



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**  
**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ‘ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ’**

**Διπλωματική Εργασία**

**«ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ  
ΔΕΙΚΤΗ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑΣ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ ΑΠΟ  
ΤΗΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΤΟΥΣ ΗΛΙΚΙΑ»**

**Επιμέλεια: Παπαδόγλου Αικατερίνη**

**A.M.: M041820017**

**Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: κ. Τσιτσιμπίκου Χριστίνα**

**ΛΑΡΙΣΑ 2022**

**DIPLOMA THESIS**

**«OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS OF PATIENTS WITH  
FRAILTY INDEX DIFFERENT FROM THEIR BIOLOGICAL  
AGE»**

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

**Τσιτσιμπίκου Χριστίνα, MSc, PhD, ERT (ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ):** Χημικός – Τοξικολόγος,  
Γενικό Χημείο του Κράτους

**Δημήτριος Κουρέτας:** Καθηγητής Τοξικολογίας και Φυσιολογίας Ζώων του Τμήματος  
Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Τσαρούχας Κωνσταντίνος, MD, MSc, PhD, ERT:** Καρδιολόγος, Επιμελητής Α΄ Γενικό  
Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας

## Ευχαριστίες

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στο Αμαλία Φλέμινγκ Γενικό Νοσοκομείο Αττικής ως μέρος του Μεταπτυχιακού της Τοξικολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας στη Λάρισα.

Επιβλέπουσα καθηγήτρια της παρούσας εργασίας ήταν η κα. **Τσιτσιμπίκου Χαρούλα Χριστίνα** την οποία θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά για την ευκαιρία που μου έδωσε να πραγματοποιήσω την διπλωματική μου εργασία μαζί της και για όλη την υποστήριξη, τις συμβουλές και την καθοδήγηση καθόλη την διάρκεια.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω το προσωπικό του Νοσοκομείου Αμαλία Φλέμινγκ για την υποστήριξη και βοήθεια καθόλη την διάρκεια της έρευνας και της ανάλυσης των δειγμάτων, **τον κ. Κωνσταντίνο Τσαρούχα**, Καρδιολόγο, για την επιμέλεια του με τους φακέλους ασθενών και την παθοφυσιολογική ερμηνεία των ευρημάτων, καθώς και τον κ. **Δημήτριο Κουρέτα** για την ευκαιρία να πραγματοποιήσω το Μεταπτυχιακό μου στην Τοξικολογία στο Πανεπιστήμιο Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου προς την οικογένεια και τους φίλους μου οι οποίοι με στήριξαν σε όλη την διάρκεια της παρούσας εργασίας και μου έδιναν κίνητρο και ενέργεια για να συνεχίσω να προσφέρω τον καλύτερο μου εαυτό.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	6
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	6
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.....	7
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	8
ABSTRACT.....	9
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	10
1 ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑ.....	10
1.1 ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑΣ.....	10
1.2 ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑΣ.....	11
1.3 ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑΣ.....	14
1.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ.....	15
1.5 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	18
1.6 ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΘΛΙΨΗ.....	18
2 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣΣ.....	19
2.1 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ.....	19
2.2 ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ (ROS).....	20
2.3 ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΑΖΩΤΟΥ.....	20
2.4 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣΣ.....	22
2.5 ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣΣ.....	23
2.6 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ.....	24
2.6.1 ΕΝΖΥΜΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΑΜΥΝΑΣ.....	24
2.6.2 ΜΗ-ΕΝΖΥΜΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΑΜΥΝΑΣ.....	25
3 ΧΟΛΕΡΥΘΡΙΝΗ.....	27
3.1 ΧΟΛΕΡΥΘΡΙΝΗ, ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣΣ ΚΑΙ ΑΛΛΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ.....	27
4 ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣΣ.....	28

5	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	31
5.1	ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	31
5.2	ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΘΕΛΟΝΤΩΝ.....	31
5.3	ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΥΘΡΑΣΤΟΤΗΤΑΣ ΕΘΕΛΟΝΤΩΝ.....	32
5.4	ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	34
5.4.1	ΟΛΙΚΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ.....	35
5.4.2	ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΥ ΑΝΤΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΟ ΘΕΙΟΒΑΡΒΙΤΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ (TBARS) 36	
5.4.3	ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΑ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΑ .....	38
5.4.4	ΟΛΙΚΗ ΧΟΛΕΡΥΘΡΙΝΗ.....	39
5.5	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ .....	40
5.6	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	40
5.7	ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ.....	47
5.8	ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΔΕΙΚΤΗ ΜΑΖΑΣ ΣΩΜΑΤΟΣ, ΗΛΙΚΙΑ ΚΑΙ ΦΥΛΟ .....	48
5.9	ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΥΠΕΡΤΑΣΗ .....	49
6	ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	50
7	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	54

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας 1:</b> Συστήματα εκτίμησης ευθραυστότητας.....	13
<b>Πίνακας 2:</b> Παράγοντες κινδύνου για την ευθραυστότητα.....	17
<b>Πίνακας 3:</b> Ελεύθερες ρίζες.....	19
<b>Πίνακας 4:</b> Δημογραφικά χαρακτηριστικά εθελοντών.....	31
<b>Πίνακας 5:</b> Αποτελέσματα δεικτών ευθραυστότητας εθελοντών.....	32
<b>Πίνακας 6:</b> Συννοσηρότητα εθελοντών.....	33
<b>Πίνακας 7:</b> Αποτελέσματα Ολικής Χολερυθρίνης, Ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ και πρωτεϊνικών καρβονυλίων των εθελοντών.....	42
<b>Πίνακας 8:</b> Συσχέτιση μεταξύ δεικτών οξειδωτικού στρες και δείκτη ευθραυστότητας...45	
<b>Πίνακας 9:</b> Μέσοι όροι αποτελεσμάτων δεικτών οξειδωτικού στρες σε σχέση με την συννοσηρότητα. Για κάθε ασθένεια παρουσιάζεται ο μέσος όρος για το σύνολο των ασθενών που πάσχουν από την ασθένεια (NAI) και για το σύνολο των ασθενών που δεν παρουσιάζουν την ασθένεια (OXI).....	47
<b>Πίνακας 10:</b> Συσχέτιση μεταξύ δείκτη μάζας σώματος (BMI) και δεικτών οξειδωτικού στρες.....	48
<b>Πίνακας 11:</b> Συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας των ασθενών και των δεικτών οξειδωτικού στρες.....	49
<b>Πίνακας 12:</b> Μέσοι όροι των αποτελεσμάτων οξειδωτικού στρες για κάθε φύλο.....	49
<b>Πίνακας 13:</b> Δείκτες ευθραυστότητας και συννοσηρότητα.....	50

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

<b>Εικόνα 1:</b> Πιθανοί μηχανισμοί και επιπτώσεις της ευθραυστότητας.....	11
<b>Εικόνα 2:</b> Πιθανές επιπτώσεις αυξημένων επιπέδων δραστικών ειδών αζώτου.....	21
<b>Εικόνα 3:</b> Σχηματική αναπαράσταση της σχέσης μεταξύ ROS, οξειδωτικού στρες και των επιπτώσεών τους στον ανθρώπινο οργανισμό.....	23

<b>Εικόνα 4:</b> Πιθανή συσχέτιση δείκτη ευθραυστότητας και οξειδωτικού στρες και ο ρόλος του τρόπου ζωής.....	30
<b>Εικόνα 5:</b> Αναγωγή της ρίζας DPPH•.....	35
<b>Εικόνα 6:</b> Αντίδραση TBA (1) με MDA (2), που οδηγεί στην παραγωγή του μορίου TBAMDA.....	37

## **ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ**

<b>Διάγραμμα 1:</b> Ραβδόγραμμα ποσοστών δεικτών ευθραυστότητας εθελοντών.....	33
<b>Διάγραμμα 2:</b> Διάγραμμα συννοσηρότητας εθελοντών.....	34
<b>Διάγραμμα 3:</b> Διάγραμμα ολικής χολερυθρίνης εθελοντών (άξονας y) ως προς τον δείκτη ευθραυστότητας.....	43
<b>Διάγραμμα 4:</b> Διάγραμμα ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας εθελοντών (άξονας y) ως προς τον δείκτη ευθραυστότητας.....	44
<b>Διάγραμμα 5:</b> Διάγραμμα TBARS εθελοντών (άξονας y) ως προς τον δείκτη ευθραυστότητας.....	44
<b>Διάγραμμα 6:</b> Διάγραμμα πρωτεϊνικών καρβονυλίων των εθελοντών (άξονας y) ως προς τον δείκτη ευθραυστότητας.....	45
<b>Διάγραμμα 7:</b> Μέσος όρος ολικής χολερυθρίνης με τυπική απόκλιση για κάθε δείκτη ευθραυστότητας.....	46
<b>Διάγραμμα 8:</b> Μέσος όρος των πρωτεϊνικών καρβονυλίων με τυπική απόκλιση για κάθε δείκτη ευθραυστότητας.....	46



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Λέξεις κλειδιά:** δείκτης ευθραυστότητας, οξειδωτικό στρες, φαινότυπος ευθραυστότητας

Η ευθραυστότητα είναι ένα κλινικό σύνδρομο που συνοδεύεται από την εμφάνιση βλαβών σε πολλαπλά βιολογικά συστήματα λόγω αδυναμίας των επιδιορθωτικών μηχανισμών. Το παραπάνω σύνδρομο έχει συνδεθεί με ποικίλους παράγοντες κινδύνου που μπορεί να είναι είτε σωματικοί (ηλικία, φύλο) είτε ψυχολογικοί (κοινωνική κατάσταση).

Τα τελευταία χρόνια έχει μελετηθεί η συσχέτιση μεταξύ οξειδωτικού στρες και ευθραυστότητας και έχει παρατηρηθεί ότι τα άτομα που εμφανίζουν το σύνδρομο της ευθραυστότητας παρουσιάζουν συχνά υψηλούς οξειδωτικούς δείκτες ενώ ταυτόχρονα έχουν χαμηλά ποσοστά αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Ένας σημαντικός δείκτης είναι η χολερυθρίνη η οποία λόγω της κυτταροπροστατευτικής της δράσης δρα ως ενδογενές αντιοξειδωτικό.

Η παρούσα εργασία έχει στόχο να μελετήσει την συσχέτιση μεταξύ οξειδωτικού στρες και ευθραυστότητας σε ασθενείς με δείκτη ευθραυστότητας διαφορετικό από την βιολογική τους ηλικία. Για την πραγματοποίηση της μελέτης 21 εθελοντές συμμετείχαν στην έρευνα. Για κάθε εθελοντή υπολογίστηκε ο δείκτης ευθραυστότητας ενώ ταυτόχρονα προσδιορίστηκαν οι εξής οξειδωτικοί δείκτες: ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC), ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), πρωτεϊνικά καρβονύλια και ολική χολερυθρίνη (TBILI). Κατά τον έλεγχο της συσχέτισης μεταξύ των παραπάνω δεικτών και της ευθραυστότητας παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της ολικής χολερυθρίνης και της ευθραυστότητας. Επιπλέον, παρατηρήθηκε μερική αρνητική συσχέτιση μεταξύ πρωτεϊνικών καρβονυλίων και ευθραυστότητας. Οι υπόλοιποι δείκτες που επιλέχθηκαν δεν παρουσίασαν κάποια συσχέτιση.

Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται εν μέρη να επιβεβαιώσουν της μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα, ωστόσο επιπλέον έρευνα απαιτείται στο παρόν θέμα.

## ABSTRACT

**Key words:** frailty index, oxidative stress, frailty phenotype

Frailty is a clinical syndrome accompanied by the appearance of damage to multiple biological systems due to the weakness of repair mechanisms. The above syndrome has been associated with a variety of risk factors that can be either physical (age, gender) or psychological (social status).

In recent years, the association between oxidative stress and frailty has been studied and it has been observed that people with frailty syndrome often have high oxidative markers while having low rates of antioxidant mechanisms. An important indicator is bilirubin, which due to its cell-protection properties acts as an endogenous antioxidant.

The aim of this study was to investigate the association between oxidative stress and frailty in patients with a frailty index different from their biological age. To carry out the study, 21 volunteers participated in the research. The fragility index was calculated for each volunteer while the following oxidative markers were determined: total antioxidant capacity (TAC), thiobarbituric acid reactants (TBARS), protein carbonyls and total bilirubin (TBILI). When checking the correlation between the above indicators and frailty, a negative correlation was observed between total bilirubin and frailty. In addition, a partial negative correlation was observed between protein carbonyls and frailty. The other selected markers did not show any correlation.

These results partially confirm the studies that have been conducted to date, however additional research is needed on this topic.

# ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1 ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑ

### 1.1 ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑΣ

Ευθραυστότητα ή αλλιώς Σύνδρομο της Ευθραυστότητας θεωρείται η γηριατρική κατάσταση κατά την οποία ένα άτομο μεγάλης ηλικίας παρουσιάζει ευπάθεια σε εξωτερικούς στρεσογόνους παράγοντες (Morley et al 2013). Η ευπάθεια αυτή προκύπτει από την εμφάνιση βλαβών σε πολλαπλά φυσιολογικά συστήματα όπου οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί αδυνατούν να διατηρήσουν πλέον την φυσιολογική ομοιόσταση του οργανισμού. Επιπρόσθετα, η ανάπτυξη αυτής της ευπάθειας μπορεί να συσχετιστεί με κοινωνικο-δημογραφικούς παράγοντες όπως το μορφωτικό επίπεδο αλλά και ψυχολογικούς παράγοντες όπως το στρες (Emiel O Hoogendijk et al 2014).

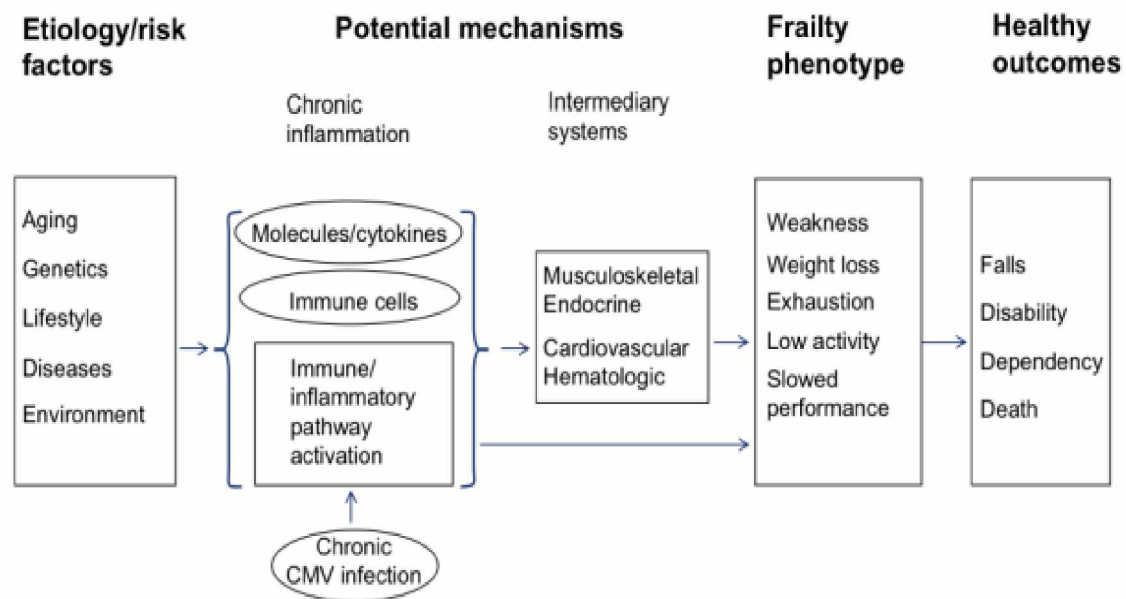
Σύμφωνα με τα παραπάνω γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι η ευθραυστότητα δεν σχετίζεται μόνο με την σωματική κατάσταση ενός ατόμου αλλά μπορεί να είναι ένας δυναμικός συνδυασμός μεταξύ σωματικής και ψυχολογικής κατάστασης. Επιπρόσθετα είναι μια κατάσταση η οποία μπορεί είτε να βελτιωθεί είτε να επιδεινωθεί με την πάροδο του χρόνου. (Rockwood and Mitnitski,2011)

Υπάρχουν δύο βασικές προσεγγίσεις για τον ορισμό της ευθραυστότητας. Η πρώτη προσέγγιση είναι αυτή του σωρευτικού ελλείμματος και είναι η ευρύτερη προσέγγιση για τον φαινότυπο, περιλαμβάνοντας τη συννοσηρότητα και την αναπηρία καθώς και γνωστικούς, ψυχολογικούς και κοινωνικούς παράγοντες. (Turner, 2014).

Το δεύτερο μοντέλο αρχικά όριζε έναν συγκεκριμένο φυσικό φαινότυπο που αποτελείται από 5 πιθανά στοιχεία (απώλεια βάρους, εξάντληση, αδυναμία, βραδύτητα και μειωμένη φυσική δραστηριότητα), τα οποία σηματοδοτούν μια υποκείμενη φυσιολογική κατάσταση πολυσυστημικής και ενεργειακής δυσρύθμισης. Και οι δύο αυτοί ορισμοί χρησιμοποιούνται επί του παρόντος για να ορίσουν μια αδύναμη και μια προευθραυστή κατάσταση, μια κατάσταση μεταξύ ευθραυστότητας και μη ευθραυστότητας. (Morley et al.,2014)

Τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί ότι το Σύνδρομο της Ευθραυστότητας δεν ισοδυναμεί με συννοσηρότητα ή αναπηρία, ωστόσο υπάρχει άμεση σύνδεση μεταξύ τους (Dent et al 2016). Επιπλέον, μελέτες έχουν δείξει ότι σύνδεση υπάρχει και με τις πτώσεις και

τα κατάγματα τα οποία αυξάνονται σε άτομα με το σύνδρομο της ευθραυστότητας (X Fang et al 2012).



**Εικόνα 1:** Πιθανοί μηχανισμοί και επιπτώσεις της ευθραυστότητας. (Chen et al., 2014)

**Γλωσσάρι εικόνας:** *Etiology*= αιτιολογία, *Genetics*=γενεσιολογία, *Risk factors*= παράγοντες κινδύνου, *Potential mechanisms*= πιθανοί μηχανισμοί, *Frailty phenotype*= φαινότυπος ευθραυστότητας, *Healthy outcomes*= επιπτώσεις στην υγεία, *Chronic inflammation*= χρόνια φλεγμονή, *Intermediary systems*= ενδιάμεσα συστήματα, *Aging*= γήρανση, *Lifestyle*= τρόπος ζωής, *Diseases*= ασθένειες, *Environment*= περιβάλλον, *Molecules*=μόρια, *Cytokines*=κυτοκίνες, *Immune cells*= κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, *Inflammatory pathway activation*= ενεργοποίηση φλεγμονώδους οδού, *Chronic CMV Infection*=χρόνια λοίμωξη από μεγαλοκυτταροϊό, *Musculoskeletal*= μυοσκελετικό, *Endocrine*= ενδοκρινικό, *Cardiovascular*= καρδιαγγειακό, *Hematologic*= αιματολογικό, *Weakness*=αδυναμία, *Weight loss*= απώλεια βάρους, *Exhaustion*=εξάντληση, *Low activity*=χαμηλή δραστηριότητα, *Slowed performance*= επιβραδυσμένη απόδοση, *Falls*=πτώσεις, *Disability*=αναπηρία, *Dependency*= εξάρτηση, *Death*=θάνατος

## 1.2 ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑΣ

Καθώς μέχρι σήμερα δεν υπάρχει ένας κοινώς αποδεκτός τρόπος εκτίμησης της ευθραυστότητας, έχουν αναπτυχθεί ποικίλα συστήματα με σκοπό την κατανόηση αλλά και την εκτίμηση της. (Δημήτριος Μπάκας, 2020)

- **CHS (Cardiovascular Health Study Index):** ελέγχονται 5 στοιχεία που αφορούν την απώλεια βάρους, την χαμηλή σωματική δραστηριότητα, την εξάντληση, την βραδύτητα

και την αδυναμία. Η κατηγοριοποίηση πραγματοποιείται με βάση το συνολικό σκορ σε τρεις κατηγορίες: robust=0, pre-fail=1-2, frail $\geq$ 3.

- **FI-CD (Frailty Index of Accumulated Deficits):** ελέγχονται παραπάνω από 30 στοιχεία όπου το σκορ κυμαίνεται από 0 (κανένα πρόβλημα) έως 1 (όλα τα προβλήματα). Ως όριο ορίζεται η τιμή 0,25.
- **FI-CGA (Frailty Index derived from Comprehensive Geriatric Assessment):**
- **SOF (Study of Osteoporotic Fracture Index):** ελέγχονται 3 στοιχεία που αφορούν την απώλεια βάρους, την εξάντληση και την αδυναμία έγερσης από καρέκλα 5 φορές. Η κατηγοριοποίηση γίνεται με βάση το σκορ σε pre-fail=1 και frail $\geq$ 2.
- **EFS (Edmonton Frailty Scale):** ελέγχονται 9 στοιχεία που αφορούν την γνωστική λειτουργία, την υγεία, την νοσηλεία, την κοινωνική υποστήριξη, την διατροφή, την διάθεση, την λειτουργικότητα και την εγκράτεια. Η κατηγοριοποίηση γίνεται με βάση το σκορ σε frail $\geq$ 7.
- **FRAIL (Fatigue, Resistance, Ambulation, Illness and Loss of Weight Index):** ελέγχονται 5 στοιχεία που αφορούν την κόπωση, την αντίσταση, την κινητικότητα, την ασθένεια και την απώλεια βάρους. Η κατηγοριοποίηση πραγματοποιείται με βάση το συνολικό σκορ σε τρεις κατηγορίες: robust=0, pre-fail=1-2, frail $\geq$ 3.
- **CFS (Clinical Frailty Scale):** ελέγχεται ένα στοιχείο που αφορά οπτικό και γραπτό διάγραμμα με 9 βαθμολογημένες εικόνες (1 = πολύ καλά, 9 = τελικού σταδίου ασθενής). Ως όριο ορίζεται η τιμή 5.
- **MPI (Multidimensional Prognostic Index):** ελέγχονται 8 στοιχεία που αφορούν την συννοσηρότητα, την διατροφή, την γνωστική λειτουργία, την πολυφαρμακία, των κίνδυνος ελκών κατάκλισης, τις συνθήκες διαβίωσης, τις ADL (activities of daily living) και τις IADL (instrumental activities of daily living). Η κατηγοριοποίηση γίνεται με βάση το σκορ σε pre-fail=0,34-0,66 και frail $\geq$ 0,66 .
- **TFI (Tilburg Frailty Index):** ελέγχονται 15 στοιχεία που σχετίζονται με τους εξής τομείς: ψυχολογικό, σωματικό και κοινωνικό. Ως όριο ορίζεται η τιμή 5.

- **PRISMA-7 (Program of Research on Integration of Services for the Maintenance of Autonomy):** ελέγχονται 7 στοιχεία που αφορούν την ηλικία, το φύλο, την κοινωνική υποστήριξη και τις ADL. Ως όριο ορίζεται η τιμή 3.
- **GFI (Groningen Frailty Indicator):** ελέγχονται 15 στοιχεία που σχετίζονται με τους εξής τομείς: ψυχολογικό, σωματικό, γνωστικό και κοινωνικό. Ως όριο ορίζεται η τιμή 4.
- **SPQ (Sherbrooke Postal Questionnaire):** ελέγχονται 6 στοιχεία που αφορούν την μοναχική ζωή, την πολυφαρμακία, την κινητικότητα, την όραση, την ακοή και την μνήμη. Ως όριο ορίζεται η τιμή 2.
- **GFST (Gérontopôle Frailty Screening Tool):** ελέγχονται 6 στοιχεία που αφορούν την μοναχική ζωή, την απώλεια βάρους, την κόπωση, την κινητικότητα, την μνήμη και την βάδιση ενώ γίνεται ταυτόχρονα και κλινική επιβεβαίωση. Η ευθραυστότητα προσδιορίζεται έπειτα από κλινική κρίση μετά την διαλογή.
- **KCL (Kihon Check-list):** ελέγχονται 25 στοιχεία της Περιεκτικής Γηριατρικής Εκτίμησης. Ως όριο ορίζεται η τιμή 0,25.

Από τα παραπάνω συστήματα γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι ο δείκτης ευθραυστότητας δεν συνδέεται μόνο με την σωματική υγεία ενός ανθρώπου αλλά και επηρεάζεται σημαντικά από ψυχολογικούς και κοινωνικούς παράγοντες. Επομένως, η ευθραυστότητα είναι μια πολύπλοκη κατάσταση που επηρεάζεται από ποικίλους παράγοντες.

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται τα συστήματα εκτίμησης ευθραυστότητας:

ΣΥΣΤΗΜΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ
<b>CHS (Cardiovascular Health Study Index)</b>	Ελέγχονται 5 στοιχεία
<b>FI-CD (Frailty Index of Accumulated Deficits)</b>	Ελέγχονται παραπάνω από 30 στοιχεία
<b>FI-CGA (Frailty Index derived from Comprehensive Geriatric Assessment)</b>	Ελέγχονται 52 στοιχεία

<b>EFS (Edmonton Frailty Scale)</b>	Ελέγχονται 9 στοιχεία
<b>FRAIL (Fatigue, Resistance, Ambulation, Illness and Loss of Weight Index)</b>	Ελέγχονται 5 στοιχεία
<b>CFS (Clinical Frailty Scale)</b>	Ελέγχεται ένα στοιχείο που αφορά οπτικό και γραπτό διάγραμμα
<b>MPI (Multidimensional Prognostic Index)</b>	Ελέγχονται 8 στοιχεία
<b>TFI (Tilburg Frailty Index)</b>	Ελέγχονται 15 στοιχεία.
<b>PRISMA-7 (Program of Research on Integration of Services for the Maintenance of Autonomy)</b>	Ελέγχονται 7 στοιχεία
<b>GFI (Groningen Frailty Indicator)</b>	Ελέγχονται 15 στοιχεία
<b>SPQ (Sherbrooke Postal Questionnaire)</b>	Ελέγχονται 6 στοιχεία
<b>GFST (Gérontopôle Frailty Screening Tool)</b>	Ελέγχονται 6 στοιχεία
<b>KCL (Kihon Check-list)</b>	Ελέγχονται 25 στοιχεία

**Πίνακας 1:** Συστήματα εκτίμησης ευθραυστότητας

### 1.3 ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑΣ

Ο όρος Φαινότυπος της ευθραυστότητας (Frailty Phenotype) ορίστηκε από τον Fried και τους συνεργάτες του το 2001 και διαχώρισε για πρώτη φορά επίσημα την ευθραυστότητα από την συννοσηρότητα και την αναπηρία ενώ παράλληλα υποστήριξε ότι η ευθραυστότητα αποτελεί ένα ξεχωριστό σύνδρομο. Για την εκτίμηση της ευθραυστότητας ορίστηκαν 5 στοιχεία τα οποία αφορούσαν τα εξής:

- *Αδυναμία:* ισχύς λαβής στο χαμηλότερο 20% , προσαρμοσμένο για κάθε φύλο και δείκτη μάζας σώματος
- *Μικρή ταχύτητα βάρδισης:* χρόνος για την κάλυψη απόστασης 4,5 μέτρων σε χρόνο με βάση το χαμηλότερο 20% του πληθυσμού

- *Μειωμένη φυσική δραστηριότητα:* ο αριθμός των θερμίδων ανά βδομάδα βασισμένο στην έκθεση κάθε συμμετέχοντα
- *Χαμηλά επίπεδα ενέργειας ή αυτοαναφερόμενη εξάντληση:* εξάντληση όπως αυτή δηλώνεται από τον συμμετέχοντα
- *Απώλεια βάρους:* απώλεια πάνω από 5 κιλά το έτος που προηγήθηκε ή απώλεια πάνω από 5% του συνολικού βάρους

Με βάση τα παραπάνω στοιχεία προκύπτει ένα σκορ το οποίο επιτρέπει την κατηγοριοποίηση των συμμετεχόντων σε αντίστοιχη κατηγορία. Οι κατηγορίες ανάλογα με το σκορ είναι οι εξής: pre-fail για σκορ 1-2 και frail για σκορ  $\geq 3$ . Συγκεκριμένα, άτομα τα οποία έχουν τελικό σκορ 1-2 θεωρείται ότι βρίσκονται σε ένα πρόδρομο στάδιο του συνδρόμου ευθραυστότητας ενώ τα άτομα με σκορ από 3 και πάνω έχουν σύνδρομο ευθραυστότητας (Fried et al 2001).

#### **1.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ**

Μέχρι σήμερα πολλοί παράγοντες έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση της ευθραυστότητας. Κάποια από αυτά είναι η ηλικία, το χαμηλό επίπεδο εκπαίδευσης, το γυναικείο φύλο αλλά και η κοινωνικοοικονομική κατάσταση ενός ατόμου. (Chaudhary M & Arokiasamy P. 2017)

- **Κοινωνικοοικονομικοί παράγοντες**

Ο τρόπος ζωής ενός ατόμου αποτελεί έναν παράγοντα που συμβάλει άμεσα στην εμφάνιση ευθραυστότητας. Κάποια παραδείγματα είναι το χαμηλό εισόδημα, η εργασία με την οποία ασχολείται το άτομο όπως για παράδειγμα οι βαριές εργασίες αλλά και το επίπεδο εκπαίδευσης. Αντίθετα, σε περιπτώσεις όπου το άτομο λαμβάνει κοινωνική στήριξη οι πιθανότητες εμφάνισης ευθραυστότητας είναι μειωμένες. (Woo et al. 2005). Η χαμηλότερη κοινωνικοοικονομική κατάσταση, έχει συσχετιστεί με ευθραυστότητα σε πολλές σύγχρονες μελέτες. Οι μελέτες CHS διαπίστωσαν ότι η υψηλότερη εκπαιδευτική κατάσταση και το υψηλότερο εισόδημα συσχετίστηκαν με μικρότερη θνησιμότητα. (Espinoza and Fried, 2007)



- **Γυναικείο φύλο**

Σύμφωνα με έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί οι γυναίκες εμφανίζουν μεγαλύτερα ποσοστά ευθραυστότητας σε σχέση με τους άντρες. Μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Ισπανία έδειξε ότι το ποσοστό ευθραυστότητας στις γυναίκες ήταν 30% ενώ στους άντρες 9% (Bolanos et al. 2008). Τα χαρακτηριστικά που παρατηρήθηκαν ήταν το αργό βάδισμα και η εξάντληση που ήταν συχνότερα στις γυναίκες. Υπάρχουν διάφοροι λόγοι που το γυναικείο φύλο μπορεί να συσχετιστεί πιο εύκολα με την εμφάνιση ευθραυστότητας. Ένα από αυτά είναι η σαρκοπενία καθώς οι γυναίκες χαρακτηρίζονται από λιγότερη μυϊκή μάζα από τους άντρες όταν βρίσκονται στην ίδια ηλικιακή ομάδα. (Zhang et al., 2018)

- **Διατροφή**

Ένας επιπλέον παράγοντας που παίζει ρόλο στην εμφάνιση της ευθραυστότητας είναι πιθανότατα η διατροφή. Ανάλογα με την διατροφή ενός ατόμου είναι πιθανόν να έχει υψηλές ή χαμηλές πιθανότητες εμφάνισης ευθραυστότητας. Ένα παράδειγμα είναι η υψηλή πρόσληψη πρωτεΐνης που βοηθάει στην μείωση των πιθανοτήτων εμφάνισης ευθραυστότητας. (Beasley et al. 2010).

Επιπλέον, σύμφωνα με τους Woo et al. το αλκοόλ έχει συσχετιστεί με την υψηλή πιθανότητα εμφάνισης ευθραυστότητας και πιο συγκεκριμένα για τους άντρες. (Woo et al. 2005)

- **Συννοσηρότητα**

Διάφορες ασθένειες έχουν συνδεθεί με την αύξηση πιθανότητας εμφάνισης ευθραυστότητας. Μια από αυτές είναι η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια. Λόγω της δύσπνοιας που αποτελεί σύμπτωμα της ασθένειας, τα άτομα χαρακτηρίζονται από απώλεια βάρους, χαμηλή φυσική δραστηριότητα αλλά ακόμα και από κινητικά προβλήματα. Όλα τα παραπάνω μπορούν να ενισχύσουν την εμφάνιση ευθραυστότητας. (Ierodiakonou et al. 2019).

- **Παχυσαρκία**

Σύμφωνα με έρευνες, ένας άλλος παράγοντας που συσχετίστηκε με την ευθραυστότητα είναι η παχυσαρκία. (Blauw et al. 2005). Επιπλέον μελέτες υποστηρίζουν ότι η ύπαρξη παχυσαρκίας στη μέση ηλικία μπορεί να λειτουργήσει προγνωστικά για την ανάπτυξη του συνδρόμου ευθραυστότητας. (Strandberg et al., 2012).

<b>ΠΙΘΑΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑ</b>
<p><b>1. Σωματικοί παράγοντες</b></p> <p>Αναιμία</p> <p>Ενεργοποιημένη φλεγμονή</p> <p>Δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος</p> <p>Αλλοίωση του ενδοκρινικού συστήματος</p> <p>Ηλικία</p>
<p><b>2. Ιατρική ασθένεια/Συννοσηρότητα</b></p> <p>Καρδιακή νόσος</p> <p>Διαβήτης</p> <p>Εγκεφαλικό</p> <p>Αρθρίτιδα</p> <p>Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια</p> <p>Γνωστική δυσλειτουργία</p>
<p><b>3. Κοινωνικοδημογραφικοί και ψυχολογικοί παράγοντες</b></p> <p>Γυναικείο φύλο</p> <p>Φυλή/εθνικότητα</p> <p>Κατάθλιψη</p> <p>Χαμηλό κοινωνικοοικονομικό προφίλ</p>
<p><b>4. Αναπηρία</b></p> <p>Δραστηριότητα της καθημερινής αναπηρίας</p>

**Πίνακας 2:** Παράγοντες κινδύνου για την ευθραυστότητα (Προσαρμογή από Fried et al., 2007)

## 1.5 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Παγκοσμίως, έχει παρατηρηθεί ότι άτομα τα οποία πάσχουν από σύνδρομο ευθραυστότητας έχουν αυξημένες πιθανότητες για νοσηλεία ή εισαγωγή σε κάποιο ίδρυμα (Benetos, 2012)

Όσον αφορά την σχέση μεταξύ δείκτη ευθραυστότητας και ηλικίας, κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι όλα τα άτομα άνω των 95 ετών πάσχουν από το σύνδρομο της ευθραυστότητας. Επιπλέον, για άτομα ηλικίας έως 80 ετών υπολογίζεται ότι ο επιπολασμός του συνδρόμου ευθραυστότητας είναι περίπου 40%. (Cesari et al, 2006).

Σύμφωνα με μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Santos et al(2009), οι νότιες χώρες της Ευρώπης (Ισπανία, Ιταλία, Γαλλία και Ελλάδα) εμφανίζουν το μεγαλύτερο επιπολασμό του συνδρόμου ενώ την μικρότερη συχνότητα εμφάνισης παρουσιάζει η Ελβετία με 5,8 %. (Κατερέλος, 2017)

## 1.6 ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΘΛΙΨΗ

Πολλά κοινά συμπτώματα παρατηρούνται μεταξύ της κατάθλιψης και της ευθραυστότητας με αποτέλεσμα να υπάρχει φαινομενολογική επικάλυψη. Αυτά τα είναι συνήθως η απώλεια βάρους, οι μειωμένες σωματικές δραστηριότητες αλλά και η χαμηλή ενέργεια. Σύμφωνα με μελέτες, το ποσοστό των συμπτωμάτων της κατάθλιψης μπορούν να αυξηθούν ανάλογα με τον αριθμό των παρόντων χαρακτηριστικών της ευθραυστότητας. (Fried et al.,2001).

Ωστόσο, παρά τις παραπάνω συσχετίσεις, έχει πραγματοποιηθεί περιορισμένη έρευνα όσον αφορά την κατάθλιψη και την σχέση της με την ευθραυστότητα. Επομένως, αν και τα χαρακτηριστικά της ευθραυστότητας ήταν προγνωστικά της θνησιμότητας σε μη καταθλιπτικούς ηλικιωμένους στους ενήλικες, δεν έχει αποδειχθεί εάν τα ίδια χαρακτηριστικά είναι προγνωστικά σε ηλικιωμένους με κατάθλιψη ή εάν η παρουσία της κατάθλιψης αυξάνει τον κίνδυνο θνησιμότητας σε αυτά τα άτομα. (Brown et al., 2014)

## 2 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣΣ

### 2.1 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

Ελεύθερες ρίζες ονομάζονται τα μόρια το οποία διαθέτουν ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στιβάδα. (Halliwell & Gutteridge, 1999) Αυτά τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια προσφέρουν ένα σημαντικό βαθμό δραστηριότητας στην ελεύθερη ρίζα με αποτέλεσμα να την κάνουν εξαιρετικά ασταθή και επιρρεπή σε αντίδραση με άλλα μόρια (Uttara et al., 2009).

Μια ελεύθερη ρίζα μπορεί να προκύψει από απώλεια ηλεκτρονίου από άτομο ή μόριο, πρόσληψη ηλεκτρονίου από άτομο ή μόριο ή ακόμα και ομολυτική σχάση. Επιπλέον, μια ελεύθερη ρίζα μπορεί να αντιδράσει με μια μη-ρίζα δίνοντας ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό μιας νέας ρίζας. Αυτό μπορεί να γίνει προσθετικά, οξειδωτικά, αναγωγικά ή αφαιρετικά. (Ντούκας, 2018)

Οι ελεύθερες ρίζες περιλαμβάνουν το υδροξύλιο ( $\text{OH}\cdot$ ), το σουπεροξειδίο ( $\text{O}_2\cdot^-$ ), το μονοξειδίο του αζώτου ( $\text{NO}\cdot$ ), το διοξειδίο του αζώτου ( $\text{NO}_2\cdot$ ), και το υπεροξειδίο λιπιδίων ( $\text{LOO}\cdot$ ). Επίσης, το υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), το όζον ( $\text{O}_3$ ), το οξυγόνο απλής κατάστασης ( $^1\text{O}_2$ ), το υποχλωρώδες οξύ ( $\text{HOCl}$ ), το νιτρώδες οξύ ( $\text{HNO}_2$ ), το νιτρικό ανιόν ( $\text{ONOO}^-$ ), το τριοξειδίο του διαζώτου ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ), το υπεροξειδίο των λιπιδίων ( $\text{LOOH}$ ), δεν είναι ελεύθερες ρίζες και γενικά ονομάζονται οξειδωτικά, αλλά μπορούν εύκολα να οδηγήσουν σε αντιδράσεις ελεύθερων ριζών σε ζωντανούς οργανισμούς. Οι βιολογικές ελεύθερες ρίζες είναι επομένως εξαιρετικά ασταθή μόρια που έχουν διαθέσιμα ηλεκτρόνια για να αντιδράσουν με διάφορα οργανικά υποστρώματα όπως λιπίδια, πρωτεΐνες, DNA. (Pham-Huy et al., 2008)

Δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS)		Δραστικές μορφές αζώτου (RNS)	
ΟΝΟΜΑ ΡΙΖΑΣ	ΤΥΠΟΣ	ΟΝΟΜΑ ΡΙΖΑΣ	ΤΥΠΟΣ
Ρίζα Υπεροξειδίου	$\text{O}_2\cdot^-$	Ρίζα νιτρικού οξέος	NO
Ρίζα Υπεροξειδίου του Υδρογόνου	$\text{H}_2\text{O}_2$	Ρίζα οξειδίου του αζώτου	$\text{NO}_2\cdot$
Ρίζα Υδροξυλίου	OH	Ρίζα νιτρικού ανιόντος	$\text{NO}_3^-$
Ρίζα υπεροξυλίου	$\text{OH}_2\cdot$	Ρίζα νιτροξυλικού ανιόντος	HNO

**Πίνακας 3:** Ελεύθερες ρίζες

## 2.2 ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ (ROS)

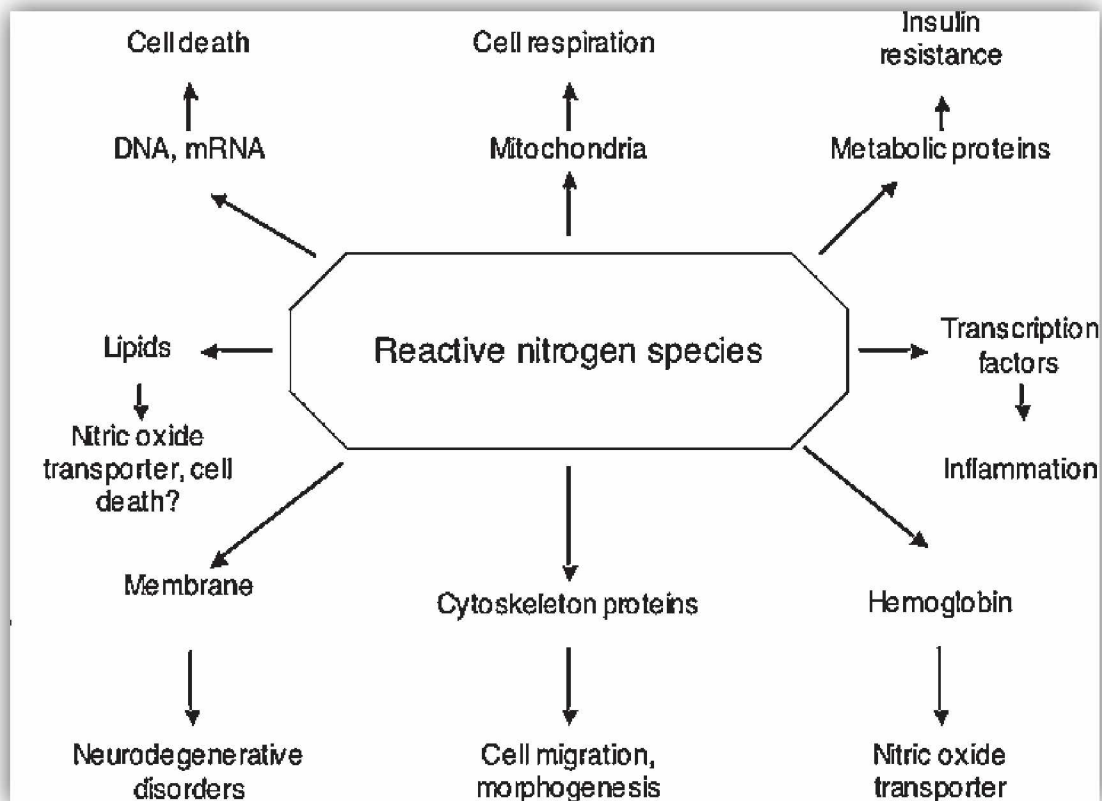
Τα ROS είναι μια ομάδα ελεύθερων ριζών, δραστικών μορίων και ιόντων που προέρχονται από το  $O_2$ . Η έννοια των ROS ως απλώς επιβλαβών μορίων έχει αλλάξει πρόσφατα στην τρέχουσα άποψη ότι δρουν ως καθολικοί μεταβολίτες σηματοδότησης (Foyer et al., 2017). Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι τα ROS παράγονται σκόπιμα για να προκαλέσουν σήματα οξειδοαναγωγής, τα οποία ρυθμίζουν μια ποικιλία κυτταρικών αποκρίσεων απαραίτητων για τη ζωή (Finkel, 2011). Για παράδειγμα, η επαγόμενη από το ROS σηματοδότηση οξειδοαναγωγής στα φυτά ενεργοποιεί ένα πρόγραμμα γονιδιακής έκφρασης που βοηθά στη διατήρηση της ομοιόστασης της κυτταρικής οξειδοαναγωγής και στην εξέλιξη πολλών βασικών βιολογικών διεργασιών που σχετίζονται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση. Επιπλέον, ο κυτταρικός θάνατος – που προηγουμένως θεωρούνταν ως συνέπεια του οξειδωτικού στρες που προκαλείται από το ROS – αναφέρεται τώρα ότι προκαλείται από τα ROS που ενεργοποιεί μια οδό προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (PCD) (Dangl and Jones, 2001).

Μια ποικιλία ενζυματικών και μη ενζυματικών διεργασιών μπορεί να δημιουργήσει αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS) σε κύτταρα θηλαστικών. Μεταξύ των πιο σημαντικών πηγών είναι οι αντιδράσεις που καταλύονται από τα ένζυμα οξειδάση νικοτιναμίδης αδενοδινοκλεοτιδική φωσφορική (NADPH), οξειδάση της ξανθίνης και μυελοϋπεροξειδάση. Τα ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα είναι οι κύριες πηγές παραγωγής ROS στη σήψη. Το προκύπτον ROS θα οδηγήσει σε εξάντληση των αντιοξειδωτικών και μπορεί να επιτεθεί σε έναν αριθμό βιομορίων, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών, των λιπιδίων και του DNA. Τα ROS διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στη σηματοδότηση των κυττάρων για την επιβίωση ή τον θάνατο των κυττάρων. (Patlevic et al., 2016)

## 2.3 ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΑΖΩΤΟΥ

Τα αντιδραστικά είδη αζώτου (RNS) είναι διάφορες ενώσεις που προέρχονται από μονοξείδιο του αζώτου. Σε αυτές συμπεριλαμβάνονται τα σύμπλοκα νιτροξυλικού ανιόντος, κατιόντος νιτροσωνίου, ανώτερων οξειδίων αζώτου, S-νιτροσοθειόλων και συμπλοκών δινιτροζυλοσιδήρου.

Τα RNS έχουν αναγνωριστεί ότι διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη φυσιολογική ρύθμιση πολλών ζωντανών κυττάρων, όπως τα λεία μυϊκά κύτταρα, τα καρδιομυοκύτταρα, τα αιμοπετάλια και τα νευρικά κύτταρα. Αυξημένα επίπεδα RNS έχουν εμπλακεί σε κυτταρικό τραυματισμό και θάνατο προκαλώντας νιτρωτικό στρες. (Martinez and Andriantsitohaina, 2009)



**Εικόνα 2:** Πιθανές επιπτώσεις αυξημένων επιπέδων δραστικών ειδών αζώτου (Martinez et al., 2009)

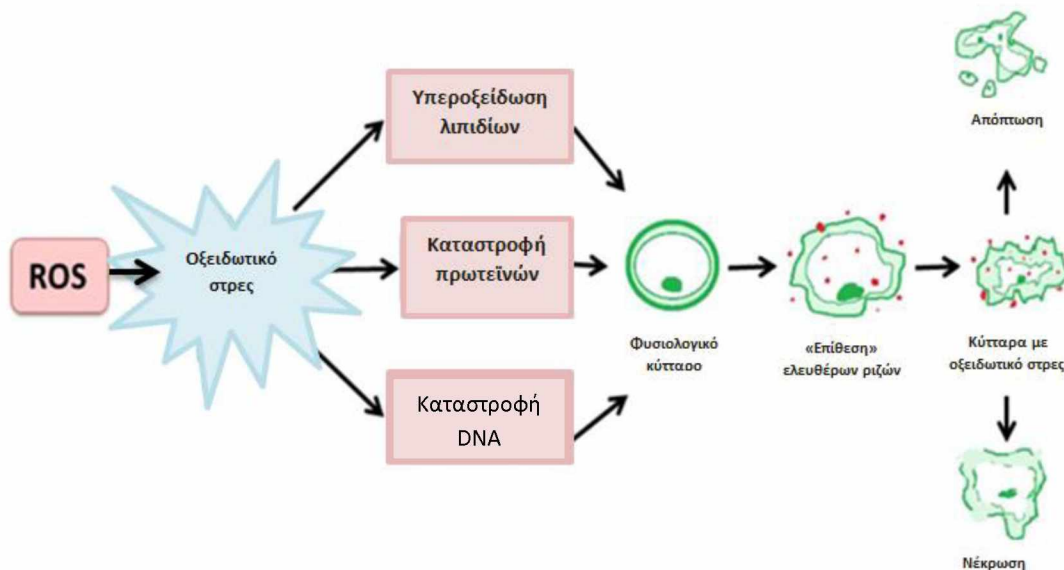
**Γλωσσάρι εικόνας:** *Reactive nitrogen species*= Δραστικά είδη αζώτου, *Cell death*= κυτταρικός θάνατος, *Cell respiration*= κυτταρική αναπνοή, *Insulin resistance*= αντίσταση στην ινσουλίνη, *Mitochondria*= μιτοχόνδρια, *Metabolic proteins*= μεταβολικές πρωτεΐνες, *Lipids*= λιπίδια, *Transcription factors*= παράγοντες μεταγραφής, *Nitric oxide transporter*= μεταφορέας μονοξειδίου του αζώτου, *Inflammation*= φλεγμονή, *Membrane*= μεμβράνη, *Neurodegenerative disorder*= Νευροεκφυλιστική διαταραχή, *Cytoskeleton proteins*= κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες, *Hemoglobin*= αιμογλοβίνη, *Cell migration*= μετανάστευση κυττάρων, *Morphogenesis*= Μορφογένεση

## 2.4 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Το οξειδωτικό στρες ορίζεται από μια ανισορροπία μεταξύ των αυξημένων επιπέδων δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και της χαμηλής δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Σε περιπτώσεις αυξημένου οξειδωτικού στρες παρατηρείται βλάβη στη κυτταρική δομή και υπάρχει πιθανότητα ακόμα και για καταστροφή των ιστών. Παρόλα αυτά, τα δραστικά είδη οξυγόνου είναι αναγκαία για την επαρκή κυτταρική λειτουργία, στην οποία συμπεριλαμβάνεται και η παραγωγή ενέργειας από τα μιτοχόνδρια.

Η ισορροπία μεταξύ της παραγωγής των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και των συστημάτων που ελέγχουν την παραγωγή των ROS ονομάζεται «οξειδοαναγωγική κατάσταση». Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκληθεί είτε από εξωγενείς πηγές είτε από ενδογενείς παράγοντες. Όσον αφορά τις εξωγενείς πηγές, αυτές μπορεί να είναι ξеноβιοτικές ουσίες, το όζον, οι υψηλές συγκεντρώσεις του οξυγόνου, οι παθογόνοι μικροοργανισμοί, η ακτινοβολία αλλά ακόμα και η διατροφή και το κάπνισμα. Από την άλλη μεριά, οι ενδογενείς παράγοντες μπορεί να είναι ένζυμα, η δράση των λευκοκυττάρων ή ο αερόβιος μεταβολισμός στα μιτοχόνδρια. Τα ROS μπορούν να υβριδοποιηθούν με δραστικά είδη αζώτου και να σχηματίσουν είδη υπεροξυνιτρωδών, (ONOO<sup>-</sup>) που είναι πιο τοξικά από τα μητρικά είδη.

Ενώ τα φυσιολογικά επίπεδα οξειδωτικού στρες επιδρούν θετικά στον οργανισμό, τα αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες είναι κατά κύριο λόγο επιβλαβή. (Shankar and Mehendale, 2014). Ολοένα και περισσότερο, αναγνωρίζεται επίσης ότι ο μεγάλος αριθμός δραστικών μορφών οξυγόνου μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική διαδικασία γήρανσης και στην παθογένεση πολλών χρόνιων ασθενειών όπως ο καρκίνος, οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο διαβήτης, οι φλεγμονώδεις ασθένειες και οι δηλητηριάσεις. (Jean-Charles Preiser, 2012).



**Εικόνα 3:** Σχηματική αναπαράσταση της σχέσης μεταξύ ROS, οξειδωτικού στρες και των επιπτώσεών τους στον ανθρώπινο οργανισμό. ( Προσαρμογή από Sharifi-Rad et al., 2020)

## 2.5 ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ

Όταν το οξειδωτικό στρες δεν ελέγχεται, μπορεί να προκαλέσει διάφορες ασθένειες, τόσο χρόνιες όσο και εκφυλιστικές, ενώ επιπλέον συμβάλει στην επιτάχυνση της γήρανσης του σώματος και στην εμφάνιση οξειών παθολογιών.

Όπως είναι ευρέως γνωστό, η εμφάνιση του καρκίνου είναι μια πολύπλοκη διαδικασία όπου ενδογενείς ή/και εξωγενείς παράγοντες συμβάλουν στην ενεργοποίηση κυτταρικών και μοριακών αλλοιώσεων. Ένα από τα βασικά ερεθίσματα που οδηγούν στην ανάπτυξη καρκίνου είναι η οξειδωτική βλάβη του DNA. Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει ποικίλες τροποποιήσεις στη δομή του DNA, όπως για παράδειγμα, βλάβες βάσης και σακχάρου, διασταύρωση DNA-πρωτεΐνης -σύνδεσμοι και ιστότοποι χωρίς βάση. Για παράδειγμα, το κάπνισμα, οι περιβαλλοντικοί ρύποι και η χρόνια φλεγμονή είναι πηγές οξειδωτικής βλάβης του DNA που θα μπορούσαν να συμβάλουν στην εμφάνιση του όγκου. (Pizzino et al., 2017)

Οι καρδιαγγειακές παθήσεις (CVD) είναι κλινικές καταστάσεις όπου όπως και στον καρκίνο, παρατηρείται πολυπαραγοντική αιτιολογία. Γενικότερα, συνδέονται με μεγάλο



αριθμό παραγόντων κινδύνου, οι πιο ευρέως αναγνωρισμένοι από τους οποίους είναι η υπερχοληστερολαιμία, η καπνιστική συνήθεια, η υπέρταση, ο διαβήτης, η μη ισορροπημένη διατροφή, το στρες και η καθιστική ζωή (Pizzino et al., 2017). Σύμφωνα με μελέτες, το οξειδωτικό στρες θεωρείται είτε πρωταρχική είτε δευτερεύουσα αιτία για πολλά καρδιαγγειακά νοσήματα. (Pacher et al., 2007)

## 2.6 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

Τα αντιοξειδωτικά είναι ουσίες οι οποίες βοηθούν στην αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες. Σύμφωνα με τον ορισμό που έχει δοθεί από τους Vaya J. και Aviram M, αντιοξειδωτική ουσία είναι αυτή που όταν βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε σχέση με το υπόστρωμα που θα οξειδωθεί, βοηθάει στο να καθυστερήσει ή να αποτρέψει την οξείδωση αυτού του υποστρώματος. (Vaya J. and Aviram M., 2001)

Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να χωριστούν σε κατηγορίες με ποικίλους τρόπους. Ένα κριτήριο κατηγοριοποίησης είναι και η δράση των ουσιών αυτών. Έτσι, σύμφωνα με τα παραπάνω, τα αντιοξειδωτικά μπορούν να χωριστούν σε ενζυμικά και μη ενζυμικά. Τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά έχουν την ικανότητα να σταματούν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελεύθερων ριζών. Όσον αφορά τα ενζυμικά αντιοξειδωτικά, έχουν την ικανότητα να διασπών και στη συνέχεια να απομακρύνουν τις ελεύθερες ρίζες. Συγκεκριμένα, μπορούν να μετατρέψουν τα οξειδωτικά προϊόντα σε  $H_2O_2$  (υπεροξειδίο του υδρογόνου), το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε νερό. Αυτή η διαδικασία περιλαμβάνει πολλά στάδια στα οποία είναι παρόν διάφοροι συμπαράγοντες όπως είναι το μαγγάνιο, ο σίδηρος, ο χαλκός και ο ψευδάργυρος. (Aziz et al., 2018)

### 2.6.1 ΕΝΖΥΜΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΑΜΥΝΑΣ

- **Υπεροξειδική δισμουτάση (SOD)**

Ένα ενδογενές αντιοξειδωτικό είναι το ένζυμο υπεροξειδική δισμουτάση. Το ένζυμο αυτό έχει την δυνατότητα να καταλύει την διάσπαση του υπεροξειδίου. Ένα υποπροϊόν της

παραπάνω αντίδρασης είναι το υπεροξειδίο του υδρογόνου. Το ένζυμο υπεροξειδική δισμουτάση παρουσιάζει 3 παραλλαγές. Τα ένζυμα που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα περιέχουν χαλκό/ψευδάργυρο ενώ υπάρχουν και ένζυμα στα μιτοχόνδρια τα οποία περιέχουν μαγγάνιο. Επιπλέον, υπάρχει και ένας τρίτος εξωκυτταρικός τύπος. (Cullota et al., 2006)

- **Γλουταθειόνη**

Δύο ακόμη ένζυμα που δρουν ως αντιοξειδωτικά είναι η αναγωγάση της γλουταθειόνης και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης χρησιμοποιεί την ανηγμένη γλουταθειόνη με σκοπό να μετατρέψει το  $H_2O_2$  που παράγεται στο εσωτερικό του κυττάρου σε  $O_2$  και νερό. Κατά την παραπάνω αντίδραση η γλουταθειόνη οξειδώνεται. Για να κρατηθούν χαμηλά τα επίπεδα της οξειδωμένης γλουταθειόνης η αναγωγάση της γλουταθειόνης χρησιμοποιώντας το συνένζυμο FAD (φλαβινο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο) ανάγει την οξειδωμένη γλουταθειόνη. Με αυτή την αντίδραση η οξειδωμένη γλουταθειόνη μετατρέπεται και πάλι σε ανηγμένη γλουταθειόνη που θα χρησιμοποιηθεί από την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Η επαναλαμβανόμενη αυτή οξείδωση και αναγωγή καθιστούν τα παραπάνω ένζυμα καθαριστές ελεύθερων ριζών. (Aquilano et al., 2014)

- **Καταλάση**

Η καταλάση είναι ένα αντιοξειδωτικό ένζυμο που δρα ως καταλύτης για τη μετατροπή του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε οξυγόνο και νερό. Εξουδετερώνει την επίδραση του υπεροξειδίου του υδρογόνου που υπάρχει ενδοκυτταρικά. (Nandi et al., 2019)



## 2.6.2 ΜΗ-ENZYMΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΑΜΥΝΑΣ

- **Β-Καροτένιο**

Το β-καροτένιο έχει αναφερθεί ότι σταματάει ή αναστέλλει άμεσα τις ελεύθερες ρίζες και την υπεροξειδωση των λιπιδίων στα λιποσώματα, δρώντας έτσι ως αντιοξειδωτικό προστατεύοντας κύτταρα και οργανισμούς από οξειδωτική βλάβη. Για παράδειγμα, οι ρίζες υπεροξυλίου που παράγονται με έκθεση τετραχλωράνθρακα σε παλμική ραδιόλυση παρουσία οξυγόνου (ρίζες  $\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$ ) αντέδρασαν με β-καροτένιο. (Mordi et al., 2020)

- **Βιταμίνη C**

Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) αποτελεί ένα πολύ σημαντικό θρεπτικό συστατικό για τον άνθρωπο καθώς συμμετέχει σε μια σειρά βιολογικών λειτουργιών. Παρόλα αυτά οι άνθρωποι έχουν χάσει την ικανότητα να συνθέτουν της βιταμίνη αυτή επομένως είναι σημαντικό να την λαμβάνουμε από την διατροφή μας. Οι επιδράσεις της βιταμίνης C στην προαγωγή της υγείας μπορούν να αποδοθούν στις βιολογικές της λειτουργίες ως συμπάραγοντας για έναν αριθμό ενζύμων, κυρίως τις υδροξυλάσες που συμμετέχουν στη σύνθεση κολλαγόνου, και ως υδατοδιαλυτό αντιοξειδωτικό (Maret G.Traber and Jan F.Stevens, 2011). Επιπλέον, η βιταμίνη C μπορεί να είναι χρήσιμη στην πρόληψη του καρκίνου. Οι πιθανοί μηχανισμοί με τους οποίους η βιταμίνη C μπορεί να επηρεάσει την καρκινογένεση περιλαμβάνουν αντιοξειδωτικά αποτελέσματα, παρεμπόδιση του σχηματισμού νιτροζανιμών, ενίσχυση της ανοσολογικής απόκρισης και επιτάχυνση της αποτοξίνωσης των ηπατικών ενζύμων. (Lobo et al., 2010)

- **Βιταμίνη E**

Η βιταμίνη E, ένας ισχυρός καθαριστής ριζών υπεροξυλίου, είναι ένα αντιοξειδωτικό που σπάει την αλυσίδα και εμποδίζει τη διάδοση των ελεύθερων ριζών στις μεμβράνες και στις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος. Όταν σχηματίζονται ρίζες υπεροξυλίου ( $\text{ROO}\cdot$ ), αυτές αντιδρούν 1000 φορές πιο γρήγορα με τη βιταμίνη E (Βιταμίνη E-OH) παρά με τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (Maret G.Traber and Jan F.Stevens, 2011). Η βιταμίνη E μπορεί να είναι χρήσιμη στην πρόληψη του καρκίνου και να αναστέλλει την καρκινογένεση μέσω της τόνωσης του ανοσοποιητικού συστήματος. (Jiang, 2017)

### 3 ΧΟΛΕΡΥΘΡΙΝΗ

Η χολερυθρίνη αποτελεί έναν σημαντικό μεταβολίτη της αίμης η οποία αποτελεί ένα σύμπλεγμα που συμμετέχει στο συντονισμό του σιδήρου σε διάφορες πρωτεΐνες. Εάν και αποτελεί μια δυνητικά τοξική ουσία, ο οργανισμός έχει αναπτύξει διάφορους μηχανισμούς με σκοπό να ελέγξει την διάθεση αλλά και την ασφαλή αποτοξίνωσή της. Χαρακτηριστικό της χολερυθρίνης αλλά και των μεταβολιτών της είναι το κίτρινο χρώμα που προσδίδει στη χολή και σε χαμηλότερο βαθμό στα ούρα.

Υπάρχουν δυο βασικές πηγές για την χολερυθρίνη. Το μεγαλύτερο μέρος της χολερυθρίνης προκύπτει μετά από την διάσπαση της αιμοσφαιρίνης η οποία λαμβάνει χώρα σε γερασμένα ερυθρά αιμοσφαίρια αλλά και στα πρόωρα καταστρεφόμενα ερυθρά κύτταρα που βρίσκονται στον μυελό των οστών. (Kalakonda et al., 2021) Κατά την διάσπαση αυτή τα προϊόντα απελευθερώνονται στο κυκλοφορικό σύστημα και η αιμοσφαιρίνη διασπάται στην αίμη και την σφαιρίνη. Η σφαιρίνη αποτελεί μια πρωτεΐνη που χρησιμοποιείται από τον οργανισμό σε αντίθεση με την αίμη η οποία μετατρέπεται σε μη συζευγμένη χολερυθρίνη. Η μη συζευγμένη χολερυθρίνη είναι μια αδιάλυτη ουσία η οποία είναι δεσμευμένη σε λευκωματίνη (Hockenberry & Wilson, 2011). Η αποδέσμευση της χολερυθρίνης από την λευκωματίνη πραγματοποιείται στο ήπαρ με την βοήθεια του ενζύμου τρανσφεράσης γλυκουρονικού οξέος. Αποτέλεσμα αυτής της διάσπασης είναι η διαλυτή συζευγμένη χολερυθρίνη που εκκρίνεται στη χολή.

Ένα μικρότερο ποσοστό χολερυθρίνης προκύπτει από διάφορες πρωτεΐνες που περιέχουν αίμη και βρίσκονται στους μυς και το ήπαρ. Τέτοιες πρωτεΐνες μπορούν να είναι η καταλάση, η μυοσφαιρίνη, η υπεροξειδάση, τα κυτοχρώματα κτλ. Το σώμα μας παράγει ημερησίως περίπου 4mg/kg. (Kalakonda et al., 2021)

#### 3.1 ΧΟΛΕΡΥΘΡΙΝΗ, ΟΞΕΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΑΛΛΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Εάν και η χολερυθρίνη χαρακτηριζόταν επί δεκαετίες ως ένα απλό τοξικό παράγωγο της αίμης, τα τελευταία χρόνια έρευνες υποστηρίζουν ότι η χολερυθρίνη μπορεί να δρα και θετικά στον οργανισμό μας καθώς συνδέεται με την προστασία από το οξειδωτικό στρες. Συγκεκριμένα η χολερυθρίνη μπορεί να δράσει κυτταροπροστατευτικά με σκοπό να αποτρέψει τον τραυματισμό των κυττάρων από το οξειδωτικό στρες. (Inoguchi et al., 2016)

Πολλές έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί με σκοπό να μελετήσουν την συσχέτιση των επιπέδων χολερυθρίνης στον οργανισμό με διάφορες ασθένειες. Όσον αφορά την στεφανιαία νόσο, χαμηλά επίπεδα χολερυθρίνης έχουν συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της ασθένειας. (Schwertner and Vitek, 2008)

Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρούνται και στον σακχαρώδη διαβήτη όπου χαμηλά ποσοστά χολερυθρίνης συνδέθηκαν με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου ενώ αντίστοιχα σε άτομα με υψηλά ποσοστά χολερυθρίνης παρατηρήθηκε ότι υπήρχε προστασία από την εμφάνιση της. (Ndisang, 2010)

Επιπρόσθετα, η χολερυθρίνη αναφέρθηκε επίσης ότι παρέχει προστασία έναντι του μεταβολικού συνδρόμου και ότι σχετίζεται αρνητικά με το υπερβολικό βάρος και την παχυσαρκία. (Vitek, 2012)

Όσον αφορά τις ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία, η χολερυθρίνη έχει σημαντικό και ευεργετικό ρόλο στην πρόληψη οξειδωτικών αλλαγών σε μια σειρά ασθενειών, όπως η αθηροσκλήρωση, η νευροεκφυλιστική νόσος και ο καρκίνος, καθώς και μια σειρά από φλεγμονώδεις και αυτοάνοσες ασθένειες. Τα ήπια έως μέτρια αυξημένα επίπεδα χολερυθρίνης ορού σχετίζονται θετικά με καλύτερα αποτελέσματα της καρδιαγγειακής νόσου.

Επιπλέον, οι θετικές επιδράσεις της χολερυθρίνης ορού απεικονίστηκαν στη μελέτη του συνδρόμου Gilbert. Το σύνδρομο Gilbert είναι η πιο κοινή κληρονομική γενετική διαταραχή της μειωμένης δραστηριότητας της γλυκουρονυλ-τρανσφεράσης που προκαλεί ήπιες έως μέτριες αυξήσεις της χολερυθρίνης ορού και εντοπίζεται σε έως και 5% του πληθυσμού (Kim et al., 2012). Ο επιπολασμός των ισχαιμικών καρδιακών παθήσεων στο σύνδρομο Gilbert βρέθηκε να είναι μόνο 2%, σε σύγκριση με 12% στα άτομα ελέγχου (Vitek et al., 2002). Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι το κάπνισμα, ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο, συσχετίστηκε με σημαντικά μειωμένη περιεκτικότητα σε χολερυθρίνη ορού (Van Hoydonck et al., 2001).

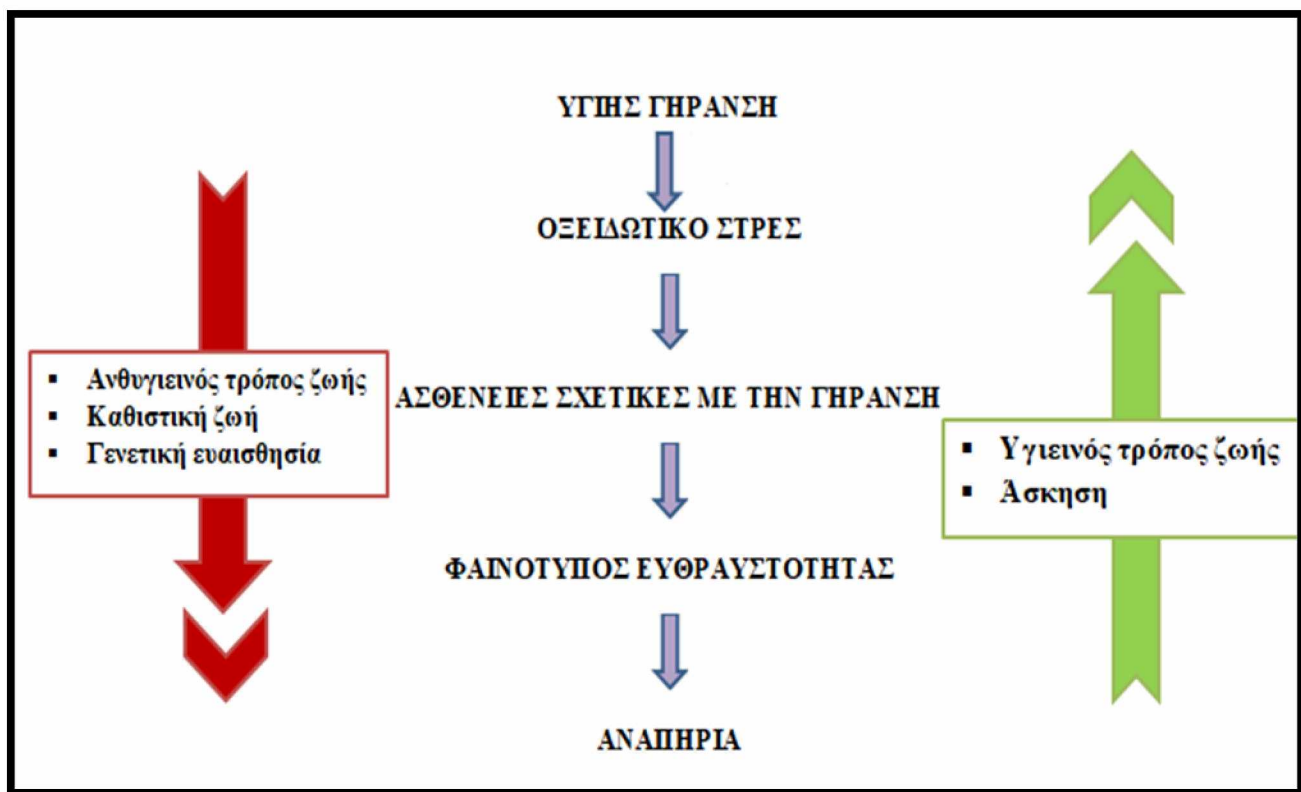
#### **4 ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ**

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το οξειδωτικό στρες και η ευθραυστότητα μπορεί να σχετίζονται. Συγκεκριμένα σύμφωνα με τους Chen et al., το οξειδωτικό στρες ίσως παίζει

ρόλο στην ανάπτυξη ευθραυστότητας (Chen et al., 2014). Επιπρόσθετα, σύμφωνα με άλλες μελέτες εμφανίστηκε θετική συσχέτιση μεταξύ ουρικού οξέος, όπου αποτελεί αντιοξειδωτικό παράγοντα, και της ευθραυστότητας (García-Esquinas et al., 2016).

Μια πιο πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι σε άτομα με σύνδρομο ευθραυστότητας οι δείκτες οξειδωτικού στρες ήταν υψηλότεροι ενώ οι αντιοξειδωτικοί παράγοντες ήταν χαμηλότεροι κάτι που ενισχύει την υπόθεση ότι η ευθραυστότητα σχετίζεται με το οξειδωτικό στρες. (Soysal et al., 2017)

Επιπρόσθετα δεδομένα, που υποστηρίζουν τους παραπάνω ισχυρισμούς, προσφέρονται από την έρευνα των El Assar et al., όπου τονίζεται πως στους ενήλικες μεγαλύτερης ηλικίας η αύξηση δεικτών οξειδωτικού στρες και η μείωση αντιοξειδωτικών παραμέτρων δεν σχετίζεται με την ηλικία αλλά με την ευθραυστότητα. (El Assar et al., 2020) Επιπλέον, στην ίδια έρευνα τονίζεται ότι με την αύξηση της ενδογενούς αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω της άσκησης μπορεί να οδηγήσει σε πρόληψη ή καθυστέρηση του φαινοτύπου ευθραυστότητας. Στην παρακάτω εικόνα περιγράφεται η πιθανή συσχέτιση μεταξύ ευθραυστότητας και οξειδωτικού στρες.



**Εικόνα 4:** Πιθανή συσχέτιση δείκτη ευθραυστότητας και οξειδωτικού στρες και ο ρόλος του τρόπου ζωής. (Προσαρμογή από El Assar et al., 2020)

Αν και πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα, δεν μπορεί να δοθεί μια ξεκάθαρη απάντηση για το εάν οι δείκτες οξειδωτικού στρες μπορούν να συσχετιστούν με τον δείκτη ευθραυστότητας. Για αυτό τον λόγο οι μελέτες που σχετίζονται με αυτό το θέμα συνεχίζονται μέχρι και σήμερα με σκοπό να μπορέσει να δοθεί μια τεκμηριωμένη εξήγηση για το εάν τελικά αυτά τα δύο φαινόμενα συσχετίζονται.

## 5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 5.1 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Στη παρούσα εργασία μετρήθηκαν οι δείκτες οξειδωτικού στρες εθελοντών με δείκτη ευθραυστότητας διαφορετικό από την βιολογική τους ηλικία. Σκοπός αυτής της μελέτης είναι η ανάλυση της συσχέτισης μεταξύ των δεικτών οξειδωτικού στρες και του δείκτη ευθραυστότητας. Για τον λόγο αυτό επιλέχθηκαν οι παρακάτω δείκτες: ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC), ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), πρωτεϊνικά καρβονύλια και ολική χολερυθρίνη (TBILI). Επιπλέον, υπολογίστηκε και ο δείκτης ευθραυστότητας του κάθε εθελοντή με σκοπό την στατιστική ανάλυση.

### 5.2 ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΘΕΛΟΝΤΩΝ

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 21 εθελοντές ηλικίας μεταξύ 68 έως 94 ετών. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Γενικό Νοσοκομείο Αμαλία Φλέμινγκ (Αθήνα). Όλοι οι συμμετέχοντες έδωσαν τη γραπτή συγκατάθεσή τους και οι διαδικασίες εγκρίθηκαν από την Επιτροπή Δεοντολογίας της έρευνας του ινστιτούτου ενώ επιβλήθηκαν η Διακήρυξη του Ελσίνκι (2000) και τα ισχύοντα εθνικά πρότυπα. Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των εθελοντών παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

		n	%
<b>Φύλλο</b>	Άντρας	13	61.9
	Γυναίκα	8	38.1
<b>Κάπνισμα</b>	Όχι	14	66.7
	Ναι	5	23.8
	Πρώην Καπνιστής	2	9.5
	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	Ελάχιστο - Μέγιστο
<b>Ηλικία</b>	82.7	6.2	68-94
<b>BMI</b>	26.0	1.1	23.6-27.8

**Πίνακας 4:** Δημογραφικά χαρακτηριστικά εθελοντών



### 5.3 ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΥΘΡΑΣΤΟΤΗΤΑΣ ΕΘΕΛΟΝΤΩΝ

Για κάθε έναν εθελοντή υπολογίστηκε ο δείκτης ευθραυστότητας με βάση το CHS (Cardiovascular Health Study Index) σύστημα στο οποίο ελέγχονται 5 βασικοί παράγοντες:

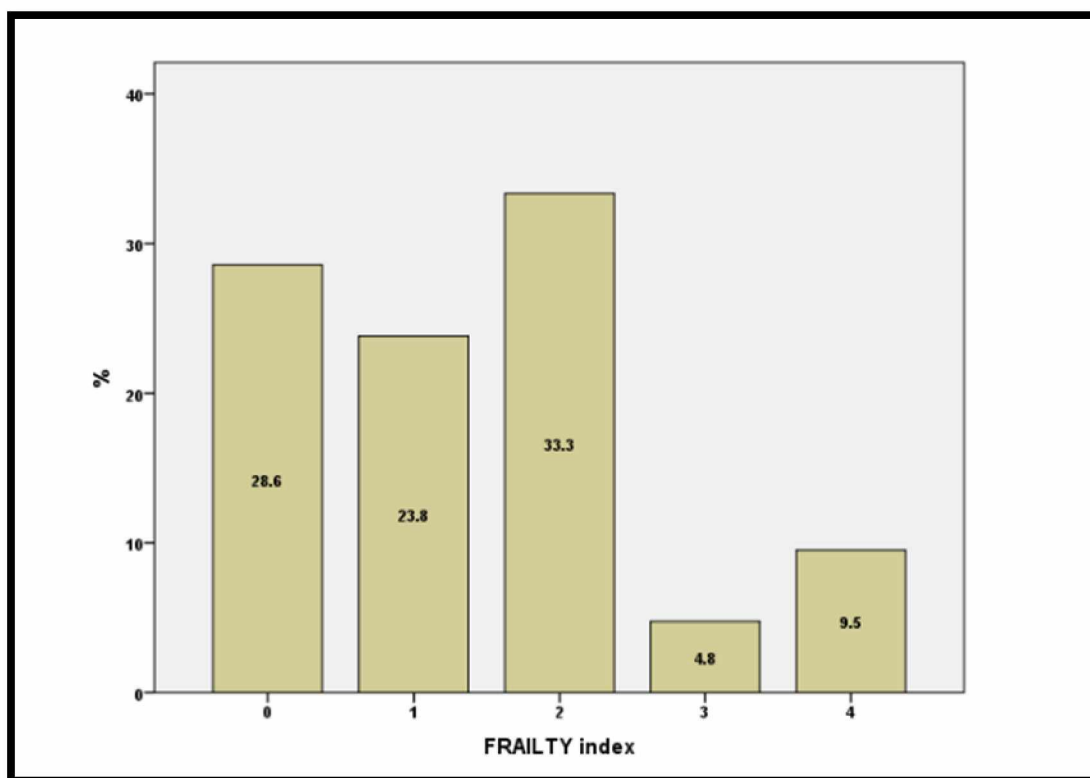
1. Απώλεια βάρους
2. Χαμηλή φυσική δραστηριότητα
3. Εξάντληση
4. Βραδύτητα
5. Αδυναμία

Κάθε εθελοντής έλαβε ένα ερωτηματολόγιο με βάση του οποίου υπολογίστηκε το σκορ του για τον καθορισμό του δείκτη ευθραυστότητας. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα και ραβδόγραμμα:

		n	%
Δείκτης Ευθραυστότητας	0	6	28.6
	1	5	23.8
	2	7	33.3
	3	1	4.8
	4	2	9.5

**Πίνακας 5:** Αποτελέσματα δεικτών ευθραυστότητας εθελοντών.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των εθελοντών (33.3%) εμφανίζει δείκτη ευθραυστότητας 2. Μεγάλο είναι και το ποσοστό (28.6%) με δείκτη ευθραυστότητας 0. Το μικρότερο ποσοστό των εθελοντών (4.8%) έχει δείκτη ευθραυστότητας 3.

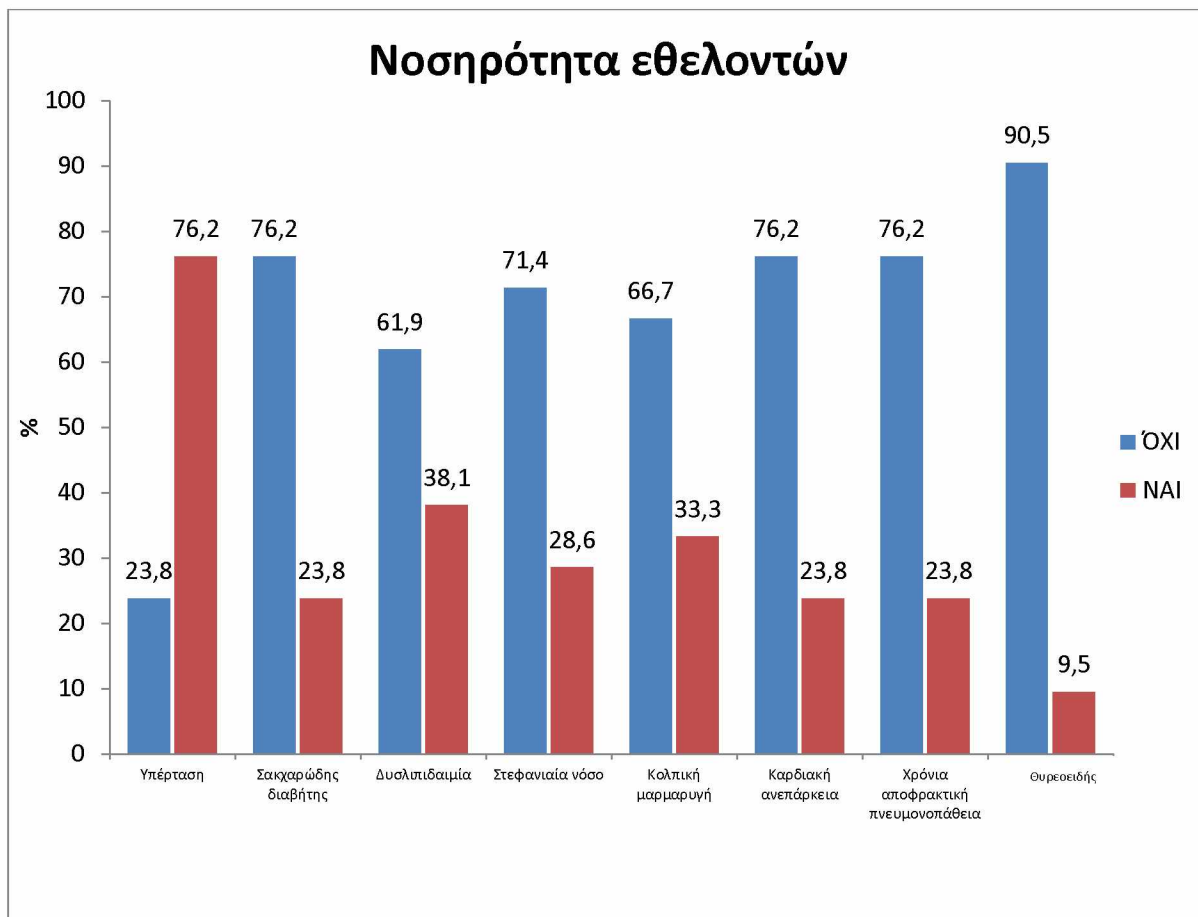


**Διάγραμμα 1:** Ραβδόγραμμα ποσοστών δεικτών ευθραυστότητας εθελοντών

Επιπλέον, οι εθελοντές συμπλήρωσαν ερωτηματολόγιο για την ύπαρξη ασθενειών και τα αποτελέσματα συνοσηρότητας παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

	OXI		NAI	
	n	%	n	%
Νοσηρότητα				
Υπέρταση	5	23.8	16	76.2
Σακχαρώδης διαβήτης	16	76.2	5	23.8
Δυσλιπιδαιμία	13	61.9	8	38.1
Στεφανιαία νόσο	15	71.4	6	28.6
Κολπική μαρμαρυγή	14	66.7	7	33.3
Καρδιακή ανεπάρκεια	16	76.2	5	23.8
Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια	16	76.2	5	23.8
Θυρεοειδής	19	90.5	2	9.5

**Πίνακας 6:** Συνοσηρότητα εθελοντών



**Διάγραμμα 2:** Διάγραμμα συννοσηρότητας εθελοντών

## 5.4 ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

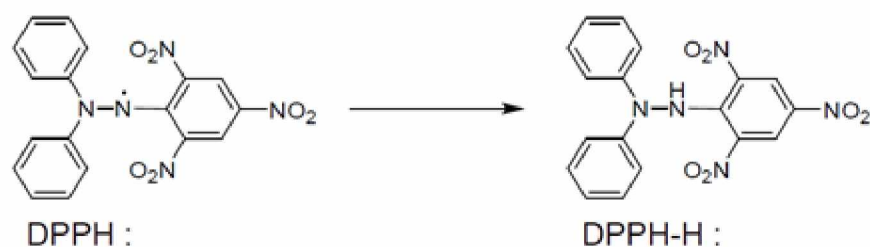
Δείγματα φλεβικού αίματος συλλέχθηκαν από τους εθελοντές το πρωί μετά από 30 λεπτά ανάπαυσης, φυγοκεντρήθηκαν εντός 30 λεπτών και στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν στους  $-20^{\circ}\text{C}$ . Το πλάσμα χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC), των δραστικών ουσιών με θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), των πρωτεϊνικών καρβονυλίων και της ολικής χολερυθρίνης (TBILI).

### 5.4.1 ΟΛΙΚΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ

Μια από τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν ο υπολογισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας. Ο όρος ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) χρησιμοποιείται για να περιγράψει την ικανότητα που έχουν τα συστατικά του πλάσματος στην εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών. Όλα τα συστατικά του πλάσματος έχουν αντιοξειδωτική δράση όμως κάθε ένα από αυτά δρα με διαφορετικό τρόπο και συνεισφέρει διαφορετικά στην ολική αντιοξειδωτική δράση. Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος μπορεί να θεωρηθεί και μέτρο της αντιοξειδωτικής κατάστασης όλου του οργανισμού. Ένας τρόπος μέτρησης της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος είναι με την μέτρηση της TAC ως σύνολο όλων των συστατικών και όχι κάθε συστατικού ξεχωριστά. Σε αυτή την περίπτωση η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC), η οποία εκφράζεται σε mmol DPPH/L, προσδιορίζεται με την φασματοφωτομετρική ανάλυση της DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

#### Αρχή της μεθόδου

Παρουσία ενός δότη υδρογόνων η παραπάνω ρίζα (DPPH•) ανάγεται προς σχηματισμό της αντίστοιχης υδραζίνης (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazine). Μετά την αναγωγή, η μετατροπή της ρίζας υπολογίζεται με την βοήθεια φωτομέτρησης στα 520 nm.



Εικόνα 5: Αναγωγή της ρίζας DPPH• (T. Shimamura et al., 2014)

## Πειραματική διαδικασία

Για τον υπολογισμό της, αναμείχθηκαν 20μL πλάσματος σε 480μL 10mmol/L Phosphate buffer (pH=7,4) και 500μL 0,1 mmol/L ελεύθερης ρίζας DPPH. Τα δείγματα στη συνέχεια επώαστηκαν στο σκοτάδι και σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Έπειτα, τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για περίπου 3 λεπτά στα 20.000g. Τέλος μετρήθηκε η απορρόφηση στα 520nm. Για την παραπάνω μέτρηση χρησιμοποιήθηκε τυφλό δείγμα που παρασκευάστηκε με όλα τα παραπάνω εκτός του δείγματος πλάσματος.

## Υπολογισμοί

Για τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε η παρακάτω σχέση:

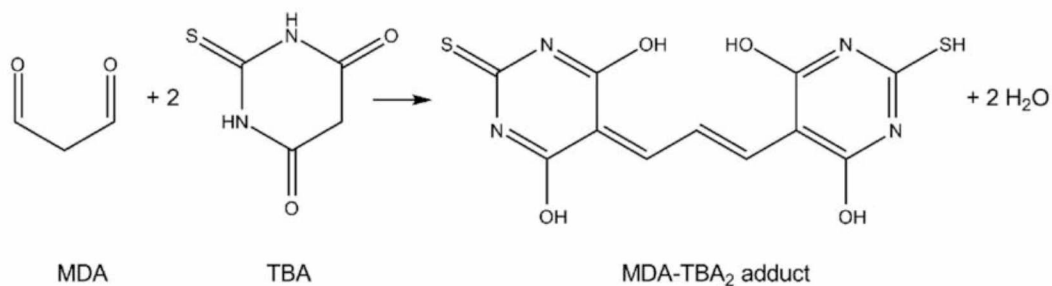
$$\mu\text{molDPPH που απομακρύνθηκαν} / \text{mL πλάσματος} = [(\% \text{ Abs μείωση} / 100) \times 50 \times 50] / 1000$$

Με την βοήθεια αυτής της σχέσης υπολογίζεται η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα σε mmol DPPH/L.

### 5.4.2 ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΥ ΑΝΤΙΔΡΟΥΝ ΜΕ ΤΟ ΘΕΙΟΒΑΡΒΙΤΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ (TBARS)

#### Αρχή της μεθόδου

Το οξειδωτικό στρες στο κυτταρικό περιβάλλον οδηγεί στο σχηματισμό εξαιρετικά δραστικών και ασταθών υπεροξειδίων λιπιδίων από πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Το προϊόν της αποσύνθεσης αυτών των ασταθών μορίων είναι η **μηλονική διαλδεΐδη (MDA)**. Η **μηλονική διαλδεΐδη** μπορεί να προσδιοριστεί από την αντίδρασή της με θειοβαρβιτουρικό οξύ. Επομένως, το TBARS εκφράζεται ως ισοδύναμο της μηλονικής διαλδεΐδης, η οποία σχηματίζει μια ένωση με θειοβαρβιτουρικό οξύ σε αναλογία 1/2 μηλονικής διαλδεΐδης προς θειοβαρβιτουρικό οξύ. Η μέτρηση της μηλονικής διαλδεΐδης είναι μια φωτομετρική μέθοδος για τον προσδιορισμό του βαθμού υπεροξείδωσης των λιπιδίων.



**Εικόνα 6:** Αντίδραση TBA (2) με MDA (1), που οδηγεί στην παραγωγή του μορίου TBAMDA. (Weitner et al., 2016)

### Πειραματική διαδικασία

Για τον προσδιορισμό του TBARS, χρησιμοποιήθηκε μια μέθοδος που έχει περιγραφεί από τους Paschalis et al. (Paschalis et al., 2007). Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο, 100ml πλάσματος αναμίχθηκαν με 500ml 35% TCA και 500ml υδροχλωρικού τρισυδροξυμεθυλαμινομεθανίου (Tris-HCl) (200 mM, pH 7,4) και επώαστηκαν για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Προστέθηκε ένα χιλιοστόλιτρο διαλύματος Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2M και 55 mMθειοβαρβιτουρικού οξέος και τα δείγματα επώαστηκαν στους 95°C για 45 λεπτά. Τα δείγματα ψύχθηκαν σε πάγο για 5 λεπτά και φυγοκεντρήθηκαν μετά την προσθήκη 1 mL 70% TCA. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στα 15.000g για 3 λεπτά και η απορρόφηση του υπερκειμένου διαβάστηκε στα 530 nm. Επιπλέον μετρήθηκε και η απορρόφηση τυφλού διαλύματος το οποίο περιείχε όλα τα συστατικά εκτός από το δείγμα πλάσματος.

### Υπολογισμοί

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του TBARS βασίστηκε στον μοριακό συντελεστή απόσβεσης της μηλονοδιαλδεύδης. Η συγκέντρωση των TBARS (μmol/L) = (Απορρόφηση δείγματος - Απορρόφηση τυφλού) / 0.156 x 31, όπου το 31 είναι ο συντελεστής αραίωσης. Ο συντελεστής απόσβεσης μηλονοδιαλδεύδης είναι 156.000. Ο αριθμός αυτός διαιρείται με το 10<sup>-6</sup> ώστε να γίνει μετατροπή από mol/L σε μmol/L με αποτέλεσμα να προκύπτει το 0.156 που χρησιμοποιείται στην παραπάνω σχέση.

### 5.4.3 ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΑ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΑ

#### Αρχή της μεθόδου

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να προκαλέσουν βλάβες στις πρωτεΐνες και τα αμινοξέα. Για την μέτρηση της οξειδωσης των πρωτεϊνών χρησιμοποιούνται σαν δείκτης τα πρωτεϊνικά καρβονύλια. Έχουν επιλεγθεί ως δείκτης καθώς τα καρβονύλια θεωρούνται σταθερά μόρια. Κατά την καρβονυλίωση των πρωτεϊνών σε μέτριο βαθμό, απομακρύνονται από το πρωτεόσωμα. Στη περίπτωση όπου η βλάβη είναι μεγάλη πλέον είναι αδύνατον να διασπαστούν με αποτέλεσμα να δημιουργούν συσσωματώματα μεγάλου μοριακού βάρους.

#### Πειραματική διαδικασία

Τα πρωτεϊνικά καρβονύλια προσδιορίστηκαν με βάση τη μέθοδο των Patsoukis et al. (Patsoukis et al., 2004). Σε 50μL πλάσματος προσθέτουμε 50μL 20% TCA (τριχλωρικό οξύ) και στην συνέχεια αναδεύουμε το κάθε δείγμα. Το 20% TCA βοηθάει στην κατακρήμνιση των πρωτεϊνών του πλάσματος.

Τα δείγματα στη συνέχεια επώζονται σε πάγο για 15 λεπτά και στην συνέχεια ακολουθεί φυγοκέντρηση για 5 λεπτά στα 15.000g και θερμοκρασία 4°C. Μετά την φυγοκέντρηση στο υπερκείμενο απομακρύνεται. Στη συνέχεια προστίθενται 500μL 10Mm DNPH (2,4-δινιτροφαινυλδραζίνης) [σε υδροχλώριο 2,5 N (HCl)] ή 500μL 2,5 N HCl για το τυφλό στο ίζημα. Τα δείγματα επώστηκαν στη συνέχεια στο σκοτάδι και σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα με ενδιάμεση ανάδευση κάθε 15 λεπτά. Μετά το πέρας της μιας ώρας, τα δείγματα φυγοκεντρούνται για 5 λεπτά στα 15.000g στους 4°C.

Το υπερκείμενο απορρίφθηκε και προστέθηκε 1 mL 10% TCA και τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και πάλι στα 15.000 g για 5 λεπτά στους 4°C. Το υπερκείμενο απορρίφθηκε και προστέθηκε 1 mL αιθανόλης-οξικού αιθυλεστέρα (1:1 v/v), τα δείγματα αναδεύθηκαν και στην συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν στα 15.000 g για 5 λεπτά στους 4°C. Αυτό το βήμα πλύσης επαναλήφθηκε δύο φορές.

Το υπερκείμενο απορρίφθηκε και προστέθηκε 1 mL ουρίας 5 M (pH 2,3), στροβιλίστηκε και επώστηκε στους 37°C για 15 λεπτά. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στα 15.000 g για 3 λεπτά στους 4°C και η απορρόφηση μετρήθηκε στα 375 nm.

## Υπολογισμοί

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης καρβονυλίου πρωτεΐνης βασίστηκε στον μοριακό συντελεστή απόσβεσης του DNPΗ. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε ο παρακάτω τύπος:

$$\text{Συγκέντρωση πρωτεϊνικών καρβονυλίων (nmol/mL)} = \frac{\text{Απορρόφηση δείγματος} - \text{Απορρόφηση τυφλού}}{0.022 \times 1000/50 \times 2}$$

Ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης του DNPΗ είναι  $22 \text{ mM} \times \text{cm}^{-1}$ . Το  $1000/50$  είναι ο συντελεστής αραίωσης.

### 5.4.4 ΟΛΙΚΗ ΧΟΛΕΡΥΘΡΙΝΗ

Η χολερυθρίνη είναι μια οργανική ένωση που σχηματίζεται από το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα κατά τη φυσιολογική και τη μη φυσιολογική αποδόμηση των ερυθροκυττάρων. Οι μετρήσεις της χολερυθρίνης χρησιμοποιούνται στη διάγνωση ηπατικών νόσων, στην ανίχνευση αιμολυτικής αναιμίας και στην αξιολόγηση του βαθμού σοβαρότητας του ίκτερου.

#### Αρχή της μεθόδου

Η νέα μέθοδος υγρού αντιδραστηρίου που παρουσιάζεται εδώ χρησιμοποιεί ένα νέο διαζωνιακό ιόν που εξασφαλίζει άριστη σύζευξη με τη χολερυθρίνη και μειώνει την αλληλεπίδραση με την αιμοσφαιρίνη και το indican.

Παρουσία ενός κατάλληλου παράγοντα διαλυτοποίησης, η ολική χολερυθρίνη συζεύγνυται με διαζωνιακό ιόν σε ισχυρά όξινο περιβάλλον (pH 1-2). οξύ

#### **Χολερυθρίνη + διαζωνιακό ιόν → αζωχολερυθρίνη**

Η ένταση του χρώματος της αζωχολερυθρίνης που παράγεται είναι ευθέως ανάλογη με τη συγκέντρωση της ολικής χολερυθρίνης και μπορεί να μετρηθεί φωτομετρικά.

#### Αντιδραστήρια - διαλύματα εργασίας

- R1:  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$  (ρυθμιστικό διάλυμα οξικού νατρίου): 85 mmol/L,  
 $\text{H}_3\text{NO}_3\text{S}$  (σουλφαμικό οξύ): 110 mmol/L, επιφανειοδραστικός παράγοντας,



παράγοντας διαλυτοποίησης

- R2: HCl: 100 mmol/L, διαζωνιακό ιόν: 3 mmol/L

## Υπολογισμός

Η ολική χολερυθρίνη μετρήθηκε με αυτόματο αναλυτή Roche/Hitachi. Αυτός ο αναλυτής χρησιμοποιεί  $C_2H_3NaO_2$  ως ρυθμιστικό,  $H_3NO_3S$  ως διαλυτοποιητικό παράγοντα και HCl ως διαζωνικό ιόν. Τα δείγματα μετρήθηκαν την ημέρα της αιμοληψίας. Σε περίπτωση απόθεσης στα δείγματα, αυτά φυγοκεντρήθηκαν πριν από την ανάλυση.

## 5.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με χρήση λογισμικού SPSS 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ΗΠΑ). Οι σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων για τις ίδιες παραμέτρους διερευνήθηκαν χρησιμοποιώντας επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA με Bonferroni post-hoc test και αναλύσεις ζευγαρωμένων t-test. Χρησιμοποιήθηκαν ανεξάρτητες δοκιμές t για τη σύγκριση των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων.

Οι συσχετίσεις του Pearson και του Spearman και η ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης διεξήχθησαν για τη διερεύνηση συσχετίσεων μεταξύ διαφόρων μεταβλητών. Οι διαφορές μεταξύ των κατηγορικών μεταβλητών αξιολογήθηκαν με τη δοκιμή Chi-square. Πραγματοποιήθηκαν πολλαπλές αναλύσεις γραμμικής παλινδρόμησης για την αξιολόγηση της συσχέτισης του δείκτη ευθραυστότητας με διάφορες βιοχημικές παραμέτρους (TAC, TBARS, πρωτεϊνικά καρβονύλια και ολική χολερυθρίνη).

Το  $P \leq 0,05$  θεωρήθηκε ότι υποδηλώνει στατιστικά σημαντική διαφορά.

## 5.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η ηλικία των ασθενών κυμαινόταν από 68 έως 94 έτη με διάμεση ηλικία τα 82,7 έτη. Ο μέσος ΔΜΣ είναι 26 και η πλειοψηφία του πληθυσμού (66,7%) δεν καπνίζει. Ο Πίνακας 4 συνοψίζει δημογραφικά δεδομένα ασθενών.

Σύμφωνα με τον δείκτη ευθραυστότητας, η πλειοψηφία του πληθυσμού της μελέτης έχει δείκτη ευθραυστότητας 2 (33,3%) ενώ μόνο 3 ασθενείς έχουν δείκτη ευθραυστότητας >3.

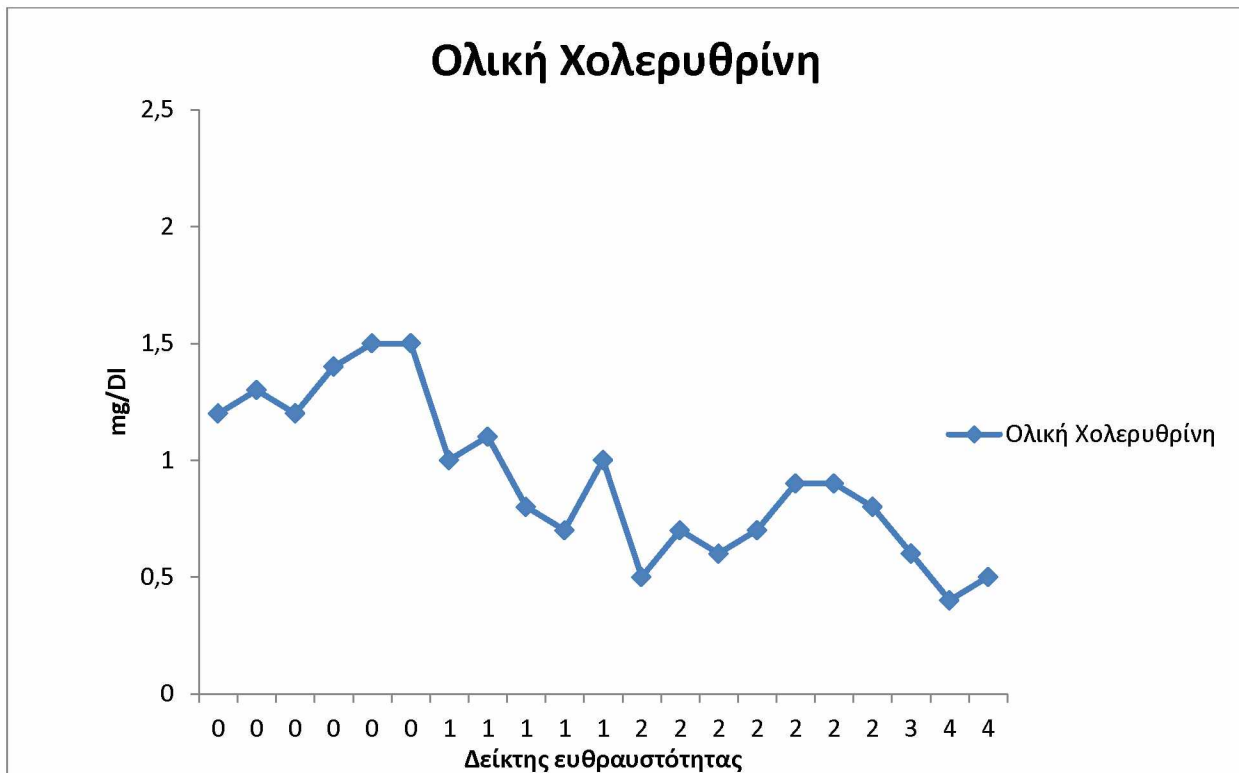
Επιπλέον, συλλέχθηκαν πληροφορίες σχετικά με τη συννοσηρότητα των συμμετεχόντων. Το μεγαλύτερο ποσοστό των εθελοντών (76.2%) δήλωσε ότι νοσεί από υπέρταση ενώ αρκετά υψηλό είναι και το ποσοστό των εθελοντών (38.1%) που πάσχουν από δυσλιπιδιμία. Στη συνέχεια ακολουθεί η κολπική μαρμαρυγή με ποσοστό 33.3% και η στεφανιαία νόσος με 28.6% . Στα χαμηλά επίπεδα (23.8%) κυμαίνονται ο σακχαρώδης διαβήτης, η καρδιακή ανεπάρκεια και η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια. Το χαμηλότερο ποσοστό των εθελοντών (9.5%) πάσχει από θυρεοειδή.

Για κάθε εθελοντή υπολογίστηκαν οι εξής δείκτες οξειδωτικού στρες : ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC), ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), πρωτεϊνικά καρβονύλια και ολική χολερυθρίνη (TBILI). Τα αποτελέσματα φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

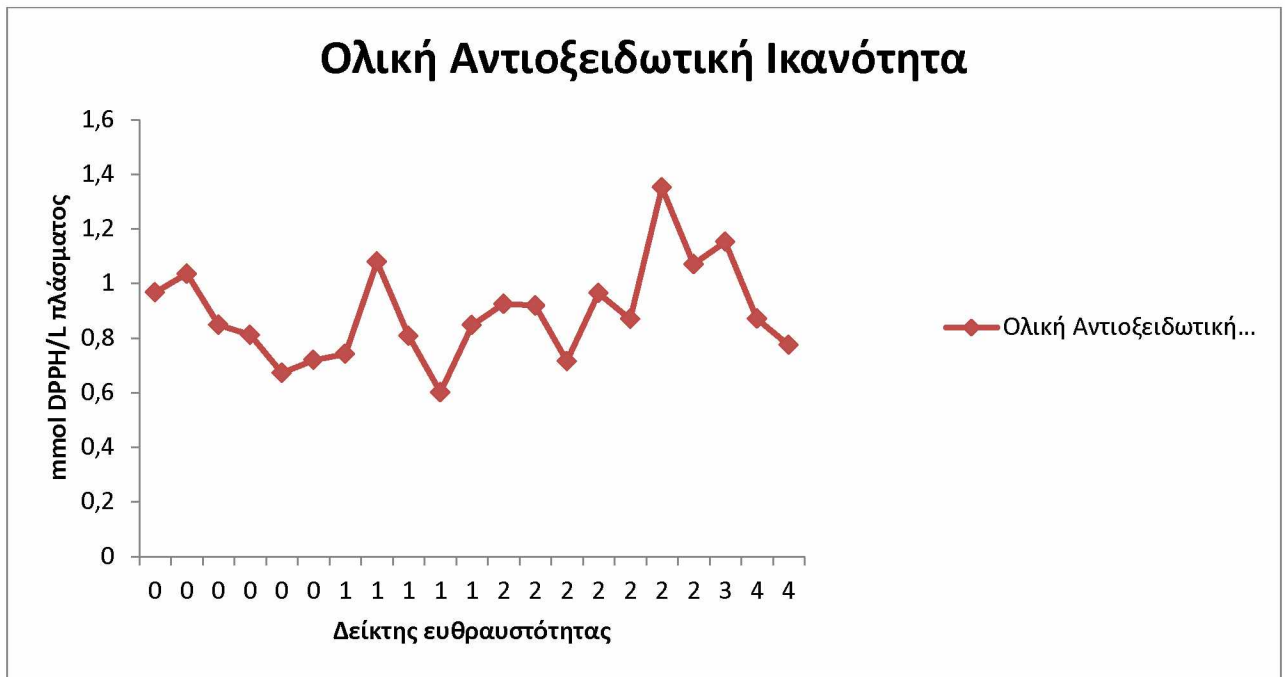
Δείγμα #	Ολική Χολερωθρίνη mg/dL	Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) mmol DPPH/L πλάσματος	Ουσίες που αντιδρούν με το Θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) μmol/L στο πλάσμα	Πρωτεϊνικά καρβονύλια (CARBONYLS) nmol/mg protein στο πλάσμα
1	1,2	0,967	6,86	0,545
2	1,3	1,035	5,27	0,519
3	1	0,741	6,66	0,461
4	1,1	1,079	7,45	0,506
5	0,5	0,925	7,55	0,403
6	1,2	0,848	7,35	0,539
7	0,8	0,807	7,45	0,513
8	0,7	0,601	4,97	0,5
9	1,4	0,811	6,36	0,818
10	1,5	0,672	4,67	0,747
11	1,5	0,719	5,27	0,591
12	0,7	0,919	5,07	0,623
13	1	0,847	5,37	0,682
14	0,6	0,715	5,56	0,623
15	0,4	0,87	6,76	0,494
16	0,7	0,964	3,97	0,539
17	0,5	0,774	6,96	0,5
18	0,6	1,152	3,97	0,552
19	0,9	0,869	3,97	0,474

20	0,9	1,351	5,66	0,539
21	0,8	1,07	6,06	0,494

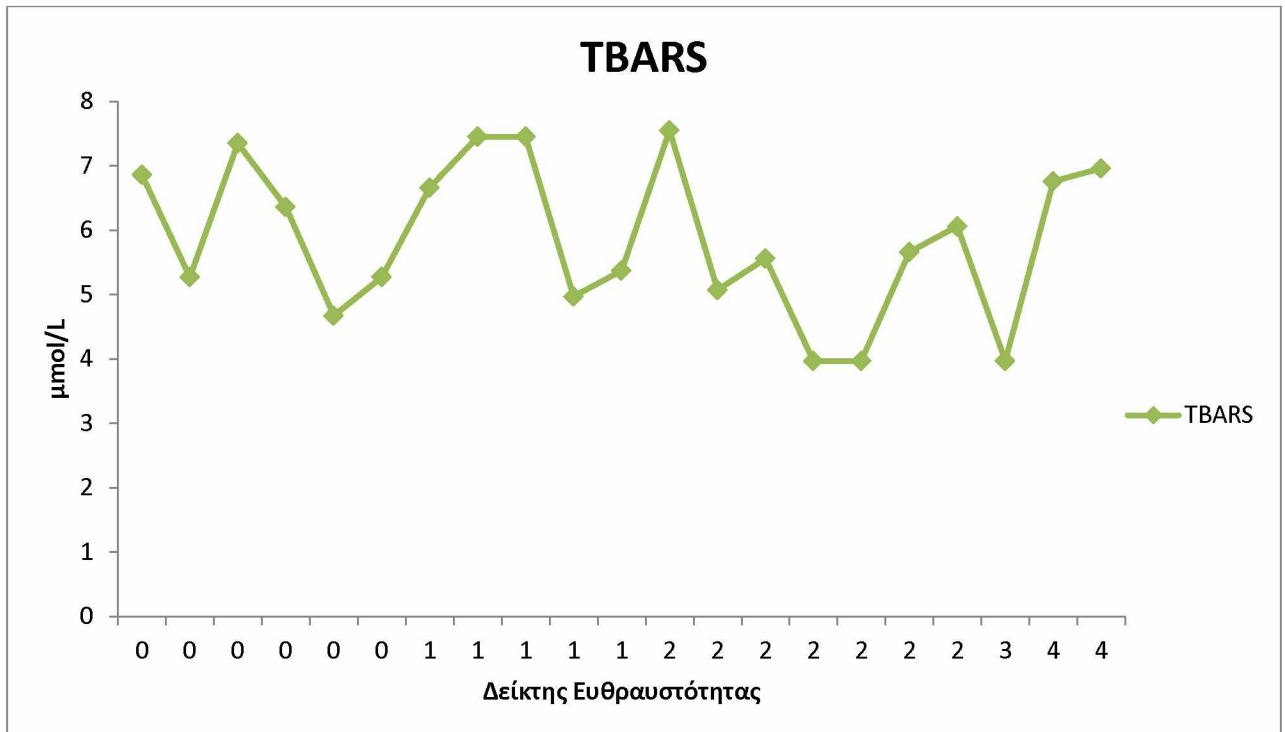
**Πίνακας 7:** Αποτελέσματα Ολικής Χολερυθρίνης, Ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ και πρωτεϊνικών καρβονυλίων των εθελοντών.



**Διάγραμμα 3:** Διάγραμμα ολικής χολερυθρίνης εθελοντών (άξονας y) ως προς τον δείκτη ευθραυστότητας



**Διάγραμμα 4:** Διάγραμμα ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας εθελοντών (άξονας y) ως προς τον δείκτη ευθραυστότητας



**Διάγραμμα 5:** Διάγραμμα TBARS εθελοντών (άξονας y) ως προς τον δείκτη ευθραυστότητας

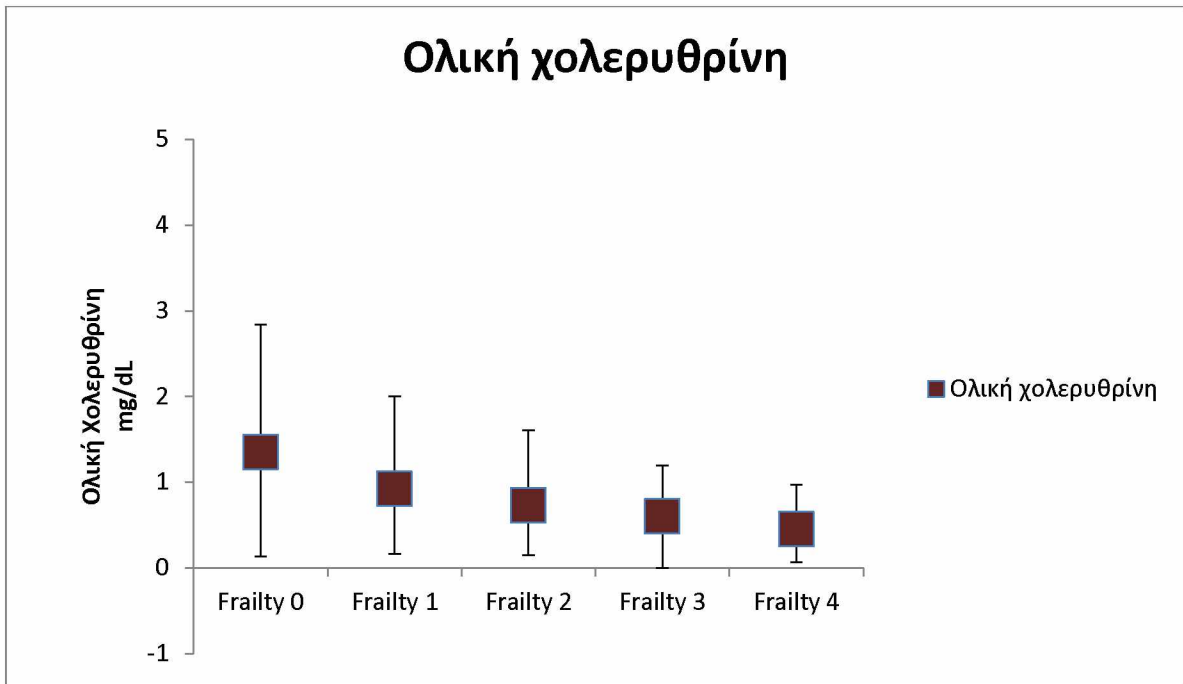


**Διάγραμμα 6:** Διάγραμμα πρωτεϊνικών καρβονυλίων των εθελοντών (άξονας y) ως προς τον δείκτη ευθραυστότητας

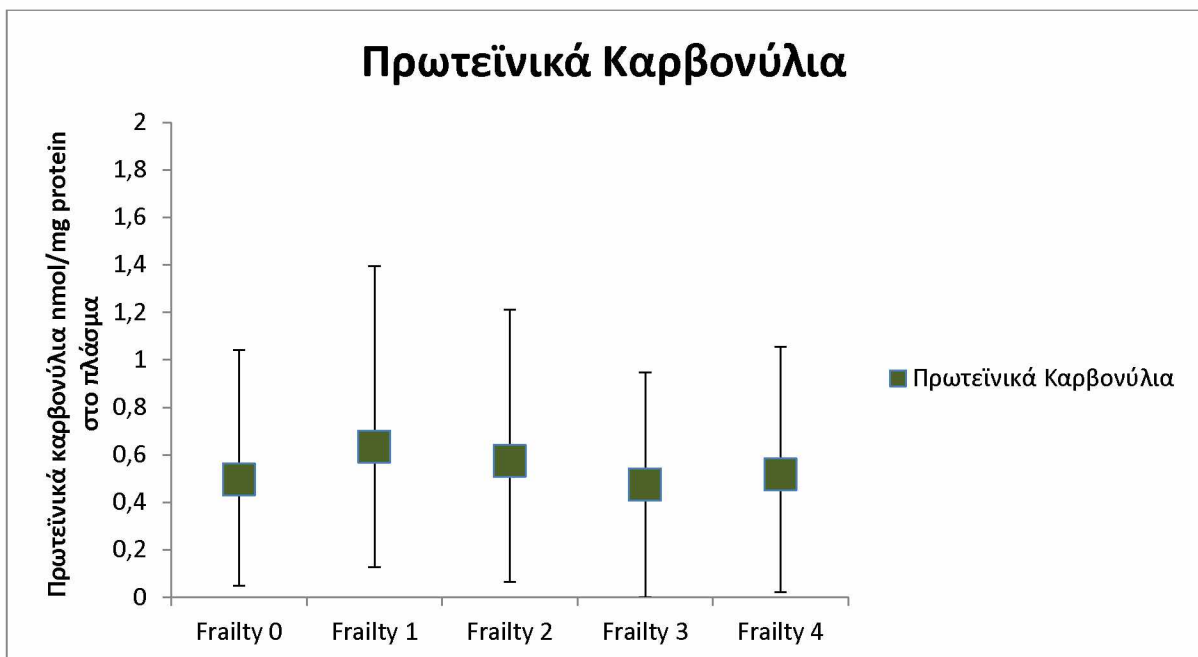
Η συνολική χολερυθρίνη μειώθηκε σημαντικά ( $r = -0,880$ ,  $p = <0,001$ ) με την αύξηση του δείκτη ευθραυστότητας. Όσον αφορά τα πρωτεϊνικά καρβονύλια, παρατηρείται σχεδόν σημαντική μείωση ( $r = -0,401$ ,  $p = 0,072$ ) με την αύξηση του δείκτη ευθραυστότητας. Σχετικά με το TAC (Total antioxidant capacity) και το TBARS (θειοβαρβιτουρικό οξύ αντιδραστικές ουσίες), δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ αυτών και του δείκτη ευθραυστότητας ( $p = 0,343$  και  $p = 0,814$  αντίστοιχα).

		tot Bilirubin	TAC (mmol DPPH/L)	TBARS (μmol/L)	Carbonyls (nmol/mg protein)
Frailty Index	r	-0.880	0.218	-0.055	-0.401
	p	<0.001	0.343	0.814	0.072

**Πίνακας 8:** Συσχέτιση μεταξύ δεικτών οξειδωτικού στρες και δείκτη ευθραυστότητας.



**Διάγραμμα 7:** Μέσος όρος ολικής χολερυθρίνης με τυπική απόκλιση για κάθε δείκτη ευθραυστότητας.



**Διάγραμμα 8:** Μέσος όρος των πρωτεϊνικών καρβονυλίων με τυπική απόκλιση για κάθε δείκτη ευθραυστότητας.

## 5.7 ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ

Για κάθε ασθενή της παρούσας έρευνας μελετήθηκε η συννοσηρότητα αλλά και η σχέση της κάθε ασθένειας με τα αποτελέσματα των δεικτών του οξειδωτικού στρες. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι μέσοι όροι των αποτελεσμάτων κάθε δείκτη για κάθε ασθένεια.

	Ολική Χολερυθρίνη mg/dL		Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) mmol DPPH/L πλάσματος		Ουσίες που αντιδρούν με το Θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) μmol/L στο πλάσμα		Πρωτεϊνικά καρβονύλια (CARBONYLS) nmol/mg protein στο πλάσμα	
	ΝΑΙ	ΟΧΙ	ΝΑΙ	ΟΧΙ	ΝΑΙ	ΟΧΙ	ΝΑΙ	ΟΧΙ
Υπέρταση	0.93	0.86	0.92	0.78	6.02	5.37	0.54	0.61
Σακχαρώδης διαβήτης	0.88	0.93	1.05	0.84	6.04	5.81	0.58	0.54
Δυσλιπιδαιμία	0.95	0.9	0.89	0.89	6.20	5.66	0.58	0.53
Στεφανιαία νόσο	0.92	0.92	0.93	0.88	5.53	6.00	0.59	0.54
Κολπική μαρμαρυγή	0.93	0.91	0.97	0.85	5.77	5.91	0.52	0.57
Καρδιακή ανεπάρκεια	0.8	0.95	0.94	0.87	5.66	5.93	0.51	0.57
Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια	0.9	0.92	0.92	0.88	6.85	5.58	0.50	0.57
Θυρεοειδής	1	0.91	0.79	0.90	6.11	5.84	0.57	0.55

**Πίνακας 9:** Μέσοι όροι αποτελεσμάτων δεικτών οξειδωτικού στρες σε σχέση με την συννοσηρότητα. Για κάθε ασθένεια παρουσιάζεται ο μέσος όρος για το σύνολο των ασθενών που πάσχουν από την ασθένεια (ΝΑΙ) και για το σύνολο των ασθενών που δεν παρουσιάζουν την ασθένεια (ΟΧΙ).



## 5.8 ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΔΕΙΚΤΗ ΜΑΖΑΣ ΣΩΜΑΤΟΣ, ΗΛΙΚΙΑ ΚΑΙ ΦΥΛΟ

Επιπρόσθετα, για κάθε ασθενή υπολογίστηκε ο δείκτης μάζας σώματος (BMI) ενώ καταγράφηκε και η ηλικία και το φύλο. Όσον αφορά τον δείκτη μάζας σώματος και την ηλικία, προσδιορίστηκε η συσχέτιση τους με τους δείκτες οξειδωτικού στρες που μετρήθηκαν. (Πίνακας 10 και 11).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ του δείκτη μάζας σώματος και των παρακάτω δεικτών: ολική χολερυθρίνη, TBARS, πρωτεϊνικά καρβονύλια, TBARS καθώς όλες οι τιμές του δείκτη P είναι μεγαλύτερες από 0.05.

Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας και των δεικτών οξειδωτικού στρες που εξετάστηκαν καθώς όλες οι τιμές P είναι μεγαλύτερες του 0.05.

Για τον έλεγχο της συσχέτισης των δεικτών οξειδωτικού στρες με το φύλο, προσδιορίστηκε ο μέσος όρος των δεικτών για κάθε φύλλο (Πίνακας 12). Σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε στα αποτελέσματα των ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ ενώ σε όλα τα αποτελέσματα οι μέσοι όροι των γυναικών είναι μεγαλύτεροι.

		Ολική Χολερυθρίνη mg/dL	Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) mmol DPPH/L πλάσματος	Ουσίες που αντιδρούν με το Θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) μmol/L στο πλάσμα	Πρωτεϊνικά καρβονύλια (CARBONYLS) nmol/mg protein στο πλάσμα
BMI	r	-0.116	0.142	-0.021	-0.05
	p	0.615	0.538	0.925	0.825

**Πίνακας 10:** Συσχέτιση μεταξύ δείκτη μάζας σώματος (BMI) και δεικτών οξειδωτικού στρες.

		Ολική Χολερυθρίνη mg/dL	Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) mmol DPPH/L πλάσματος	Ουσίες που αντιδρούν με το Θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) μmol/L στο πλάσμα	Πρωτεϊνικά καρβονύλια (CARBONYLS) nmol/mg protein στο πλάσμα
ΗΛΙΚΙΑ	r	-0.044	0.248	0.042	-0.300
	p	0.847	0.278	0.854	0.186

**Πίνακας 11:** Συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας των ασθενών και των δεικτών οξειδωτικού στρες.

		Ολική Χολερυθρίνη mg/dL	Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) mmol DPPH/L πλάσματος	Ουσίες που αντιδρούν με το Θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) μmol/L στο πλάσμα	Πρωτεϊνικά καρβονύλια (CARBONYLS) nmol/mg protein στο πλάσμα
ΦΥΛΟ	ΑΝΔΡΑΣ	0.90	0.87	5.67	0.53
	ΓΥΝΑΙΚΑ	0.93	0.92	6.19	0.58

**Πίνακας 12:** Μέσοι όροι των αποτελεσμάτων οξειδωτικού στρες για κάθε φύλο.

## 5.9 ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΣΥΝΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ

Τα αποτελέσματα για την συννοσηρότητα και τον δείκτη ευθραυστότητας παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Δείγμα #	Υπέρταση	Σακχαρώδης διαβήτης	Δυσλιπιδαιμία	Στεφανιαία νόσος	Κολπική μαρμαρυγή	Καρδιακή ανεπάρκεια	Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια	Θυρεοειδής	Άλλες	Δείκτης ευθραυστότητας
1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1
4	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1
5	1	0	0	0	1	0	0	1	0	2
6	1	0	1	0	0	1	1	0	υπερουριχαιμία	0

7	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
9	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
11	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
13	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1
14	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2
15	0	1	0	0	0	0	1	0	0	4
16	1	0	1	0	0	0	0	0	οστεοπόρωση	2
17	1	0	0	0	0	1	0	0	0	4
18	1	1	0	1	0	1	0	0	0	3
19	1	0	0	1	1	1	0	0	0	2
20	1	1	0	0	1	0	0	0	0	2
21	1	0	1	1	1	1	1	0	έλκος δωδεκαδακτύλου	2

**Πίνακας 13:** Δείκτες ευθραυστότητας και συννοσηρότητα

Καθώς το μεγαλύτερο μέρος των εθελοντών πάσχει από υπέρταση, μελετήθηκε περαιτέρω η συσχέτιση μεταξύ δείκτη ευθραυστότητας και υπέρτασης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα το  $r=-0,04$  και το  $P=0.836$ . Μιας και το  $P$  είναι μεγαλύτερο από 0.05 συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του δείκτη ευθραυστότητας και της υπέρτασης για το δείγμα που μελετήθηκε στην παρούσα έρευνα.

## 6 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ευθραυστότητα είναι ένα κλινικό σύνδρομο το οποίο περιγράφει την αυξημένη ευπάθεια σε στρεσογόνους παράγοντες που οδηγεί σε λειτουργική ανεπάρκεια καθώς συνοδεύεται από την εμφάνιση βλαβών σε πολλαπλά βιολογικά συστήματα λόγω αδυναμίας των επιδιορθωτικών μηχανισμών. Το σύνδρομο της ευθραυστότητας έχει συσχετιστεί με πολλούς παράγοντες, τόσο σωματικούς όσο και ψυχολογικούς. Διάφοροι παράγοντες κινδύνου έχουν μελετηθεί όπως η ηλικία, το φύλο, η κοινωνική κατάσταση και η διατροφή.

Πρόσφατες έρευνες μελέτησαν την συσχέτιση μεταξύ του οξειδωτικού στρες και της ευθραυστότητας. Τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών υποστηρίζουν ότι υψηλοί

οξειδωτικοί δείκτες και χαμηλά ποσοστά αντιοξειδωτικών μηχανισμών παρατηρήθηκαν σε άτομα με ευθραυστότητα. Επιπλέον αυτά τα ποσοστά διέφεραν από μη εύθραυστα άτομα στα οποία οι οξειδωτικοί δείκτες ήταν χαμηλότεροι ενώ τα ποσοστά αντιοξειδωτικών μηχανισμών πιο υψηλά. (El Assar et al., 2020, Soysal et al., 2017)

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε με σκοπό να εξετάσει εάν τα μέχρι τώρα ευρήματα των προηγούμενων ερευνών για συσχέτιση οξειδωτικού στρες και ευθραυστότητας επιβεβαιώνονται. Για τον σκοπό αυτό 21 εθελοντές πήραν μέρος στην έρευνα.

Για κάθε εθελοντή υπολογίστηκε ο δείκτης ευθραυστότητας ενώ επιπλέον συλλέχθηκαν δείγματα αίματος με σκοπό τον υπολογισμό διαφόρων δεικτών οξειδωτικού στρες. Για την παρούσα μελέτη επιλέχθηκαν οι εξής οξειδωτικοί δείκτες: ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC), ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), πρωτεϊνικά καρβονύλια και ολική χολερυθρίνη (TBILI).

Έπειτα από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων προκύπτουν τα εξής δεδομένα για τον πληθυσμό της παρούσας μελέτης. Παρατηρήθηκε σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ της ολικής χολερυθρίνης και του δείκτη ευθραυστότητας με  $P < 0.001$ . Σχεδόν σημαντική αρνητική συσχέτιση παρατηρήθηκε και μεταξύ των πρωτεϊνικών καρβονυλίων και του δείκτη ευθραυστότητας με  $P = 0.072$ . Όσον αφορά την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα και τις ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ, δεν παρατηρήθηκε κάποια συσχέτιση καθώς το  $P$  ήταν 0.343 και 0.814 αντίστοιχα.

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ δείκτη ευθραυστότητας και ολικής χολερυθρίνης ή/και πρωτεϊνικών καρβονυλίων. Αυτό δηλώνει ότι η αύξηση στον δείκτη ευθραυστότητας συνοδεύεται από σημαντική μείωση της ολικής χολερυθρίνης αλλά και μείωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων.

Μιας και η ολική χολερυθρίνη αποτελεί ισχυρό αντιοξειδωτικό παράγοντα λόγω της κυτταροπροστατευτικής της δράσης, τα χαμηλά της επίπεδα μπορούν να συνδεθούν με αυξημένο οξειδωτικό στρες κάτι που μπορεί να οδηγήσει σε ευθραυστότητα. Επομένως, τα χαμηλά επίπεδα χολερυθρίνης αποτελούν πιθανή αιτία εμφάνισης ευθραυστότητας. Αυτό φαίνεται να επιβεβαιώνεται και από πρόσφατες έρευνες στην οποίες τα χαμηλά επίπεδα χολερυθρίνης παρουσιάζεται ως προγνωστικός παράγοντας για την εμφάνιση αναπηρίας ADL (activities of daily life) και προτείνεται η κλινική του χρήση. (Inoguchi et al., 2019)

Όσον αφορά τις συννοσηρότητες και το οξειδωτικό στρες, η κολπική μαρμαρυγή, η καρδιακή ανεπάρκεια, ο σακχαρώδης διαβήτης και η στεφανιαία νόσος δεν φαίνεται να επηρεάζουν την εμφάνιση του. Ωστόσο, παρατηρούνται σημαντικές διαφορές για τον δείκτη TBARS στα άτομα που πάσχουν από χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, δυσλιπιδαιμία και υπέρταση όπου οι δείκτες φαίνονται αυξημένοι. Αυξημένες τιμές TBARS υποδηλώνουν υψηλά ποσοστά οξειδωτικού στρες επομένως οι παραπάνω ασθένειες πιθανότατα συμβάλουν στην εμφάνιση οξειδωτικού στρες. Επιπρόσθετα, τα άτομα που πάσχουν από θυρεοειδή εμφανίζουν τον χαμηλότερο μέσο όρο ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας σε σχέση με τις άλλες ασθένειες με αποτέλεσμα να θεωρείται πιθανή μια συσχέτιση μεταξύ του οξειδωτικού στρες. Το γεγονός αυτό μπορεί να θεωρηθεί λογικό καθώς ένα αποτέλεσμα του οξειδωτικού στρες είναι η δυσλειτουργία του θυρεοειδούς (Rasool et al. 2021).

Καθώς το μεγαλύτερο μέρος των ασθενών πάσχει από υπέρταση μελετήθηκε επιπλέον η συσχέτιση μεταξύ υπέρτασης και δείκτη ευθραυστότητας. Μιας και ο δείκτης P ήταν μεγαλύτερος από 0.05 δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ υπέρτασης και δείκτη ευθραυστότητας για το δείγμα της παρούσας μελέτης. Παρόλα αυτά σύμφωνα με έρευνες η ευθραυστότητα είναι κοινή σε άτομα με υπέρταση. Πιθανή αιτία μη εμφάνισης συσχέτισης στην παρούσα μελέτη πιθανότατα αποτελεί ο μικρός αριθμός δείγματος. (Vetrano et al. 2018). Όσον αφορά τις υπόλοιπες νοσηρότητες, δεν υπάρχει στατιστικά σημαντικό δείγμα για να μελετηθεί η συσχέτιση.

Επιπλέον, μελετήθηκε η συσχέτιση μεταξύ του οξειδωτικού στρες και του δείκτη μάζας σώματος. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ του δείκτη μάζας σώματος και των παρακάτω δεικτών: ολική χολερυθρίνη, TBARS, πρωτεϊνικά καρβονύλια, TBARS καθώς όλες οι τιμές του δείκτη P είναι μεγαλύτερες από 0.05. Επιπρόσθετα, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας και των δεικτών οξειδωτικού στρες που εξετάστηκαν καθώς όλες οι τιμές P είναι μεγαλύτερες του 0.05. Πιθανή αιτία των παραπάνω αποτελεσμάτων μπορεί να αποτελεί ο μικρός αριθμός δείγματος. Περαιτέρω μελέτες είναι αναγκαίες για την μελέτη της συσχέτισης δείκτη μάζας σώματος και ηλικίας με το οξειδωτικό στρες.

Τέλος, για κάθε δείκτη υπολογίστηκε ο μέσος όρος για το κάθε φύλο. Για όλους τους δείκτες οι γυναίκες παρουσιάζουν υψηλότερα αποτελέσματα όμως οι διαφορές μεταξύ των μέσων όρων δεν είναι σημαντικές γεγονός που φαίνεται να δείχνει μη συσχέτιση μεταξύ του οξειδωτικού στρες και του φύλου.

Παρόλο που η παραπάνω μελέτη έρχεται εν μέρη να επιβεβαιώσει τα αποτελέσματα των προηγούμενων ερευνών, δεν μπορεί με σιγουριά να επιβεβαιώσει την συσχέτιση μεταξύ οξειδωτικού στρες και ευθραυστότητας. Η αδυναμία της παρούσας έρευνας να δώσει τεκμηριωμένες απαντήσεις πιθανότατα οφείλεται στο μικρό δείγμα εθελοντών (21). Επιπλέον, είναι πιθανόν οι δείκτες που επιλέχθηκαν να μην είναι αντιπροσωπευτικοί για την μελέτη της συσχέτισης αυτής.

Συμπερασματικά, εάν και τα αποτελέσματα που αφορούν την ολική χολερυθρίνη φανερώνουν μια πιθανότητα συσχέτισης μεταξύ του οξειδωτικού στρες και της ευθραυστότητας, δεν μπορούν να δοθούν σίγουρες απαντήσεις. Είναι απαραίτητο, λοιπόν, οι έρευνες που αφορούν την ευθραυστότητα και το οξειδωτικό στρες να συνεχιστούν με σκοπό να προσδιοριστούν οι κατάλληλοι δείκτες για την μελέτη αυτής της συσχέτισης ενώ είναι σημαντικό το δείγμα που θα επιλεγεί να είναι αντιπροσωπευτικό ώστε τα αποτελέσματα να είναι τεκμηριωμένα.

## 7 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Κατερέλος, Α. (2017). *Μοντελοποίηση του συνδρόμου ευθραυστότητας των ηλικιωμένων με τη χρήση ποιοτικών και ποσοτικών δεικτών* [Thesis]. <http://nemertes.library.upatras.gr/jspui/handle/10889/10303>
- Alabadi, B., Civera, M., De la Rosa, A., Martinez-Hervas, S., Gomez-Cabrera, M. C., & Real, J. T. (2021). Frailty Is Associated with Oxidative Stress in Older Patients with Type 2 Diabetes. *Nutrients*, 13(11), 3983. <https://doi.org/10.3390/nu13113983>
- Alvarado, J. C., Fuentes-Santamaría, V., & Juiz, J. M. (2022). Frailty Syndrome and Oxidative Stress as Possible Links Between Age-Related Hearing Loss and Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, 15. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2021.816300>
- Álvarez-Satta, M., Berna-Erro, A., Carrasco-Garcia, E., Alberro, A., Saenz-Antoñanzas, A., Vergara, I., Otaegui, D., & Matheu, A. (2020). Relevance of oxidative stress and inflammation in frailty based on human studies and mouse models. *Aging (Albany NY)*, 12(10), 9982–9999. <https://doi.org/10.18632/aging.103295>
- Aquilano, K., Baldelli, S., & Ciriolo, M. R. (2014). Glutathione: New roles in redox signaling for an old antioxidant. *Frontiers in Pharmacology*, 5, 196. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00196>
- Aziz, M. A., Diab, A. S., & Mohammed, A. A. (2019). Antioxidant Categories and Mode of Action. Στο *Antioxidants*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.83544>
- Bakas, D. (2020). Frailty syndrome in the elderly. *Hellenic Journal of Nursing Science*, 13(2), 14–19. <https://doi.org/10.24283/hjns.202023>
- Balasaheb Nimse, S., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006. <https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>
- Bayr, H. (2005). Reactive oxygen species. *Critical Care Medicine*, 33(12), S498. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000186787.64500.12>

- Beasley, J. M., LaCroix, A. Z., Neuhouser, M. L., Huang, Y., Tinker, L., Woods, N., Michael, Y., Curb, J. D., & Prentice, R. L. (2010). Protein intake and incident frailty in the Women's Health Initiative observational study. *Journal of the American Geriatrics Society*, 58(6), 1063–1071. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2010.02866.x>
- Blaum, C. S., Xue, Q. L., Michelon, E., Semba, R. D., & Fried, L. P. (2005). The association between obesity and the frailty syndrome in older women: The Women's Health and Aging Studies. *Journal of the American Geriatrics Society*, 53(6), 927–934. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2005.53300.x>
- Brown, P. J., Roose, S. P., Fieo, R., Liu, X., Rantanen, T., Sneed, J. R., Rutherford, B. R., Devanand, D. P., & Avlund, K. (2014). Frailty and depression in older adults: A high-risk clinical population. *The American journal of geriatric psychiatry: official journal of the American Association for Geriatric Psychiatry*, 22(11), 1083–1095. <https://doi.org/10.1016/j.jagp.2013.04.010>
- Cesari, M., Gambassi, G., Abellan van Kan, G., & Vellas, B. (2014). The frailty phenotype and the frailty index: Different instruments for different purposes. *Age and Ageing*, 43(1), 10–12. <https://doi.org/10.1093/ageing/aft160>
- Cesari, M., Leeuwenburgh, C., Lauretani, F., Onder, G., Bandinelli, S., Maraldi, C., Guralnik, J. M., Pahor, M., & Ferrucci, L. (2006). Frailty syndrome and skeletal muscle: Results from the Invecchiare in Chianti study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83(5), 1142–1148. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.5.1142>
- Chaudhary, M., & Arokiasamy, P. (2019). Patterns of Frailty and Quality of Life among Older Adults: Comparative Analysis Using SAGE States of India. *Journal of Population Ageing*, 12. <https://doi.org/10.1007/s12062-017-9201-7>



- Culotta, V. C., Yang, M., & O'Halloran, T. V. (2006). Activation of superoxide dismutases: Putting the metal to the pedal. *Biochimica et biophysica acta*, *1763*(7), 747–758. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.05.003>
- Dangl, J. L., & Jones, J. D. G. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature*, *411*(6839), 826–833. <https://doi.org/10.1038/35081161>
- Dent, E., Kowal, P., & Hoogendijk, E. O. (2016). Frailty measurement in research and clinical practice: A review. *European Journal of Internal Medicine*, *31*, 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2016.03.007>
- El Assar, M., Angulo, J., & Rodríguez-Mañas, L. (2020). Frailty as a phenotypic manifestation of underlying oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, *149*, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.08.011>
- Espinoza, S., & Fried, L. (2007). Risk Factors for Frailty in the Older Adult. *Clinical Geriatrics*, *15*.
- Fang, X., Shi, J., Song, X., Mitnitski, A., Tang, Z., Wang, C., Yu, P., & Rockwood, K. (2012). Frailty in relation to the risk of falls, fractures, and mortality in older Chinese adults: Results from the Beijing Longitudinal Study of Aging. *The Journal of Nutrition, Health & Aging*, *16*(10), 903–907. <https://doi.org/10.1007/s12603-012-0368-6>
- Figure 1. Reaction of malondialdehyde (MDA) with 2 molecules of.. (χ.χ). ResearchGate. Ανακτήθηκε 2 Ιούνιος 2022, από [https://www.researchgate.net/figure/Reaction-of-malondialdehyde-MDA-with-2-molecules-of-2-thiobarbituric-acid-TBA\\_fig1\\_304069866](https://www.researchgate.net/figure/Reaction-of-malondialdehyde-MDA-with-2-molecules-of-2-thiobarbituric-acid-TBA_fig1_304069866)
- Finkel, T. (2011). Signal transduction by reactive oxygen species. *The Journal of Cell Biology*, *194*(1), 7–15. <https://doi.org/10.1083/jcb.201102095>
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*, *14*(15). <https://doi.org/10.3390/ma14154135>

- Foyer, C. H., Ruban, A. V., & Noctor, G. (2017). Viewing oxidative stress through the lens of oxidative signalling rather than damage. *Biochemical Journal*, 474(6), 877–883. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160814>
- Fried, L. P., Ferrucci, L., Darer, J., Williamson, J. D., & Anderson, G. (2004). Untangling the concepts of disability, frailty, and comorbidity: Implications for improved targeting and care. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 59(3), 255–263. <https://doi.org/10.1093/gerona/59.3.m255>
- Fried, L. P., Tangen, C. M., Walston, J., Newman, A. B., Hirsch, C., Gottdiener, J., Seeman, T., Tracy, R., Kop, W. J., Burke, G., McBurnie, M. A., & Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. (2001). Frailty in older adults: Evidence for a phenotype. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 56(3), M146-156. <https://doi.org/10.1093/gerona/56.3.m146>
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1999) *Free Radicals in Biology and Medicine*. In Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., Eds., *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd Edition, Oxford University Press, Oxford, 1-25. - *References—Scientific Research Publishing*. (χ.χ.). Ανακτήθηκε 23 Μάιος 2022, από [https://www.scirp.org/\(S\(vtj3fa45qm1ean45vvffcz55\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1125453](https://www.scirp.org/(S(vtj3fa45qm1ean45vvffcz55))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1125453)
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. OUP Oxford.
- Hoogendijk, E. O., van Hout, H. P. J., Heymans, M. W., van der Horst, H. E., Frijters, D. H. M., Broese van Groenou, M. I., Deeg, D. J. H., & Huisman, M. (2014). Explaining the association between educational level and frailty in older adults: Results from a 13-year longitudinal study in the Netherlands. *Annals of Epidemiology*, 24(7), 538-544.e2. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2014.05.002>

- Ierodiakonou, D., Kampouraki, M., Poulonirakis, I., Papadokostakis, P., Lintovoi, E., Karanassos, D., Maltezis, K., Chorti, M., Petrovitsos, E., Dimopoulou, S., Hamind, S., Gialamas, I., Athanasiou, P., Bempi, V., Lambraki, I., & Tsiligianni, I. (2019). Determinants of frailty in primary care patients with COPD: The Greek UNLOCK study. *BMC Pulmonary Medicine*, *19*(1), 63. <https://doi.org/10.1186/s12890-019-0824-8>
- Inoguchi, T., Fukuhara, S., Yamato, M., Nakai, M., Etoh, T., Masakado, M., Suehiro, S., Umeda, F., & Yamauchi, T. (2019). Serum bilirubin level is a strong predictor for disability in activities in daily living (ADL) in Japanese elderly patients with diabetes. *Scientific Reports*, *9*(1), 7069. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43543-6>
- Inoguchi, T., Sonoda, N., & Maeda, Y. (2016). Bilirubin as an important physiological modulator of oxidative stress and chronic inflammation in metabolic syndrome and diabetes: A new aspect on old molecule. *Diabetology International*, *7*(4), 338–341. <https://doi.org/10.1007/s13340-016-0288-5>
- Introduction to Frailty*. (χ.χ.). British Geriatrics Society. Ανακτήθηκε 23 Μάιος 2022, από <https://www.bgs.org.uk/resources/introduction-to-frailty>
- Irshad, M., & Chaudhuri, P. S. (χ.χ.-a). *Oxidant-antioxidant system: Role and significance in human body*. 7.
- Jeeva, J. S., Sunitha, J., Ananthalakshmi, R., Rajkumari, S., Ramesh, M., & Krishnan, R. (2015). Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, *7*(Suppl 2), S331–S333. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.163438>
- Jiang, Q. (2017). Natural Forms of Vitamin E as Effective Agents for Cancer Prevention and Therapy. *Advances in Nutrition*, *8*(6), 850–867. <https://doi.org/10.3945/an.117.016329>
- Kalakonda, A., Jenkins, B. A., & John, S. (2022). Physiology, Bilirubin. Στο *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470290/>

- Kerasiotti, E., Kiskini, A., Veskoukis, A., Jamurtas, A., Tsitsimpikou, C., Tsatsakis, A. M., Koutedakis, Y., Stagos, D., Kouretas, D., & Karathanos, V. (2012). Effect of a special carbohydrate–protein cake on oxidative stress markers after exhaustive cycling in humans. *Food and Chemical Toxicology*, *50*(8), 2805–2810. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.04.015>
- Kim, S. Y., & Park, S. C. (2012). Physiological Antioxidative Network of the Bilirubin System in Aging and Age-Related Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, *3*. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2012.00045>
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010a). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, *4*(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010b). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, *4*(8), 118. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- Martínez, M. C., & Andriantsitohaina, R. (2009a). Reactive nitrogen species: Molecular mechanisms and potential significance in health and disease. *Antioxidants & redox signaling*. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1993>
- Martínez, M. C., & Andriantsitohaina, R. (2009b). Reactive nitrogen species: Molecular mechanisms and potential significance in health and disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, *11*(3), 669–702. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1993>
- Mordi, R. C., Ademosun, O. T., Ajanaku, C. O., Olanrewaju, I. O., & Walton, J. C. (2020). Free Radical Mediated Oxidative Degradation of Carotenes and Xanthophylls. *Molecules*, *25*(5), 1038. <https://doi.org/10.3390/molecules25051038>
- Morley, J. E., Vellas, B., van Kan, G. A., Anker, S. D., Bauer, J. M., Bernabei, R., Cesari, M., Chumlea, W. C., Doehner, W., Evans, J., Fried, L. P., Guralnik, J. M., Katz, P. R., Malmstrom, T. K., McCarter, R. J., Gutierrez Robledo, L. M., Rockwood, K., von Haehling,

- S., Vandewoude, M. F., & Walston, J. (2013). Frailty Consensus: A Call to Action. *Journal of the American Medical Directors Association*, 14(6), 392–397. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2013.03.022>
- Nandi, A., Yan, L.-J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 9613090. <https://doi.org/10.1155/2019/9613090>
- Ndisang, J. F. (2010). Role of heme oxygenase in inflammation, insulin-signalling, diabetes and obesity. *Mediators of Inflammation*, 2010, 359732. <https://doi.org/10.1155/2010/359732>
- Pacher, P., Beckman, J. S., & Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87(1), 315–424. <https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2006>
- Paschalis, V., Nikolaidis, M. G., Fatouros, I. G., Giakas, G., Koutedakis, Y., Karatzaferi, C., Kouretas, D., & Jamurtas, A. Z. (2007). Uniform and prolonged changes in blood oxidative stress after muscle-damaging exercise. *In Vivo (Athens, Greece)*, 21(5), 877–883.
- Patlevič, P., Vašková, J., Švorc, P., Vaško, L., & Švorc, P. (2016). Reactive oxygen species and antioxidant defense in human gastrointestinal diseases. *Integrative Medicine Research*, 5(4), 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.07.004>
- Patsoukis, N., Zervoudakis, G., Panagopoulos, N. T., Georgiou, C. D., Angelatou, F., & Matsokis, N. A. (2004). Thiol redox state (TRS) and oxidative stress in the mouse hippocampus after pentylentetrazol-induced epileptic seizure. *Neuroscience Letters*, 357(2), 83–86. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2003.10.080>
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science : IJBS*, 4(2), 89–96.
- 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*, 2017, 8416763.  
<https://doi.org/10.1155/2017/8416763>

Preiser, J.-C. (2012a). Oxidative stress. *JPEN. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 36(2), 147–154. <https://doi.org/10.1177/0148607111434963>

Rasool, M., Malik, A., Saleem, S., Ashraf, M. A. B., Khan, A. Q., Waquar, S., Zahid, A., Shaheen, S., Abu-Elmagd, M., Gauthaman, K., & Pushparaj, P. N. (2021). Role of Oxidative Stress and the Identification of Biomarkers Associated With Thyroid Dysfunction in Schizophrenics. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2021.646287>

Rockwood, K., & Mitnitski, A. (2011). Frailty defined by deficit accumulation and geriatric medicine defined by frailty. *Clinics in Geriatric Medicine*, 27(1), 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2010.08.008>

Rolland, Y., Benetos, A., Gentric, A., Ankri, J., Blanchard, F., Bonnefoy, M., de Decker, L., Ferry, M., Gonthier, R., Hanon, O., Jeandel, C., Nourhashemi, F., Perret-Guillaume, C., Retornaz, F., Bouvier, H., Ruault, G., & Berrut, G. (2011). [Frailty in older population: A brief position paper from the French society of geriatrics and gerontology]. *Geriatric Et Psychologie Neuropsychiatrie Du Vieillissement*, 9(4), 387–390. <https://doi.org/10.1684/pnv.2011.0311>

Samaras, A., Tsarouhas, K., Paschalidis, E., Giamouzis, G., Triposkiadis, F., Tsitsimpikou, C., Becker, A. T., Goutzourelas, N., & Kouretas, D. (2014). Effect of a special carbohydrate-protein bar and tomato juice supplementation on oxidative stress markers and vascular endothelial dynamics in ultra-marathon runners. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 69, 231–236. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.03.029>

- Santos-Eggimann, B., Cuénoud, P., Spagnoli, J., & Junod, J. (2009). Prevalence of Frailty in Middle-Aged and Older Community-Dwelling Europeans Living in 10 Countries. *The Journals of Gerontology: Series A*, 64A(6), 675–681. <https://doi.org/10.1093/gerona/glp012>
- Schwertner, H. A., & Vitek, L. (2008). Gilbert syndrome, UGT1A1\*28 allele, and cardiovascular disease risk: Possible protective effects and therapeutic applications of bilirubin. *Atherosclerosis*, 198(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.01.001>
- Shankar, K., & Mehendale, H. M. (2014). Oxidative Stress. Στο P. Wexler (Επιμ.), *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)* (σσ. 735–737). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00345-6>
- Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. E., Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., ... Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2020.00694>
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, 2012, e217037. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>
- Shimamura, T., Sumikura, Y., Yamazaki, T., Tada, A., Kashiwagi, T., Ishikawa, H., Matsui, T., Sugimoto, N., Akiyama, H., & Ukeda, H. (2014). Applicability of the DPPH assay for evaluating the antioxidant capacity of food additives—Inter-laboratory evaluation study -. *Analytical Sciences: The International Journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, 30(7), 717–721. <https://doi.org/10.2116/analsci.30.717>

- Soysal, P., Isik, A. T., Carvalho, A. F., Fernandes, B. S., Solmi, M., Schofield, P., Veronese, N., & Stubbs, B. (2017). Oxidative stress and frailty: A systematic review and synthesis of the best evidence. *Maturitas*, *99*, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2017.01.006>
- Strandberg, T. E., Sirola, J., Pitkälä, K. H., Tilvis, R. S., Strandberg, A. Y., & Stenholm, S. (2012). Association of midlife obesity and cardiovascular risk with old age frailty: A 26-year follow-up of initially healthy men. *International Journal of Obesity (2005)*, *36*(9), 1153–1157. <https://doi.org/10.1038/ijo.2012.83>
- Takeshima, T., Usui, K., Mori, K., Asai, T., Yasuda, K., Kuroda, S., & Yumura, Y. (2021). Oxidative stress and male infertility. *Reproductive Medicine and Biology*, *20*(1), 41–52. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12353>
- Tembo, M. C., Holloway-Kew, K. L., Bortolasci, C. C., Sui, S. X., Brennan-Olsen, S. L., Williams, L. J., Kotowicz, M. A., & Pasco, J. A. (2020a). Total Antioxidant Capacity and Frailty in Older Men. *American Journal of Men's Health*, *14*(5), 1557988320946592. <https://doi.org/10.1177/1557988320946592>
- Traber, M. G., & Stevens, J. F. (2011). Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free radical biology & medicine*, *51*(5), 1000–1013. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.05.017>
- Tsarouhas, K., Tsitsimpikou, C., Papantoni, X., Lazaridou, D., Koutouzis, M., Mazzaris, S., Rezaee, R., Mamoulakis, C., Georgoulis, P., Nepka, C., Rentoukas, E., Kyriakides, Z., Tsatsakis, A., Spandidos, D. A., & Kouretas, D. (2018). Oxidative stress and kidney injury in trans-radial catheterization. *Biomedical Reports*, *8*(5), 417–425. <https://doi.org/10.3892/br.2018.1071>
- Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P., & Mahajan, R. T. (2009). Oxidative stress and neurodegenerative diseases: A review of upstream and downstream antioxidant therapeutic



options. *Current Neuropharmacology*, 7(1), 65–74.  
<https://doi.org/10.2174/157015909787602823>

Van Hoydonck, P. G., Temme, E. H., & Schouten, E. G. (2001). Serum bilirubin concentration in a Belgian population: The association with smoking status and type of cigarettes. *International Journal of Epidemiology*, 30(6), 1465–1472. <https://doi.org/10.1093/ije/30.6.1465>

Vaya, J., & Aviram, M. (2001). Nutritional Antioxidants Mechanisms of Action, Analyses of Activities and Medical Applications. *Current Medicinal Chemistry - Immunology, Endocrine & Metabolic Agents*, 1(1), 99–117. <https://doi.org/10.2174/1568013013359168>

Vetrano, D. L., Palmer, K. M., Galluzzo, L., Giampaoli, S., Marengoni, A., Bernabei, R., & Onder, G. (2018). Hypertension and frailty: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, 8(12), e024406. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-024406>

Veskoukis, A. S., Nikolaidis, M. G., Kyparos, A., Kokkinos, D., Nepka, C., Barbanis, S., & Kouretas, D. (2008). Effects of xanthine oxidase inhibition on oxidative stress and swimming performance in rats. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 33(6), 1140–1154. <https://doi.org/10.1139/H08-102>

Vitek, J. L. (2002). Pathophysiology of dystonia: A neuronal model. *Movement Disorders*, 17(S3), S49–S62. <https://doi.org/10.1002/mds.10142>

Vitek, L. (2012). The Role of Bilirubin in Diabetes, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 3. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2012.00055>

Weitner, T., Inić, S., Jablan, J., Gabričević, M., & Domijan, A. (2016). Spectrophotometric Determination of Malondialdehyde in Urine Suitable for Epidemiological Studies. *Croatica Chemica Acta*, 89. <https://doi.org/10.5562/cca2902>

*Wong's Nursing Care of Infants and Children—Elsevier eBook on VitalSource (Retail Access Card), 9th Edition—9780323095129.* (χ.χ.). Ανακτήθηκε 31 Μάιος 2022, από <https://evolve.elsevier.com/cs/product/9780323095129?role=student>

Woo, J., Zheng, Z., Leung, J., & Chan, P. (2015). Prevalence of frailty and contributory factors in three Chinese populations with different socioeconomic and healthcare characteristics. *BMC Geriatrics*, 15(1), 163. <https://doi.org/10.1186/s12877-015-0160-7>