείωσης της γλουταθειόνης παρατηρήθηκαν στα πρόβατα της εγχώριας διασταυρωμένης φυλής στα ζώα του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με του 25% στους ιστούς του διαφράγματος. Συνολικά λοιπόν, παρατηρείται μια μείωση των επιπέδων του συγκεκριμένου δείκτη στα ζώα του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με αυτά του 25%. Το στάδιο του απογαλακτισμού αποτελεί περίοδο αυξημένου στρες για το νεογνό, κυρίως κατά τον αποχωρισμό του από την μητέρα μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένα επίπεδα οξειδωτικούς στρες και να καταστήσει τα ζώα περισσότερο επιρρεπή σε ασθένειες ακόμα και με τις πιο ήπιες μεθόδους απογαλακτισμού (Mattioli *et al.*, 2020). Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα της γλουταθειόνης στο στάδιο ανάπτυξης 25% μπορεί να οφείλονται στην αυξημένη περιεκτικότητα του γάλακτος των μηρυκαστικών σε αντιοξειδωτικές ουσίες (Khan *et al.*, 2019).

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε η ανάλυση των αποτελεσμάτων του δείκτη που δείχνει τον ρυθμό αποικοδόμησης του H_2O_2 και σύμφωνα με τα όσα αναφέρθηκαν και παραπάνω η αποικοδόμηση πραγματοποιείται από πληθώρα ενζύμων και μεταξύ αυτών η καταλάση. Σχετικά με την ανάλυση των αποτελεσμάτων, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του δείκτη στις θηλυκές αίγες της εγχώριας φυλής συγκριτικά με τις αρσενικές του σταδίου ανάπτυξης 35% στους ηπατικούς ιστούς. Αντιθέτως, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του δείκτη στα αρσενικά πρόβατα της εγχώριας διασταυρωμένης φυλής του σταδίου ανάπτυξης 25% σε σύγκριση με τα θηλυκά του ίδιου σταδίου ανάπτυξης στους ιστούς του τετρακεφάλου. Τα οιστρογόνα είναι ευρέως γνωστά ως αντιοξειδωτικά αλλά και για τις αντιοξειδωτικές τους ικανότητες και συσχετίζονται με την παρουσία φαινολικού δακτυλίου στο μόριο τους ο οποίος παρέχει την δυνατότητα της διακοπής της αλυσιδωτής αλυσίδας αντιδράσεων υπεροξειδωσής των λιπιδίων (Giergiel *et al.*, 2012). Έχει παρατηρηθεί πως τα επίπεδα της ενεργότητας της καταλάσης αυξάνονται υπό την επίδραση των στεροειδών ορμονών των ωοθηκών (Giergiel *et al.*, 2012). Επιπλέον,

έχει παρατηρηθεί ότι συνολικά οι φυλετικές ορμόνες μπορούν να δράσουν ως αντιοξειδωτικά. Ακόμα και η τεστοστερόνη, έχει φανεί πως έχει άμεσα αντιοξειδωτικά αποτελέσματα μέσω της αυξημένης ενεργότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων αλλά και μέσω της αύξησης των επιπέδων των βιταμινών συνεισφέροντας εμμέσως στην συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα (Demirbag, Yilmaz and Erel, 2005).

Ο επόμενος δείκτης που συνετέλεσε στην ανάλυση είναι η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC). Αναφέρεται στην συνολική ικανότητα των συστατικών των ιστών ως προς την εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών. Συνεπώς, αποτελεί μέτρο της συνολικής εκτίμησης της αντιοξειδωτικής κατάστασης του οργανισμού και οφείλεται στη συνεισφορά πολλών μορίων (π.χ. ουρικό οξύ). Μετά την στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε, παρατηρήθηκαν μειωμένα επίπεδα της TAC στο ήπαρ των θηλυκών αιγών της εγχώριας φυλής. Ωστόσο, στα ζώα που ανήκαν στο στάδιο ανάπτυξης 25% στα δείγματα των θηλυκών προβάτων της φυλής Χίου παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα σε σύγκριση με τα αρσενικά. Τέλος, όσον αφορά τα πρόβατα της εγχώριας διασταυρωμένης φυλής στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων της TAC σημειώθηκε στους ιστούς του διαφράγματος, του τετρακεφάλου και του ψοίτη των αρσενικών ζώων του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με τα θηλυκά του ίδιου σταδίου. Επίσης, αυξημένα ήταν τα επίπεδα του δείκτη στα ζώα του σταδίου ανάπτυξης 35% της συγκεκριμένη φυλής σε σύγκριση με αυτά του 25% στους ηπατικούς ιστούς. Ομοίως με την ανάλυση του δείκτη του ρυθμού αποικοδόμησης του H_2O_2 , η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα εμφανίζει άμεση συσχέτιση με τις φυλετικές ορμόνες. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως τα αυξημένα επίπεδα της TAC στα θηλυκά πιθανώς να συσχετίζονται με την παραγωγή οιστρογόνων ενώ στα αρσενικά με την αυξημένη παραγωγή τεστοστερόνης (Demirbag, Yilmaz and Erel, 2005). Αποτελέσματα από την φυλή αιγών Aardi παρουσιάζουν μια μικρή αύξηση στις τιμές της TAC από την 1^η έως την 4^η εβδομάδα ζωής των ζώων, όχι όμως στατιστικά σημαντική (Al-Hassan *et al.*, 2017). Σχετικά με την αύξηση που παρατηρήθηκε στα επίπεδα του δείκτη στο στάδιο ανάπτυξης 35% πιθανώς στην ανάπτυξη προσαρμοστικών αμυντικών μηχανισμών ενάντια σε αυτή την κατάσταση με απώτερο σκοπό την επαναφορά της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας και την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες.

Έπειτα, υπολογίστηκε ο βαθμός υπεροξειδωσίας των λιπιδίων μέσω του δείκτη TBARS. Η υπεροξειδωσία των λιπιδίων αποτελεί αξιόπιστη ένδειξη ύπαρξης

οξειδωτικού στρες και στον υπολογισμό του μπορούν να συμπεριληφθούν μέθοδοι ποσοτικοποίησης των πρωτογενών και δευτερογενών προϊόντων της υπεροξειδωσης. Σύμφωνα, με τα αποτελέσματα παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων του δείκτη στους ιστούς του ψοίτη των ζώων του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σύγκριση με αυτά του σταδίου ανάπτυξης 25% των αιγών της εγχώριας φυλής ανεξαρτήτου φύλου. Αντιθέτως, στα πρόβατα της εγχώριας διασταυρωμένης φυλής παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων υπεροξειδωσης σε όλους τους ιστούς των ζώων του σταδίου ανάπτυξης 25% και αύξηση τους στους σε όλους τους ιστούς των ζώων του σταδίου ανάπτυξης 35%. Η αύξηση των επιπέδων TBARS κατά το στάδιο ανάπτυξης 35% ενδεχομένως οφείλεται στον απογαλακτισμό των ζώων που συμβαίνει σε εκείνο το στάδιο και το αυξημένο οξειδωτικό στρες που υφίστανται τα ζώα (Buchet *et al.*, 2017). Αποτελέσματα που συλλέχθηκαν από την φυλή αιγών Aardi σημειώνουν μια άυξηση των επιπέδων TBARS μεταξύ της 2^{ης} και της 3^{ης} εβδομάδας των νεογνών (Al-Hassan *et al.*, 2017).

Ωστόσο, πολύ λίγες μελέτες έχουν διερευνήσει τις αλλαγές στην οξειδωτική κατάσταση κατά τη διάρκεια των πρώτων εβδομάδων των παραγωγικών ζώων (Abuelo *et al.*, 2019). Επομένως, η μείωση του δείκτη της υπεροξειδωσης των λιπιδίων κατά το στάδιο ανάπτυξης 25% ενδεχομένως να οφείλεται στην ενεργοποίηση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών άμυνας καθώς και στην χρήση των αυξημένων αντιοξειδωτικών μορίων του σταδίου αυτού για την απόσβεση των βλαβερών TBARS. Ωστόσο σε προηγούμενες μελέτες που διεξήχθησαν παρατηρήθηκε αυξημένο οξειδωτικό στρες στα νεογέννητα βοοειδή, εξαιτίας της παρατηρούμενης αύξησης στην υπεροξειδωση των λιπιδίων αμέσως μετά την γέννα (Gaál *et al.*, 2006; Albera and Kankofer, 2011).

Ο τελευταίος δείκτης που μελετήθηκε συσχετίζεται με την οξείδωση των πρωτεϊνών μέσω της μέτρησης των πρωτεϊνικών καρβονυλίων και καταδεικνύει το ποσοστό οξείδωσης που υφίστανται οι πρωτεΐνες των ιστών ως αποτέλεσμα του οξειδωτικού στρες. Σύμφωνα με την ανάλυση των αποτελεσμάτων στατιστικά σημαντική μείωση της οξείδωσης των πρωτεϊνών παρατηρήθηκε στην ομάδα των εγχώριων αιγών του σταδίου ανάπτυξης 35% σε σχέση με το 25%. Τα ίδια αποτελέσματα καταγράφηκαν και στα πρόβατα της φυλής Χίου. Αντιθέτως, στη εγχώρια διασταυρωμένη φυλή προβάτων παρατηρήθηκε προστασία της οξείδωσης των πρωτεϊνών στα ζώα του

σταδίου ανάπτυξης 25% σε σχέση με το 35%. Η μείωση των επιπέδων πρωτεϊνικών καρβονυλίων στα ζώα του σταδίου 35% στις δύο προαναφερόμενες ομάδες αιγοπροβάτων πιθανών να οφείλεται στην ανάπτυξη μηχανισμού άμυνας λόγω της υφιστάμενης κατάστασης οξειδωτικού στρες. Επιπλέον, η μείωση του παραπάνω δείκτη μπορεί να εξηγηθεί και από την παρατηρούμενη μείωση των επιπέδων της γλουταθειόνης στα πρόβατα της ίδιας ομάδας. Μέσω της ταυτόχρονης μείωσης των επιπέδων της γλουταθειόνης και των καρβονυλίων μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα πως η γλουταθειόνη καταναλώνεται από τον οργανισμό με σκοπό την προστασία των πρωτεϊνών. Σύμφωνα με μελέτη από τους (Ranade *et al.*, 2014) η αντιοξειδωτική άμυνα αυξήθηκε σε συνάρτηση με τον χρόνο στα νεογέννητα μοσχάρια. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση του δείκτη AOPP (advanced oxidation protein products) στο πλάσμα, και αύξηση των επιπέδων της αλβουμίνης (η οποία χαρακτηρίζεται από αντιοξειδωτική δράση). Η ελάχιστη τιμή του δείκτη AOPP και η μέγιστη τιμή της αλβουμίνης παρατηρήθηκαν την 18^η εβδομάδα. Τα συγκεκριμένα αποτελέσματα έχουν παρατηρηθεί και σε άλλες μελέτες σε παραγωγικές αγελάδες (Celi *et al.*, 2011, Celi *et al.*, 2012, Golder *et al.*, 2013) και πρόβατα (Po *et al.*, 2012). Όσον αφορά τα αποτελέσματα του ίδιου δείκτη (CARBS) που παρατηρήθηκαν από τα πρόβατα της εγχώριας διασταυρωμένης φυλής τα οποία έρχονται σε αντίθεση με τα παραπάνω ίσως εξηγούνται με το αυξημένο οξειδωτικό στρες που υφίστανται τα ζώα που περνάνε από αυτό το μεταβατικό στάδιο του απογαλακτισμού, συμπέρασμα που ταυτίζεται και με άλλα αποτελέσματα της παρούσας διερεύνησης (Buchet *et al.*, 2017).

Γενικότερα, λίγες μελέτες έχουν διερευνήσει τις μεταβολές του οξειδοαναγωγικού δυναμικού κατά την διάρκεια των πρώτων μηνών ζωής των παραγωγικών ζώων. Έχει παρατηρηθεί σε νεογέννητα βοοειδή πως, η συγκέντρωση των ελεύθερων ριζών στο αίμα τους ήταν υψηλότερη τις πρώτες 1-3 μέρες ζωής σε σύγκριση με τις επόμενες 3-7. Το παραπάνω φαινόμενο, χαρακτηρίζει γενικότερα τα θηλαστικά τα οποία αμέσως μετά την γέννα εκτίθενται σε ένα περιβάλλον πλούσιο με υψηλή συγκέντρωση οξυγόνου και σηματοδοτείται από την έναρξη της αναπνοής (Abuelo *et al.*, 2019). Οι δείκτες του οξειδωτικού στρες φάνηκε να σημειώνουν και πάλι αύξηση κατά την διάρκεια της δεύτερης και τρίτης εβδομάδας. Το παραπάνω γεγονός μπορεί να συνδεθεί με τον αυξημένο μεταβολισμό που προκύπτει από την αυξημένη κατανάλωση τροφής καθώς επίσης και την έναρξη της σταδιακής ένταξης στερεάς τροφής στην διατροφή των ζώων (Gaal *et al.*, 2006). Ωστόσο, άλλες έρευνες δεν εμφανίζουν συσχέτιση

μεταξύ του σταδίου ανάπτυξης και της συγκέντρωσης των ROS σε βοοειδή (Abuelo et al., 2014; Ranade et al., 2014). Βέβαια, αξίζει να σημειωθεί πως σε κάθε μελέτη οι βιοδείκτες που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης ήταν διαφορετικοί. Ενδεικτικά κάποιοι από τους δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι μεταβολίτες του ενεργού οξυγόνου (Reactive oxygen metabolites ROMs), το βιολογικό αντιοξειδωτικό δυναμικό (biological antioxidant potential BAP), η συγκέντρωση ελευθέρων ριζών στο αίμα, ο ρυθμός της λιπιδικής υπεροξειδωσης, η ενεργότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων (Ranade et al., 2014; Gaal et al., 2006) Επιπλέον, καταγράφηκαν χαμηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας σε νεογέννητα βοοειδή τα οποία διατρέφονταν με υποκατάστατα μητρικού γάλακτος. Γενικότερα αναφέρεται πως τα υποκατάστατα γάλακτος φαίνεται να έχουν χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σύγκριση με το μητρικό (Abuelo et al., 2019).

Στη συνέχεια, στο δεύτερο μέρος της διατριβής με σκοπό τον έλεγχο της προστατευτικής δράσης των αντίστοιχων τμημάτων σε κυτταρικό επίπεδο υπολογίστηκαν τα ενδογενή επίπεδα GSH των κυττάρων HepG2 μετά από χορήγηση ομογενοποιημένου ιστού αιγοπροβάτων από δείγματα με υψηλά και χαμηλά επίπεδα γλουταθειόνης. Ωστόσο, στα ενδογενή επίπεδα GSH δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τα κύτταρα control που δεν είχαν κάποια παρέμβαση. Ωστόσο, στα ενδογενή επίπεδα ROS των κυττάρων HepG2 κάτω από τις ίδιες συνθήκες παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων τους όταν έγινε χορήγηση ιστών με υψηλά επίπεδα γλουταθειόνης σε σύγκριση με τα κύτταρα ελέγχου αλλά επιπλέον και στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων των ίδιων κυττάρων σε σύγκριση με αυτά στα οποία χορηγήθηκε ομογενοποιημένο με χαμηλά επίπεδα GSH. Ταυτόχρονα δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων ROS στα κύτταρα στα οποία είχε γίνει προσθήκη ομογενοποιημάτων ιστών με χαμηλά επίπεδα γλουταθειόνης σε σχέση με τα κύτταρα control.

Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα που έχουν προκύψει σχετικά με τα μειωμένα επίπεδα των ROS έχουν αναφερθεί και αποτελέσματα από άλλες μελέτες. Πιο συγκεκριμένα, υδατικό εκχύλισμα και ενζυμικό υδρόλυμα προερχόμενα από το κρέας των οργανισμών *Lololus beka*, *Batillus cornutus*, *Atrina pectinate* και *Octopus ocellatus* αντίστοιχα, στα οποία περιέχονταν πληθώρα ελεύθερων αμινοξέων με πολύ υψηλή περιεκτικότητα ταυρίνης μεταξύ αυτών, φάνηκε να ενισχύουν τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς

ηπατοκυττάρων μέσω της ενεργοποίησης του παράγοντα Nrf2 και πρόκληση μείωσης των ενδοκυτταρικών επιπέδων ROS (Um et al., 2017; Han et al., 2019; Lee et al., 2019; Shin et al., 2019). Επιπροσθέτως, βιοενεργά πεπτίδια που προέρχονται από τα τρόφιμα, όπως είναι η τυροσίνη, η τρυπτοφάνη, η μεθειονίνη, η λυσίνη, η κυστεΐνη και η ιστιδίνη έχει βρεθεί πως έχουν αντιοξειδωτική δράση και εμφανίζουν κυτταροπροστατευτική δράση και μείωση των ενδοκυτταρικών επιπέδων ROS στην κυτταρική σειρά HepG2 μετά την επίδραση οξειδωτικού παράγοντα (H_2O_2), αποτελέσματα που βρίσκονται σε συμφωνία με αυτά της παρούσας διατριβής (Wang et al., 2016). Επίσης έχει μελετηθεί η αντιοξειδωτική δράση πεπτιδίων προερχόμενων από πρωτεΐνες του ψαριού *Channa striatus* με υψηλή περιεκτικότητα σε κατάλοιπα κυστεΐνης και γλυκίνης σε ανθρώπινα δερματικά κύτταρα και ερυθροκύτταρα (Guru et al., 2021). Τα αποτελέσματα κατέδειξαν μείωση των επιπέδων των ROS και αύξηση της έκφρασης των αντιοξειδωτικών ενζύμων μεταξύ άλλων της τρανσφεράσης της γλουταθειόνης (GST) και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) (Guru et al., 2021)

Συμπερασματικά, σύμφωνα με τα προαναφερθέντα, αξίζει να σημειωθεί πως η οξειδοαναγωγική κατάσταση των αιγοπροβάτων που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία επηρεάζεται τόσο από το στάδιο ανάπτυξης που βρίσκεται το εκάστοτε ζώο καθώς επίσης και από το φύλο του. Πιο συγκεκριμένα, η επιλογή των συγκεκριμένων σταδίων εμπεριέχει το στάδιο στο οποίο πραγματοποιείται ο απογαλακτισμός των ζώων και αυτό μπορεί να έχει διττό φαινότυπο ως προς την οξειδοαναγωγική κατάσταση. Εν μέρει, σε κάποιες ομάδες αιγοπροβάτων παρατηρήθηκαν αυξημένοι δείκτες οξειδωτικού στρες (TBARS και CARBS) στο στάδιο 35% σε σύγκριση με αυτό του σταδίου 25%, αποτέλεσμα το οποίο ήταν αναμενόμενο λόγω των συνθηκών απογαλακτισμού τους. Ωστόσο, σε κάποιες άλλες ομάδες που παρατηρήθηκε το αντίθετο αποτέλεσμα πιθανώς συσχετίζεται με την ανάπτυξη προσαρμοστικών αμυντικών μηχανισμών ενάντια σε αυτή την κατάσταση με απώτερο σκοπό την επαναφορά της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας και την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες (Ranade et al., 2014). Όσον αφορά την παράμετρο του φύλου, στην βιβλιογραφία γίνεται αναφορά σχετικά με την θετική επίδραση των φυλετικών ορμονών (οιστρογόνων και τεστοστερόνης) στην μείωση του οξειδωτικού στρες και στα αυξημένα επίπεδα των αντιοξειδωτικών. Πράγματι, σε κάποιες ομάδες θηλυκών ζώων παρατηρήθηκαν τα αυξημένα επίπεδα αντιοξειδωτικών και μειωμένα επίπεδα οξειδωτικού στρες χωρίς όμως αυτό να αποτέλεσε τον γενικό κανόνα. Αυξημένη

αντιοξειδωτική ικανότητα παρατηρήθηκε και σε αρσενικά ζώα σε σύγκριση με αντίστοιχα θηλυκά του ίδιου σταδίου ανάπτυξης και της ίδιας ομάδας. Γενικότερα κρίνεται σημαντικό η ένταξη μεγαλύτερου αριθμού ζώων για τον ασφαλή χαρακτηρισμό κάποιου συγκεκριμένου μοτίβου στα ελληνικά παραγωγικά ζώα. Παρόλα αυτά, υπογραμμίζεται πως τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης συμπεριλαμβανομένων και των πολλών αστάθμητων παραγόντων της αντανακλούν την ανομοιογένεια που μπορεί να εμφανίζει το κρέας των παραγωγικών ζώων το οποίο προορίζεται για κατανάλωση υπό πραγματικές συνθήκες. Στο παραπάνω πρόβλημα, λύση μπορεί να αποτελέσει ο συνδυασμός των παραπάνω δεικτών μαζί με κάποια επιπρόσθετα ποιοτικά χαρακτηριστικά του κρέατος έτσι ώστε να εξαχθεί ένα πιο αντιπροσωπευτικό μοτίβο. Επιπλέον σημαντική θα ήταν και η συμβολή των ενζυμικών μετρήσεων με σκοπό την πλήρη κατανόηση της φάσης του κύκλου της GSH. Αυτοί οι δείκτες ωστόσο, αποτελούν μια πρώτη προσέγγιση η οποία μπορεί να αποτελέσει πρόβλεψη για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του κρέατος που θα δώσουν νόημα στο τελικό προϊόν.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abuelo A, Hernández J, Benedito JL, Castillo C. The importance of the oxidative status of dairy cattle in the periparturient period: revisiting antioxidant supplementation. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2015 Dec;99(6):1003-16. doi: 10.1111/jpn.12273. Epub 2014 Dec 4. PMID: 25475653.

Abuelo, A.; Perez-Santos, M.; Hernandez, J.; Castillo, C. Effect of colostrum redox balance on the oxidative status of calves during the first 3 months of life and the relationship with passive immune acquisition. *Vet. J.* 2014, 199, 295–299.

Aguilar, T. A. F., Navarro, B. C. H., Pérez, J. A. M., 2016. Endogenous Antioxidants: A Review of their Role in Oxidative Stress. *A Master Regulator of Oxidative Stress - The Transcription Factor Nrf2*.

Amir Aslani, B., Ghobadi, S., 2016. Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life Sciences*, 146, 163-173.

Angermüller, S., Islinger, M., Völkl, A., 2009. Peroxisomes and reactive oxygen species, a lasting challenge. *Histochemistry and Cell Biology*, 131(4), 459-463.

Arsenos G, Fortomaris P, Papadopoulos E, Sotiraki S, Stamataris C, Zygoyiannis D (2009). Growth and meat quality of kids of indigenous Greek goats (*Capra prisca*) as influenced by dietary protein and gastrointestinal nematode challenge. *Meat Science* 82(3):317-23. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.01.028>.

Arsenos G, Kufidis D, Zygoyiannis D, Katsaounis N, Stamataris C (2006). Fatty acid composition of lambs of indigenous dairy Greek breeds of sheep as affected by post-weaning nutritional management and weight at slaughter. *Meat Science* 73(1):55-65.

Arsenos G., Fortomaris P., Papadopoulos E., Sotiraki S., Stamataris C., Zygoyiannis D., 2009. Growth and meat quality of kids of indigenous Greek goats (*Capra prisca*) as influenced by dietary protein and gastrointestinal nematode challenge. *Meat Science* 82(3):317-23.

Ashor, A. W., Siervo, M., Mathers, J. C., 2016. Vitamin C, Antioxidant Status, and Cardiovascular Aging. *Molecular Basis of Nutrition and Aging*, 609-619.

Ayala, A., Muñoz, M. F., Argüelles, S., 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-31.

Azat Aziz, M., Shehab Diab, A., Abdulrazak Mohammed, A., 2019. Antioxidant Categories and Mode of Action. *Antioxidants*.

Azzi, A. 2007. Molecular mechanism of alpha-tocopherol action. *Free Radic Biol Med* 43(1) 16-21.

Baldi A, Savoini G, Pinotti L, Monfardini E, Cheli F and Dell'Orto V., 2000. Effects of vitamin E and different energy sources on vitamin E status, milk quality and reproduction in transition cows. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 47: 599-608.

Beckman, J.S. and Koppenol, W.H. 1996. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol* 271(5 Pt 1) C1424-1437.

Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O., 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19.

Bonekamp, N. A., Völkl, A., Fahimi, H. D., Schrader, M., 2009. Reactive oxygen species and peroxisomes: Struggling for balance. *BioFactors*, 35(4), 346-355.

Bordoni B. & Varacallo M., 2020. *Anatomy, Bony Pelvis and Lower Limb, Thigh Quadriceps Muscle*. StatPearls Publishing.

Bouwstra, R. J.; Nielen, M.; Newbold, J. R.; Jansen, E. H. J. M.; Jelinek, H. F.; van Werven, T., 2010b: Vitamin E supplementation during the dry period in dairy cattle. Part II: oxidative stress following vitamin E supplementation may increase clinical mastitis incidence postpartum. *Journal of Dairy Science* 93, 5696–5706.

Bouwstra, R. J.; Nielen, M.; Stegeman, J. A.; Dobbelaar, P.; Newbold, J. R.; Jansen, E. H. J. M.; van Werven, T., 2010a: Vitamin E supplementation during the dry period in

dairy cattle. Part I: adverse effect on incidence of mastitis postpartum in a double-blind randomized field trial. *Journal of Dairy Science* 93, 5684– 5695.

Bradford M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of

Brigelius-Flohe, R. and Maiorino, M. 2013. Glutathione peroxidases. *Biochim Biophys Acta* 1830(5) 3289-3303.

Cadenas, E. and Davies, K.J. 2000. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med* 29(3-4) 222-230.

Castillo C, Pereira V, Abuelo Á and Hernández J., 2013. Effect of supplementation with antioxidants on the quality of bovine milk and meat production. *Scientific World Journal*, 616068.

Celi P., Merlo M., Barbato O., Gabai G., 2012. Relationship between oxidative stress and the success of artificial insemination in dairy cows in a pasture-based system. *The Veterinary Journal*, 193 (2012), pp. 498-502.

Celi P., Merlo M., Da Dalt L., Stefani A., Barbato O., Gabai G., 2011. Relationship between late embryonic mortality and the increase in plasma advanced oxidised protein products (AOPP) in dairy cows. *Reproduction Fertility Development*, 23, pp. 527-533.

Chance, B., Sies, H. and Boveris, A. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 59(3) 527-605.

Cook, N.R., Albert, C.M., Gaziano, J.M., Zaharris, E., MacFadyen, J., Danielson, E., Buring, J.E. and Manson, J.E. 2007. A randomized factorial trial of vitamins C and E and beta carotene in the secondary prevention of cardiovascular events in women: results from the Women's Antioxidant Cardiovascular Study. *Arch Intern Med* 167(15) 1610-1618.

Cooke, M. S., Olinski, R., Evans, M. D., 2006. Does measurement of oxidative damage to DNA have clinical significance? *Clinica Chimica Acta*, 365(1-2), 30-49.

De Tullio, M. C., 2011. Beyond the Antioxidant: The Double Life of Vitamin C. *Water Soluble Vitamins*, 56, 49-65.

Delgado J.V., Landi V., Barba C. J., Fernandez J., Gimez M.M., Camacho M. E., Martinez M. A., Navas F. J., Leon J. M., 2018. Murciano-Granadina Goat: A Spanish Local Breed Ready for the Challenges of the Twenty-First Century. *Sustainable Goat Production in Adverse Environments: Volume II* pp 205-219.

Droge W., 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82:47–95.

Economou V., Ambrosiadis I., Theodoridis A., Argyriadou A., Kalitsis T., Arsenos G., 2020. A Review of the Quality and Hygiene of Sheep and Goat Meat Produced in Greece.

Erdogan, H., Karapehlivan, M., Cital, M., Atakisi, O., Uzlu, E., Unver, A., 2008. Serum sialic acid and oxidative stress parameters changes in cattle with leptospirosis. *Veterinary Research Communications* 32, 333–339.

Evans, H.M. and Bishop, K.S. 1922. Fetal resorption. *Science* 55 650-651.

Evans, P., Halliwell, B., 2001. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *British Journal of Nutrition*, 85(2), 67.

Falowo A.B., Fayemi P.O., Muchenje V., 2014. Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International* 64: 171–181.

Fanali, G., Fasano, M., Ascenzi, P., Zingg, J.M. and Azzi, A. 2013. alpha-Tocopherol binding to human serum albumin. *Biofactors* 39(3) 294-303.

Fang, Y.-Z., Yang, S., Wu, G., 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.

Feng C (2012) Mechanism of nitric oxide synthase regulation: electron transfer and interdomain interactions. *Coordination Chemistry Reviews* **256** (3-4): 393–411.

Fenton, H.J.H. 1894. LXXIII.-Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *Journal of the Chemical Society, Transactions* 65(0) 899-910.

Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative stress: Relationship with exercise and training. *Sports Medicine*, 36(4), 327–358.

Forman JH, Maiorino M and Ursini F (2010) Signalling functions of reactive oxygen species. *Biochemistry* 49 (5): 835–842.

Francenia Santos-Sánchez, N., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., Hernández-Carlos, B., 2019. Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. *Antioxidants*.

Garrido-Maraver, J., Cordero, M., D., Oropesa-Avila, M., Vega, A., F., de la Mata, M., Pavon, A., D., Alcocer-Gomez, E., Calero, C., P., Paz, M., V., Alanis, M., de Lavera, I., Cotan, D., Sanchez-Alcazar, J., A., 2014. Clinical applications of coenzyme Q10. *Frontiers in Bioscience*, 19(4), 619-633.

Genestra M., 2007. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling*, 19:1807–1819.

Gerschman, R., Gilbert, D.L., Nye, S.W., Dwyer, P. and Fenn, W.O. 1954. Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science* 119(3097) 623-626.

Giles, G., Nasim, M., Ali, W., Jacob, C., 2017. The Reactive Sulfur Species Concept: 15 Years On. *Antioxidants*, 6(2), 38.

Glasauer, A., Chandel, N. S., 2013. ROS. *Current Biology*, 23(3), 100-102.

Gomberg, M. 1900. An instance of trivalent carbon: triphenylmethyl. *Journal of the American Chemical Society* 22(11) 757-771.

Goyal, M. M., Basak, A., 2010. Human catalase: looking for complete identity. *Protein & Cell*, 1(10), 888-897.

Griffiths, H., Lunec, J., 2001. Ascorbic acid in the 21st century – more than a simple antioxidant. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10(4), 173-182.

Gutteridge J.M.C. & Halliwell B., 2018. Mini-Review: Oxidative stress, redox stress or redox success? *Biochemical and Biophysical Research Communications* xxx 1-4.

Gutteridge, J. M. C., Halliwell, B., 2010. Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 393(4), 561-564.

Halliwell B. and Gutteridge J. M. C., 2015. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 5th edn. Oxford, UK: Oxford University Press.

Halliwell B. and Gutteridge J., 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fourth ed. Oxford U.K.: Oxford University Press.

Halliwell B., 2007. Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35:1147–1150.

Hamid A. A., Aiyelaagbe O. O., Usman L. A., Ameen O. M., Lawal A., 2010. Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 4(8), 142-151.

Hampton M.B., Kettle A.J. and Winterbourn C.C., 1998. Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood* 92(9) 3007-3017.

Hashem, N.M.; Gonzalez-Bulnes, A.; Simal-Gandara, J. Polyphenols in Farm Animals: Source of Reproductive Gain or Waste? *Antioxidants* 2020, 9, 1023. <https://doi.org/10.3390/antiox9101023>.

He L., He T., Farrar S., Ji L., Liu T., Ma X., 2017. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44(2), 532-553.

Heart Protection Study Collaborative, G. 2002. MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 360(9326) 23-33.

Hercberg, S., Galan, P., Preziosi, P., Bertrais, S., Mennen, L., Malvy, D., Roussel, A.M., Favier, A. and Briancon, S. 2004. The SU.VI.MAX Study: a randomized,

placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med* 164(21) 2335-2342.

<http://www.minagric.gr/index.php/el/for-farmer-2/animal-production/sheep-and-goats/1075-autofilesaigoprobaton>.

Ighodaro, O. M., Akinloye, O. A., 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293.

Jones, D. P. (2006). Redefining oxidative stress. *Antioxidants & Redox Signaling*,

Kafantaris I, Kotsampasi B, Christodoulou V, Kokka E, Kouka P, Terzopoulou Z, Gerasopoulos K, Stagos D, Mitsagga C, Giavasis I, *et al.*, 2017. Grape pomace improves antioxidant capacity and faecal microflora of lambs. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 101: e108-e121.

Kafantaris I, Stagos D, Kotsampasi B, Hatzis A, Kypriotakis A, Gerasopoulos K, Makri S, Goutzourelas N, Mitsagga C, Giavasis I, *et al.*, 2018. Grape pomace improves performance, antioxidant status, fecal microbiota and meat quality of piglets. *Animal* 12: 246-255.

Kawashima, A., Sekizawa, A., Koide, K., Hasegawa, J., Satoh, K., Arakaki, T., Takenaka, S., Matsuoka, R., 2014. Vitamin C Induces the Reduction of Oxidative Stress and Paradoxically Stimulates the Apoptotic Gene Expression in Extravillous Trophoblasts Derived From First-Trimester Tissue. *Reproductive Sciences*, 22(7), 783-790.

Kiełczykowska, M., Kocot, J., Paździor, M., Musik, I., 2018. Selenium - a fascinating antioxidant of protective properties. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 27(2), 245-255.

Kirkman, H. N., Gaetani, G. F., 2007. Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. *Trends in Biochemical Sciences*, 32(1), 44-50.

- Knaapen, A.M., Seiler, F., Schilderman, P.A.E.L., Nehls, P., Bruch, J., Schins, R.P.F., Borm, P.J.A., 1999. Neutrophils cause oxidative DNA damage in alveolar epithelial cells. *Free Radical Biology and Medicine* 27, 234–240.
- Kohen, R., Nyska, A., 2002. Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicologic Pathology*, 30(6), 620-650.
- Kryston, T. B., Georgiev, A. B., Pissis, P., Georgakilas, A. G., 2011. Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 711(1-2), 193- 201.
- Kunwar, A., Priyadarsini, K. I., 2011. Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal of Medical & Allied Sciences*, 1(2), 53-60.
- Littarru, G. P., Tiano, L., 2007. Bioenergetic and Antioxidant Properties of Coenzyme Q10: Recent Developments. *Molecular Biotechnology*, 37(1), 31-37.
- Lobón S, Sanz A, Blanco M, Ripoll G and Joy M., 2017. The type of forage and condensed tannins in dams' diet: Influence on meat shelf life of their suckling lambs. *Small Rumin Res* 154: 115-122.
- Lu, S. C., 2013. Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1830(5), 3143-3153.
- Lykkesfeldt J., Svendsen O., 2007. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *The Veterinary Journal* 173: 502–511.
- Lykkesfeldt, J. and Poulsen, H.E. 2010. Is vitamin C supplementation beneficial? Lessons learned from randomised controlled trials. *Br J Nutr* 103(9) 1251-1259.
- Makri S, Kafantaris I, Stagos D, Chamokeridou T, Petrotos K, Gerasopoulos K, Mpesios A, Goutzourelas N, Kokkas S, Goulas P, *et al.*, 2017. Novel feed including bioactive compounds from winery wastes improved broilers' redox status in blood and tissues of vital organs. *Food Chem Toxicol* 102: 24-31.

- Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F. K., Margis-Pinheiro, M., 2008. Glutathione peroxidase family - an evolutionary overview. *FEBS Journal*, 275(15), 3959-3970.
- McCord, J.M. and Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 244(22) 6049-6055.
- Mulligan, F.J., Doherty, M.L., 2008. Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal* 176, 3–9.
- Noor, R., Mittal, S., Iqbal, J., 2002. Superoxide dismutase - applications and relevance to human diseases. *Medical Science Monitor*, 8(9), 210-215.
- Pacher P., Beckman J. S., Liaudet L., 2007. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87:315–424.
- Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C., 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89-96.
- Piggott, A. M., Karuso, P., 2007. Fluorometric Assay for the Determination of Glutathione Reductase Activity. *Analytical Chemistry*, 79(22), 8769-8773.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., Bitto, A., 2017. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-13. Proceedings of the 9th International Conference on Information and Communication Technologies in Agriculture, Food & Environment (HAICTA 2020).
- Po E., Horsburgh K., Raadsma H.W., Celi P., 2012. Yerba Mate (*Ilex paraguarensis*) as a novel feed supplement for growing lambs *Small Ruminant Research*, 106, pp. 131-136.
- Ranade, R.; Talukder, S.; Muscatello, G.; Celi, P., 2014. Assessment of oxidative stress biomarkers in exhaled breath condensate and blood of dairy heifer calves from birth to weaning. *Vet. J.*, 202, 583–587.

Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., Kumar, M. N. V. R., 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*, 113(3), 189-207.

Rhee SG, Woo HA, Kil IS and Bae SH (2012) Peroxiredoxin functions as a peroxidase and a regulator and sensor of local peroxides. *Journal of Biological Chemistry* 287 (7): 4403–4410.

Ribas, V., Garcia-Ruiz, C., Fernandez-Checa, J. C., 2014. Glutathione and mitochondria. *Frontiers in Pharmacology*, 5, 151.

Rizzo, A.; Pantaleo, M.; Mutinati, M.; Minoia, G.; Trisolini, C.; Ceci, E.; Sciorsci, R. L., 2013: Blood and milk oxidative status after administration of different antioxidants during early postpartum in dairy cows. *Research in Veterinary Science* 95, 1171–1174.

Rudling, Axel; Gustafsson, Robert; Almlöf, Ingrid; Homan, Evert; Scobie, Martin; Warpman Berglund, Ulrika; Helleday, Thomas; Stenmark, Pål; Carlsson, Jens (2017-10-12). "Fragment-Based Discovery and Optimization of Enzyme Inhibitors by Docking of Commercial Chemical Space". *Journal of Medicinal Chemistry*. 60 (19): 8160–8169.

Ryan, M. J., Dudash, H. J., Docherty, M., Geronilla, K. B., Baker, B. A., Haff, G. G., Cutlip, R., G., Alway, S. E., 2010. Vitamin E and C supplementation reduces oxidative stress, improves antioxidant enzymes and positive muscle work in chronically loaded muscles of aged rats. *Experimental Gerontology*, 45(11), 882-895.

Sailaja Rao, P., Kalva, S., Yerramilli, A., Mamidi, S., 2011. Free Radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidants. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(4), 2-7.

Samouris G, Kasapidou E, Loannidou M, Eleftheriadou A (2011). Changes in lipid oxidation levels and fatty acid composition in the meat of milk-fed lambs during refrigerated and frozen storage - Nutritional indices. *Archiv fur Lebensmittelhygiene*, 62(6), 217-222.

Shebis, Y., Iluz, D., Kinel-Tahan, Y., Dubinsky, Z., Yehoshua, Y., 2013. Natural Antioxidants: Function and Sources, *Food and Nutrition Sciences*, 4(6), 643-649.

- Sies H., 1991. Oxidative Stress. II. Oxidants and Antioxidants, Academic Press, London.
- Sies, H. 2015. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol* 4 180-183.
- Sies, H., Berndt, C., Jones, D. P., 2017. Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86(1), 715-748.
- Smith KL, Harrison JH, Hancock DD, Todhunter DA and Conrad HR.,1984. Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *J Dairy Sci* 67: 1293-1300.
- Stevens M.G. & Olsen S.C., 1993. Comparative analysis of using MTT and XTT in colorimetric assays for quantitating bovine neutrophil bactericidal activity. *Journal of Immunological Methods*, 157: 225-231.
- Szabo, C., Ischiropoulos, H. and Radi, R. 2007. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 6(8) 662- 680.
- Szweda P.A., Friguet B., Szweda L. I., 2002. Proteolysis, free radicals and aging. *Free radical Biology and Medicine*. 33(1): 29-36.
- Townsend, D. M., Tew, K. D., Tapiero, H., 2003. The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57(3-4), 145-155.
- Tsao, R., 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.
- Tsolakidi K (2007). Effect of carcass weight and sex on the quality of carcass and lamb meat of Chios breed (in Greek). Doctoral thesis. Agricultural University of Athens.
- Valko M., Leibfritz D., Moncola J., Cronin M. D., Mazur M., Telser J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39:44–84.

Veskoukis, A. S., Tsatsakis, A. M., Kouretas, D., 2012. Dietary oxidative stress and antioxidant defense with an emphasis on plant extract administration. *Cell Stress and Chaperones*, 17(1), 11-21.

Wang, N., Tan, H.-Y., Li, S., Xu, Y., Guo, W., Feng, Y., 2017. Supplementation of Micronutrient Selenium in Metabolic Diseases: Its Role as an Antioxidant. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1-13.

Weiss WP, Hogan JS, Smith KL and Hoblet KH., 1990. Relationships among selenium, vitamin E, and mammary gland health in commercial dairy herds. *J Dairy Sci* 73: 381-390.

Willcox J. K., Ash S. L., Catignani G. L., 2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44:275–295

Young I., Woodside J., 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54:176–186.

Zhang, H., Tsao, R., 2016. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33-42.

Zingg, J.M. and Azzi, A. 2004. Non-antioxidant activities of vitamin E. *Curr Med Chem* 11(9) 1113-1133.

Zingg, J.M., Han, S.N., Pang, E., Meydani, M., Meydani, S.N. and Azzi, A. 2013. In vivo regulation of gene transcription by alpha- and gamma-tocopherol in murine T lymphocytes. *Arch Biochem Biophys* 538(2) 111-119.

Zuo L., Best T.M., Roberts W.J., Diaz P. T., Wagner P.D., 2014. Characterization of reactive oxygen species in diaphragm. *Acta Physiologica*, 213(3): 700-710.

Γάλαρης, Δ. 2015. Ελεύθερες Ρίζες: Ορισμός και Χημικές Ιδιότητες. Ελεύθερες ρίζες και οξειδωτικό στρες.

Κουτσούλη Παναγιώτα, 2015. Εισαγωγή στη Ζωοτεχνία, Θεματική Ενότητα 3: Φυλές Αιγών. Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Μπιζέλης Ιωσήφ, 2018. Οι ελληνικές αυτόχθονες φυλές αιγοπροβάτων & η ελληνική τυροκομία: παρούσα κατάσταση και προοπτικές. http://ead.gr/wp-content/uploads/2018/02/2_2_Ελληνικές-αυτόχθονες-φυλές-αιγοπροβάτων_ελληνική-τυροκομία-κατάσταση-προοπτικές_ΜΠΙΖΕΛΗΣ-Ι.pdf

Μπιζέλης Ιωσήφ, Εκτροφή προβάτων & αιγών. Εισαγωγή https://oceclass.aua.gr/modules/document/file.php/OCDASA102/zp_th_2995_07a.pdf

Πάυλου Ελευθέριος, 2011. Επίδραση περιβαλλοντικών παραμέτρων στην αναπαραγωγή των αιγών. Διδακτωρική διατριβή, Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ.

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων, Γενική Διεύθυνση Ζωικής Παραγωγής, Ελληνική Κτηνοτροφία <http://www.minagric.gr/greek/data/18853.pdf>